

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

BİYONANOİMLANTLARIN BİYOUYUMLULUĞU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Taner ÖZCAN

Balıkesir, Ağustos-2010

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BİYONANOİMLANTLARIN BİYOUYUMLULUĞU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Taner ÖZCAN

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap DOĞAN

Sınav Tarihi: 11.08.2010

Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Gülendamar TÜMEN (BAÜ)

Prof. Dr. Mahir ALKAN (BAÜ)

Doç. Dr. Serap DOĞAN (Danışman-BAÜ)

Balıkesir, Ağustos-2010

ÖZET

BİYONANOİMLANTLARIN BİYOUYUMLULUĞU

Taner ÖZCAN

Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi/ Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap DOĞAN)

Balıkesir, 2010

Bu çalışmada poli(metil metakrilat) (PMMA) ve hidroksiapatit (HA) kullanılarak polimer-seramik nanokompozit ve/veya kompozitleri çözelti ortamında etkileştirme yöntemi ile sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve biyouyumlulukları araştırılmıştır. Hazırlanan polimer/seramik nanokompozit ve/veya kompozitlerinin karakterizasyonu, X-ışınları kırınımı (XRD) ile; seramik ve polimer arasındaki etkileşimler, Fourier transform infrared attenuated total reflection spektrofotometresi (FTIR-ATR) ile; polimer ve nanokompozit ve/veya kompozitlerinin termal özellikleri, termogravimetre (TG) ve diferansiyel termogravimetre (d[TG]) ile incelenmiştir.

XRD sonuçları, FTIR-ATR ve termogravimetrik analizler sırasıyla, HA seramiğinin polimer matriksinde nanoboyutta dağıldığını; seramik ve polimer arasındaki etkileşimin HA'nın –OH grubu ile polimerin karbonil grubu arasında meydana geldiğini ve polimer matriksine seramik katılımıyla biyomalzemenin termal kararlılığının arttığını göstermektedir.

Sentezlenen nanokompozit ve/veya kompozitlerin biyouyumluluklarının kontrolü için kandaki glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, glutasyon s-transferaz, glukoz-6 fosfat dehidrogenaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerle etkileşimleri araştırılmıştır. Ayrıca bu biyomalzemeler için homouyumluluk testi yapılmıştır. Aseton ortamında sentezlenen biyomalzemelerin daha homouyumlu olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: PMMA / HA / nanokompozitler / kompozitler
antioksidan enzimler / biyouyumluluk.

ABSTRACT

BIOCOMPATIBILITY OF BIONANOIMPLANTS

Taner ÖZCAN

Balıkesir University, Institute of Science, Department of Biology

(Master Thesis / Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serap DOĞAN)

Balıkesir, 2010

In this study, polymer-ceramic nanocomposites and/or composites have been prepared by solution intercalation method using poly(methyl metacrylat) (PMMA) and hydroxyapatite (HA); characterized; and investigated their biocompatibilities. The characterization of polymer/ceramic nanocomposites or/composites were investigated by X-ray diffraction (XRD); the interactions between ceramic and polymer by Fourier transform infrared attenuated total reflection spectroscopy (FTIR-ATR); and the thermal stability of polymer and nanocomposites and/or composites by thermogravimetry (TG) and differential thermogravimetry (d[TG]).

XRD results, FTIR-ATR and thermogravimetric analyses showed that HA ceramic was dramatically dispersed at nanoscale in the polymer matrix; the interaction with ceramic and polymer were occurred between –OH groups of HA and carbonyl groups of polymer and introduction of ceramic to the polymer matrix generally resulted in an increase in thermal properties, respectively.

For the control of biocompatibility of prepared nanocomposites and/or composites, it was investigated the interactions such as glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione s-transferase, glucose-6 phosphate dehydrogenase, catalase and superoxide dismutase, which are antioxidant enzymes in blood. Also homocompatibility test was made for these biomaterials. It was determined that the nanocomposites or composites prepared in acetone media were better homocompatible than these in THF media.

KEY WORDS: PMMA / HA / nanocomposites / composites / antioxidant enzymes / biocompatibility

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER	ii
ABSTRACT, KEY WORDS	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOL LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
ÖNSÖZ	xi
1 GİRİŞ	1
1.1 Biyoyumluluk ve Biyomalzemeler	1
1.2 Biyoyumlu Malzemelerin Sınıflandırılması	3
1.2.1 Metalik Biyomalzemeler	3
1.2.2 Seramik Biyomalzemeler	4
1.2.2.1 Alümina	5
1.2.2.2 Zirkonya	5
1.2.2.3 Pirolitik Karbon	6
1.2.2.4 Kalsiyum Fosfat Seramikler	6
1.2.2.4.1 Hidroksiapatit	7
1.2.2.4.1.1 Hidroksiapatitin Biyoyumluluğu	8
1.2.2.4.1.2 Hidroksiapatitin Metalik Biyomalzemeler Üzerine Kaplanması	8
1.2.2.5 Cam ve Cam Seramikler	9
1.2.3 Polimerik Biyomalzemeler	10
1.2.3.1 Hidrojeller	11
1.2.3.2 Poli(metil metakrilat) (PMMA)	12
1.2.4 Kompozit Biyomalzemeler	13
1.2.4.1 Nanokompozitler	13
1.2.4.1.1 Nanokompozitleri Üstün Kılan Özellikler	14
1.2.4.1.2 Nanokompozitlerin Sınıflandırılması	15
1.3 Enzimler	16
1.4 Enzimatik Antioksidanlar	16
1.4.1 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	17
1.4.2 Glutasyon Redüktaz (GR)	18
1.4.3 Glutasyon S-Transferaz (GST)	19
1.4.4 Glukoz-6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD)	19
1.4.5 Katalaz (CAT)	20
1.4.6 Süperoksit Dismutaz (SOD)	20
1.5 Literatür Özeti	21
1.6 Çalışmanın Amacı	23
2. MATERYAL VE METOT	25
2.1 Materyal	25
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	25
2.1.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar	26
2.2 Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	26

2.3	Hemolizat Hazırlanışı	27
2.4	Nanokompozit Sentezi	28
2.5	Nanokompozitlerin Karakterizasyonu	28
2.5.1	X-Işını Kırınımı Difraksiyonu (XRD)	28
2.5.2	FTIR-ATR Analizi	28
2.5.3	Termogravimetrik Analiz (TG/DTA)	29
2.6	Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	29
2.6.1	Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü	29
2.6.2	Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü	30
2.6.3	Glutasyon S-Transferaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü	30
2.6.4	Glukoz-6 Fosfat Dehidrogenaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü	31
2.6.5	Katalaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü	31
2.6.6	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü	32
2.7	Homouyumluluk Testi	33
3	BULGULAR	34
3.1	Biyomalzemelerin Karakterizasyonu	34
3.1.1	Biyomalzemelerin XRD Analizleri	34
3.1.2	Biyomalzemelerin FTIR-ATR Analizleri	40
3.1.3	Biyomalzemelerin TG/DTA Analizleri	45
3.2	Biyomalzemelerin Enzimlerle Etkileşimleri	53
3.2.1	Biyomalzemelerin Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesine Etkileri	53
3.2.2	Biyomalzemelerin Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesine Etkileri	54
3.2.3	Biyomalzemelerin Glutasyon S-Transferaz Enzim Aktivitesine Etkileri	56
3.2.4	Biyomalzemelerin Glukoz-6 fosfat Dehidrogenaz Enzim Aktivitesine Etkileri	57
3.2.5	Biyomalzemelerin Katalaz Enzim Aktivitesine Etkileri	59
3.2.6	Biyomalzemelerin Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesine Etkileri	60
3.3	Homouyumluluk Testi	62
4	SONUÇ VE TARTIŞMA	64
4.1	Biyomalzemelerin Karakterizasyonu	64
4.1.1	Biyomalzemelerin XRD Analizi Sonuçları	64
4.1.2	Biyomalzemelerin FTIR-ATR Analizi Sonuçları	65
4.1.3	Biyomalzemelerin TG/DTA Analizi Sonuçları	66
4.2	Biyomalzemelerin Enzimlerle Etkileşimleri	69
4.3	Homoyuyumluluk Testi	71
4.4	Sonuçlar	72
5	KAYNAKLAR	74

SEMBOL LİSTESİ

Simge	Adı	Birim
PMMA	Poli(metil metakrilat)	
HA	Hidroksiapatit	
CAT	Katalaz	
CDNB	1-kloro-2,4-dinitrobenzen	
EDTA	Etilen diamin tetra asetat	
G6P	Glokuz-6 fosfat	
G6PD	Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz	
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz	
GR	Glutasyon redüktaz	
GSH	Redükte glutasyon	
GSSG	Okside glutasyon	
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit	
NADP ⁺	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (yükseltgenmiş hal)	
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (indirgenmiş hal)	
ROT	Reaktif oksijen türevleri	
SOD	Süperoksit dismutaz	

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa
Şekil 1.1	Biyomalzemelerin sınıflandırılması	3
Şekil 1.2	PMMA'nın açık yapısı	12
Şekil 3.1	Hidroksiapatitin XRD deseni	35
Şekil 3.2	PMMA'nın XRD deseni	36
Şekil 3.3	Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerinin XRD desenleri.	37
Şekil 3.4a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin XRD desenleri	38
Şekil 3.4b	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin XRD desenleri	38
Şekil 3.5a	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin XRD desenleri	39
Şekil 3.5b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin XRD desenleri	40
Şekil 3.6	Hidroksiapatite ait FTIR-ATR spektrumu	41
Şekil 3.7	PMMA'ya ait FTIR-ATR spektrumu	41
Şekil 3.8	Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları	42
Şekil 3.9a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları	43
Şekil 3.9b	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları	43
Şekil 3.10a	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları	44
Şekil 3.10b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları	44
Şekil 3.11a	PMMA'ya ait TG termogramı	45
Şekil 3.11b	PMMA'ya ait d[TG] termogramı	46
Şekil 3.12a	Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması	46
Şekil 3.12b	Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması	47
Şekil 3.13a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması	47
Şekil 3.13b	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması	48
Şekil 3.14a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması	48
Şekil 3.14b	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen	49

	PMMA/HA kompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması	
Şekil 3.15a	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması	49
Şekil 3.15b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması	50
Şekil 3.16a	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması	50
Şekil 3.16b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması	51
Şekil 3.17a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon peroksidaz enzimi üzerine etkileri	53
Şekil 3.17b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon peroksidaz enzimi üzerine etkileri	54
Şekil 3.18a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon redüktaz enzimi üzerine etkileri	55
Şekil 3.18b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon redüktaz enzimi üzerine etkileri	55
Şekil 3.19a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon s-transferaz enzimi üzerine etkileri	56
Şekil 3.19b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon s-transferaz enzimi üzerine etkileri	57
Şekil 3.20a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzimi üzerine etkileri	58
Şekil 3.20b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzimi üzerine etkileri	58
Şekil 3.21a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin katalaz enzimi üzerine etkileri	59
Şekil 3.21b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin katalaz enzimi üzerine etkileri	60
Şekil 3.22a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin süperoksit dismutaz enzimi üzerine etkileri	61
Şekil 3.22b	Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen	61

	PMMA/HA biyomalzemelerinin süperoksit dismutaz enzimi üzerine etkileri	
Şekil 3.23a	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin homouyumluluk testi sonuçları	62
Şekil 3.23b	THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin homouyumluluk testi sonuçları	63

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No	Çizelge Adı	Sayfa
Çizelge 2.1	Glutasyon peroksidaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	29
Çizelge 2.2	Glutasyon redüktaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	30
Çizelge 2.3	Glutasyon s-transferaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	30
Çizelge 2.4	Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	31
Çizelge 2.5	Katalaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	32
Çizelge 2.6	Süperoksit dismutaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	32
Çizelge 3.1	Hidroksiapatitin XRD deseninden elde edilen veriler	35
Çizelge 3.2	PMMA'nın XRD deseninden elde edilen veriler	36
Çizelge 3.3	PMMA ve PMMA/HA nanokompozit ve kompozitlerinin TG analiz verileri	52
Çizelge 4.1	PMMA'ya ait karakteristik pikler	66
Çizelge 4.2	Yüzde olarak, biyomalzemelerin antioksidan enzimler üzerindeki etkileri	73

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tez çalışmalarım sırasında her zaman bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Serap DOĞAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım sırasında deneyimlerinden faydalandığım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Mehmet DOĞAN'a ve yine çalışmalarım sırasında benden yardımını esirgemeyen çok sevgili hocam Sayın Araş. Gör. Dr. Yasemin TURAN'a da teşekkür ederim.

Bunun yanında ihtiyacım olan kan numunelerini temin etmemde yardımcı olan arkadaşlarım Serap MUTLU, Adem ERGÜN ve Begüm ÖZLEK'e; çalışma arkadaşlarım M. Polat KORA ve Zeliha Gamze ALP'e ve aynı zamanda her daim yardımına koşan M. Emin DİKEN ve Ümran SALMAN'a; ayrıca Gülşah ÇELİK, Cüneyt TEZ ve Utku ÇOLAK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bana, tezim boyunca her zaman destek olan Necatibey Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi öğretim elemanlarına ve Biyoloji Eğitimi Araş. Gör. Alper KABACA'ya, bu yolda beni yalnız bırakmadıkları için teşekkür ederim.

Hayatım boyunca sabır ve desteğini benden hiç esirgemeyen babam Ali ÖZCAN, annem Faize ÖZCAN ve kız kardeşim Pınar ÖZCAN'a, bu meşakkatli yolda da beni yalnız bırakmadıkları için hayatım boyunca minnettarım. Bu tez aileme ithafımdır.

Balıkesir, 2010

Taner ÖZCAN

1. GİRİŞ

1.1 Biyouyumluluk ve Biyomalzemeler

Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliği olup, vücut ile uyuşabilirlik olarak tanımlanır [1]. Bir malzemenin biyouyumlu olması için bulunduğu canlıdaki fizyolojik ortam tarafından kabul edilmesi gerekir. Bu yaklaşımlara rağmen biyouyumluluğun çok kesin bir tanımı yoktur. Çünkü kullanılan malzemenin vücudun neresinde ve ne amaçla kullanılacağı bu tanımı belirler. Direkt kanla temas edecek malzemeyle, direkt kemikle temas edecek malzemenin biyouyumluluk tanımları birbirinden çok farklıdır.

Araştırmacılar, “biyomalzeme” ve “biyouyumluluk” terimlerini, malzemelerin biyolojik performanslarını belirtmek için kullanmışlardır. Biyomalzemeler, kendilerini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu vb.) oluşturmeyen malzemelerdir. Bazı araştırmacılar, biyouyumluluk terimini biraz genişleterek, biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlardır. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur [2].

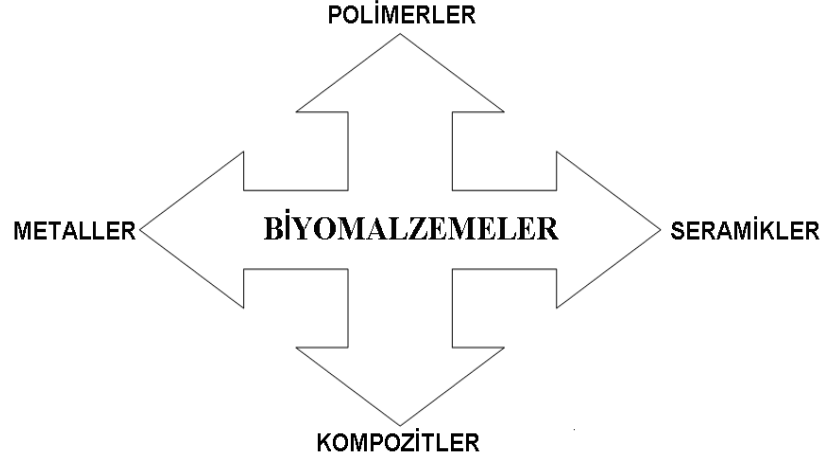
Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas ederler. Bilimsel anlamda yeni bir alan olmasına karşın, uygulama açısından biyomalzeme kullanımı tarihin çok eski zamanlarına kadar uzanmaktadır. Mısır mumyalarında bulunan yapay göz, burun ve dişler bunun en güzel kanıtlarıdır. Altının diş hekimliğinde kullanılması, 2000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Bronz ve bakır kemik implantlarının kullanımı ise milattan önceye kadar gitmektedir. 19. yüzyıl ortasından itibaren yabancı malzemelerin vücut içerisinde kullanımına yönelik

ciddi ilerlemeler kaydedilmiştir. Örneğin 1880’de fildişi protezler vücuda yerleştirilmiştir. İlk metal protez, vanadyum alaşımından 1938’de üretilmiştir. 1960’lara kadar kullanılan bu protezler, metal korozyona uğradığında ciddi tehlikeler yaratmıştır. 1972’de alumina ve zirkonya isimli iki seramik yapı herhangi bir biyolojik olumsuzluk yaratmaksızın kullanılmaya başlanmış ancak inert yapıdaki bu seramikler dokuya bağlanamadıklarından çok çabuk zayıflamışlardır. Aynı yıllarda Hench tarafından geliştirilen biyoaktif seramikler (örneğin biyocam ve hidroksiapatit) ile bu problem çözüme ulaşmıştır. İlk başarılı sentetik implantlar, iskeletteki kırıkların tedavisinde kullanılan kemik plakalarıdır. Bunu 1950’lerde kan damarlarının değişimi ve yapay kalp vanalarının geliştirilmesi, 1960’larda da kalça protezleri izlemiştir. Kalp ile ilgili cihazlarda esnek yapılı sentetik bir polimer olan poliüretan kullanılırken, kalça protezlerinde paslanmaz çelik öne geçmiştir. Bunun yanı sıra, ilk olarak 1937’de diş hekimliğinde kullanılmaya başlanan poli(metil metakrilat) (diş akriliği olarak da bilinir) ve yüksek molekül ağırlıklı polietilen de kalça protezi olarak kullanılmıştır. II. Dünya Savaşı’ndan sonra, paraşüt bezi (Vinyon N adıyla bilinen poliamid) damar protezlerinde kullanılmıştır. 1970’lerde ilk sentetik, bozunur yapıdaki ameliyat ipliği, poli(glikolik asit)’den üretilmiştir. Kısacası, son 30 yılda 40’ı aşkın metal, seramik ve polimer, vücudun 40’dan fazla değişik parçasının onarımı ve yenilenmesi için kullanılmıştır.

Biyomalzemeler, yalnızca implant olarak değil, ekstrakorporeal cihazlarda (vücut dışına yerleştirilen ama vücutla etkileşim halindeki cihazlar), çeşitli eczacılık ürünlerinde ve teşhis kitlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde, yüzlerce firma tarafından çok sayıda biyomalzeme üretilmektedir. 2700’ü aşkın çeşitte tıbbi cihaz, 2500 kadar farklı teşhis ürünü ve yaklaşık 39.000 civarında değişik eczacılık ürünü, bu teknolojinin en büyük pazarını oluşturmaktadır. Ancak, halen biyomalzemedan kaynaklanan aşılammış sorunlar da vardır. Bu problemlerin çözümünde doku mühendisliği ve gen tedavisi alternatif yaklaşımlar sunmaktadır. Özellikle nanoteknoloji, bilişim teknolojileri ve fabrikasyon yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak daha mükemmel biyomalzemelerin geliştirilmesi hedeflenmektedir [3].

1.2 Biyouyumlu Malzemelerin Sınıflandırılması

Biyouyumlu malzemeler Şekil 1.1’de gösterildiği gibi 4 sınıfta incelenebilir.



Şekil 1.1 Biyomalzemelerin sınıflandırılması.

1.2.1 Metalik Biyomalzemeler

Kristal yapıları ve sahip oldukları güçlü metalik bağlar nedeniyle üstün mekanik özellikler taşıyan metal ve metal alaşımlarının biyomalzeme alanındaki payı çok büyüktür. Bir yandan ortopedik uygulamalarda eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak kullanılırken, diğer yandan yüz ve çene cerrahisinde, örneğin diş implantı gibi, ya da kalp-damar cerrahisinde yapay kalp parçaları, kateter, vana, kalp kapakçığı olarak da kullanılmaktadırlar. Metallerin biyomalzeme pazarındaki en büyük payını ise teşhis ve tedavi amaçlı aygıtların metalik aksamaları oluşturmaktadır. İnsanlarda kullanılmak için geliştirilen ilk metal alaşımı olan vanadyum çeliği kırık kemiklerin tedavisinde vida ve plaka olarak kullanılmıştır. Ayrıca demir (Fe), krom (Cr), kobalt (Co), nikel (Ni), titanyum (Ti), tantalyum (Ta), niyobyum (Nb), molibden (Mo) ve tungsten (W)’den imal edilmiş olan alaşımların vücut içerisinde belli bir süre kullanımı uygun görülmüştür [4]. Vücut içerisinde fazla miktarda bulunması zararlı olan bu metaller, metabolizma faaliyetleri sırasında da oluşabilirler. Birçok pozitif özelliğine rağmen, biyouyumluluklarının düşük olması, korozyona uğramaları, dokulara göre çok sert olmaları, yüksek yoğunlukları

ve alerjik doku reaksiyonlarına neden olabilecek metal iyonu salımı gibi dezavantajları vardır.

1.2.2 Seramik Biyomalzemeler

Genellikle oksitler, nitritler, karbürler olmak üzere, metal ve ametal bileşikleridir. Seramikler kil mineralleri, feldspat, kum, kireç ve sodadan oluşurlar. Elektrik ve ısıya karşı yalıtıcıdır. Yüksek sıcaklıklara ve sert çevre koşullarına metaller ve polimerlerden daha dayanıklıdır. Sert fakat çok kırılabilir [5]. Erime noktaları ve kimyasal dayanımları yüksektir.

Biyoseramiklerin doku ile etkileşimlerine bağlı olarak, biyo inert, biyoaktif ve biyobozunur olmak üzere üç çeşidi bulunmaktadır. Biyo inert malzemelerin doku ile etkileşimleri mekanik bağ şeklindedir. Mekanik bağ, biyo inert malzemenin dokuyu değiştirmeden doku ile bir arada bulunması anlamına gelmektedir. Biyoaktif malzemeler kemikle ya da canlı organizmanın yumuşak dokusu ile kimyasal bağ yaparak etkileşirler. Biyobozunur malzemeler ise biyolojik olarak bozunarak zamanla doku ile yer değiştirirler. Bir biyoseramik malzemenin sahip olması gereken özellikler şunlardır;

- Toksik olmamalıdır,
- Alerjik olmamalıdır,
- Kanserojen içermemelidir,
- Alev alabilen bir yapıda olmamalıdır,
- Biyoyumlu olmalıdır,
- Vücutta uzun ömürlü olmalı ve biyofonksiyonel olmalıdır [6].

Biyoseramikler arasında sıklıkla kullanılan malzemeler şunlardır;

- Alümina,
- Zirkonya,
- Pirolitik karbon,
- Kalsiyum fosfatlar,
 1. Tetrakalsiyum fosfat ($\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$),

2. Amorf kalsiyum fosfat,
 3. Trikalsiyum fosfat ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$),
 4. Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$),
- Cam seramikler.

1.2.2.1 Alümina

Alümina (alüminyum oksit; Al_2O_3) çok sert bir malzemedir. Termal ve kimyasal olarak kararlıdır. Saf alümina, 1900 °C'ye kadar yüksek derecelerde sinterlenebilirken alkali (sodyum veya potasyum) oksit gibi katkıları ilave edildikten sonra daha düşük sıcaklıklarda sinterlenebilmesi mümkün olabilmektedir. Bunun yanında kimyasal ve fiziksel özellikleri bu katkı maddelerinin (miktarına da bağlı olarak) ilavesiyle değişmektedir. İri tane yapısına sahip polikristalin alfa- Al_2O_3 'ün 1600-1700 °C sıcaklıkta sinterlenmesi sonucu elde edilen alümina, kalça protezlerinde ve diş implantlarında yaygın şekilde kullanılmaktadır.

1.2.2.2 Zirkonya (Zirkonyum Oksit; ZrO_2)

Saf zirkonya, zirkon olarak bilinen ZrSiO_4 'ün kimyasal dönüşümüyle elde edilir. Zirkonyanın ergime sıcaklığı çok yüksektir (2953 ^0K). Saf halde, yüksek sıcaklıklarda faz değişikliği esnasında büyük bir hacim değişikliğine uğrar. Zirkonyanın kimyasal ve boyutsal kararlılığı, yüksek dayanımı, elastikliği, mekanik özellikleri açısından paslanmaz çeliğe yakın bir konumda iken, sertlik ve aşınma dayanımı açısından daha iyi bir performansa sahiptir.

Zirkonya da, alümina gibi bulunduğu fiziksel ortam üzerinde inert etki gösterir. Çok daha yüksek çatlama ve bükülme direncine sahip olan zirkonya, uyluk kemiği protezlerinde başarıyla kullanılmaktadır. Ancak uygulamalarında üç önemli problemle karşılaşmaktadır; fizyolojik sıvılar nedeniyle zamanla gerilme direncinin azalması, kaplama özelliklerinin zayıf oluşu ve potansiyel radyoaktif malzemeler içermesi. Zirkonya içerisinde yarılanma ömrü çok uzun olan radyoaktif elementler bulunur (uranyum, toryum, vb.). Bu elementleri yapıdan ayırmak çok zor ve pahalı işlemler gerektirir. Radyoaktivite alfa ve gama etkileşimi olarak ortaya çıkar ve alfa

parçacıkları, yüksek iyonlaştırma kapasitesine sahip olduklarından, yumuşak ve sert doku hücrelerini tahrip etme olasılığına sahiptir. Radyoaktivite düzeyi düşük olduğunda da bu etkinin uzun süreli sonuçlarının incelenmesi gerekmektedir [7].

1.2.2.3 Pirolitik Karbon

Karbon, kristalin elmas, grafit, kristalin olmayan camı karbon ve quasikristalin yapıya sahip pirolitik karbon gibi birçok farklı kristal yapıda üretilebilir. Bunlar arasında yalnızca pirolitik karbon implant üretiminde sıklıkla kullanılır. Bununla birlikte yüzey kaplamada da kullanılmaktadır. Ayrıca yüzey modifikasyonu amacıyla kaplamalar, elmas kaplama şeklinde de yapılmaktadır. Malzeme yüzeylerinin elmas ile kaplanması, medikal cihaz üretiminde bir dönüm noktası olma potansiyeline rağmen, henüz ticari olarak yaygınlaşmamıştır.

Karbon esaslı malzemeler dayanımları açısından sert doku implant malzemeleri olarak kullanılabilirler. Canlı doku ile kimyasal bağ oluşturamadıkları için tamamen inert kabul edilmemektedirler.

Son zamanlarda, karbon elyafıyla güçlendirilmiş kompozit karbon malzemelerin implant yapımında kullanılması düşünülmektedir. Ancak karbon-karbon kompozitler, yüksek derecede anizotropik olup, %35-38 oranında porozite içerdiklerinde yoğunlukları 1.4- 1.45 g/cm³ aralığında olmaktadır. Karbon, dokuyla mükemmel bir uyuma sahiptir. Pirolitik karbon kaplanmış cihazların kan duyarlılık testleri, kalp kanallarında ve kan damarlarında geniş bir kullanıma sahip olabileceğini göstermiştir.

1.2.2.4 Kalsiyum Fosfat Seramikler

Sentetik kalsiyum fosfatlar, kemik içerisinde bulunan minerale yapı ve kompozisyon açısından çok benzerdir. Kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindeki yapılarıdır. Hidroksiapatit ($HA:Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), trikalsiyum fosfat ($Ca_3(PO_4)_2$) ve oktakalsiyum fosfat ($Ca_8(PO_4)_3.2OH$) bu yapılara örnek verilebilir. Kalsiyum fosfat bazlı biyoseramikler tıpta ve dişçilikte 20 yıldan beri

kullanılmaktadır. Bu malzemeler, ortopedik kaplamalar ve diş implantlarında, yüz kemiklerinde, kulak kemiklerinde, kalça ve diz protezlerinde “kemik tozu” olarak kullanılmaktadır. Kalsiyum seramiklerin sinterlenmesi, genellikle 1000-1500 °C’de gerçekleşir ve bunu, istenilen geometride sıkıştırılması izler. Tüm kalsiyum fosfat seramikleri, değişen hızlarda biyolojik olarak bozunurlar.

1.2.2.4.1 Hidroksiapatit

Biyoseramiklerden biri olan ve klinikte çok kullanılan hidroksiapatit (HA:Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂), kemik, diş ve diş minesinin dokusunun inorganik yapısını oluşturan kalsiyum fosfat esaslı bir seramik olup, biyouyumluluğu nedeniyle yapay kemik olarak çeşitli protezlerin yapımında, çatlak ve kırık kemiklerin onarımında ve metalik biyomalzemelerin kaplanmasında kullanılmaktadır. %100 saf, kristalin hidroksiapatitin diğer kalsiyum fosfatlı bileşiklere göre en az çözünürlüğe sahip, en fazla kararlı yapıya ve en yüksek dayanıma sahip olduğu belirlenmiştir. Vücut içindeki kalsiyum fosfatlar içerisinde en karalı olanıdır [8].

Diğer kalsiyum fosfatların (özellikle trikalsiyumfosfat) kaplama malzemesi olarak kullanıldığı durumlarda hücre içi ve hücre dışı sıvısının asidik etkisiyle zamanla çözünebildiği görülmüştür. İmplant uygulamalarda, kemik oluşturan hücreler (osteoblast) hidroksiapatit yüzeyi üzerine yapışmakta ve bunu takiben kollojen ve kemik mineralleri direkt olarak yüzeyde büyümektedir. Bu malzemenin dayanımı düşük olduğundan dolayı yük taşıyan implant/protez uygulamalarında metal implantların üzerine kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca fazla dayanım gerektirmeyen kemik dolgu malzemesi uygulamalarında da oldukça yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Hidroksiapatit biyoseramiklerin bir diğer kullanım alanı ise oküler implant uygulamasıdır. Biyouygunluk ve toksik olmama gibi özellikler, hidroksiapatiti oküler implant uygulaması için ideal bir biyomalzeme yapmaktadır [9].

1.2.2.4.1.1 Hidroksiapatitin Biyouyumluluğu

HA'nın en önemli özellikleri arasında mükemmel biyolojik uyumluluğu önde gelir. HA, sert dokularla direkt kimyasal bağ kurar. HA partiküllerinin ya da gözenekli blokların kemiğe yerleştirilmesinde; yeni doku, 4–8 haftada şekillenir [10]. HA'nın gözenekli yapısı; hücrelerin, gözeneklerin içine doğru büyümesinden dolayı, dokuların implanta nüfuz etmesini sağlar. Ayrıca HA'nın yapısındaki gözenekler, bir kanallar sistemi gibi davranıp, kemik yapıya kanın ve diğer önemli vücut sıvılarının ulaşmasını sağlar. HA'nın emilimi yılda %5-10 hızıyla gerçekteşir. Yapılan deneylerde HA implantların, öncelikle fibrovasküler doku ile kaplandığı ve zamanla bu dokudaki olgun lamellerin, kemiğe dönüştüğu tespit edilmiştir [11]. HA'nın osteokonduktif özellikleri de implantların kemiğe sıkı yapışmasına ortam ve olanak sağlar. Ayrıca HA'nın lokal büyüme faktörlerine, özellikle kemik proteinlerine karşı kuvvetli kimyasal bağlanma eğilimi olduğu saptanmıştır [12]. HA'nın non-toksik özelliklere sahip olması sayesinde meydana gelebilecek vücut reaksiyonları da minimumdur [13].

1.2.2.4.1.2 Hidroksiapatitin Metalik Biyomalzemeler Üzerine Kaplanması

Kalça eklem protezlerindeki gibi metal implantlar üzerine kaplama, HA'nın en önemli uygulamalarından biridir. PMMA'nın kullanımında oluşan komplikasyondan kaçınmak için bir fiksasyon (sabitleme) aracı olarak femur (büyük bacak kemiği) protezlerinde ve kapsüllerinde geniş bir şekilde kullanılmaktadır [14]. Bir araştırmada; 8 yıllık takip sonucunda 324 implantta %3'lük bir femoral gözden geçirme rapor edilmiştir [15]. Benzer sonuçlar Geesink tarafından rapor edilmiştir: 118 kalça protezi 8 yıl takip edilmiş ve %98'lik bir başarı elde edilmiştir [16]. Bu çalışmalarda, implant üzerinde kemik iç büyümesinin arttığı sonucuna varılmıştır. Kaplamadan iyi bir sonuç almak için, kaplama kalınlığı, malzemenin kimyasal kompozisyonu ve metalin yüzey pürüzlülüğu anahtar faktördür [17, 18]. Metal yüzeyine HA kaplama uygulaması; kimyasal bağlanma yolu ile kemik/implant sabitlemesi elde etmek için metalik malzemelerin mekanik özellikleri ile HA'nın yüksek biyouygunluğu ve biyoaktifliğini birleştirmektir [19]. Metalik biyomalzemelerin HA ile kaplanmasında, ince bir HA tabakası biyoaktivite sağlar.

Metallerin biyoaktivitesini artırmak için yapılan birçok çalışma, kimyasal ve ısı ile işleme olmuş amorf sodyum titanat tabaka kalınlığının yaklaşık 1 µm olduğunu göstermiştir [20, 21, 22, 23]. HA kaplamalı metaller iyi sabitleme sağlasa da, HA ile metal arasındaki yapışma dayanımının düşüklüğü, HA tabakasının metal yüzeyinden kaybına neden olabilmektedir. Ayrıca, kaplama sırasında oluşacak yüksek sıcaklık da, gerek kaplama gerekse de kaplanacak malzemede yapısal değişikliklere neden olmaktadır [24]. Kaplamanın in-vivo stabilitesi, direkt olarak kristalinite ile ilgilidir. Kristalinite, kaplamadaki kristal HA yüzdesidir [25]. Başarılı bir kaplama için malzeme ve kaplama yönteminin iyi seçilmesi gereklidir.

1.2.2.5 Cam ve Cam Seramikler

Camlar, silika (SiO_2) bazlı malzemelerdir. Cam seramikler, (Li/Al) Lityum/Alüminyum veya (Mg/Al) Magnezyum/Alüminyum kristalleri içeren camlardır. Biyocamda ise silika gruplarının bazıları kalsiyum, fosfor veya sodyum ile yer değiştirmiştir (SiO_2 , Na_2O , CaO , P_2O_5). Böylece doku ve implant arasında kimyasal bağlanma gerçekleşir. Biyoaktif camlar ilk kez Hench ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olup bunlar kemiğe kimyasal olarak bağlanırlar. Bu uygulamada kullanılan biyocam (45S5-Bioglass®) (kimyasal kompozisyonu; 45% SiO_2 , 24.5% CaO , 6% P_2O_5 ve 24.5% Na_2O), HA'ya göre kemik oluşumunda daha iyi olmasına rağmen, zayıf mekanik özelliklerinden dolayı ağırlık taşıyan mekanizmalarda kullanılmaz.

Cam seramikler, her geçen gün akademik çalışmaların yoğunlaştığı bir alandır. Günümüzde kullanım alanları ve içeriğinde bulunan malzemelerin stratejik öneminden dolayı, cam seramikler çok önemli mühendislik uygulamalarının anahtarı rolündedir. Cam-seramikler, özel bileşimlere sahip camların kontrollü kristalizasyonu ile üretilen çok kristalli malzemelerdir. Kristalizasyon, cam içerisinde kristal fazların çekirdeklenme ve büyümelerini sağlayan uygun ve dikkatli bir ısı ileme programı ile sağlanır. Bu tür malzemelerin mikro yapıları sinterleme yolu ile üretilen seramiklerin mikro yapılarına benzemektedir. İçyapıları cam malzemeden kristallenme sonucu olduğundan cam-seramik olarak isimlendirilir [7].

1.2.3 Polimerik Biyomalzemeler

Çok sayıda aynı veya farklı atomik grupların kimyasal bağlarla az veya çok düzenli bir biçimde bağlanarak oluşturduğu uzun zincirli veya dallanmış yapıda yüksek molekül ağırlıklı bileşikler, polimerler olarak adlandırılır [26].

Polimerlerin özellikleri, yapı taşları olan monomerlerden büyük farklılık gösterir. Bu nedenle, uygulama alanına yönelik olarak uygun biyomalzeme seçimi, biyotıp mühendisleri tarafından dikkatlice yapılmalıdır. Nişasta, selüloz, doğal kauçuk ve DNA (genetik materyal), doğal polimerler grubuna girerler. Günümüzde çok sayıda sentetik polimer de bulunur.

Genellikle monomerler, karbon ve hidrojen atomlarından oluşurlar ve bu durumda polimer yapısı uzun hidrokarbon zincirine sahiptir. Bu tür monomerlerin en basiti “etilen” dir ($H_2C=CH_2$) ve oluşturduğu polimer de “polietilen” olarak adlandırılır. Çok sayıda etilen molekülü yapılarındaki çift bağın açılması sonucu, kovalent bağlarla bağlanarak polietilen zincirini oluştururlar. Genellikle “polimer” denildiğinde akla gelen, bu hidrokarbon zincirine sahip organik polimerlerdir. Ancak, hidrojen ve karbon atomlarından başka atomlardan meydana gelen polimerler de vardır. Örneğin, silisyum (Si), azot (N), ya da fosfor (P) atomlarından oluşan polimer zincirleri de olur ve bu tür polimerler “inorganik polimerler” olarak adlandırılır. Polimer zincirleri, doğrusal yapıda, yani düz bir çizgi halinde olabileceği gibi, dallanmış yapıda da olabilirler. Bu yapılar, polimer ana zincirine diğer zincirlerin yan dal olarak bağlanmasıyla oluşurlar. Bu yan dallar başka bir ana zincirle bağlandığıdaysa, çapraz bağlı polimerler oluşur. Dallanma, polimerlerin uygun çözücülerdeki çözünürlüğünü zorlaştırır, çapraz-bağlı yapılar çözünmeyip, sadece yapılarına çözücü olarak şişerler. PMMA hidrofobik, doğrusal yapıda bir zincir polimeridir. Oda sıcaklığında camsı halde bulunur. Lucite ve Plexiglas ticari isimleriyle tanınır. Işık geçirgenliği, sertliği ve kararlılığı nedeniyle göz içi lensler ve sert kontakt lenslerde kullanımı yaygındır. Yumuşak kontakt lenslerse, aynı ailenin bir başka polimerinden hazırlanırlar. Çapraz bağlanma, sulu ortamda polimerin çözünmesini engeller ve bu durumdaki polimer şişmiş hidrojel olarak adlandırılır.

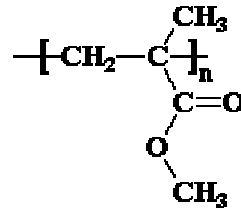
Tıbbi uygulamalarda yüksek-yoğunluklu polietilen (PE) kullanılır. Çünkü alçak yoğunluklu PE, sterilizasyon sıcaklığına dayanamaz. PE, tüp formundaki uygulamalarda ve kateterlerde, çok yüksek molekül ağırlıklı olanı ise yapay kalça protezlerinde kullanılır. Malzemenin sertliği iyidir, yağlara dirençlidir ve ucuzdur. Polipropilen (PP), PE'ye benzer, ancak daha serttir. Kimyasal direnci yüksek ve çekme dayanımı iyidir. PE'nin yer aldığı uygulamalarda PP de kullanılabilir.

1.2.3.1 Hidrojeller

Hidrojeller, suda şişebilen, çapraz-bağlı polimerik yapılardır. Bir ya da daha çok sayıda monomerin polimerizasyon reaksiyonu ile hazırlanırlar. Ana zincirler arasında hidrojen bağları veya van der Waals etkileşimleri gibi bağlanmalar mevcuttur. Bu nedenle çözünmezdirler. Hidrojeller, tıbbi uygulamalar açısından sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle son 30 yıldır ilgi odağı durumundadırlar. Tıbbi uygulamalarda en yaygın olarak kullanılan hidrojel, çapraz-bağlı PHEMA'dır. Sahip olduğu su içeriği nedeniyle, doğal dokulara büyük bir benzerlik gösterir. Normal biyolojik reaksiyonlarda inerttir. Bozunmaya dirençlidir, vücut tarafından emilmez, ısıyla steril edilebilir, çok değişik şekil ve formlarda hazırlanabilir. Hidrojellerin ilk uygulaması, kontakt lensler olarak ortaya çıkar. Mekanik kararlılıklarının iyi oluşu, yüksek oksijen geçirgenliği ve uygun kırınım indisine sahip oluşları, kontakt lenslerde kullanılmalarının temel nedenidir. Hidrojellerin diğer uygulamaları; yapay tendon materyalleri, yara-iyileşmesinde biyoyapışkan madde, yapay böbrek zarları, yapay deri, estetik cerrahide malzeme olarak kullanımları şeklinde sıralanabilir. Son yıllardaki en önemli uygulamalardan biri ise eczacılık alanında, kontrollü ilaç salın sistemlerdeki kullanımdır. Örnek olarak insülin salımı verilebilir. İnsülin salımının kontrolü, glikoz seviyesinde artma olduğunda daha fazla insülin salabilen akıllı hidrojellerin yardımıyla başarılabilmektedir. Pek çok glikoz-cevaplı hidrojel sistemi, pH'ya-duyarlı polimerlerden hazırlanmaktadır. Hidrojellerin ileri uygulamalarından biri de yapay kasların geliştirilmesidir. Elektrokimyasal uyarıları mekanik işe çeviren akıllı hidrojeller, insan kas dokusu işlevi görebilir. Bu özellikten yararlanarak yapay kaslar yapılmaktadır. Biyoteknolojik uygulamalarda da, özellikle biyoaktif proteinlerin ayrılmasında hidrojellerden faydalanılmaktadır [3].

1.2.3.2 Poli(metil metakrilat)

PMMA, protezlerde sabitleme için en çok kullanılan polimerdir [27, 28]. Bu polimer termoplastik ve transparant özelliklere sahiptir. Ticari olarak Policril, Plexiglas, Vitroflex, Limacryl, R-Cast, Per-Clax, Perspex, Plazcryl, Acrylex, Acrylite, Acryplast, Altuglas, Polycast, Oroglass, Optix ve Lucite isimleriyle satılmaktadır. Ayrıca yaygın şekilde akrilik cam veya plexiglas isimleriyle tanınmaktadır. Şekil 1.2, PMMA'nın açık yapısını göstermektedir.



Şekil 1.2 PMMA'nın açık yapısı

PMMA, yaygın olarak cam yerine kullanılmaktadır ve polikarbonatla (PC) yarış halindedir. Üstün özelliklerinden, kolay elde edilmesi ve ucuz maliyetinden dolayı tercih edilmektedir fakat basınca karşı oldukça kırılıgandır [29].

PMMA, hidrofobik (su sevmeyen), doğrusal yapıda bir zincir polimeridir. Işık geçirgenliği, sertliği ve kararlılığı nedeniyle genellikle göz içi lensler ve sert kontakt lenslerde kullanılmaktadır. Yumuşak kontakt lensler ise 2-hidroksimetil metakrilat (HEMA) monomerinin az miktarda etilen glikol dimetakrilat ile yapısında çapraz bağ oluşturulması sağlanarak hazırlanır.

1.2.4 Kompozit Biyomalzemeler

Kompozit malzemeler, belirli bir amaca yönelik olarak, en az iki farklı maddenin bir araya getirilmesiyle meydana gelen malzeme grubudur. Üç boyutlu nitelikteki bu bir araya getirmede amaç, bileşenlerin hiçbirinde tek başına mevcut olmayan bir özelliğin elde edilmesidir. Diğer bir deyişle, amaçlanan doğrultuda bileşenlerinden daha üstün özelliklere sahip bir malzeme üretilmesi

hedeflenmektedir. Kompozit malzemelere, “Çok Bileşenli Malzeme”, “Çok Fazlı Malzeme”, “Donatılı Malzeme” ve “Pekiştirilmiş Malzeme” gibi adlar da verilmektedir [30].

Kompozit malzeme, “matriks” olarak adlandırılan bir malzeme içerisine çeşitli güçlendirici malzemelerin katılmasıyla hazırlanır. Matriks olarak çeşitli polimerler, güçlendirici olarak ise çoğunlukla cam, karbon ya da polimer lifler, bazen de mika ve çeşitli toz seramikler kullanılır [31].

Kompozitler, yüksek dayanıma ve düşük elastik modülüne sahip olduklarından, özellikle ortopedik uygulamalar için öngörülmektedirler. Ayrıca, kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek, implantın vücuttaki kullanım alanlarına göre mekanik ve fizyolojik şartlara uyum sağlaması da kolaylaştırılabilir. Açıkça görülüyor ki, kompozit malzemeler, homojen malzemelere oranla, yapısal uyumluluğun sağlanması açısından daha avantajlıdır. Polimer kompozitlerin sağlayabileceği diğer üstünlükler, korozyona direnç, metal yorgunluğunun ve metal iyonlarının salınımının görülmemesi ve kırılma eğiliminin azalmasıdır. Metal iyonları örneğin nikel ve krom salınımı implantı zayıflatmaktan başka, alerjik reaksiyonlara da neden olur. Kompozitler, ortopedi ve diş hekimliği uygulamaları dışında, yumuşak doku implantı olarak da kullanılırlar [31].

1.2.4.1 Nanokompozitler

Nanoteknolojinin özü, moleküler boyutta çalışarak, moleküler yapısı yenilenmiş büyük yapılar elde etmektir. Malzemelerin nanometrik boyuttaki özellikleri, aynı malzemenin makro boyuttaki özelliklerine göre değişiklik göstermektedir. Nanokompozitler, bir matriks içerisinde nanometre büyüklüğünde parçacıkların dağılması ile oluşan malzemelerdir.

Nanokompozitlerin malzemeye getirdiği üstünlükler; modülü arttırması, güçlendirmesi, ısı direncini arttırması, malzemeye gaz sızmasını engellemesi, yanıcılığını azaltması olarak sıralanabilir.

Nanoyapılı malzeme, tane/partikül boyutu 1-100 nm arasında olan malzemelerdir. Mikro-yapılı malzemelerde atomların küçük bir yüzdesi yüzeyde ya da arayüzeyde bulunmaktadır. Nano-malzemelerde ise bu tür yerlerdeki atomların sayısı çok daha fazladır. Dolayısı ile nanometre seviyelerindeki malzemelerin özellikleri geleneksel mikroyapılı malzemelerle karşılaştırıldığında değişik olabilmektedir [32].

1.2.4.1.1 Nanokompozitleri Üstün Kılan Özellikler

Nano ölçekli malzemeler daha büyük boyutlu malzemelere göre daha farklı ve üstün nitelikli mekanik, elektrik, ısı, optik ve kimyasal özelliklere sahip olduklarından son yılların en dikkat çekici çalışma alanlarını oluşturmaktadırlar. Nanoyapıların özelliklerini şöyle sıralayabiliriz [33]:

- Hacme göre yüksek yüzey-hacim oranına sahiptir (geniş ölçüde yüzey atomlarına sahiptir),
- Yapı atomsal düzeye indirildiğinden klasik fizik yerine kuantum etkiler işin içine girmektedir,
- Kuantum kuyusu gibi davranan nanoyapıların bant aralığı yapısı da değişmektedir,
- Külçe halinde oda sıcaklığında tepkimeye girmeyen altın 3-5 nm boyutlarında pek çok tepkimeyi tetikleyebilmektedir.

Nanokompozitlerin avantajları ise aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- Metaller ve dolgu kompozitlerden daha parlaktırlar,
- Daha düşük maliyetle elde edilirler,
- Taşımada büyük yakıt ve enerji kazanımı sağlarlar,
- Yüksek gerilme modülü ve boyut stabilitesi gibi mekanik özellikler gösterirler,
- Nanokompozit yapıda bulunan su ve hidrokarbonlardan dolayı, gaz geçirgenliği azalır,
- Termal stabiliteyi artırır ve ısı bozulma sıcaklığını yükseltirler,

- Yanma dayanımları daha fazladır,
- Kimyasal etkenlere dayanıklılıkları yüksektir,
- Elektrik iletkenlikleri daha fazladır,
- Konvansiyonel dolgulu polimerlerle kıyaslandığında optik geçirgenlik özellikleri daha iyidir.

Bu iyileşmiş özellikler, kil ve polimer arasındaki nanoyapısal konfigurasyon ve iç yüzey bağlanmasındandır [34].

1.2.4.1.2 Nanokompozitlerin Sınıflandırılması

Nanokompozitler boyutlarına göre sınıflandırmak istenilirse, nano ebatta kaç boyutu olduğuna bakılır.

- Nanokompozit üç boyutta da nanometrik seviyede ise “isodimensional” nanopartiküller olarak adlandırılır ve in-situ, sol-gel metodu ile elde edilen kübik silis nanopartikülleri buna örnek olarak verilebilir.
- Eğer nanokompozit 2 boyutta nanometrik ve diğer boyutta daha büyük boyda ise nanotüpler veya kil kristalleri (whiskers) olarak adlandırılırlar. Selülozik kil kristalleri ve karbon nanotüpler bu tip nanokompozitlere örnek olarak verilebilir ve bunlar malzemelerin güçlendirmesinde nano dolgu maddesi olarak kullanılırlar.
- Üçüncü çeşit nanokompozit ise sadece tek boyutta nanometrik seviyededir. Bu tür nanokompozitlerde dolgu malzemesi bir defter yaprağı gibi yalnızca tek bir boyutta nanometrik seviyededir, diğer boyutlarda ise yüzlerce ya da binlerce nanometre boyutundadır [32].

1.3 Enzimler

Laboratuarlarda organik bileşiklerin kimyasal reaksiyonları, düşük ısı ve atmosfer basıncı altında çok yavaş bir hızda olmaktadır. Bu kimyasal reaksiyonların hızlı bir şekilde meydana gelmesi yüksek bir ısı ve atmosfer basıncı ile belirgin bir pH ve bazı kimyasal maddelere yani katalizörlere ihtiyaç gösterir. Halbuki hayatın

devamı için lüzumlu olan bu gibi kimyasal reaksiyonlar canlı vücudunda 37-38 °C gibi düşük bir ısı ve atmosfer basıncı altında ve nötral pH sınırları içinde hızlıca olmaktadır. İşte canlı vücudunda bu kimyasal reaksiyonların hızlıca olması “enzim” denilen biyolojik katalizörlerle mümkün olmaktadır [35].

Enzimler, metabolizma reaksiyonlarının pek çoğunu hızlandıran protein yapısındaki biyolojik katalizörlerdir. Her katalizör gibi enzimler de bir tepkimenin aktivasyon enerjisini (E_a veya ΔG) azaltarak çalışır ve böylece tepkime hızını oldukça artırır. Çoğu enzim tepkimesi, ona karşılık gelen ve katalizlenmeyen tepkimeden milyonlarca kere daha hızlıdır. Diğer katalizörler gibi enzimler de katalizledikleri tepkime sonucunda tükenmez ve bu tepkimelerin dengesini değiştirmez. Ancak, diğer çoğu katalizörden farklı olarak enzimler, çok daha spesifiktir.

1.4 Enzimatik Antioksidanlar

Serbest radikaller (hidroksil radikali, süperoksit radikalleri vs.) oksidatif fosforilasyon sonucu meydana gelirler ve oksidatif hasarlara neden olmaktadır. Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi, enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olmaktadır. Normal koşullar altında bu serbest radikallerin yıkımı ve üretimi hücre içinde düzenlenmektedir [36]. Serbest radikal yaratan kaynaklar radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliğini yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve birçok başka etkenlerdir [37].

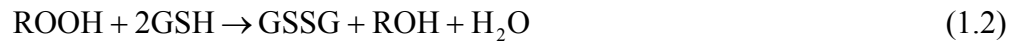
Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROT) de denilmektedir [38].

Reaktif oksijen türleri olarak bilinen başlıca moleküller O_2^{\bullet} (süperoksit) radikali, H_2O_2 (hidrojen peroksit) ve HO^{\bullet} (hidroksil) radikalidir [37]. Bu oluşan reaktif oksijen türlerini parçalayan enzimler vücudumuzda oldukça aktiftir.

Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki grup altında toplanırlar. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon s-transferaz (GST) ve glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PD); non-enzimatik antioksidanlar ise vitamin E (tokoferoller), vitamin C (askorbik asit), vitamin A (β - karoten), selenyum, transferin, laktoferin, ürik asit, glukoz, askorbat, albumin, bilirubin ve seruloplazmindir. Antioksidanlar sıklıkla intrasellüler bazen de ekstrasellüler olabilirler [39, 40, 41].

1.4.1 Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px, EC 1.11.1.19), hidrojen peroksit ve büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerinin (ROOH) indirgenmesinden sorumludur. Sitozolda yerleşmiş, 4 selenyum atomu içeren tetramerik yapıda bir enzimdir. Glutatyon mekanizması çok önemli antioksidan savunma sistemlerinden biridir. GSH-Px karaciğerde en yüksek; kalp, akciğer ve beyinde orta; kasta ise düşük düzeyde aktivite gösterir. Glutatyon peroksidaz aşırı düzeylerde H_2O_2 varlığında, redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) dönüşümünü katalize eder.



GSH-Px'in iki substratı vardır. Substratlardan biri olan peroksit alkole indirgenirken, diğer substrat olan glutatyon (GSH) yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutatyon (GSSG), glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşür [42, 43].



1.4.2 Glutasyon Redüktaz (GR)

Dimer yapılı bir enzim olan GR, hücrede indirgenmiş bir durumda glutasyon havuzu oluşturmak için, okside glutasyonu redükte glutasyona NADPH'a bağımlı olarak katalizleyen bir flavoproteindir.

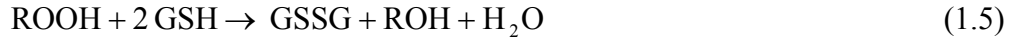


Bu enzimin varlığında, H₂O₂'nin arttığı durumlarda, glutasyon havuzu indirgenme olayında çok etkili olmaktadır. H₂O₂'i suya indirgemek için de NADPH'ı kullanır [44, 45]. Birçok peroksin detoksifiye edilmesinde indirgeyici güç kaynağı sağlayan NADPH, pentoz fosfat yolundan ve diğer sitoplazmik kaynaklardan elde edilmektedir [44]. Redükte glutasyon molekülü, antioksidan enzimler için elektron ve hidrojen kaynağı olarak kofaktör görevini tamamladıktan sonra okside glutasyon (GSSG) formuna dönüşür [45].

Glutasyon redüktazın kalıtımı, otozomal dominanttır ve 8. kromozom üzerindedir. Glutasyon peroksidaz ile benzer doku dağılımı gösterir. Glutasyon redüktaz, flavin adenin dinükleotit (FAD) içerir; NADPH'tan bir elektronun GSSG'nin disülfid bağlarına aktarılmasını katalizler. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarına karşı gereklidir ve ana kaynağı pentoz fosfat yoludur [46].

1.4.3 Glutasyon S-Transferaz (GST)

GST (EC. 2.5.1.18)'ler iki protein alt biriminden oluşan bir enzim grubudur. GST'ler genel olarak üç sitozolik ve bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Böceklerde, bakterilerde ve birçok bitkide tanımlanmışlardır. GST'ler alfa, pi, mu, sigma ve teta olmak üzere beş sınıf altında incelenen dimerik enzimlerdir. Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlere (ROOH) karşı GST'ler Se-bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi gösterirler [47].



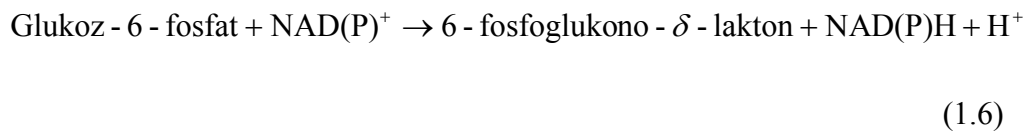
1.4.4 Glukoz-6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD)

G6PD monomeri, yaklaşık 515 aminoasitten oluşur, molekül ağırlığı mikrobiyal türlerde 50-60 kDa, memeli türlerinde ise 58-67 kDa arasında değişiklik göstermektedir. Enzim genellikle aktif olarak dimerik yapı gösterir. Enzimin dimerik ya da tetramerik formunu sıcaklık, enzim, NADP^+ , NADPH konsantrasyonu gibi çeşitli faktörler etkilemektedir [48].

Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) (D-glukoz-6 fosfat; NADP^+ oksidoredüktaz, E.C. 1.1.1.49) pentoz fosfat metabolik yolunun ilk ve kontrol enzimidir [49]. Pentoz fosfat yolu oksidatif ve nonoksidatif olmak üzere iki kısma ayrılır. Hücrede RNA, DNA ve nükleotid sentezi için gerekli riboz-5-fosfat ve redüktif biyosentezlerde indirgeyici güç olan NADPH 'ları sentezlemek gibi başlıca iki fonksiyonu vardır [50]. Ayrıca, aromatik aminoasit ve vitamin sentezinde gerekli eritroz-4-fosfat, bakteri hücre duvarının bir bileşeni sedoheptuloz-7-fosfat gibi fosforile karbonhidratlar sentezlenmektedir [51].

Eritrositlerde pentoz fosfat yolu, okside glutatyonun indirgenmesi için gerekli NADPH 'yı sağlar. Redükte glutatyon (GSH) ve GSH bağımlı enzimler hücreyi iç ve dış kaynaklı toksik bileşiklerden ve reaktif oksijen türlerinden (ROT) korur [52]. Fagositlerde oksijen tüketimi ve H_2O_2 oluşumu fazla olduğundan pentoz fosfat yolunun aktivitesi de yüksektir [53].

Birçok mikroorganizma, bitki ve hayvan hücrelerinde bulunan enzim, aşağıdaki tepkimeyi katalizler [54].



1.4.5 Katalaz (CAT)

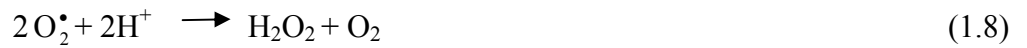
Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6), bilinen en eski enzimlerdendir. 1901 yılında Loew tarafından bu ad verilmiştir. Katalazlar, hidrojen peroksiti, su ve moleküler oksijene parçalar.



Aerobik hücrelerin çoğunda katalaz enzimi bulunur. Hücre alt fraksiyonları düzeyinde katalaz, peroksizomlarda %80 oranında, sitozolde ise yaklaşık %20 oranında bulunur. Molekül ağırlığı 240000 olup dört alt birimi vardır. Her bir alt birim, aktif merkezine bağlı bir hem grubu içerir. Molekülün alt birimlerine ayrılması enzim aktivitesinin kaybına neden olur. Kono ve Fridovich süperoksit radikallerinin katalazı inhibe ettiğini bildirmişlerdir [55]. H_2O_2 'nin katalazı inhibe ettiği uzun zamandan beri bilinmektedir. NADPH, katalazın H_2O_2 tarafından inaktivasyonunu engeller. İndirgenmiş glutatyon (GSH), katalazı doza bağımlı inhibe eder [56].

1.4.6 Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD (EC 1.15.1.1) oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan endojen veya eksojen kaynaklı süperoksit radikallerinin (O_2^{\bullet}), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırmaktadır [57].



Çeşitli hastalıklardaki süperoksit dismutaz aktiviteleri, klinik açıdan oldukça ilgi çekmektedir. Hücrelerde SOD enziminin iki ana formu bulunmaktadır. İlk formu, sitoplazmada bulunup Cu ve Zn ihtiva etmektedir (Cu, ZnSOD). Mitokondirde baskın olan diğer formu ise Mn içermektedir (MnSOD). Down sendromlu hastalarda veya üremi hastalığı olanlarda, Cu,ZnSOD'un eritrositlerdeki

spesifik aktivitesi artmıştır. Böbrek yetmezliği veya karaciğer hastalığı bulunanlarda ise serumdaki aktivitesi artmıştır [58, 59, 60, 61].

SOD'un fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının (O_2^{\bullet}) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar. SOD'un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür [62].

1.5 Literatür Özeti

Ishizawa ve arkadaşları, titanyum-HA kompozitini sentezlemişler ve kompozitteki HA kristalinin tavşanın kalça kemiğine implantasyonundan 8 hafta sonra, bozunma olmadan kaldığını belirlemişlerdir. Bu bulgu ile ince HA tabakasının canlı dokuda çok yavaş bozunduğunu ileri sürmüşlerdir [63]. Kokubo yaptığı araştırmada polimetil metakrilat (PMMA) ve polieter sülfon (PESF) girdilerini kullanarak, sırasıyla PMMA-Apatit ve PESF-Apatit biyoseramik kompozitlerini sentezlemiştir [64]. Gomez-Vega ve arkadaşları, Ti6Al4V-cam girdisinin yapay vücut sıvısına daldırılması ile Ti6Al4V-cam-HA kompozitini sentezlemişlerdir. Bu kompoziti vücut ile metalin uyumunu arttırmak için kullanmışlardır. Cam-HA kaplama, metali vücut sıvıları ile korozyona uğramaktan korumuş ve biyoaktif olduğu için kemiğe yapışmayı arttırmıştır. HA ile kaplanmış titanyum implantı iyi bir kemik yüzeyi oluşturarak saf titanyuma göre hızlı bir iyileşme süreci göstermiştir [65]. Wang ve arkadaşları, kitin liflerini yapay vücut sıvısına daldırarak, kitin-HA biyoseramik kompozitini sentezlemişler ve kompozitteki HA dağılımının homojen olduğunu belirlenmişlerdir [66]. Balasundaram ve Webster, nanofazlı materyallerin neden geleneksel materyallerden daha kullanışlı olduğunu çeşitli referanslar göstererek gözler önüne sermeye çalışmışlardır [67]. Walschus ve arkadaşları, farelere kalsiyum fosfat kaplı titanyum plakaları implante ettikten sonra doku tepkilerini ölçmüşlerdir. Ölçümler sonucunda HA kaplı titanyum plakalarına karşı dokuların daha az monosit ve makrofaj ürettiği sonucuna ulaşılmıştır [68]. Guo ve arkadaşları, kalsiyum fosfat çimentosundan, kalsiyumu normalden eksik olan (normalde Ca/P:1.67 iken, sentezlenende Ca/P:1.50)

hidroksiapatit yapı iskeleti sentezlemişlerdir. Bu hidroksiapatitin gözenekli yapısının normalinden daha fazla olduğunu ve biyoyumluluğunun ve kemik yapımını desteklemesinin de iyi olduğu sonucuna varmışlardır [69]. Kazemzadeh ve arkadaşları, kemik doku mühendisliği için gözenekli hidroksiapatit-jelatin kompozitini sentezlemişlerdir. Deneylerini fare L929 fibroblast hücreleri üzerinde yapmışlar ve kompozit ile çevrili dokuların olduğu kısımlarda hücrelerin daha iyi çoğaldığını gözlemlemişlerdir. Yapılan testler sonucunda sentezlenen yapı iskelesinin biyoyumlu olduğu sonucuna vardılar [70]. Shin ve arkadaşları, yapay göz çukuru için kullanılacak olan nanokompozitlerin biyoyumluluğunu *In vivo* deneylerle incelediler, en biyoyumlu olanın poly ϵ -caprolactone polimerini içeren nanokompozitin olduğunu gözlemlemişlerdir [71]. Wahl ve Czernuszka, sert doku tamiri için sentezlenen kollajen-hidroksiapatit kompozitleri üzerine bir araştırma yapmışlar, bunun için de 13 tane çalışmayı incelemişler ve yorumlamışlardır [72]. Jansen ve arkadaşları, sert ve yumuşak doku implantlarının biyoyumluluğunun belirlenmesi için kullanılabilecek yeni ve basit histolojik belirleme yöntemlerini açıklamışlardır, çalışmalarında bu yöntemlerden iki tanesi verilmiştir [73]. Şafak ve Özeri, kemikçik yapılanmasında kullanılan biyoyumlu materyalleri araştırmışlardır. Sonuç olarak yapılan çalışmalarda henüz hangi yapı malzemesinin daha iyi olduğuna yönelik ortak bir karara ulaşamadığı sonucuna varılmıştır [74]. Şerbetçi ve arkadaşları, hidroksiapatit içeren kemik çimentosunun geliştirilerek bu çimentonun biyoyumluluk özelliklerini araştırmışlardır. %7 oranında HA içeren kemik çimentosunun, ticari kemik çimentosundan biyolojik anlamda daha uyumlu olduğu sonucuna varmışlardır [75]. Dimitrevska ve arkadaşları, hidroksiapatitin biyoaktivitesine ve polietilenterafitalatın mükemmel mekaniksel ve biyoyumluluk performansına bağlı olarak nanosafılıkta hidroksiapatit ve polietilenterafitalattan hazırlanmış kompozit mikrofiberleri, biyolojik kemik yapısını oluşturmak için sentezlemişlerdir [76]. Balçık ve arkadaşları, kemiğe bağlanma kapasitesi yüksek olan trikalsiyum fosfat (TCP) ile HA kompozitinin segmenter kemik kayıplarının iyileşmesi sırasındaki biyoyumluluğunu araştırmışlardır. 2 ayın sonunda kemik kırıklarının olduğu bölgede kemik dokusu olduğu sonucuna varmışlardır [77]. Malafaya ve Reis, hidroksiapatitin *in vitro* sitotoksitesini ve biyoaktivitesini çalışmışlardır. Sonuç olarak iki tabakalı yapı iskelesinin, biyomateryallere alternatif olacağı sonucuna varmışlardır [78]. Deb ve arkadaşları, demir kaplı hidroksiapatitin

sentezi ve karakterizasyonunu çalışmışlardır. Sentezlenen demir kaplı hidroksiapatiti, Kasauli farelerine implante edip biyoyumluluğuna bakmışlar, bu biyomateryalin manyetik özelliklerinin ve biyoyumluluğunun hipertermia tedavisi için uygun olabileceği sonucuna varmışlardır [79]. Balamurugan ve arkadaşları, biomedikal uygulamalar için PMMA/HA kompozitlerini sentezleyip spektral karakterizasyonunu yapmışlardır [80].

1.6 Çalışmanın Amacı

Görevi iç organları darbelere karşı korumak, ayakta kalmayı sağlayarak vücuda şeklini vermek olan iskelette oluşan hasarlar, vücudun işlevlerini kötü yönde etkiler. Vücudun kendisini onarım gücü yetersiz kaldığında, implant malzeme olarak isimlendirilen ve sert dokuların yerine geçen malzemelerin kullanılması gündeme gelir. Bu amaçla vücudun hasarlı, hastalıklı ve kullanılamaz durumdaki kısımları için özellikle tasarlanmış biyomalzemelere ihtiyaç duyulmaktadır. Doğal veya metal, seramik, polimer veya kompozit esaslı olabilen bu malzemeler ortalama otuz yıllık bir geçmişe sahiptir. Seramik esaslı biyomalzemeler biyolojik olarak aktif olduklarından en yaygın olarak tercih edilen malzemelerdir. Kemik, hidroksiapatit içerisinden kollojen fiberlerin geçtiği doğal bir kompozit malzemedir. Kemik dokusunun ağırlıkça %70'ini oluşturan inorganik kalsiyum fosfat esaslı hidroksiapatit, tıp ve dişçilikte kullanılan bir biyoseramik malzeme olup, biyoyumluluğu nedeniyle yapay kemik olarak çeşitli protezlerin yapımında, çatlak ve kırık kemiklerin onarımında ve metalik biyomalzemelerin kaplanmasında kullanılmaktadır. Ancak, sertliği, kırılabilirliği ve zayıf mekaniksel özelliklerinden dolayı implant malzemelerinde tek başına kullanımı oldukça sınırlıdır. Biyolojik olarak vücutla uyumlu biyopolimerler kullanılarak hazırlanan nanokompozitler yardımıyla hidroksiapatitin mekanik özellikleri geliştirilebilir. Çalışmanın amacı, kemiğe bağlanma kapasitesi yüksek olan biyoaktif ancak düşük mekanik özelliklere sahip olan hidroksiapatitin biyoyumlu PMMA polimeri ile biyoimplantlarını sentezlemek, sentezlenen biyoimplantları karakterize etmek ve karakterize edilen biyoimplantların homoyumluluk ve antioksidan stres enzimleri ile etkileşimlerini incelemektir. Bu çalışma ile hücreleri oluşturan proteinlerin boyutlarına inilerek kemik ve kan ile daha iyi uyum sergileyeceği ümit edilen biyoimplantlar

sentezlenerek bilim ve sağlık endüstrisinin kullanımına sunulacaktır. Literatürde yapılan çalışmalarda kullanılan hidroksiapatitin tane boyutu genelde mikron seviyesindedir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan kan numuneleri sağlıklı bireylerden sitratlı tüplere her deney öncesi taze olarak alındı. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Merck ve Sigma'dan satın alındı. Enzim aktiviteleri Perkin Elmer Lambda 25 UV-Visible spektrofotometre kullanılarak belirlendi. Biyomalzeme sentezinde ise ultrasonik banyo, manyetik karıştırıcı ve çalkalamalı inkübatör kullanıldı.

2.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)
2. Poli(metil metakrilat) (PMMA)
3. Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)
4. Hidrojen peroksit (H_2O_2)
5. Ksantin
6. Ksantin oksidaz
7. Tris bazı
8. Etilendiamin tetraasetikasit (EDTA)
9. 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenil]-5-feniltetrazolyum klorür (INT)
10. Okside glutatyon (GSSG)
11. Redükte glutatyon (GSH)
12. Nikotinamidadenindinükleotidfosfat (NADPH)
13. Nikotinamidadenindinükleotidfosfat (NADP^+)
14. Glukoz-6 fosfat
15. Magnezyum klorür (MgCl_2)
16. Glutatyon redüktaz
17. t- bütül hidroperoksit
18. 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB)
19. Aseton

20. Tetrahidrofuran (THF)

2.1.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

1. Lamda 25 UV-Visible Spektrofotometre : Perkin Emler
2. pH-metre : Orian 920A
3. Otomatik pipetler : Brand
4. Hassas terazi : Denver
5. Etüv : Memmert
6. Soğutmalı santrifüj : Sigma 3K 30
7. Manyetik karıştırıcı : Heildolp
8. Ultrasonik banyo : ElmaSonic
9. Vakumlu Etüv : Selecta
10. XRD : Analytical Philips
11. DTA/TG : Perkin Elmer
12. TEM : Biotwin G² 120 KV
13. FTIR-ATR : Perkin Elmer Spektrum 100

2.2. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

1. 0.05 M fosfat tamponu (pH:7.0): 3.549 g potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄) alınarak bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH 7'ye ayarlanır ve toplam hacim saf su ile 500 mL'ye tamamlanır.
2. 0.019 M H₂O₂: 0.1 mL hidrojen peroksit (H₂O₂) alınır, bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 50 mL'ye tamamlanır.
3. 10⁻⁴ M ksantin stok çözeltisi: 0.0015 g ksantin bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 100 mL'ye tamamlanır.
4. Ksantin oksidaz: 10 mg ksantin oksidaz alınıp 10 mL fosfat tamponunda çözünmesi sağlanır.
5. 10⁻⁴ M INT: 0.0025 g INT alınır, bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 50 mL'ye tamamlanır.

6. 1 M Tris-EDTA/5 mM EDTA (pH:8): 6.05 g Tris ve 0.073 g EDTA bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH 8'e ayarlanır ve daha sonra toplam hacim 50 mL'ye tamamlanır.
7. 0.033 M okside glutatyon (GSSG): 0.2 g GSSG alınır, bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.
8. 2 mM NADPH (nikotinamid adenin dinükleotidfosfat, indirgenmiş hal): 0.0167 g NADPH alınır, bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.
9. 2 mM NADP⁺ (nikotinamid adenin dinükleotidfosfat, yükseltgenmiş hal): 0.0513 g NADP⁺ alınır, bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.
10. 6 mM G6P (glukoz-6 fosfat): 0.0917 g G6P alınır, bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 50 mL'ye tamamlanır.
11. 0.1 M MgCl₂ (magnezyum klorür): 1.016 g MgCl₂ alınır ve bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 50 mL'ye tamamlanır.
12. 0.1 M redükte glutatyon (GSH): 0.310 mL GSH alınır, bir miktar saf suda çözüldükten sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.
13. 0.01 M glutatyon redüktaz: 0.1 g glutatyon redüktaz alınır, bir miktar Tris-EDTA içerisinde çözüldükten sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.
14. 7 mM t-bütil hidroperoksit: 0.437 mL t-bütil hidroperoksit alınır ve 500 mL olana kadar üzeri saf su ile tamamlanır.
15. 30 mM CDNB: 0.06 g CDNB (1-kloro-2,4-dinitrobenzen) tartıldıktan sonra 10 mL saf etanolde çözünmesi sağlanır.

2.3 Hemolizat Hazırlanışı

Eritrosit antioksidan enzim aktivite ölçümleri için sağlıklı genç bireylerden steril sitratlı tüplere venöz kan alınmıştır. Kanlar eppendorf tüplere aktarıldıktan sonra, ilk işlem olarak +4 °C'de 15 dk 2500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Üst kısımda kalan plazma kısmı dikkatli bir şekilde atıldıktan sonra, kalan kısım 0.16 M'lık KCl ile +4 °C'de 5 dk 2500 rpm'de 3 kez yıkandıktan sonra soğuk saf su ile 1/5 oranında seyreltilerek +4 °C'de 10000 rpm'de 30 dk boyunca santrifüj edilerek eritrositlerin parçalanması sağlanmıştır [81].

Elde edilen örnek iki kısma ayrılmıştır. İlk kısım enzim aktivitelerinde kontrol amaçlı kullanılmıştır. İkinci kısım içerisine yaklaşık 5x5 mm (yaklaşık 0.0022g) ebatlarında kesilmiş nanokompozit ve/veya kompozit örnekleri ilave edilmiş ve 1 saat beklenmiştir. Daha sonra 30 dakika 10000 rpm'de bu karışım nanokompoziti çöktürmek için santrifüj edildikten sonra enzim aktivitesi tayini yapılarak kontrol deneyleri ile karşılaştırılmıştır.

2.4 Nanokompozit Sentezi

Nanokompozit hazırlamada çözücü seçimi önemlidir. Bu çalışmada her bir sistem (polimer + seramik + çözücü) için dolgu maddesinin tamamen disperse olduğu ve polimer matrisinin de tamamen çözüldüğü uygun bir çözücü seçilmiştir. Seramik ve polimer, uygun çözücü içerisinde ayrı ayrı reaksiyon kaplarına konularak 2 saat oda sıcaklığında magnetik karıştırıcıda karıştırıldı. Seramik-çözücü süspansiyonu 20 dakika ultrasonik banyoda tutuldu. Polimer çözeltisi ve seramik süspansiyonları birleştirildi ve 24 saat boyunca magnetik karıştırıcıda karıştırıldı. Örnekler petri kaplarına alınarak 40-50 °C arasında etüvde çözücüleri uzaklaştırıldı.

2.5 Nanokompozitlerin Karakterizasyonu

2.5.1 X-ışını Kırınımı Difraksiyonu (XRD)

Örneklerin analizi, oda sıcaklığında Analytical Philips X'Pert-Pro X-ray diffraktometre cihazı ile yapılmıştır. Monokromatör olarak dalga boyu $\lambda=1,54$ nm olan bakır katot kullanılmıştır.

2.5.2 FTIR-ATR Analizi

Örneklerin FTIR-ATR'leri, Perkin Elmer Spektrum 100 model Fourier transform infrared spektroskopisi kullanılarak alınmıştır.

2.5.3 Termogravimetrik Analiz (TG/DTA)

Çözücü olarak aseton ve THF kullanılarak sentezlenmiş PMMA-HA nanokompozitlerinin ısısal bozunmaları ve kütle kayıpları, 25-600 °C aralığında Perkin Elmer Diamod TG/DTA termal analiz cihazı ile N₂(g) atmosferinde incelenmiştir.

2.6 Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.6.1 Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü

GSH-Px ile t-bütil hidroperoksit varlığında GSH'nin GSSG'ye oksidasyonu gerçekleşir. Yöntem, bu oksidasyon sonucu oluşan GSSG'nin glutasyon redüktaz (GR) enzimi ile tekrar GSH'ye indirgenmesi tepkimesinde NADP'ye oksitlenen NADPH'nin 340 nm dalga boyundaki absorbans değeri farkının zamana karşı okunması prensibine dayanır. Glutasyon peroksidaz aktivitesi, Çizelge 2.1'de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür.

Köre ve küvete Çizelge 2.1'deki kimyasallar eklendikten sonra 37 °C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Ardından numune küvetine t-bütil hidroperoksit ilave edilmiş ve köre karşı aktivite ölçülmüştür [82, 83].

Çizelge 2.1 Glutasyon peroksidaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet İçeriği	Numune (µl)	Kör (µl)
Distile su	1980	2010
Tris- EDTA	300	300
Glutasyon redüktaz	300	300
NADPH	300	300
GSH	60	60
t- bütil hidroperoksit	30	30
Hemolizat	30	----

2.6.2 Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Glutasyon redüktaz, GSSG'nin NADPH tarafından GSH'a indirgenmesini katalize eder. Enzim aktivitesi, tepkime sırasında yükseltgenen NADPH'nin 37 °C'de 340 nm dalga boyunda absorbans farkı ölçülerek belirlenir. Glutasyon redüktaz aktivitesi, Çizelge 2.2'de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür [82, 83]

Çizelge 2.2 Glutasyon redüktaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet İçeriği	Numune (µl)	Kör (µl)
Distile su	2370	2400
Tris- EDTA	150	150
NADPH	150	150
GSSG	300	300
Hemolizat	30	----

2.6.3 Glutasyon S-Transferaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Glutasyon s-transferaz, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile glutasyonun –SH grubu arasındaki tepkimeyi katalizler. Enzim aktivitesi 37 °C'de 340 nm dalga boyunda GSH ve CDNB kullanılarak dakikada oluşan S-2,4-dinitrofenilglutasyonun 1 mikromolunu katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlenir. Glutasyon s-transferaz aktivitesi, Çizelge 2.3'de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür. [83, 84]

Çizelge 2.3 Glutasyon s-transferaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet İçeriği	Numune (µl)	Kör (µl)
Fosfat tamponu	2650	2800
CDNB	60	60
GSH	150	150
Hemolizat	150	----

2.6.4 Glukoz-6 Fosfat Dehidrogenaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü

G6PD aktivitesi Beutler tarafından tarif edildiği gibi 340 nm’de absorpsiyon değişikliği ölçülerek belirlendi [82].

Enzim aktivitesinin tayini için reaksiyon sonunda oluşan NADPH göz önüne alınır. 2 mM NADP⁺ indirgendiğinde, spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda meydana gelen NADPH’daki absorpsiyon artışı ölçülmüştür [85]. G6P ve hemolizat hariç Çizelge 2.4’deki kimyasallar küvete konduktan sonra, 37 °C’de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra numune ve köre 300 µL G6P ilave edilmiş köre karşı okutulduktan sonra numune küvetine, 150 µL hemolizat eklenip, 340 nm’de 2 dakika süreyle absorbans kaydedilmiştir [83, 85]

Çizelge 2.4 Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet içeriği	Numune (µl)	Kör (µl)
Distile su	1650	1800
Tris- EDTA	300	300
MgCl ₂	300	300
NADP ⁺	300	300
G6P	300	300
Hemolizat	150	----

2.6.5 Katalaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Katalaz, H₂O₂’nin su ve moleküler oksijene yıkımını katalizler. H₂O₂’nin ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak 240 nm’de enzimin yıkım hızı spektrofotometrik olarak ölçülür. Katalaz aktivitesi Çizelge 2.5’de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür.

Çizelge 2.5 Katalaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet İçeriği	Numune (µl)	Kör (µl)
Fosfat tamponu	2400	2500
H ₂ O ₂	500	500
Hemolizat	100	----

2.6.6 Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Süperoksit dismutaz enzimi, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve moleküler oksijene O₂ dismutasyonunu hızlandırır. Yöntemde ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenil]-5-feniltetrazolyum klorür (INT) ile tepkimeye giren ve kırmızı renkli formazon boyası oluşturan süperoksit radikalleri üretilmektedir.

Süperoksit dismutaz enzimi, Sun ve arkadaşlarının [86] modifiye ettiği metotla tayin edildi. Ölçümler 505 nm dalga boyunda, 5 dakika boyunca Çizelge 2.6'da verilen içerik kullanılarak gerçekleştirilmiştir

Çizelge 2.6 Süperoksit dismutaz aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet içeriği	Numune (µl)	Kör (µl)
Fosfat tamponu	1525	1650
Ksantin oksidaz	250	250
Ksantin	500	500
INT	600	600
Hemolizat	125	----

2.7 Homouyumluk Testi

Polimer ve biyomalzemenin homouyumluk testi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. İnsan kanı (2 mL), koagülasyondan sakınmak için sitratlı tüpler içerisine alınmıştır. Antikogüle edilmiş kan 1/5 oranında tuzlu çözelti ile seyreltilmiştir. Pozitif kontrol için seyreltilmiş kanın 0.2 mL'si, 0.01 M HCl'nin 0.5 mL'sine ilave edildikten sonra ve 10 mL'ye seyreltilerek 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Benzer olarak negatif kontrol için seyreltilmiş kanın 0.2 mL'si, normal tuz çözeltisinin ilavesi ile 10 mL'ye seyreltilmiş ve 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Santrifüj tüpündeki seyreltilmiş kanın 0.2 mL'sinden ve tuzlu çözeltinin 9.8 mL'sinden meydana gelen karışım, denge sıcaklığına ulaşmak için 30 dakika 37 °C'de inkübe edilmiştir. Sivri uçsuz 5x5 mm (0,0022g) boyutlarına sahip örnekler kan-tuz karışımını içeren santrifüj tüplerine alınmış ve 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra tüm örnek çözeltiler 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant sıvısı dikkatli bir şekilde giderildikten sonra spektrofotometrik analiz için küvete konulmuştur. İnkübe edilmiş örnek çözeltilerin optik yoğunlukları 545 nm'de UV-Visible spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür.

$$\% \text{Hemoliz} = \frac{[OD_{\text{test}} - OD_{\text{negatif}}]}{[OD_{\text{pozitif}} - OD_{\text{negatif}}]} \times 100 \quad (2.1)$$

Burada OD_{test} , örnek çözeltinin optik yoğunluğu; OD_{pozitif} , pozitif kontrolün optik yoğunluğu; OD_{negatif} , negatif kontrolün optik yoğunluğudur. Hemoliz yüzdesi %10'dan daha az ise sentezlenen nanokompozit biyoyumlu; % 5'den az ise oldukça homouyumlu olduğu kabul edilecektir [87].

3. BULGULAR

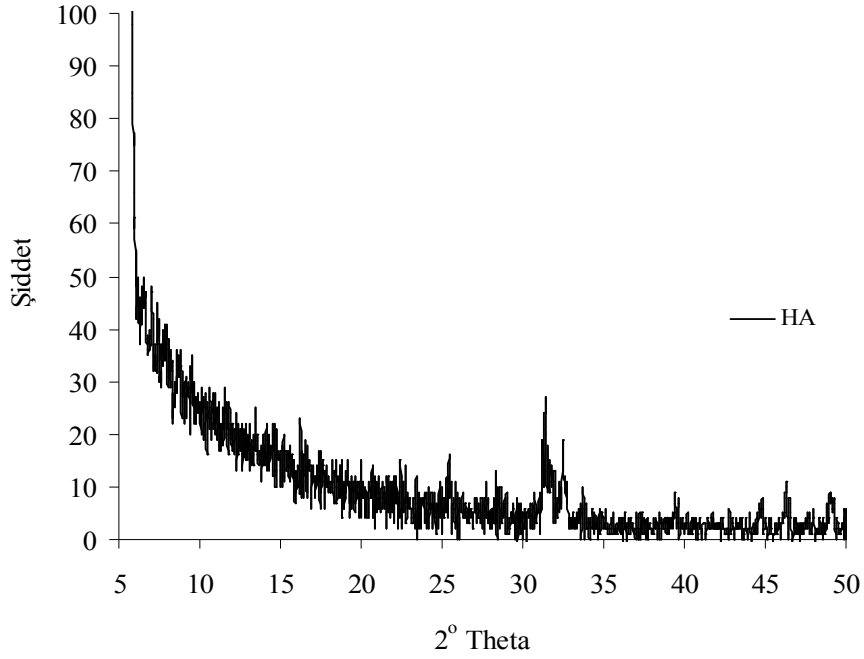
Kompozit ve nanokompozit örnekleri, biyobozunur bir seramik olan hidroksiapatit ve PMMA polimeri kullanılarak sentezlenmiş, sentezlenen nanokompozit ve kompozit malzemeler XRD, FTIR-ATR, DTA/TG ve TEM cihazları kullanılarak karakterize edilmiş ve in vitro biyouyumlulukları araştırılmıştır. Aşağıda bu analizlerden elde edilen deneysel veriler verilmektedir.

3.1 Biyomalzemelerin Karakterizasyonu

3.1.1 Biyomalzemelerin XRD Analizi

XRD analizleri, polimer matrislerinin yapısını ve kristalizasyon derecesini belirleyebilmek için kullanılmaktadır [88]. Hidroksiapatitin $2\theta=5-50^{\circ}$ aralığında X-ışını kırımını deseni, Şekil 3.1'de ve bu desenden elde edilen veriler de Çizelge 3.1'de verilmektedir. Hidroksiapatite ait karakteristik XRD pikinin Şekil 3.1'deki XRD deseninden sırasıyla $2\theta=31,4220^{\circ}$, $32,5853^{\circ}$ ve $33,8242^{\circ}$ ve $d_{(001)}= 2,85 \text{ \AA}$, $2,75 \text{ \AA}$ ve $2,65 \text{ \AA}$ olduğu gözlenmiştir. Nanokompozitlere ait XRD desenlerinde nanokompozit oluşumu için bu pikler değerlendirilecektir.

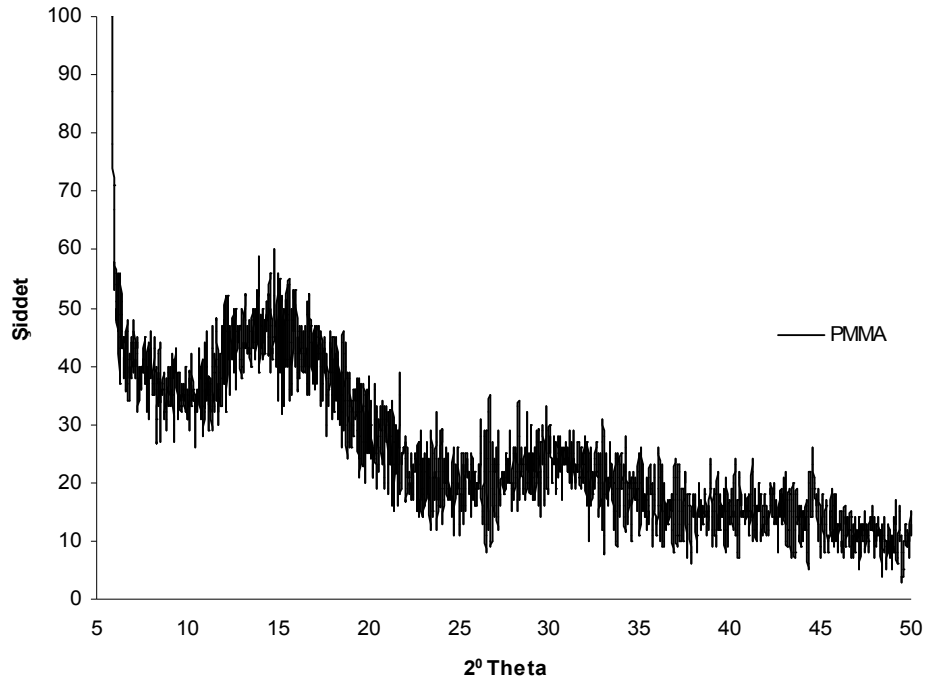
Ayrıca PMMA molekülünün XRD deseni de Şekil 3.2'de verilerek, XRD deseninden elde edilen veriler de Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. Şekil 3.2, PMMA'nın yarı kristalin bir yapıda olduğunu göstermektedir [88].



Şekil 3.1 Hidroksiapatitin XRD deseni

Çizelge 3.1 Hidroksiapatitin XRD deseninden elde edilen veriler

Poz. [°2Th.]	Yükseklik [cts]	FWHM [°2Th.]	d-uzaklığı[Å]	Rel. Int. [%]
5,4257	242,16	0,8640	16,27489	100,00
22,4191	9,69	0,0720	3,96249	4,00
25,8686	6,44	0,0480	3,44139	2,66
28,3481	9,49	0,0720	3,14577	3,92
31,4220	22,64	0,1440	2,84469	9,35
32,5853	8,67	0,3840	2,74574	3,58
33,8242	1,06	0,5760	2,64795	0,44
46,3313	7,34	0,1680	1,95810	3,03
46,4785	7,33	0,0960	1,95224	3,03
49,1022	5,56	0,2880	1,85389	2,30

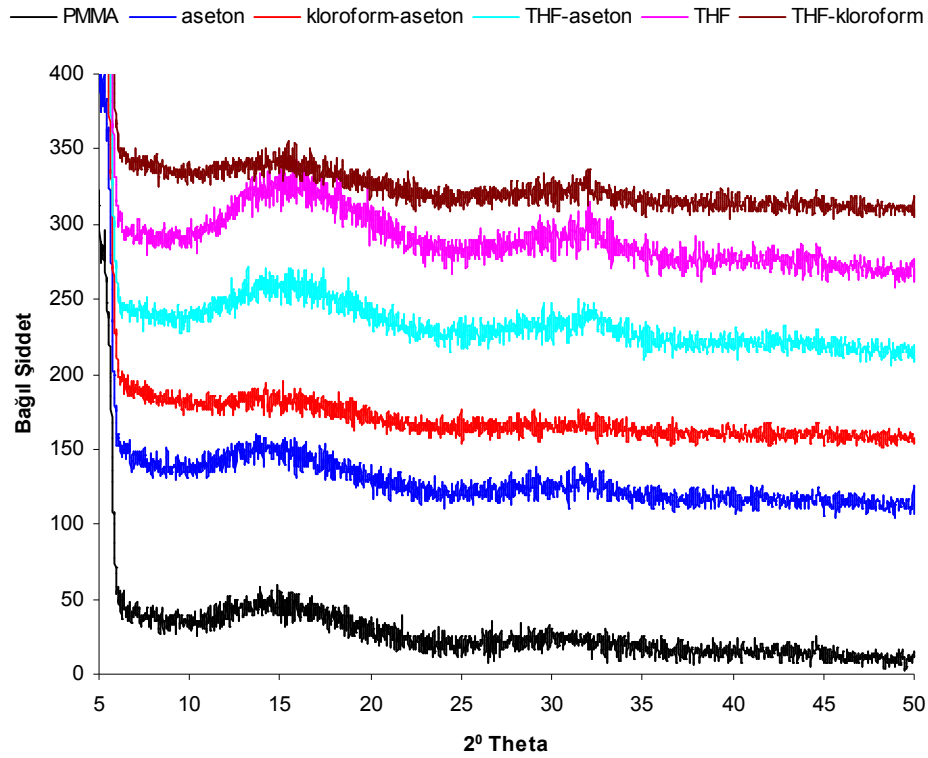


Şekil 3.2 PMMA'nın XRD deseni.

Çizelge 3.2 PMMA'nın XRD deseninden elde edilen veriler

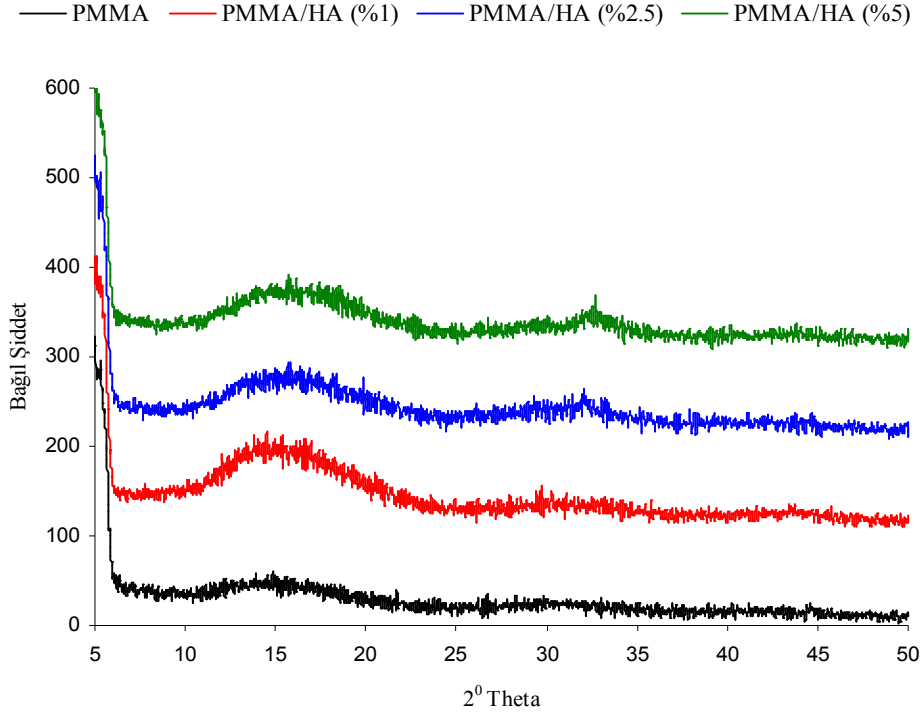
Poz. [°2Th.]	Yükseklik [cts]	FWHM [°2Th.]	d-uzaklığı [Å]	Rel. Int. [%]
5,6203	160,08	0,2400	15,71189	100,00
26,5582	10,53	0,0720	3,35358	6,58
26,7092	15,94	0,0720	3,33496	9,96
37,1545	9,14	0,1200	2,41789	5,71
37,5322	6,29	0,0960	2,39442	3,93
43,2875	4,48	0,1440	2,08847	2,80
43,4730	6,39	0,1200	2,07999	3,99
44,6503	6,41	0,5760	2,02784	4,00
45,3128	5,10	0,1440	1,99972	3,19
49,1421	5,97	0,1440	1,85248	3,73

Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozit örneklerine ait XRD desenleri Şekil 3.3'de verilmiştir. XRD desenleri incelendiğinde sentezlenen nanokompozitler arasında önemli bir farklılık görülmemiştir.

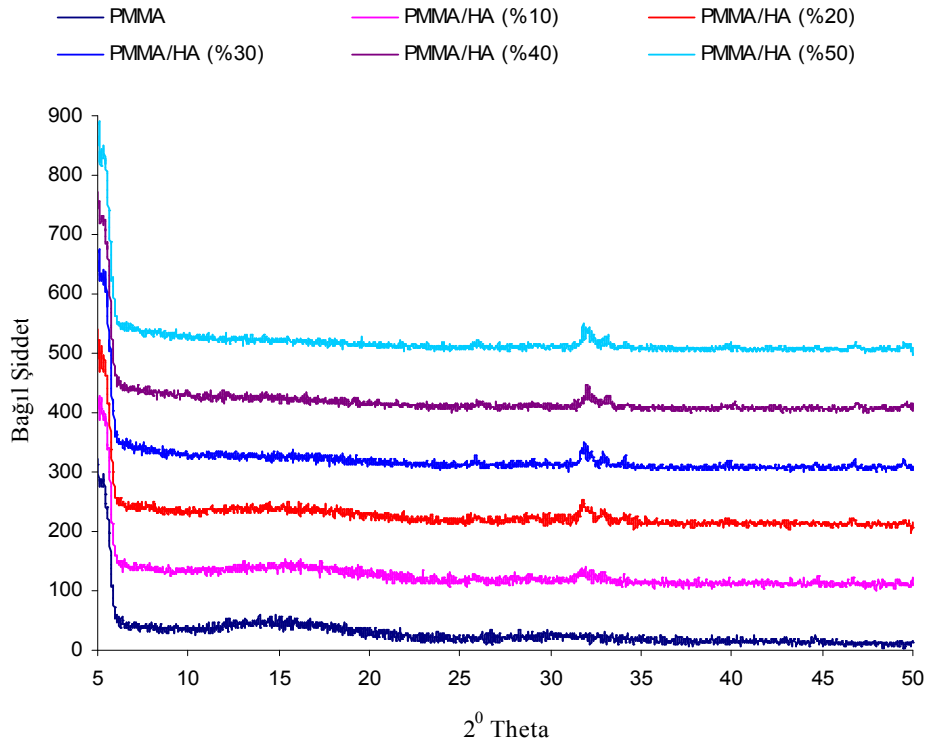


Şekil 3.3 Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerinin XRD desenleri.

THF çözücüsü içerisinde farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozit örneklerine ait XRD desenleri Şekil 3.4a ve b'de verilmiştir. Ortama katılan HA miktarı arttıkça XRD desenlerinde HA pikleri görülmektedir. %1 ve %2.5'lük örneklerde ise bu piklere rastlanmamıştır.

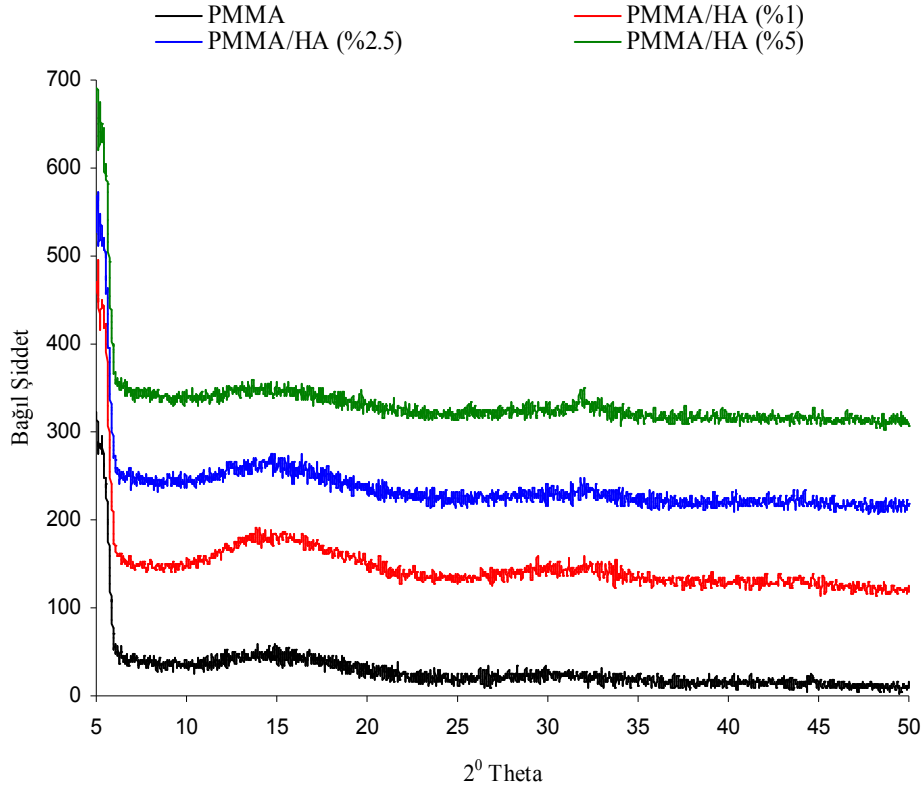


Şekil 3.4a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin XRD desenleri

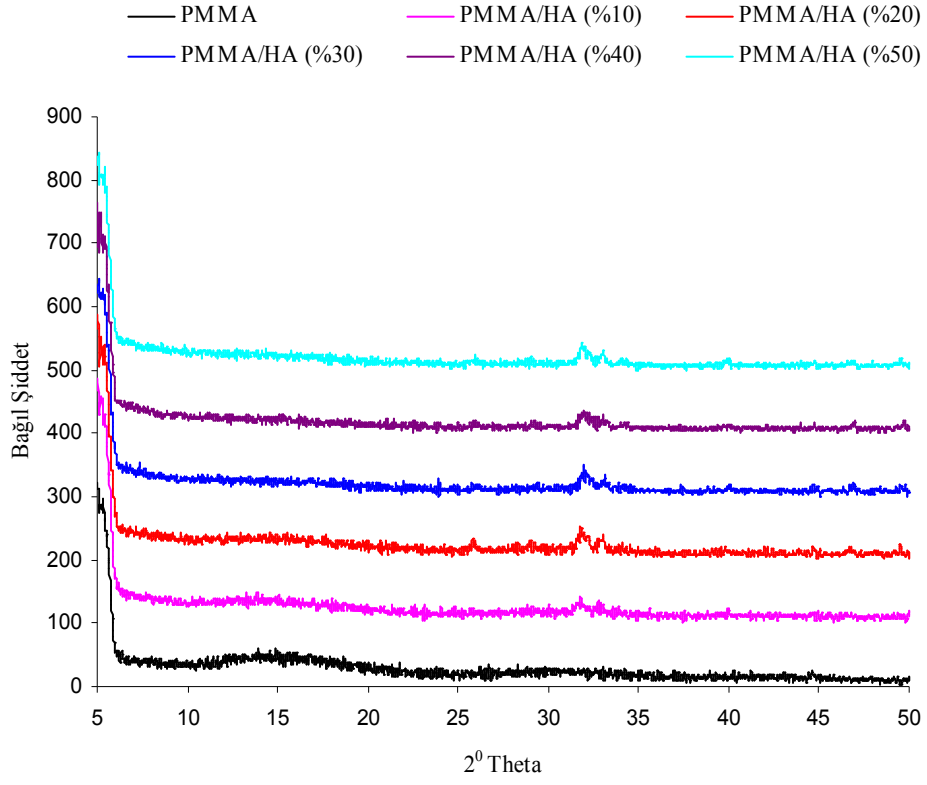


Şekil 3.4b THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin XRD desenleri

Aseton çözücüsü içerisinde farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozit örneklerine ait XRD desenleri Şekil 3.5a ve b'de verilmiştir. XRD desenleri incelendiğinde içeriğinde %5 ve üzeri miktarda HA bulunan PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozit malzemelerinde HA piklerine rastlanmıştır.



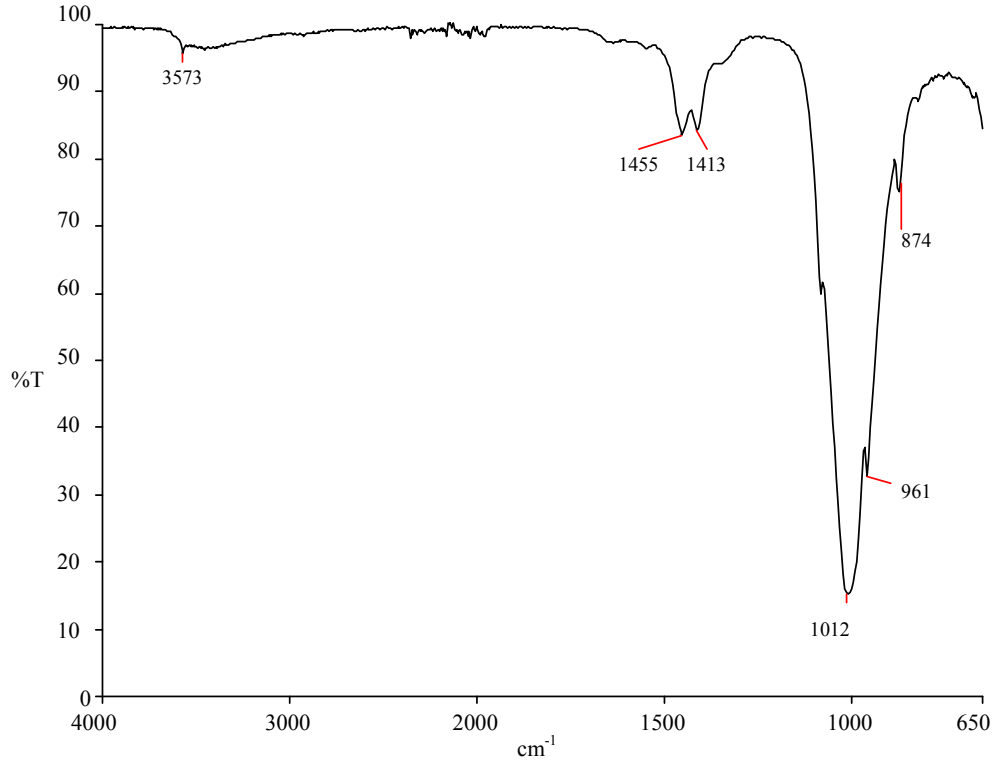
Şekil 3.5a Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin XRD desenleri



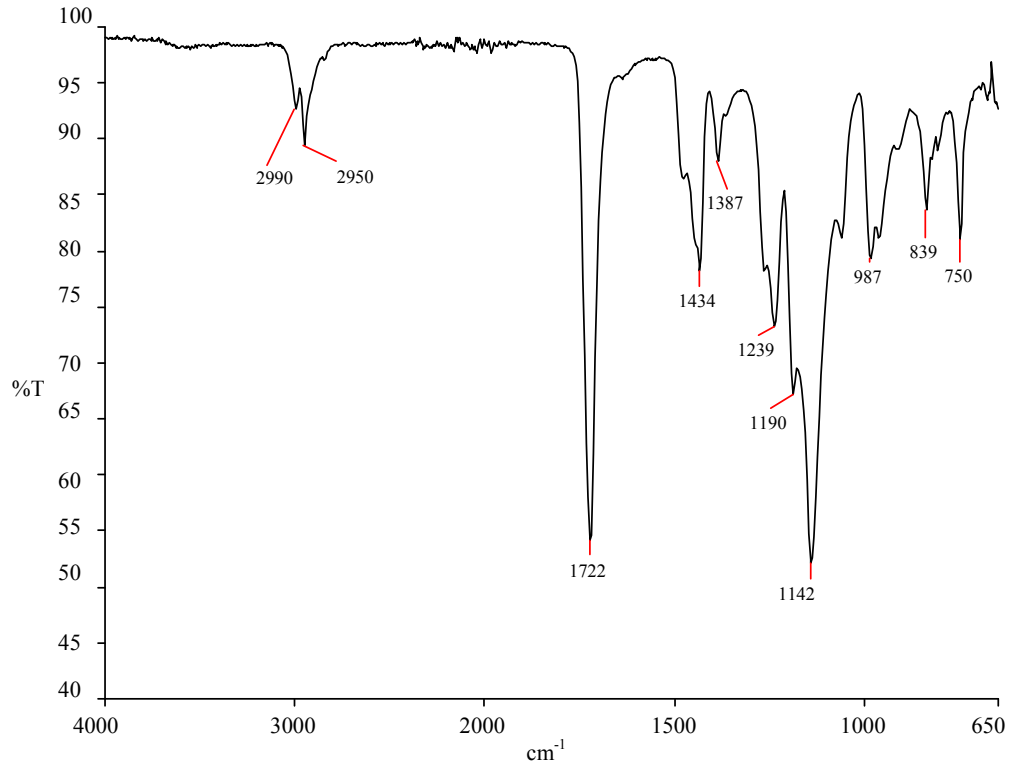
Şekil 3.5b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin XRD desenleri

3.1.2 Biyomalzemelerin FTIR-ATR Analizi

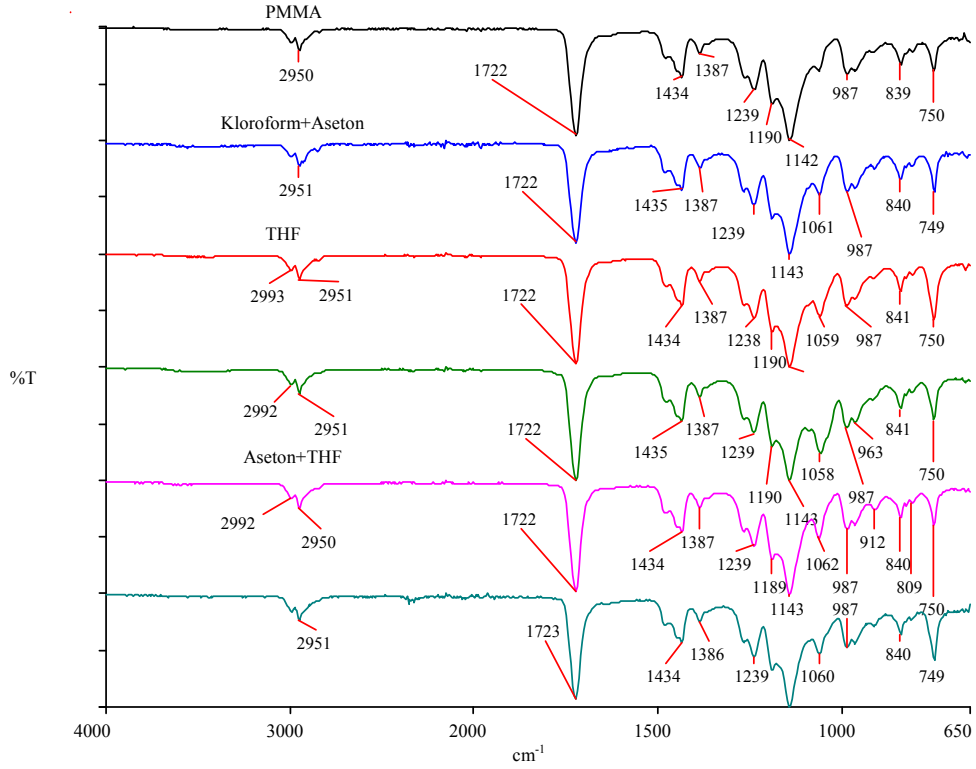
Hidroksiapatitin FTIR-ATR spektrumu, Şekil 3.6'da; ve PMMA'ya ait FTIR-ATR spektrumu ise Şekil 3.7'de verilmiştir. Bu spektrumlar üzerinde HA ve PMMA'ya ait karakteristik FTIR-ATR pikleri belirtilmiştir.



Şekil 3.6 Hidroksiapatite ait FTIR-ATR spektrumu

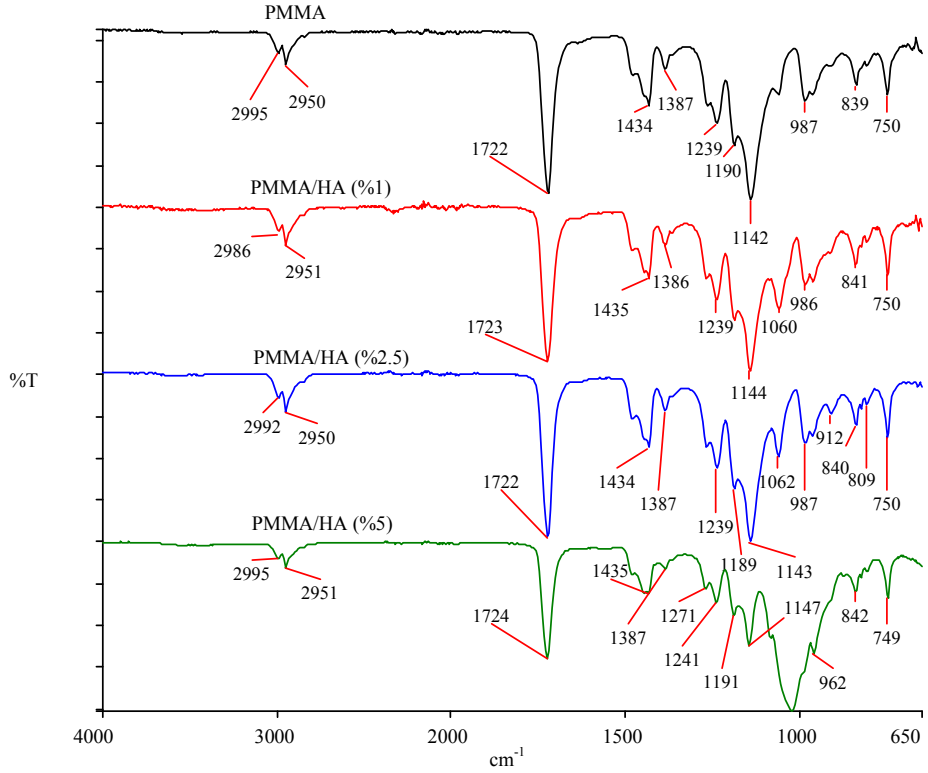


Şekil 3.7 PMMA'ya ait FTIR-ATR spektrumu

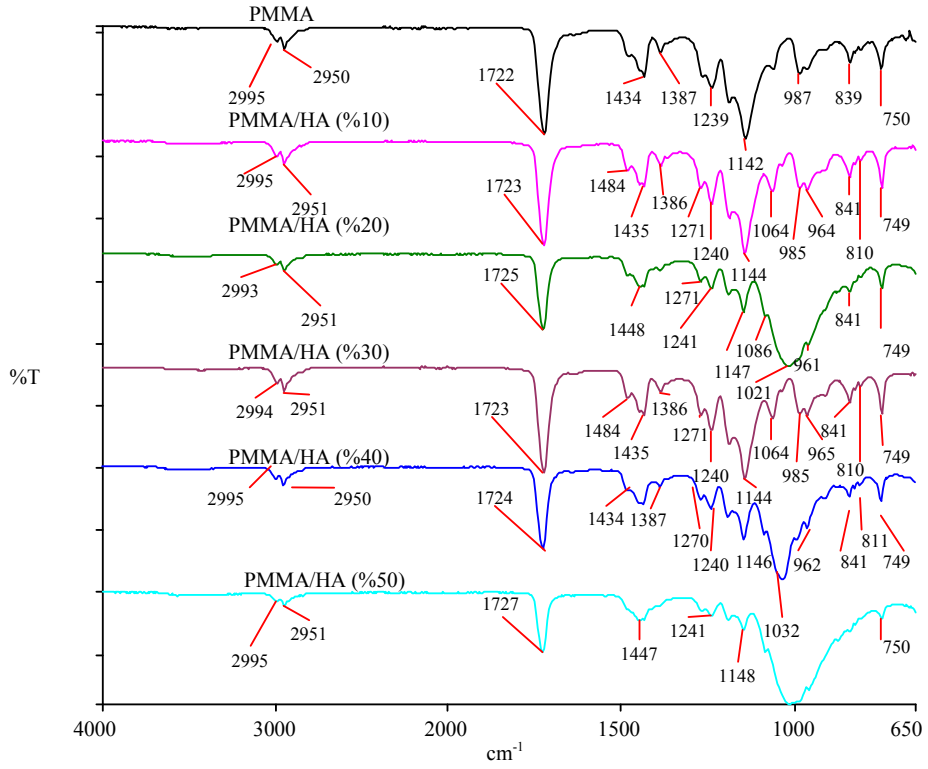


Şekil 3.8 Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları

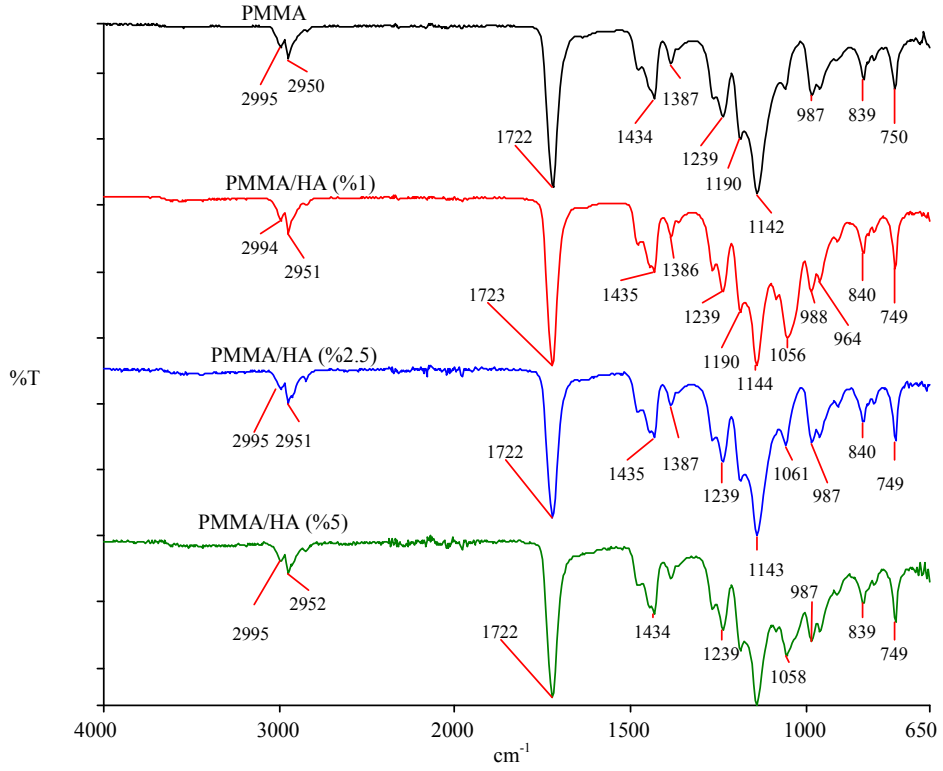
THF ve aseton çözücüsü içerisinde farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozit örneklerine ait FTIR-ATR spektrumları sırasıyla Şekil 3.9a ve b, ve 3.10a ve b'de verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde, nanokompozit ve/veya kompozit örneklerinin piklerinde HA'nın 961 cm^{-1} 'deki PO_4^{3-} grubu pikine rastlanmıştır.



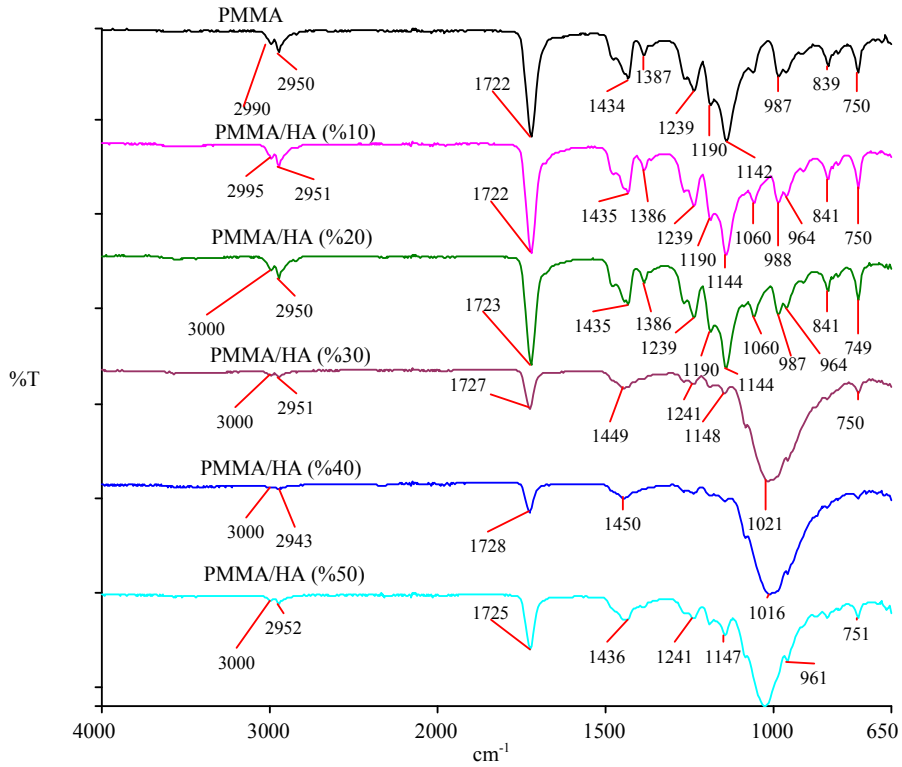
Şekil 3.9a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları



Şekil 3.9b THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları



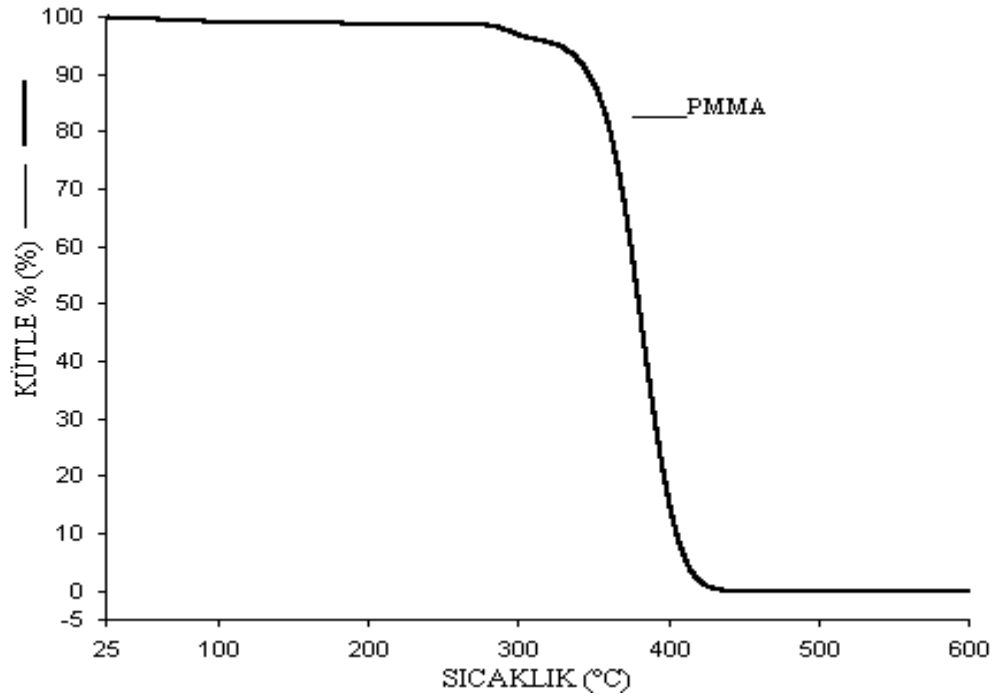
Şekil 3.10a Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları



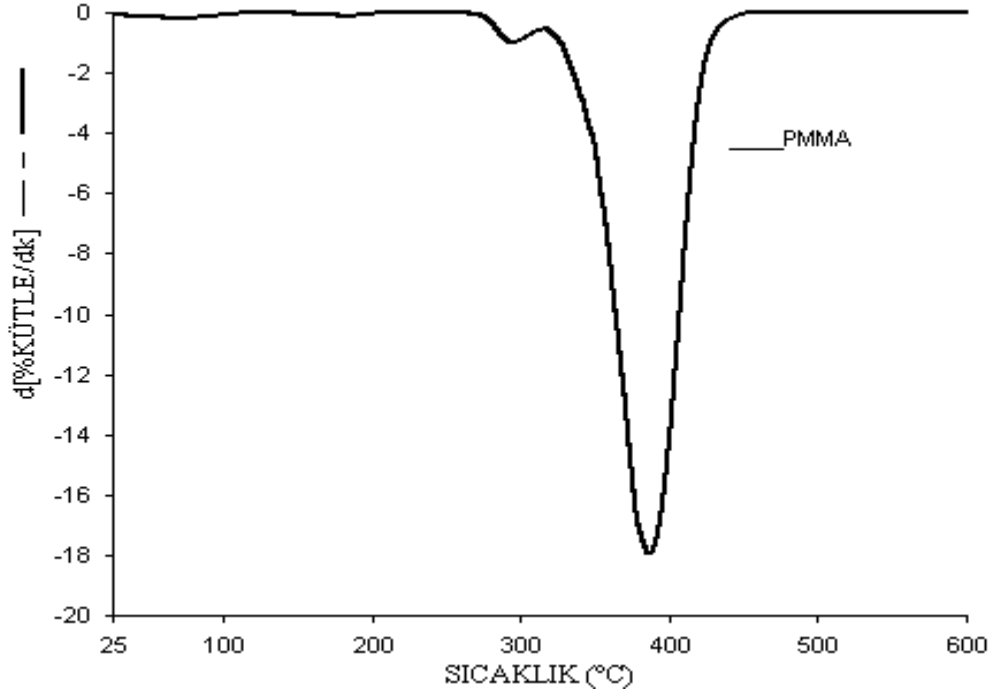
Şekil 3.10b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları

3.1.3 Biyomalzemelerin TG/DTA Analizi

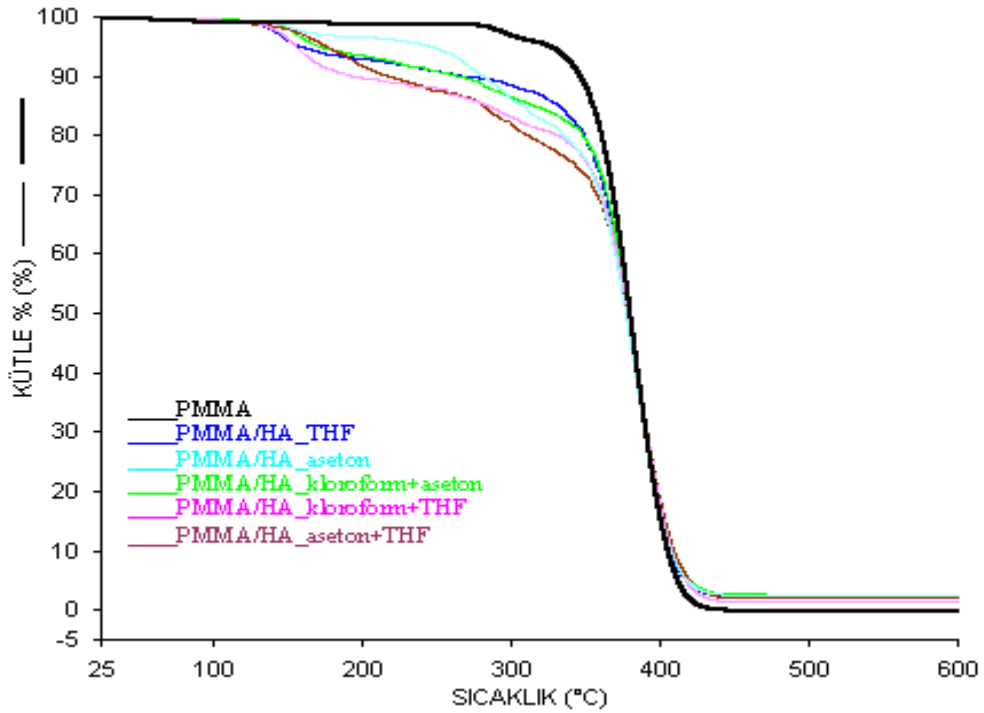
Termal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla PMMA, HA ve PMMA/HA nanokompozit ve kompozitlerinin termal gravimetrik analizleri yapılmıştır. Bu analizlere ait TG ve d[TG] termogramları, Şekil 3.11-3.16'da; bu termogramlardan elde edilen veriler de Çizelge 3.3'te verilmektedir. Çizelgedeki T_x değerleri %x kadarlık kütle kaybının olduğu sıcaklık değerlerini göstermektedir.



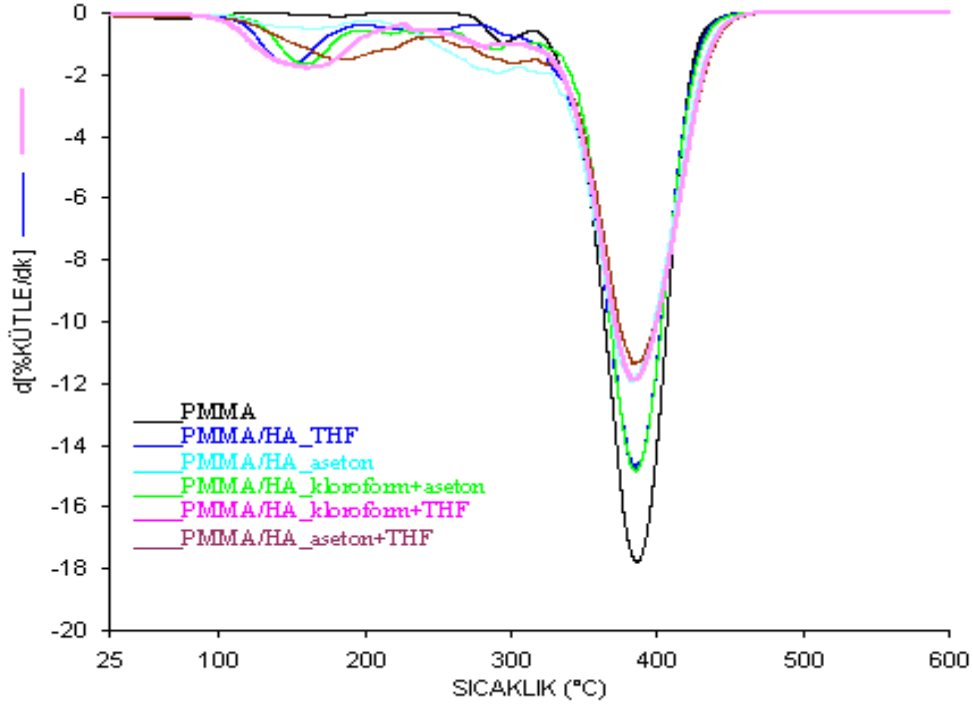
Şekil 3.11a PMMA'ya ait TG termogramı



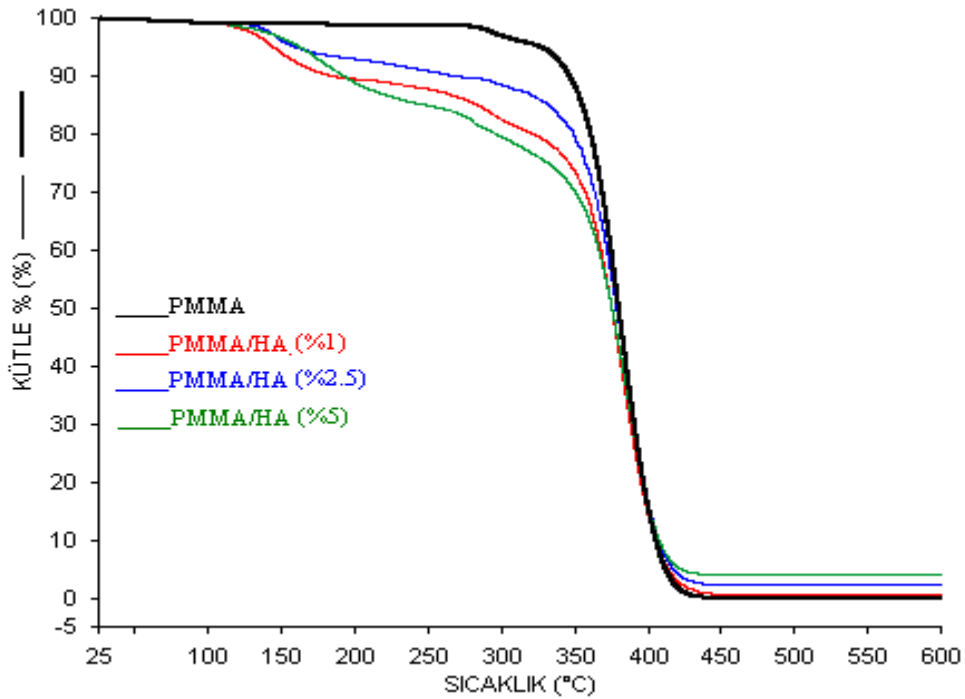
Şekil 3.11b PMMA'ya ait d[TG] termogramı



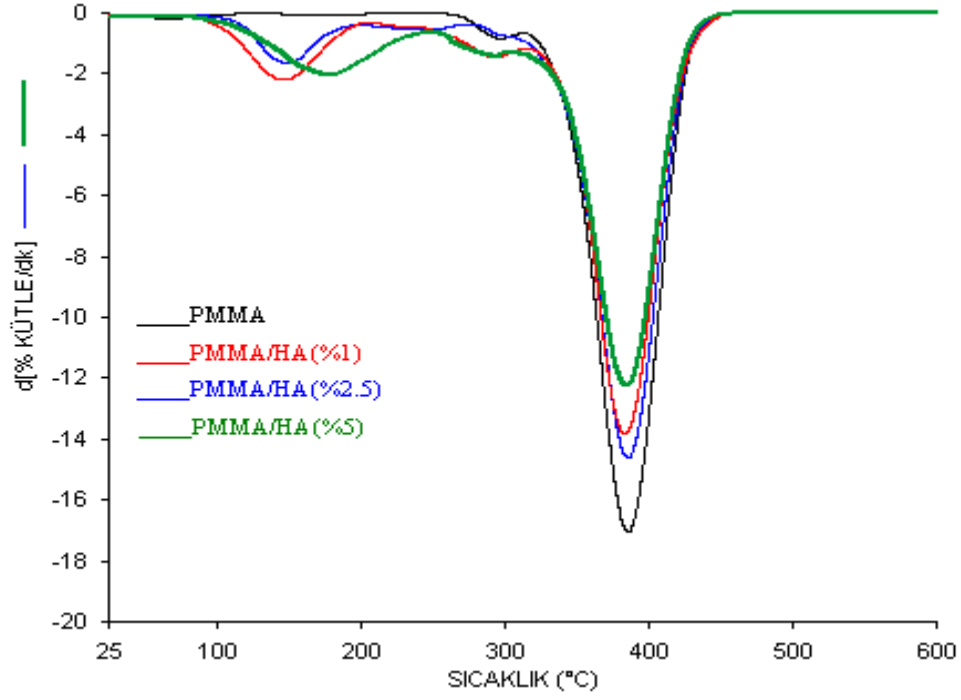
Şekil 3.12a Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması



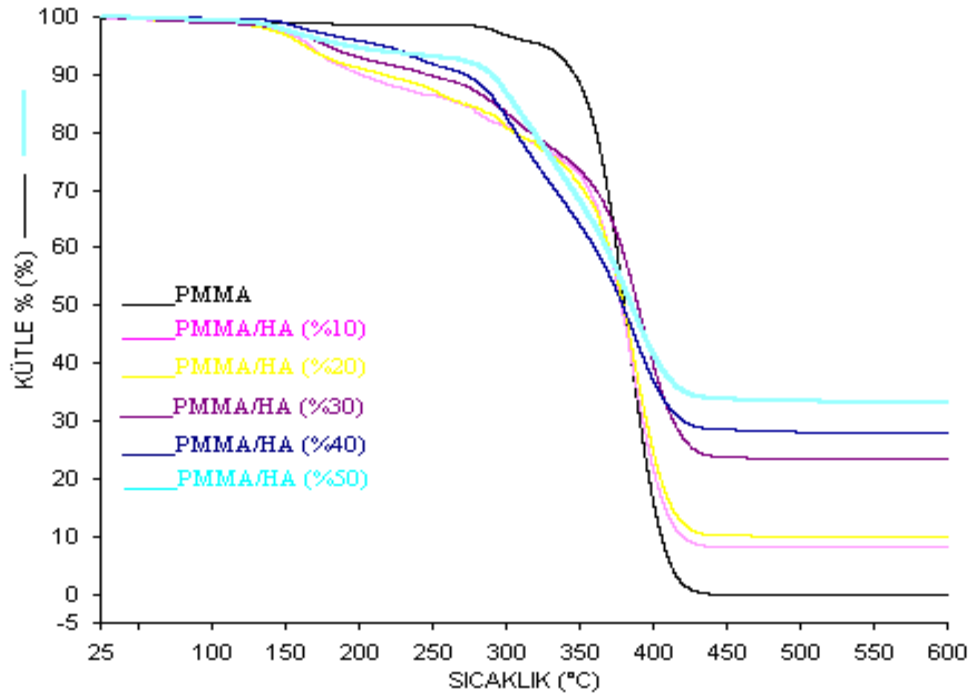
Şekil 3.12b Farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması



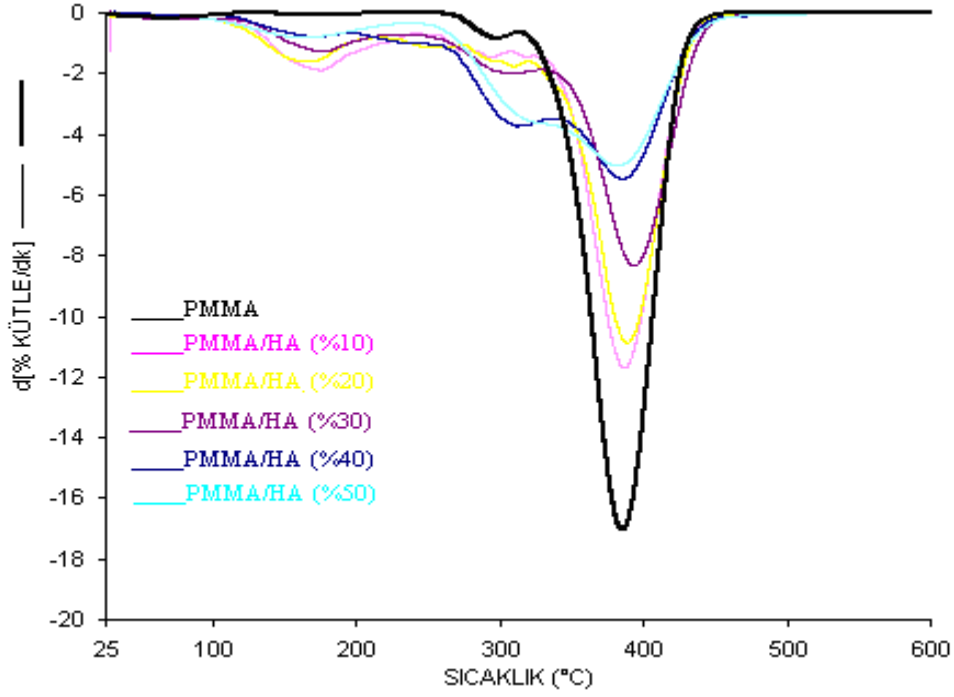
Şekil 3.13a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması



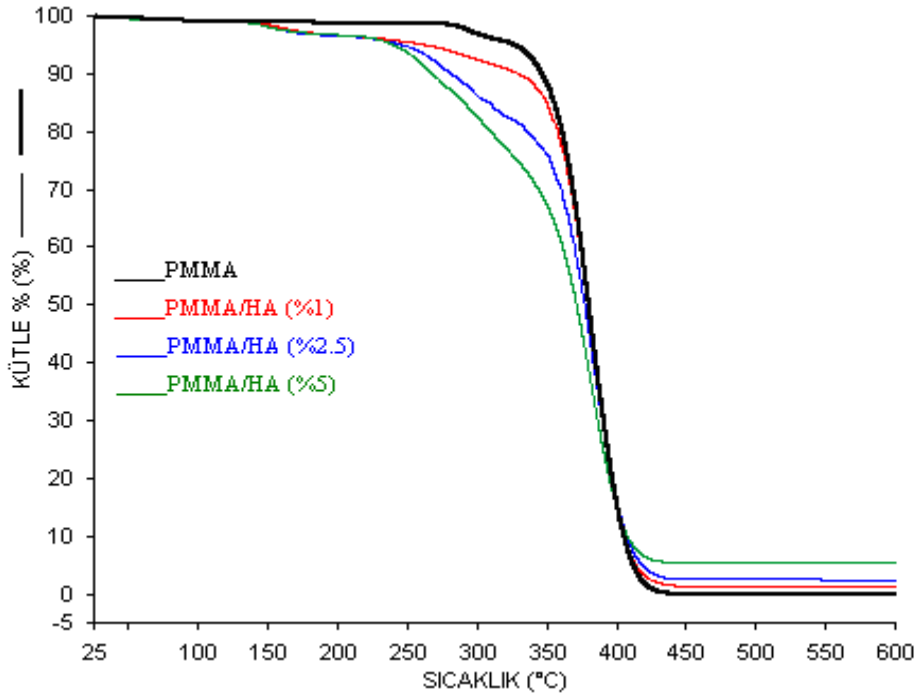
Şekil 3.13b THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması



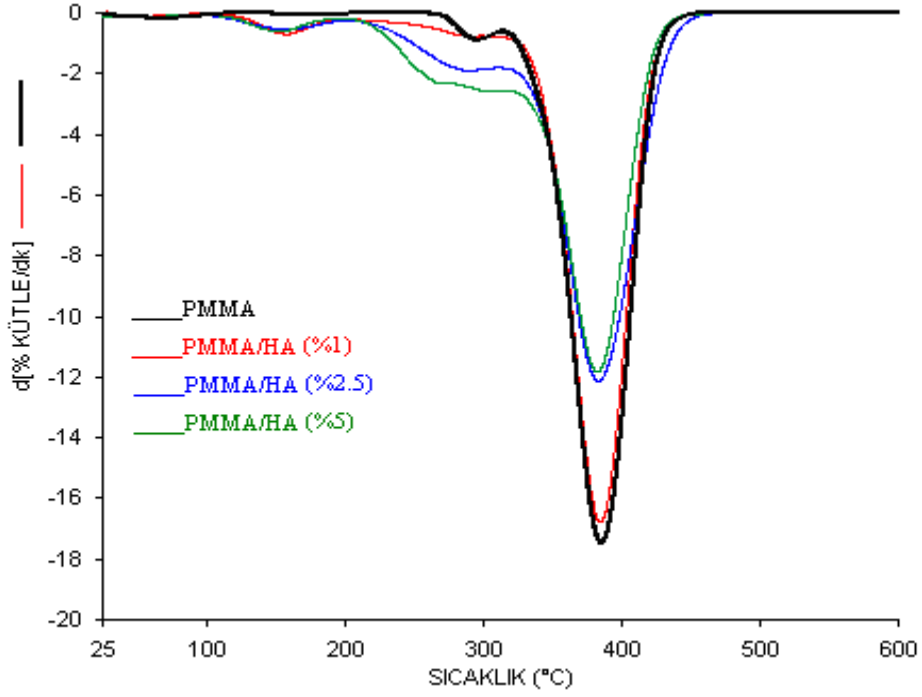
Şekil 3.14a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması



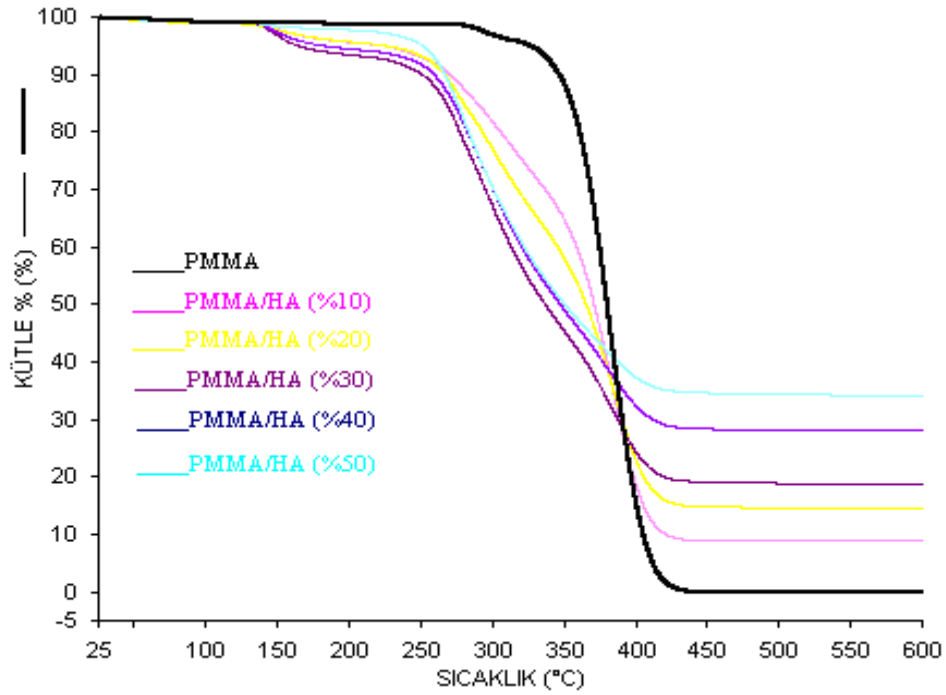
Şekil 3.14b THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması



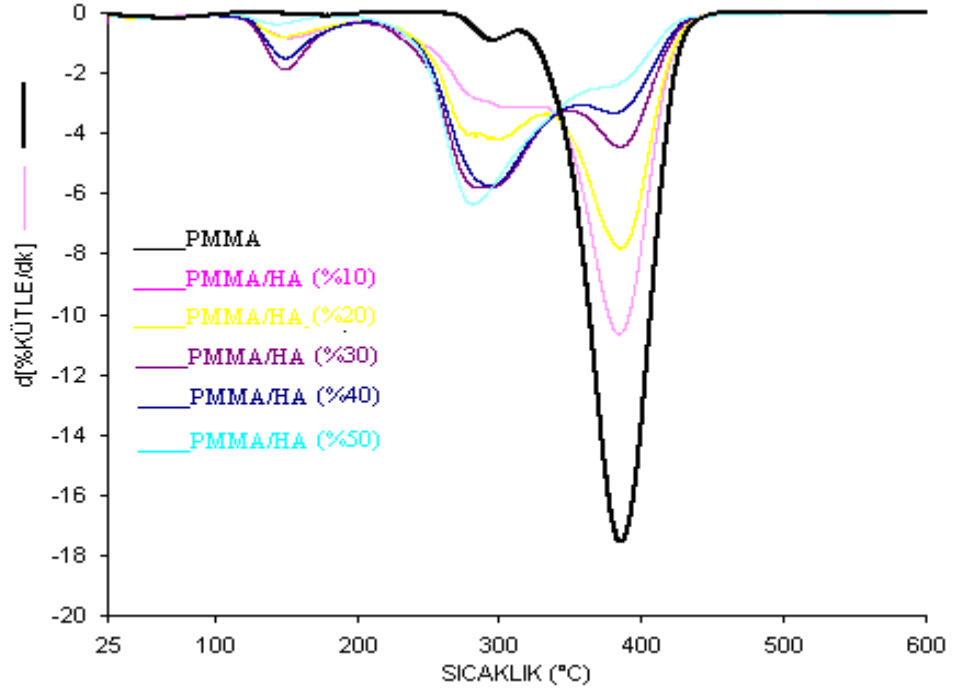
Şekil 3.15a Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması



Şekil 3.15b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin d[*TG*] termogramlarının karşılaştırılması



Şekil 3.16a Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin TG termogramlarının karşılaştırılması



Şekil 3.16b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin d[TG] termogramlarının karşılaştırılması

Çizelge 3.3 PMMA ve PMMA/HA nanokompozit ve kompozitlerinin TG analiz verileri

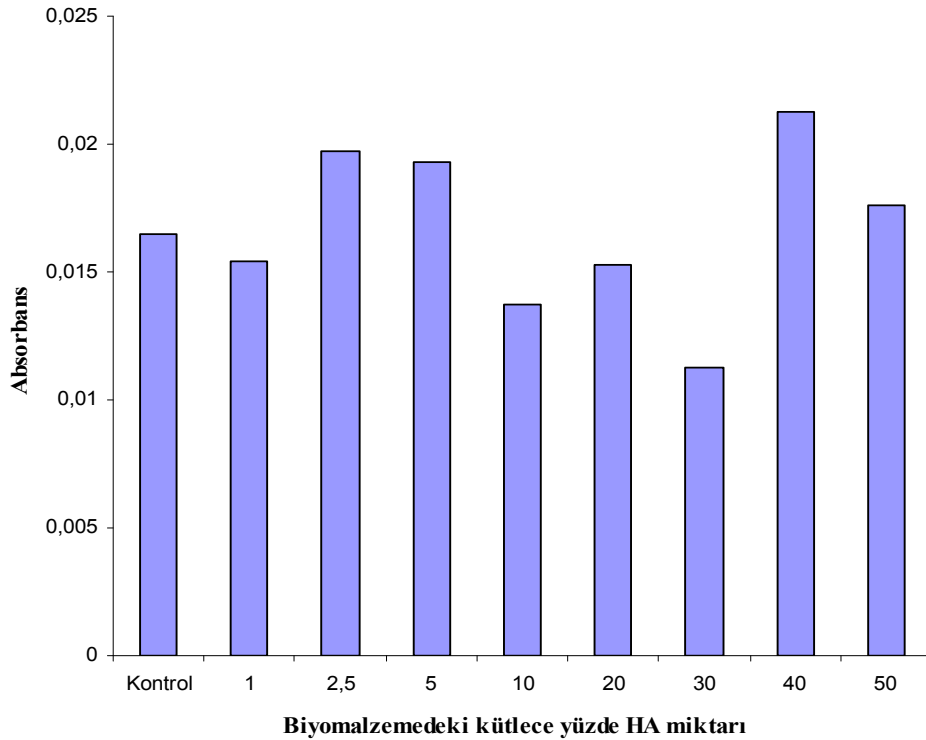
Örnek	Çözücüler	T ₅ (°C)	T ₁₀ (°C)	T ₃₀ (°C)	T ₅₀ (°C)	T ₈₀ (°C)	T _{max1} (°C)	T _{max2} (°C)	Rezidü (%)
PMMA	----	326.13	346.26	369.08	380.12	397.16	292.15	385.58	0
PMMA/HA (%1)	THF	144.95	184.40	357.16	375.89	395.43	288.16	384.24	0.48
PMMA/HA (%2.5)	THF	158.30	267.48	363.22	378.85	397.43	296.15	386.17	2.23
PMMA/HA (%2.5)	Aseton	245.26	281.48	360.11	377.27	396.70	298.86	384.26	2.44
PMMA/HA (%2.5)	Kloroform+aseton	171.47	264.37	364.39	378.96	398.04	286.62	385.49	2.44
PMMA/HA (%2.5)	Aseton+THF	176.13	217.47	357.62	378.12	399.62	299.17	390.56	1.95
PMMA/HA (%2.5)	Kloroform+THF	155.36	193.36	361.65	378.75	398.34	282.24	384.35	1.38
PMMA/HA (%5)	THF	162.55	192.45	350.01	375.84	396.50	280.27	386.62	3.88
PMMA/HA (%10)	THF	167.36	201.43	356.19	378.25	401.85	280.33	387.51	8.04
PMMA/HA (%20)	THF	163.88	217.27	352.03	379.82	405.96	298.71	390.19	9.96
PMMA/HA (%30)	THF	178.87	246.98	361.86	389.68	----	298.85	395.46	23.25
PMMA/HA (%40)	THF	217.29	272.98	333.03	379.62	----	296.54	389.59	27.97
PMMA/HA (%50)	THF	191.16	291.73	345.30	385.65	----	303.27	388.42	33.19
PMMA/HA (%1)	Aseton	262.57	329.83	367.23	379.97	396.47	290.66	384.15	0.14
PMMA/HA (%5)	Aseton	239.61	267.04	343.65	371.07	394.49	302.29	383.55	5.24
PMMA/HA (%10)	Aseton	223.14	270.95	336.98	370.27	398.89	301.48	383.62	8.88
PMMA/HA (%20)	Aseton	224.38	266.44	317.08	365.39	405.65	299.19	385.27	14.49
PMMA/HA (%30)	Aseton	164.05	250.59	295.11	336.41	419.02	295.50	384.66	18.81
PMMA/HA (%40)	Aseton	181.93	259.41	300.86	347.25	----	294.18	384.05	27.98
PMMA/HA (%50)	Aseton	251.17	266.40	300.33	350.97	----	280.98	382.34	34.09

3.2 Biyomalzemelerin Enzimlerle Etkileşimleri

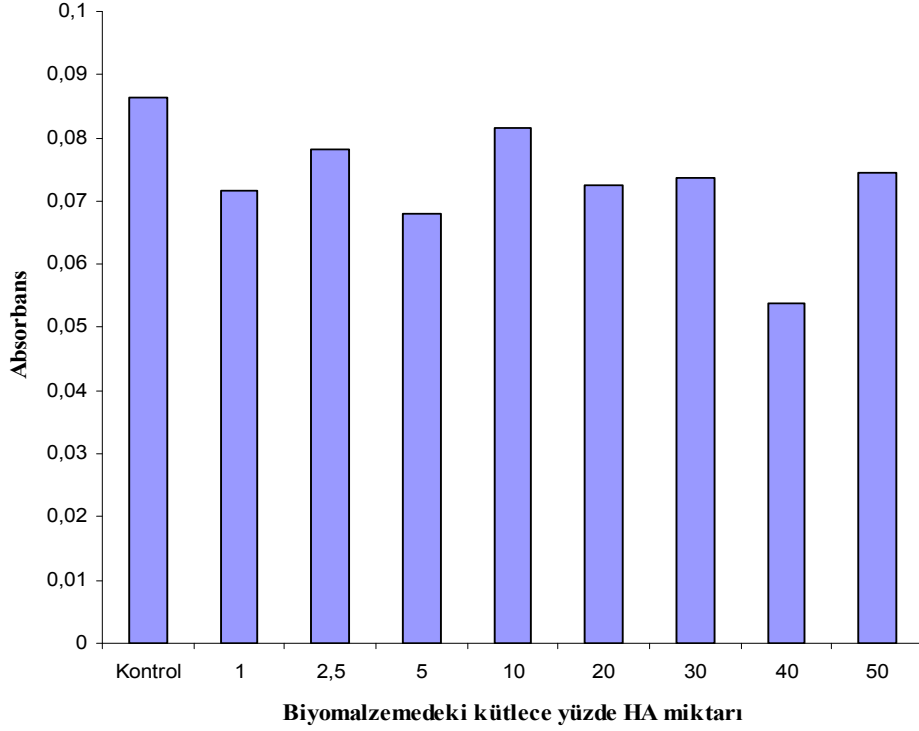
Sentezlenen biyomalzemelerin antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmış ve elde edilen deneysel bulgular aşağıda verilmiştir. Nanokompozit ve/veya kompozitlerin glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon s-transferaz, glukoz-6 fosfat dehidrogenaz, katalaz ve süperoksit dismutaz enzimleri üzerine etkileri spektrofotometrik olarak kaydedilmiştir.

3.2.1 Biyomalzemelerin Glutatyon Peroksidaz Enzim Aktivitesine Etkileri

Çözücü olarak tetrahidrofur (THF) ve aseton kullanılarak sentezlenen biyomalzemelerin glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak incelenmiş ve elde edilen deneysel veriler sırasıyla Şekil 3.17a ve b'de grafik edilmiştir. PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozitlerinin glutatyon peroksidaz enzim aktivitesine önemli bir etki yapmadığı ancak düzenli olmayan hafif değişimlerin meydana geldiği Şekil 3.17a ve b'den görülmektedir.



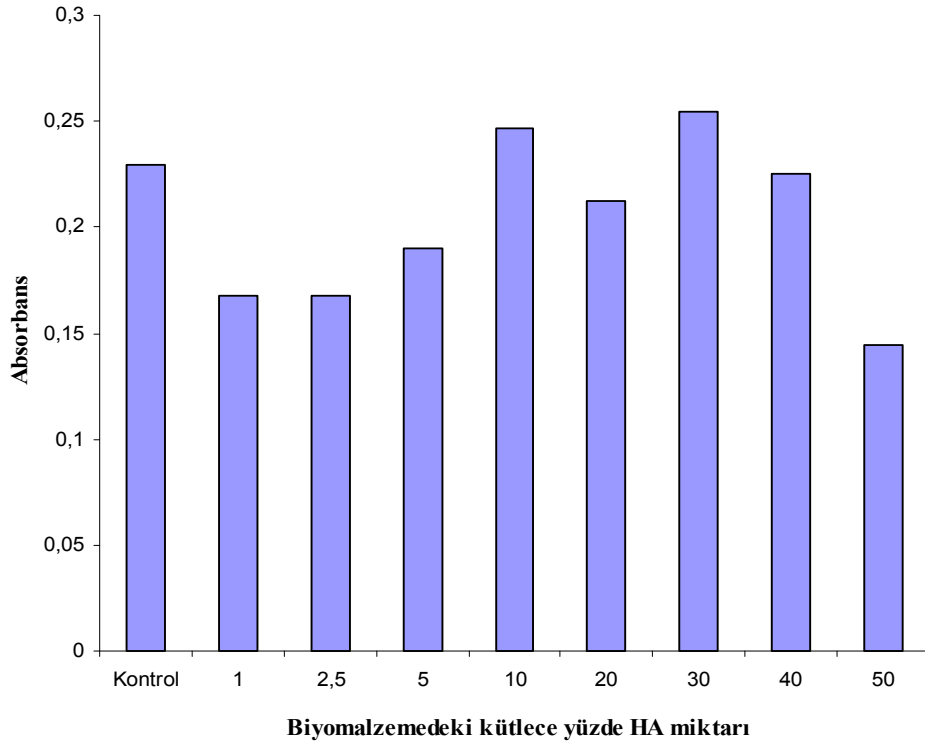
Şekil 3.17a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon peroksidaz enzimi üzerine etkileri



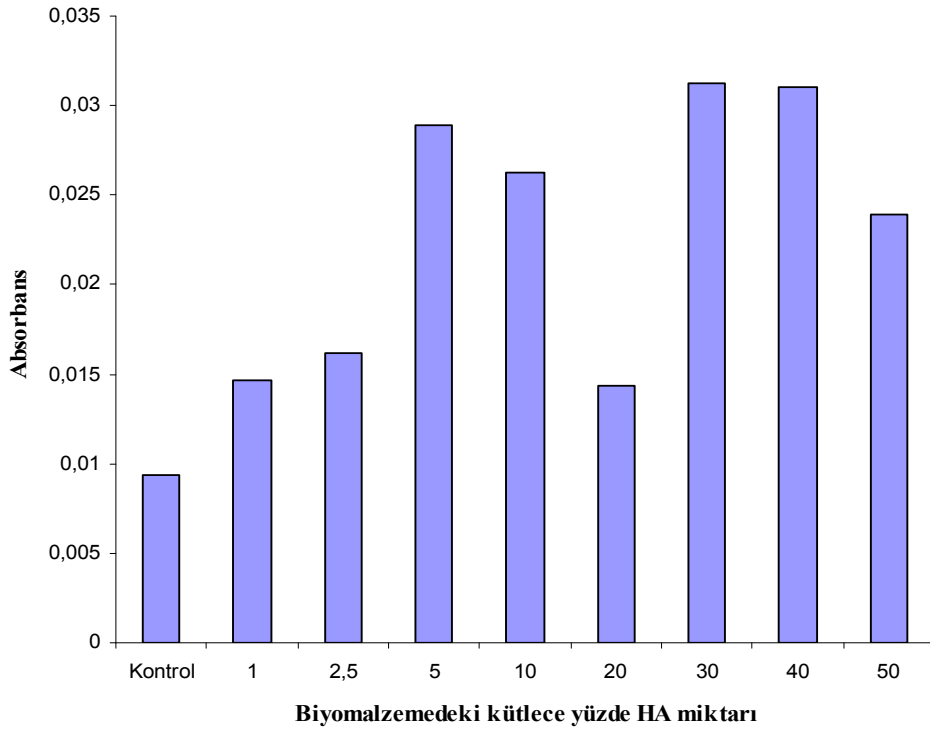
Şekil 3.17b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon peroksidaz enzimi üzerine etkileri

3.2.2 Biyomalzemelerin Glutatyon Redüktaz Enzim Aktivitesine Etkileri

Çözücü olarak tetrahidrofuran (THF) ve aseton kullanılarak sentezlenen biyomalzemelerin glutatyon redüktaz enzim aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak incelenmiş ve elde edilen deneysel veriler sırasıyla Şekil 3.18a ve b'de grafik edilmiştir. Şekiller incelendiğinde biyomalzemelerdeki HA miktarına bağlı olarak enzim aktivitesindeki değişimlerin düzenlilik arz etmediği görülmektedir. THF ortamında sentezlenen nanokompozitlerin ve kontrolün absorbans değerlerinde önemli bir değişim söz konusu değil iken aseton ortamında sentezlenen nanokompozit ve/veya kompozitlerin içerisindeki artan HA miktarı ile enzimin absorbans değerinde genel olarak bir artış söz konusudur.



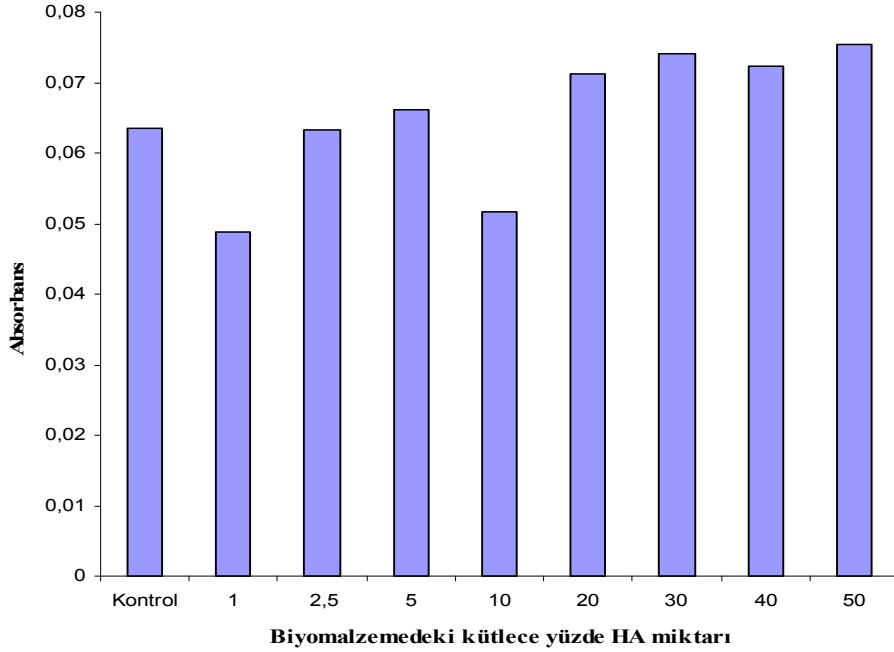
Şekil 3.18a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon redüktaz enzimi üzerine etkileri



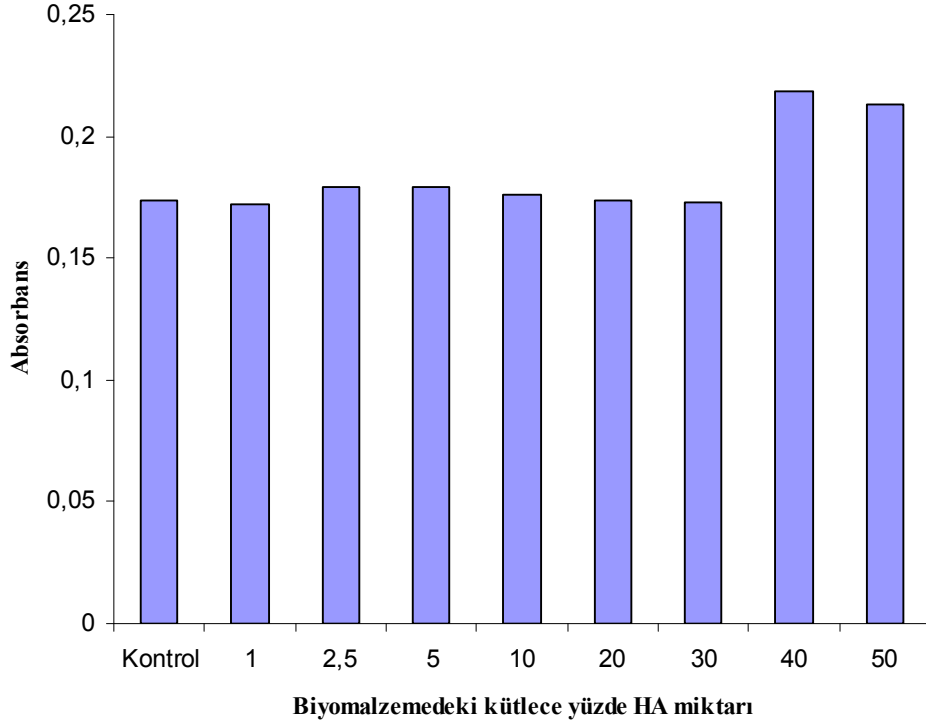
Şekil 3.18b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon redüktaz enzimi üzerine etkileri

3.2.3 Biyomalzemelerin Glutasyon S-Transferaz Enzim Aktivitesine Etkileri

Çözücü olarak tetrahidrofur (THF) ve aseton kullanılarak sentezlenen biyomalzemelerin glutasyon s-transferaz enzim aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak incelenmiş ve elde edilen deneysel veriler sırasıyla Şekil 3.19a ve b'de grafik edilmiştir. Şekiller incelendiğinde biyomalzemelerdeki HA miktarına bağlı enzim aktivitesindeki değişimlerin, aseton kullanılarak sentezlenmiş olanlarda birbirine daha yakın olduğu görülmektedir.



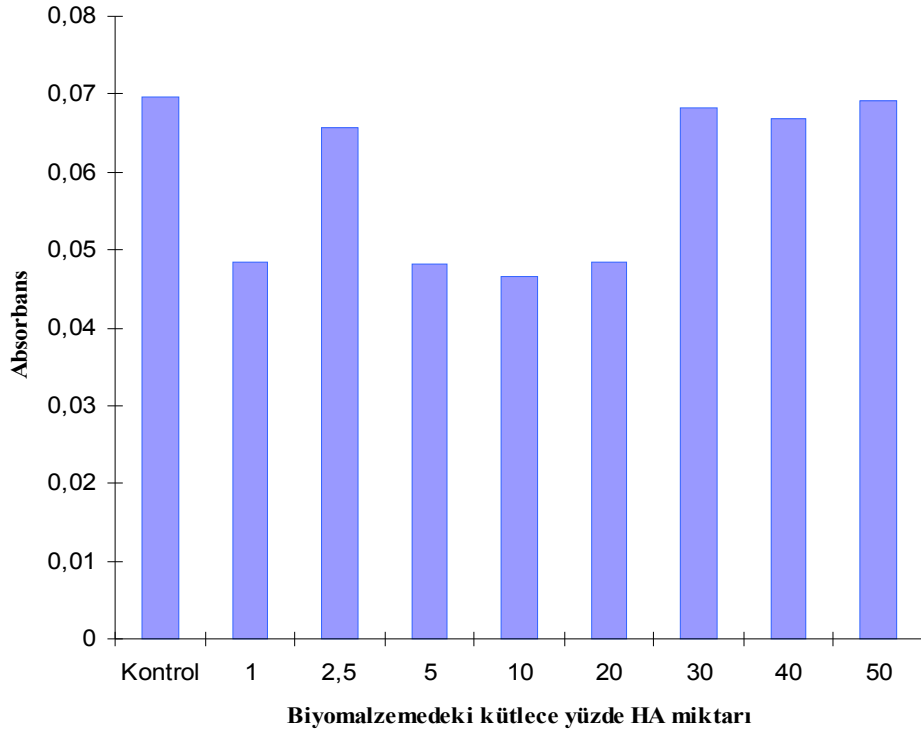
Şekil 3.19a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutasyon s-transferaz enzimi üzerine etkileri



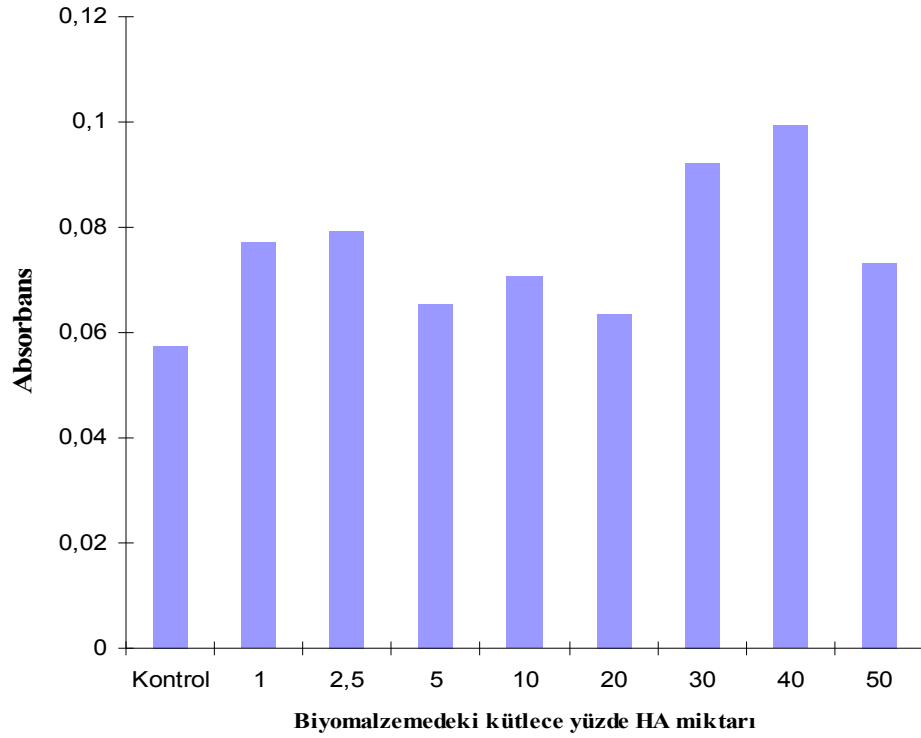
Şekil 3.19b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glutatyon s-transferaz enzimi üzerine etkileri

3.2.4 Biyomalzemelerin Glukoz-6 fosfat Dehidrogenaz Enzim Aktivitesine Etkileri

Çözücü olarak tetrahidrofuran (THF) ve aseton kullanılarak sentezlenen biyomalzemelerin glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzim aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak incelenmiş ve elde edilen deneysel veriler sırasıyla Şekil 3.20a ve b'de grafik edilmiştir. Şekiller incelendiğinde biyomalzemelerdeki HA miktarına bağlı enzim aktivitesindeki değişimlerin, THF ve aseton kullanılarak sentezlenmiş farklı biyomalzemelerle test edilen enzim aktivitesi üzerine etkileri birbirine yakındır..



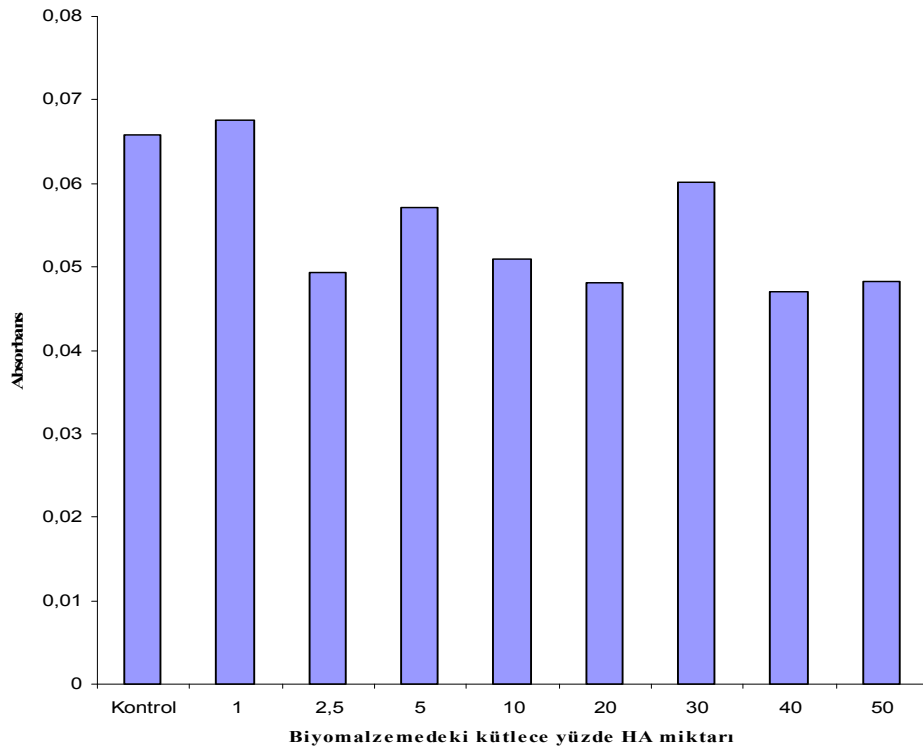
Şekil 3.20a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzimi üzerine etkileri



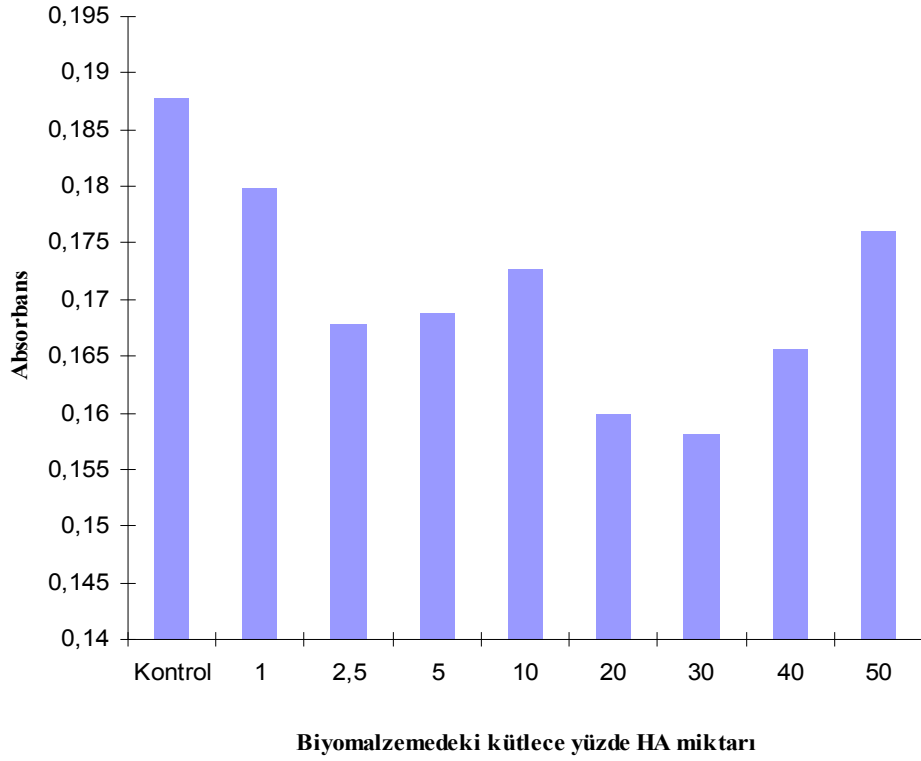
Şekil 3.20b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzimi üzerine etkileri

3.2.5 Biyomalzemelerin Katalaz Enzim Aktivitesine Etkileri

Çözücü olarak tetrahidrofur (THF) ve aseton kullanılarak sentezlenen biyomalzemelerin katalaz enzim aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak incelenmiş ve elde edilen deneysel veriler sırasıyla Şekil 3.21a ve b'de grafik edilmiştir. Şekiller incelendiğinde biyomalzemelerdeki HA miktarına bağlı enzim aktivitesindeki değişimlerin, THF kullanılarak sentezlenenlerde birbirine daha yakın olduğu görülmektedir.



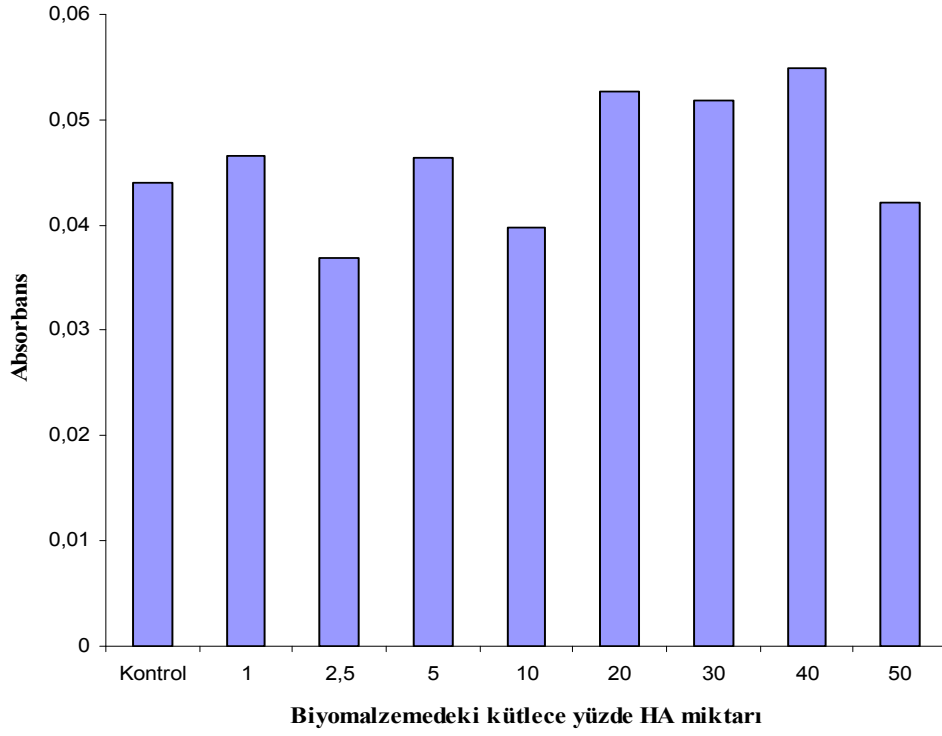
Şekil 3.21a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin katalaz enzimi üzerine etkileri



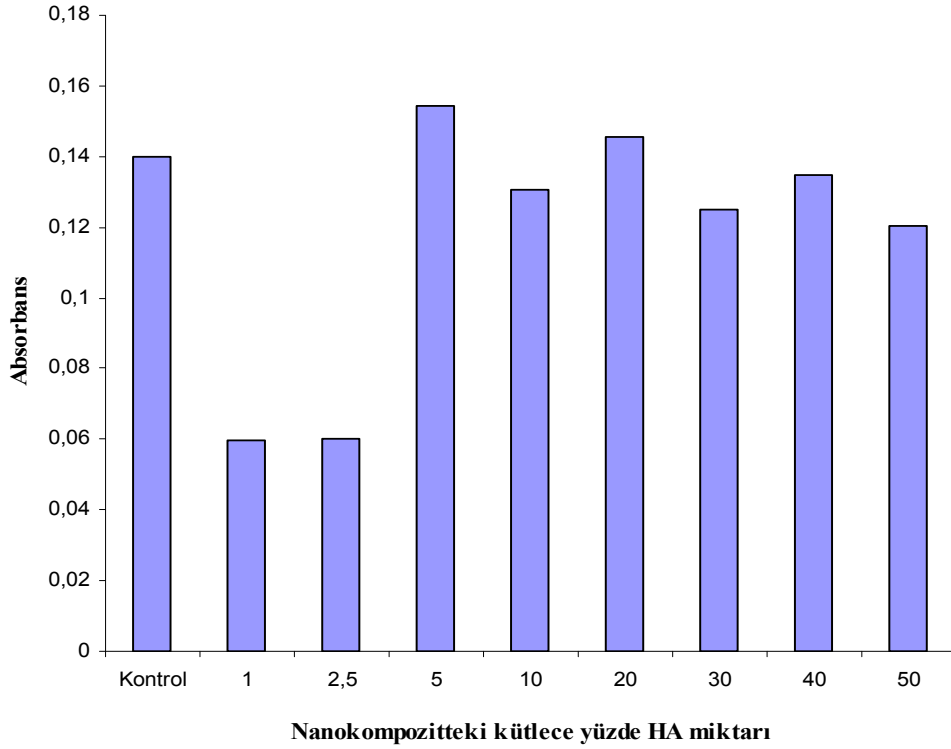
Şekil 3.21b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin katalaz enzimi üzerine etkileri

3.2.6 Biyomalzemelerin Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesine Etkileri

Çözücü olarak tetrahidrofur (THF) ve aseton kullanılarak sentezlenen biyomalzemelerin katalaz enzim aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak incelenmiş ve elde edilen deneysel veriler sırasıyla Şekil 3.22a ve b'de grafik edilmiştir. Şekiller incelendiğinde biyomalzemelerdeki HA miktarına bağlı enzim aktivitesindeki farkların, aseton kullanılarak sentezlenenlerde daha fazla olduğu görülmektedir.



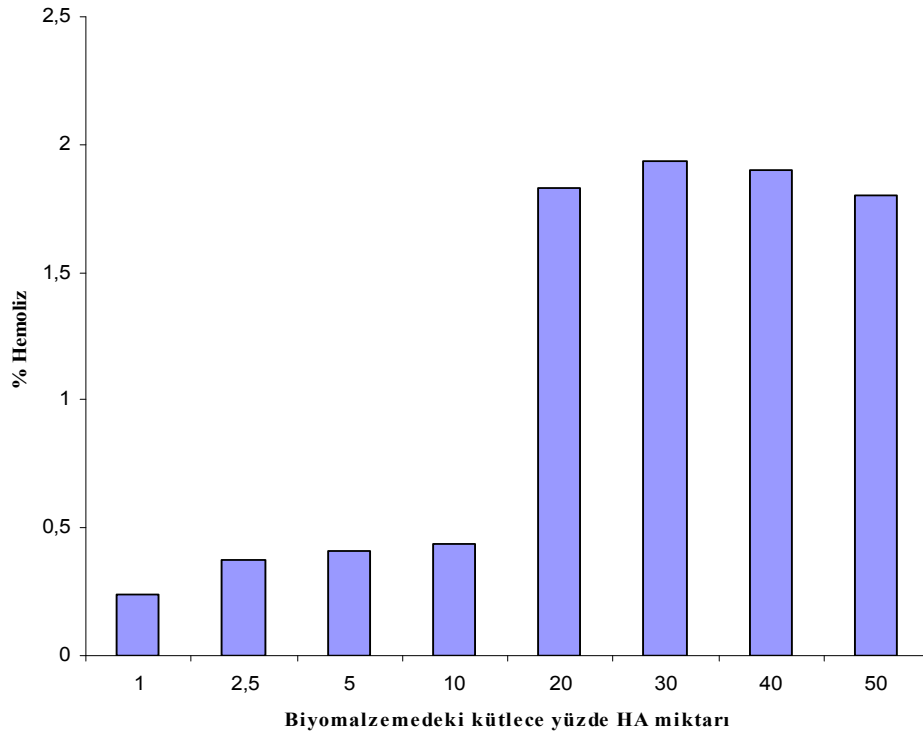
Şekil 3.22a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin süperoksit dismutaz enzimi üzerine etkileri



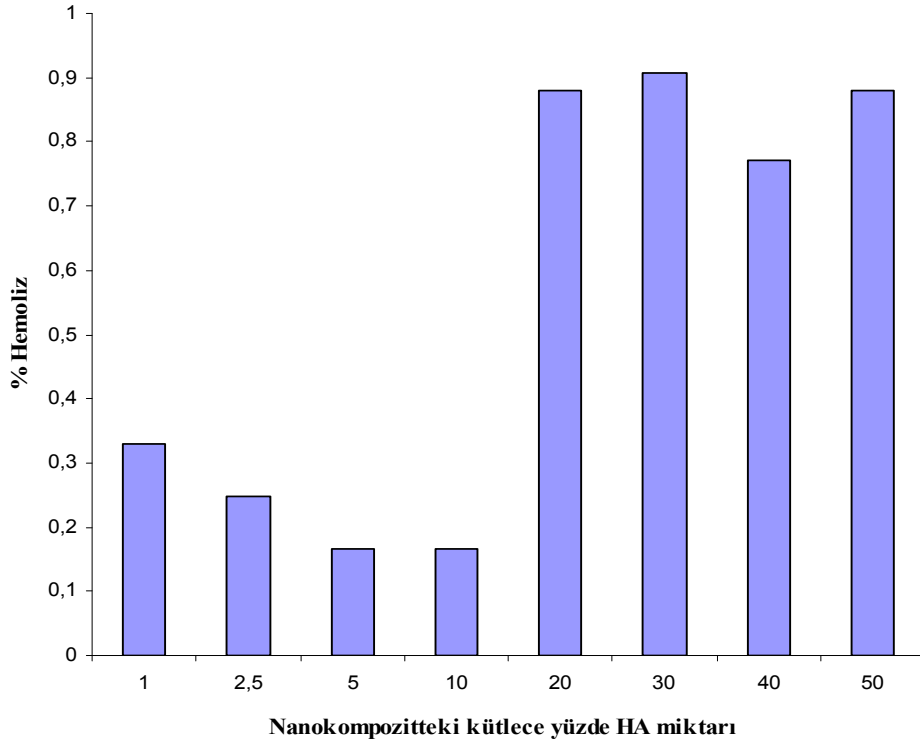
Şekil 3.22b Aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin süperoksit dismutaz enzimi üzerine etkileri

3.3 Homouyumluluk Testi

Şekil 3.23a'da THF kullanılıp sentezlenen PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozitlerinin kanı hemoliz etme yüzdesine ait grafik ve Şekil 3.23b'de aseton kullanılarak sentezlenen PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozitlerinin kanı hemoliz etme yüzdesine ait grafik verilmektedir. İçerisinde %10 oranına kadar HA bulunan PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozitlerinin %10 oranından fazla olanlara göre daha homouyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 3.23a THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin homouyumluluk testi sonuçları



Şekil 3.23b THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin homouyumluluk testi sonuçları

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu bölümde sentezlenen biyomalzemelerin karakterizasyon sonuçları; bu malzemelerin glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-s-transferaz, glukoz-6 fosfat dehidrogenaz, katalaz ve süperoksit dismutaz antioksidan enzimleriyle etkileşimleri; ve biyomalzemelerin kandaki hemoliz yüzdelerinin belirlenmesi için homouyumluluk testlerine ait sonuçları tartışılmaktadır.

4.1 Biyomalzemelerin Karakterizasyonu

Biyomalzemelerin karakterizasyonu XRD, FTIR-ATR ve TG/DTA cihazlarından elde edilen desenler, spektrumlar ve termogramlar aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

4.1.1 Biyomalzemelerin XRD Analizi Sonuçları

Şekil 3.1, hidroksiapatite ait XRD desenini; ve bu desenden elde edilen veriler de Çizelge 3.1’de gösterilmektedir. Bu desenden hidroksiapatitin $2\theta=31.42$, 32.58 ve 33.82° lerinde karakteristik pikleri görülmektedir. Polimer matrisinde hidroksiapatitin dispersiyonu bu pikler incelenerek değerlendirilmektedir. Şekil 3.2’de PMMA’ya ait XRD deseni verilmektedir. Bu XRD deseninde PMMA’nın $2\theta=14.83^\circ$ ve 26.71° derecelerinde karakteristik pikleri yer almaktadır. Yine bu desen PMMA’nın yarı kristalin bir yapıya sahip olduğunu da göstermektedir [89]. Şekil 3.3, farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozitlerine ait XRD desenini göstermektedir. Farklı çözücülerle hazırlanan bu nanokompozitlere ait XRD desenleri hidroksiapatitin PMMA matrisinde dağıldığını ve çözücü farkının XRD desenlerinde bir farklılık oluşturmadığını göstermektedir. Bu nedenle nanokompozit sentezinde çözücü, çözünürlük parametreleri göz önünde bulundurulduktan sonra XRD desenlerinde farklılık olmaması nedeniyle TG analizlerinden termal kararlılıkları değerlendirilerek

belirlenmiştir. Ayrıca polimer matrisine hidroksiapatitin ilavesiyle PMMA'nın yarı-kristalin yapısı amorf bir yapıya dönüşmüştür [90]. Şekil 3.4a, THF ortamında farklı hidroksiapatit miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin XRD desenlerini göstermektedir. Bu desenler incelendiğinde nanokompozitlerdeki artan hidroksiapatit miktarıyla HA'nın karakteristik pikleri görülmeye başlamıştır. Bu sonuç PMMA matrisi içinde HA'nın bir miktarının dağıldığını bir miktarının da dağılmadan kaldığını göstermektedir. Şekil 3.4b, THF ortamında farklı hidroksiapatit miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin XRD desenlerini göstermektedir. Bu desenlerde hidroksiapatitin karakteristik pikleri görülmektedir. Ayrıca bu kompozitlerde hidroksiapatit miktarı arttıkça kristallik yüzdesinin azaldığı görülmektedir. Şekil 3.5a, aseton ortamında farklı hidroksiapatit miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin XRD desenlerini göstermektedir. Desenden görüldüğü gibi %1 ve %2.5'lük örnekte HA, PMMA matrisinde iyi bir şekilde disperse olurken %5'lik örnekte HA'nın bir miktarı dağılmadan kalmıştır. Şekil 3.5b, aseton ortamında farklı hidroksiapatit miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin XRD desenlerini göstermektedir. İlave edilen HA miktarının fazla olması nedeniyle bu desenlerde HA'ya ait karakteristik pikler yer almaktadır. Bu da HA'nın polimer matrisi içerisinde iyi bir şekilde disperse olmadığını ve aglomeratlar oluşturduğunu göstermektedir.

4.1.2 Biyomalzemelerin FTIR-ATR Analizi Sonuçları

Şekil 3.6'da verilen hidroksiapatite ait FTIR-ATR spektrumları incelendiğinde 3573 cm^{-1} 'deki pikin hidroksil (OH) grubuna; 1455 ve 1413 cm^{-1} 'lerdeki piklerin CO_3 grubuna; ve, 1048 , 961 ve 874 cm^{-1} 'lerdeki piklerin ise PO_4^{3-} gruplarına ait oldukları söylenebilir [67].

Şekil 1.2'de açık formülü verilen PMMA'nın Şekil 3.7'deki FTIR-ATR spektrumları incelendiğinde 2950 cm^{-1} 'deki pikin alifatik $-\text{CH}_2$ grubundan; 1722 cm^{-1} 'deki pikin karbonil grubundan ($\text{C}=\text{O}$); ve 1239 ve 987 cm^{-1} 'deki piklerin de ester bağlarından dolayı meydana geldikleri ifade edilmektedir. PMMA'ya ait karakteristik pikler Çizelge 4.1'de özetlenmektedir [91].

Çizelge 4.1 PMMA'ya ait karakteristik pikler

Fonksiyonel gruplar	Pikler (cm⁻¹)
C-H, C-(CH ₃)	2950
>C=O	1722
-CH ₃ , -CH ₂ , O-CH ₂ -	2990, 1434
C(C=O)-O	1239, 1387
C-O	1142

Nanokompozitlere ait FTIR-ATR spektrumları, PMMA polimer matrisi ile dolgu maddesi arasındaki etkileşmeler, oluşan yeni pikler ve PMMA polimerine ait piklerin daha düşük ya da daha yüksek dalga sayılarına kayması hakkında önemli bilgiler verir. Şekil 3.9a ve 3.10a, sırasıyla THF ve aseton ortamında farklı hidroksiapatit miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin; ve Şekil 3.9b ve 3.10b sırasıyla THF ve aseton ortamındaki farklı hidroksiapatit miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumlarını göstermektedir. Bu spektrumlar incelendiğinde hidroksiapatitin Şekil 3.6'daki FTIR-ATR spektrumlarında 3573 cm⁻¹'de bulunan hidroksil pikine rastlanmamıştır. Çünkü hidroksiapatitte bulunan hidroksil grupları, organik polimerlerle etkileşebilmektedir [67]. PMMA polimerine ait 2995, 2950, 1722 ve 1434 cm⁻¹'deki pikler, Şekil 3.9a ve 3.10a'daki FTIR-ATR spektrumlarından görüldüğü gibi nanokompozit durumunda daha yüksek ya da düşük dalga boylarına kaymıştır. Bu sonuç bize polimer matrisi ile hidroksiapatitin etkileştiğini ve etkileşmenin genelde HA'nın -OH gruplarıyla PMMA'nın karbonil grupları arasında meydana geldiğini göstermektedir. Şekil 3.9b ve 3.10b'deki kompozitlere ait FTIR-ATR spektrumlarında ise PMMA'ya ait karakteristik piklerin nanokompozitlerdeki gibi çok fazla bir kayma göstermediği bulunmuştur.

4.1.3 Biyomalzemelerin TG/DTA Analizi Sonuçları

Şekil 3.11a ve b'de TG ve d[TG] termogramları verilen PMMA polimeri 2 basamakta bozunmaktadır. Maksimum kütle kayıplarının meydana geldiği

sıcaklıklar 292 ve 385.5 °C'dir. Literatürde yapılan çalışmalarda PMMA'nın bozunması için üç radikal oluşma sürecinin bulunduğu belirtilmektedir. Bu üç süreç aşağıda maddeler halinde özetlenmektedir.

1. 155-220 °C arasındaki zayıf sonlanmalar (baş-baş sonlanmalarının bozulması ya da çözücü ve/veya MMA monomeri kalıntısı) ile radikal oluşumu,
2. 230-300 °C arasında görülen kararsız zincir uçları (terminal bağlar, doymamışlık ya da başlatıcı yapısı) ile radikal oluşumu
3. 330 °C üzerinde gerçekleşen polimer ana zincirinde yani tekrarlanan birimde C-C bağlarının rastgele zincir parçalanmaları ile radikal oluşumu.

Radikal oluşumu ile birlikte gerçekleşen depolimerizasyon PMMA'nın ana bozunma sürecidir. Yan grup eliminasyonları meydana gelmekte ve polienler oluşmaktadır [92, 93]. Bu çalışmada kullanılan PMMA satın alındığı için içinde monomer ya da çözücü kalıntısı bulunması söz konusu değildir. Şekil 3.14a ve b'de TG ve d[TG] termogramlarından görüldüğü gibi 155-220 °C sıcaklık aralığında kütle kaybı yoktur ve dolayısıyla 1.süreçteki radikal oluşumu gerçekleşmemiştir. 2. ve 3. süreç gerçekleşerek PMMA bozunmuştur.

Şekil 3.12a ve b, farklı çözücü ortamlarında sentezlenen PMMA/HA (%2.5) nanokompozit örneklerine ait TG ve d[TG] eğrilerini göstermektedir. Bu eğrilerde PMMA'dan farklı olarak nanokompozitlerin içinde çözücü hapsolmesinden dolayı yaklaşık 100-200 °C sıcaklık aralığında ek bir kütle kaybı meydana gelmektedir. Çizelge 3.3'ten de görüldüğü gibi diğer çözücülerle kıyaslandığında en iyi termal kararlılığı THF ve aseton ortamında sentezlenen nanokompozitler göstermektedir. Ayrıca asetonun buharlaşma sıcaklığı düşük olduğundan çözücü matriksi içinde daha az bulunmaktadır. Şekil 3.13a ve b, THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin TG ve d[TG] termogramlarını göstermektedir. Bu termogramlar incelendiği T_x sıcaklıklarında bir iyileşme görülmezken T_{max} sıcaklıklarında özellikle PMMA/HA (%2.5) nanokompoziti için bir artış söz konusudur. Ayrıca rezidü miktarı da artmıştır. Şekil 3.14a ve b, THF ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin TG ve d[TG] termogramlarını göstermektedir. Bu termogramlar ve bu termogramlardan

elde edilen verilerin gösterildiği Çizelge 3.3 incelendiğinde, çeşitli sıcaklıklarda ek kütle kayıplarının meydana geldiği, genel olarak T_x sıcaklıklarında bir artışın meydana geldiği, rezidü miktarlarının arttığı ve T_{max1} sıcaklığında 23 °C'lik, T_{max2} sıcaklığında 12 °C'lik bir artışın meydana geldiği bulunmuştur. Zhao ve arkadaşları polimerizasyon yöntemini kullanarak poliüretan/hidroksiapatit nanokompozitlerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen bu nanokompozitlere ait termogravimetrik analizler saf poliüretana kıyasla nanokompozitlerin daha yüksek termal kararlılığa sahip olduğunu göstermiştir. Zhao ve arkadaşları termal kararlılıktaki bu artışı poliüretandaki çapraz bağ oluşumuna ve poliüretandaki amit grupları ($-NH-CO-O-$) ile hidroksiapatitteki hidroksil grupları arasında oluşan hidrojen bağlarına atfetmişlerdir [94]. Bu çalışmada FTIR-ATR analizlerinden elde edilen veriler ile uyumlu olarak termal kararlılıktaki artışını hidroksiapatitteki $-OH$ gruplarıyla PMMA'daki karbonil grupları arasında meydana gelen hidrojen bağlarından dolayı olduğu söylenebilir. Şekil 3.15a ve b, aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin TG ve d[TG] termogramlarını göstermektedir. Bu termogramlar incelendiğinde aseton ortamında PMMA matrisine hidroksiapatit eklenmesi termal kararlılıkta anlamlı bir artışa neden olmamıştır. Yalnızca ilk bozunmaya ait T_{max1} sıcaklığını değiştirmiştir. Şekil 3.16a ve b, aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA kompozitlerinin TG ve d[TG] termogramlarını göstermektedir. 400 °C'den sonra kompozitler saf polimerden daha kararlı davranmaktadırlar. PMMA polimerine hidroksiapatit ilavesiyle PMMA'nın bozunma mekanizması da değişmektedir. Düşük sıcaklıklarda çözücünden kaynaklanan ek kütle kayıpları söz konusudur. Ayrıca nanokompozit oluşumuna göre kompozitler daha yüksek oranda hidroksiapatit içerdiklerinden dolayı rezidü miktarları da oldukça fazladır. Hatta bazı örnekler için kalan madde miktarı %20-%30 aralığında olduğundan T_{80} sıcaklığı bile bulunmamaktadır. Ayrıca THF ve aseton sistemleri kıyaslandığında; hidroksiapatitin PMMA matrisinde THF ortamında daha iyi disperse olduğu ve THF ortamında hazırlanan nanokompozitlerin termal olarak daha kararlı oldukları söylenebilir.

4.2 Biyomalzemelerin Enzimlerle Etkileşimleri

Şekil 3.17a ve b, sırasıyla THF ve aseton ortamlarında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin ve/veya kompozitlerinin glutatyon peroksidaz enzimi üzerine etkilerini göstermektedir. Şekil 3.17a'da THF ortamında sentezlenen biyomalzemelerde HA miktarının artmasıyla absorbansta düzenli bir artış veya azalış görülmemiştir. Kontrol örneğine göre enzimin aktivitesinde %1, 10, 20 ve 30'luk örneklerde azalma, %2.5, 5, 40 ve 50'lik örneklerde ise artış görülmüştür. En fazla azalma %30'luk örnekte (azalma %37.5), en fazla artış ise %40'luk örnekte (artış %43.75) meydana gelmiştir. Bu da enzimin aktivitesindeki değişimin PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozitlerinin içerisindeki HA miktarına pek de bağlı olmadığını göstermektedir. Şekil 3.17b'ye bakıldığında ise aseton kullanılarak sentezlenmiş tüm biyomalzemeler glutatyon peroksidaz enziminin aktivitesini düşürmüştür. Enzimin absorbansını en fazla %40'luk örnek (azalma %40) düşürmüştür. Diğer örneklerin aktiviteyi etkileme oranları birbirine yakındır. Bu sonuçlara göre; aseton kullanılarak sentezlenen PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozitlerinin glutatyon peroksidaz enziminin aktivitesini inhibe ettiği söylenebilir. Bu inhibisyonun bir nedeni de nanokompozit içerisinde hapsedilmiş olarak bulunan aseton çözücüsü olabilir.

Şekil 3.18a ve b, sırasıyla THF ve aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin ve/veya kompozitlerinin glutatyon redüktaz enzimi üzerine etkilerini göstermektedir. THF ortamında sentezlenen kompozitlerin içerisinde %10 ve %30 oranlarında HA bulunan örneklerin glutatyon redüktaz enziminin aktivitesini arttırdığı (sırasıyla %4.35 ve %8.7 oranında artış) diğer örneklerin ise bu enzimin aktivitesini azalttığı görülmektedir. Ancak genel anlamda incelendiğinde ise glutatyon redüktaz enzim üzerine nanokompozit ve/veya kompozitlerin önemli bir etkisinin olmadığı söylenebilir. Şekil 3.18b'de verilen absorbans değerlerine bakıldığında ise aseton ortamında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin ve/veya kompozitlerinin glutatyon redüktaz enzim aktivitesini arttırdığı görülmektedir. Enzim aktivitesi üzerinde en fazla artışa %30 (artış %244) ve %40 (%244)'luk kompozitler sebep olmuştur. Bu sonuç PMMA/HA nanokompozit ve/veya kompozitlerinin glutatyon redüktaz enzimi için bir aktivatör

olarak hareket ettiğini göstermektedir. Enzim değerindeki artışın bir başka değeri ise nanokompozit içerisinde hapsedilmiş olarak bulunan asetonun aktivatör olarak hareket etmesi olabilir.

Şekil 3.19a ve b, sırasıyla THF ve aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA nanokompozitlerinin ve/veya kompozitlerinin glutatyon s-transferaz enzimi üzerine etkilerini göstermektedir. Genel olarak hem THF hem de aseton kullanılarak sentezlenen biyomalzemeler glutatyon s-transferaz enziminin aktivitesini arttırmıştır. Ancak bu artışın çok yüksek olmadığı söylenebilir.

Şekil 3.20a ve b, sırasıyla THF ve aseton ortamında farklı HA miktarlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzimi üzerine etkilerini göstermektedir. Aseton ya da THF ortamında sentezlenen nanokompozit ve/veya kompozitlerin enzim aktivitesi değişimindeki rolleri birbirine yakındır. Fakat THF’li biyomalzemelerin enzim aktivitesi üzerine etkisi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hepsi enzim aktivitesini düşürürken, asetonlu biyomalzemelerde ise tam tersi bir durum söz konusudur. Aseton ortamında sentezlenen biyomalzemelerin absorbansının karşılaştırılacağı kontrol örneğinin absorbans değeri THF’li olandan daha düşük çıkmıştır. Bu farkın da kanın farklı kişilerden alınmasından kaynaklanabileceği söylenebilir.

Şekil 3.21a ve b sırasıyla THF ve aseton ortamlarda sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin katalaz enzimi üzerindeki etkilerini göstermektedir. Hem THF’li hem de asetonlu ortamda sentezlenen nanokompozit ve/veya kompozitlerin katalaz enziminin absorbans değerini hafif bir şekilde düşürdüğü görülmüştür. En fazla düşme THF’li ortamda sentezlenen ve %40 oranında HA bulunan PMMA/HA kompozitinde, en az düşme de %1 oranında HA bulunan PMMA/HA nanokompozitinde görülmüştür. Yine şekiller incelendiğinde enzimin absorbans değerindeki düşmenin HA miktarı ile orantılı olmadığı görülmektedir. Bu da enzim aktivitesindeki düşmenin başka nedenlerden dolayı örneğin biyomalzeme içerisinde hapsedilmiş olarak kalan çözücü moleküllerinden dolayı da olabileceğini akla getirmektedir. Yukarıdaki sonuçlardan katalaz enzimi üzerinde THF’li ortamda

sentezlenen biyomalzemelerin asetonlu ortamda sentezlenen biyomalzemelerden daha etkin ve daha fazla inhibe ettiği sonucu çıkarılabilir.

Şekil 3.22a ve b'de THF ve aseton ortamlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinin süperoksit dismutaz enzimi üzerindeki etkileri gösterilmektedir. Hem THF hem de aseton ortamında sentezlenen nanokompozit ve/veya kompozitlerden bazıları enzim aktivitesini arttırmış bazıları da düşürmüştür. Enzim aktivitesini en fazla düşüren örnekler aseton kullanılarak sentezlenen %1 ve %2.5'lük PMMA/HA nanokompozitleridir. THF ortamında sentezlenenlerde ise en fazla düşüş %2.5'lük PMMA/HA nanokompozitinde elde edilmiştir. Diğer taraftan Şekil 3.22a ve b'de sentezlenen bazı biyonomalzemelerin süperoksit dismutaz enzimi üzerinde aktivatör rolü üstlendikleri görülmektedir. Örneğin, THF ortamında sentezlenen ve içerisinde %20, 30 ve 40 oranında HA bulduran biyomalzemeler enzimin absorbans değerini arttırmıştır. Aseton ortamında sentezlenen ve içerisinde %5 ve %20 oranında HA bulunan biyomalzemeler de SOD aktivitesini olumlu yönde etkilemiştir. Bu sonuçlar süperoksit dismutaz enzim aktivitesini etkilemede nanokompozit ve/veya kompozit malzemedeki HA miktarının çok önemli olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.2, farklı ortamlarda sentezlenen biyonomalzemelerin antioksidan enzim aktiviteleri üzerine olumlu veya olumsuz etkilerini göstermektedir. Çizelgeden görüldüğü gibi biyomalzemelerin enzim aktivitelerine etkileri için her zaman geçerli olan bir kural vermek doğru değildir.

4.3 Homouyumluluk Testi

Daha önce materyal metot kısmında belirtildiği gibi hemoliz yüzdesi %10'dan daha az ise sentezlenen nanokompozitlerin biyoyumlu; hemoliz yüzdesi %5'den az ise oldukça homouyumlu olarak kabul edileceği belirtilmişti. Şekil 3.23a ve b incelendiğinde hem THF ve hem de aseton ortamında sentezlenen nanokompozitlerin hemoliz yüzdelerinin %5'den daha az olduğu görülmektedir. Bu da bu nanokompozitlerin oldukça homouyumlu olduğu anlamına gelmektedir. Yine Şekil 3.23a ve b'deki sonuçlar kıyaslandığında asetonlu ortamda sentezlenen

biyomalzemelerin, THF’li ortamda sentezlenen biyomalzemelerden daha homouyumlu olduğu söylenebilir.

4.4 Sonuçlar

PMMA ve hidroksiapatit kullanılarak çözelti ortamında etkileştirme yöntemine göre sentezlenmiş biyomalzemeler XRD, FTIR-ATR ve DTA/TG cihazlarıyla karakterize edildikten sonra in vitro biyoyumlulukları ve bazı antioksidan enzimler üzerine etkileri araştırılmış ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. XRD analizlerinden %10’un altındaki HA konsantrasyonlarında sentezlenen PMMA/HA biyomalzemelerinde HA’nın PMMA matriksinde homojen olarak dağıldığı,
2. FTIR-ATR analizleri hidroksiapatitteki –OH gruplarıyla PMMA’daki karbonil grupları arasında etkileşimlerin meydana geldiği,
3. Termal kararlılıktaki artışın FTIR-ATR analizlerinden elde edilen veriler ile uyumlu olduğu,
4. THF ortamında hazırlanan biyomalzemelerin aseton ortamında sentezlenenlerden termal olarak daha kararlı oldukları,
5. Hemoliz yüzdesinin %5’den daha küçük olduğu ve sentezlenen biyomalzemelerin oldukça homouyumlu oldukları,
6. Sentezlenen biyomalzemelerin antioksidan enzimler üzerinde önemli bir olumsuz etkiye sahip olmadıkları bulundu.

Çizelge 4.2 Yüzde olarak biyomalzemelerin antioksidan enzimler üzerindeki etkileri

	GSH-Px		GR		GST		G6PD		CAT		SOD	
	THF	Aseton	THF	Aseton	THF	Aseton	THF	Aseton	THF	Aseton	THF	Aseton
%1	↓ 6.7	↓ 18.75	↓ 30.4	↑ 55.5	↑ 25	↓ 1.04	↓ 30.6	↑ 34.8	↓ 3.03	↓ 5.6	↑ 4.5	↓ 57.1
%2.5	↑ 18.75	↓ 10	↓ 30.4	↑ 77.7	↓ 0.31	↑ 3.22	↓ 5.45	↑ 38.6	↓ 24.2	↓ 11.3	↓ 16	↓ 57
%5	↑ 18.6	↓ 22.5	↓ 17.4	↑ 211	↑ 5	↑ 3.05	↓ 30.9	↑ 14.5	↓ 13.6	↓ 11	↑ 4.5	↑ 7.1
%10	↓ 12.5	↓ 6.25	↓ 4.35	↑ 189	↓ 20	↑ 1.5	↓ 33.04	↑ 23.2	↓ 22.7	↓ 11	↓ 9.1	↓ 7.1
%20	↓ 6.7	↓ 17.5	↓ 8.7	↑ 55	↑ 13	↑ 0.05	↓ 30.6	↑ 10.8	↓ 27.3	↓ 16.7	↑ 20.5	↓ 7
%30	↓ 37.5	↓ 16.25	↓ 8.7	↑ 244	↑ 18	↓ 0.46	↓ 2.1	↑ 61.3	↓ 9.1	↓ 16.7	↑ 12.1	↓ 7
%40	↑ 43.75	↓ 40	↓ 1.97	↑ 244	↑ 15	↑ 26.1	↓ 4.1	↑ 73.5	↓ 28.8	↓ 13.9	↑ 25	↓ 2.9
%50	↑ 6.25	↓ 15	↓ 30.4	↑ 155	↑ 20	↑ 23.3	↓ 0.71	↑ 27.6	↓ 27.3	↓ 8.3	↓ 4.5	↓ 14.3

5. KAYNAKLAR

- [1] Wintermantel, E., Mayer, J., Blum, J., Eckert, K.L., Lüscher, P. and Mathey, M., Tissue engineering scaffolds using superstructures, *Biomaterials*, 17, 83-91 (1996).
- [2] www.baskent.edu.tr/~mustafak/BME-201/.../biyouyumlulukdoc.pdf.
- [3] Gümüşderelioğlu, M., "Biyomalzemeler", *Bilim ve Teknik Dergisi*, Temmuz 2002 Sayısı, s. 2-4, 23, TÜBİTAK.
- [4] Niinomi, M., Recently Metallic Materials for Biomedical Applications, *Metalurgical and Materials Transactions*; Warrendale pp:477-486 (2002).
- [5] William D. Callister, JR, *Materials Science and Engineering, An Introduction* William D. Callister, JR, *John Wiley and Sons, Newyork*, ISBN 0-471-13576-31, 6th, ed 2003.
- [6] Park J., Bronzino J., "Biomaterials : Principles and Applications" Sf:22-26, CRC Pres.
- [7] <http://www2.aku.edu.tr/~evcin/biomaterials/sınıflandırma.pdf>.
- [8] Billotte, W.G., *Ceramic Biomaterials, The Biomedical Engineering Handbook: Second Edition. CRC Press LLC, (2000)*.
- [9] Willert, H.G., Bertram, H., Buchhorn, G.H. Osteolysis in alloarthroplasty of the hip: the role of bone cement fragmentation. *Clin. Orthop*; 258, 108–121 (1990).
- [10] Bajpai, P.K., *Ceramic Amino Acid Composites for Repairing Traumatized Hard Tissues*. In: *Handbook of Bioactive Ceramics, vol.II: Ca-P and HA Ceramics*. Yamamuro, T., Hench, L.L., and Wilson-Hench, J., Eds. p. 255-270, *CRC Pres, Bato Raton, FL* (1990).
- [11] Yetkin, H., 2001. *Ortopedi ve Travmatolojide Biomateryaller*. 8th Biomedical Science and Technology Symposium (BĐOMED8), IL02, METU Ankara/TURKEY, September 5-8, (2001).
- [12] Bajpai, P.K., Fuchs, C.M., *Development of a hydroxyapatite bone grout*. In: *proceedings of the first annual scientific session of the academy of surgical research*. San Antonio, Texas, Hall, C.W. Ed. p. 50-54, *Pergamon Pres, New York, NY* (1985).

- [13] Capello, W.N., D'Antonio, J.A., Finberg, J.R., Manley, M.T., HA-coated total hip femoral components in patients less than fifty years old., *Jour. of Bone Joint Surg.*, 79A, 1023-1029 (1997).
- [14] Willert, H.G., Bertram, H., Buchhorn, G.H., Osteolysis in alloarthroplasty of the hip: the role of bone cement fragmentation. *Clin. Orthop.* ; 258, 108-121 (1990).
- [15] Capello, W.N., D'Antonio, J.A., Manley, M.T., Feinberg, J.R., Hydroxyapatite in total hip arthroplasty: clinical results and critical issues. *Clin. Orthop.*; 355: 200-211 (1998).
- [16] Geesink, R., Hoefnagels, N., Eight years' results of HA coated primary total hip replacement. *Acta. Orthop. Belg.*; 63: 72-75 (1997).
- [17] Hamadouche, M., Sedel, L., Ceramics in orthopaedics, Review article. *The jour. of bone & joint surgery (Br)*, vol. 82-B: 1095-1096 (2000).
- [18] Pasinli, A., Yıldız, H., Celik, E., Aksoy, R.S., Mechanical Properties of Calcium-Phosphate Coatings on Ti6Al4V Implant Materials by Biomimetic Method, *Electronic Journal of Machine Technologies*, (4) 1-10 (2008).
- [19] Ward, L.P., Strafford, K.N., Wilks, T.P., and Subramanian, C., The role of refractory element based coating on the tribological and biological behaviour of orthopaedic implants. *Jour. of Materials Processing Technology*, 56, 364–374 (1996).
- [20] Li, P., Kangasniemi, I., de Groot, K., Kokubo, T., Bone-like HA induction by a Gel-Derived Titania on a Titanium substrate. *Journal of American Cer. Soc.*, 77, 5, 1307-1312 (1994).
- [21] Kitsugi, T., Nakamura, T., Oka, M., Yan, W.Q., Goto, T., Shibuya, T., Kokubo, T., and Miyaji, S., Bone bonding behavior of titanium and its alloys when coated with TiO₂ (Ti oxide) and Ti₅Si₃ (Ti silicate). *J. of Biomedical Mater. Res.*, Vol. 32, 149-156 (1996).
- [22] Kim, H.M., Miyaji, F., Kokubo, T. and Nakamura, T., Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chem. surface treat. *J. of Biomedical Mater. Res.*, Vol. 32, 409-417 (1996).
- [23] Kim, H.M., Miyaji, F., Kokubo, T. and Nakamura, T., Bonding strength of bone-like apatite layer to Ti metal substrate. *J. of Biomed. Mater. Res.*, Vol. 38, 121-127 (1997).
- [24] Yan, W.Q., Nakamura, T., Kawanabe, K., Nishiguchi, S., Oka, M., Kokubo, T., Apatite layer-coated Ti for use as bone bonding implants, *Biomaterials*, 18, 1185–1190 (1997).

- [25] Weng, W., and Baptista, J.L., Preparation and character. of HA coatings on Ti6Al4V alloy by a Sol-Gel Method, *J. of American Cer. Soc.*, 82, 1, 27-32 (1999).
- [26] Baysal, B. Polimer Kimyası Cilt 1, İTÜ yayınları, (1981).
- [27] J.C. Knowles, G.W. Hastings, H. Ohta, S Niwa, N. Boeree, "Development of a degradable composite for orthopaedic use: in vivo biomedical and histological eveluation of two bioactive degradable composites based on the polyhydroxybutyrate polymer," *Biomaetrial*s, 13, 491-496 (1992).
- [28] J.C. Skinner, H.J. Prosser, R.P. Scott, and A.D. Wilson, "Adsorption of carboxylate cements to hydroxyapatite. I. The effect of the structure of aliphatic carboxylates on their uptake by hydroxyapatite," *Biomaterials*, 7, 438-440 (1986).
- [29] "Preliminary studies on burning behavior of polymethylmethacrylate(PMMA)"
<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=14365060>.
- [30] Ersoy, H.Y., Kompozit Malzeme, Literatür Yayınları, İstanbul, (2001).
- [31] Ayhan, H. "Biyomalzemeler", *Bilim ve Teknik Dergisi*, Temmuz 2002 Sayısı, s. 11, TÜBİTAK.
- [32] Yetgin, S. Hakan, Nanoteknoloji ve Nanokompozitler, Sakarya Üniversitesi-Metal Eğitimi Bölümü.
- [33] <http://www.istanbul.edu.tr/fen/fizik/ssp/nanoyapi.html>.
- [34] Tae H.Kim, Lee W.Jang,Dong C.Lee,Hyoung J.Choi,Myung S.Jhon. *Macromol. Rapid Commun.* 23,No.3,29 (2002).
- [35] Atasagunil, M. Enzimler, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Profesörü, Güzel İstanbul Matbaası, Ankara, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları Sayı: 8:3 (1965).
- [36] H. Poontariga, P. Darinee R. Kannarat R. Charoensataporn, *Science Asia*, 29, 109 (2003).
- [37] Schoneich C. Reactive oxygen species and biological aging:a mechanistic approach. *Exp Geronto Jan*;34:19 (1999).
- [38] C. Çavdar, A. Sifil T. Çamsarı. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, 92 (1997).
- [39] Aruoma, O.I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J. Am.Oil. Chem. Soc.* 75(2):199–212 (1998).

- [40] Serteser, A. ve Gök,V. Doğal Antioksidanların Biyoyararlılığı, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, ANKARA, 2-4 Ekim 2003.
- [41] Yüce, A., Aksakal, M. “ Ratların Karaciğer ve Testis Dokusundaki Antioksidan Aktivite Üzerine Nar Suyunun Etkisi”, *F. Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*, 21 (6): 253- 256 (2007).
- [42] Yalçın, A. S., Antioksidanlar, Klinik Gelişim 11 342-346 (1998).
- [43] F. Drog, Plant Glutathione S-Transferases, a Tale of Theta and Tau. *J. Plant Growth Regul.* 16:95-107 (1997).
- [44] Geçkil, H., Biyokimya, Eylül (2006) 137.
- [45] Asma, D., Biyolojik sistemlerde Radikaller ve Antioksidanlar, Yüksek Lisans Ders Notları.
- [46] Antmen, Ş.E., “Beta Talasemide Oksidatif Stres”, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Adana (2005).
- [47] Karam, D. Glutathione S-transferase: an enzyme for chemical defense in plants (1996).
- [48] Levy. HR., Glucose-6-phosphate dehydrogenases. In: Meister A (ed). *Advan Enzymol. New York: John Wiley and Sons Inc.*, 48:97-191 (1979).
- [49] Mehta. A. Mason PJ., Vulliamy TJ. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Bailliers Best Pract Res Clin Haematol* 13:21- 38 (Mar 2000).
- [50] Krebs, HA. Eggleston LV., The regulation of the pentose phosphate cycle in rat liver. In: Weber G (ed). *Adv enzyme regul. Oxford: Pergamon Press Ltd*, 12:421-33 (1978).
- [51] Wood, T., Distribution of the pentose phosphate pathway in living organisms. *Cell Biochem Funct*, 4:235-40 (1986).
- [52] Siems, WG., Sommerburg O, Grune T., Erythrocyte free radical and energy metabolism. *Clin Nephrol*, 53(Suppl 1):9-17 (2000).
- [53] Borregaard, N., Schwartz JH, Tauber A. Proton secretion by stimulated neutrophils. *J Clin Invest*; 74:455-9 (1984).
- [54] Scott, WA., Glucose-6-phosphate dehydrogenase from *neurospora crassa*. *Methods Enzymol*; 41:177-82 (1975).
- [55] Kono, Y., and Fridovic, I., Superoxide radical inhibits catalase, *J Biol Chem* 257. 5751–5754 (1982).

- [56] T.C. İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroşirurji A.B.D., Deneysel Medulla Spinalis Yaralanmasında Antioksidan Enzimlerin (GPx, SOD, CAT) İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, Dr. Mehmet Yaşar KAYNAR, İstanbul, (1993).
- [57] McCord, JM., Fridovich, I., Superoxide Dismutase. An enzymatic function for erythrocyte superoxide dismutase (hemocuprein). *J Biol Chem*, 244, 6049-6055, (1969).
- [58] Sinet PM, Couturier J, Dutrillaux B, et al. Triomnie 21 et superoxyde dismutase -1 (IPO-A). Tentative de localisation am la sous bande 21q22.1. *Exp Cell Res*;97:47-55 (1976).
- [59] Baret A, Baeteman MA, Mattei JF, Michel P, Broussolle B, Giraud F. Inimunoreactive CuSOD and MnSOD in the circulating bloodcells from normal and trisomy 21 subjects. *Biochem Biophys RcaCommun*;98:1035-43 (1981).
- [60] Chauhan DP, Gupta PH, Nainpoothiri MRN, Singhal PC, Chugh KS, Nair CR. Determination of eiythrocyte superoxide dismutase, catalase, glucose-6-phosphatedehydrogenase, reduced glutathione and malonyldialdehyde in uremia. *Clin Chin Acts*;123:153-9 (1982).
- [61] Nishimura N, Ito Y, Adachi T, Hirano K, Sugiura M, Sawaki S. Enzyme immunoassay for cuprozinc-superoxidedismut.ase in serum and urine. *J Pharm Dyn*;5:394-402 (1982).
- [62] <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>.
- [63] Ishizawa, H., Fujino, M. And Ogino, M. Histomorphometric Evaluation of thin Hydroxyapatite Layer formed through Anodization Followed by Hydrothermal Treatment, *Elsevier Science Ltd*, 330, Pergamon (1996).
- [64] Kokubo, T., Novel Biomedical Materials Based on Glasses. *Trans Tech Publications*, 65-81, Switzerland (1999).
- [65] Gomez-Vega, J.M., Saiz, E. And Tomsia, A.P., Glass-Hydroxyapatite Coatings on Titanium-Based Implants. Bioceramics: Materials and Applications III, *Ceramic Transactions*, Volume 110, 17, 20, 22 (2000).
- [66] Wang, M., Chen, L. J., Weng, J. and Yue, C. Y., Manufacture and Evaluation of Bioactive and Biodegradable Materials ans Scaffolds for Tissue Engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 12; 855-860 (2001).
- [67] Balasundaram, G. and Webster, T. J., A perspective on nanophase materials for orthopedic implant applications. *Journal of Materials Chemistry*, 16, 3737-3745 (2006).
- [68] Walschus, U., Hoene, A., Neumann, H. G., Wilhelm, L., Lucke, S., Lüthen, F., Rychly, J., Schlosser, M., Morphometric immunohistochemical

examination of the inflammatory tissue reaction after implantation of calcium phosphate-coated titanium plates in rats *Acta Biomaterialia* 5, 776–784 (2009).

- [69] Guo, H., Su, J., Wei, J., Kong, H., Liu, C., Biocompatibility and osteogenicity of degradable Ca-deficient hydroxyapatite scaffolds from calcium phosphate cement for bone tissue engineering, *Acta Biomaterialia* 5, 268–278 (2009).
- [70] Narbat, M. K., Orang, F., Hashtjin M. S. and Goudarzi A., *Iranian Biomedical Journal* 10 (4): 215-223 (October 2006).
- [71] Shin, Y. J., Lee, H., Kim, M. K., Wee, W. R., Lee, J. H., Koh, J. H., Lee, H. J., Lee, J. L., Min, B. M., Sohn, Y. S., Kim, H. Y., Biocompatibility of Nanocomposites Used for Artificial Conjunctiva: *In Vivo* Experiments, *Current Eye Research*, 32: 1-10 (2007).
- [72] Wahl, D. A. and Czernuszka, J. T., Collagen-Hydroxyapatite Composites For Hard Tissue Repair, *European Cells and Materials* 11: 43-56 (2006).
- [73] Jansen, J. A., Dhert, W. J. A., Van der Waerden, J. P. C. M., von Recum, A. F., Semi- Quantitative and Qualitative Histologic Analysis Method for the Evaluation of Implant Biocompatibility, *Journal of Investigative Surgery*, Vol. 7: 123-134 (1993).
- [74] Şafak, M. A. ve Cavit Özeri, C., Kemikçik Rekonstrüksiyonunda Biyouyumlu Materyaller, *K.B.B. ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi*, Cilt; 2 Sayı; 3: 247-253 (1994).
- [75] Şerbetçi, K., Orhun, S., Korkusuz, F. ve Hasırcı, N., Hidroksiapatit İçeren Kemik Çimentosunun In-Vivo Biyouyumluluğu, *Journal of Arthroplasty & Arthroscopic Surgery*, Vol. 13, 4: 259-263 (2002).
- [76] Dimitrevska, S., Petit, A., Ajji, A., Bureau, M. N., Yahia, L., Biocompatibility of novel polymer-apatite nanocomposite fibers. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 44-53 (2007).
- [77] Balçık, C., Şenköylü, A., Koç, N., Timuçin, M., Korkusuz, P. Ve Korkusuz, F., Segmenter Defekt İçeren Uzun Kemik Kırıklarının Tedavisinde Kullanılan Gözenekli Hidroksiapatit ve Kalsiyum Fosfat Seramik Bloklarının In Vivo Uyumluluğu, *Journal of Arthroplasty & Arthroscopic Surgery*, Vol. 14, 1: 39-44 (2003).
- [78] Malafaya, P. B., Reis, R. L., Bilayered chitosan-based scaffolds for osteochondral tissue engineering: Influence of hydroxyapatite on in vitro cytotoxicity and dynamic bioactivity studies in a specific double-chamber bioreactor, *Acta Biomaterialia* 5: 644–660 (2009).
- [79] Deb, S., Giri, J., Dasgupta, S., Datta D. and Bahadur, D., *Bull. Mater. Sci.*, Vol. 26, No. 7: 655–660 (December 2003).

- [80] Balamurugan, A., Kannan, S., Selvaraj, V. and Rajeswari S., Development and Spectral Characterization of Poly(Methyl Methacrylate) /Hydroxyapatite Composite for Biomedical Applications, *Trends Biomater. Artif. Organs*, Vol 18 (1): 41-45 (2004).
- [81] Doğan, S., “ The in vitro effects of some pesticides on carbonic anhydrase activity of *Oncorhynchus mykiss* and *Cyprinus carpio carpio* fish”., *Journal of Hazardous Materials*, A132:171- 176 (2006).
- [82] Beutler. E., Red cell metabolism, *Grune & Stratton, Inc. Orlando*, 3rd ed, USA (1984).
- [83] Bayır, A., “Hınıs çayı (Murat havzası) ’ nda yaşayan siraz balığı (*Capoeta capoeta umbla*)’ nın antioksidan enzim aktiviteleri, serum lipitleri, lipoproteinleri ve hematolojik parametrelerin mevsimsel değişimlerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Erzurum, (2005)
- [84] Habig, W., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B., Glutathione S- Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 249 (22), 7130- 7139 (1974).
- [85] Beutler, E., Red cell metabolism, A manual of Biochemical Methods, 3rd ed. *Grune and Starton, Inc. Orlando, FL 32887, London*, 248-251 (1984).
- [86] Sun Y, Oberley LW, Li Y., A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 34: 497-500 (1988).
- [87] Bélanger, M. C., Marois, Y. Hemocompatibility, biocompatibility, inflammatory and *in vivo* studies of primary reference materials low-density polyethylene and polydimethylsiloxane: A review, *Journal of Biomedical Materials Research* Volume 58, Issue 5, pages 467–477 (2001).
- [88] Khan, M. S., Khalil, U., Nasar, G. FT-IR spectra for HAP/PMMA, *J. Pak. Mater. Soc.*3 (1): 22-26 (2009).
- [89] Baskaran R., Selvasekarapadian S., Kuwata N., Kawamura J., Hattori T. “Conductivity and Thermal Studies of the Blend Polymer Electrolytes based on PVAC-PMMA”. *Solid State Ionics*. 177 [26-32] 2679-82 (2006).
- [90] Chandrasekaran R., Selladurai S. J. *Solid State Electrochemistry*. 15 356 (2001)
- [91] Benlikaya, R., Bazı Polimetakrilat Türevi/Kil Nanokompozitlerinin Hazırlanması, ve Karakterizasyonu, Mart 2009, Yayınlanmamış Doktora Tezi.

- [92] Garcia, N., Corrales, T., Guzman, J. and Tiemblo, P. Understanding the role of nanosilica particle surfaces in the thermal degradation of nanosilica/poly(methyl methacrylate) solution-blended nanocomposites: From low to high silica concentration, *Polymer Degradation and Stability* 92 635-643 (2007).
- [93] Liu, L. Y., Hsu, C. Y., Hsu K. Y. Poly(methylmethacrylate)-silica nanocomposites films from surface-functionalized silica nanoparticles, *Polymer* 46 1851–1856 (2005).
- [94] Zhao, C. X., Zhang W. D., Preparation of waterborne polyurethane nanocomposites: Polymerization from functionalized hydroxyapatite, *European Polymer Journal*, 44 1988–1995 (2008).