



**MAGNETRON SAÇTIRMA TEKNİĞİ KULLANILARAK  
YAPILAN TUNGSTEN-GERMANYUM KAPLAMANIN,  
TRİBOLOJİK BİYOUYUMLULUK VE ANTİBİYOFİLM  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**İlkan MUDU**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN**

**Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Şükrü KURT**

**2021**

**Her hakkı saklıdır.**



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MAGNETRON SAÇTIRMA TEKNİĞİ KULLANILARAK YAPILAN  
TUNGSTEN-GERMANYUM KAPLAMANIN TRİBOLOJİK,  
BİYOUYUMLULUK VE ANTİBİYOFİLM ÖZELLİKLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**İlkan MUDU**

**Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN**

**Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Şükrü KURT**

**Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik**

**Erzurum**

**2021**

**Her hakkı saklıdır**

## **ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

15 / 12 / 2021

İlkan MUDU

# ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

## MAGNETRON SAÇTIRMA TEKNİĞİ KULLANILARAK YAPILAN TUNGSTEN-GERMANYUM KAPLAMANIN TRİBOLOJİK, BİYOUYUMLULUK VE ANTİBİYOFİLM ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

İlkan MUDU

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN

Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Şükrü KURT

Germanyum ve Tungsten yaygın olarak endüstride kullanılan elementlerdir. Bu kapsamda 316 L paslanmaz çelik ve borosilikatlı cam numuneler magnetron sputter kullanılarak Germanyum ve Tungsten ile kaplanmıştır. Bu çalışma kapsamında Magnetron sputter ile kaplanan ve kaplanmayan numunelerin tribolojik özelliklerinin belirlenmesi amacı ile Taramalı Elektron Mikroskobu, X-Işını Difraktometre, Tribometre ve Enerji Dağılımlı Spektroskopi uygulamaları yapılarak belirlendi. Tribolojik özelliklerinin belirlenmesi için yapılan XRD analizlerine göre, WGe<sub>2</sub> bileşiminin (110) yoğun bir yapı gösterdiği ve kristal fazda gözlemlendiğini göstermiştir. Biyouyumluluk özelliklerinin belirlenmesi amacıyla numunelerde, *in vitro* olarak Primer Dermal Fibroblast (HDFa) kullanılarak analiz edilmiştir. Germanyum-Tungsten kaplanmış numunelerde ki HDFa hücrelerinde kromozomal anomalilerin belirlenmesi amacıyla genotoksisite testi olan Hoescht 33258 Floresan boyama yapıldı. Hücre canlılıklarının analiz edilebilmesi amacı ile W-Ge kaplanmış, kaplanmamış numune ve plate yüzeyinde ki hücelere *in vitro* hücre canlılığı testi olan MTT yapılarak analiz edildi. Magnetron Sputter ile W-Ge kaplanan numuneler de antibiyofilm aktivitesi, kontrol grupları ile kıyaslandığında, doğada yaygın olarak bulunan *S. aureus* ve *P. aeruginosa* da biyofilm oluşturma aktivitesinde önemli bir azalma olduğunu gösterdi. Yaygın olarak kullanılan Germanyum ve Tungsten'in Tribolojik, biyouyumluluk ve antimikrobiyal aktiviteleri yüzey kaplamalarında araştırılmış ve elde edilen bulgular ışığında biyo-implant malzemesi olarak ilk kez önerilmiştir.

**2021, 53 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** W, Ge, HDFa, Hoescht 33258, Magnetron Sputter

## ABSTRACT

MS. Thesis

### DETERMINATION OF TRIBOLOGICAL, BIOCOMPATIBILITY AND ANTIBIOFILM PROPERTIES OF TUNGSTEN-GERMANIUM COATING MADE USING MAGNETRON SPUTTERING TECHNIQUE.

İlkan MUDU

Erzurum Technical University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Mehmet Enes ARSLAN

Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr. Mustafa Şükrü KURT

Germanium and Tungsten are elements commonly used in industry. In this context, 316 L stainless steel and borosilicate glass samples were coated with Germanium and Tungsten using magnetron sputter. In this study, in order to determine the tribological properties of the samples coated and uncoated with Magnetron sputter, Scanning Electron Microscope, X-Ray Diffractometer, Tribometer and Energy Dispersive Spectroscopy applications were performed. According to the XRD analyzes performed for the determination of its tribological properties,  $WGe_2$  compound (110) showed a dense structure and was observed in the crystal phase. Samples were analyzed *in vitro* using Primary Dermal Fibroblast (HDFa) to determine their biocompatibility properties. Hoescht 33258 Fluorescent staining, which is a genotoxicity test, was performed to determine chromosomal abnormalities in HDFa cells in Germanium-Tungsten coated samples. In order to analyze cell viability, W-Ge coated, uncoated sample and cells on the plate surface were analyzed by performing MTT, which is an *in vitro* cell viability test. Antibiofilm activity of samples coated with Magnetron Sputter with W-Ge also showed a significant decrease in biofilm-forming activity of *S. aureus* and *P. aeruginosa*, which are common in nature, when compared to control groups. Tribological, biocompatibility and antimicrobial activities of widely used Germanium and Tungsten were investigated in surface coatings and according to the results, it was suggested for the first time as a bio-implant material.

**2021, 53 pages**

**Keywords:** W, Ge, HDFa, Hoescht 33258, Magnetron Sputter

## TEŞEKKÜR

Üniversitedeki eğitim hayatım boyunca, laboratuvar ortamında desteğini hiç esirgemeyen, nezaket ve anlayışı ile her koşulda fikirlerime saygı gösteren, bilimi sevdiiren, sevdirenken öğreten, öğrenci-hoca ilişkisinden ziyade araştırmacı meslektaş gözü ile bakan, tez sürecim boyunca bütün bilgi ve tecrübesini aktarmaya çalışan çok değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN'a;

Tez sürecimde, fizik ile ilgili bütün sorularıma cevap verip aydınlatan, anlayış ile yaklaşp yönlendiren ikinci danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Şükrü KURT'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmayı gerçekleştirmemde uygun fiziksel ortam sunan Erzurum Teknik Üniversitesi Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezi'ne müteşekkirim.

Bu tezin gerçekleşmesinde maddi ve manevi desteklerini hep hissettiğim annem ve babama teşekkür ederim. Ayrıca, gece yaralarına kadar heyecanımı paylaşp uykusuz bıraktığım içinde ailemden özür dilerim. Okutan, büyüten ve her ne olursa olsun hep saygı ve sevgi duyan aileme bu tezi ithaf etmekten onur duyarım.

**İlkan MUDU**

**Aralık 2021**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZET</b> .....	ii
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iv
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	ix
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Biyomateryaller .....	1
1.2. Biyomateryallerin Sınıflandırılması .....	2
1.2.1 Doku ile etkileşimine göre biyomateryaller .....	2
1.2.1.1. İnert materyaller .....	2
1.2.1.2. Rezorbe (absorbe) olan materyaller .....	2
1.2.1.3. Biyoaktif materyaller .....	2
1.2.2. Biyolojik özelliklerine göre biyomateryaller .....	3
1.2.2.1. Proteinlerden köken alan biyomalzemeler .....	3
1.2.2.2. Polisakkaritlerden köken alan .....	5
1.2.2.3. Glikozaminoglikandan köken alan .....	6
1.2.3. Kimyasal özelliklerine göre .....	7
1.2.3.1. Polimerler .....	7
1.2.3.2. Metaller .....	9
1.2.3.3. Seramikler .....	11
1.2.3.4. Kompozitler .....	12
1.3. Biyomateryallerin Kullanım Alanları .....	15
1.4. Biyomateryallerin Kullanımı Sonucu Oluşan Enfeksiyonlar .....	16
1.5. Biyoyumluluk .....	16
1.6. Biyoyumluluk Testleri .....	17
1.6.1. İn vitro testler .....	18
1.6.1.1. 3-4[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolyum (MTT) .....	18
1.6.1.2. Laktat dehidrogenaz (LDH) .....	18
1.6.1.3. Korozyon .....	18
1.6.1.4. Hoescht 33258 floresan boyama .....	19
1.6.2. İn vivo testler .....	19
1.6.3. Klinik denemeler .....	19
1.7. Magnetron Sputter .....	19

1.7.1. Doğru akım (D.C) diyot saçırma.....	20
1.7.2. Radyo frekansı (R.F) diyot saçırma .....	20
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ.....</b>	<b>21</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>23</b>
3.1. Materyal .....	23
3.1.1. Çalışmada kullanılan cihazlar .....	23
3.1.2. Çalışmada kullanılan materyal .....	23
3.1.3. Çalışmada kullanılan hücre ve mikroorganizmalar.....	24
3.1.4. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler .....	24
3.2. Metot .....	24
3.2.1. Biyomalzemelerin üretilmesi .....	24
3.2.1.1. Kaplama yapılacak lamellerin hazırlanması .....	24
3.2.1.2. Bor silikatlı lamellerin temizlenmesi .....	24
3.2.3. Germanyum-tungsten oranının belirlenmesi.....	25
3.2.4. Germanyum-tungsten ile bor silikatlı lamellerin kaplanması .....	27
3.2.2. Biyomalzemelerin fiziksel karakterizasyonu .....	28
3.2.2.1. Tungsten-germanyum kaplamalarda Sem.....	28
3.2.2.2. Tungsten-germanyum kaplı lamellerin XRS/EDS.....	28
3.2.2.3. Germanyum-tungsten kaplı lamellerde çizilme testi.....	29
3.2.2.4. Tungsten-germanyum kaplı lamellerin korozyon testi .....	29
3.2.3. Hücre kültürü-sitotoksosite testler .....	30
3.2.3.1. HDFa hücre hattı için besiyeri hazırlanması .....	30
3.2.3.2. İnsan fibroblast (HDFa) hücre hattının büyütülmesi .....	30
3.2.3.3. İnsan fibroblast (HDFa) hücre hattının kaplamalara ekilmesi .....	30
3.2.3.4. Germanyum-tungsten kaplamalarda hoescht boyama .....	32
3.2.3.5. Tungsten-germanyum kaplı lamellerde hücre canlılığı.....	33
3.2.4. Antimikrobiyal testler .....	33
3.2.4.1. Bakteriyel kültür hazırlama.....	33
3.2.4.2. Halo inhibisyon bölgesi testleri.....	33
3.2.4.3. Antibiyofilm aktivitesinin sem ile değerlendirilmesi.....	33
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....</b>	<b>35</b>
4.1. Tribolojik Bulguları .....	35
4.2. Biyouyumluluk Analizleri.....	41
4.3. Antimikrobiyal Bulguları.....	44
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>48</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b><u>Simgeler</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
AO/S	Amstrom/Saniye
Dk.	Dakika
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mg	Miligram
ml	Mililitre
Mm	Milimetre
nm	Nanometre
mTorr	Torr, Basınç Birimi
V	Volt

### **Kisaltmalar**

AA	Akrilamid
DC	Doğru Akım
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
FBS	Fetal Bovine Serum
PBS	Fosfat Bovine Serum
Ge	Germanyum
MHB	Mueller-Hinton Sıvı Besiyeri
NIPA	N-İzopropilakrilamid
RF	Radyo Frekans
W	Tungten

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 3.1.** Hücre ekimi için hazırlanan 12 kuyucuklu plak.....31
- Şekil 4.1.** W-Ge kaplı taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri: a) borosilikat cam 10µm ve 2µm(iç resim), b)316 L paslanmaz çelik 50µm ve 5µm (iç resim).....35
- Şekil 4.2.** Kaplama malzemelerinin SEM kesiti a) borosilikat cam, b)316 L paslanmaz çelik ve c) Alt yüzeylerde W-Ge ve Ti kaplama katmanlarının şematik gösterimi.....36
- Şekil 4.3.** W-Ge kaplı numunelerin EDS görüntüleri: a) Borosilikat substrat, b)316 L paslanmaz çelik alt tabaka.....37
- Şekil 4.4.** XRD Grafikleri. A) W-Ge kaplama örneği, B) Kaplanmamış 316 L paslanmaz çelik .....38
- Şekil 4.5.** W-Ge kaplama numunesinin normal yüke karşı kritik yük değeri, sürtünme katsayıları ve ekteki resim de görülen yapıştırıcı arızası.....40
- Şekil 4.6.** Taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI inspect S50 SEM) W-Ge kaplamalı borosilikat yüzeyi görüntüsü. A) Statik korozyon testi öncesi W-Ge kaplama, b)7 gün boyunca DMEM besiyerinde kalan W-Ge'nin Statik Korozyonu.....40
- Şekil 4.7.** 7 günlük DMEM besiyerinde Statik korozyon sonrası W/Ge (%at.) atomik oranlarını gösteren W-Ge kaplı borosilikat cam yüzeyin enerji dağıtıcı X-ışını spektroskopisi (EDS, EDX) sonuçları.....41
- Şekil 4.8.** 24 Saat sonra farklı yüzeylerde insan fibroblast (HDFa) hücre kültürünün immünofloresan mikroskopi görüntüleri. A)W-Ge kaplı borosilikat yüzey (10X büyütme), b)W-Ge kaplı borosilikat yüzey (20X büyütme), c)W-Ge kaplı borosilikat yüzey (40X büyütme), d)Hücre Kültürü plakası alt yüzeyi (10X büyütme), e)Hücre kültürü plakası (20X büyütme), f)Hücre kültürü plakası alt yüzeyi (40X büyütme), g)Kaplanmamış borosilikat yüzey (10X büyütme), h) Kaplanmamış borosilikat yüzey (20X büyütme), i) Kaplanmamış borosilikat yüzey (40X büyütme).....43
- Şekil 4.9.** Kaplamasız borosilikat yüzeyinin ((+) Ctrl), W-Ge kaplı borosilikat yüzeyinin ve hücre kültürü plakası alt yüzeyinin ((-) MTT hücre canlılık

analizi. Sembol (\*), (-) Ctrl, (GraphPad Prism® version 7.0, Two Way ANOVA, Tukey testi istatistiksel değerlendirme için kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi) ile karşılaştırıldığında hücre canlılığında önemli bir azalmayı temsil eder.....44

**Şekil 4.10.** Borosilikat camlar (temel kontrol) ve W-Ge kaplı yüzey (büyütme:x5000) üzerindeki S.aureus ve P.aeruginosa biyofilminin SEM morfolojileri.....46



## ÇİZELGELER DİZİNİ

**Çizelge 3.1.** W için DC güç kaynağından mT oranının belirlenmesi.....26

**Çizelge 3.2.** Ge için RF güç kaynağından mT oranının belirlenmesi.....26



### 1. GİRİŞ

#### 1.1. Biyomateryaller

Günümüz çalışmalarında, biyomateryal bilimi büyük mesafelerin kat edildiği bir bilim dalı olarak karşımıza çıkmaktadır. Büyük mesafelerin kat edildiği biyomateryal biliminde insan vücudunda bulunan biyolojik sistemler ile en yüksek seviye uyumluluk gösteren materyallerin geliştirilebilmesi için büyük bir çaba gösterilmiştir (Tüylek 2017a). Diğer yandan biyomateryal biliminin günümüzden çok uzun yıllar önce kullanıldığını kanıtlayan birçok bulgu ile karşılaşmaktadır. Bunlar arasında en yaygın olarak bilinenler; milattan önce yaşamış olan mısır medeniyetinde kullanılan altın diş örnek verilebilir. İlerleyen süreçlerde keten ve ipekten elde edilen ipliklerin, cerrahi operasyonlarda açık yaraların kapatılmasında kullanıldığı; 1 Eylül 1939-2 Eylül 1945 yılları arasında gerçekleşen II. Dünya savaşı ile sentetik polimerler gelişmiş ve biyomedikal alanında kullanılacak olan cerrahi iplikler ortaya çıkmıştır (Güven 2014; Tüylek 2017a). Biyomateryallerin kullanımları çok eski zamanlara dayanması ve sürekli gelişmesinden dolayı biyomateryalin kalıp olarak bir tanımı bulunmamaktadır (Williams 2009).

Biyomateryal tam tanımı olmamak ile birlikte tanımı şu şekilde açıklanabilir; İnsanoğlu var olduğundan bu yana birçok sağlık problemleri ile karşı karşıya kalmaktadır. Bu sağlık problemleri bazen mikroorganizmalar tarafından kaynaklanıp bazen de fiziksel müdahaleler sonucunda oluşmaktadır. Sağlık problemlerinin önüne geçilememesi sonucunda ise uzuv kayıpları, metabolizmada aksaklıklar ve hatta ölüme bile sonuçlanabiliyordu. Bundan dolayı biyomateryaller, insan vücudunda işlevini kaybetmiş veya işlevi yetersiz olan canlı dokuların işlevlerini kazandırmak, fiziksel müdahale ile kaybedilen bir uzvun yerine kaybedilen uzvun işlevini yerine getirmek amacı ile kullanılan, doğal veya sentetik olarak kullanılan malzemeler olarak tanımlanabilir (Özalp ve Özdemir 1996).

### 1.2. Biyomateryallerin Sınıflandırılması

İnsan vücudunda işlev veya uzuv kayıplarının engellemesi amacı ile kullanılan biyomateryallerin sınıflandırılması 3'e ayrılır.

1. Doku ile etkileşimine göre
2. Biyolojik özelliklerine göre
3. Kimyasal özelliklerine göre

#### 1.2.1 Doku ile etkileşimine göre biyomateryaller

##### 1.2.1.1. İnert materyaller

İnert materyal; vücut içerisinde korozyon kuvvetine karşı dayanıklı, canlı doku ile temas halinde biyolojik olarak reaksiyon göstermeyen fakat canlı doku ile birebir bağlantı oluşturmaması ile birlikte canlı doku ile arasında fibröz bir kapsül meydana getiren malzemeler olarak adlandırılabilir (Alkaya vd 2019).

##### 1.2.1.2. Rezorbe (absorbe) olan materyaller

Rezorbe olabilen materyaller, canlı doku ile birebir temasta bulunabilen, korozyona uğrayarak zaman içerisinde yok olabilen, canlı doku ile biyolojik olarak reaksiyon gösteren ancak alerjik veya enfeksiyona sebep olmayan materyallerdir. Rezorbe olabilen materyallerin en büyük özelliği, canlı dokuya implante edilme işlemi ile başlayan ve zamanla doku enzimleri tarafından parçalanabilen materyal sınıfına giriyor olmasıdır (Erol vd 2014).

##### 1.2.1.3. Biyoaktif materyaller

Biyoaktif materyaller, canlı dokuya yerleştirilme işleminden bir süre sonra bir takım biyokimyasal ve biyofiziksel tepkimeler gerçekleştirir. Biyokimyasal ve biyofiziksel tepkimeler sonucunda canlı doku ile biyoaktif materyal arasında güçlü

## 1. GİRİŞ

---

mekanik bağıntılar gerçekleştirir. Biyoaktif materyaller rezorbe olabilen ve inert materyaller gibi biyolojik tepkiye sebep olmaz ancak biyoaktif materyaller canlı doku ile arasında mekanik bağıntılar kurduktan sonra hücre yenilenmesi ve aktif destek olarak da kullanılabilir (Cao and Hench 1996; Hench 1998).

### 1.2.2. Biyolojik özelliklerine göre biyomateryaller

Biyolojik biyomateryallerin son zamanlarda gözde olmalarının sebepleri biyoyumlu olmaları, parçalanabilir ve değişik biçimlerde tekrardan modellenilebilir olması denilebilir. Biyolojik olarak kullanılan biyomateryaller köken şekillerine göre 3 gruba ayrılmaktadır.

- a. Proteinlerden köken alan
- b. Polisakkaritlerden köken alan
- c. Glikozaminoglikandan köken alan (Quispe-Tintaya 2018).

#### 1.2.2.1. Proteinlerden köken alan biyomalzemeler

##### a. Kolajen

Kolajen çoğu dokuda bulunan yapısal bir proteindir. Kolajen, bulunan hücre ve dokulara yapısal destek sağlamaktadır. Ayrıca kolajenler fibroblastlardan salgılanır ve hücreler de, morfoloji, adezyon, göç ve farklılaşma gibi hücreler için önemli olaylarda rol alır (Branski et al. 2008).

Kolajenin biyomateryal açısından bu kadar önemli olmasının başka nedenleri de vardır. Kolajen, kolayca izole edilebilir ve saflaştırma sonrasında büyük ölçekli olarak toplanabilir. Bunun yanında immün bir reaksiyona sebep olmaması, toksik olarak etkilerinin bulunmaması ve biyoyumlu olması da kolajenin önemini arttırmaktadır. Kolajenin sağlık alanında kullanımlar da önemlidir. Kolajenler sayesinde vasküler greftler, kalp kapakçıkları ve sinir rejenerasyonu gibi önemli görevlere sahip olan biyomateryal olarak da kullanılmaktadır (Niknejad et al. 2008; Owonubi et al. 2017).

### **b. Jelatin**

Jelatin, kolojenin hidrolizinden elde edilmektedir. Ticari olarak, kolay elde edilebilir olması ana proteine oranla daha avantajlı göstermektedir. Jelatinin de kolajen ile benzer avantajları vardır (Holy et al. 2000). Biyoyumlu olması, çapraz bağlanabilmesi, kimyasal olarak modifiye edilebilmesi, jelatinin avantajlarıdır. Diğer yandan, jelatinler kardiyovasküler, kemik, iskelet kası gibi uygulamalarda kullanılmaktadır (Amer et al. 2018).

### **c. İpek**

İpek insanlık tarafından yüzyıllardır kullanılmaktadır. İpeğin, iplik böceği, akrep, örümcek gibi birçok hayvanın salgı bezi epiteliyle ayrılan lifli bir protein dizini tarafından oluşturulan biyopolimer olduğu yapılan araştırmalar ile gösterilmiştir (Chen et al. 2010).

Sağlık alanında yapılan çalışmalar biyopolimerlerin ortopedi ve kırık dokular mühendisliğinde yüksek bir potansiyele sahip olduğunu gösterdi. Bundan dolayı ipek, ortopedi alanlarında ve kırık dokular mühendisliği gibi alanlarda ipek türev yapı iskelesi ve kırık dokuların onarımı için aday olarak gösterilmektedir (Shen et al. 2014; Hu et al. 2018).

### **d. Fibrin**

Fibrin, kanın pıhtılaşmasında görev alan ve globüler olmayan proteindir. Kanın pıhtılaşmasında görev almasından dolayı fibrin, biyomateryal olarak hemostatik tıkaç ve yara iyileşmesi gibi çalışmalarda kullanılmaktadır (Zund et al. 1999). Hibrid fibrin ve PLGA' dan oluşturulan iskeletlerin, kondrosit proliferasyonu açısından kırık dokuların restorasyonunda destekleyici rol alabileceğini ve sonucunda kırık dokuların mühendisliği için potansiyel bir aracı olabileceği gösterilmiştir (Ye et al. 2000).

### 1.2.2.2. Polisakkaritlerden köken alan

#### a. Selüloz

Selüloz dünya üzerinde en çok bulunan doğal polimer olmasına rağmen, saflaştırılma aşamasında karşılaşılan zorluklardan dolayı biyomateryal olarak kullanımını zayıf hale getirmektedir. Selülozun farmasötik ve fizyolojik olarak kullanımlarının olmamasının temel sebeplerinden biri de budur. Yapılan araştırmalar, selülozun saflaştırılma aşamasında karşılaşılan zorlukların elimine edilmesi ve selülozun biyomateryal olarak kullanıma sunulmasına odaklanmıştır (Eo et al. 2016).

Son yapılan çalışmalarda kimyagerler selülozun türevlerini üretmeyi başardılar. Üretilen selüloz türevleri doku mühendisliği ve tıp alanında yavaş yavaş ilgi kazanmaya başladı. Üretilen selüloz türevlerinden selüloz asetat kardiyoloji alanında kalp iskelelerinde, selüloz nitrat ise kırık doku mühendisliği alanları için kullanılmıştır (Wang et al. 2018).

#### b. Kitin

Selülozdan sonra doğal olarak en bol bulunan polisakkarit kitindir. Genel olarak eklem bacaklıların ve böceklerin dış iskelet yapılarında bulunurlar. Kitin genel olarak biyomedikal, ilaç ve gıda endüstrilerinde oldukça ilgi çekmiştir (Wang et al. 2018).

Kitin son zamanlarda ortopedi, yara iyileşimi ve yanık tedavilerinde gözde olmuştur. Gözde olmasının altında yatan temel bileşenler, kitinin antimikrobiyal özellik taşıması, gözenekli olması ve osteokondüksiyon gibi özellikler gösterilmektedir (Li et al. 2005). Kitinin ortopedi alanında ilgi duyulmasının temel nedenleri arasında gösterilen osteokondüksiyon, vasküler ve perivasküler yapıların alıcı kemikten, grefte doğru ilerlemesini ve greftin bu esnada bir bağlaç görevi üstlenerek yeni kemik oluşumunu desteklemesi gibi önemli bir görevi gerçekleştirmektedir (Aykın vd 2004). Kitinin diğer bir ilgi gören kullanım alanı olarak ise yara iyileşmesidir. Açık yara bölgesine kollajen matriksin birikmesini sağlayarak, anjiyogenezi destekler ve yara iyileşme hızını arttırdığı gösterilmiştir (Lu et al. 2003).

### c. Agaroza

Kırmızı alg ve deniz yosunlarında bulunan agaroz, polisakkaritin bir başka türüdür. Agarozun tıpta kullanımı hidrojel şeklinde kıkırdak yapılarında kullanılmasıdır (Sierra et al. 2015).

Diğer yandan, yapılan çalışmalar agarozun, matrijel yüklü iskele ile aksonların yenilenmesinde, sıçanlarda oluşan omurilik zedelenmesinden sonra fonksiyonel aksonların yeniden bağlanmasına yardımcı olabileceğini gösterdi (Alvarez et al. 1999; Awad et al. 2004).

### 1.2.2.3. Glikozaminoglikandan köken alan

Glikozaminoglikanlar (GAG), tekrarlayan dallanmamış bir grup uzun disakkaritten oluşan polisakkaritleri temsil eder. Rejeneratif tıp alanlarında ve doku mühendisliğinde en çok çalışılan iki GAG Hyalüronik asit (HA) ve Kondroitin sülfat (CS)'dir.

### a. Hyalüronik asit

Hyalüronik asit (HA), tekrarlayan N-asetil-d-glukozamin ve d-glukoronik asitlerin tekrarlayan disakkarit birimlerinden oluşur (Pietrucha 2005). HA, kimyasal modifikasyonlar açısından mükemmel bir adaydır. Kimyasal özelliklerinin mükemmel olmasından dolayı tıp ve doku rejenerasyonunda kullanılmak üzere biyouyumlu bir biyomateryal haline gelmektedir (Murphy et al. 2003).

HA'nın eklem içi enjeksiyonlarında osteokondral defekt problemlerinde anlamlı iyileşmelere neden olduğu gösterilmektedir. HA'nın sıkça kullanıldığı diğer alan ise tıptır. Osteoartrit semptomlarında HA'nın enjeksiyonu protez cerrahisini geciktirdiğini ayrıca HA uygulamaları ile yüz yaşlanmalarında dolgu olarak kullanılması da, HA'nın tıp alanında popüler olmasını sağlamıştır (Iannitti et al. 2011). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, omurilik hasarından sonra, HA'dan oluşturulan hidrojelin sekonder

## 1. GİRİŞ

---

yaranın iyileşmesinde ve omurilik hasarında nöroprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Kushchayev et al. 2016).

### **b. Kondroitin sülfat**

D-glukuronik asit ve N-asetil galatozaminin tekrarlaması, 4- veya 6- pozisyonunda sülfatlanmasıyla GAG'nın ikincisi ve en çok kullanılan biyomateryal kondroitin sülfat (CS)'dir. CS, biyomedikal uygulamalarda anti inflamatuar etki ve kemik minerilazasyonu gibi etkiler sunmakta, kemik ve kıkırdak regülasyonları ile de ilişkilendirilmektedir (Sierra et al. 2015).

Diğer yandan yapılan bazı hayvan çalışmalarında, Atroskopi uygulaması sonrası HA ile kombine edilen CS, apoptotik hücrelerin sayısında azalma ve onarım hücrelerinde artışa sebep olduğu; bu sayede at kıkırdağında sağlıklı biçime dönüşte yardımca olduğu gösterilmiştir (Henson et al. 2012).

### **1.2.3. Kimyasal özelliklerine göre**

#### **1.2.3.1. Polimerler**

Kimyasal bağlar ile aynı veya farklı atom gruplarının bir araya gelmesi ile; düzenli uzun zincirli veya dallanmış şekilde oluşan bileşiklere polimer denir. Polimerler kendilerini oluşturan yapı taşlarının büyüklüklerine göre farklılık gösterirler. Polimerik nanopartiküllerden ilaç yüklü olanları incelendiğinde bazı özellikler ortaya çıkmaktadır. Polimerik nanopartiküller de artmış geçirgenlik, retansiyon etki, azaltılmış ilaç yan etkileri, ilaç toleransı gibi özellikler göze çarpmaktadır (Yoruç ve Uğraşkan 2017).

#### **a. Polimerik biyomateryaller**

Genellikle mikrobiyolojik, canlı doku veya petrokimya ürünleri gibi çeşitli kaynakların kullanımı ile elde edilebilen polimerik biyomateryaller, birden fazla ve değişik kimyasalın kullanılması ile de üretilebilmektedir. Polimerik biyomateryal olarak

## 1. GİRİŞ

---

üzerinde çalışma yapılan monomere, N-İzopropilakrilamid(NIPA), Akrlamid(AA) ve Akrlamit(AAm) örnek verilebilir.

Kendisini oluşturan maddelerin özelliklerine göre gruplandırılan polimere; DNA, polipeptit, selüloz olduğunda doğal polimer, polistiren ve naylon olduğunda ise sentetik polimer olarak gruplandırılırlar.

### **b. Doğal polimerler**

Doğada bulunan biyolojik yapılardan elde edilen doğal polimerler benzersiz işlevsellere sahip olabilir. Doğal polimerler doğada; kollajen, jelatin, dekstran, DNA ve RNA şeklinde bulunabilirler.

### **c. Sentetik polimerler**

Monomerler karbon ve hidrojenlerin bir araya gelmesiyle oluşur. Karbon ve hidrojenlerin bir araya gelmesi ile oluşan en basit tür etilendir. Birden fazla etilen molekülünün bir araya gelerek kovalent bağlar ile bağlanması sonucu ise polietilen oluşur. Oluşan polietilen gibi polimerler organik polimer olarak adlandırılır. Fakat, polimerler sadece karbon ve hidrojen atomlarının bir araya gelmesiyle oluşmamaktadır. Örnek olarak silisyum ve fosfor atomlarının bir araya gelmesi ile birlikte oluşan zincirler ise inorganik polimerlerdir. Atomların bir araya gelerek oluşturdukları polimer zincirler tek formda değil de doğrusal ya da dallanmış yapıda da bulunabilirler.

Biyomateryallerin kullanım alanlarına veya türlerine göre bazı özellikler sergilemesi beklenir. Vücut içerisinde kullanılacak olan polimerler için ise özellikle sıcaklık, pH gibi etkenlerden etkilenmemeleri istenir. Bu etkenlerden etkilenmemeleri amacı ile polimerlerin yapım aşamalarında bazı kimyasal maddeler kullanılır. Vücut içerisinde sıcaklık, pH gibi etkenlere dayanıklılık sağlanması amacı ile kimyasal maddeler ile yapılan modifikasyonlarda kullanılan kimyasallar belli bir zaman sonra vücut içerisinde sızmaya başlamaktadır. Bu da vücut içerisinde toksisiteye sebep olmaktadır ve kullanılacak olan polimer açısından dezavantaj olarak görülmektedir.

## 1. GİRİŞ

---

Diş, göz, ortopedi, kalp-damar gibi alanlarda sentetik polimerlerin farklı kullanım alanları bulunmaktadır. Kullanım alanlarına özgü özellik barındırmalarının yanında farklı tasarım gereksinimleri de istenmektedir. Bu gereksinimlerin ana nedeni yapılacak olan doku, organ veyahut cihazlarda istenilen özellikte ve uygunlukta materyallerin üretilebilmesidir. İstenilen özellikte materyallerin üretimi vücut içerisinde istenmeyen toksik etkilere sebep olabilir. Bundan dolayı sağlık alanında kullanılacak veya geliştirilecek olan sentetik ve doğal polimerlerin biyouyumlu özellikte olması gerekmektedir (Tuncay ve Çalış 1999).

### 1.2.3.2. Metaller

İnsan vücudunda kullanılacak olan biyomateryal için iki önemli özellik aranır. Bunlardan birincisi biyofonksiyonellik iken, ikincisi biyouyumluluktur. Bundan dolayı metallerin korozyona dayanıklı, mukavemetlerinin yüksek olması ortopedi alanında kullanımını yaygınlaştırmıştır. Şu an ortopedi alanında en sık kullanılan bazı metal çeşitleri 316L paslanmaz çelik, Co-Cr alaşım ve Titanyumdur.

#### a. 316L paslanmaz çelik

Günümüzde pratik uygulama olarak bakıldığında paslanmaz çelikler uygulanabilirliği oldukça yüksektir. Biyomedikal alanda, 316L paslanmaz çelik haricinde başka bir paslanmaz çelik uygulaması yoktur. Ancak 316L paslanmaz çelik içerdiği Ni yüzünden alerjik reaksiyonlara sebebiyet verebilir. Alerjik reaksiyonları ortadan kaldırmak amacı ile, Ni içermeyen anti-alerjenik paslanmaz çeliklerin araştırılması devam etmektedir (Kuroda et al. 2004; Prakash et al. 2019).

Biyomedikal alanda paslanmaz çeliğin diğer avantajı ise korozyona dayanıklı olmasıdır. Östenitik olarak üretilen 316L paslanmaz çeliklerde %10 oranında Ni bulunur ve oda sıcaklığında korozyon direncini artırır (Prasad et al. 2017).

### **b. Co-Cr alaşım**

Çözeltilere karşı; Co-Cr alaşımlarında korozyonu %65 oranında engelleyen Co'dur. Co-Cr alaşımlarında Cr'nun miktarının değiştirilip arttırılması ile, çözeltilere karşı korozyonu da arttırmıştır.

Co-Cr alaşımları diş implantlarında, kalça protezlerinde ve eklem protezlerinde kullanılır. Co-Cr alaşımları ikiye ayrılır. Bunlardan birinci CoCrMo iken ikincisi CoNiCrMo' dur. CoCrMo; diş implantlarında ve yapay eklemlerde kullanılır. CoCr'ma Mo'nun eklenmesi ile CoCrMo'nun yapısal olarak tanelerinde küçülme ve mekanik özellik olarak da iyileştiği görölmüştür. CoCrMo'ya göre CoNiCrMo alaşımı, daha çok ağır yükler taşıyan, kalça ve diz eklem yapılarında kullanılmaktadır.

### **c. Titanyum**

Metalik biyomateryallerden Titanyum, sahip olduğu özelliklerden dolayı birçok endüstride geniş çaplı olarak kullanılmaktadır. Tıp, gemicilik, hava gibi geniş endüstrilerde Titanyumun kullanılmasının sebepleri arasında biyoyumlu bir yapı göstermesi, düşük yoğunlukta olması ve geliştirilmiş mekanik özelliklerinin olması gösterilir (Ratner 2001).

Titanyumlar, implantasyon gereksinimlerini hafif, güçlü ve biyoyumlu olması ile doğala en yakın karşılayan çok az sayıdaki metalik biyomateryallerin arasında gelmektedir. Çok geniş bir endüstri sahasına sahip olan titanyumun en sık kullanılan iki şekli saf titantum ve Ti-6Al-4'dir.

Metalik biyomateryallerdeki sıkıntılardan biride; vücut sıvıları ile temas durumunda, klorür iyonları ve protein varlıklarından dolayı, korozyona uğratılmaktadır. Titanyum'da da bu sıkıntılar yaşanmaktadır. Titanyumlarda ise, kendi aralarında temas durumu olduğunda veya diğer metalik biyomateryaller ile temas durumunda, aşırı derece de aşınma eğilimi gösterir (Steinemann 1998; Shah et al. 2016).

### **d. Germanyum (Ge)**

Germanyum özellik bakımından metal ve yarı metal arasında özellik sergilemektedir. Bu özellik de germanyum yarı iletken özellik göstermesine sebep olmuştur. Germanyum her ne kadar yarı iletken olarak görülse de cam kadar hassas ve kırılmandır. Beslenme ve gıda çeşitli alanlarda uzun yıllardır kullanılan germanyumun, farklı şekillerde kullanımları mevcuttur. Çeşitli kullanım alanlarına ve uzun yıllardır kullanımda olan germanyum elementinin farklı avantajları bulunmaktadır. İmmün reaksiyona sebep olmaması, anti mikrobiyal aktivite göstermesi, doğal öldürücülüğe sahip olması ve bazı hücre çeşitlerinde büyüme durdurma gibi özellikleri farklı çalışmalar ile gösterilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise germanyum elementinin kandan hızlı bir şekilde atılabilmesi, hücrelerde birikmemesi gibi durumlar da Germanyumun avantajlı kılmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı germanyumun tıp ve birçok materyal alanlarında kullanımını arttırmıştır (Pat 2016).

### **e. Tungsten (W)**

Tungsten, sert, ağır, çelik gri ya da beyaz renkte bulunan geçiş metallere birisidir. Tungstenin üstün fiziksel ve mekanik özelliklerinden dolayı birçok alanda kullanımını avantajlı kılmıştır. Diğer yandan tungstenin aşınma direnci, yüksek erime noktası, sertlik, korozyona dayanıklılık gibi özellikleri de bulunmaktadır. Tungsten, elektrik akımını oldukça iyi iletmektedir. Tungstenin kullanım alanlarını çoğunlukla ticari alan oluşturmaktadır (Kletzin 1996).

### **1.2.3.3. Seramikler**

Yaygın olarak kullanılan bir diğer biyomateryal tipi ise seramiklerdir. Seramiklerin yaygın olarak kullanılmasının nedenleri arasında yüksek yoğunluk, yüksek saflık, korozyona karşı yüksek direnç ve yüksek dayanım en başta gelmektedir. Seramiklerin bu özelliklerinden dolayı sağlık alanlarında diş implantları ve kalça protezleri uygulamalarında oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Seramiklerin bu kadar avantajlı olmasına rağmen yapısal olarak 3 türe ayrılır.

### **a. Oksit seramikler**

Oksit seramikler genel olarak atıl yapı olarak bulunan ve oksijen iyonlarının meydana getirdiği bir düzlem üzerinde metal iyonlarının dağılımı sonucunda oluşan polikristalize seramiklerdir.

### **b. Kalsiyum-fosfat seramikler**

Kalsiyum fosfat seramiklerinin dezavantajı değişen hızlarda bozunmaya uğramasıdır. Kalsiyum-fosfat seramikleri kalsiyum ve fosfat atomlarının oksitleri şeklinde bulunurlar.

### **c. Cam ve cam seramikler**

3 türün sonucusu olan cam ve cam seramikler,  $\text{SiO}_2$  temelli seramik sınıfına girmektedir. Bu tür seramikler, Lityum/Alüminyum veyahut Magnezyum/Alüminyum içermektedir. Cam ve cam seramikler sert bağ dokularında meydana gelen hasarların onarılmasında kullanılmaktadır. Ancak cam ve cam seramikler her ne kadar sert bağ dokusunda meydana gelen hasarların onarılmasında kullanılsa da ciddi dezavantajlara da sahiptir. Cam ve cam seramiklerin yorulma, çatlama ve uzun vadede darbe ve basınca karşı dayanıklılıklarının tam olarak bilinmemesidir (Tüylek 2017b).

### **1.2.3.4. Kompozitler**

Genel olarak kompozitin anlamı, iki veya daha fazla materyalin birleşimi olarak oluşan yapılar anlamına gelir. Günümüzde kullanılan materyallerden bazılarının avantajları bazılarının ise dezavantajları kullanarak, tamamen avantajlı özel yapılar geliştirmek için kompozitler oluşturulmaktadır.

### **a. Kompozit malzemelerin yapısı**

Günümüzde geleneksel olarak kullanılan 3 tip malzeme bulunmaktadır. Bunlar; metaller, seramikler ve organik malzemelerdir. Geleneksel malzemeleri birbirlerinden ayırt eden üstün ve zayıf özellikleri bulunmaktadır. Teknolojinin ilerlemesi ile birlikte geleneksel malzemelerin üstün özelliklerini bir araya getirerek kompozit malzemeler oluşturulmaktadır.

Kompozit materyaller geleneksel olarak tarif edilen malzemelerin bazı özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla yapılmaktadır. Bu özellikler; mukavemet, korozyon dayanımı, termal dayanım, elektrik iletkenliği, akustik iletkenlik, ağırlık, estetik görünüm ve fiyat olarak listelenmektedir.

Kompozit materyallerde de matris yapı ve takviye faz bulunmaktadır. Kompozit materyallerde herhangi bir şekilde uygulanan kuvvet ara bağlantı ile takviye faza iletilir. Takviye faza iletilen kuvvet burada dağıtılır. Bu şekilde matris yapıdan ara bağlantılar ile takviye faza iletilen kuvvet kompozit materyalde tahribatı önler (Kaya 2016). Takviye faz ise, kompozit materyalin üretimi aşamasında matris fazın tane büyüklüklerini kontrol altında tutar. Tane büyüklüklerinin ve uygulanan kuvveti paylaşarak, kırılma özelliği gösteren matris yapının çözülme ve kırılmaya maruz kalmadan takviye fazına ara bağlantılar aracılığı ile iletilmesini ve kompozitin elastikiyet bir yapı kazanmasını sağlar.

### **b. Matris malzemeye göre kompozit malzemelerin sınıflandırılması**

Kompozit malzemelerde kullanılan matris malzemeler, metal matrisli, seramik matrisli ve polimer matrisli kompozitler olmak üzere 3'e ayrılır (Gil and Mano 2014). Metal matrisli kompozitlerin ana içerikleri metal veya metal alaşımları olan kompozitlerdir. Bu tür kompozitler metal yapının içine takviye faza gömülür. Farklı geometrik şekillerde gömülebilir. Bu şekilde metal matrisli kompozitlerin, metallere oranla daha üstün özellikler göstermesi, seramikler de bulunan elastik modülün yine takviye faza gömülerek metal matrisli kompozitlerin aşınma, dayanma gücünü ve

gerilme kuvvetini artırma gibi özelliklerin yüksek oranda olduğu kompozitler yapılabilir.

Seramik matrisli kompozitlerin ana kaynağı seramiklerdir. Seramik materyallerin özellik bakımından bakıldığında yüksek sıcaklıklara dayanıklı, metal malzemelere oranda daha hafif olduğu bilinmektedir. Bu özelliklerinden dolayı genel anlamda seramik materyaller yüksek sıcaklıklara dayanıklı materyaller de kullanılır. Yüksek sıcaklıklara dayanıklı olması seramik materyaller için bazı dezavantajlar oluşturmaktadır. Seramik materyaller kırılğan ve sert bir yapı oluşturdukları için, esneme payları yoktur ve termal şoklara karşı dayanımları çok azdır. Bu dezavantajların ortadan kaldırılabilmesi amacı ile seramik materyaller lifler ile desteklenir. Seramik matrisli kompozitlerde, matrisin lifler ile desteklenmesi sonucu, seramik kompozitler hem yüksek sıcaklıklara dayanıklı, hem de normal seramiklere oranla daha rijit ve esnek bir yapı oluşturarak normal seramiklere göre daha yüksek özelliklere sahip olurlar (Bealer et al. 2020).

Polimerik matrisli kompozitlerin genel anlamda kaynakları petrokimyasal türevlerdir. Polimerik matris içeren kompozitlerin metal ve seramik matris içeren kompozitlere oranla bazı üstün özellikleri bulunmaktadır. Korozyona direnç, işleme basamaklarının kolay olması, uzun süreli kullanıma açık olması, şekillendirmenin kolay olması, polimerik matrisli kompozitleri diğer matrisli kompozitlere nazaran daha uygun kılmaktadır. Polimerik matrisli kompozitlerin bir başka önemli özelliği de yük kapasitesi bakımından yüksek malzemeler olmalarıdır.

### **c. Takviye edici matris malzemeye göre kompozit malzemelerin sınıflandırılması**

Elyaf takviyeli kompozitler, takviye edici kompozitler arasında en yaygın olarak kullanılan kompozitlerdir. Bu kompozit türevlerinde takviye matrisi olarak kullanılan en yaygın malzeme cam olmasına rağmen ucuzluğundan dolayı matris malzemesi olarak polyster ilk sırada kullanılmaktadır (Peng et al. 2011). Elyaf takviyeli kompozitlerde kullanılan takviye liflerin birden fazla formu bulunmaktadır. Formlarda değişiklik meydana gelmesiyle farklı özellikler göstermektedir.

Parçacık takviyeli kompozitlerde, takviye matrisin tanecikli yapısı parçacık takviyeli kompozitlerde sertliği arttırmaya yönelik olmasına rağmen dayanım olarak düşünüldüğünde herhangi bir etki göstermemektedir.

Genel anlamda parçacık takviyeli kompozitlere bakıldığında, her ne kadar takviye edilerek sertliği artırılması gibi özellikler kazandırsa da parçacık takviyeli kompozitler genel anlamda maliyet azaltmaya yönelik üretilir.

Tabakalı kompozitler, metal materyallere oranla hafif ve yüksek mukavemet göstermelerinden dolayı en eski ve en yaygın olarak kullanılan kompozit materyalledir. Tabakalı kompozitlerin kullanılmasında nem ve ısı gibi faktörlere karşı oldukça dayanıklı olması büyük rol oynamaktadır.

Karma kompozitler, matris veya destekleyici matris için oluşturulan diğer kompozit materyallerin iki veya daha fazlasının birleştirilmesi ile oluşturulur. Karma kompozitlerin yapılış amaçlarının en başında diğer kompozit materyallerin sadece üstün özelliklerini bir araya getirerek bütün kompozit materyallerden daha üstün kompozit materyal elde etmektir (Qu 1993).

### **1.3. Biyomateryallerin Kullanım Alanları**

Biyomateryallerin kullanımlarının çok uzun yıllar öncesine dayandığına dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu kanıtların incelenmesi sonucu biyomateryallerin insan vücudunda işlevsiz hale gelen veya minimum işlev gerektirmesi gereken uzuvların işlevlerini yerine getirememesi sonucu oluşan problemlerin çözümleri için kullanıldığı bildirilmektedir (Tüylek 2017a).

Biyomateryallerin geniş kullanım alanlarının bulunması, teknoloji ile paralel olarak yükselmesine sebep olmuştur. Teknolojinin ilerlemesi ile en büyük gelişmeler, bilişim teknolojileri, nanoteknoloji, tıp ve doku mühendisliğini meydana getirmiştir.

Biyomateryallerin, tıp alanında kullanımları oldukça geniştir. Göz içi lensler, kornea bandajı, implant teknolojileri, kemik dolgu maddeleri, yapay tendon ve bağlar,

## 1. GİRİŞ

---

kalp kapakçıkları, yapay kalp gibi birçok kullanım alanı bulunmaktadır. Biyomateryallerin tıp alanında bu kadar geniş ve yoğun bir şekilde kullanılmasını destekleyen diğer alan ise doku mühendisliğidir. Doku mühendisliğinde temel amaç kök hücre veya canlı hücreler aracılığı ile organ oluşturma, amaca uygun doku oluşumu, dokunun biyolojik işlevinin kazandırılması gibi kritik öneme sahip alanlarda araştırmalar yaparak, insana en uygun biyomateryallerin üretilmesidir (Uslu ve Arbak 2010; Meireles et al. 2018).

### 1.4. Biyomateryallerin Kullanımı Sonucu Oluşan Enfeksiyonlar

İmplant ilişkili enfeksiyonlarda geri dönülebilir ve geri dönülemez olarak 2 ye ayrılır. Peri-implant mukozitis olarak adlandırılan durumlar da oluşan enfeksiyonlar geri dönülebilirdir. Peri-implant mukozitide enfeksiyon implante sistemin etrafındaki yumuşak dokuda gözlenir. Peri-implantitis ise geri dönüşümü olmayan enfeksiyon durumudur. Peri-implantitis durumlar da implante sistemin etrafındaki kemiklerde kayıplar meydana gelir ve geri dönüşümü olmaz (Türkoğlu 2017).

İnsan vücuduna osteointegrasyon edilmiş implante sistemler de yaygın olarak enfeksiyona sebep olan iki tip bakteri vardır. *S.aureus* ve *P.aeruginosa*. *S.aureus*, doğada çok yaygın bir şekilde bulunur. Son zamanlar da yapılan çalışmalar ile antibiyotik dirençliliğinin artması, metisilin dirençli *S.aureusun* tedaviyi güçleştirmesi durumlarından dolayı *S.aureusun* oluşturduğu enfeksiyonlar ölüm ile sonuçlanabilir.

*P.aeruginosa* ise implante sistemlerde virülant faktörler ile birlikte doku hasarına sebep olması, antibiyotik dirençliliğine sahip olması, enfeksiyonel durumlarda mortalitesinin yüksek olması ve kan dolaşımına çok rahat karışması *P.aeruginosa*'nın implante sistemler de ciddi sorunlara sebep olmaktadır (Gültaş vd 2017; Oliveira et al. 2018).

### 1.5. Biyoyumluluk

Biyoyumluluk, bir materyalin vücudun herhangi bir yerine yerleştirildikten sonra toksik özellik sergilememesidir. Materyaller, vücuda yerleştirildikten sonra

## 1. GİRİŞ

---

yerleştirildikleri vücut tarafından bir tepki alır. Bu tepki vücut içerisinde sürekli devam eden sirkülasyonun sonucudur. Bu sirkülasyon esnasında, yerleştirilen materyalin toksik bir etki yaratmaması gerekmektedir.

Materyaller, uygulanan dokunun tipine, uygulanma şekline, amacına, fiziksel ve kimyasal özellikleri, vücut içerisinde gerçekleşen sirkülasyona ve yaşa göre değerlendirmelere tutulur. Materyallerin, biyouyumluluk açısından değerlendirmesindeki bu kriterler herhangi bir toksisite belirtisi göstermemesi materyalin biyouyumlu olduğu anlamına gelir ve biyomateryal adını almasını sağlar.

Biyomateryallerin vücut içerisinde de kullanıldıkları yere ve amacına göre değerlendirilmesi daha uygundur. İskelet sistemi için hazırlanan bir materyalin taşıdığı özellik ve biyouyumluluk ile, damar cerrahisi veyahut kalp cerrahisi için hazırlanan bir materyalin taşıdığı biyouyumluluk ve özellikler birbirinden oldukça farklılık gösterir. Bu farklılıkların özenle seçilmesi büyük önem arz etmektedir. Çünkü iskelet sistemi için düşünülen bir materyalin, korozyona dayanıklılığı, mukavemet açısından sağlam olması istenir. Bu özellikleri taşınamaması, materyalin vücut içerisine yerleştirilmesi sonucunda, vücut sirkülasyonundan dolayı belli bir süre sonra korozyona uğrayarak, dolaşım sistemine karışması ve toksik etki yaratmasına neden olur. Bu toksik etki, korozyona uğrama açısına göre ölüm ile veya materyalin yerleştirildiği bölgede ciddi deformasyonlar bırakması ile sonuçlanabilir.

### 1.6. Biyouyumluluk Testleri

Materyaller vücutta toksik etki yaratıp yaratmayacağını belirlemek amacı ile belirli testlere tabi tutulurlar. Bu testler fiziksel-kimyasal testler ve biyolojik testler olmak üzere 2 ana gruba ayrılır. Biyolojik testler' de kendi içerisinde *İn vitro*, *İn vivo* ve klinik denemeler olmak üzere 3' e ayrılır.

### 1.6.1. *In vitro* testler

*In vitro* sitotoksisite testlerini içeren aşamadır. Burada ki amaç, *in vivo* ya geçiş öncesi materyalin biyouyumluluk açısından ön değerlendirilmelerinin yapılması hedeflenmektedir.

#### 1.6.1.1. 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolyum (MTT)

MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolyum) deneyi, *in vitro* sitotoksisite testi olarak geçmektedir. *In vitro* sitotoksisite testlerinde mitokondriyal aktivite canlılık göstergesi olarak yorumlanmaktadır. MTT, canlı hücrelerdeki mitokondriyal aktiviteyi formazan kristaline çevirir. Mitokondriyal aktivite oranına doğru orantıda formazan kristalleri oluşuktan sonra, çözücü olarak dimetil sülfat (DMSO) konularak formazan kristalleri çözünür. Çözünme sonucunda formazan kristal oranına doğru orantıda mor renk verir. MTT ile hücre canlılığı 540 nm ve 720 nm de spektrofotometre de ölçüm alınarak tespit edilir (Langdon 2003).

#### 1.6.1.2. Laktat dehidrogenaz (LDH)

LDH (Laktat dehidrogenaz), hücrelerde bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Hücre ölümünde veya hücreler toksik bir etki ile karşı karşıya kaldıklarında hücre membran bütünlüğü bozularak ortama LDH salgırlar. LDH genellikle MTT yapılmadan önce besiyeri hacminin %10'unun alınarak başka bir plate aktarılması ve LDH solüsyonu dökülerek verdiği sarı rengin spektrofotometrik ölçümüne dayanan bir sitotoksisite testidir (Larsen 2005).

#### 1.6.1.3. Korozyon

*In vitro* parçalanma ve dayanıklılık testidir. Canlı organizmadaki sirkülasyon taklit edilerek materyalin sirkülasyon içerisindeki dayanımına ve parçalanma süresine bakılır (Dikici vd 2017).

### 1.6.1.4. Hoescht 33258 floresan boyama

Hoescht 33258 floresan bir boyama yöntemidir. Bu yöntem ile hücre çekirdekleri boyanarak hücre bütünlükleri incelenerek mutasyona uğrayıp uğramadığı floresan mikroskop aracılığı ile saptanır (Arslan ve Kadı 2020).

### 1.6.2. *In vivo* testler

*In vitro* testlerin tamamlanması ile ikincil testler olarak adlandırılan *in vivo* testlere geçilir. *In vivo* deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilir. *In vivo* deneylerin kapsamı, deri irritasyonu, deri altı implantasyon, kemik içi implantasyon ve alerji gibi testleri içermektedir. *In vitro* deneylere göre daha zor ve daha geniş data toplanması gereken *in vivo* deney hayvanlarındaki etik kurallar ve maddi olarak deney hayvanlarının pahalı olmasından dolayı dezavantaj oluşturmaktadır (Hensten-Pettersen 2007).

### 1.6.3. Klinik denemeler

*In vivo* ve *in vitro* testlerin yapılmasının ardından kullanım testlerine geçilir. Klinik denemeler insanlarda ve deney hayvanlarında kullanılır. İnsanlar da kullanılacak ise bu durum klinik deneme olarak geçer. Klinik denemelerin hedefi uzun vadede insan vücudu üzerinde geliştireceği olumlu ve olumsuz sonuçların değerlendirilip analiz edilmesidir. İmplant için kullanılacak olan materyalin en son hali gönüllülük esasına bağlı olarak insanlarda uygulanır. Klinik denemelerin dezavantajı ise; uzun süreli olması, maddi olarak büyük külfet barındırması ve karmaşık olduğu için sonuçların analiz işlemleri esnasında zorlanmasıdır (Wataha 2001).

## 1.7. Magnetron Sputter

Magnetron sputter, son zamanlarda ince film kaplama, yüzey analizlerinde ve yüzey temizleme gibi durumlarda kullanılmaktadır. Magnetron sputter, genel anlamda kaplanması istenilen hedef malzemenin iyonize bir gaz tarafından yüzeylerinden

koparılan atomların kaplanması istenilen malzemenin yüzeyine püskürtülmesi ile gerçekleşmektedir.

Magnetron sputterda, koparılan atomlar manyetik alan sayesinde sikloidal yollar şeklinde hedef yüzeye ulaştırılarak, hedef yüzeyin basamak basamak kaplanmasını sağlar. Magnetron sputter, çok uzun yıllar boyunca kullanılan, yüksek erime sıcaklığına sahip hedef malzemelerin kaplanmasına bile olanak sağlamıştır. Magnetron sputter yönteminde, D.C ve R.F olmak üzere iki saçtırma sistemini barındırmaktadır (Kelly and Arnell 2000; Yamagishi et al. 2003).

### 1.7.1. Doğru akım (D.C) diyot saçtırma

Magnetron sputterda, bir çift düzlemsel elektrottan oluşan D.C diyot saçtırma yönteminde, kaplanacak olan malzeme anoda yerleştirilirken, hedef malzeme katoda yerleştirilir. Kaplanacak olan malzemenin özelliklerine göre anot, magnetron sputterin özelliklerinden olan yüksek sıcaklıklarda bile kaplama özelliğine göre ısıtılabilir. Diğer yandan, yüksek sıcaklık gibi dengesizlik yaratabilecek durumları engellemek adına, katodun arka kısmı, kaplanacak malzemenin zarar görmemesi adına su soğutmalı olarak dizayn edilir. Diyot saçtırma yönteminde plazma oluşumu, ortama Argon gazının verilmesi D.C elektrotlar arasında gerilim uygulanması sonucu oluşur. Argon gazının verilmesi ve plazmanın oluşması ile, Argon iyonları, katoda çarpar ve hedef malzemenin atomları koparır. Kopan atomlar, anodun alt tabaka yüzeyine püskürtülerek, ince bir film kaplama yapılır.

### 1.7.2. Radyo frekansı (R.F) diyot saçtırma

D.C diyot saçtırma yönteminde hedef malzeme metal olduğunda plazma oluşumu gerçekleşmektedir. D.C diyot saçtırma yönteminde hedef malzeme metal değil de yalıtkan bir malzeme olduğunda, D.C diyot saçtırmada anot ve katot arasında, pozitif iyonlar hedef malzemenin atomlarının kopartılmasına engel olur ve plazma gerçekleşmez. Bu durumdan kaçınılması adına yalıtkan malzemelerde R.F (Radyo frekans) diyot saçtırma kullanılması, plazmanın oluşmasına veya devam etmesine olanak sağlar (Sönmezoğlu vd 2012).

### 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yapılan bu çalışmada, Doğru Akım magnetron sputter yöntemi kullanılarak Ag filmleri cam alttaşlar üzerine farklı sürelerde kaplandı. Bunun yanında, Ag filmleri cam alttaşlar üzerine kaplanırken iletkenliğinin ve yüzey tutulumunun iyileştirilmesi için 2 nm boyutunda Pt-ara katmanı cam yüzeyine püskürtülerek Ag/Pt/cam numuneleri üretildi. Doğru akım magnetron sputter kullanılarak üretilen kaplamaların, kübik yapıda, yüzey pürüzlülük değerinin  $<1$  nm olduğu ve yüzey direncinin ise 5 ohm/kare'den daha da düşük olduğu belirlendi. Diğer hazırlanan kaplama numunelere oranla Ag/Pt cam numunesinin yüzey direnci 3.02 ohm/kare ve 0.596 nm RMS yüzey pürüzlülük değeri ile elektriksel ve morfolojik özellik açısından daha üstün olduğu görüldü. Yapılan çalışma ile, Ag filmlerinde Pt ara katman oluşturulması sonucunda iletkenliğin artmasının yanında yansıtıcılık özelliğinin de arttığı gözlenmiştir (Özgünoğlu and Uygur 2019).

Antibakteriyel uygulamalar ve katı hal elektronik aygıt üretimi için Germanyum elementi oldukça önemli bir yer kaplamaktadır. Germanyum elementi incelendiğinde özellikle optoelektronik gibi elektronik cihazlarda oldukça yaygın olarak kullanıldığı sonucuna varılmaktadır. Organik alt taş malzemelerden olan PET(Polietilentereftalat) oldukça yüksek geçirgenliğe sahip bir malzemedir. Elektronik cihazlarda PET'lerin kullanılmasının bir sebebi de malzemenin özelliklerinden olan eğilebilir ve bükülebilir olmasıdır. Yapılan bu çalışmada Germanyum elementi PET üzerine kaplanarak yüzey özellikleri ve antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. PET üzerine kaplanan Germanyum elementinin antibakteriyel özelliklerinin incelenmesi amacı ile *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* kullanılarak test edilmiştir. PET üzerine kaplanan Germanyum tabakasının kalınlığı 200 nm, tanecik boyutu ise 40 nm civarında bulunmuştur. Kaplanan Germanyum yapılarının kristal yönelimleri (022), (133) ve (224) olarak belirlenmiştir. PET üzerine kaplanan Germanyum elementinin XRD ve EDX analizleri sonucunda, PET ile herhangi bir şekilde reaksiyona girmediği görülmüştür. Bunun yanında PET üzerine Germanyum kaplanarak üretilen ürünün yüzey pürüzlülüğü, tane yüksekliği, geçirgenlik ve soğurma analizleri yanında atomik kuvvet ve taramalı elektron mikroskopu görüntüleri ile yüzey analizleri yapılarak bu çalışma kapsamında belirlenmiştir (Pat 2016).

Tavşan modelinde magnetron püskürtme ile kaplanan kalsiyum fosfatların, tavşanların üzerinde verdiği kemik tepkisi değerlendirilmiştir. Tavşan modelindeki kemik tepkisinin incelenmesi için sırası ile 4 adet kaplama incelenmiştir; HAPS, HA-PS/ht, Ca-Pa ve Ca-Pc. Tavşanların lateral ve medial femoral kondilleri için tasarlanmış olan 72 adet silindirik implant 18 adet Yeni Zelanda türü tavşana implante edilmiştir. Tavşan modelinde kullanılmak üzere incelenen 4 tip kaplama, tavşanlara implante edildikten sonra sırası ile 3, 6 ve 9. Haftalarda histolojik olarak kemik implant ara yüzleri incelenmiştir. Histomorfometrik ölçümler yapılarak tavşanlara implante edilen kaplamaların kemik temasları, kemik arayüzü ile implant çevresini kaplayan kemik miktarları belirlenmiştir. Yapılan incelemelerde, implante edilen bütün kaplamaların stabil kemik iyileştirme sürecinde olduğu belirlenmiştir. İncelenen 4 çeşit kaplama incelendiğinde 6. ve 9. haftalardaki sonuçlar arasında önemli bir fark görülmediği belirlendi. Ca-Pc kaplı implantlarda kemik miktar ölçümleri için implanteden dairesel bir bölge belirlenmiştir. 6. hafta da olan implante kaplamalar daha sonra incelenen farklı 3 çeşit kaplama ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde kemik miktarında fazlalık tespit edilmiştir. 6. haftada belirlenen fark 9. haftada incelendiğinde neredeyse ölçülemeyecek düzeye gelmiştir. Yapılan bu incelemeler sonucunda, Yeni Zelanda Albino Tavşanlarında ki trabüler femur kemiğine yerleştirilen plazma püskürtmeli Ca-P kaplamalar ile magnetron püskürtme kullanılarak kaplanan Ca-P kemik iyileşme sürecinin aynı sürede gerçekleştiği sonucuna varılmıştır (Hulshoff et al. 1996).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

İnsan HDFa (Primer dermal fibroblast) hücre hattına, Germanyum-Tungsten kaplamaların implant teknolojileri için biyouyumluluğu incelenmeye çalışılmıştır. Amaçlanan bu çalışma Erzurum Teknik Üniversitesi YÜTAM (Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezi) Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Hücre Kültür Laboratuvarında ve Temel Bilimler Fizik Bölümü Steril Oda'da gerçekleştirilmiştir.

##### 3.1.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

- Magnetron Sputter (NVTS-400-2TH2SP-Nanovak)
- Tribometre (Bruker UMT)
- 37 C %5 CO2 İnkübatör
- Class II Laminer Kabin
- Spektrofotometre
- XRD/EDS (XRD EXPLORER)
- SEM (SEM-Quanta FEG 250)
- Santrifüj
- İnvirt Mikroskop
- Su banyosu
- Ultrasonikatör

##### 3.1.2. Çalışmada kullanılan materyal

- Bor Silikatlı Lamel
- KIMTECH Peçete
- 12 ve 6 kuyucuklu plak

#### 3.1.3. Çalışmada kullanılan hücre ve mikroorganizmalar

- HDFa (İnsan Primer Fibroblast) Hücre Hattı
- *S. Aureus* (ATCC 25923)
- *P. Aeruginosa* (ATCC 27853)

#### 3.1.4. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

- DMEM
- FBS
- Penicilin Streptomisin
- PBS
- Hoescht 33258 Floresan Boya
- Methanol (%70)
- dH<sub>2</sub>O
- Germanyum Target
- Tungsten Target

### 3.2. Metot

#### 3.2.1. Biyomalzemelerin üretilmesi

##### 3.2.1.1. Kaplama yapılacak lamellerin hazırlanması

Germanyum-Tungsten kaplanacak olan materyal sıcaklığa dayanıklı bor silikat içeren lameller kullanılarak yapılmıştır. Bor silikatlı lamellerin kaplama öncesi temizliği ve saklanması işleminde aşağıda belirtilen prosedür uygulanmıştır.

##### 3.2.1.2. Bor silikatlı lamellerin temizlenmesi

Lameller temiz bir cam beher içerisine alınmıştır. İçerisinde lamellerin yüzeyini kaplayacak şekilde distile su konularak 5 dakika süre ile manuel olarak çalkalanmıştır.

Çalkalama işleminin bitiminde distile su dökülerek lamellerin yüzeyini kaplayacak şekilde %70' lik etil alkol dökülmüştür. Cam kabın kapağı kapatılarak ağzı parafilm ile sarılmıştır. Parafilmleme işleminden sonra cam kap ultrasonikatör cihazına yerleştirildi ve 5 dakika boyunca sonik dalgalara maruz bırakılmıştır.

Ultrasonikasyon işleminin bitiminde lameller cımbız ile alınarak tortu tutmayan KIMTECH peçetelerine sarılarak muhafaza edilmiştir.

#### 3.2.3. Germanyum-tungsten oranının belirlenmesi

Bor silikatlı lamellerin hedeflenen elementler ile %50-%50 oranında kaplanabilmesi amacı ile ilk olarak hedef elementlerin yoğunlukları ve z-faktörleri Kristal Kalınlık Ölçer kitapçığından belirlendi belirlenmiştir. Sırası ile elementlerin yoğunlukları ve z-faktörleri;

1) Germanyum (GE): 5,35/0,516

2) Tungsten (W): 19,3/0,163 olarak belirlendi.

Belirlenme işleminden sonra cihaz açılarak hazır hale getirilmiştir. Cihazın RF ve DC güç kaynaklarına RF-Germanyum ve DC-Tungsten olacak şekilde Anot ve Katot temas etmeyecek şekilde (1 mm mesafede) yerleştirilmiştir. Kısa devre oluşumunun tespit edilebilmesi amacı ile akım ölçer ile test yapılmıştır. Kısa devre oluşumunun olmadığı teyit edildikten sonra 12 adet lamel cihaz altlığına yerleştirilerek döner havza üzerine sabitlenmiştir. Sabitlenme işleminden sonra cihaz kapağı kapatılmıştır. Ardından cihazın programı sayesinde cihaz uygun sıcaklık ve atmosfer basıncına ( $10^{-6}$  mT) getirilmiştir. Temel işlemlerin bitiminden sonra RF ve DC güç kaynaklarının plazma oluşturma ve %50-%50 oranında kaplama yapacağı oranlar belirlenmesi için sırası ile aşağıda ki gibi denemeler yapılmıştır.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

**Çizelge 3.1.** W için DC güç kaynağından mT oranının belirlenmesi

W	A <sup>0</sup> /S	V/A(Mili)	mT
1.Deneme	1,1	300/200	25
2. Deneme	1,1	300/200	20
3.Deneme	1,1	300/200	15
4.Deneme	1,0	300/200	10
5.Deneme**	1,0	300/200	5

**Çizelge 3.2.** Ge için RF güç kaynağından mT oranının belirlenmesi

Ge	A <sup>0</sup> /S	W(Walt)	mT
1.Deneme	0,4	30	25
2.Deneme	0,4	30	20
3.Deneme	0,6	30	15
4.Deneme	0,7	30	10
5.Deneme	0,8	30	5
6.Deneme**	1,0	38	5

Yapılan denemeler sonucunda tablo 3.1. ve 3.2' de \*\* belirlenen oranlarda A<sup>0</sup>/S oranlarının eşit olduğu mT değerleri belirlenerek cihaz sonlandırılmıştır. Kaplama işleminin gerçekleştiği bor silikatlı lamelde %50-%50 oranın belirlenmesi için SEM' de görüntülenmek üzere saklanmıştır.

#### 3.2.4. Germanyum-tungsten ile bor silikatlı lamellerin kaplanması

Hazırlanan örneklerin kaplamaları Erzurum Teknik Üniversitesi Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezi'nde bulunan Magnetron Sputter (NVTS-400-2TH2SP-Nanovak) cihazı ile gerçekleştirilmiştir. İşleme başlamadan önce cihaz açılarak, argon ve su vanaları aktif hale getirilmiştir. Vanaların aktif olması ile birlikte cihaz programı açılarak RF ve DC güç kaynaklarında kısa devre oluşumunun oluşup oluşmayacağı akım ölçer ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonunda RF ve DC güç kaynaklarının üst havzaları açılarak RF güç kaynağına Germanyum ve DC güç kaynağına Tungsten elementleri yerleştirilmiştir. Yerleştirme işlemi esnasında targetlar ile üst havza kapağı arasında 1mm mesafe olmasına dikkat edilmiştir. Yerleştirme işleminin bitimin de kaplanacak olan bor silikatlı lamellerin arka yüzeyleri işaretlenerek, döner levha üzerine sabitlenmiştir. Ti target diğer RF güç kaynağına bağlanmıştır. W-Ge kaplanmadan önce tutunma yüzeyi oluşturmak için 200 nm Ti ara katman atılmıştır. Cihaz vakum altına alınmıştır. Daha önceden belirlenmiş olan (Germanyum (GE) için; 1,0 A<sup>0</sup>/S →38 W (5mT) ve Tungsten (W) için; 1,0 A<sup>0</sup>/S→ 300 V/200A (5mT) Germanyum-Tungsten oranları ve kaplama kalınlığı 1 µm cihaz programına girişi yapılarak cihazın uygun basınca ve sıcaklığına ulaşması sağlanmıştır. Uygun basınç ve sıcaklık ile birlikte kaplama işlemi başlatılmıştır. Kaplama işlemi esnasında RF ve DC güç kaynakların plazma oluşumu cihazın gözlem küresi sayesinde gözlemlenmiştir.1 saat 35 dakika kaplama süresi ile birlikte işlem sonlandırılmıştır. Vakum kırıldıktan sonra cihaz haznesinden alınan örnekler KIMTECH tortu bırakmayan peçetelere özenle sarılmıştır. Kırılmalarını önlemek amacı ile örnekler ayrı ayrı 50 ml.' lik falconlara alınarak saklanmıştır.

#### 3.2.2. Biyomalzemelerin fiziksel karakterizasyonu

##### 3.2.2.1. Tungsten-germanyum kaplamalarda Sem

Magnetron Sputter ile kaplanan lamellerin; elementlerin %50-%50 oranında kaplandığının ve kalınlığının belirlenmesi amacı ile Taramalı Elektron Mikroskop (SEM)(SEM-Quanta FEG 250) kullanılmıştır. Aşağıda verilen büyütme oranlarında lamellerden görüntüler alınarak işlem sonlandırılmıştır.

##### Yapılan Büyütme Oranları

- 1) 2,000 – 50  $\mu\text{m}$
- 2) 4,000- 40  $\mu\text{m}$
- 3) 8,000- 20  $\mu\text{m}$
- 4) 10,000- 10  $\mu\text{m}$
- 5) 20,000- 5  $\mu\text{m}$
- 6) 30,000- 5  $\mu\text{m}$  (kalınlık)
- 7) 40,000- 4  $\mu\text{m}$

##### 3.2.2.2. Tungsten-germanyum kaplı lamellerin XRS/EDS

Kaplama işlemi yapılan lamellerde ki element oranlarının tayini için X-Işını Kırınım Yöntemi (XRD) uygulanmıştır. Erzurum Teknik Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma Merkezi bünyesinde bulunan XRD EXPLORER kullanılarak yapılmıştır. Ölçümler aşağıda verilen büyütme oranlarında yapılmıştır.

#### İncelenen Büyütme Oranları

- 1) 1  $\mu\text{m}$
- 2) 5  $\mu\text{m}$
- 3) 10  $\mu\text{m}$

Sonuçlar EDAX TEAM' in programı ile çizilerek işlem tamamlanmıştır.

#### **3.2.2.3. Germanyum-tungsten kaplı lamelerde çizilme testi**

Çizilme testi için Erzurum Teknik Üniversitesi Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezi'nde bulunan Tribometre (Bruker UMT) kullanılarak yapılmıştır. Daha önceden belirlenen parametreler ışığında geriye doğru 250N/dk yük hızı, 50 N maksimum yük ve 10 mm çizik uzunluğu ile çizilme testi tamamlanmıştır.

#### **3.2.2.4. Tungsten-germanyum kaplı lamelerin korozyon testi**

Germanyum-Tungsten kaplanmış olan lameller 12'lik well plate cımbız yardımı ile konulmuştur. Kaplanmış olan örneklerin üzerine 1 ml %10'luk DMEM besiyeri konulmuştur. 1 hafta 37 C° %5 CO<sub>2</sub> inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. 1 hafta sonunda besiyerleri mikropipet ile çekilerek atılmıştır. Kaplanmış olan örneklerde korozyon oluşumunun gerçekleşip gerçekleşmediğinin belirlenmesi için SEM görüntüleri çekilmiştir.

#### 3.2.3. Hücre kültürü-sitotoksisite testler

##### 3.2.3.1. HDFa hücre hattı için besiyeri hazırlanması

HDFa hücre hattı için %10' luk DMEM besiyeri kullanıldı. DMEM besiyerini hazırlamak için; DMEM besiyeri +4 Co buzdolabından çıkartılarak su banyosuna konulmuştur. FBS ve Penicilin Streptomisin -20C buzdolabından çıkartılarak su banyosuna kondu ve su banyosu 37C' ye ayarlanmıştır. Besiyeri, FBS ve Penicilin Streptomisin su banyosunda ısınırken Class II laminer kabin açılarak hazır hale getirilmiştir. Hazır hale getirilen laminer kabin içerisine 50 ml'lik falkon ve 25 ml-5 ml serolojik pipet alkollenerek alınmıştır. Su banyosundaki ısınma işlemi bittikten sonra besiyeri %10 olacak şekilde hesaplandı ve 45 ml DMEM besiyerinden, 5 ml FBS'den ve 1ml Penicilin Streptomisinden konularak %10'luk DMEM besiyeri hazır hale getirilmiştir.

##### 3.2.3.2. İnsan fibroblast (HDFa) hücre hattının büyütülmesi

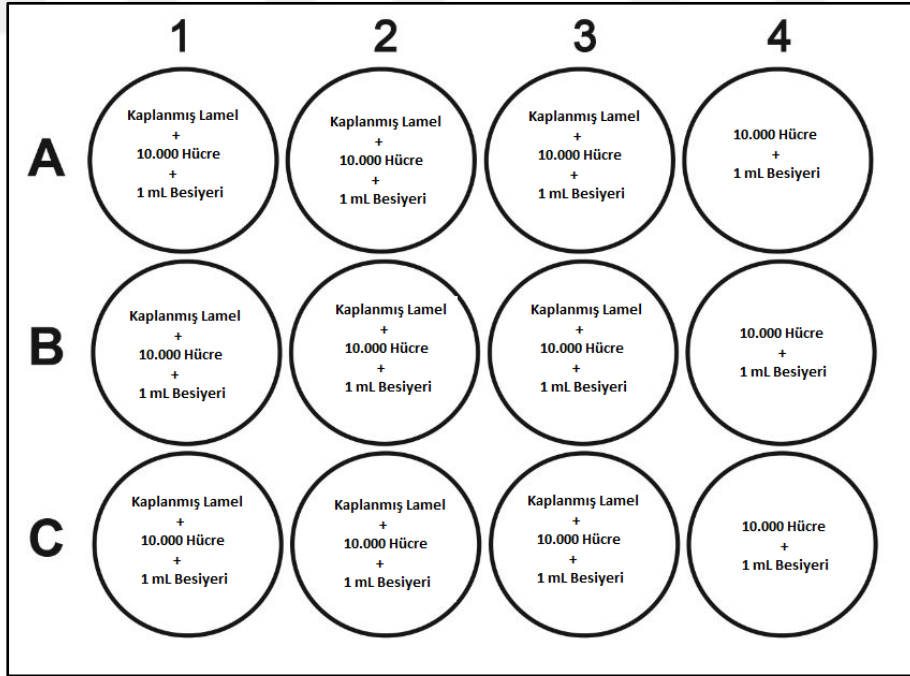
Class II laminer kabin içerisine steril T-25 flask alınmıştır. Önceden hazır edilen taze besiyeri boş steril flaskın içerisine 10 ml olacak şekilde konularak flask hazır hale getirilmiştir. Flaskın hazır hale getirilmesinin ardından -80C' den donmuş HDFa hücre hattı çıkartıldı ve su banyosunda çözdürülme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çözme işlemi 1-2 dakika içerisinde gerçekleştiikten sonra alkollenerek laminer kabin içerisine alınmıştır. Kabin içerisinde alındıktan sonra hızlı bir şekilde cryovial tüp açıldı ve flaskın içerisine hücre ekimi gerçekleştirilmiştir.

##### 3.2.3.3. İnsan fibroblast (HDFa) hücre hattının kaplamalara ekilmesi

HDFa hücre hattının büyüebildiği besiyeri olan DMEM (%10 FBS) +4 buzdolabından çıkartılarak su banyosunda 37C' ye ısıtılmıştır. Isıtma işlemi esnasında Germanyum-Tungsten ile kaplanmış olan lameller ilk 5 dk. süre ile %70'lik alkol de, ardından Otoklav yapılmış olan distile su ile 5 dk. süre ile yıkanmıştır. Isınan DMEM besiyeri Class II Laminer Kabin içerisine alınmıştır. %70' lik alkol ve distile su ile yıkanmış olan kaplanmış lameller Class II laminer kabin içerisine alınmıştır. 12-

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

kuyucuklu plaka alkollenerek laminer kabin içerisine alınmıştır. 12-kuyucuklu plakanın kuyucuklarına uygun şekilde kesilen kaplanmış lameller cımbız yardımı ile plate'in içerisine konulmuştur. Pozitif kontrol olarak kaplanmamış lamel cımbız yardımı ile kuyucuğa yerleştirilmiştir. Negatif kontrol olarak ise sadece besiyeri konulmuştur. Kaplanmış örneklerin ve negatif-pozitif kontrollerin üzerine %10'luk DMEM besiyerinden 1ml konularak kuyucuklu plaka hücre ekimi için hazır hale getirilmiştir. Bu işlemler gerçekleştiikten sonra T-25 flaskta büyütülen HDFa hücre hattı inkübatörden çıkartılarak Class II laminer kabin içerisine alınmıştır. Flaskın içerisinde ki besiyeri dökülmüştür. Hücreler yaklaşık 3-4 ml PBS ile yıkanmıştır. İçerisine 3 ml Tripsin-EDTA konularak 3 dakika süre ile inkübatöre kaldırılmıştır. 3 dakika sonunda tripsin'i inaktive edebilmek için tripsinin 2 katı besiyeri flaskın içerisine konulmuştur. 15'lik falkona hücreler toplanarak, 5 dk. 2500xg' de santrifüj edilerek çöktürülmüştür. Santrifüj işleminin bitiminde 15'lik falkonda ki süpernatant dökülerek pelet taze besiyeri ile süspanse edilmiştir. 12'lik well plate' de bulunan örneklere ve negatif-pozitif kontrollere 1 ml hücre ekilerek 3 gün süre ile 37 C %5CO2 inkübatöre kaldırılmıştır.



Şekil 3.1. Hücre ekimi için hazırlanan 12-kuyucuklu plaka

#### 3.2.3.4. Germanyum-tungsten kaplamalarda hoescht boyama

Germanyum- Tungsten ile kaplanmış olan bor silikatlı lamellerin HDFa hücre hattı üzerindeki kromozom anomalileri tespit edebilmek için hoescht 33258 boyama yapılmıştır. Hücreler hoescht boyama için hazır hale getirilmeden önce hoescht için gerekli olan solüsyonlar ve boya hazır hale getirilmiştir.

**\*\*%4'lük paraformaldehit ya da glutaraldehit hazırlama (50 ml için)**

48 ml PBS içerisine 2 ml glutaraldehit veya paraformaldehit konularak 50 ml'lik fiksasyon solüsyonu hazırlanmıştır.

**\*\*Hoescht 33258 boya hazırlama (10 ml için)**

$5000/2500=2$  dilue oranına göre hazırlandı. 10 ml hoescht boya hazırlamak için 8 ml PBS içerisine 2 ml hoescht 33258 floresan boya konularak hazırlanmıştır.

12'lik well plate 37C %5 CO2 inkübatörden çıkartılarak Class II laminer kabin içerisine alınmıştır. Kuyucuklarda bulunan besiyerleri mikropipet ile çekilerek atılmıştır. Her kuyucuk 1 ml PBS ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her kuyucuğa 2 ml %4'lük glutaraldehit solüsyonu konulmuştur. Kuyucuklu plaka 30 dakika süre ile +4C buzdolabına kaldırılmıştır. 30 dakika bekleme süresinin bitiminde glutaraldehit mikropipet ile çekilerek atılmıştır. Ardından kuyucuklar 1 ml PBS ile tekrardan yıkanmıştır. Yıkama işleminin bitmesi ile birlikte her kuyucuğa örneklerin üstü kaplanacak şekilde hoescht 33258 floresan boya konuldu ve karanlıkta 5 dakika süre ile oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Bu esnada hücre kültürü laboratuvarı hoescht 33258 floresan boyama için karanlık hale getirilmiştir. İvert mikroskop uygun merceğe getirilerek ayarlanmıştır. 5 dakika sonunda hücreler invert mikroskopta incelenmiştir.

#### 3.2.3.5. Tungsten-germanyum kaplı lamellerde hücre canlılığı

Hücre canlılığının ölçülmesi amacı ile *in vitro* sitotoksosite testlerinden biri olan MTT' ye başvurulmuştur. Kaplanmış ve kaplanmamış olan lamellerin üzerine 0.5 ml taze DMEM besiyerinden ve %10 MTT solüsyonu dökülerek 37 C° %5 CO<sub>2</sub> de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bitiminde besiyerleri dikkatli bir şekilde mikropipet ile çekilmiştir. Oluşan formazan kristallerini çözmek için dimetil sülfoksit kullanıldı ve spektrofotometre de ölçüm alınarak analiz edilmiştir.

#### 3.2.4. Antimikrobiyal testler

##### 3.2.4.1. Bakteriyel kültür hazırlama

*S. aureus* ve *P. aeruginosa*, gece boyunca 37 C°'de Mueller Hilton Broth (MHB,Oxoid) ortamında kültürlenmiştir. Bakteriyel süspansiyon, antimikrobiyal ve biyofilm özelliklerinin değerlendirilmesi için MHB'de 0,5 McFarland standardına ayarlanmıştır.

##### 3.2.4.2. Halo inhibisyon bölgesi testleri

Antimikrobiyal aktivitesi, halo inhibisyon bölge testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm numuneler, gece boyunca %70 etanol kullanılarak steril edildi ve ardından steril su ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra halo inhibisyon testi *S. aureus* ve *P. aeruginosa* kullanılarak yapılmıştır. Gecelik kültürler 0,5 McFarland'a ayarlandı ve MHB plakalarına ekilmiştir. Ardından inhibisyon bölgeleri kontrol edilmiştir.

##### 3.2.4.3. Antibiyofilm aktivitesinin sem ile değerlendirilmesi

Antibiyofilm aktiviteleri için Tungsten-Germanyum ile kaplanmış olan borosilikat camlar 10 dakika süre ile %70 EtOH'da inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 24 saat UV'ye maruz bırakılarak sterilize edilmiştir. 24 saat sonunda Tungsten-

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

---

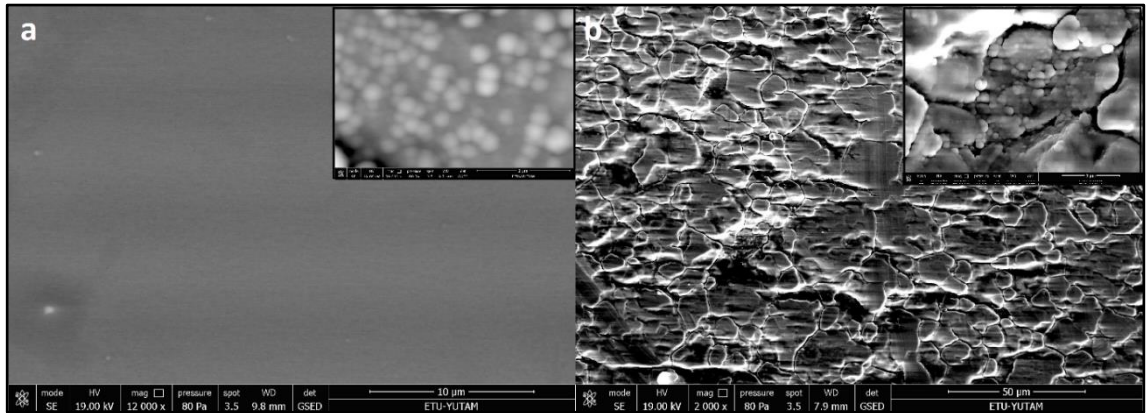
Germanyum ile kaplanmış borosilikat camlar 6-kuyucuklu bir plakaya yerleştirildi ve ardından 0,5 McFarland bakteri hücreleri ekilmiştir. 37 C° 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda numunelerden biyofilm toplamak için %0,25 Tripsin solüsyonu ile yıkanmıştır. Çözelti, 600 nm OD ölçümü ile değerlendirildi. W-Ge kaplı borosilikatlı camlar 30 dakika süre ile %70'lik EtoH ve hemen ardından 48 saat UV'ye maruz bırakılarak sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra 6- Kuyulu Plaka'da MHB oranı yapılarak numuneler ve bakteriler ekilerek inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak borosilikatlı camlar kullanılmıştır. İnkübe edilen numuneler iki kez PBS ile muamele edilerek yıkanmıştır. Sabitlemek için oda sıcaklığında 30 dakika süre ile %2,5 glutaraldehit ile muamele edilmiştir. Sabitlemenin bitiminde sırası ile %20,50,80,90,99.9 etanol ile 10 dakika boyunca dehidre edilmiştir. Dehidrasyon işleminden sonra numuneler SEM ile gözlenmiştir.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu çalışmada Magnetron Sputter kullanılarak kaplanan bor silikatlı lamellerin tribolojik, biyoyumluluk ve anti-mikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda tribolojik özelliklerinin belirlenmesi için, SEM, XRD/EDS, Çizilme Testleri; Biyoyumluluk özelliklerinin belirlenmesi için, Korozyon, Hoescht 33258 Floresan Boyama, MTT ve Anti-mikrobiyal aktivitelerinin belirlenebilmesi amacı ile de Halo İnhibisyon Testleri yapılmıştır. Sonuçlar Tribolojik, Biyoyumluluk ve Anti-Mikrobiyal şeklinde sıralanarak aşağıda gösterilmiştir.

##### 4.1. Tribolojik Bulguları

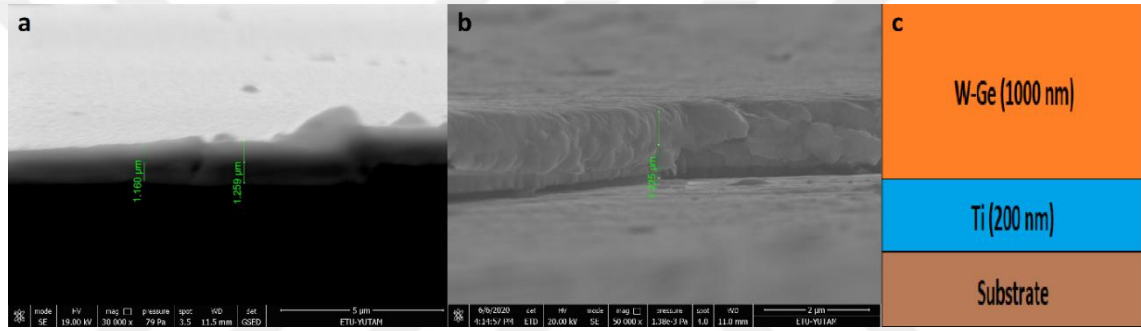
Şekil 4.1. Ti ve W-Ge kaplama örneklerinin 316 L paslanmaz çelik ve borosilikat cam yüzeylerinin SEM görüntüleri gösterilmiştir. Şekil 4.1.b'de görülebileceği gibi, kaplama sonrasında 316L paslanmaz çelik morfolojisi hala tipik 316L mikro yapıya sahip olduğu görülmüştür (Elias et al. 2008). Şekil 4.1.a, kaplanmış bor silikatlı camın morfolojisi gösterilmiştir. Bilindiği gibi bor silikatlı cam amorf bir malzemedir, bu nedenle malzemenin atomik düzeni yoğun bir şekilde paketlenmiştir (Berthier and Biroli 2011). 316L mikro yapının aksine, bu kaplanan numunelerin yüzeylerinde çatlak ve gözenek gibi deformasyonlara neden olmadığından, substrat yüzeyinde herhangi bir tane sınırı olmaksızın oldukça pürüzsüz ve homojen bir yüzey profiline yol açmaktadır.



**Şekil 4.1.** W-Ge kaplı taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri: a) borosilikat cam 10µm ve 2µm (iç resim), b) 316 L paslanmaz çelik 50µm ve 5µm (iç resim).

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Şekil 4.2.'de gösterildiği üzere; borosilikatlı ve 316 L paslanmaz çelik substrat olmak üzere iki katmandan oluşan kaplama örneklerinin, sırası ile birinci ve ikinci katmanda, 200 nm Ti ve 1000 nm W-Ge birleşimi olduğu gösterilmiştir. Şekil 4.2.'a ve Şekil 4.2.'b de gösterilen SEM görüntülerinden, malzemelerin çökeltme ortalama kalınlıklarının, çökeltme işlemi esnasında kristal kalınlık monitörü kullanılarak ölçüldüğünde yaklaşık olarak 1200 nm (200nm Ti ve 1000 nm W-Ge) olduğu gösterilmiştir. Oluşan birikim kalınlığı, aşınmaya dirençli kaplama testleri için makul ölçüde yeterli olduğu görülmüştür (Ching et al. 2014). Borosilikatlı cam üzerinde W-Ge kaplamalarının incelenmesi sonucu, kaplama yapılan W-Ge yapılarının pürüzsüz, gözeneksiz ve yoğun bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir.

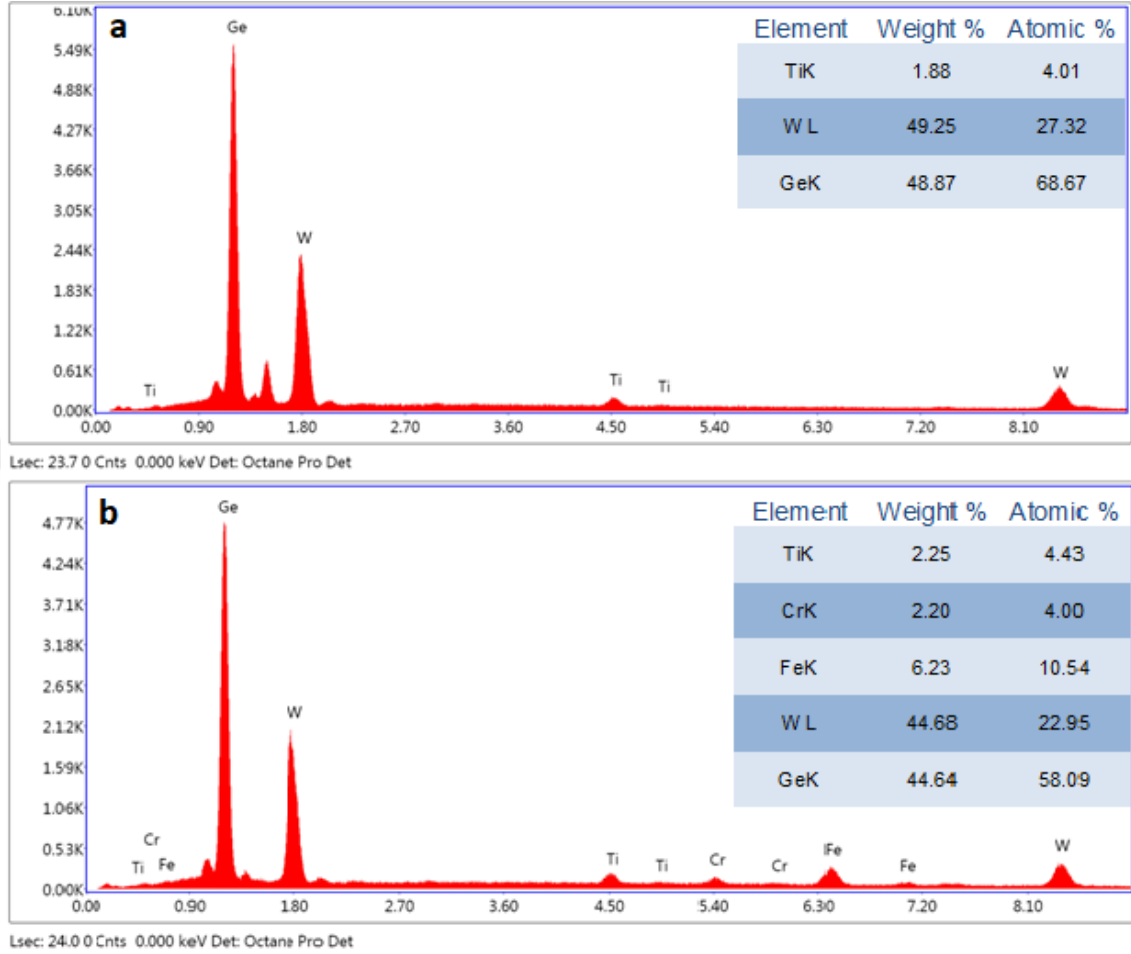


**Şekil 4.2.** Kaplama malzemelerinin SEM kesiti a) borosilikat cam, b) 316 L paslanmaz çelik ve c) Alt yüzeylerde W-Ge ve Ti kaplama katmanlarının şematik gösterimi.

Şekil 4.3.'de borosilikat ve 316 L paslanmaz çelik substratlar üzerinde EDS sonuçları gösterilmiştir. Şekil 4.3.a'da borosilikat yüzeyindeki atomik içerikleri gösterilmiştir. Şekil 4.3.a'da gösterilen EDS grafik sonucunda, sırası ile Ti, W ve Ge katmanlarından atomik içerik yüzdesi olarak %4.01, %27.32 W ve %68.67 Ge bileşim katmanından geldiği anlaşılmıştır. Diğer yandan, Şekil 4.3.b'de 316 L paslanmaz çelik substrat üzerindeki kaplama çökeltisinin atomik içeriği gösterilmiştir. Şekil 4.3.b'de gösterilen EDS grafiğinden, tampon ve substrat katmanından sırası ile %4.43 Ti, %4.0 Cr, %10.54 Fe gelirken, bileşim katmanından sırası ile %22.95 W ve %58.09 Ge gelmiştir. Bir kristal kalınlık monitörü ile ölçülen kalınlık ile bileşimde elde edilen W-Ge element ağırlıkları hemen hemen aynı bulunmuştur (%50-50). Kaplama işlemi esnasında, magnetron püskürtme cihazının püskürtme gücü ve gaz akış hızları gibi parametrelerinden dolayı bileşimlerin element içerikleri etkilenmiştir (Chan and Teo 2005). Magnetron püskürtme işleminde W ve Ge için aynı element ağırlıklarının elde

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

edilebilmesi için DC püskürtmede W ve Ge için 300 V ve RF için 115 W kullanılarak 5 mTorr Argon (Ar) ortamında biriktirilmiştir.

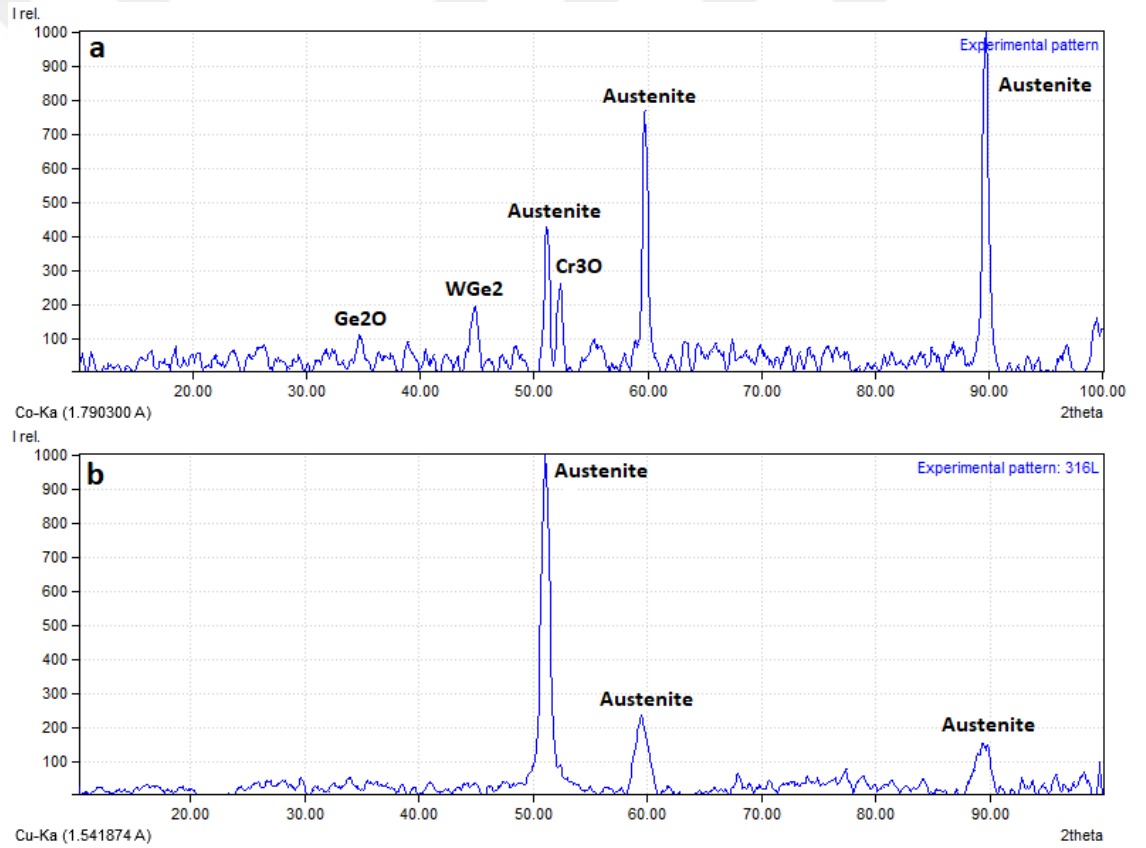


**Şekil 4.3.** W-Ge kaplı numunelerin EDS görüntüleri: a) Borosilikat substrat, b) 316 L paslanmaz çelik alt tabaka.

Karşılaştırma amaçlı olarak kaplanmamış 316 L paslanmaz çelik substratın XRD spektrumu Şekil 4.4.b’de gösterilmiştir. Kaplanmamış 316 L paslanmaz çelik için bildirilen tepe değerlerinin Şekil 4.4.b’de de 51°, 59° ve 89° 2 θ Fe gözlemlendiği gösterilmiştir (Hilders et al 2015). 200 nm Ti tampon katmanı ve 1000 nm W-Ge bileşim katmanı ile kaplanmış 316 L paslanmaz çelik substratın XRD spektrumu Şekil 4.4.a’da gösterilmiştir. Şekil 4.4.a’da görüldüğü üzere, kaplamanın küçük kalınlığı ve gözenekli yapıların bulunması, alt tabakadan yüzey tabakasına doğru ostent bir difüzyona neden olmuştur. 316 L substrat üzerinde ki pasit oksit tabakadan gelen Cr<sub>3</sub>O’yü (JCPDS: 96-152-8030) 52° 2 θ tepe değeri göstermiştir. Bahsedildiği üzere ve Şekil 4.3.’te gösterildiği gibi, W ve Ge için çökeltme oranı %50-%50 olacak şekilde düzenlenmiştir. Şekil 4.4.a’da 44.86(derece)’lik 2’ (110) tepe değeri ile gösterilen

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

WGe<sub>2</sub>'nin; W ve Ge'nin reaktif püskürtme esnasında, WGe<sub>2</sub> kimyasal bileşiminin, 00-071-1271 JCPDS değeri ile eşleşmesine sebep olmuştur. Ge'nin W'ye karşı atomik yapısının iki kattan fazla olması, Şekil 4.3.'te de gösterildiği gibi bulunmuştur. W ile kimyasal olarak birleştirilmemiş olan Ge atomları, büyük olasılıkla 316L substrat üzerinde ki oksit tabakası tarafından oksitlenmesinden kaynaklanmaktadır. Oksitlenmiş olan Ge atomları, Şekil 4a'da 2  $\theta$  tepe değeri 34° ile gösterilen küçük tepeye karşılık gelmiştir (JCPDS:96-900-6858). Kaplamanın kristal yapıya sahip olduğunu, XRD analiz sonuçları ile gösterilmiştir. Kristalin taneler yapısı Şekil 4.1.a ekli resimde açıkça gösterilmiştir. WGe<sub>2</sub>'nin (110) oryantasyonu XRD sonuçlarına göre W-Ge kaplamada baskın pik olduğunu göstermiştir.

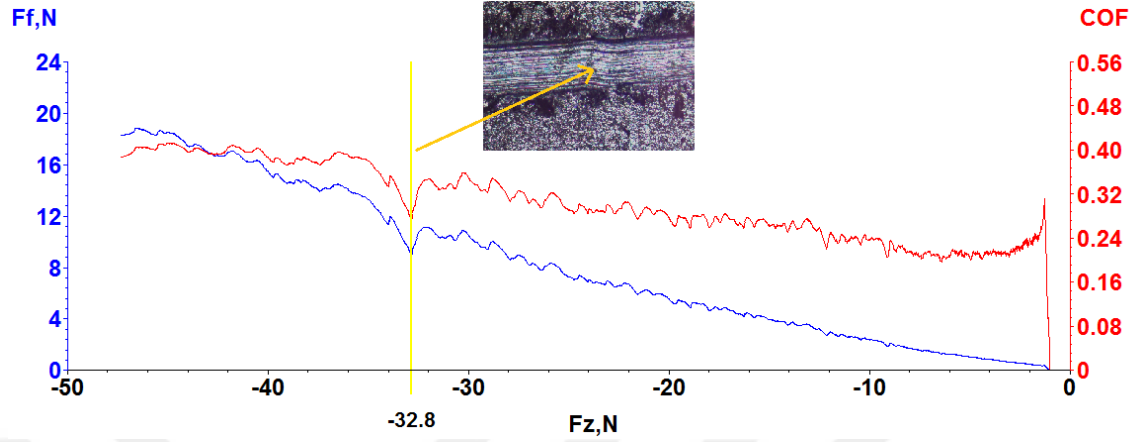


**Şekil 4.4.** XRD Grafikleri. a) W-Ge kaplama örneği, b) Kaplanmamış 316 L paslanmaz çelik.

Kaplama malzemelerinin yapışma özelliklerinin belirlenip değerlendirilebilmesi için çizik testi çok iyi bilinen bir tekniktir (Steinmann et al. 1987). W-Ge kaplamasının atmosferik koşullar altında ve oda sıcaklığında ki kritik yapışma yükü (Lc) değerini araştırmak için W-Ge kaplamasına çizik testi yapılmıştır. Kaplamanın kritik yükler

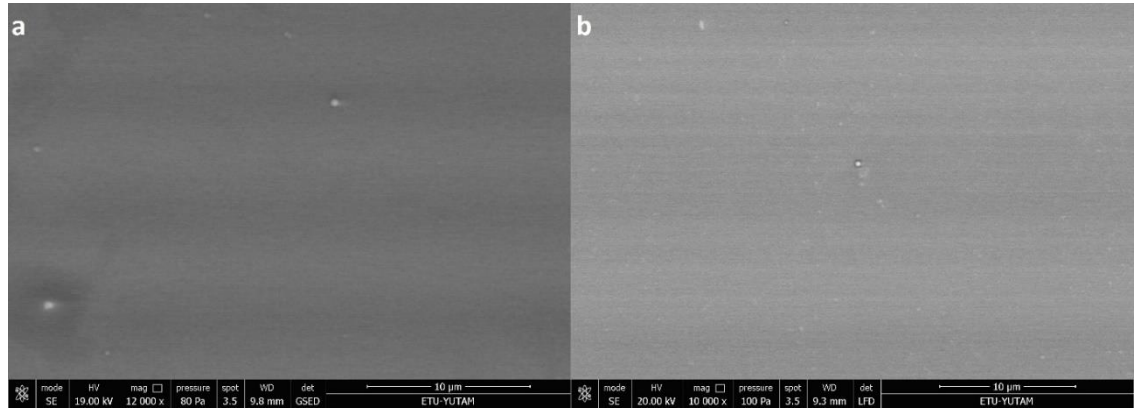
değerleri hesaplanırken, ortaya çıkan kaplama birikimlerinin ve altlık ara yüzeyindeki yapışma davranışlarının araştırılabilmesi için Tribometre (Bruker UMT) kullanılmıştır. W-Ge kaplamasında yapılan çizilme testi, daha önceden belirlenen çizilme testi deney parametreleri altında geriye doğru 250 N/dk yük hızı, 50N maksimum yük ve 10 mm çizik uzunluğu ile çizilme testi tamamlanmıştır. Çizilme testinden elde edilen normal kuvvet ( $F_z$ ), kritik yüke karşı sürtünme katsayısı (COF) ve sürtünme kuvveti ( $F_f$ ) değerleri Şekil 4.5.'de gösterilmiştir. Çizilme testinin başlangıcında sürtünme katsayı değeri 0,24 civarındaydı ve 0,32 civarına hafifçe yükselmiştir. Sürtünme katsayısının oldukça kararlı olmasının sebebi numune yüzeyinin düzgün bir morfolojiye sahip olması ve ortalama sürtünme katsayısının ise 0,3 civarında olduğu araştırılmıştır. Beklenildiği gibi 0'dan 50 N'ye artan normal kuvvet ile  $F_f$  de 20 N civarına yükselmiştir. Kritik yapışma yük değerini araştırmak için normal kuvvetin kademeli olarak arttığı ve çizik ucu alt tabakaya ulaştığında, bu kuvvetin arttığı bilinmektedir. Sürtünme katsayısı ve  $F_f$ 'de çarpıcı değişikliklere yol açan bir sebep ise kaplama numunesinin yapıştırıcı arızalarına neden olmasıdır. Bundan dolayı 316 L'den elde edilen altlık üzerine beklenen kaplamanın kritik yük değeri 32,8 N'dir. Ek olarak çizilme testi esnasında meydana gelen radyal çatlakın oluşturduğu yapıştırıcı arızası Şekil 4.5.'te ek resim olarak gösterilmiştir. Yapılan araştırmalara göre, film yüzeylerinde metallerin oksidasyonu numunelerin ultra vakum koşullarından atmosferik ortama çıkarılmalarından kaynaklanmıştır (Mukerji and Prakash 1998). XRD analizleri,  $Ge_2O$  ve  $Cr_3O$  metalik oksitlerin görülmesinin iki sebebi olabileceğini göstermektedir. Ya altlık üzerinde ki oksit tabakası ya da biriktirme odasından çıkarılmasının ardından oksitlenme nedeniyle kaplamada birikime uğramasıdır. Açıklanan olaya bağlı olarak metaller de bu oksidasyonların meydana gelmesi, filmde ki kristalize  $WGe_2$  formunun bir sonucu olarak, sürtünme katsayısı ve aşınma özelliklerinin düşük hale gelmesine neden olmaktadır. Araştırmalara göre, Archard modeline göre katsayı ve sertlik değerleri ters bir şekilde gösterilmiştir (Kawamoto et al. 2004). Oluşan düşük sürtünme katsayı değerleri, materyalin kaplanması için kullanılan malzemelerin yüksek sertlik özellikleri göstermesinden dolayı kaplamada da yüksek sertliğin oluştuğunu göstermiştir. Çizilme testinden sonra, kaplanmış materyalin ortalama sürtünme katsayı değeri ile kaplanmamış olan 316 L paslanmaz çelik değerleri ile karşılaştırıldığında, kaplanmış materyalin sürtünme katsayısı (~0,3), kaplanmamış olan 316 L paslanmaz çelik (~0,5 üzerinde)'ten yeterince düşük bulunmuştur (Nascimento et al. 2009). Genel sonuçlar, Kristal W-Ge kaplama numunesinin sürtünme katsayı değerinin, kaplama

yapılarında ki yüksek yoğunluk ve sertlik nedeniyle kaplanmamış 316 L paslanmaz çelik alt tabakadan daha düşük bir değere sahip olduğunu göstermiştir.



**Şekil 4.5.** W-Ge kaplama numunesinin normal yüke karşı kritik yük değeri, sürtünme katsayıları ve ekteki resim de görülen yapıştırıcı arızası.

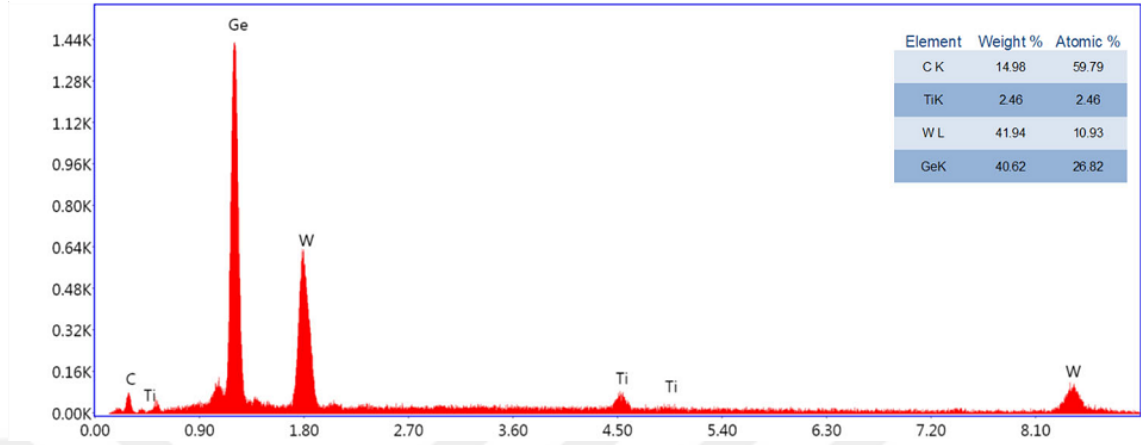
Korozif davranışların incelenmesi amacı ile, W-Ge kaplamalar SBF (Simüle Vücut Sıvısı) yerine HDFa hücre hattını kültüre edebilmek için kullanılan DMEM besiyeri kullanılarak yapılmıştır (Lee et al. 2011). DMEM ile 7 gün süre ile muamele edilen W-Ge kaplamaları, 7 gün sonunda elektron mikroskopunda incelendiğinde morfolojide gözlemlenebilir bir değişiklik olmadığı görülmüştür (Şekil 4.6.).



**Şekil 4.6.** Taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI inspect S50 SEM) W-Ge kaplamalı borosilikat yüzeyi görüntüsü. A) Statik korozyon testi öncesi W-Ge kaplama, b) 7 gün boyunca DMEM besiyerinin de kalan W-Ge'nin Statik Korozyonu.

Görüntülemenin ardından ayrıca EDS analizinde, W-Ge moleküllerinin atomik oranlarında önemli bir değişiklik olmadığını ortaya koydu. Ancak yapılan tüm EDS analizlerin de karbon pikleri tespit edildi ve bu piklerin oluşmasının sebebi korozyon

testlerini gerçekleştirmek için kullanılan DMEM besiyerlerinin yıkanmamış olmasından kaynaklanıyor (Şekil 4.7.).



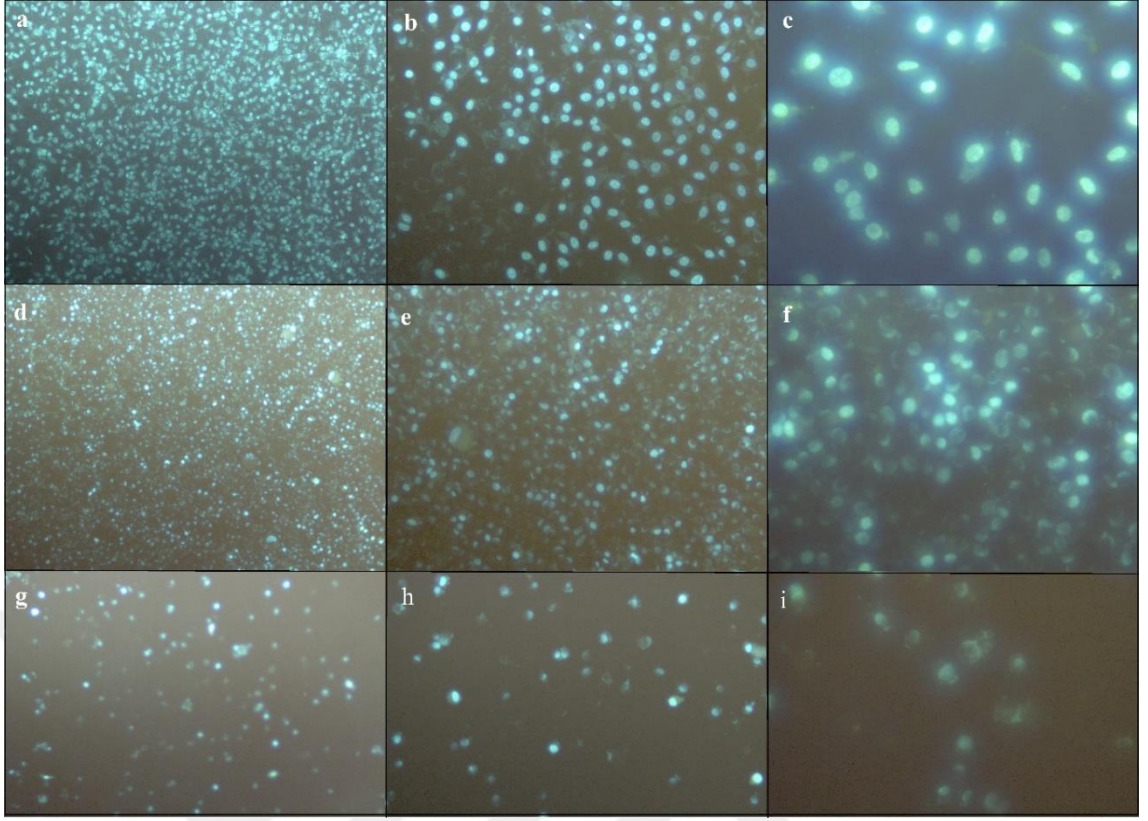
**Şekil 4.7.** 7 günlük DMEM besiyerinde Statik korozyon sonrası W/Ge (%at.) atomik oranlarını gösteren W-Ge kaplı borosilikat cam yüzeyin enerji dağıtıcı X-ışını spektroskopisi (EDS, EDX) sonuçları.

#### 4.2. Biyouyumluluk Analizleri

Yapılan çalışmalar, Germanyum işlevselleştirilmiş grafenin, biyomedikal cihazlara entegre edilebileceğini belirten antimikrobiyel ve hemo uyumluluklarının olduğunu iddia etmiştir. Grafen ile Germanyum birleştirilmesi durumunda, birleştirilmemiş grafen'e kıyasla daha fazla biyouyumluluk ve anti-mikrobiyal özellik olacaktır (Geng et al. 2016). Alveolar makrofaj, NR8383 gibi hücre hatları üzerinde pozitif yüklü Ge NP'lerin sitotoksik etkiye sebep olduğunu ancak, karboksilik asit, Ge NP'ler ile kombine edilmiş PEG kaplamalarında ise toksisite görülmemiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda kullanılacak olan materyalin yüzey kimyası toksisite ve biyouyumlulukta ana rol üstlenmektedir (Bhattacharjee et al. 2013). Yapılan diğer çalışmalara göre, kültüre edilen insan Pulmoner Arteriyel Endotelial, İnsan Dermal Fibroblast hücrelerinde aşınma testine sokulan Tungsten bobinlerinde, İnsan Pulmoner Arteriyel Endotelial ve İnsan Dermal Fibroblast hücre hatları üzerinde sitotoksik bir etki yaratmadığını ve aşınma oranının yavaş olduğunu göstermiştir. Ayrıca hücre hatları üzerinde ki sitopatolojik etkilerin ancak yüksek konsantrasyon içeren partiküller de (>50mg/ml) meydana geldiği ortaya çıkmıştır (Peuster, et al. 2003). Magnetron püskürtme kullanılarak elde edilen ve kaplanan elmas benzeri karbon Tungsten, yüksek kimyasal direnç, düşük pürüzlülük ve yüksek biyouyumluluk açısından düşük olan DLC

filmlerinin aksine kimyasal direnç, pürüzlülük ve biyouyumluluk açısından daha yüksek olduğunu iddia etmiştir (Mansano et al. 2008). Yapılan çalışmaları destekleyen çalışmalarımız, Tungsten-Germanyum diğer metallerin özelliklere göre kaplanan W-Ge'de hücre sel yayılmaların, bağlanmaların ve biyouyumluluk özelliklerinin diğer metallere oranla daha yüksek olduğunu göstermiştir.

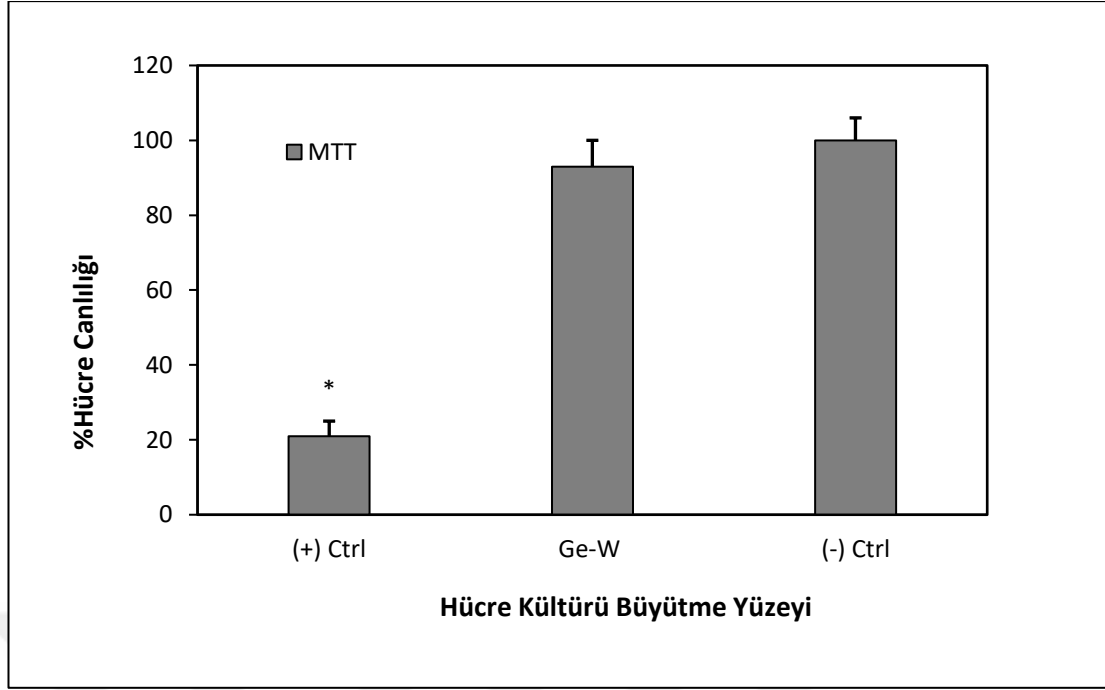
Hücre morfolojilerinin değerlendirilmesi amacı ile floresan bir boya olan Hoescht 33258 ile çekirdek boyaması gerçekleştirilip ve floresan mikroskop altında incelenmiştir. İncelenen kaplamalarda, İnsan Primer Fibroblast Hücreleri (HDFa) kaplamalar üzerinde iyi yayılmış ve uygun görünmektedir. 24 saat sonunda kaplamalarda Hoescht 33258 floresan görüntüleme sonucu, negatif kontrole (polistiren hücre kültürü plakası alt yüzeyi) kıyasla, kaplamalarda ki hücre sayısı benzer bulunmuştur. Hoescht görüntüleme sonucu hücre çekirdekleri incelendi ve görünür bir şekilde mutasyon ile karşılaşılmadı. Diğer yandan kaplanmış borosilikat yüzeyinde bulunan hücreler ile pozitif olarak kaplanmamış borosilikat yüzeyinde ki hücreler kıyaslandığında, kaplanmamış borosilikatlı cam yüzeyinde İnsan Primer Fibroblast Hücrelerinin kaplanmış borosilikatlı cam yüzeyine göre yayılmadığı ve bağlanmadığı görülmüştür. Bunun ile birlikte kaplanmamış borosilikatlı cam yüzeyinde yapılan Hoescht 33258 görüntüleme ile hücrelerin tutunmadığı ve yüksek oranda da bozulmuş çekirdek gövdelerinin olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8.).



**Şekil 4.8.** 24 Saat sonra farklı yüzeylerde insan fibroblast (HDFa) hücre kültürünün immünofloresan mikroskopi görüntüleri. A) W-Ge kaplı borosilikat yüzey (10X büyütme), b) W-Ge kaplı borosilikat yüzey (20X büyütme), c) W-Ge kaplı borosilikat yüzey (40X büyütme), d) Hücre Kültürü plakası alt yüzeyi (10X büyütme), e) Hücre kültürü plakası (20X büyütme), f) Hücre kültürü plakası alt yüzeyi (40X büyütme), g) Kaplanmamış borosilikat yüzey (10X büyütme), h) Kaplanmamış borosilikat yüzey (20X büyütme), i) Kaplanmamış borosilikat yüzey (40X büyütme).

Tungsten-Germanyum kaplı borosilikatlı camda ki ve kaplamasız borosilikatlı camda ki hücre canlılıkları kıyaslandığı zaman sırası ile Tungsten-Germanyum kaplı borosilikatlı camda hücre canlılığı %93 iken, kaplamasız borosilikatlı camda ki hücre canlılığı %21'dir. Diğer yandan Tungsten-Germanyum kaplı borosilikatlı camdaki hücre canlılığı ile negatif kontrol (polistiren hücre kültürü plakası alt yüzeyi) arasında önemli derece de bir fark görülmüştür.

Hücre canlılığı analizi için kullanılan MTT testi, kaplanmış olan borosilikatlı yüzeyler ile negatif kontrol arasında önemli bir fark olmadığı ortaya koymaktadır. Diğer yandan kaplanmamış olan borosilikatlı cam yüzeyinde ki İnsan Primer Fibroblast hücrelerinin sayısı yüksek oranda azaldığı ve canlılığın %21'e düştüğü bulunmuştur (Şekil 4.9.).



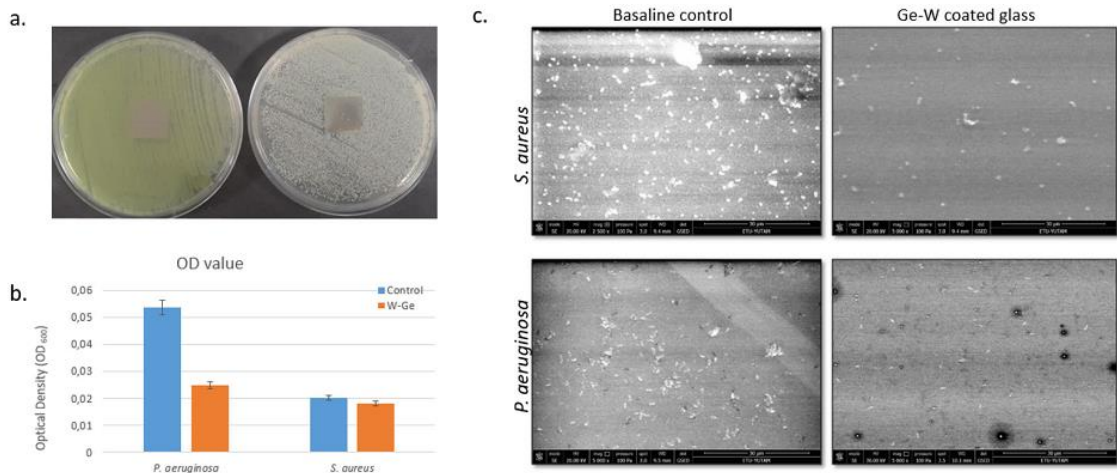
**Şekil 4.9.** Kaplamasız borosilikat yüzeyinin ((+) Ctrl), W-Ge kaplı borosilikat yüzeyinin ve hücre kültürü plakası alt yüzeyinin ((-) MTT hücre canlılık analizi. Sembol (\*), (-) Ctrl, (GraphPad Prism® version 7.0, Two Way ANOVA, Tukey testi istatistiksel değerlendirme için kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi) ile karşılaştırıldığında hücre canlılığında önemli bir azalmayı temsil eder.

### 4.3. Antimikrobiyal Bulguları

Antimikrobiyal aktivitenin tespit edilebilmesi için 2 tip bakteri kullanıldı. *S. aureus* ve *P.aeruginosa*. *S. aureus* doğada fazlaca bulunan *Staphylococcaceae* familyasından gram pozitif bakteridir. İnsanlarda birçok enfeksiyona neden olması ile de araştırmalara sıkça konu olmaktadır. *S.aureus*'unların implante sistemlerdeki enfeksiyonel durumların ve metisiline karşı geliştirdiği antibiyotik dirençliliğinin sonucunda canlı doku implante sistemlerinde hayati risk taşımaktadır ve bu nedenlerden dolayı biyomateryallerin antimikrobiyal aktivite göstermesini zorunlu kılmıştır (Rehm ve Tice 2010). İkincil olarak kullanılan bakteri ise *Pseudomonadaceae* familyasından Gram negatif olan *Pseudomonas aeruginosa*'dır. Hastane enfeksiyonlarının başında gelmesi, antibiyotik dirençliliğine sahip olması ve virülant faktörler tarafından canlı dokuyu enfekte edebilme özelliklerinden dolayı, implante sistemlerde meydana getirdiği enfeksiyonlar hayati risk taşımaktadır (Gül vd 2004).

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

W-Ge kaplamalarında antimikrobiyal aktivitenin tespit edilebilmesi için halo inhibisyon testi kullanıldı ve antimikrobiyal aktivite için üreme olmayan alan değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme de taban hattı kontrol grubunda veya örnekler de hiçbir inhibisyon bölgesi gözlenmemiştir (Şekil 4.10.a). İnhibisyon bölgelerinin gözlemlenmemesi *S.aureus* ve *P.aeruginosa*'ya karşı W-Ge kaplama örneklerinin antimikrobiyal aktivite gösteremediğini göstermiştir. Elde edilen sonuçlar ile W-Ge kaplama malzemesinin petri kabına salınmadığını göstermektedir. Oluşturulan ortamın W-Ge kaplamaları için uygun olmayabilir (Green et al. 2011). Germanyum-Tungsten kaplı olan borosilikatlı camlardan tripsin muamelesi ile elde edilen *P.aeruginosa* ve *S.aureus* çözeltilerinin OD değerleri *P.aeruginosa* için 0,025 ve *S.aureus* için 0,018 nm olarak belirlenmiştir. Elde edilen OD değerlerine karşın, Şekil 10b'de gösterildiği gibi, taban çizgisinin OD değerleri *P.aeruginosa* ve *S.aureus* için sırası ile 0,0534 ve 0,020 nm olarak belirlenmiştir. W-Ge kaplı ve kaplamasız numuneler, bakterileri yapışmasını gözlemek için SEM kullanılarak görüntülenmesi gerçekleştirildi (Şekil 4.10.c). Elde edilen SEM görüntüleri, W-Ge kaplı örneklerin *P.aeruginosa* ve *S.aureus*'a karşı antibiyofilm özelliği kazandığını göstermiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmasında, kontrol olarak kaplamasız cam kullanılmıştır (Golberg et al. 2016). W-Ge kaplı örneklerde bakterilerde aderans seviyesinin azaldığı açıkça görülmektedir. Bundan dolayı SEM görüntülerinden anti-biyofilm aktivitesi gösterdiği anlaşılmaktadır.



**Şekil 4.10.** Borosilikat camlar (temel kontrol) ve W-Ge kaplı yüzey (büyütme:5000x) üzerindeki *S.aureus* ve *P.aeruginosa* biyofilminin SEM morfolojileri.

### 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

W-Ge kompozisyon filmleri, literatürde ilk kez reaktif magnetron püskürtme tekniği kullanılarak biriktirilmiştir. WGe<sub>2</sub> kimyasal bileşiği (110) kristal fazda yoğun bir yapı ile gözlenmiştir. Ti tampon tabakası üzerindeki W-Ge filminin ortalama fraksiyon katsayısı, kaplanmamış 316 L substrattan oldukça düşük olan ~0.3 olarak elde edilmiştir. Kaplanmış filmin yapışma mukavemeti değeri 32.8 N olarak elde edilmiştir. Statik korozyon analizi, 7 günlük DMEM ile muamele edilme işleminden sonra yüzey morfolojisinde ve W-Ge kaplamaların atomik oranında önemli bir değişiklik olmadığını göstermiştir. Ayrıca biyouyumluluk analizi, HDFa hücre kültürlerinin numune yüzeylerine olumlu şekilde bağlandığını ve hücrelerin uygun homojenlikle yayıldığını göstermiştir. Hücre canlılığı testi, W-Ge kaplı yüzeyler ile hücre kültürü plakası arasında önemli bir fark olmadığını ortaya koymaktadır. Son olarak, iki farklı patojenik bakteri suşu (*S.aureus* ve *P. Aeruginosa*) kullanılarak kaplamaların antibiyofilm aktivitesi gösterilmiştir.

Literatürde ilk kez magnetron sputter kullanılarak kaplanan W-Ge kompozit filmlerin, yapılan tribolojik, biyouyumluluk ve anti mikrobiyal aktivite testlerinin analiz sonuçlarının, W-Ge kaplamanın biyo-implant malzemesi olarak kullanılabilceğini göstermiştir. Yapılan bu çalışma *in vitro* olarak çalışılmış ve sonuçların biyo-implant olarak kullanılan malzemeler ile ortak özellikler sergilediği gösterilip, ilerleyen aşamalarda *in vivo* testlerin yapılarak biyoimplant malzemesi olarak kullanılabilceğini ortaya koymuştur.

## KAYNAKLAR

- Alkaya, A., Şereflişan, H. ve Duysak, Ö. 2019. Biomaterial resources and usage areas. I. International Conference on environment, technology and management, 27-29 June 2019, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Bildiri Özetleri Kitabı, 676-685.
- Alvarez, F. J., Dewey, D. E., McMillin, P. and Fyffe, W. 1999. Distribution of cholinergic contacts on Renshaw cells in the rat spinal cord: a light microscopic study. *The Journal of Physiology*, 515(3), 787-797.
- Amer, M. H., Rose, F. R. A. J., Shakesheff, K. M., and White, L. J. 2018. A biomaterial approach to influence stem cell fate in injectable cell-based therapies, *Stem Cell Research& Therapy*, 9(1), 39.
- Arslan, M. E ve Kadı, A. 2020. Farklı mandıralarda üretilen küflü (göğermiş) civil peynirin sitotoksik ve genotoksik özelliklerinin belirlenmesi. *Journal of Nutrition and Dietetics*, 49(1), 1-11.
- Awad, H. A., Wickham, M. Q., Leddy, H. A., Gimble, J. M. and Guilak, F. 2004. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. *Biomaterials*, 25(16), 3211-3222.
- Aykın, Ş., Çakmak G., Cila, E. 2004. Kemik greftleri ve kemik greftlerinin yerini tutabilecek maddeler. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi*, 5(3), 11-24.
- Bealer, E. J., Kavetsky, K., Dutko, S., Lofland, S. and Hu, X. 2020. Protein and polysaccharide-based magnetic composite materials for medical applications, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 186.
- Berthier, L. and Biroli, G. 2011. Theoretical perspective on the glass transition and amorphous materials. *Reviews of Modern Physics*, 83(2), 587.
- Bhattacharjee, S., Rietjens, I. M. C., Singh, M. P., Atkins, T. M., Purkait, T. K., Xu, Z., Regli, S., Shukaliak, A., Clark, R. J., Mitchell, B. S., Alink, G. M., Marcelis, A. T. M., Fink, M. J., Veinot, J. G. C., Kauzlarich, S. M. and Zuilhof, H. 2013. Cytotoxicity of surface-functionalized silicon and germanium nanoparticles: The dominant role of surface charges. *Nanoscale*, 5(11), 4870-4873.
- Branski, L. K., Herndon, D. N., Celis, M. M., Norbury, W. B., Masters, O. E. and Jeschke, M. G. 2008. Amnion in the treatment of pediatric partial-thickness facial burns. *Burns*, 34(3), 393-399.
- Cao, W. and Hench, L. L. 1996. Bioactive materials. *Ceramics International*, 22(6), 493-507.

- Chan, K. Y. and Teo, B. S. 2005. Sputtering power and deposition pressure effects on the electrical and structural properties of copper thin films. *Journal of Materials Science*, 40(22), 5971-5981.
- Chen, J. L., Yin, Z., Shen, W. L., Chen, X., Heng, B. C., Zou, X. H. and Ouyang, H. W. 2010. Efficacy of hESC-MSCs in knitted silk-collagen scaffold for tendon tissue engineering and their roles. *Biomaterials*, Elsevier Ltd, 31(36), 9438-9451.
- Ching, H. A., Choudhury, D., Nine M. J. and Osman, N. A. A. 2014. Effects of surface coating on reducing friction and wear of orthopaedic implants. *Science and Technology of Advanced Materials*, 15(1), 1-21.
- Dikici, B., Topuz, M., Koç, S., Yılmaz, H., Nınomi, M. ve Nakai, M. 2017. Zirkonya takviyeli hidroksiapatit (HA) bazlı biyoaktif hibrid kaplamaların korozyon duyarlılıkları. *e-Journal of New World Sciences Academy*, 12(1), 66-77.
- Elias, C. N., Lima, J. H. C., Valiev, R. and Meyers, M. A. 2008. Biomedical Application of Titanium and Its Alloys. *Jom*, 60(3), 46-49.
- Eo, M. Y., Fan H., Cho, Y. J., Kim, S. M. and Lee, S. K. 2016. Cellulose membrane as a biomaterial: from hydrolysis to depolymerization with electron beam. *Biomaterials Research*. 20(1), 16.
- Erol, E., Özdiç, Ö. ve Kalebek, N. 2014. Ameliyat ipliklerinin Özellikleri Properties of Suture Materials. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 35-48.
- Geng, H., Dai, J., Li, J., Di, Z., Liu, X. 2016. Antibacterial ability and hemocompatibility of graphene functionalized germanium. *Scientific Reports*.
- Gil, S. and Mano, J. F. 2014. Magnetic composite biomaterials for tissue engineering, *Biomaterial Science*, 2(6), 812-818.
- Golberg, K., Emuna, N., Vinod, T. P., Moppes, D. V., Marks, R. S., Arad, S. M. and Kushmaro, A. 2016. Novel anti-adhesive biomaterials patches: preventing biofilm with metal complex films (MCF) derived from a microalgal polysaccharide. *Advanced Materials Interfaces*, 3(9), 1500486.
- Green, J. B. D., Fulghum, T. and Nordhaus, M.A. 2011. A review of immobilized antimicrobial agents and methods for testing. *Biointerphases* 6(4).
- Gül, M., Şensoy, A., Çetin, B., Korkmaz, F. ve Seber, E. 2004. Hastane infeksiyonu etkeni *pseudomonas aeruginosa* suşlarında seftazidime duyarlılığın e-test ve disk diffüzyon yöntemleri ile araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Dergisi* (2004), 33-36.
- Gültaş, E., Kılınç, C. Y., Açıkan, A. E. ve Aydoğan, N. H. 2017. Ortopedik implant enfeksiyonlarında izole edilen bakteri çeşitliliği ve antibiyotik duyarlılıkları. *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi*, 4(3), 19-20.

- Güven, Ş. 2014. Biyouyumluluk ve biyomalzemelerin seçimi. Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi, 2(3), 303-311-311.
- Hench, L. L. 1998. Bioactive materials: the potential for tissue regeneration. Journal of Biomedical Materials Research, 41(4), 511-518.
- Henson, F. M. D., Getgood, A. M. J., Caborn, D. M., McIlwraith, C. W. and Rushton, N. 2012. Effect of a solution of hyalunoric acid-chondroitin sulfate-N-acetyl glucosamine on the repair response of cartilage to single-impact load damage. American Journal of Veterinary Research, 73(2), 306-312.
- Hensten-Pettersen, A. 2007. Comparison of the methods available for assessing cytotoxicity. International Endodontic Journal, 21(2), 89-99.
- Hilders, O. A., Zambrano, N. and Caballero, R. 2015. Microstructure, strength and fracture topography relations in AISI 316L stainless steel, as seen through a fractal approach and the hall-petch law. International Journal of Metals. 1-10.
- Holy, C. E., Shoichet, M.S. and Davies, J. E. 2000. Engineering three-dimensional bone tissue *in vitro* using biodegradable scaffolds: Investigating initial cell-seeding density and culture period. Journal of Biomedical Materials Research, 51(3), 376-382.
- Hu, Y., Ran, J., Zheng, Z., Jin, Z., Chen, X., Yin, Z., Tnag, X., Chen, Y., Huang, J., Le, H., Yan, R., Zhu, T., Wang, J., Lin, J., Xu, K., Zhou, Y., Zhang, W., Cai, Y., Dominique, P., Heng, B. C., Chen, W., Shen, W. and Ouyang, H. W. 2018. Exogenous stromal derived factor-1 releasing silk scaffold combined with intra-articular injection of progenitor cells promotes bone-ligament-bone regeneration. Acta Biomaterialia, 71, 168-183.
- Hulshoff, J. E., Dijk, K. V., Waerden, J. P. V. D., Wolke, J. G., Kalk, W. and Jansen, J. A. 1996. Evaluation of plasma-spray and magnetron-sputter Ca-P-coated implants: An *in vivo* experiment using rabbits. Journal of Biomedical Materials Research, 31(3), 329-337.
- Kawamoto, T., Matsukage, K. N., Nagai, T., Nishimura, K., Mataka, T., Ochiai, S. and Taniguchi, T. 2004. Raman spectroscopy of cubic boron nitride under high temperature and pressure conditions: A new optical pressure marker. Review of Scientific Instruments, 75(7), 2451-2454.
- Kaya, A. İ. 2016. Kompozit malzemeler ve özellikleri. Poliüretan ve Kompozit Sanayi Dergisi, 8, 38-45.
- Kelly, P. J. and Arnell, R. D. 2000. Magnetron sputtering: A review of recent developments and applications. Vacuum, 56(3), 159-172.
- Kletzin, A. and Adams, M. W. W. 1996. Tungsten in biological systems. FEMS Microbiology Reviews, 18(1), 5-63.

- Kuroda, D., Hanawa, T., Hibar, T., Kuroda, S., Kobayashi, M. and Kobayashi, T. 2003. New manufacturing process of nickel-free austenitic stainless steel with nitrogen absorption treatment. *Materials Science Forum*, 449-452(II), 1085-1088.
- Kushchayev, S. V., Giers, M. B., Eng, D. H., Martirosyan, N. L., Eschbacher, J. M., Mortazavi, M. M., Theodore, N., Panitch, A. and Preul, M. C. 2016. Hyaluronic acid scaffold has a neuroprotective effect in hemisection spinal cord injury. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 25(1), 114-124.
- Langdon, S. P. 2003. *Cell Culture Contamination*. Cancer Cell Culture, New Jersey: Humana Press, 1. Ed, 309-317, United States of America.
- Lannitti, T., Lodi, D. and Palmieri, B. 2011. Intra-Articular Injections for the treatment of osteoarthritis. *Drugs in R&D*, 11(1), 13-27.
- Larsen, T. 2005. Determination of lactate dehydrogenase (LDH) activity in milk by a fluorometric assay. *The Journal of Dairy Research*, 72(2), 209-16.
- Lee, J. T. Y., Leng, Y., Chow, K. L., Ren, F., Ge, X., Wang, K. and Lu, X. 2011. Cell culture medium as an alternative to conventional simulated body fluid. *Acta Biomaterialia*, 7(6), 2615-2622.
- Li, Z., Ramay, H. R., Hauch, K. D., Xiao, D. and Zhang, M. 2005. Chitosan-alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 26(18), 3919-3928.
- Lu, H. H., El-Amin, S. F., Scott, K. D. and Laurencin, C. T. 2003. Three-dimensional, bioactive, biodegradable, polymer-bioactive glass composite scaffolds with improved mechanical properties support collagen synthesis and mineralization of human osteoblast-like cells *in vitro*. *Journal of Biomedical Materials Research-Part A*, 64(3), 465-474.
- Mansano, R. D., Ruas, R., Mousinho, A. P., Zambom, L. D. S., Pinto, T., Amoedo, L. H. and Massi, M. 2008. Use of diamond-like carbon with tungsten (W-DLC) films as biocompatible material. *Surface and Coatings Technology*, 202(12), 2813-2816.
- Meireles, A. B., Correa, D. K., Silveria, J. V. D., Millas, A. L., Bittencourt, E., Brito-Melo, G. E. D. and Gonzales-Torres, L. A. 2018. Trends in polymeric electrospun fibers and their use as oral biomaterials. *Experimental Biology and Medicine*, 243(8), 665-676.
- Mukerji, J. and Prakash, B. 1998. Wear of nitrogen ceramics and composites in contact with bearing steel under oscillating sliding condition. *Ceramics International*, 24(1), 19-24.
- Murphy, J. M., Fink, D. J., Hunziker, E. B. and Barry, F. P. 2003. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis&Rheumatism*, 48(12), 3464-3474.

- Nascimento, F. C., Foerster, C. E., Silva, S. L. R. D., Lepienski, C. M., Siqueira, C. J. M. and Junior, C. A. 2009. A comparative study of mechanical and tribological properties of AISI-304 and AISI-316 submitted to glow discharge nitriding. *Materials Research*, 12(2), 173-180.
- Niknejad, H., Peirovi, H., Jorjani, M., Ahmadiani, A., Ghanavi, J. and Seifalian, A. M. 2008. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering. *European Cells and Materials*, 7, 88-99.
- Oliveira, W. F., Silva, P. M. S., Silva, R. C. S., Silva, G. M. M., Machado G., Coelho L. C. B. B. and Correia, M. T. S. 2018. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* infections on implants. *Journal of Hospital Infection*, 98(2), 111-117.
- Owonubi, S. J., Agwuncha, S. C., Fasiku, V. O., Mukwevko, E., Aderibigbe, B. A., Sadiku, E. R. and Bezuidenhout, D. 2017. Biomedical applications of polyolefins. in *Polyolefin Fibres*, 517-538.
- Özalp, Y. ve Özdemir, A. N. 1996. Biyomateryaller ve biyouyumluluk. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 057-072.
- Özgünoğlu, K. and Uygur, N. 2019. Biomaterials and their applications. *Kahramanmaraş Sutcu Imam University Journal of Engineering Sciences*, 22(3), 135-152.
- Pat, Z. 2016. An investigation of antibacterial and surface properties of the germanium nano layer deposited on organic substrates. *Uludağ University Journal of The Faculty of Engineering*, 21(2), 73.
- Peng, X., Ren, J., Zhong, L. and Sun, R. 2011. Nanocomposite films based on xylan-rich hemicelluloses and cellulose nanofibers with enhanced mechanical properties. *Biomacromolecules*, 12(9), 3321-3329.
- Peuster, M., Fink, C. and Von Schnakenburg, C. 2003. Biocompatibility of corroding tungsten coils: *In vitro* assessment of degradation kinetics and cytotoxicity on human cells. *Biomaterials*, 24(22), 4057-4061.
- Pietrucha, K. 2005. Changes in denaturation and rheological properties of collagen-hyaluronic acid scaffolds as a result of temperature dependencies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 36(5), 299-304.
- Prakash, C., Singh, S., Singh, H. 2019. Current trends in biomaterials and biomanufacturing. *Biomanufacturing*, Springer International Publishing, 1-34.
- Prasad, K., Bazaka, O., Chua, M., Rochford, M., Fedrick, L., Spoor, J., Symes, R., Tieppo, M., Collins, C., Cao, A., Markwell, D., Ostrikov, K. and Bazaka, K. 2017. Metallic biomaterials: Current challenges and opportunities. *Materials*, 10(8), 884.

- Qu, J. 1993. The effect of slightly weakened interfaces on the overall elastic properties of composite materials. *Mechanics of Materials*, 14(4), 269-281.
- Quispe-Tintaya, W. 2018. Novel biomaterials for regenerative medicine. Singapore: Springer Singapore (*Advances in Experimental Medicine and Biology*), 3(4), 24-68.
- Ratner, B. D. 2001. A perspective on titanium biocompatibility. *Titanium in Medicine*, 1-12.
- Shah, F. A., Trobos, M., Thomsen, P. and Palmquist, A. 2016. Commercially pure titanium (cp-Ti) versus titanium alloy (Ti6Al4V) materials as bone anchored implants-Is one truly better than the other. *Materials Science and Engineering C. Elsevier B. V.*, 62, 960-966.
- Shen, W., Chen, X., Hu, Y., Yin, Z., Zhu, T., Hu, J., Chen, J., Zheng, Z., Zhang, W., Ran, J., Heng, B. C., Ji, J., Chen, W. and Ouyang, H. W. 2014. Long-term effects of knitted silk-collagen sponge scaffold on anterior cruciate ligament reconstruction and osteoarthritis prevention. *Biomaterials*, 35(28), 8154-8163.
- Sierra, H., Cordova, M., Chen, C. S. J. and Rajadhyaksha, M. 2015. Confocal imaging-guided laser ablation of basal cell carcinomas: an ex vivo study. *Journal of Investigative Dermatology*, 135(2), 612-615.
- Sönmezoğlu, S., Koç, M. ve Akın, S. 2012. İnce film üretim teknikleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28, 389-401.
- Steinemann, P. A., Tardy, Y. and Hintermann, H. E. 1987. Adhesion testing by the scratch test method: The influence of intrinsic and extrinsic parameters on the critical load. *Thin Solid Films*, 154(1-2), 333-349.
- Steinemann, S. G. 1998. Titanium- The material of choice. *Periodontology 2000*, 17(1), 7-21.
- Tunçay, M. ve Çalış, S. 1999. İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan biyoparçalanabilir sentetik ve polimerler. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24, 109-123.
- Türkoğlu, O. 2017. İmplant çevresi hastalıkları: Peri implant mukositis ve peri-implantitis. *Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 5(1), 21-31.
- Tüylek, Z. 2017a. Biyomateryaller ve sağlıkta kullanımı. *Bozok Tıp Dergisi*, 7(4), 80-89.
- Tüylek, Z. 2017b. Nanotıp ve biyomateryal kullanımı. *Journal of Engineer Brains*, 1(1), 9-19.
- Uslu, B. ve Arbak, S. 2010. Doku mühendisliğinde kitozanın kullanım alanları. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(3), 128-135.

- Wang, B., Lv, X., Chen, S., Li, Z., Yao, J., Peng, X., Feng, C., Xu, Y. and Wang, H. 2018. Use of heparinized bacterial cellulose based scaffold for improving angiogenesis in tissue regeneration. *Carbohydrate Polymers*, 181, 948-956.
- Wataha, D. F. 2001. Principles of biocompatibility for dental practitioners, *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 86(2), 203-209.
- Williams, D. F. 2009. On the nature of biomaterials. *Biomaterials*, 30(30), 5897-5909.
- Yamagishi, M., Kuriki, S., Song, P. K. and Shigesato, Y. 2003. Thin film TiO<sub>2</sub> photocatalyst deposited by reactive magnetron sputtering. *Thin Solid Films*, 442(1-2), 227-231.
- Ye, Q., Zünd, G., Benedikt, P., Jockenhoewel S., Hoerstrup, S. P., Sakyama, S., Hubbell, J. A. and Turina, M. 2000. Fibrin gel as a three dimensional matrix in cardiovascular tissue engineering. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 17(5), 587-591.
- Yoruç, A. B. H. and Uğraşkan, V. 2017. Green polymers and applications. *Afyon Kocatepe University Journal of Sciences and Engineering*, 17(1), 318-337.
- Zund, G., Ye, Q., Hoerstrup, S. P., Schoeberlein, A., Schmid, A. C., Grunenfelder, J., Vogt, P. and Turina, M. 1999. Tissue engineering in cardiovascular surgery: MTT, a rapid and reliable quantitative method to assess the optimal human cell seeding on polymeric meshes<sup>1</sup>. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 15(4), 519-524.