

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİTANYUM ALAŞIM YÜZEYLERİN SELEKTİF LAZER  
ERGİTME İŞLEMİ İLE KAPLANMASI SONRASI HGF-1  
PROLİFERASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dt. Özge Çelik**

**Protez (Diş) Programı**

**DOKTORA TEZİ**

**ANKARA  
2015**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİTANYUM ALAŞIM YÜZEYLERİN SELEKTİF LAZER  
ERGİTME İŞLEMİ İLE KAPLANMASI SONRASI HGF-1  
PROLİFERASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dt. Özge Çelik**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Bahadır Ersu**

**Protez (Diş) Programı**

**DOKTORA TEZİ**

**ANKARA  
2015**

## ONAY SAYFASI

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince ve tez çalışmam boyunca deneyimlerimi paylaşan, sonsuz anlayışı ve sabrı ile bana her konuda destek olan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Bahadır Ersu'ya,

Mesleki ve sosyal tecrübelerini bana içtenlikle aktaran değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Nur Hersek'e, Sayın Prof. Dr. Şenay Canay'a, Sayın Prof. Dr. Nesrin Anıl'a ve Sayın Doç. Dr. Mehmet Muhtarogulları'na ve bölümümüzde görev yapan tüm değerli öğretim üyelerine, araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve personelimize,

Tezimin planlanma aşamasında lazer metal sinterleme işlemi ile ilgili olanakları sağlayan Sayın Doç. Dr. Suat Gökçe'ye,

Çalışmamın SEM incelemelerini titizlikle gerçekleştiren Sayın Prof. Dr. Mustafa Sargon'a ve Sayın Doç. Dr. İlkan Tatar'a,

Hücre kültürü ile ilgili tüm sorularımı samimiyetle yanıtlayan, bu alanla ilgili pratik kazanmamı sağlayan Sayın Doç. Dr. Serhan Akman'a, Sayın Doç. Dr. Ayşe Ercan'a ve Sayın Ar. Gör. Selin Öncül'e,

Doktora eğitimimizle başlayan dostluklarımızın, hayatımız boyunca devam edeceğine inandığım değerli arkadaşlarım Dt. Hatice Yerlikaya'ya, Dr. Duygu Karasan'a, Dt. Berkcan Tuncer'e, Dt. Recep Türken'e ve Dt. Elif Tuğba Akçin'e,

Tezime başlamam dahil olmak üzere, tez sürecimde beni sürekli teşvik eden, demoralize olduğum her anda varlığıyla güçlendiren, mutluluk kaynağım, en değerlim sevgili Bahri Arifağaoğlu'na,

Bu hayattaki en yakın arkadaşım, iyi ve kötü her günümde yanımda olan sevgili kardeşim Gizem Çelik'e,

Mesleki eğitimim dahil, sahip olduğum her şeyin mimarları olan, bana sevgiyi, sabrı ve azmi aşıl原因an sevgili annem Şerife Çelik'e ve sevgili babam Rasim Çelik'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

## ÖZET

**Çelik, Ö. Titanyum Alaşım Yüzeylerin Selektif Lazer Ergitme İşlemi ile Kaplanması Sonrası HGF-1 Proliferasyonunun Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Protez Programı Doktora Tezi, Ankara, 2015.** Günümüzde dental implant materyali olarak en çok titanyum ve alaşımları tercih edilmektedir. Tornalanmış titanyum, en iyi kemik-implant temasının oluşturulması için çeşitli yüzey işlemlerinden geçmektedir. Çalışmamızda hem biyouyumluluğunun hem de yüzey özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla, tornalanmış Grade 5 titanyum disklerin, SLM işlemi ile Grade 23 titanyumla kaplanması sonrası insan dişeti fibroblast hücrelerinin (HGF-1) proliferasyonu değerlendirilmiştir. Bu amaçla tornalanmış 5 mm çapındaki toplam 48 adet titanyum Grade 5 örnek dört gruba ayrıldı (n=12). İlk gruba herhangi bir yüzey işlemi uygulanmadı (Kontrol grubu). İkinci gruba SLA prosedürü uygulandı. Üçüncü ve dördüncü grup örneklerin yüzeyleri SLM yöntemi kullanılarak Grade 23 titanyumla kaplandıktan sonra, dördüncü grup örnek yüzeylerine ek olarak SLA prosedürü de yapıldı. Örneklerin yüzey topografileri SEM ve optik profilometre ile değerlendirildi. Ultraviyole ışık altında sterilizasyonu yapılan örneklerle HGF-1 ekimi yapıldı (n=8). MTT deneyi ile 24, 48 ve 72 saatlerin sonunda yüzeylerdeki canlılık hesaplandı. Araştırmanın sonuçlarına göre SLM işlemi yüzey pürüzlülüğünde artışa neden olmuştur. SLA yüzeyler en yüksek ve kararlı hücre canlılık oranına sahipken (Grup 2), bunu SLM işlemi sonrası SLA prosedürünün yapıldığı yüzeyler (Grup 4) takip etmektedir. Tüm deneylerde kontrol grubu en düşük hücre canlılık oranına sahiptir. Grup 3'teki hücre canlılığının kararlılığını koruyamaması metal oksit katmanının uzaklaştırılmamasına bağlanmıştır. SLM işlemi ile yüzeyin Grade 23 titanyumla kaplanması, güçlü asit ve kumlama gibi işlemlerle yüzeyi arındırıldığında umut vaadedici sonuçlar vermiştir.

Anahtar Kelimeler: Selektif lazer ergitme, titanyum, insan dişeti fibroblastı, SLA, dental implant

## ABSTRACT

**Çelik, Ö. Evaluation of HGF-1 Proliferation on Titanium Alloy Surfaces After Coating by Using Selective Laser Melting Process. Hacettepe University Institute of Health Science, PhD Thesis in Prosthodontics, Ankara, 2015.** Titanium and its alloys are the most common dental implant material currently. For the best bone-implant contact, machined titanium is subjected to various surface treatments. In this study, aiming to improve both biocompatibility and surface characteristic, human gingival fibroblast (HGF-1) proliferation were evaluated after covering machined Grade 5 titanium discs with Grade 23 titanium by using SLM technology. For this purpose, 5-mm-diameter 48 titanium Grade 5 specimen was divided into four groups (n=12). The first group wasn't subjected to any surface treatment (Control group). SLA procedure was applied to Group 2. The surfaces of the specimens in Group 3 and 4 were covered Grade 23 titanium by SLM process. After this step, only Group 4 was applied to SLA procedure. The surface topography of the specimens were evaluated with SEM and optic profilometer. HGF-1 cell culture was performed following specimen sterilization by UV (n=8). After 24, 48, 72 hours, HGF-1 viability on the surface was calculated with MTT assay. Results showed that SLM process increased the surface roughness. The most stable and the highest vitality ratio was measured on the SLA group (Group 2). The following group was Group 4 that both SLM and SLA procedure were applied. Control group had the lowest cell viability for all test results. Group 3 couldn't showed the stable results because the metal oxide layer couldn't be eliminated from the surface. Grade 23 titanium-coated surfaces by using SLM process has shown promising results when the surfaces cleaned with strong acids and sandblasting.

Keywords: Selective laser melting, titanium, human gingival fibroblast, SLA, dental implant

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İmplant Nedir?	3
2.2. Dental İmplantolojinin Tarihçesi	3
2.3. Osseoentegrasyon	4
2.4. Dental İmplant Başarı Kriterleri	6
2.5. İmplantların Kümülatif Başarı Oranları	7
2.6. Dental İmplantların Sınıflandırılması	8
2.6.1. Kullanılan Materyal Tipine Göre	8
2.6.2. Yerleştirildikleri Yere Göre	10
2.6.3. Gövde Tasarımlarına Göre	10
2.6.4. Yüzey Özelliklerine Göre İmplantların Sınıflandırılması	10
2.7. Dental İmplant Tasarımı	11
2.8. Dental İmplant Yüzey Özellikleri	13
2.9. Dental İmplant Yüzeyleri	14
2.9.1. Tornalanmış Yüzeyler	14
2.9.2. Kumlanmış Yüzeyler	14
2.9.3. Asitle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler	15
2.9.4. Kumlanmış ve Asitle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler	15
2.9.5. Anodize Yüzeyler	16
2.9.6. Lazerle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler	17



2.9.7. Yüzey Kaplamaları	17
2.9.8. Yüzey Kaplama Yöntemlerinin Sınıflandırılması	19
2.10. Lazer Nedir?	23
2.10.1. Lazerin Tarihi	23
2.10.2. Işık	24
2.10.3. Amplifikasyon	25
2.10.4. Stimüle Emisyon (Uyarılmış Salınım)	25
2.10.5. Radyasyon	26
2.10.6. Lazer Sinterleme Nedir?	26
2.11. Yüzey Pürüzlülüğünün Ölçümü	28
2.11.1. Yüzey Pürüzlülüğünün Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler	28
2.11.2. Yüzey Pürüzlülüğünün Ölçülmesinde Kullanılan Cihazlar	30
2.12. Biyouyumluluk ve Test Yöntemleri	32
2.12.1. Biyolojik Uyum İçin Standartlar	33
2.12.2. Dental Materyaller İçin Biyolojik Uyum Testleri	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Deney Örneklerinin Hazırlanması	38
3.1.2. Selektif Lazer Ergitme İşlemi	40
3.1.2. SLA Prosedürü	42
3.2. Örneklerin Yüzey Pürüzlülüklerinin Ölçümü	44
3.3. SEM ile Yüzey Değerlendirilmesi	46
3.4. Sterilizasyon	46
3.5. HGF-1 Hücrelerinin Ekimi ve Pasajlanması	47
3.6. MTT Canlılık Deneyi	52
3.7. Dil Boyama Deneyi	54
3.8. Verilerin Değerlendirilmesi	57
4. BULGULAR	58
4.1. Yüzey Pürüzlülüğü Ölçüm Bulguları	58
4.2. SEM Bulguları	59
4.3. MTT Sitotoksosite Deneyi Bulguları	64
4.3.1. 24. Saat Bulguları	64

4.3.2. 48. Saat Bulguları	66
4.3.3. 72. Saat Bulguları	68
4.4. Dil Boyama Deneyi ile Floresan Mikroskop Bulguları	70
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	84
KAYNAKLAR	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
µm	Mikrometre
AB/AE	Alümina Blasted/ Acid Etching
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Alüminyum oksit
AM	Additive Manufacturing
APP	Amerikan Periyodontoloji Akademisi
ASTM	American Society for Testing and Materials
CAD	Computer-aided desing
CaPO <sub>4</sub>	Kalsiyum fosfat
cm <sup>3</sup>	Santimetreküp
CNC	Computer Numerical Control
CNC	Computer Numerological Control
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
Co-Cr-Mo	Kobalt-Krom-Molibden
Cr <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Sodyum Dikromat
CVD	Kimyasal Buhar Biriktirme
dk	Dakika
DLMS	Direct laser metal sintering
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMF	Dimetil Formamid
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DTM	Desktop Manufacturing
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
ELI	Extra Low Interstitial
Er: YAG	Erbiyum:yttrium,-alüminyum-garnet
FBS	Fetal Bovine Serum
Fe-Cr-Ni	Demir-Krom-Nikel
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfirik asit
HA	Hidroksiapatit
HCl	Hidroklorik asit
HF	Hidroflorik asit

HGF-1	Human Gingival Fibroblast
HNO <sub>3</sub>	Nitrik asit
IBAD	İyon Demeti Destekli Biriktirme
ISO	International Organization for Standardization
KİT	Kemik-implant teması
mm	Milimetre
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-difeniltetrazolyum bromür
Nd: YAG	Neodymium:yttrium-alüminyum-garnet
nm	Nanometre
P/S	Penisilin/ Streptomisin
PBS	Phosphate-buffered saline
PE	Polietilen
PGLSS	Part Generation by Layerwise Selective Sintering
PMMA	Polimetil metakrilat
PSF	Polisülfon
PTFE	Polietrafloroetilen
PVD	Fiziksel Buhar Biriktirme
Ra	Roughness average
Rz	Ortalama Pürüz Yüksekliği
sa	Saat
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SEM	Scanning Electron Microscopy
SLA	Sand blasted, large grid, acid etching
SLM	Selective laser melting
SLS	Selective laser sintering
SPSS	Statistical Packages for the Social Sciences
TiO <sub>2</sub>	Titanyum dioksit
Ti-6Al-4V	Titanyum-Alüminyum-Vanadyum
TiN	Titanyum nitrit
TPS	Titanyum plazma sprey
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
W	Watt

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa	
2.1.	Kaplanmış bir malzemenin enine kesiti	19
2.2.	Yüzey Kaplama Yöntemlerinin Sınıflandırılması	20
2.3.	Lazer ışığı ve normal ışık arasındaki farklar	24
2.4.	Ra pürüzlülük değerinin diyagramı	29
2.5.	Rz pürüzlülük değerinin diyagramı ve formülü	30
2.6.	Taramalı elektron mikroskobu diyagramı	32
3.1.	CNC torna tezgahında hazırlanan örnekler	38
3.2.	Deney örnekleri. Sol üst, Grup 1; sol alt Grup 2; sağ üst Grup 3; sağ alt Grup 4	39
3.3.	LaserCUSING cihazı	40
3.4.	LaserCUSING cihazına yerleştirilmiş paslanmaz çelik tabla	41
3.5.	Selektif lazer ergitme işlemi sonrası örnekler	42
3.6.	Wattson ultrasonik yıkama cihazı	43
3.7.	Asitleme ve nötralizasyon işlemlerinin yapıldığı cihazlar (Wattson Yıkama Sistemleri, Türkiye)	44
3.8.	Mahr profilometre cihazı	45
3.9.	Örnek yüzeyinde pürüzlülük ölçümü	45
3.10.	Biosan ultraviyole sterilizasyon kabini	46
3.11.	PBS tampon içindeki steril örnekler	47
3.12.	Memmert su banyosu	47
3.13.	Laminar akış kabini	48
3.14.	DMEM solüsyonu içerisindeki HGF-1 hücreleri	48
3.15.	Nicon TS100 ışık mikroskobu	49
3.16.	Yüzeye tutunmuş hücrelere 15 ml DMEM eklenmesi	49
3.17.	HGF-1 hücrelerinin 0., 3., 5., 7. günlerde, ışık mikroskobu altındaki görüntüleri	50
3.18.	Sanyo MCO-18 model inkübatör	51
3.19.	Hettich Rotina 35R santrifüj cihazı	51
3.20.	MTT tepkimesinin esası	52
3.21.	24 kuyucuklu plakalara hücre ekimi	53

3.22.	ELISA plaka okuyucu	54
2.23.	Dil boyasının kimyasal yapısı	55
3.24.	Eksitasyon-emisyon eğrisi	55
3.25.	Zeiss Examiner A1 floresan mikroskobu	56
3.26.	6'lık plakalara konulan örneklerin floresan mikroskopunda incelenmesi	57
4.1.	Kontrol grubunun 200 kat büyütmedeki SEM görüntüsü	60
4.2.	Kontrol grubunun 500 kat büyütmedeki SEM görüntüsü	60
4.3.	İkinci grup yüzeyin 200 kat büyütmedeki SEM görüntüsü	61
4.4.	İkinci grup yüzeyin 500 kat büyütmedeki SEM görüntüsü	61
4.5.	Üçüncü grup yüzeyin 200 kat büyütmedeki SEM görüntüsü	62
4.6.	Üçüncü grup yüzeyin 500 kat büyütmedeki SEM görüntüsü	62
4.7.	Dördüncü grup yüzeyin 200 kat büyütmedeki görüntüsü	63
4.8.	Dördüncü grup yüzeyin 500 kat büyütmedeki görüntüsü	64
4.9.	HGF-1 MTT sonuçları (24. saat)	65
4.10.	HGF-1 MTT sonuçları (48. saat)	67
4.11.	HGF-1 MTT sonuçları (72. saat)	69
4.12.	HGF-1'lerin floresan mikroskop altındaki görüntüsü (Grup 1, kontrol)	71
4.13.	HGF-1'lerin floresan mikroskop altındaki görüntüsü (Grup 2, SLA)	71
4.14.	HGF-1'lerin floresan mikroskop altındaki görüntüsü (Grup 3, Lazer)	72
4.15.	HGF-1'lerin floresan mikroskop altındaki görüntüsü (Grup 4, Lazer+SLA)	72
4.16.	HGF-1 hücresi (kırmızı), hücre çekirdeği (siyah iç kısım)	73

## TABLOLAR

Tablo		Sayfa
2.1.	İmplantların Kümülatif Başarı Oranları	8
2.2.	Titanyum Grade 5 ve Grade 23 (ELI)' nin içeriğindeki element oranları	10
3.1.	Deney örneklerinin gruplandırılması	39
4.1.	Deney örneklerine ait pürüzlülük değerleri ( $\mu\text{m}$ )	58
4.2.	Yüzey pürüzlülüğüne ait istatistiksel veriler	59
4.3.	HGF-1 adezyon deneyi bulguları (24. Saat)	65
4.4.	Gruplara ait istatistiksel veriler (24. saat)	66
4.5.	HGF-1 adezyon deneyi bulguları (48. saat)	66
4.6.	Gruplara ait istatistiksel veriler (48. saat)	67
4.7.	HGF-1 proliferasyonu açısından gruplar arası farklılığın istatistiksel karşılaştırılması (48. saat)	68
4.8.	HGF-1 adezyon deneyi bulguları (72. saat)	68
4.9.	Gruplara ait istatistiksel veriler (72. saat)	69
4.10.	HGF-1 proliferasyonu açısından gruplar arası farklılığın istatistiksel karşılaştırılması (72. saat)	70

## 1. GİRİŞ

Diş hekimliğinin amacı, sonuçları öngörülebilir yöntemlerle normal fonksiyon, estetik, konuşma ve sağlığın yeniden kazandırılmasıdır. Bu amaca ulaşmak için yapılan geleneksel tedavi yöntemlerine alternatif olarak uygulanan implant tedavisi yaygınlaşmaktadır (1-3).

İmplantların klinik kullanımının başlamasıyla birlikte diş hekimliğinde son yıllarda büyük gelişmeler kaydedilmiştir (4). Geliştirilen implant materyalleri, dizaynları ve farklı yöntemlerin kullanımı, implant başarısını artırmaktadır. Titanyum ve alaşımları; yüksek korozyon direnci, biyouyumluluğu, düşük densitesi ve uygun mekanik özelliklerinden dolayı dental implant tedavisinde en çok tercih edilen materyallerin başında gelmiştir (5). İmplant stabilitesini ve kemikle temasta olan yüzey alanını arttırmak için titanyum metalinin tornalanması sonrasında, pürüzlülüğü sağlamak amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (6-8). Carlson ve arkadaşları, implantasyondan 6 hafta sonra çıkarma torkunun pürüzlü yüzeyli implantlarda, parlak yüzeylilere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (9). Yüzey modifikasyonunu içeren birçok derlemede hem yüzey kaplamalarının hem de pürüzlendirilmiş yüzeylerin, implant-konak cevabına olumlu etkisi olduğu bildirilmiştir (10-14).

İmplant gibi biyomateryallerin kaplanması sonucunda yüzeydeki biyoreaksiyonların, aşınma ve korozyon gibi davranışların belirgin şekilde değiştirilebildiği, birçok araştırma ile ortaya konmuştur. Genel olarak baktığımızda yüzey kaplama teknolojileri; aşınma, çizilme, sürtünmeyi azaltma, korozyondan koruma, estetik görünüm kazandırma, optik, termal veya elektriksel özellikler gibi fonksiyonel özellikleri geliştirme, biyouyumluluk sağlama ve antibakteriyel etki gibi yeni özellikler kazandırma amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (15-16).

İmplant yüzey işlemleri sıklıkla, titanyum veya titanyum alaşımlarının tornalanmasından sonra yapılırsa da, yüzey alanının artırılması, bir üretim yöntemi olan lazer metal sinterleme yöntemiyle de gerçekleştirilebilir (17). Bu yöntemde, bilgisayar ortamında tasarlanan implant gövdesi, yüksek güçteki lazer ışınının metal toz yatağını ince tabakalar halinde birleştirmesiyle



meydana gelir. Son tabaka da yığıldığında, yüzey pürüzlü bir haldedir (18-19). Bu sebeple yöntem, implant-kemik temasını artıran bir yüzey kaplama işlemi olarak da düşünülebilir.

Lazer sinterleme işlemi, 3 boyutlu üretim (additive manufacturing-AM) teknolojisidir ve istenilen geometride doğrudan üretim yapar. Bilgisayar destekli tasarımla oluşturulan yapı, prototip makinesinde katmanlar halinde inşa edilir. Metal toz yatağına odaklanan yüksek güçteki lazer ışını, metal tozlarını eriterek ince bir katman haline getirir. Bu şekilde oluşan katmanlar, tasarlanan nesneyi meydana getirir. Metaller için 3 boyutlu üretim yöntemleri ikiye ayrılır. Bunlar Selektif Lazer Sinterleme (SLS) ve Selektif Lazer Ergitme (SLM) yöntemleridir. SLS teknolojisinde metal partikülleri kısmen eritilirken, SLM teknolojisinde tamamen eritilir (13,18). SLS yönteminde SLM yöntemine göre daha poröz bir yapı oluşmaktadır (20).

Biyometeryal yüzeyinde yapılan morfolojik değişiklikler doku ve hücrelerin implanta olan cevabında etkilidir. Araştırmalar, implant yüzey özelliklerinin, kemiğin ve gingival dokuların iyileşme cevabı üzerinde rol oynadığını göstermektedir (21).

Çalışmamızın amacı, titanyum-6-alüminyum-4-vanadyum (Ti-6Al-4V) alaşımı olan Grade 5 tornalamış titanium materyal yüzeyinin, SLM yöntemi kullanılarak Grade 23 titanyum alaşımı ile kaplanması sonrası oluşan pürüzlü yüzeyde, HGF-1 hücre proliferasyonunun incelenmesidir. Çalışmanın sonucunda SLM işlemi ile kaplanan örneklerde biyomekanik olarak sağlam iç yapı ve daha biyouyumlu dış yapı ile literatüre yeni bir yüzey işleminin kazandırılması hedeflenmektedir. Bu işlemle aynı zamanda, farklı bir yüzey pürüzlülüğünün oluşturularak HGF-1 hücre proliferasyonunun artırılması hedeflenmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İmplant Nedir?

İmplant sözcük kökeni olarak Latince bitki ekmek anlamına gelen "implantare" fiilinden gelmektedir. Sözlük anlamı olarak implantasyon, herhangi bir alloplastik maddenin veya dokunun, kısmen ya da tamamen, terapötik, diagnostik, protetik ya da deneysel amaçlarla vücuda yerleştirilmesidir.

Dental implantlar; travma, çürük, endodontik veya periodontal patolojiler sebebi ile çekim endikasyonu bulunan ve kaybedilen dişlerin telafisi amacı ile cerrahi operasyonla çene kemiklerine yerleştirilen, genellikle kök veya vida formunda, çoğunlukla titanyum ve alaşımlarından üretilen malzemelerdir.

İmplantlar ayrıca, kraniofasiyal iskeletin rekonstrüksiyonunda, ortodontik tedavide ankraj olarak ve hatta distraksiyon osteogenezi sürecinde yeni kemik oluşumuna yardım amacıyla kullanılmaktadır (4).

### 2.2. Dental İmplantolojinin Tarihçesi

İmplant diş hekimliği, diş hekimliğindeki en eski ikinci disiplindir; kökeni Mısırlılara, Çinlilere, Yunanlılara dayanır. 4000 yıl önce Çinliler, sabit protez yapımı için kök biçimli bambuları çene kemiğine yerleştirmişlerdir. 2000 yıl önce Mısırlılar benzer biçimli, değerli metallere yaptıkları tasarımları kullanmışlardır. Yine aynı şekilde Hz. İsa döneminde ve MS 600 dönemine ait olduğu gösterilen çene kemiklerinde, kök şekilli metaller ve deniz kabukları bulunmuştur (22).

Albucasis de Condue (936-1013) tarafından kayıp dişin yerine implante edilen öküz kemiği, tarihte ilk belgelenen implant tedavisidir. Sonraki yüzyıllarda birçok insan ve hayvan dişi, çekilen dişlerin telafisi için kullanılmıştır.

Maggiolo, 1809'da yeni çekilmiş diş soketine yerleştirdiği altın implantın üzerine, iyileşmeyi takiben yaptığı kron ile implant tanımına uygun ilk teorileri ortaya çıkarmıştır.

1905'te School kök biçimli porselenleri implante etmiştir. 2 yıl boyunca idame eden implant, daha sonra komşu dişlere dolgu materyalleri kullanılarak bağlanmıştır.

1913'te Greenfield 24 ayar iridium-platin alaşımından, tek diş rekonstrüksiyonu için ağ şeklinde bir yapı tasarlamış ve kemiğe yerleştirerek tutunmasını araştırmıştır (23).

1938'de Strock tarafından kobalt-krom-molibden alaşımından, üst lateral diş eksikliğinin giderilmesi amacı ile yapılan kök biçimli implant 15 yıl sonra dahi işlev görmeye devam etmiştir.

Titanyum ile kemik bağlantı ara yüzeyi ilk olarak Bothe ve arkadaşları tarafından 1940 yılında "*kemik kaynaması*" olarak tanımlanmıştır. Daha sonra Strock, istenen kemik-implant temasını "*ankylosis*" olarak adlandırmıştır (22).

1952'de Branemark, saf titanyumdan yapılmış pürüzlü implant tasarımını geliştirmiş (23) ve mikroskopik düzeyde araştırmalara başlamıştır. Köpekler üzerinde yaptığı çalışmaların on yıllık takipleri sonrasında insanlarda dental uygulamaların yolu açılmıştır. 1965'te başlayan uygulamaları, on yıllık takipleri yapıldıktan sonra 1977'de yayınlanmıştır (24). Kemik-implant temas yüzeyine de yeni bir terim getirerek "*osseointegrasyon*" kavramını ortaya çıkarmıştır ve "*ışık mikroskobu büyütmesi düzeyinde, yaşayan kemiğin implant yüzeyi ile doğrudan teması*" olarak tanımlamıştır (25,26).

### **2.3. Osseointegrasyon**

Bugün osseointegrasyon terimi, kemik-implant temasını anlatan kavramlardan arasında en yaygın kullanılan terim haline gelmiştir ve mikroskobik bir durumun yanısıra klinik bir durum olan "*rijit fiksasyonu*" da anlatmaktadır (22).

Albrektsson ve arkadaşarı, osseointegrasyonu daha sonra "*ışık mikroskobunda canlı kemikle implant arasındaki direkt temas*" olarak tanımlamıştır (27).

Histolojik tanımlamaların klinik uygulamadaki sınırlılıkları nedeniyle Zarb ve Albrektsson tarafından klinik bir yaklaşım da eklenerek “fonksiyonel yükleme sırasında klinik olarak asemptomatik olan ve yük taşıyan bir implant ve kemik arasında rijit bir bağlantı bulunması” olarak geliştirilmiştir.

Dorland Resimli Sözlüğü'ne göre osseoentegrasyon; implant-kemik arayüzünde fibröz doku oluşmaksızın implantın direkt olarak kemikle kaynaşmasıdır. Bu ve daha önce önerilen tanımlamaları temel alarak Branemark, osseoentegrasyon tanımlamasını yeniden düzenlemiştir (28).

**a. Makro ve mikroskobik biyoloji ve tıbbi açıdan osseoentegrasyon:**

İmplantla uyumlu bir şekilde, yani implantın girinti ve çıkıntılarını da dolduracak biçimde yeni ve yeniden şekillenen kemik dokusunun implant yüzeyiyle temasta olmasıdır. Işık mikroskobunda kemikle implant arasında bağ dokusunun olmaması ile karakterizedir. Direkt yapısal ve fonksiyonel bağlantıyla aşırı deformasyon göstermeden normal fizyolojik yükleri taşıyabilen, konakta rejeksiyon mekanizması geliştirmeyen implantlar osseoentegre olmuştur.

**b. Makroskobik biyomekanik açıdan osseoentegrasyon:**

İmplant ve implantı çevreleyen canlı kemik dokusu arasında fonksiyonel yükler nedeniyle hareket olmaması ve hastanın hayatı boyunca implantın belli bir şiddetteki yüklere karşılık aynı oranda deformasyon göstermesi o implantın osseoentegre olduğunu gösterir.

**c. Mikroskobik biyofiziksel bakış açısından osseoentegrasyon:**

Işık ve elektron mikroskobunda incelenen implant yüzeyinde normal kemik ve kemik iliğinin gözlenmesi ve bunun zamanla implantı çevreleyen normal kemik yapısına dönüşmesi osseoentegrasyondur. Mineralize doku nano düzeyde implant yüzeyiyle direkt temas oluşturur ve arada bu bütünlüğü bozacak herhangi bir yapı bulunmaz.

Son on yılda biyomateryallerin çok hızlı gelişmesi hastaların ve hekimlerin beklentilerinin artmasına neden olmuştur. Günümüzde yapılacak olan implantın osseoentegrasyonundan ve fonksiyon görmesinden neredeyse şüphe duyulmamaktadır. Çok sayıdaki klinik çalışmalarla implant destekli protezlerin uzun süreler idame edebilecekleri gösterilmiştir (29-35).

#### **2.4. Dental İmplant Başarı Kriterleri**

Bir implantın uzun dönem başarısı, kemik içindeki primer stabilitesine (36,37) ve çevresindeki yumuşak doku bariyerinin devamlılığına (38,39) bağlıdır.

Primer stabilite, Branemark (26) tarafından tanımlanan osseoentegrasyon miktarına, yani canlı kemik ve implant yüzeyi arasındaki yapısal ve fonksiyonel direkt temasa bağlıdır. Bu direkt temasın bozulması, implant tedavilerinde başarısızlıklara neden olur.

Doğru endikasyonda, cerrahi ve protetik kısa dönem başarısının neredeyse yüzde yüz olarak görülmesi, implant uygulamalarına olan güveni arttırmakta ve diş eksikliğinin rehabilitasyonunda implant tedavisinin, altın standart olarak görülmesini sağlamaktadır.

Oral implantolojide kullanılan cerrahi ve protetik tekniklerin yanısıra implantların makro yapı ve mikro yüzey özellikleri geliştirilmekte; hastalara ağrısız, günlük yaşantılarını etkilemeden cerrahi işlemlerin yapılması; implant yerleşimini takiben en kısa sürede protezlerini kullanırmak amaçlanmaktadır. Bunun yanısıra yerleştirilen implantların çevresinde hem sert hem de yumuşak dokunun yapılan protetik restorasyonla biyolojik uyum içinde olması, kullanım süresi boyunca minimum değişim göstermesi veya hiç değişim göstermemesi hedeflenmektedir. Ayrıca implantların ömür boyu fonksiyon görmeleri de hekim ve hastaların en önemli beklentisidir. Sonuç olarak yeni bir implant sistemi piyasaya sürülmeden önce başarısının ölçülebilmesi gereklidir. Schnitman ve Schulman (40) ile başlayan başarı kriterleri arayışları Smith ve Zarb (41)'in çalışmalarıyla geliştirilmiştir. En sık kullanılanı ise Albrektsson ve Zarb'ın öngördüğü başarı kriterleridir (42). Bunlar;

1. İmplant, ağızda herhangi bir diş veya implanta bağlı olmaksızın klinik olarak test edildiğinde mobilite göstermemelidir.
2. İmplant, çiğneme kuvvetlerine maruz kaldığı ilk yıldan sonra vertikal kemik kaybı 0,2 mm 'yi geçmemelidir.
3. Fonksiyon sırasında implantta ağrı, enfeksiyon, parestezi, nöropati gibi belirti ve semptomlar olmamalıdır.
4. İmplant destekli protezler 5 yıl sonunda en az %85; 10 yıl sonunda en az %80 oranında yukarıdaki kriterleri sağlamalıdır.

Albrektsson ve Zarb'ın kriterleri, Amerikan Periyodontoloji Akademisi (APP) tarafından 2000 yılında geliştirilmiştir (43). Bu başarı kriterleri;

1. Ağrı, enfeksiyon, nöropati, parestezi veya hayati yapıların ihlali gibi belirti/ bulgu olmamalıdır.
2. İmplant immobile olmalıdır.
3. İlerleyen peri-implant radyolusensi olmamalıdır.
4. İlk bir yıllık fonksiyon ve fizyolojik remodelasyonu takiben göz ardı edilebilir kemik kaybı (yıllık 0,2 mm'den az) olmalıdır.
5. İmplant destekli restorasyon hasta ve hekimi memnun etmelidir.

## 2.5. İmplantların Kümülatif Başarı Oranları

İmplantların kümülatif başarı oranları genellikle yıl bazında sınıflandırılmaktadır. Buna göre 5 yıldan az (kısa dönem), 5-10 yıl (orta dönem) ve 10 yıldan uzun (uzun dönem) değerlendirmeler olarak ayrılmaktadır (41). İmplantların kümülatif başarı oranlarını etkileyen faktörler şunlardır:

1. İmplantın alt veya üst çenede olması
2. Dental arktaki konumu
3. İmplant çeşidi, çapı ve uzunluğu
4. Protetik restorasyon çeşidi
5. Tek veya tam dişsizlik durumlarında kullanımlarıdır (44).

İmplantların kümülatif başarı oranları fonksiyonda olma sürelerine, buldukları çeneye ve tek ya da tam dişsizlik durumlarında kullanımlarına göre Tablo 2-1'de gösterilmektedir (44-53).

**Tablo 2.1.** İmplantların Kümülatif Başarı Oranları

	GENEL	MANDİBULA	MAKSİLLA	TEK DİŞ EKSİKLİĞİ	TAM DİŞSİZLİK
≤5 YIL	%95,4	%98,2	%97,3	%98,3	%93,9
5-10 YIL	%92,2	%93	%88	%97,4	%88,3
>10 YIL	%87	%91	%81	%89	--

## 2.6. Dental İmplantların Sınıflandırılması

### 2.6.1. Kullanılan Materyal Tipine Göre

Lemons (54) tarafından yapılan bir derleme anlatıldığı üzere dental implantlar için temelde 3 tip sentetik biyomateryal mevcuttur:

- a) Metal ve alaşımları  
 Titanyum ve titanyum-alüminyum-vanadyum (Ti-6Al-4V)  
 Kobalt-krom-molibden (Co-Cr-Mo)  
 Demir-krom-nikel (Fe-Cr-Ni)
- b) Seramikler ve Karbonlar  
 Alüminyum oksit  
 Kalsiyum fosfat hidroksiapatit  
 Kalsiyum fosfat trikalsiyum fosfat  
 Karbon ve karbon silikon

- c) Polimerler
  - Polimetilmetakrilat (PMMA)
  - Polietrafloroetilen (PTFE)
  - Polietilen (PE)
  - Polisülfon (PSF)

Biomateryallerin sınıflandırılması sıklıkla materyal özelliklerine, doku reaksiyonlarına ya da cerrahi uygulamalardaki önceliklerine göre yapılır. Örneğin; materyal özelliklerine göre sınıflandırıldıklarında, elastisite modülüne ve çekme dayanımı dikkate alınır. Titanyum ve Ti-6Al-4V alaşımı kemik içi implantlar için tercih edilmektedir (54).

Ticari saf titanyum ve Ti-6Al-4V (Grade 5 titanyum) biyomateryaller içinde en sık tercih edilenidir. Bunun en önemli nedeni biyoyumlu olmasıdır. Bunun yanısıra havayla ya da doku sıvılarıyla temas ettiğinde yüzeyi oksitlenir ve bu durum titanyum ve alaşımının korozyona uğramasını engeller. Titanyumun düşük özkütleye sahip olması ise diğer metallerle alaşımlanabilmesini kolaylaştırmaktadır. Ti-6Al-4V alaşımındaki alüminyum, dayanıklılığı artırıp ağırlığı azaltırken, vanadyum ise alüminyumun yaratabileceği korozyonu engellemektedir (54).

Titanyum Grade 23 ya da diğer adıyla Ti-6Al-4V ELI (extra low interstitial), Grade 5 titanyumun daha düşük oksijen, demir ve nikel konsantrasyonuna sahip, daha yüksek saflıkta ve biyoyumlulukta olan formudur. Aynı zamanda yüksek kırılma dayanımı ve yorulma direnci gibi mekanik özelliklerinden dolayı medikal alanda daha çok tercih edilir hale gelmektedir (55). Tablo 2.2'de Grade 5 ve Grade 23 titanyumun içeriğindeki element yüzdeleri gösterilmektedir.

Titanyumun galvanik etkilere sahip olmaması, elastisite modülünün kemiğe yakın olması diş hekimliği açısından tercih edilirliliğini artırmaktadır (56,57).



**Tablo 2.2.** Titanyum Grade 5 ve Grade 23 (ELI)' nin içeriğindeki element oranları

Element	Grade 5	Grade 23
C	< %0,08	< %0,08
Fe	< %0,40	< %0,25
N	< %0,05	< %0,03
O	< %0,20	< %0,13
Al	% 5,5-6,75	% 5,5-6,5
V	% 3,5-4,5	% 3,5-4,5
H	< %0,015	< %0,015
H <sub>2</sub>	< %0,010	< %0,010
Ti	Kalan	Kalan

### 2.6.2. Yerleştirildikleri Yere Göre (22)

- Endoosseöz (Kemikiçi) implantlar
- Endodontik implantlar
- İntramukozal implantlar
- Subperiosteal implantlar
- Transosseöz (Transmandibular) implantlar

### 2.6.3. Gövde Tasarımlarına Göre (22)

- Silindirik implantlar
- Vida tipi implantlar
- Sıkıştırılarak yerleştirilen implantlar
- Bu özelliklerin kombinasyonlarını içeren implantlar

### 2.6.4. Yüzey Özelliklerine Göre İmplantların Sınıflandırılması (22)

- İşlenmemiş yüzeyli implantlar
- İşlenmiş yüzeyli implantlar

- Parlatılmış yüzeyli implantlar
  - Kumlanarak pürüzlendirilmiş implantlar
  - Asitle pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar
  - Kumlanmış ve asitle pürüzlendirilmiş (SLA) yüzeyli implantlar
  - Lazerle pürüzlendirilmiş yüzeyli implantlar
  - Pöröz yüzeyli implantlar
- c) Kaplanmış yüzeyli implantlar
- Titanyum plazma sprej (TPS) kaplı implantlar
  - Seramik kaplı implantlar
  - TiN (Titanyum Nitrit) kaplı implantlar
  - HA (Hidroksi Apatit) kaplı implantlar
  - CaPO<sub>4</sub> kaplı implantlar
- d) Kombine implantlar

## 2.7. Dental İmplant Tasarımı

Uygun implant tasarımı; normalin üstünde okluzal yüklerin, düşük kemik yoğunluğunun, daha az sayıda implant ya da ideal konumundan farklı bir bölgeye yerleştirilmesinin veya idealden daha küçük boyutlarda yerleştirilen implantların oluşturacağı riskleri dengeleyebilir (58).

Farklı implant gövde tasarımları için farklı implant ağızda kalma oranları ve yükleme sonrası farklı marjinal kemik kayıp oranları bildirilmiştir. Zechner ve ark, 3-7 yıllık periyotta, fonksiyonel olarak yüklenmiş, tornalanmış yüzeyli V-biçimli yivli implantlar ile kumlanmış, asitle pürüzlendirilmiş, kare yivli tasarımlı vida tipi implantlarda peri-implant kemiği değerlendirmişlerdir (59). V biçimli yivli, tornalanmış implantların 22'sinde 4 mm'den daha fazla kemik kaybı gözlenirken kare biçimli pürüzlü yüzeyli implantlarda bu sayı 3'tür. 16 kaba yüzeyli implantta 1 mm'den daha az kemik kaybına karşılık tornalanmış yüzeylilerde bu sayı sadece 2' dir. Bu çalışma, implant tasarımı ve yüzey koşullarının, kemik kaybı miktar aralığı ve kemik kaybı insidansında etkili olduğunu göstermektedir.

3 yıllık bir klinik çalışmada ITI Straumann implantları ve Nobel Biocare Branemark implantları arasında, yükleme sonrası ITI Straumann implantları

daha fazla kemik kaybı gösterecek şekilde farklı marjinal kemik kaybı oranları bildirilmiştir (60).

Kuvvetleri kemiğe uygun biçimde dağıtabilecek tasarıma sahip bir implant sayesinde osseoentegrasyon sağlanabilir veya mevcut osseoentegrasyonun yıkımı engellenebilir. Kuvvet dağılımı düzensiz bir şekilde yayıldığında, implantın sivri köşelerinde ve kenar kısımlarında yoğunlaşarak kemik rezorbsiyonuna yol açar. Yani implantın dizaynı ve osseoentegrasyon birbirini etkiler ve fonksiyon süresince bu etkileşim nedeniyle implantın dizaynına bağlı olarak osseoentegrasyon ya güçlenerek devam eder ya da gittikçe bozularak yıkıma uğrar (22).

Bir implant tasarımının makroskopik bir gövde tasarımı ve mikroskopik bir bileşeni vardır. Her iki bileşen birbirinden bağımsız olmakla birlikte klinik etkiler yönünden önemlidir. Makroskopik özellikler en fazla erken yükleme matür yükleme dönemlerinde etkiliyken, mikroskopik özellikler ise başlangıç implant iyileşmesi ve ilk yükleme dönemlerinde etkilidir (22).

Bir implantın yüzey koşulları, kemik-implant temasını (KİT) ve başlangıç iyileşme döneminde kemik-implant arayüzündeki adezyonun kalitesini artırabilir (61). Watzek ve arkadaşları (62), babunlarda vida biçimli ve silindirik implantları 18 ay yükleme sonrası histolojik olarak incelemiştir. Hem üst çenede hem de alt çenede KİT'te vida tipi implantlarda daha yüksek olmak üzere fark gözlemlemiştir. Bunun yanısıra silindirik implantların çevresindeki trabeküler kemik daha düzensizken, vida tipi implantlarda kemiğin yivlere daha dik şekilde organize olduğunu bulmuşlardır. Sonuç olarak, yivli implantların daha yüksek bir destek sistemi sağladığı gösterilmiştir.

Yiv biçimi, yüzey kaplamasından bağımsızdır. Yivli bir yüzeye (makroskopik özellik) pürüzlendirme (mikroskopik özellik) gibi bir yüzey işlemi yapılarak osseoentegrasyon geliştirilebilir.

Mikroskopik özelliği pürüzlendirme ile geliştirilen implantlarda yüzey alanı arttığı için implant çevresindeki kemikte yoğunlaşan stres belirgin ölçüde azalır. İmplantın mikromekanik tutuculuğu, dolayısıyla primer

stabilizasyonu ve rotasyona karşı direnci artar. Böylece yalnızca yüzey yapısını değiştirerek implanta daha üstün özellikler kazandırılır (63).

Pürüzlülük 100  $\mu\text{m}$ 'den büyükse makropörözite, 100  $\mu\text{m}$  ile  $10^{-3}$   $\mu\text{m}$  arasındaysa mikropörözite oluşturulmuş olunur.

Mikropürüzlülük sadece mekanik kilitleme ile açıklanamayacak şekilde implantın kemiğe tutuculuğunu artırır, hücresel fonksiyonları etkileyerek matris deposizyonu ve mineralizasyonunu indükler. Yani hücreler yüzeyin mikro yapısına hassastır ve bu yapıyı oryantasyon ve migrasyon için kullanırlar. Ayrıca mikrotopografi, mezenşim hücrelerinin fibroblast, kondroblast veya osteoblastlara diferansiye olmalarında rol oynar. Bu pürüzlülüğün ideal ölçüsü her ne kadar kemiğin kalitesi ve implanta gelen yüke göre farklılık gösterse de yaklaşık 1-2  $\mu\text{m}$  olarak saptanmıştır. Bu da 25-75  $\mu\text{m}$  arasındaki alüminyum oksit partikülleri tarafından oluşturulur. Daha büyük partiküller daha fazla pürüzlülük yaratmasına rağmen, kemik cevabını olumlu yönde etkilemez, KİT'i arttırmaz (63).

## 2.8. Dental İmplant Yüzey Özellikleri

İmplant kemik içine yerleştiğinde bir seri reaksiyon başlar. İmplant farklı iyon, polisakkaritler, karbonhidratlar ve proteinlere maruz kalır. Bunun yanısıra fibroblast ve osteoblast gibi bir dizi hücre de implant yüzeyi ile temasa geçer.

Bu doku bileşimi ile implant yüzeyi arasındaki ilk reaksiyonlar sonraki reaksiyonlara yol göstererek yüzeyin biyolojik aktivitesini ve gelecekteki hücre cevabını belirler. Hücre cevabı, implantın yüzey yapısı ve kimyasal özelliklerine sıkı sıkıya bağlıdır. Bu yüzey özellikleri daha sonra implant yüzeyine adsorbe olacak ve yüzeydeki hücre cevabını büyük ölçüde etkileyecek olan protein filminin kompozisyonunu etkileyecektir.

Her reaksiyon bir sonrakini etkilemektedir. Bu reaksiyon zincirleri arasında osteoblastlara ve kalsiyum-fosfat odaklaşmalarına olanak tanıyacak yüzeyler elde etmek ve implant çevresinde kemik yapımını stimüle etmek olmalıdır. İmplantın yüzey özelliği, osseoentegrasyondan çok retansiyon, stabilite ve stress dağıtımı gibi özellikleri de karşılamalıdır (64).

## 2.9. Dental İmplant Yüzeyleri

### 2.9.1. Tornalanmış Yüzeyler

Tornalanmış yüzeyler, tornalama işleminden sonra sadece bir dekontaminasyon işleminden geçirilirler. Bu yüzeylere önceleri “*pürüzsüz yüzey*” adı da verilirdi; ancak yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda, tornalama sırasında oluşan oluklar ve çatlaklardan dolayı hafif bir pürüzlülüğün varlığı ortaya çıkarılmıştır. İmplantın stabilitesini ve yüzey alanını artırmak için yüzey özelliklerinin tornalanmıştan pürüzlendirilmişe dönüştürülmesi için çeşitli modifikasyonlar önerilmiştir (6-8).

### 2.9.2. Kumlanmış Yüzeyler

Kumlama işlemi, implant yüzey alanını artırmak amacıyla, alüminyum oksit ( $Al_2O_3$ ) veya titanyum oksit ( $TiO_2$ ) gibi ajanlar kullanılarak yapılır (65).

Tornalanmış ve  $Al_2O_3$  ile kumlanmış titanyum yüzeylerinin KİT'lerini karşılaştıran çalışmalarda kumlanmış yüzeylerin tornalanmış yüzeylere göre daha yüksek KİT değerleri verdiği bildirilmiştir (66,67).

Kumlama işlemi implant yüzeyinde kalıntılar bıraktığından, bazı yazarlar kalan  $Al_2O_3$  partiküllerinin katalizör işlevi görerek osseointegrasyonu artıracağına (68), bazıları ise kemik oluşumunu bozacağına inanmaktadır (69-72). Buna dayanarak yapılan çalışmanın histolojik sonucunda yüzeyde kalan  $Al_2O_3$  partiküllerinin osseointegrasyonu etkileyeceğini destekler kanıt bulunamamıştır (73).

$Al_2O_3$  yerine, titanyum yüzeyinde oluşan oksit tabakasının bir bileşeni olan  $TiO_2$  parçacıkları ile kumlama önerilmiştir. Yapılan bir çalışmada aynı büyüklükteki  $Al_2O_3$  ile  $TiO_2$  partikülleriyle kumlanan implant yüzeylerinin yerleştirildikten 12 hafta sonraki çıkarma tork değerleri arasında fark bulunmamıştır (74).

### 2.9.3. Asitle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler

Kumlama işleminin yarattığı yüzey artıklarının önüne geçmek ve yüzeyin uniform olmayan biçim almasından kaçınmak için titanyum gövdeye asitle pürüzlendirme işlemi önerilmiştir.

Tornalanmış ve asitle pürüzlendirilmiş (HCl ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) implant yüzeylerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda, pürüzlendirilmiş yüzeyli implantların 4 kat daha fazla çıkarma tork değerleri ve daha yüksek değerlerde KİT bulunmuştur (75,76).

### 2.9.4. Kumlanmış ve Asitle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler

1990'larda kumlama (makro dokulu yüzey eldesi için ) ve sonrasında asitle pürüzlendirme (mikro dokulu yüzey eldesi için) ile yapılan yüzeyler gelecek vadeden sonuçlar vermiştir (77).

Kumlanmış ve asitle pürüzlendirilmiş yüzeylerin ve sadece asitle pürüzlendirilmiş yüzeylerin karşılaştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Implant yerleşiminden 3 ay sonra, çıkarma tork değerleri kumlanmış ve asitle pürüzlendirilmiş grupta, sadece asitle pürüzlendirilmiş oranla %75-%125 daha fazla bulunmuştur (78).

Abrahamsson ve arkadaşlarının (79) yaptığı başka bir çalışmada ise kumlanmış ve asitle pürüzlendirilmiş yüzeylerle tornalanmış yüzeyler üzerindeki kemik oluşumu karşılaştırılmıştır. Buna göre, tornalanmış yüzeylerde belirgin oranda daha az KİT gözlenmiştir.

### Sandblasted, Large Grid, Acid-Etched (SLA) İmplantlar

SLA implant yüzeyleri, kumlanmış ve asitlenmiş titanyum yüzeyleri olarak 1997'de Straumann tarafından piyasaya sürülmüştür (80). Büyük kum tanelerinin implant yüzeyine püskürtülmesi ile makropürüzlülük, ardından asidin uygulanması ile 2-4 µm boyutunda mikropürüzlülük elde edilir. Bu yüzey tipi orta dereceli pürüzlü yüzeydir ve pürüzlülük derecesi tüm yüzeyde aynıdır.

Martin ve arkadaşları (80), osteoblast benzeri hücrelerde alkalin fosfataz aktivitesinin TPS yüzeylere göre SLA yüzeylerde daha fazla

olduğunu göstermişlerdir.

Li ve arkadaşları (81), SLA yüzeylerle, asit uygulanmış torna yüzeylerin biyomekanik olarak osseointegrasyonunu karşılaştırmışlar ve SLA yüzeylerin tork direncini daha yüksek bulmuşlardır.

Buser ve arkadaşları (82), farklı implant yüzeylerinde kemik-implant temasını histolojik olarak incelemişler ve Electropolished, Medium-grid kumlanmış-asitlenmiş, TPS, Large-grid kumlanmış, HA kaplama, SLA yüzeyler kıyaslandığında, HA kaplamadan sonra en çok kemik-implant temasının SLA yüzeylerde olduğunu bulmuşlardır.

### **SActive İmplantlar**

2005 yılında üretilen SActive implatlar, SLA implant yüzeyine hidrofilik özellik kazandırılmasıyla elde edilmiştir. Yerleştirilene kadar salin solüsyonu içeren ambalajında saklanması gerekir. İmplant yüzeyi, hidrofilik özelliği sayesinde doku içine yerleştirilince, kanı, üzerindeki mikroporlara çeker.

Hidrofilik yüzeye sahip bu implantlarla, implant başarısının artmasının yanısıra, tedavide toplam bekleme süresi de 3 haftaya inmiştir (83).

### **2.9.5. Anodize Yüzeyler**

Anodize yüzeyler, bir elektrolit ( $H_2SO_4$ ,  $HNO_3$ ,  $H_3PO_4$ , HF gibi güçlü asitler) içine batırılan titanyuma voltaj uygulanarak hazırlanır. Amaç, oksit tabakasının özelliklerinin değiştirmek ve biyoyumluluğu artırmaktır (84). Sonuçta elde edilen yüzeyde mikroporlar vardır ve sitotoksiste gözlenmemiştir. Ayrıca tornalanmış yüzeylere göre hücre proliferasyonu daha iyidir (85).

Yapılan retrospektif bir çalışmada, 27 adet anodize implantın (Nobel Biocare, TiUnite) 12 ay sonunda marjinal kemik kayıplarının yaklaşık 1 mm ve başarı oranlarının %100 olarak saptandığı belirtilmiştir (86).

### 2.9.6. Lazerle Pürüzlendirilmiş Yüzeyler

Lazerle, yüzeyden metal kaldırılması (lazer abrazyon), önceden belirlenen tekrarlanabilir bir yüzey oluşturmak için kullanılan bir tekniktir. Pürüzlendirmede Nd:YAG lazer, Diode lazer, CO<sub>2</sub> lazer gibi lazerler kullanılmaktadır.

Bu yüzeye sahip implantlar tornalanmış yüzeylere göre belirgin olarak daha fazla KİT ve daha yüksek çıkarma tork değerleri vermektedir (87,88).

Daha fazla kemik oluşumunu, lazer işlemi ile implantın biyouyumluluğunun geliştirmesine dayandıran bir çalışma rapor edilmiştir.

Gelecek vadeden bu yüzey işlemi için daha fazla çalışma gereksinimine ihtiyaç vardır.

### 2.9.7. Yüzey Kaplamaları

Malzeme yüzeyine yeterli kuvvetle bağlanan, bileşimi tümüyle farklı veya büyük ölçüde değişmiş bir tabaka oluşturma işlemine "yüzey kaplama işlemi" denir.

Malzemelerin istenilen özellik ve şartları sağlamaları her zaman mümkün olmamakta veya yüksek maliyet gerektirmektedir. Günümüz teknolojisi, tek bir malzemedan elde edilmesi mümkün olmayan çeşitli özelliklerin kombinasyonuna sahip malzemelere ve dayanıklılığını kanıtlamış mevcut malzemelerin olumsuz özelliklerine çözüm oluşturacak, kolay ulaşılabilir ve ekonomik çözümlere ihtiyaç duymaktadır. Yüzey kaplama teknolojileri bu ihtiyaca cevaben endüstriyel alanda kendine yer edinmiştir (89).

Malzemelerin yüzeyini istenilen şartlarda modifiye edebilmek, fonksiyon ve estetiğe uygun yeni özellikler kazandırmak, eski çağlardan beri araştırma konusu olmuştur. Tarihsel açıdan en eski ve en yaygın kullanılan yüzey kaplama yöntemi boya ile kaplamadır. Geçmişte kaplamalar, yüzeylerin görüntüsünü değiştirmek, süslemek veya korumak amaçlı kullanılırken, günümüzde bu etkileri sağlamanın yanında malzemeye fonksiyonel özellikler kazandırmak için de kullanılmaktadır. Elektronik ve vakum teknolojisinde meydana gelen gelişmeler ile istenilen kalınlıkla ve



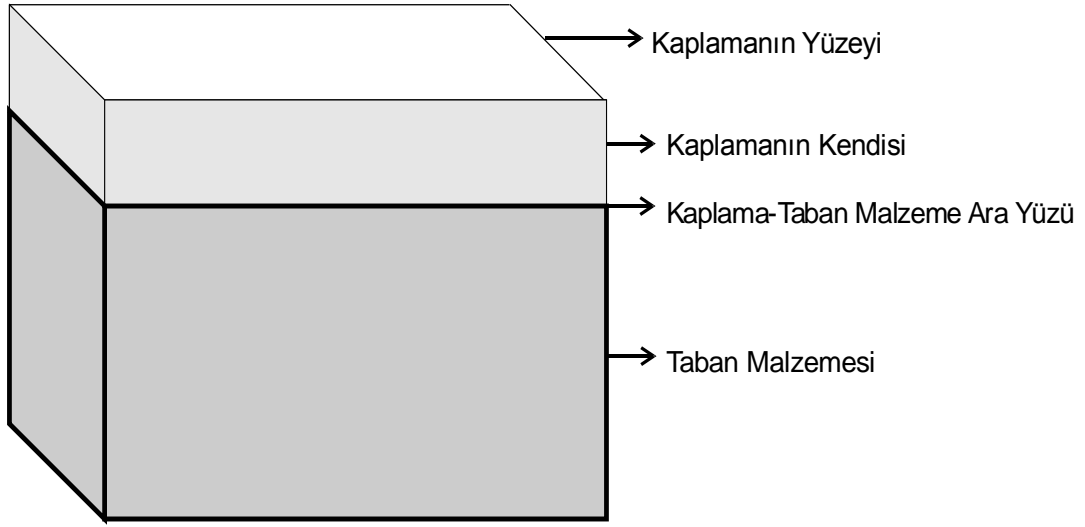
dayanıklı kaplamaların üretimine olanak sağlayan modern kaplama yöntemleri tanımlanmış ve “*yüzey mühendisliği*” adı verilen yeni bir alan oluşmuştur. Günümüzdeki modern kaplama teknolojilerinde kullanılan yöntemlerin temel prensipleri 1920’lerde ortaya konmuş olmasına rağmen, ticari olarak yaygınlaşması 1950’lerden sonra olmuştur. Geliştirilen yeni yöntemler ve kaplama malzemeleri ile günümüzde yüksek kalitede kaplamalar üretilebilmektedir (89).

Yüzey kaplama uygulamaları birçok alanda kullanılmaktadır. Endüstriyel alandaki kullanımının yaygınlaşması ve sağladığı avantajlar, yüzey kaplama teknolojilerinin biyomedikal alanda da kullanımına ışık tutmuştur. Özellikle implant gibi biyomateryallerin kaplanması sonucunda yüzeydeki biyoreaksiyonların, aşınma ve korozyon gibi davranışların belirgin şekilde değiştirilebildiği, birçok araştırma ile ortaya konmuştur. Genel olarak baktığımızda yüzey kaplama teknolojileri;

- aşınma,
- çizilme,
- sürtünmeyi azaltma,
- korozyondan koruma,
- estetik görünüm kazandırma,
- optik, termal veya elektriksel özellikler gibi fonksiyonel özellikleri geliştirme,
- biyouyumluluk sağlama ve
- antibakteriyel etki gibi yeni özellikler kazandırma amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (15,16).

Yüzey kaplama işlemlerinde kaplanacak olan malzemeye “taban malzemesi”, uygulanan kaplamaya ise “kaplama malzemesi” denir. Kaplanmış bir malzemenin enine kesiti; kaplamanın yüzeyi, kaplamanın kendisi, kaplama- taban malzeme arayüzü ve taban malzemesi olarak 4 bölümde incelenebilir (Şekil 2.1). Her bölüm, kaplanmış malzemenin davranışı üzerinde farklı etkilere sahiptir. Kimyasal reaktivite ve pürüzlülük, kaplamanın yüzeyi tarafından; sertlik, elastiklik, kırılma dayanımı, termal stabilite ve termal iletkenlik, kaplamanın kendisi tarafından; taban

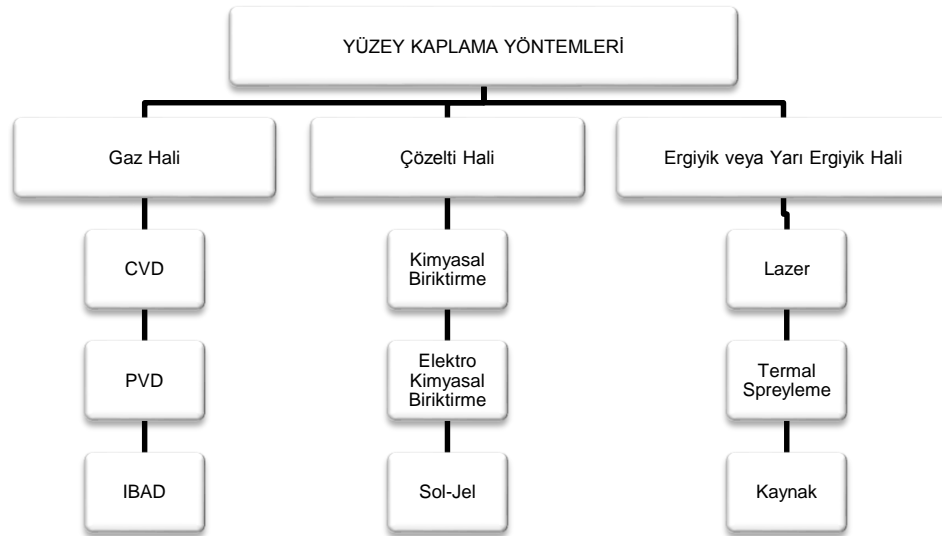
malzemeye yapışma kuvveti, taban malzeme-kaplama arayüzü tarafından; termal genleşme katsayısı, kırılma dayanımı, sertlik ve elastisite ise taban malzemesi tarafından etkilenen özelliklerdir. Seçilen kaplama yöntemi ve parametreleri (sıcaklık, voltaj, akım, basınç gibi kaplama türüne özgü uygulama koşulları) kaplamanın yüzeyini, kendisini ve taban malzeme ile olan arayüzdeki yapışmayı etkilemektedir.



**Şekil 2.1.** Kaplanmış bir malzemenin enine kesiti

### **2.9.8. Yüzey Kaplama Yöntemlerinin Sınıflandırılması**

Yüzey kaplama yöntemlerine ait çeşitli sınıflandırmalar olmakla beraber en yaygın kullanımı Rickerby ve Matthews tarafından 1991 yılında oluşturulmuş olan Şekil 2.2'deki sınıflamadır (15).



\*CVD: Kimyasal buhar biriktirme  
 PVD: Fiziksel buhar biriktirme  
 IBAD: İyon demeti destekli biriktirme

### Şekil 2.2. Yüzey Kaplama Yöntemlerinin Sınıflandırılması

Bu sınıflamada kaplama yöntemleri kaplama malzemesinin bulunduğu fiziki hale göre 3 temel gruba ayrılmıştır. Kaplama malzemesi gaz halinde, çözelti halinde, ergiyik veya yarı ergiyik halde yüzeye kaplanabilir. Kaplama malzemesi gaz haline getirilerek taban malzeme yüzeyine kaplanacaksa kimyasal buhar biriktirme (CVD), fiziksel buhar biriktirme (PVD) veya iyon demeti destekli biriktirme (IBAD) yöntemlerinden biri; çözelti haline getirilerek kaplanacaksa kimyasal biriktirme, elektro-kimyasal biriktirme veya sol-jel yöntemlerinden biri; ergiyik veya yarı ergiyik hale getirilerek yüzeye kaplanacaksa kaynak, termal spreyleme ve lazer yöntemlerinden biri kullanılabilir (15).

Her kaplama yönteminin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır. Aynı kaplama malzemesi kullanılıyor bile olsa uygulanan yöntem farklılığından, hatta aynı yöntemde bile parametre farklılıklarından kaynaklanan değişimler, kaplamanın yüzey özelliklerini ve kimyasal davranışlarını etkileyebilmektedir. Kaplamanın tanecik boyutu ve şekli, porözite boyutu ve dağılımı, kaplamadaki boşluklar, düzensizlikler, çatlak ve çukurların varlığı ve oluşan gerilmeler gibi mikroyapısal özellikler uygulanan yöntem ve parametrelerden etkilenmektedir. Yapılan araştırmalar, farklı

kaplama malzemelerini ortaya koymanın yanısıra, parametre değişimlerinin etkisini inceleyerek kaplama özelliklerini değiştirmeyi ve ideal özelliklere ulaşmayı hedeflemektedir (90).

Dental implantolojide en sıklıkla kullanılan yüzey kaplamaları şunlardır:

- Titanyum Plazma Sprey Kaplı Yüzeyler
- Hidroksiapatit (HA) Kaplı Yüzeyler
- Kalsiyum Fosfat ( $\text{CaPO}_4$ ) Kaplı Yüzeyler
- Titanyum Nitrit (TiN) Kaplı Yüzeyler

### **Titanyum Plazma Sprey Kaplı Yüzeyler**

TPS 1974'ten itibaren implantların yüzey alanlarını, dolayısıyla kemiğe tutunmasını artırmak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknikte, 40  $\mu\text{m}$  büyüklükteki titanyum partikülleri, plazma alevi ile ısıtılıp, yüksek ısı ve hızla titanyum yüzeye püskürtülerek pürüzlü kaplama elde edilir (91). TPS kaplı ITI-Bonefit implantlarının plazma-sprey tabakasının 20-30  $\mu\text{m}$  kalınlık ve 15  $\mu\text{m}$  pürüzlülükte olduğu bildirilmiştir (92).

Leize ve arkadaşları (92), çeşitli sebeplerle sökülen TPS kaplı implantları elektron mikroskopunda incelediklerinde kemik ile kimyasal bir bağlantı kurulduğunu, pürüzlü yüzey içine doğru kalsiyum fosfat kristallerinin büyüdüğünü gözlemlemişlerdir.

Plazma spreyi uygulanmış ve tornalanmış yüzeylerin biyolojik cevaplarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, implantasyondan 6 ay sonra KİT yönünden anlamlı bir fark bulunamamıştır (93).

### **Hidroksiapatit (HA) Kaplı Yüzeyler**

TPS'ye benzer pürüzlülükte ve benzer yüzey alanı artışına sahip olmalarına rağmen, HA-kemik arayüzü dayanıklılığı, TPS-kemik arayüzü dayanıklılığından fazla bulunmuştur. Ayrıca kemik oluşumunun ve olgunlaşmasının da daha hızlı olduğu gözlemlenmiştir (94). Buna göre

denilebilir ki arayüzdeki iyileşme, HA kaplama ile daha iyi hale getirilebilir (95,96).

HA kaplamanın TPS kaplamaya göre avantajları şunlardır:

- 1-Kemik arayüzünün daha hızlı iyileşmesi
- 2- Kemik- HA arayüzdeki iyileşmede artış
- 3- Daha dayanıklı arayüz
- 4- Daha az metal korozyonu (22).

HA kaplamalara ait olumlu kısa dönem sonuçlar bulunmasına rağmen, kaplamalarda soyulmalar, erimeler, çözümler olduğu gösterilmiştir (97).

### **Kalsiyum Fosfat (CaPO<sub>4</sub>) Kaplı Yüzeyler**

Kalsiyum fosfat kaplama da iyileşme sırasında kemik cevabının olumlu yönde etkileyen HA'ya benzer şekilde kimyasal bağlanma özelliği gösterdiği için halen yaygın olarak incelenmektedir (98). Bu biyomateryal kemik mineraline benzerdir. Yüzeylerinde kemik apatitine benzer mineral veya karbonat hidroksiapatit kaplıdır. Biyoaktiftir, hücresel fonksiyonu tetikleyerek güçlü bir kemik-kalsiyum fosfat bağlantısı oluşturur.

Bifazik kalsiyum fosfat ve trikalsiyum fosfat da implant kaplamaları için kullanılmak üzere çalışılmışlardır (99-101). Ancak optimal kaplama henüz bildirilmemiştir (102,103).

### **Titanyum Nitrit (TiN) Kaplı Yüzeyler**

Daha az iyon salınımı yapan bir yüzey elde etmek için titanyum implantları TiN ile kaplama önerilmiştir. Bu muhtemelen, titanyuma benzer şekilde histolojik cevap meydana getiren, ince bir TiN tabakası (yaklaşık 1 µm) oluşturan bir '*fiziksel buhar depozisyonu*'nun sonucudur. Bu tabaka korozyon direncini artırır, bakteriyel tutulumu azaltır, estetik bölgelerde kullanışlı olabilecek şekilde altınimsı yüzey görüntüsüne sahiptir (104-109).

## 2.10. Lazer Nedir?

“Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation” kelimelerinin ilk harflerinden oluşturulan LASER terimi, dilimize LAZER olarak girmiştir ve “radyasyonun uyarılmış emisyonu ile ışığın güçlendirilmesi” anlamına gelmektedir. Lazer ışığı, atom veya molekülde bulunan fazla enerjinin depolanması ve sonradan uyarılması ile elde edilen özel bir ışıktır (110).

### 2.10.1. Lazerin Tarihi

Günümüzde modern lazer fiziğinin temeli, 1917’de Albert Einstein’in yayımladığı “*Zur Quantentheorie der Strahlung*” teorisinde yer alan, maddenin uyarılarak radyasyon yayılımı yapabileceği kavramına dayanmaktadır (111).

1958’de Schalow ve Townes (112), bu teoriyi temel alarak MASER’I (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation)’ı rapor etmişlerdir (113).

1960’ta Theodore Harold Mainman, kromiyum oksit ile kaplı alüminyum oksitten yapılmış sentetik bir ruby bar kullanarak, çalışan ilk lazer cihazını üretmiştir.

1961 yılında Johnson, neodymium iyon yüklü yttrium-alüminyum-garnet (YAG) bar kullanarak, neodymium:yttrium-alüminyum-garnet (Nd:YAG) lazerin öncüsü olarak kabul edilen lazer cihazını geliştirmiştir (114). 1964 yılında Bridges Argon lazeri geliştirmiştir (115).

Yine aynı yıl, oral ve maksillofasiyal cerrahi pratiğinde en sık kullanılan lazerlerden biri olan karbondioksit (CO<sub>2</sub>) lazer Patel tarafından geliştirilmiştir (116).

1975’te Zharikov tarafından erbiyum:yttrium-alüminyum-garnet (ER:YAG) lazer geliştirilmiştir (117).

Madde üzerindeki işlemler için en çok kullanılan lazer tipleri CO<sub>2</sub> ve Nd:YAG lazerlerdir. Daha kısa çalışma boyuna sahip olmalarından dolayı Nd:YAG lazerlerin bazı alanlarda tercih edilir olmasına rağmen, CO<sub>2</sub>

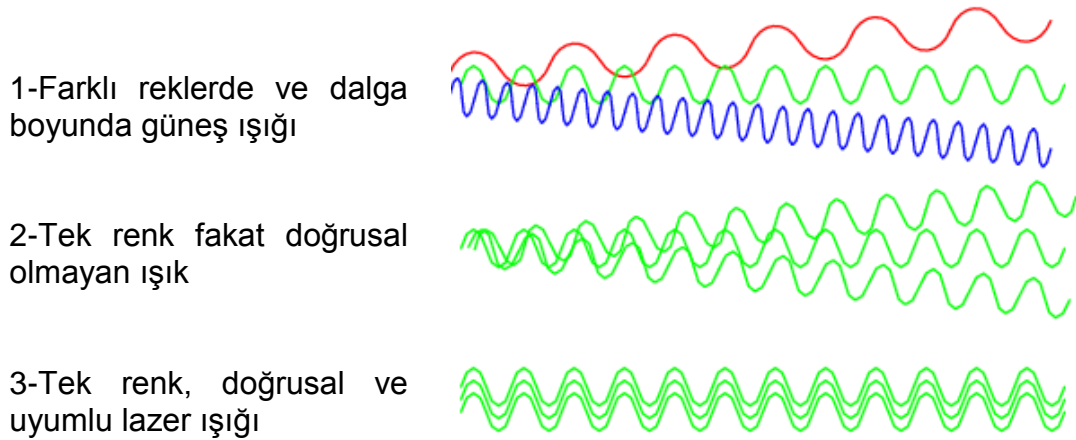
lazerlerin birçok amaca yönelik kullanım esnekliği olmasından dolayı daha avantajlı olduğu söylenebilir.

Lazere adını veren unsurlar şunlardır:

- Light: Işık
- Amplification: Amplifikasyon
- Stimulated Emmission: Uyarılmış Salınım
- Radiation: Radyasyon

### 2.10.2. Işık

Işık, parçalar ve dalgalar halinde hareket eden bir elektromanyetik enerji çeşididir ve bu enerjinin temel birimi fotondur. Bir lambanın oluşturduğu ışık, farklı renklerin bir araya gelmesiyle oluşur ve dağınık yapıdadır. Bir prizma yardımıyla kendisini oluşturan renklere ayrılabilir. Lazer ışığı ise tek renktir ve üç farklı özelliği daha vardır (Şekil 2.3) (110):



**Şekil 2.3.** Lazer ışığı ve normal ışık arasındaki farklar

**Doğrusallık:** Lazer kavitesinden ortaya çıkan ışığın uzayda, kendine özgü ve sabit bir boyutta ve şekilde olmasıdır. Dental radyografide kullanılan cihazlar bu özelliği ile radyasyon oluştururlar.

**Uyumluluk:** Cihazın oluşturduğu ışık dalgalarının birbirinin aynısı olmasıdır. Birbiriyle ardışık sıralanmışlardır. Zaman ve uzaklık olarak birbirlerine yapışık hareket ederler.

**Etkinlik:** Verimlilik olarak da adlandırılır. Klinik olarak en yararlı özelliğidir; çünkü 2 W gücündeki Nd: YAG lazer ışığı, gingival papili hassas bir şekilde kesebilecek termal enerjiyi sağlayabilir (118).

### 2.10.3. Amplifikasyon

Lazer cihazındaki optik kavite adı verilen kısmın her iki tarafında bulunan aynalar, fotonların sürekli yansıtılmalarını sağlar. Yansıyan fotonlar daha fazla stimüle emisyon oluşmasına neden olur. Enerjisi yeteri kadar artan foton, seçici geçirgen aynadan geçerek optik kaviteden çıkar. Böylece daha fazla stimüle emisyon oluşarak fotonların gücü artırılır ve amplifikasyon olarak adlandırılır (114).

### 2.10.4. Stimüle Emisyon (Uyarılmış Salınım)

Enerjinin en küçük birimi olan foton, bir atomun veya bir molekülün elektronları tarafından absorbe edilirken kısa bir uyarım oluşur. Bu uyarım "*spontan emisyon*" olarak adlandırılır. Spontan emisyon farklı dalga boylarında oluşabilir; çünkü bir atomda, farklı enerji seviyesine sahip, farklı yörüngelerde elektronlar bulunur ve akkor ışık bu şekilde oluşur (119).

Uyarılmış atomun yörüngesinde aynı enerji düzeyine sahip ek bir foton enerjisi varsa, sonuç olarak birbirinin aynısı, koherent özelliklere sahip iki foton salınır. Bu salınım Einstein tarafından "*stimüle emisyon*" olarak tanımlanmıştır (120). Bu, lazer ışığını diğer ışıklardan ayıran en temel özelliktir. Salınan bu fotonlar atomları uyararak daha çok sayıda foton oluştururlar ve bir döngü meydana getirirler. Bu da aktif ortamdaki çoğu atomun uyarılmış olması anlamına gelir (110).



### 2.10.5. Radyasyon

Radyoaktif bir atom çekirdeğinin parçalanarak çevresine ışınlar yaymasına “*radyasyon*” denir. Lazer cihazının ürettiği ışık dalgalarının oluşturduğu elektromanyetik enerji de radyasyondur. Elektromanyetik spektrum, dalga boyu  $10^{-12}$  m olan gamma ışınlarından, boyu metreleri aşan radio dalgalarına kadar geniş bir aralığı içerir. Dalga boyu azaldıkça daha yüksek frekanslı ışımaya oluşur. 300 nm’ den düşük, kısa dalga boyları “*iyonize radyasyon*” olarak adlandırılır (110). Bu dalga boyuna sahip ışınlar biyolojik dokulara penetre olurlar.

Diş hekimliğinde kullanılan lazerler 500 nm ile 10600 nm arasındadır ve elektromanyetik spektrumun non-iyonize kısmında yer alırlar (110).

### 2.10.6. Lazer Sinterleme Nedir?

Dental implantların konvansiyonel üretimi, titanyum çubukların tornalanma işlemi sonrasında, yüzeyin kaplama ya da pürüzlendirme gibi uygulamalara tabi tutulmasıyla gerçekleşir. Son yıllarda meydana gelen gelişmelerle birlikte, lazer sinterleme dental implant üretimi için alternatif bir yöntem olarak düşünülmektedir (19). Aynı zamanda pürüzlü olan son tabaka ve karmaşık yapısının osseointegrasyonu artırdığı Mangano ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (17,121).

1986 yılında Carl Deckard, Teksas üniversitesinde, 100 W’lık Nd-YAG lazerden oluşan bir sistem tasarlayarak doğrudan plastik tozundan hızlı prototipleme yapan bir cihaz geliştirmiştir. Deckard, geliştirdiği sistemi ilk olarak “*PGLSS (Part Generation by Layerwise Selective Sintering)*” olarak adlandırmış, ardından bu ismi “*SLS (Selective Laser Sintering)*” olarak değiştirmiştir. Teksas Üniversitesi, “*DTM (Desktop Manufacturing)*” isimli bir firmaya projeyi, ticarilestirmesi için devretmiştir. DTM ilk kullanılabilir lazer sinterleme sistemini üretmiş ve Ekim 1992’de piyasaya sürmüştür.

Teksas Üniversitesi’nde 1989-1990 yıllarında, doğrudan metal lazer sinterleme (DMLS) teknolojisi üzerinde çalışılmıştır, ancak tek fazlı kurşun, çinko ve alüminyum üzerinde yapılan bu ilk çalışmalar başarısızlıkla sonuçlanmıştır. 1990’ların başlarında farklı daha pek çok araştırma enstitüsü

benzer konularda çalışmalara başlamıştır. İlk başarılı sonuçlar, 1994 yılında paslanmaz çelik kullanan Fraunhofer ve demir-bakır karışımlar kullanan Leuven Katolik Üniversitesi tarafından rapor edilmiştir. 1995 yılı sonunda, Alman kamu projesi olarak, DMLS işleminde tek bileşenli seramik ve 316 ASTM paslanmaz çeliği gibi metal malzemelerin tam ergitilmesiyle tam yoğun parçalar oluşturulmasına yönelik bir proje başlatılmıştır. Proje sonunda tek bileşenli seramik ve metal malzemelerin tam ergitilmesiyle tam yoğun parçalar elde edilmesi için uygun parametreler tespit edilmiştir. Ayrıca yurtdışındaki çalışmalarda, tıp alanında implant üretimi denemeleri yapılmış ve başarı sağlanarak uygulamaya geçilmiştir.

Lazer sinterleme işlemi, 3 boyutlu üretim (additive manufacturing-AM) teknolojisidir ve istenilen geometride doğrudan üretim yapar. Bilgisayar destekli tasarımla oluşturulan yapı, prototip makinesinde katmanlar halinde inşa edilir. Metal toz yatağına odaklanan yüksek güçteki lazer ışını, metal tozlarını eriterek ince bir katman haline getirir. Bu şekilde oluşan katmanlar, tasarlanan nesneyi meydana getirir (13,18).

Metaller için 3 boyutlu üretim yöntemleri ikiye ayrılır:

1-Selektif Lazer Sinterleme (SLS) veya Doğrudan Metal Lazer Sinterleme (DLMS)

2- Selektif Lazer Ergitme (SLM)

SLS teknolojisinde metal partikülleri kısmen eritilerek az ya da çok miktarda pöröz bir yapı oluşturacak şekilde birbirine bağlanır. SLM teknolojisinde ise metal partikülleri tamamen eritilerek yoğun bir yapı elde edilir [20].

Daha önce SLS ile üretilmiş dental implantlar rapor edilmiştir (13,122). Ancak bu implantlarda SLS'nin kısmen eritme protokünden kaynaklı delikler, çatlaklar ve yivlerde bozulmalar gözlenmiştir. Bu da özellikle uzun dönem yüklemde, implantın mekanik özellikleri üzerinde negatif etki yaratmaktadır (20,123). SLM teknolojisi ileri 3 boyutlu üretim tekniğidir. Concept Laser tarafından geliştirilmiş ve "LaserCUSING" ismiyle patentlenmiştir. 20-50 µm katman kalınlıkları ile üretim tabaka tabaka yapılır. Partiküller tamamen eritildiğinden, mekanik özellikleri SLS'ye göre çok daha iyidir (20). SLM

teknijü kullanılarak üretilen dental implantlarla ilgili çalışmalar devam etmektedir.

## 2.11. Yüzey Pürüzlülüğünün Ölçümü

İmplant yüzeylerine karşı verilecek biyolojik cevapların değerlendirilmesinde, yüzey pürüzlülük özelliklerinin doğru ve hassas olarak saptanması önem taşımaktadır. Kohles ve arkadaşlarının 2004'te yaptığı bir çalışmada (124), kullanılan cihazların ölçüm yöntemlerinin ve yüzey işlemlerinin, pürüzlülük verilerini anlamlı derecede etkilediği bildirilmiştir.

Üretim sonucunda yüzey yapısında meydana gelen düzensizliklere "pürüzlülük" denir. Mikropürüzlülük, moleküler boyutlardaki girinti ve çıkıntıların malzeme yüzeyine ufak dalga boylarında oluşturdukları dalgalanmalar şeklinde görülürken, makropürüzlülük daha büyük boyutlardaki girinti ve çıkıntıların büyük dalga boylarında oluşturdukları dalgalanmalar şeklinde görülür.

1930'lu yıllarda metal yüzeylerinin pürüzlülük değerlendirilmesi, o yüzeye bakarak veya dokunarak yapıldı. Yüzeyde yüksek yansıma varsa yüzey pürüzsüz olarak düşünülürdü. Bu tip değerlendirmenin ömrü pek uzun olmadı. Metal yüzeyinin değerlendirilmesi şahsın dikkatinden bağımsız düşünölmeye başladı. Böylece düşünceler parametreler üzerinde yoğunlaştı. Yüzey uygunluğunu değerlendirmek ve parametrelere çevirmek için pürüzlülük ölçümleri yapılmaya başlandı (125).

İmplant yüzeyinin pürüzlülük değerinin doğru belirlenmesi için, ölçümlerin doğru ve hassas yapılmasının yanısıra pürüzlülük parametresinin doğru seçimi de önemlidir.

### 2.11.1. Yüzey Pürüzlülüğünün Belirlenmesinde Kullanılan Parametreler

Yüzey pürüzlülüğü ölçümü için kullanılan parametreler aşağıda olduğu gibi gösterilir ve adlandırılırlar (126):

Ra: Aritmetik ortalama sapma

Rz: 5 tane en yüksek 5 tane en alçak noktanın ortalaması

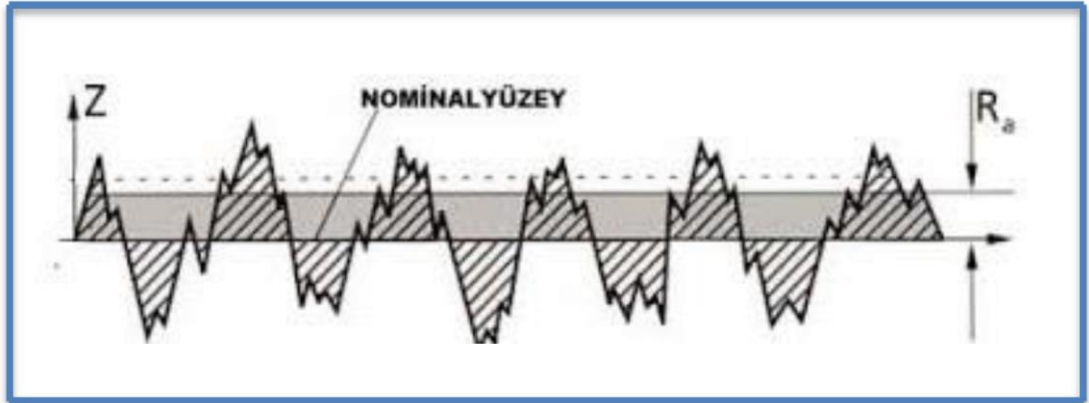
Rt:Tüm ölçüm uzunluğu için maksimum yükseklik ile maksimum derinliğin toplamı

Rq:Aritmetik ortalama sapmaların karakökü anlamında bir parametredir.

Standartlarda açıklanan parametrelerden en önemli sayılan 2 tanesi tanımlanmıştır.

### Ortalama Pürüzlülük (Ra) Değeri

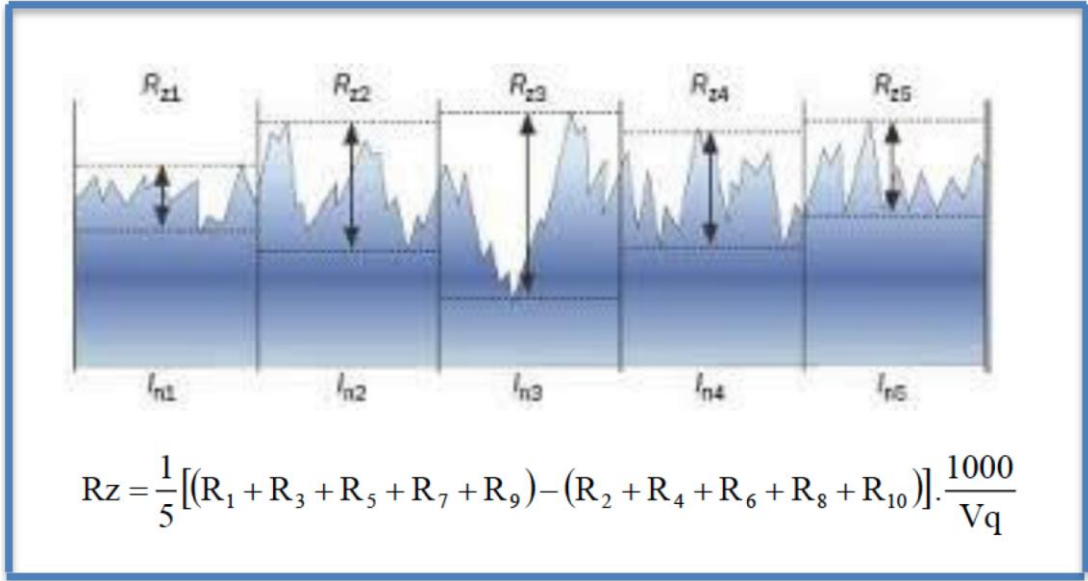
Bu değer, belirli bir ölçüm mesafesinde tüm yüzeydeki derinlik ve yüksekliklerin mutlak toplamının aritmetik ortalamasıdır. Yüzey pürüzlülüğü ölçen cihazlardan direkt olarak okunabilir. Bir yüzeyin Ra değeri grafik olarak okunabilir (127).



Şekil 2.4. Ra pürüzlülük değerinin diyagramı

### Ortalama Pürüz Yüksekliği (Rz) Değeri

Bu değer, belirli bir alanda birbirini takip eden beş maksimum derinlik ve yüksekliğin aritmetik ortalamasıdır. Bu parametrenin bulunuşunun gösterimi "Ra"nın gösteriminden daha kolaydır. Önce profile bir paralel eksen çizilir. Bu profilden sırayla 5 en dip noktadan yüzeye kadar olan uzaklık ölçülür (Şekil 2.5) (127).



**Şekil 2.5.** Rz pürüzlülük değerinin diyagramı ve formülü

### 2.11.2. Yüzey Pürüzlülüğünün Ölçülmesinde Kullanılan Cihazlar

Yüzey pürüzlülüğünü değerlendirmek amacıyla pek çok cihaz ve teknik kullanılır. Mühendislik açısından en önemlileri şunlardır:

1. Mekanik Profilometreler
2. Optik Profilometreler
3. Atomik Kuvvet Mikroskobu
4. Taramalı Elektron Mikroskobu

Bu cihazlardan mekanik profilometre ve atomik kuvvet mikroskobu, temaslı olarak yüzey pürüzlülüğünü belirlerken, optik ve taramalı elektron mikroskobu ile temassız olarak yüzey pürüzlülükleri belirlenebilir. Yumuşak ve yüzeyleri hassas olarak işlenmiş malzemelerin yüzey incelemelerinde, temassız olarak ölçüm yapabilen cihazlar kullanılır. Mekanik ve optik profilometreler, yüzey araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (128,129).

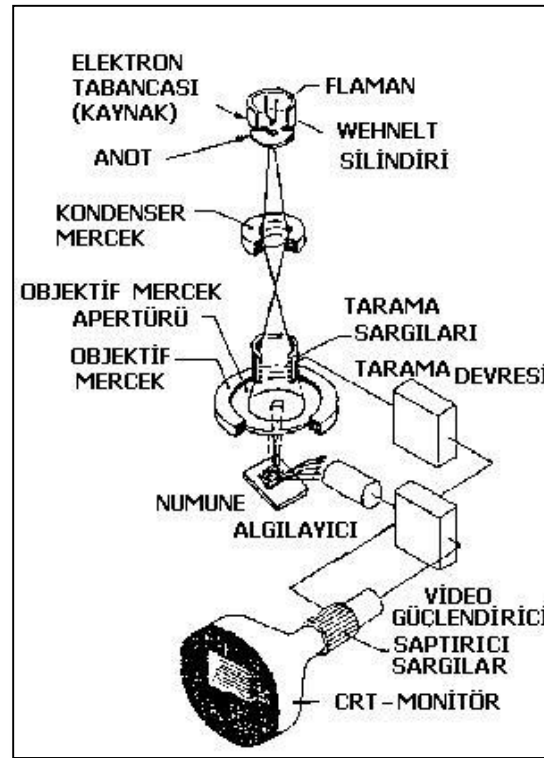
Mekanik profilometre cihazları, elmas sivri bir ucun malzeme yüzeyinde gezdirilmesi sırasında sivri ucun, malzeme yüzeyindeki girinti ve çıkıntılardan geçerek malzemenin yüzey profilinin çıkarılması prensibine dayalı olarak çalışır. Meydana gelen dikey yer değişimleri elektro-mekanik dönüştürücüler ile elektrik sinyallerine dönüştürülürler. Güçlendiriciden

geçirilen elektrik sinyalleri, pürüzlülük ve dalgalılık sonuçlarının elde edilmesi için üç farklı işlemci ile beslenir. Sonuçta elde edilen bütün değerler kayıt edici tarafından saklanır. Temas etmesinde dolayı kullanılan uç ve yüzey, ölçüm işleminden zarar görebilir (128,130).

Optik profilometre cihazları, yüzeye temas etmediklerinden yüzeyde hasara neden olmazlar. Bu sebeple hassas yüzeylerin değerlendirilmesinde kullanılırlar. Yüzeye yönlendirilen ışığın yansımaları prensibine dayanır. Mekanik profilometre cihazlarına göre daha yüksek çözünürlükte ve hızlıdır (128).

Atomik kuvvet mikroskobu, çok yüksek çözünürlüğe sahip bir yüzey topografisi saptama cihazıdır. Ulaşılmış çözünürlük birkaç nanometre ölçeğinde olup, optik tekniklerden en az 1000 kat daha fazladır. Bilgi, mekanik bir ucun yüzeyi algılamasıyla toplanır. Elektronik kumanda üzerinde bulunan, küçük fakat hassas hareketleri sağlayan piezoelektrik öğeler, doğruluğu kesin ve hassas bir tarama sağlar. Bu cihaz, nano boyutta görüntüleme, ölçme ve malzeme işleme konusunda en gelişmiş araçlardan biridir (131).

Taramalı elektron mikroskobu, çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması prensibiyle çalışır (Şekil 2.7). Bu mikroskopta yüksek gerilimle hızlandırılan elektronlar ince demetler halinde toplanarak nesne yüzeyine çarpmaktadır. Nesne üzerindeki bir noktanın ayırdığı primer ve sekonder kırılmış elektronlar dedektör yardımıyla toplanmaktadır. Değişik noktalardan gelen bu sapmalar katot tüpünün ekranı üzerinde görüntüyü oluşturmaktadır. En sık kullanıldığı biçimiyle, yüzeyden yayılan ikincil elektronlarla yapılan ölçüm, özellikle yüzeyin engebeli yapısıyla ilişkili bir görüntü oluşturur. Çok yüksek çözünürlükte görüntü elde edilir (132).



Şekil 2.6. Taramalı elektron mikroskobu diyagramı

## 2.12. Biyouyumluluk ve Test Yöntemleri

Biyoyumluluk, bir materyalin uygulandığı bölgede uygun biyolojik cevabı oluşturabilmesi olarak tanımlanır. Biyoyumluluk konusundaki geleneksel yaklaşım, materyalin ağız dokuları üzerinde önemli yan etkiler oluşturmaması olarak ifade edilebilir (23,133). Biyoyumluluk terimi, bir materyalin doku veya fizyolojik sistem üzerindeki yan etkilerini, aynı zamanda fizyolojik çevrenin de materyal üzerindeki etkileriyle birlikte her iki yöndeki etkileşimini de içermektedir. Bir materyal canlı dokulara yerleştirildiğinde karmaşık biyolojik sistemle materyal arasında bir etkileşim oluşmaktadır. Eğer materyal "*biyolojik inert*" şeklinde tanımlanmışsa, bu tip etkileşimlerin olmayacağı anlamını taşımaktadır ki bu anlamda inert biyomateryal yoktur. Bugün kullanılan birçok dental materyal, sistemik olarak değerlendirilmesi gereken şekilde belli oranlarda doku cevabı oluşturmaktadır (133). Herhangi bir materyalin biyoyumluluğu, materyalin türüne, yerleştirildiği bölgeye ve kendisinden beklenen fonksiyona bağlıdır Aynı zamanda, vücut ve fonksiyon arasındaki etkileşim sürekli olduğundan, maddeye karşı oluşan cevap da

süreklilik göstermektedir (134).

Canlı dokulara implante edilen materyallere karşı oluşan en iyi doku cevabı genelde materyal çevresinde, materyali fizyolojik çevreden izole eden fibröz doku formasyonudur. Fibröz kapsülün kalınlığı, bazen materyalin biyouyumluluğunu gösteren bir indikatör olarak da kullanılmaktadır. Kapsülün giderek kalınlaşması, devam eden uyarılara karşı vücudun ilave fibröz doku üretmeye devam ettiğini gösterir. Bu durumun bir istisnası, materyal üzerinde kemiğin herhangi bir kapsül olmadan şekillenebilmesidir ki soy metaller ve seramikler de bu karakteristiği sergilemektedir (135).

### **2.12.1. Biyolojik Uyum İçin Standartlar**

Günümüzde biyouyumluluğu test etmek için kullanılan metodlar, uluslararası standartlar tarafından belirlenmiştir (134,136). Bu standartlardan bazıları özel olarak dental materyallerle (ISO 7405) ilgiliyken, diğerleri dental materyallerle birlikte diğer tıbbi malzeme ve cihazların test yöntemleri (ISO 10993) hakkındadır (137).

ISO 7405 standardı: Türk standartları Enstitüsü (TSE) tarafından “*TS 8227: Diş Hekimliğinde Kullanılan Malzemeler İçin Biyolojik Deney Metodları*” olarak Türkçeye çevrilmiştir. ISO 10993 standardı: “*Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi*” başlığını taşıyan bu standart, ulusal ve uluslararası standartların birleşiminden oluşmuştur. Sürekli güncellenen bu döküman, cihaz güvenliği ve tıbbi materyallere karşı oluşacak biyolojik cevabı değerlendirmede kullanılacak test yönteminin seçimi hakkında kapsamlı bir rehberlik sunmaktadır (136).

### **2.12.2. Dental Materyaller İçin Biyolojik Uyum Testleri**

Dental materyallerin yaygın klinik kullanıma geçilmeden önce ağız dokuları üzerindeki potansiyel zararlı etkilerinin değerlendirilmesi şarttır (138,139).

Biyolojik testler için farklı basamaklar ve bunlara uygun test yöntemleri tanımlanmıştır. Bunlar genel olarak üç grupta sınıflandırılmıştır (134,140-143):



1. Başlangıç Testleri
2. İkincil Testler
3. Kullanım Testleri

Başlangıç deneyleri, hemoliz, hücresel ve sistemik toksisite yöntemleriyle materyalin toksik profilini ortaya koymaktadır. İkincil testler, *in vivo* implantasyon çalışmaları, oral muköz membran irritasyon veya sensitizasyon testlerini içermektedir. Son aşamada materyalin asıl kullanım alanındaki klinik performansı değerlendirilmektedir (133,144).

### **Başlangıç Testleri**

Başlangıç testleri, materyalin toksik profilini ortaya koymaktadır. Bu testlerin çoğu ilaçları değerlendirmek için kullanılan testlerden seçilmiştir. Hücre kültürü test metodları hariç tutulursa bu testlerden ancak birkaçıyla dental materyaller test edilebilmiştir. Bu metodlar sitotoksisite, hemoliz, sistemik toksisite, karsinogenezis ve teratojeniteyi araştıran bir dizi testten oluşmaktadır (137,140).

### ***In vitro* Sitotoksisite Testleri**

Yeni bir materyalin biyouyumluluğunu değerlendirmek için ilk geliştirilen test yöntemidir. Test malzemesinin, hücre kültürlerindeki hücre büyüme oranı ve hücrelerin morfolojik özellikleri üzerine etkisinin kontrol grupları kullanılarak değerlendirildiği yöntemdir (143).

*In vitro* testler, organizmanın dışında yapılan testlerdir (134). Bu tür testler, test tüpleri, hücre kültür kapları, flask veya diğer taşıyıcı kaplarda yapılır. Memeli hücreleri, organeller, dokular, bakteriler veya bazı enzim türleri, biyolojik sistem olarak kullanılabilir. Test edilecek materyal veya bu materyalden elde edilen özüt, biyolojik sistemle temas edecek şekilde test kabına yerleştirilir (134).

Biyolojik sistemle materyal arasındaki temas direkt veya indirekt olabilmektedir. Direkt temasta biyolojik sistem, materyal ya da özütle doğrudan temas halinde iken, indirekt temasta biyolojik sistemle materyal veya özüt arasındaki etkileşim agar, filter membranlar veya dentin gibi

bariyer sistemleri sayesinde olmaktadır (134,139,143).

*In vitro* biyouyumluluk testleriyle, vücuda yerleştirildiklerinde malzemelere karşı oluşacak biyolojik reaksiyonların test ortamında oluşturulması hedeflenmektedir. Bu deneylerle, daha karmaşık hayvan deneylerine geçilmeden önce materyalin toksik profili hakkında ön bilgi sağlanmaktadır (145).

*In vitro* sitotoksosite testlerinin avantajları şu şekilde sıralanabilir (146):

1. Diğer metabolik olaylardan farklı olarak hücre metabolizmasında spesifik bir fonksiyonun değerlendirilmesi,
2. Çok sayıda örneğin kısa zamanda ve ekonomik olarak değerlendirilebilmesi,
3. Sayılabilir ve karşılaştırılabilir sonuçlara ulaşılabilmesi,
4. Test yöntemlerinin standardize edilebilmesi,
5. Hassasiyetlerinden dolayı, toksik maddenin hayvan deneylerine geçmeden elimine edilmesine imkan tanımaları,
6. Hayvan ve kullanım testlerine göre daha geniş kullanım alanına sahip olmalarıdır.

### **İkincil Testler**

Test edilecek materyal, fare, koyun, köpek, domuz gibi deney hayvanlarına implante edilmektedir (134). Test materyali klinik kullanıma en yakın şekilde deney hayvanına yerleştirilir. Biyolojik cevap, kısa veya uzun takip süreleri sonunda alınmaktadır. Elde edilen veriler *in vitro* testlere göre daha kapsamlıdır. Fakat biyolojik cevabın karmaşık yollarla oluşması, sonuçların kantitatif olarak değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır. Etik ilkeler ve hayvan hakları gibi konuların önem kazanması, bu testlerin kullanımını azaltmaktadır. Zaman alıcı ve pahalı olmaları da diğer bir dezavantajdır. Ayrıca, bir önemli nokta da hayvan türlerindeki cevabın insandaki ile aynı olmasının şüpheli olmasıdır (136,142).

Bu testler, kemik içi veya deri altı implantasyon testlerini, oral müköz membran irritasyon testlerini ve alerji testlerini içermektedir (140).

### **Kullanım Testleri**

Bu test yöntemi, materyalin klinik kullanımına geçildiğinde ortaya çıkacak durumu tanımlama esasına dayanmaktadır (140).

Kullanım testleri, hayvan veya insanlar üzerinde yapılabilmektedir. İnsanlar üzerinde yapılan testlere "*linik deneme*" denmektedir. Kullanım testlerinin yapılabilmesi için bir materyalin klinik uygulamaya geçebilecek düzeye gelmesi gerekmektedir. Bu testlerin klinik tabloyu yansıtmaya potansiyeli oldukça yüksektir.

Kullanım testlerinin en önemli dezavantajı, bu testlerin oldukça karmaşık olması, deney kontrolünde ve elde edilen verilerin değerlendirilmesinde yaşanan zorluktur. Bu testler, diğer testlere göre oldukça pahalıdır. Bu denemelerin yapılması, *in vitro* ve hayvan deneylerinde gerekli olmayan birçok yasal sorumluluğu da gerekli kılmaktadır (134).

### **Biyosentez ve Enzimatik Aktivite Testleri**

DNA sentezi veya protein sentezi ölçümleri bu test türünün yaygın örnekleridir. DNA veya protein sentezi analizlerinde genellikle, hücre kültür ortamına işaretleyici radyoizotop ilave edilmesini takiben DNA veya protein ile birleşip birleşmediği değerlendirilir. Sitotoksitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan enzimatik test ise MTT boyası, koyu mavi-mor formazan ürününe dönüşmektedir. Bu reaksiyon fragil bir mitokondriyal enzim olan süksinat dehidrogenaz enziminin aktivitesine bağlıdır. Sonuç olarak canlı ve mitokondri fonksiyonu bozulmamış hücreler mor renkte boyanmakta, ölü ya da mitokondri fonksiyonu bozulmuş hücreler boyanmamaktadır (147-154). Optik yoğunluk ölçülerek formazan oluşumu saptanabilir. Alternatif olarak test örneği çevresindeki formazan, ışık veya elektron mikroskopuyla da belirlenebilir (155,156).

### **Membran Geçirgenliği Testleri**

Materyallerin sitotoksitelerinin değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir yöntem de hücre membran geçirgenliğinin ölçülmesidir. Hücre zarı

geçirgenliğini, zarı geçebilen bir boya ile oldukça kolay belirlenebilir. Bu yöntem, ölmeye yakın olan bir hücrenin, hücre zarındaki geçirgenliğinin de artmış olması prensibine dayanmaktadır. Kullanılan bu boyaların hücre zarını geçip geçmemesine göre zar geçirgenliği, dolayısıyla da canlı ve ölü hücreler tespit edilmektedir. Bu test yöntemi için iki tip boya kullanılmaktadır. Vital boyalar, aktif transport ile canlı hücre içine taşınır ve hücrenin lizozomlarında birikirler. Sitotoksik etkiyle hücre zarı geçirgenliği artmadığı sürece hücre içinde tutulurlar. Pek çok tip vital boya vardır; ancak en çok kullanılanlar nötral kırmızı ve  $Cr_2Na_2O_7$ 'dir. Vital olmayan boyalar, sitotoksik etki ile hücre ölümü gerçekleştiğinde zarı geçerek hücre içine taşınabilmektedir. Vital olmayan boyalara örnek, tripan mavisi ve propidyum iyodid'dir (151,157).

### **Hücre Sayısı ve Büyüme Testleri**

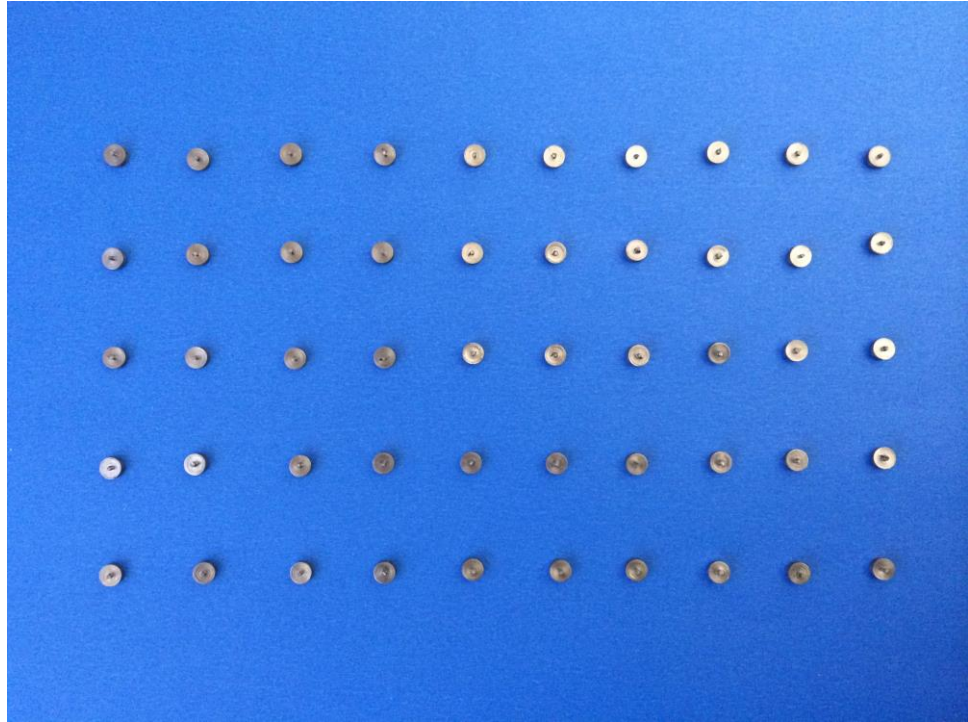
Malzeme ile temas sonrasında hücre sayısının veya büyümesinin ölçülmesi ile sitotoksiteyi belirler. Hücreler kültür kaplarına ekilerek yapışmaları sağlanır, daha sonra test malzemesi yerleştirilir. Test edilen malzeme sitotoksik değilse hücreler kültür kabında yapışık kalacak ve zamanla çoğalacaktır. Ancak malzeme toksik ise hücreler çoğalmayacak, ya sitopatik oluşumlar sergileyeceklerdir ya da kültür kabından ayrılacaklardır. Test malzemesi katı madde ise, malzeme çevresindeki hücre yoğunluğu (birim alandaki hücre sayısı) farklılık gösterebilir ve hücre büyümesinin bozulduğu bir alan (zon) tanımlanır. Hücre yoğunluğu kalitatif, semikantitatif ve kantitatif olarak belirlenebilir. Malzeme çevresindeki hücrelerin canlılığı, DNA içeriğinin biyokimyasal yollarla ölçülmesi gibi yöntemlerle belirlenebilmektedir (157).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, grade 5 titanyum disk yüzeyine selektif lazer ergitme işlemi ile grade 23 titanyum ve SLA işlemi uygulanması sonrasında, insan kaynaklı gingival fibroblastların (HGF-1) adezyon kuvvet ve proliferasyon etkilerinin tornalanmış ve sadece SLA işlem uygulanmış titanyum disk yüzeyleriyle *in vitro* şartlarda karşılaştırılması hedeflenmiştir.

#### 3.1. Deney Örneklerinin Hazırlanması

5 mm çapındaki grade 5 titanyum çubuk, CNC torna tezgahında (Hanwha, XP16S, South Korea) 10000 devir/dk hızda işlenerek, 2mm kalınlıkta olacak şekilde toplam 48 adet disk elde edildi (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** CNC torna tezgahında hazırlanan örnekler

Elde edilen örnekler 4 gruba ayrıldı. 1. gruba herhangi bir yüzey işlemi uygulanmadı. 2. gruba SLA prosedürü ASTM (American Society for Testing and Materials) kriterlerine göre uygulandı. 3. ve 4. grup örnek yüzeyleri

selektif lazer ergitme işlemi ile kaplandı. Daha sonra, yüzeyleri kaplanan 4. grup örneklere ek olarak SLA prosedürü uygulandı. (Tablo 3.1) (Şekil 3.2).

**Tablo 3.1.** Deney örneklerinin gruplandırılması

Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (SLA)	Grup 3 (LAZER)	Grup 4 (LAZER+SLA)
Herhangi bir yüzey işlemi yok	SLA prosedürü uygulaması	Selektif Lazer Ergitme işlemi uygulaması	Selektif lazer ergitme işlemi sonrası SLA prosedürü uygulaması



**Şekil 3.2.** Deney örnekleri. Sol üst, Grup 1; sol alt Grup 2; sağ üst Grup 3; sağ alt Grup 4

Daha sonra hazırlanan diskler, yüzeyinin arındırılması amacıyla basınçlı buhar cihazında (Gazella Goldental Stream Cleaning Robot 2035, Silter, Türkiye) distile su kullanılarak temizlendi.

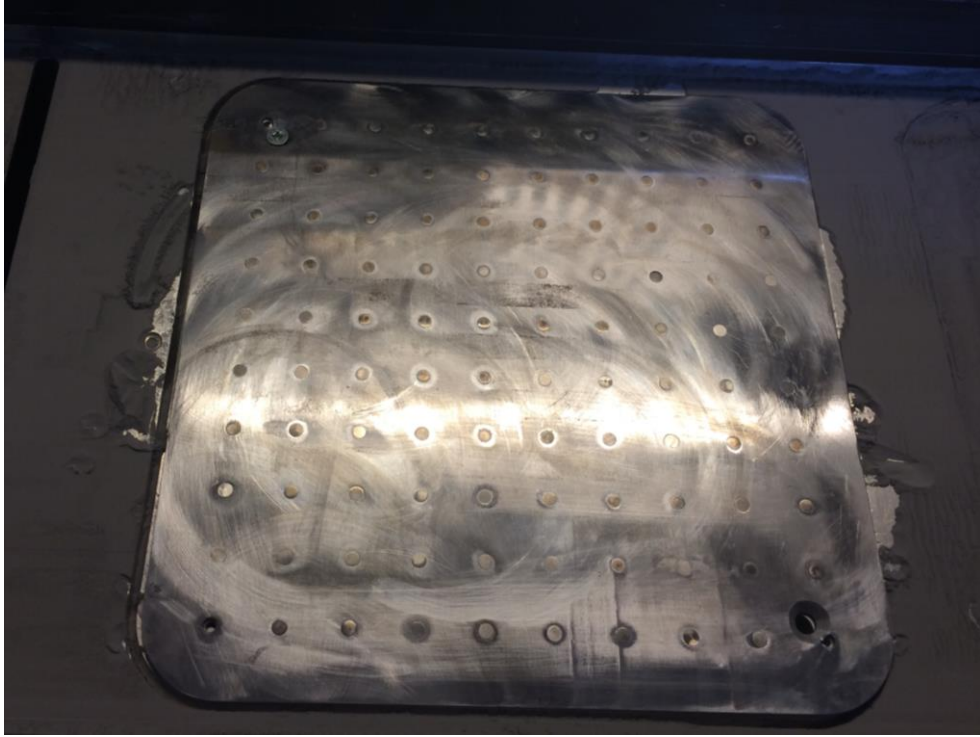
### 3.1.2. Selektif Lazer Ergitme İşlemi

Selektif lazer ergitme işlemi yapılacak 3. ve 4. gruptaki örnekler için paslanmaz çelik bir tabla hazırlandı. Bu tabla, lazer ergitme cihazı (LaserCUSING®, Concept Laser, Hofmann Innovation Group, Germany) (Şekil 3.3) tablasının orjinal boyutlarında üretildi (şekil 3.4).



Şekil 3.3. LaserCUSING cihazı

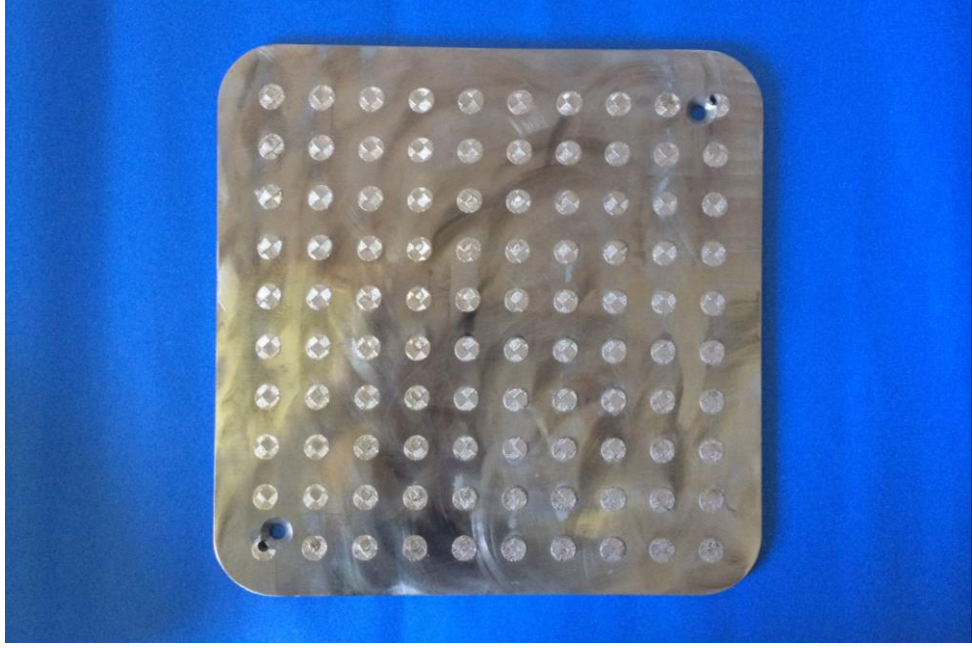




**Şekil 3.4.** LaserCUSING cihazına yerleştirilmiş paslanmaz çelik tabla

Örneklerin çapı genişliğinde (5 mm) ve derinliği 2mm (örneklerin kalınlığı kadar) olacak şekilde tablada yuvalar hazırlandı ve lazer ergitme ile yüzeyi hazırlanacak örnekler bu yuvalara yerleştirildi. 7 m/sa tarama hızı ve 2-20 cm<sup>3</sup>/sa üretim hızıyla örneklerin yüzeyi yaklaşık 60 µm kalınlığında grade 23 titanyum alaşımı ile kaplandı (şekil 3.5).





**Şekil 3.5.** Selektif lazer ergitme işlemi sonrası örnekler

Sinterizasyon sonrası yüzey artıklarının temizlenmesi amacıyla örnekler 5 dakika 25°C'deki distile suda bekletilmesinin ardından, NaOH (20 g/L) ve hidrojen peroksitte (20 g/L) 80 °C'de 30 dakika yıkandı. Daha sonra tekrar 5 dakika boyunca distile suda bekletildi.

### 3.1.2. SLA Prosedürü

SLA yüzey işlemi tornalanmış ve selektif lazer ergitme uygulanmış örnekler olmak üzere iki ayrı gruba yapıldı (2. grup ve 4. grup). İşlem basamakları aşağıdaki gibi uygulandı.

1- Örnek yüzeyleri 30 µm büyüklüğündeki Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> partikülleri (F240, Kuhmichel Abrasiv GmbH, Germany) ile 6 bar basınçta 20 sn boyunca kumlandı.

2- Ön yıkama:

Ön yıkama işlemi, ultrasonik temizleme cihazı (Wattson Yıkama Sistemleri, Türkiye) kullanılarak yapıldı (Şekil 3.6). Örnekler sırasıyla saf aseton (Acetone EMPROVE®, Merck, US), %96'lık derişimdeki etanol (Ethanol Extra Pure, Merck, US) ve distile su ile 80°C 'de 15'er dakika yıkandı.



**Şekil 3.6.** Wattson ultrasonik yıkama cihazı

### 3- Asitleme

1. aşama: 80 °C'de %48'lik derişimdeki  $H_2SO_4$  (Merck, US) ile 20 dakika asitleme
2. aşama: 80 °C'de %18'lik derişimdeki HCl (Merck,US) ile 20 dakika asitleme
3. aşama: %27'lik derişimdeki  $NaHCO_3$  (Merck, US) ile 10 dakika nötralizasyon
4. aşama: Distile su ile 10'ar dakika boyunca 5 defa yıkama
5. aşama: 80 °C'de %8'lik derişimdeki  $HNO_3$  (Merck, US) ile 20 dakika asitleme
6. aşama: %27'lik derişimdeki  $NaHCO_3$  (Merck, US) ile 10 dakika nötralizasyon
7. aşama: Distile su ile 10'ar dakika boyunca 5 defa yıkama işlemleri Şekil 3.7 'deki ultrasonik cihazlar (Wattson Yıkama Sistemleri, Türkiye) kullanılarak yapıldı.



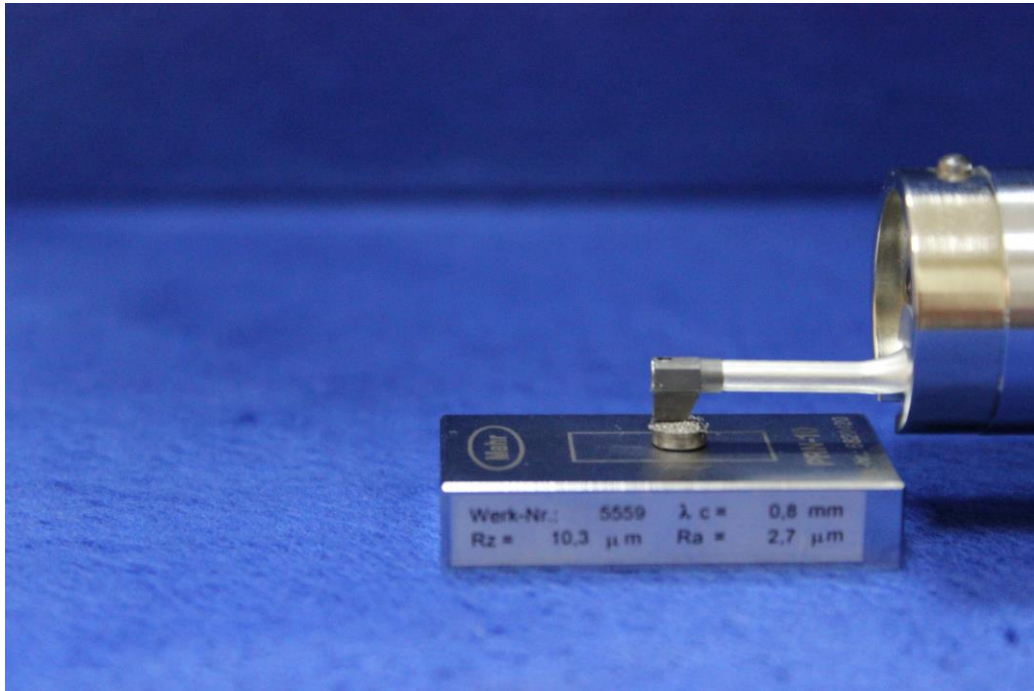
**Şekil 3.7.** Asitleme ve nötralizasyon işlemlerinin yapıldığı cihazlar (Wattson Yıkama Sistemleri, Türkiye)

### 3.2. Örneklerin Yüzey Pürüzlülüklerinin Ölçümü

Gruplardaki her bir örneğin yüzey pürüzlülüğü, Mahr profilometre cihazı (Mahr GmbH, Göttingen, Germany) (Şekil 3.8) ile Ra değerleri ölçülerek belirlendi. Ölçüm öncesi, örnek yüzeylerinde olası debrisin giderilmesi amacıyla, örnekler %96'lık etanol (Ethanol Extra Pure, Merck, US) içinde, 10 dakika ultrasonik banyoda temizlendi. Ölçüm uzunluğu olarak 1,7 mm kabul edildi. Her bir örneğin yüzeyinden üç ayrı ölçüm yapıldı ve bu ölçümlerin aritmetik ortalamaları elde edilerek Ra değerleri kaydedildi (şekil 3.9). Her 10 ölçümde bir, cihazın kalibrasyonu kontrol edildi.



Şekil 3.8. Mahr profilometre cihazı



Şekil 3.9. Örnek yüzeyinde pürüzlülük ölçümü

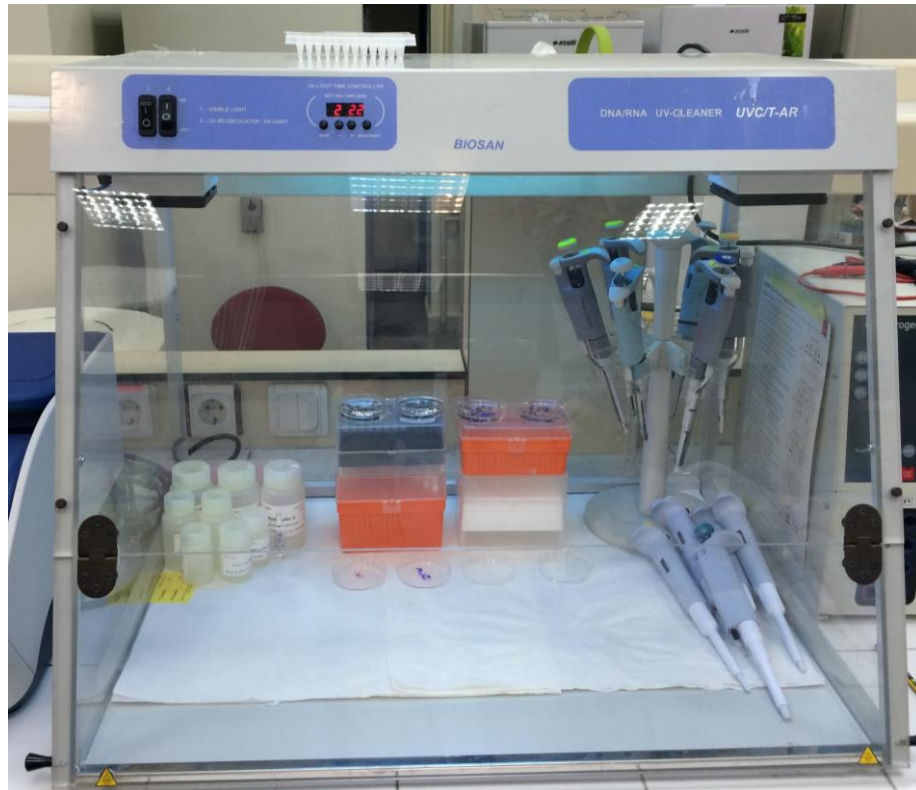


### 3.3. SEM ile Yüzey Değerlendirilmesi

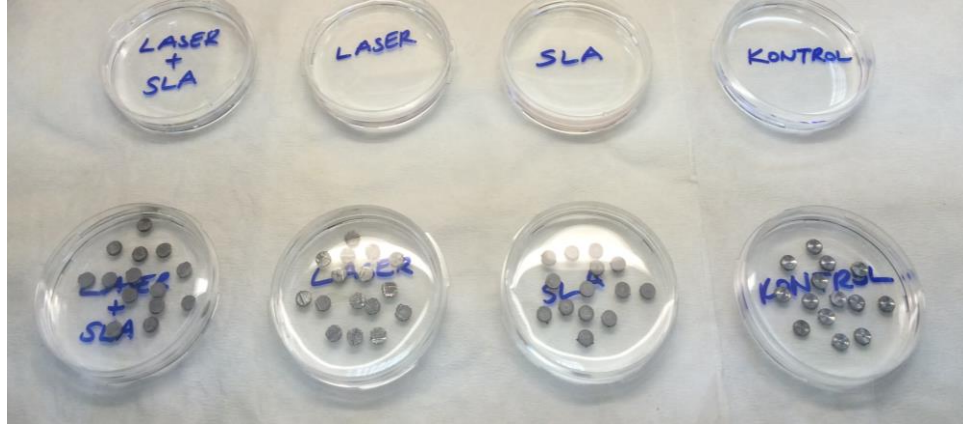
SEM ile yüzey topografisinin incelenmesi amacıyla her gruptan birer örneğin yüzey görüntüsü alındı. Örnekler metal tablalar üzerine iki taraflı yapışkan bant ile yapıştırıldı. Daha sonra kaplama cihazı (BIO-RAD, England) ile 100 Angstrom kalınlıkta altın-palladyum karışımı ile kaplandı. Desikatörde 1 gün süreyle bekletildikten sonra taramalı elektron mikroskobu (Jeol SEM-ASID 10, Japan) ile X200 ve X500 büyütmelemlerde fotoğraflandı.

### 3.4. Sterilizasyon

Numune yüzeylerine HGF-1 hücrelerinin ekimi öncesinde, örneklerin sterilizasyonu sağlandı. Bunun için örnekler %96'lık derişimdeki etanol (Ethanol Extra Pure, Merck, US) içerisinde 40 dakika UV ışığına maruz bırakıldı. (Ultraviyole Sterilizasyon Kabini, Biosan, Ukrayna) (Şekil 3.10). Daha sonra 2 kez distile suyla ve 2 kez PBS (Phosphate Buffered Saline) tampon ile yıkanarak hücre ekimi için uygun hale getirildi (Şekil 3.11).



Şekil 3.10. Biosan ultraviyole sterilizasyon kabini



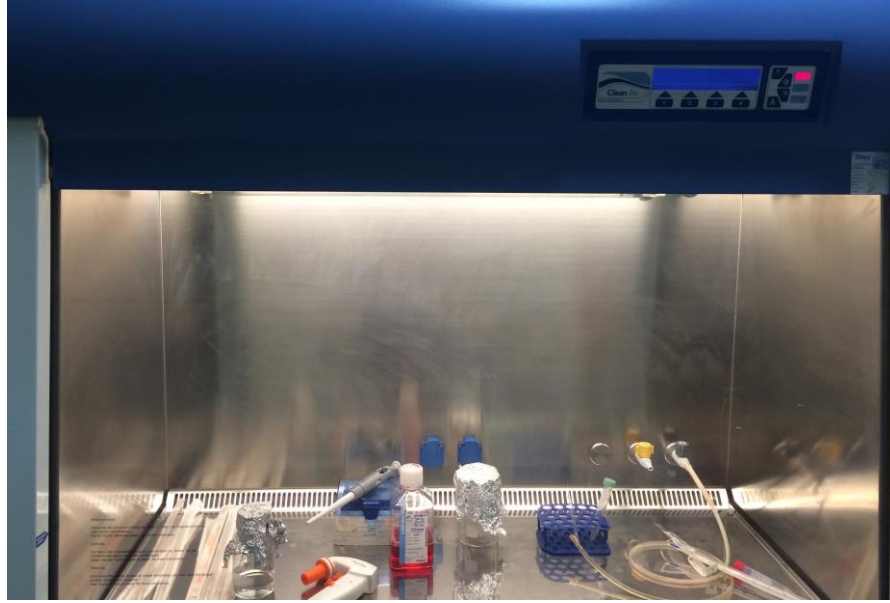
**Şekil 3.11.** PBS tampon içindeki steril örnekler

### 3.5. HGF-1 Hücrelerinin Ekimi ve Pasajlanması

Biyolojik deney aşaması için insan dişeti fibroblastı (Human gingival fibroblast, HGF-1, ATCC, CRL46 2014, USA) hücre hattı kullanıldı. Bu hücre hattı Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi Biyoteknoloji Laboratuvarları'ndan  $-86^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuş olarak, deneylerin yapılacağı Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na getirildi. Dondurulmuş hücreler  $37^{\circ}\text{C}$  su banyosunda (Mettler WNB, Germany) çözündürüldü (Şekil 3.12). Bütün hücre kültürü işlemleri laminar akış kabini (CleanAir Technik, Netherlands) içerisinde gerçekleştirildi (Şekil 3.13).

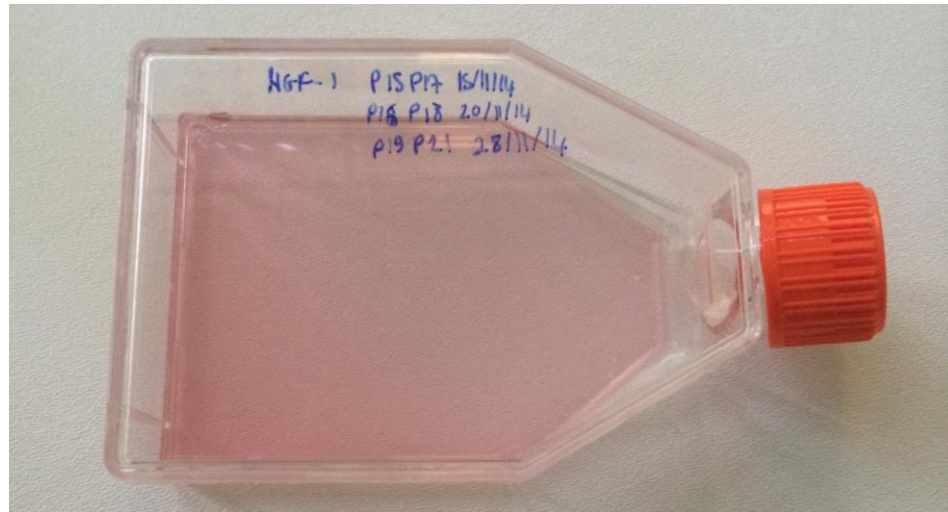


**Şekil 3.12.** Memmert su banyosu



**Şekil 3.13.** Laminar akış kabini

Çözdürülmüş hücreler %10 FBS (Fetal Bovine Serum), %1 L-Glutamin ve %1 Penisilin/Streptomisin içeren 15 ml DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ortamına ekildi (Şekil 3.14).

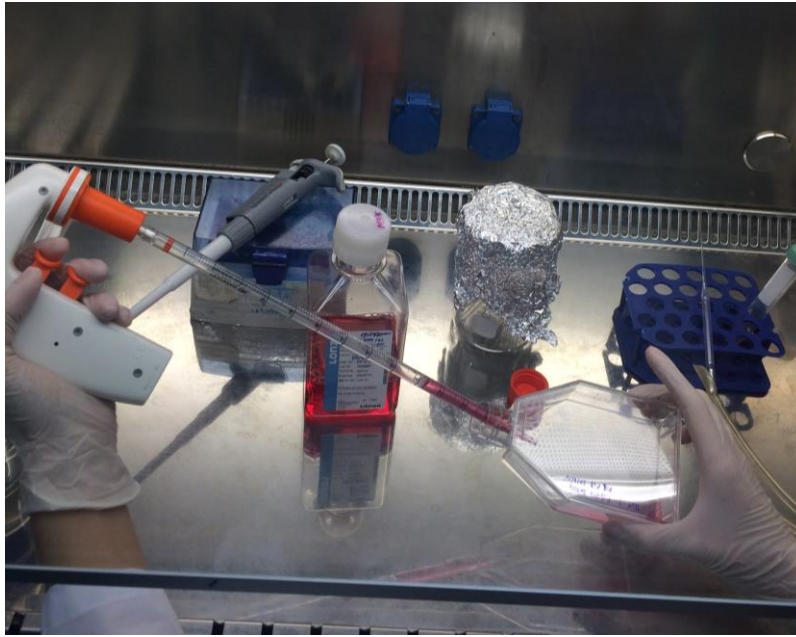


**Şekil 3.14.** DMEM solüsyonu içerisindeki HGF-1 hücreleri

Hücrelerin çoğalması her gün ışık mikroskopunda (Nicon Eclipse TS100, USA) (Şekil 3.15) izlenip iki günde bir buldukları eski DMEM ortamı aspire edilerek 15 ml FBS'li DMEM eklendi (Şekil 3.16, Şekil 3.17).

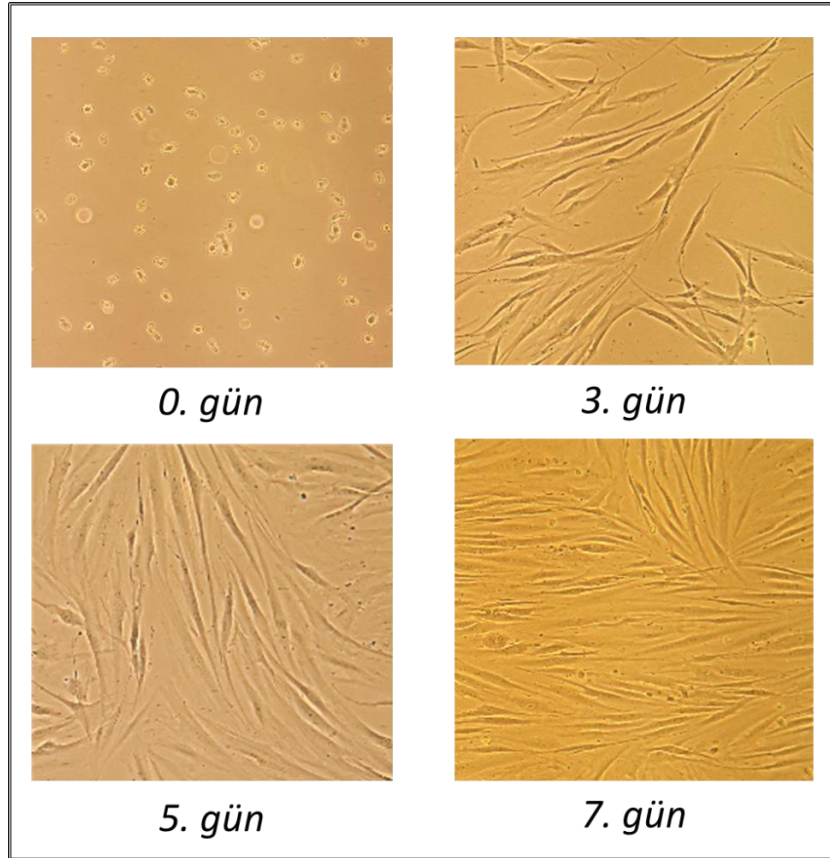


**Şekil 3.15.** Nicon TS100 ışık mikroskobu



**Şekil 3.16.** Yüzeğe tutunmuş hücelere 15 ml DMEM eklenmesi





**Şekil 3.17.** HGF-1 hücrelerinin 0., 3., 5., 7. günlerde, ışık mikroskobu altındaki görüntüleri

Hücreler kültür kabı içinde %90 doluluğa ulaştığı zaman eski DMEM ortamı aspire edildi. 3 ml Tripsin-EDTA eklenip inkübatör (Sanyo MCO-18, Japonya) içinde birkaç dakika inkübe edilerek hücrelerin tutundukları kültür kabının tabanından kaldırılması sağlandı (Şekil 3.18). Hücreler inkübatörden çıkarılıp, üzerine 7 ml FBS içeren soğuk DMEM eklendi ve hücreler Hettich Rotina 35R (Germany) isimli cihazda 250 x g' de 10 dakika süreyle santrifüjlendi (Şekil 3.19). Bu sürenin sonunda supernatant aspire edilerek çöken hücrenin üzerine 2 ml taze FBS içeren DMEM eklendi. Hücreler pipet yardımıyla alt-üst edilerek hücrelerin DMEM içinde çözülmesi sağlandı. Hücreler 1/8 oranında pasajlanıp 15 ml FBS'li DMEM içeren kültür kabına eklendi.



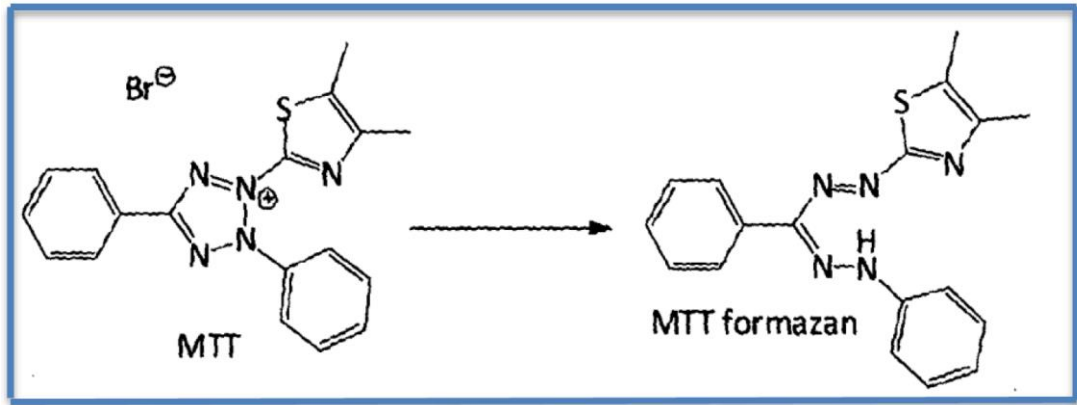
Şekil 3.18. Sanyo MCO-18 model inkübatör



Şekil 3.19. Hettich Rotina 35R santrifüj cihazı

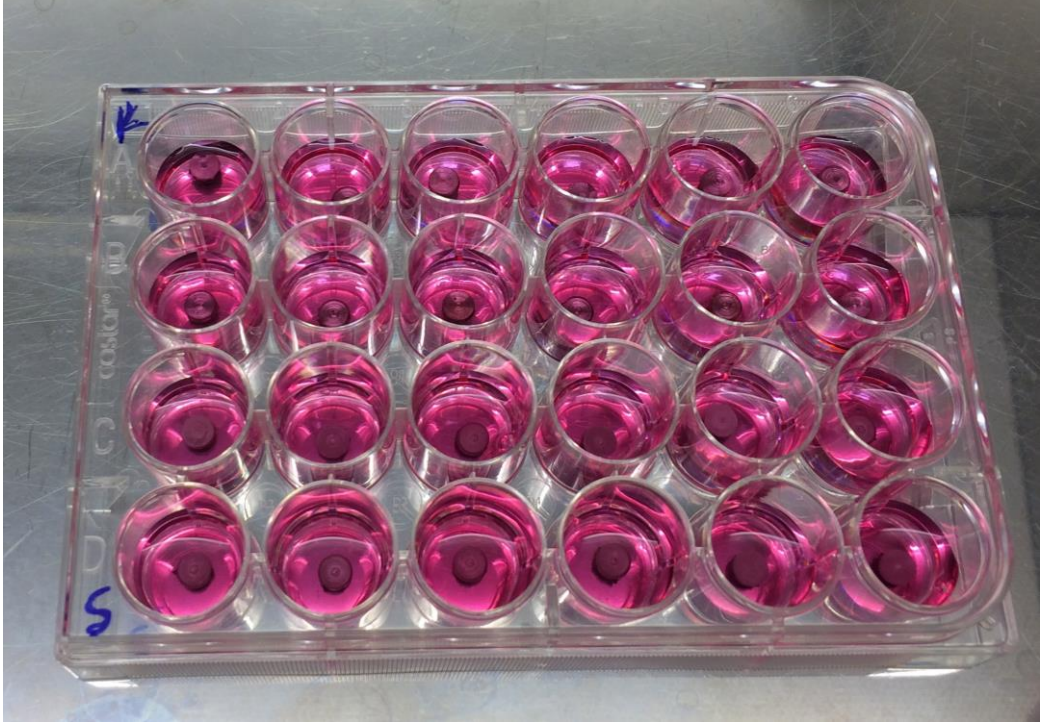
### 3.6. MTT Canlılık Deneyi

3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-difeniltetrazolyum bromür (MTT) sitotoksite deneyi, sarı renkli MTT solüsyonunun hücrel enzim aktivitesi ile mor renkli formazana indirgenmesi esasına dayanan (Şekil 3.20), hücre büyümesinin veya hücre ölümünün indirekt olarak değerlendirilmesini amaçlayan bir deneydir.



Şekil 3.20. MTT tepkimesinin esası

HGF-1 hücreleri 24 kuyucuklu hücre kültürü plakalarına her bir kuyucukta 27000 hücre olacak şekilde titanyum örneklerle birlikte ekildi (Şekil 3.21). 1 ml FBS içeren DMEM eklendi 37°C 'de CO<sub>2</sub> içeren ortamda inkübasyona bırakıldı (n=8).



**Şekil 3.21.** 24 kuyucuklu plakalara hücre ekimi

Örnekler 24, 48 ve 72. saatlerde MTT deneyi için 96 kuyucuklu plakalara aktarıldı. Belirlenen kuyucuklara FBS'siz DMEM eklendi. Üzerine 5 mg/ml'lik stok çözümden 20 µl MTT solüsyonu eklendi. 4 saat 37°C'de inkübatörde inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kuyucuklara %23 Sodyum dodesilsülfat (SDS) ve %45 dimetilformamid (DMF) içeren MTT çözücü solüsyonu eklendi. Bu işlem sonrasında, ELISA plaka okuyucuda (Biotek, PowerWave XS, US) (Şekil 3.22) 590 nm dalga boyunda absorban değerleri ölçüldü ve kaydedildi.

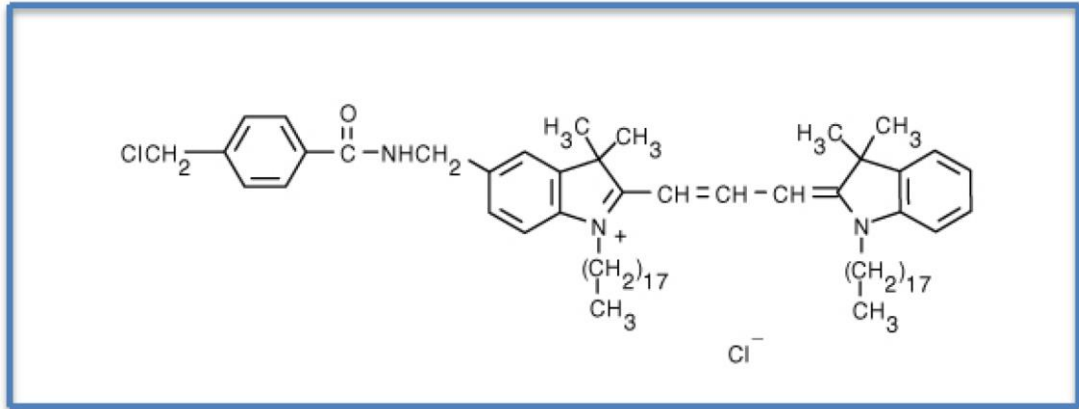


**Şekil 3.22.** ELISA plaka okuyucu

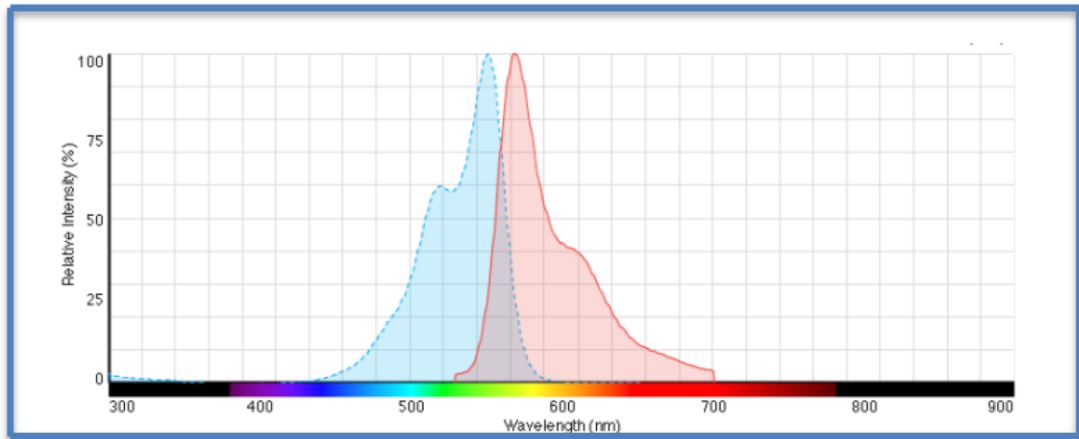
### 3.7. Dil Boyama Deneyi

Bu çalışmada oldukça yüksek lipofilik özellikleri ile bilinen karbosiyanin Dil boyası hücrelerin floresan görüntülenmesinde kullanıldı. Bu özellikteki boyalar hücre-hücre füzyonunda, hücre göçünde, hücresel yapışmada düşük sitotoksik etkiye sahiptir. Özellikle adherent hücrelerin görüntülenmesinde hücre ve çekirdek membranından geçerek sitoplazmaya ve çekirdeğe nüfuz eder ve replike olan hücrelerin yüksek özgüllükle görüntülenmesine olanak tanır. Şekil 3.23 'te Dil boyasının kimyasal yapısı, Şekil 3.24'te eksitasyon-emisyon spektrum değerleri verilmiştir.





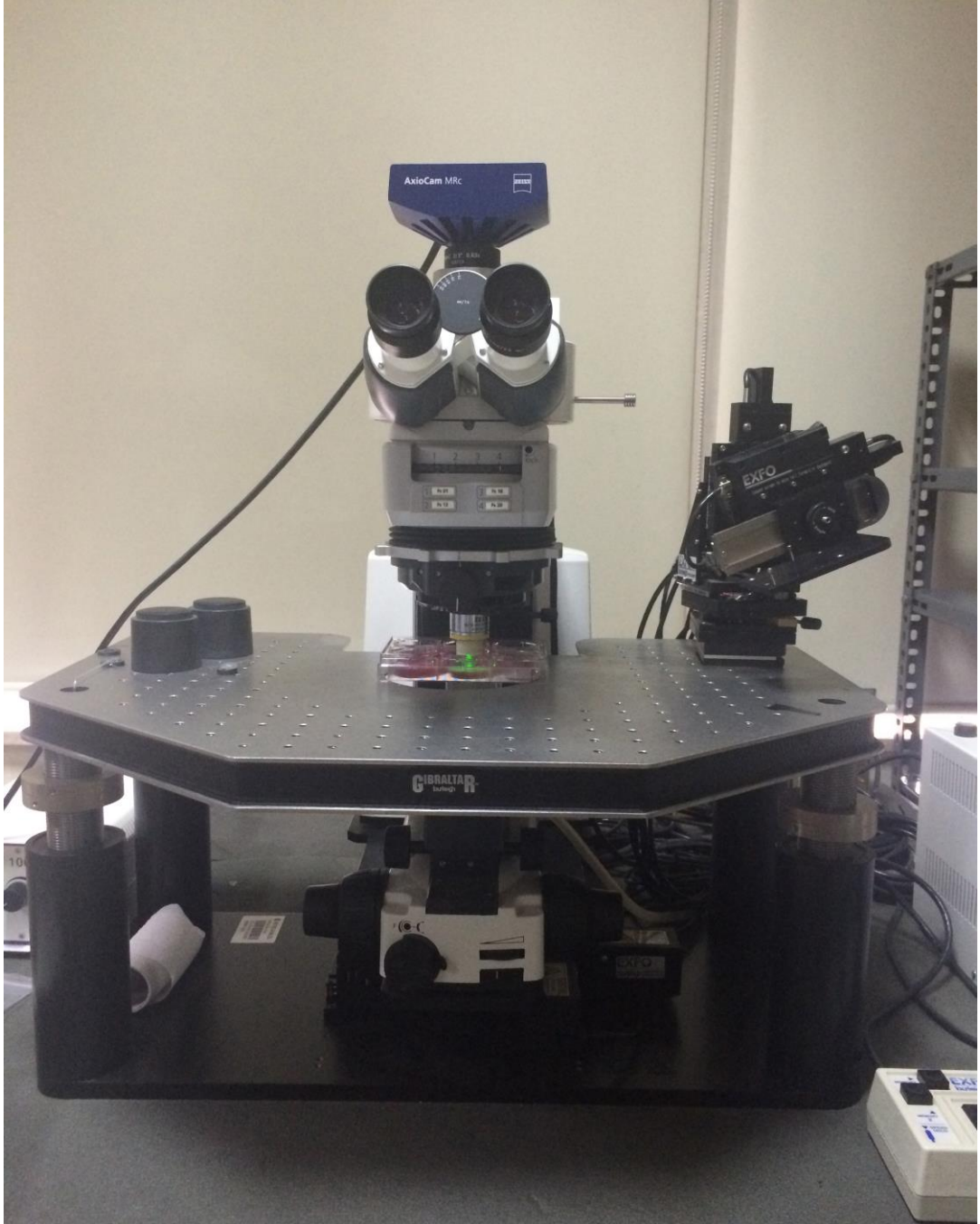
**Şekil 2.23.** Dil boyasının kimyasal yapısı



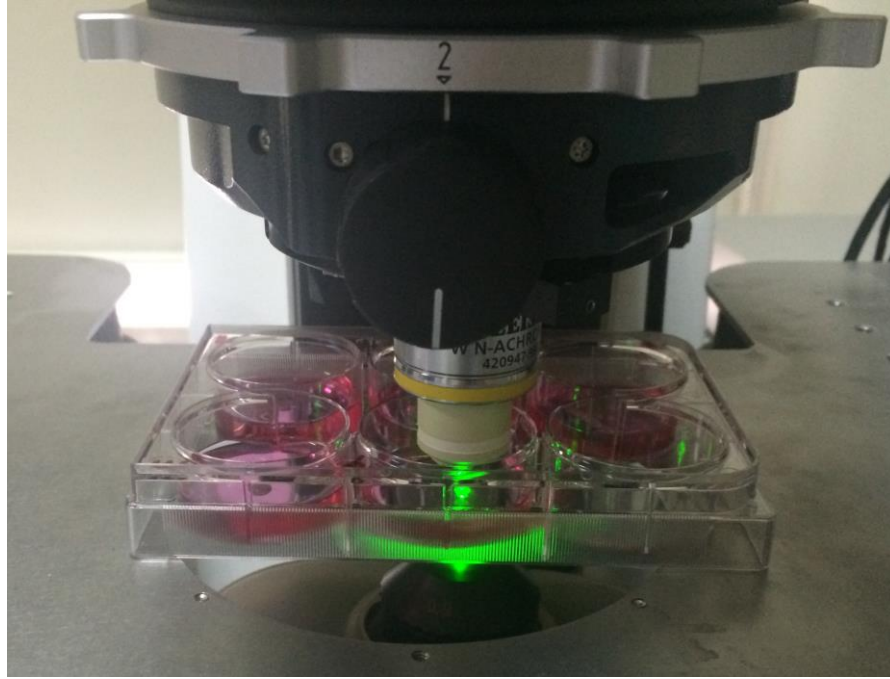
**Şekil 3.24.** Eksitasyon-emisyon eğrisi

%80 doygunluğa ulaşan hücreler tripsinize edildi ve 250 g'de santrifüj edildikten sonra supernatant uzaklaştırılarak pellet FBS ve P/S (penisilin/streptomisin) içermeyen 1 ml'lik besiyerinde çözüldü. Hücrelerin üzerine 5 µl Dil boyası eklendi ve 37°C'de 45 dakika inkübe edildi. Hücreler inkübasyonu sürecini takiben kuyucuk başına 30000 hücre olacak şekilde 6'lık plakalara eklendi. Kuyucuklardan bir tanesi deney kontrolü olarak kullanılırken dört kuyucuğa sırasıyla Kontrol, Laser, SLA ve Laser+SLA titanyum örnekler, her gruptan birer adet olacak şekilde, yerleştirildi. Hücrelerin üzerine FBS içermeyen P/S içeren yaklaşık 4 ml DMEM besiyeri eklendi ve 37 °C'de % 5'lik CO<sub>2</sub> içeren inkübatöre kaldırılıp 48 saat bekletildi. 48 saatlik inkübasyon sonunda hücreleri ve örnekleri içeren plaka floresan mikroskopunda görüntülenmek üzere Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyofizik Anabilim Dalına taşındı. Şekil 3.25 ve Şekil 3.26'da görüldüğü gibi Zeiss Examiner A1 marka floresans mikroskobu kullanılarak 10x ve 40x büyütme ile örnek yüzeyinden görüntüler alındı.



**Şekil 3.25.** Zeiss Examiner A1 floresan mikroskobu



**Şekil 3.26.** 6'lık plakalara konulan örneklerin floresan mikroskobunda incelenmesi

### **3.8. Verilerin Değerlendirilmesi**

Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS (Version 20.0, Statistical Packages for the Social Sciences, SPSS Inc., US) istatistiksel yazılım programı kullanılarak yapıldı. Grafikler GraphPad (Version 5.03) kullanılarak çizildi. MTT deney sonuçlarının ve ortalama yüzey pürüzlülüğü değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) kullanıldı. İstatistiksel p değerinin 0,05'ten küçük olduğu durumlar anlamlı farklılık olarak kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Bu çalışmada Grade 5 titanyum diskler üzerinde yapılan yüzey işlemleri sonrası yüzey pürüzlülüğü ölçümleri, SEM ile x200 ve x500 büyütmede yüzey görüntüleri, HGF-1 hücrelerinin yüzeylere ekimini takip eden 24., 48. ve 72. saatlerdeki MTT bulguları ve 48. saatteki Dil boyama testi sonrası floresan mikroskop fotoğrafları elde edilmiştir.

### 4.1. Yüzey Pürüzlülüğü Ölçüm Bulguları

Gruplardaki her bir örnek yüzeyinin 3 farklı bölgesinden elde edilen Ra değerlerinin aritmetik ortalamaları Tablo 4.1'de, gruplara ait istatistiksel veriler Tablo 4.2'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Deney örneklerine ait pürüzlülük değerleri ( $\mu\text{m}$ )

Örnek No	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (SLA)	Grup 3 (LAZER)	Grup 4 (LAZER+SLA)
1	0,5	2,0	2,3	3,4
2	0,7	1,8	2,3	3,4
3	0,7	1,7	2,2	3,5
4	0,6	1,7	2,5	3,6
5	0,5	1,8	2,3	3,3
6	0,7	1,7	2,4	3,5
7	0,6	1,8	2,1	3,4
8	0,6	1,7	2,3	3,7
9	0,6	1,8	2,4	3,4
10	0,5	1,9	2,3	3,5
11	0,5	1,8	2,3	3,4
12	0,6	1,7	2,3	3,5

**Tablo 4.2.** Yüzey pürüzlülüğüne ait istatistiksel veriler

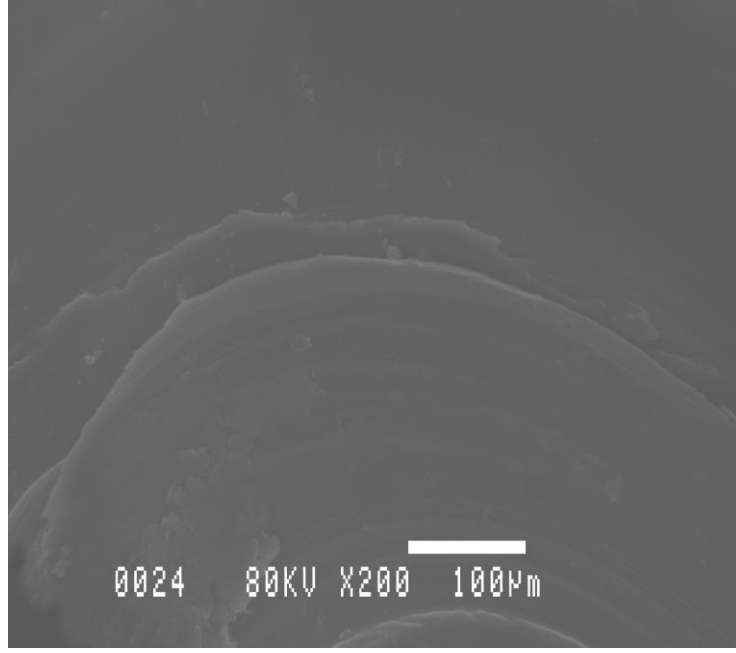
<b>Gruplar</b>	<b>n</b>	<b>Ortalama</b>	<b>Standart Sapma</b>	<b>Minimum Değer</b>	<b>Maksimum Değer</b>
<b>Kontrol</b>	12	0,591667	0,079296	0,5	0,7
<b>SLA</b>	12	1,783333	0,093744	1,7	2,0
<b>Lazer</b>	12	2,308333	0,09962	2,1	2,5
<b>Lazer+SLA</b>	12	3,466667	0,107309	3,3	3,7

Yüzey pürüzlülüğü açısından, yüzey işlemi gören grupların birbirleri ve kontrol grubu ile karşılaştırılması amacıyla gruplar arası karşılaştırma yapılmıştır. Gruplara ait Ra değerlerinin, istatistiksel normal dağılıma uygun dağılım gösterdiği belirlendiğinden, deney gruplarının birbirleri ile karşılaştırılması amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Bu testin sonuçlarına göre tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

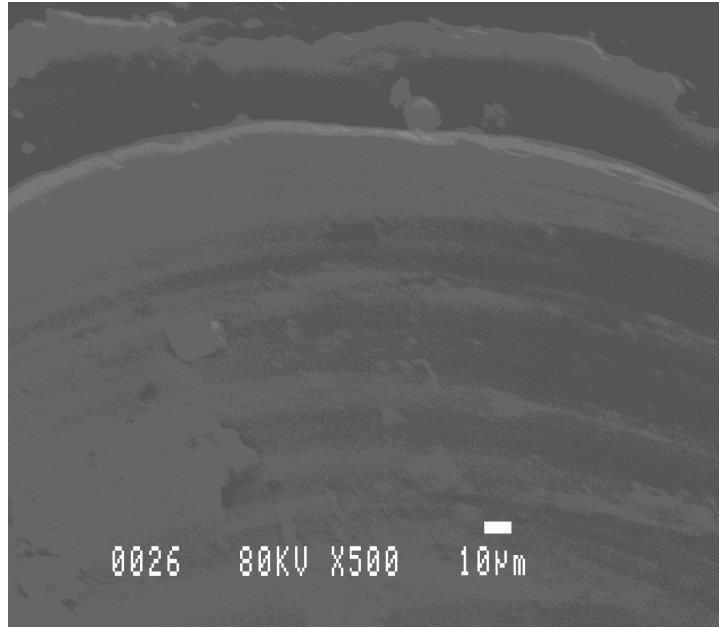
#### **4.2. SEM Bulguları**

Yüzeylere HGF-1 ekimi öncesi, her gruptan birer örneğin x200 ve x500 büyütmede SEM ile fotomikroskopi bulguları kaydedilerek yüzey topografileri incelenmiştir.

İlk grup olan tormalanmış yüzeye sahip kontrol grubunun 200 kat büyütmedeki görüntüsü Şekil 4.1'de, 500 kat büyütmedeki görüntüsü Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



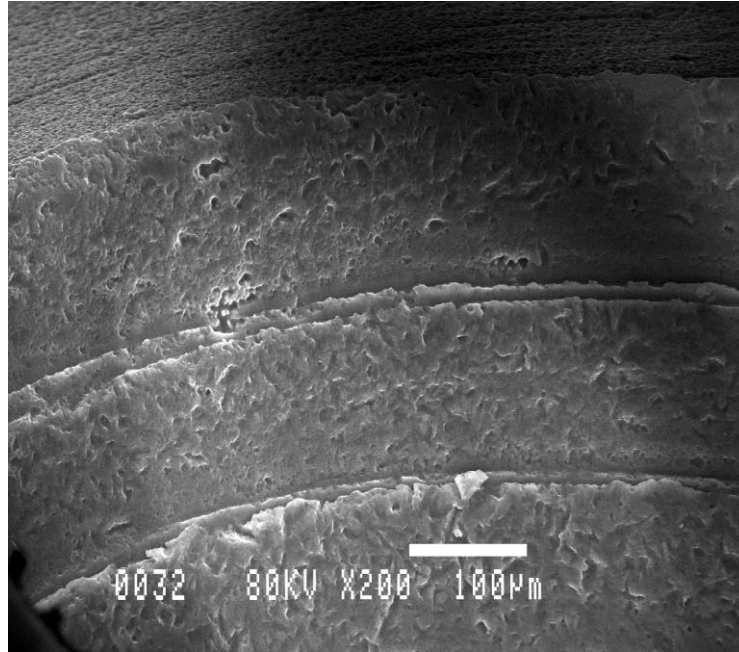
**Şekil 4.1.** Kontrol grubunun 200 kat büyütmedeki SEM görüntüsü



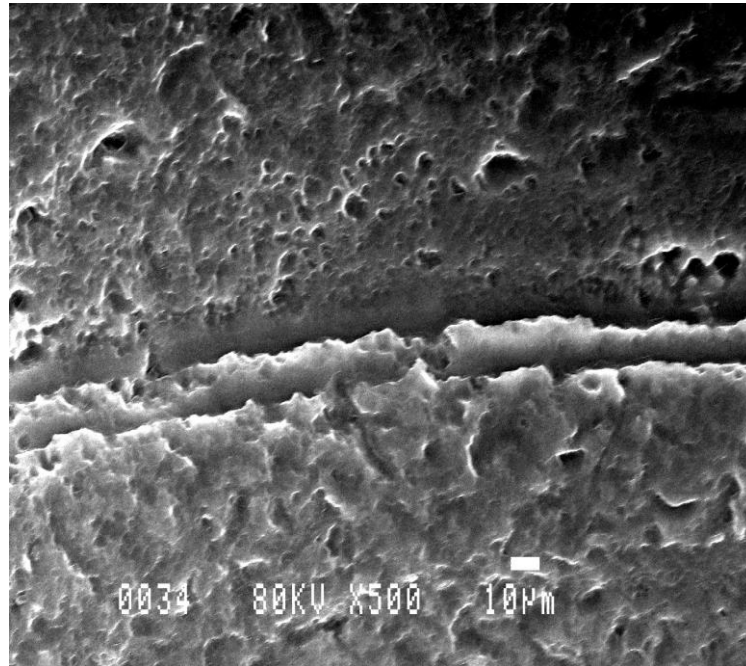
**Şekil 4.2.** Kontrol grubunun 500 kat büyütmedeki SEM görüntüsü

Her iki fotoğrafta da yüzeyler pürüzsüze yakın bir görüntü vermiştir.

İkinci grup sadece SLA prosedürü uygulanmış örnek yüzeylerinin 200 ve 500 kat büyütmelerdeki görüntüleri sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



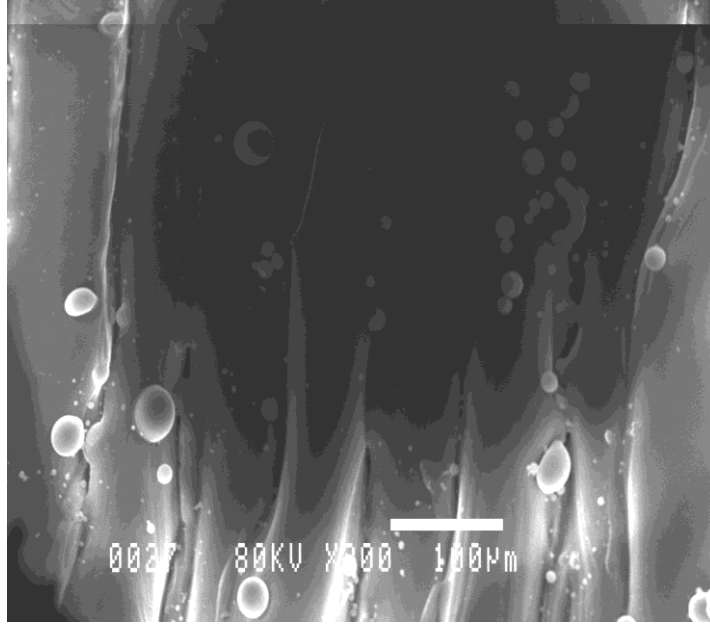
**Şekil 4.3.** İkinci grup yüzeyin 200 kat büyütmedeki SEM görüntüsü



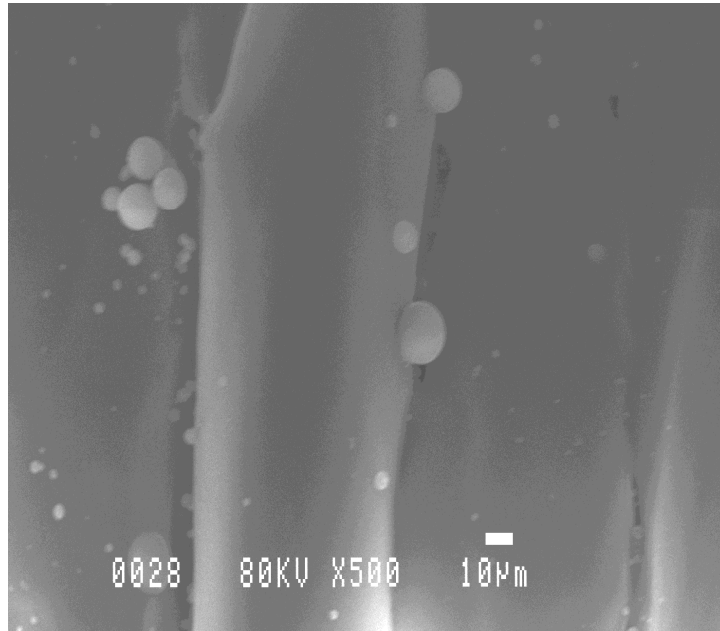
**Şekil 4.4.** İkinci grup yüzeyin 500 kat büyütmedeki SEM görüntüsü

Sadece SLA işlemi uygulanmış ikinci grup örnek yüzeyinde düzensiz ve yoğun pürüzlülük gözlenmektedir.

Üçüncü grup selektif lazer ergitme işlemi ile kaplanan yüzeylerin x200 ve x500 büyütmelerdeki görüntüleri Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



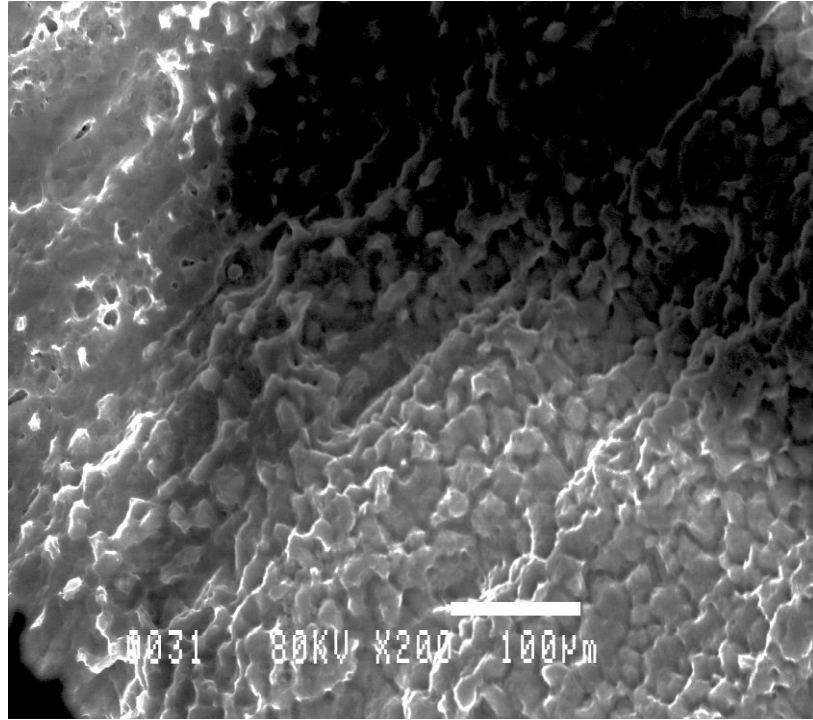
**Şekil 4.5.** Üçüncü grup yüzeyin 200 kat büyütmedeki SEM görüntüsü



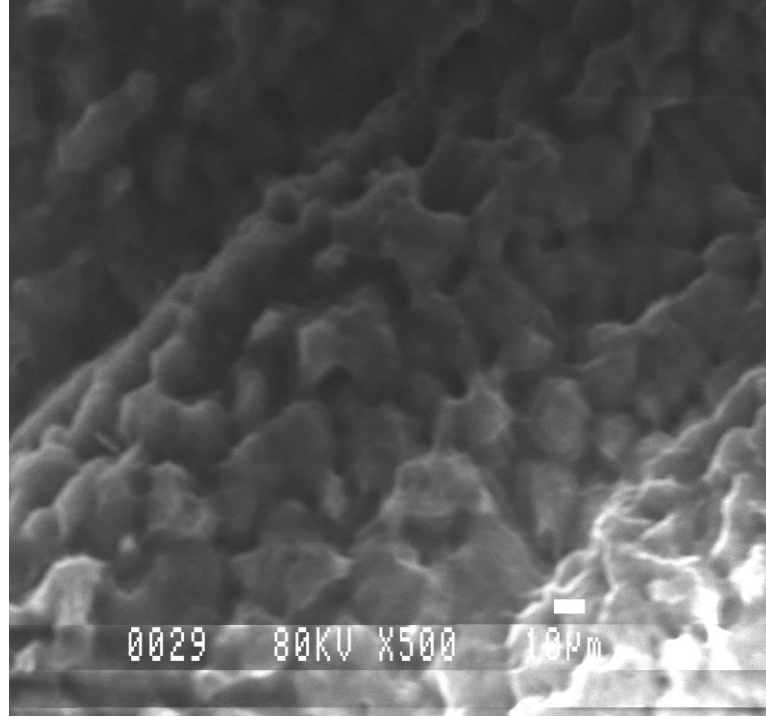
**Şekil 4.6.** Üçüncü grup yüzeyin 500 kat büyütmedeki SEM görüntüsü

Elde edilen SEM görünlürlerine göre selektif lazer ergitme ile kaplanan yüzeylerde 2. grup örnek yüzeyinden farklı olarak daha düzenli, birbirine paralel seyreden bir yüzey topografisi görülmektedir. Yüzeyde görülen küçük kabartılar, ısıl işleme bağlı buharlaşma ile birlikte ergitme sonrası yüzeydeki oksit katmanına ait görüntülerdir.

Dördüncü grup hem selektif lazer ergitme ve SLA işlemi yapılan örnek yüzeyinin 200 ve 500 kat büyütmelerdeki SEM görüntüleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.7.** Dördüncü grup yüzeyin 200 kat büyütmedeki görüntüsü



**Şekil 4.8.** Dördüncü grup yüzeyin 500 kat büyütmedeki görüntüsü

Hem selektif lazer ergitme hem de SLA işlemi yapılan dördüncü grup yüzeyin topografisi sadece SLA işlemi yapılan grup 2'ye benzer tiptedir. Ancak grup 2'den farklı olarak çok daha yoğun ve düzensiz yapıda pürüzlülük görülmektedir.

### **4.3. MTT Sitotoksisite Deneyi Bulguları**

Her bir deney grubuna ait HGF-1 adezyon verileri normal dağılım yönünden incelenmiştir. Verilerin istatistiksel normal dağılıma uygun dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farkın belirlenmesi için tek tönü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Gruplar arasında fark bulunduğu, farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını belirlemek için post-hoc olarak Tukey testi kullanılmıştır.

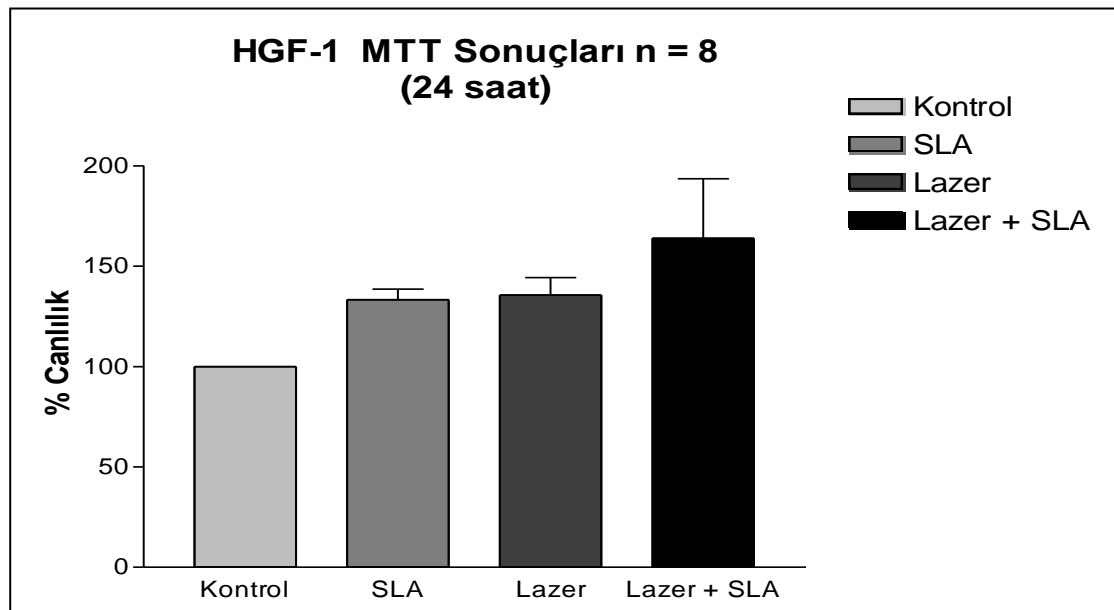
#### **4.3.1. 24. Saat Bulguları**

MTT sitotoksisite deneyi bulgularına göre, titanyum yüzeyler üzerindeki HGF-1 adezyonunun 24. saat değerleri Tablo 4.3' te, grafiksel

gösterimi Şekil 4.9'da verilmiştir. Gruplara ait istatistiksel veriler Tablo 4.4' te gösterilmektedir. Veriler 590 nm dalga boyundaki absorbans değerleridir.

**Tablo 4.3.** HGF-1 adezyon deneyi bulguları (24. Saat)  
(Absorbans)

Örnek no	Kontrol	SLA	Lazer	Lazer+SLA
1	0,158	0,159	0,157	0,212
2	0,16	0,156	0,181	0,137
3	0,088	0,147	0,138	0,081
4	0,13	0,134	0,153	0,203
5	0,111	0,159	0,138	0,214
6	0,119	0,144	0,147	0,152
7	0,135	0,153	0,143	0,203
8	0,147	0,148	0,154	0,138



**Şekil 4.9.** HGF-1 MTT sonuçları (24. saat)



**Tablo 4.4.** Gruplara ait istatistiksel veriler (24. saat)

Deney Grupları	n	Ortalama	Standart Sapma	Minumum Değer	Maksimum Değer
Kontrol	8	0,131	0,0246	0,088	0,16
SLA	8	0,15	0,008552	0,134	0,159
Lazer	8	0,151375	0,013969	0,138	0,181
Lazer+SLA	8	0,1675	0,048086	0,081	0,214

24. saat MTT sonuçlarına göre en yüksek hücre proliferasyon değerleri Lazer+SLA grubunda, en düşük değerler kontrol grubunda gözlenmiştir. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,106$ ).

#### 4.3.2. 48. Saat Bulguları

48. saat MTT bulguları Tablo 4.5' te, gruplara ait istatistiksel veriler Tablo 4.6' da verilmektedir. Örneklerin grafiksel karşılaştırılması Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

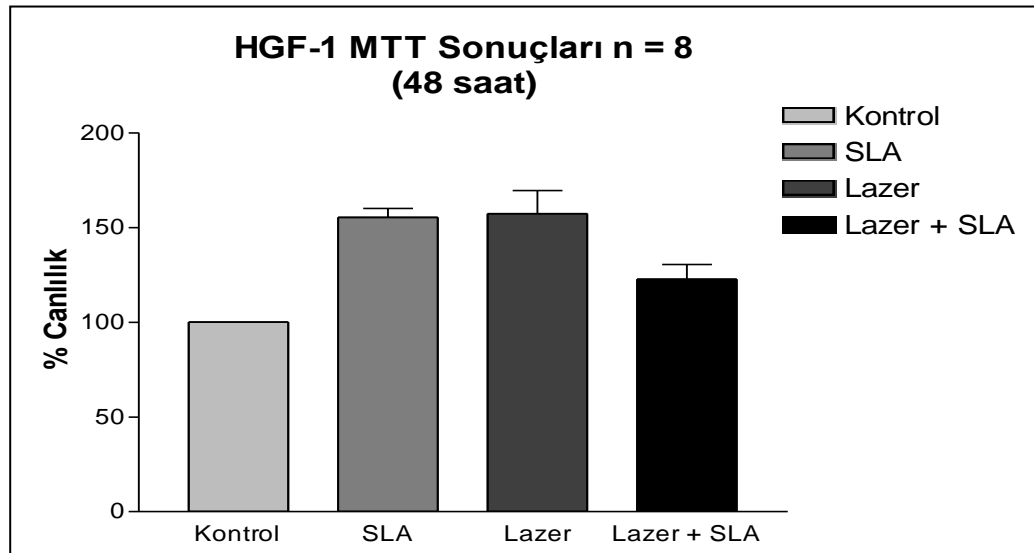
**Tablo 4.5.** HGF-1 adezyon deneyi bulguları (48. saat)

(Absorbans)

Örnek no	Kontrol	SLA	Lazer	Lazer+SLA
1	0,124	0,184	0,14	0,157
2	0,146	0,194	0,166	0,173
3	0,146	0,189	0,217	0,126
4	0,151	0,167	0,202	0,162
5	0,153	0,173	0,198	0,167
6	0,147	0,182	0,172	0,162
7	0,138	0,178	0,185	0,155
8	0,144	0,191	0,189	0,174

**Tablo 4.6.** Gruplara ait istatistiksel veriler (48. saat)

Deney Grupları	n	Ortalama	Standart Sapma	Minumum Değer	Maksimum Değer
Kontrol	8	0,143625	0,09117	0,124	0,153
SLA	8	0,18225	0,009254	0,167	0,194
Lazer	8	0,183625	0,024017	0,14	0,217
Lazer+SLA	8	0,1595	0,015166	0,126	0,174

**Şekil 4.10.** HGF-1 MTT sonuçları (48. saat)

48. saatte, ANOVA testi ve post-hoc test olarak kullanılan Tukey sonuçlarına göre gruplar arasındaki hücre proliferasyon değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur (Tablo 4.7). Buna göre;

- Kontrol grubu ile Lazer+SLA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
- SLA grubu ile Lazer grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken ( $p > 0,05$ ), bu iki grubun Kontrol ve Lazer+SLA grubundan anlamlı olarak daha fazla HGF-1 adezyonu sağladığı belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ).

**Tablo 4.7.** HGF-1 proliferasyonu açısından gruplar arası farklılığın istatistiksel karşılaştırılması (48. saat)

<b>ANOVA&amp;TUKEY</b>	Kontrol	SLA	Lazer	Lazer+SLA
Kontrol				
SLA	$p<0,001^*$			
Lazer	$p<0,001^*$	$p=0,998$		
Lazer+SLA	$p=0,2$	$p<0,05^*$	$p<0,05^*$	

\*:İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

### 4.3.3. 72. Saat Bulguları

Grupların 72. saatteki MTT bulguları ise Tablo 4.8' de, gruplara ait istatistiksel veriler Tablo 4.9' da verilmektedir. Şekil 4.11'de grupların grafiksel karşılaştırılması gösterilmiştir.

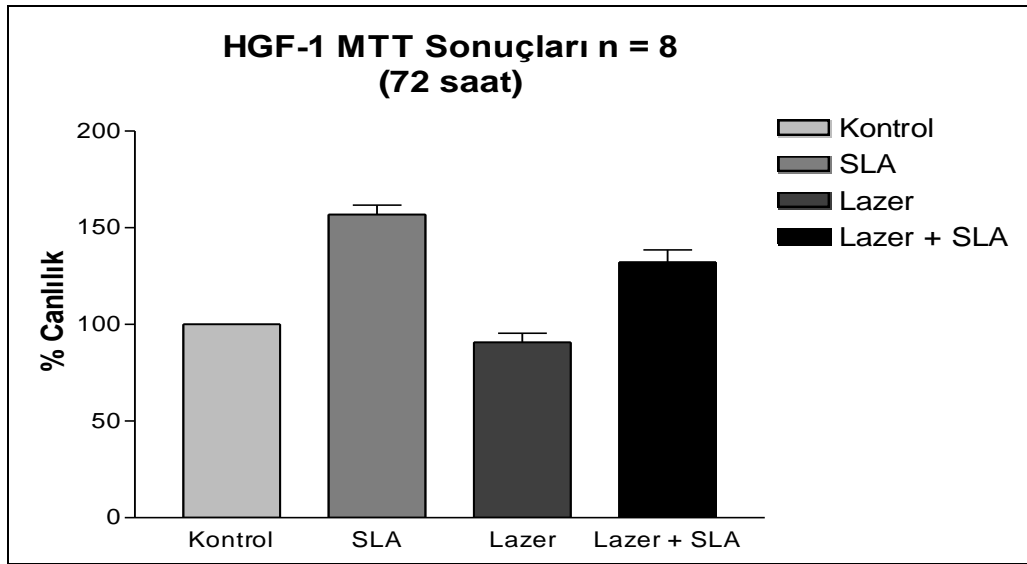
**Tablo 4.8.** HGF-1 adezyon deneyi bulguları (72. saat)

(Absorbans)

<b>Örnek no</b>	<b>Kontrol</b>	<b>SLA</b>	<b>Lazer</b>	<b>Lazer+SLA</b>
<b>1</b>	0,164	0,224	0,145	0,194
<b>2</b>	0,176	0,262	0,180	0,210
<b>3</b>	0,201	0,229	0,170	0,188
<b>4</b>	0,169	0,227	0,150	0,227
<b>5</b>	0,171	0,250	0,170	0,225
<b>6</b>	0,176	0,222	0,175	0,212
<b>7</b>	0,183	0,230	0,159	0,184
<b>8</b>	0,163	0,229	0,183	0,231

**Tablo 4.9.** Gruplara ait istatistiksel veriler (72. saat)

Deney Grupları	n	Ortalama	Standart Sapma	Minimum Değer	Maksimum Değer
Kontrol	8	0,176	0,011686	0,164	0,201
SLA	8	0,234125	0,014136	0,222	0,262
Lazer	8	0,1665	0,013846	0,145	0,183
Lazer+SLA	8	0,208875	0,01838	0,184	0,231

**Şekil 4.11.** HGF-1 MTT sonuçları (72. saat)

HGF-1 adezyonu açısından gruplar arasında 72. saat sonuçları istatistiksel olarak anlamlı fark yaratmıştır (Tablo 4.10). ANOVA ve Tukey testi bulgularına göre;

- Kontrol grubu ile lazer grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
- En yüksek hücre proliferasyonu SLA'da gözlenirken, bunu Lazer+SLA takip etmektedir ve bu sıralama istatistiksel açıdan anlamlıdır.
- Kontrol grubu ve lazer grubu, en düşük hücre proliferasyonunun gözlemlendiği gruplardır.

**Tablo 4.10.** HGF-1 proliferasyonu açısından gruplar arası farklılığın istatistiksel karşılaştırılması (72. saat)

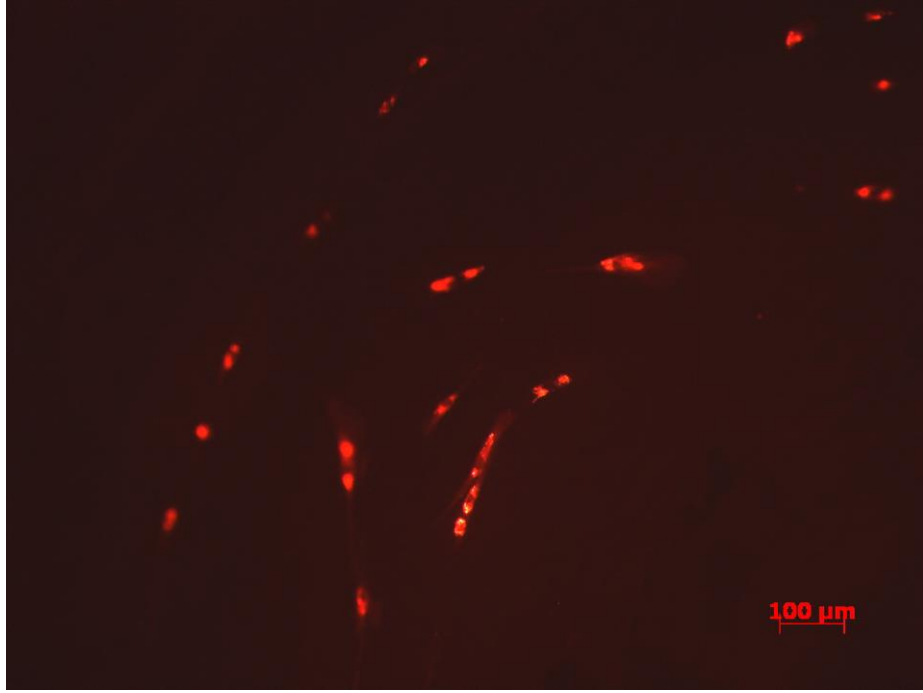
<b>ANOVA&amp;TUKEY</b>	Kontrol	SLA	Lazer	Lazer+SLA
Kontrol				
SLA	$p<0,001^*$			
Lazer	$p=0,576$	$p<0,001^*$		
Lazer+SLA	$p=0,001^*$	$p<0,05^*$	$p<0,001^*$	

\*: İstatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir.

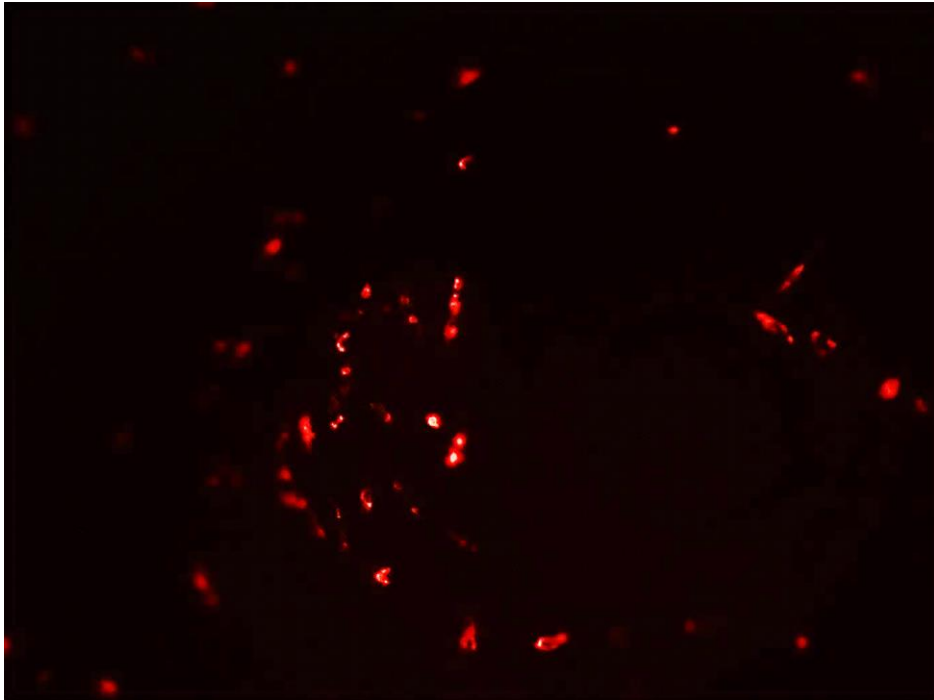
#### **4.4. Dil Boyama Deneyi ile Floresan Mikroskop Bulguları**

Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (SLA), Grup 3 (Lazer) ve Grup 4 (Lazer+SLA) 'ün 48. saate floresan mikroskobu altında 10 kat büyütmedeki görüntüleri sırasıyla Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'de gösterilmektedir. Kontrol grubuna ait örnek yüzeyindeki tek bir HGF-1 hücrenin 40 kat büyütmedeki hücre duvarı ve çekirdeğinin görüntüsü ise Şekil 4.16'da verilmiştir.

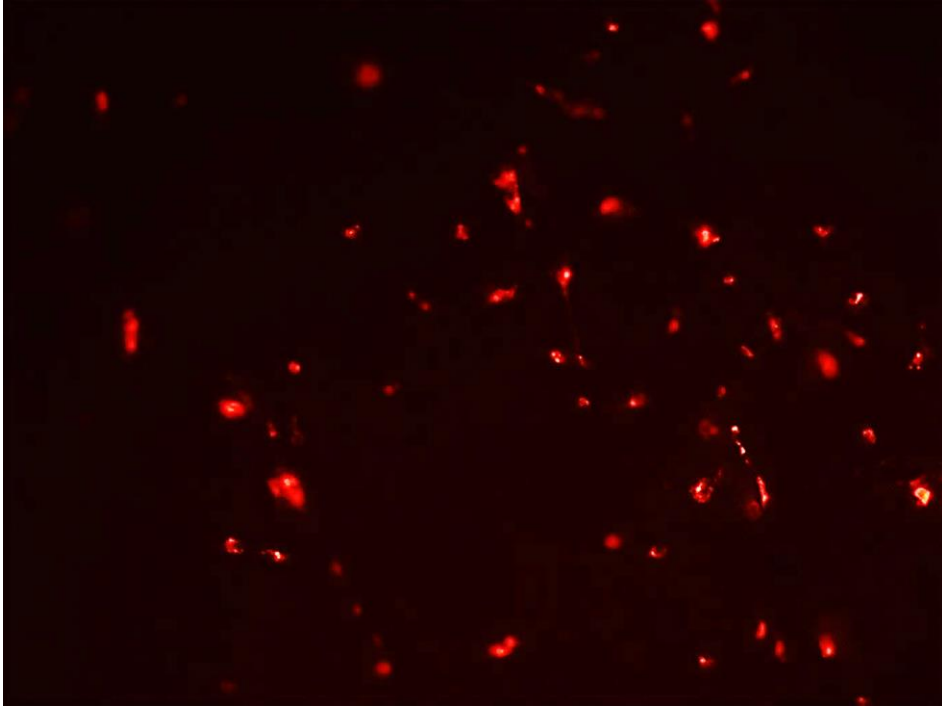
Hücre yoğunluğunun en fazla olduğu yüzey kesitlerinden alınan görüntüler nitel olarak değerlendirildiğinde, tüm yüzeylerde hücre büyümesi gözlenmektedir. Ayrıca 48. saat kantitatif sonuçlarını (MTT bulguları) destekleyecek şekilde kontrol grubu ve Lazer+SLA grubunda, SLA ve Lazer gruplarına göre daha az yoğunlukta HGF-1 gözlenmektedir.



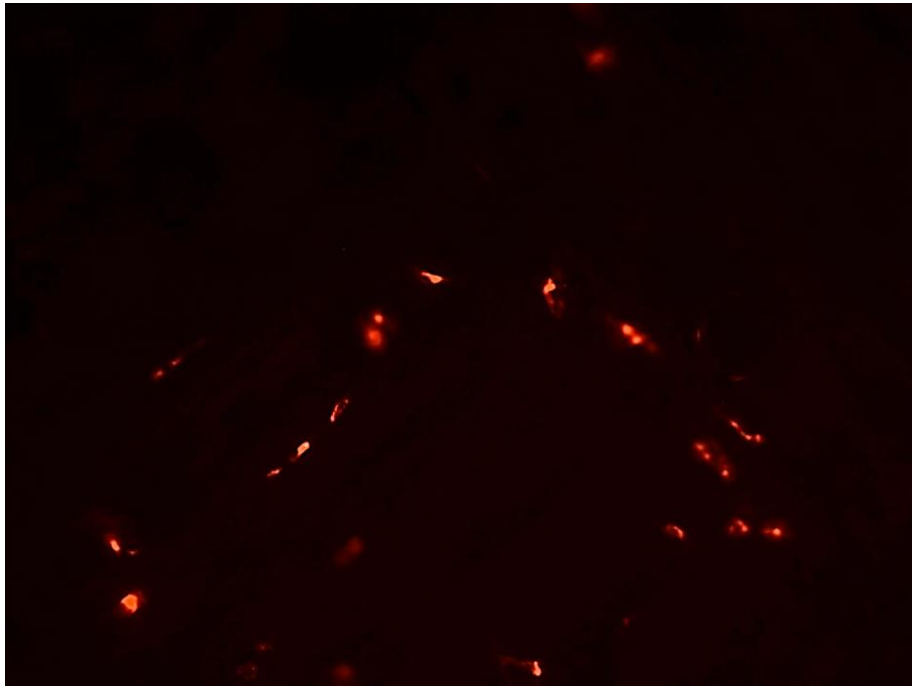
**Şekil 4.12.** HGF-1'lerin floresan mikroskop altındaki görüntüsü (Grup 1, kontrol)



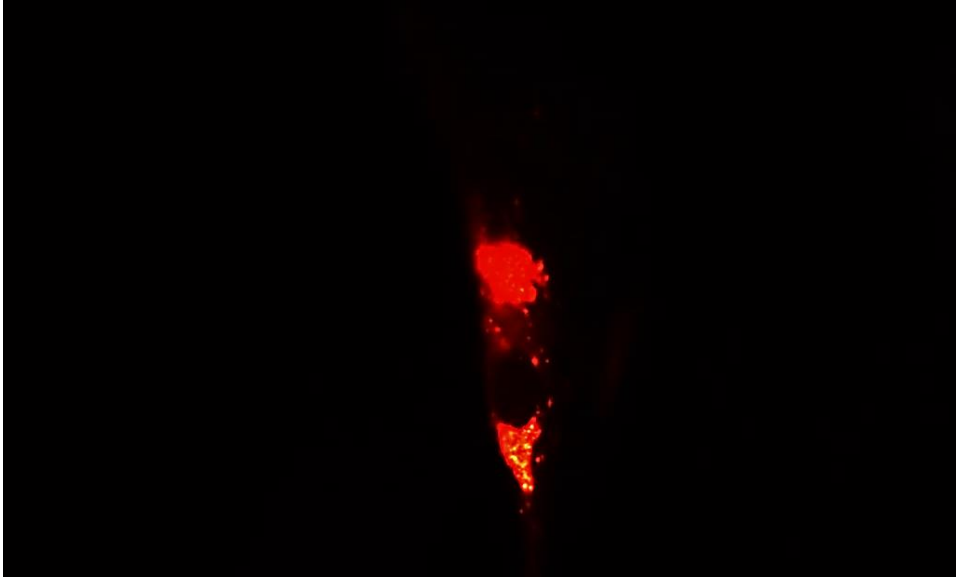
**Şekil 4.13.** HGF-1'lerin floresan mikroskop altındaki görüntüsü (Grup 2, SLA)



**Şekil 4.14.** HGF-1'lerin floresan mikroskop altındaki görüntüsü (Grup 3, Lazer)



**Şekil 4.15.** HGF-1'lerin floresan mikroskop altındaki görüntüsü (Grup 4, Lazer+SLA)



**Şekil 4.16.** HGF-1 hücresi (kırmızı), hücre çekirdeği (siyah iç kısım)



## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, tornalanmış Grade 5 titanyum alaşım yüzeylerin, selektif lazer ergitme yöntemi kullanılarak Grade 23 titanyum alaşımı ile kaplanması sonrası yüzey topografisi ve fibroentegrasyonu değerlendirilmiştir.

Protetik diş tedavisinin amacı; kaybedilen diş ve dokularının rehabilitasyonunu, çevre dokuların sağlığını koruyacak şekilde gerçekleştirmektir. Uzun dönemli bir başarının sağlanabilmesi, kullanılan malzemenin oral çevre ile sağlıklı bir birlikteliği sürdürebilmesine bağlıdır. Bu birlikteliğin niteliği, kullanılan malzemenin içeriği, yüzey özellikleri ve bunlara bağlı biyolojik etkileri ile yakından ilişkilidir (158).. Günümüzde dental implant materyali olarak ticari saf titanyum ve alaşımları tercih edilmektedir. Bunun en önemli sebebi biyolojik ve kimyasal olarak inert olmalarıdır. Bunun yanısıra uygun mekanik özellikleri ve kemiğe benzer davranış göstermesi de titanyumu implant materyali olarak tercih edilir kılmaktadır (19,159).

Titanyum alaşımları içinde dental implantolojide en sık kullanılanı Grade 5 (Ti-6Al-4V) alaşımıdır. Bu alaşımın daha düşük oksijen, nitrojen ve demir içeriğine sahip olan formu titanyum Grade 23 (ELI) olarak bilinmektedir. Bu alaşım Grade 5'e göre daha biyouyumlu, daha esnek bir materyal olmakla birlikte dayanıklılığı daha azdır (160). Bu sebeple bu çalışmada üretilen titanyum diskler Grade 5'ten elde edilirken, yüzey kaplama materyali olarak Grade 23 tercih edilmiştir.

Çalışmamızdaki yüzey kaplamanın amacı, kaplanacak malzemenin fiziksel ve kimyasal özelliklerini koruyarak istediğimiz biyolojik özellikleri ilave etmektir. Uygulanan kaplama işlemi sayesinde malzemenin yüzeyi tamamen değişmekte ve tabandaki malzemenin bazı olumsuz özellikleri maskelenebilmektedir (161). Daha biyolojik olan Grade 23 titanyumun, bu çalışmada kaplama materyali olarak kullanılmasıyla, daha dayanıklı bir iç yapıyla birlikte daha biyouyumlu bir hücre temas yüzeyi oluşturulması amaçlanmıştır.

Prodanov ve arkadaşlarının (162), farklı muammele uygulanmış titanyum yüzeylerini *in vivo* olarak karşılaştırdıkları çalışmalarında kullandıkları titanyum örneklerin çapı 5 mm olarak belirlenmiştir. Davies ve arkadaşlarının (163), çalışmasında ise kemik-titanyum arayüzü *in vitro* olarak incelenmiştir ve kullanılan titanyum örneklerin çapı yine 5 mm'dir. Biz de bu çalışmalardan yola çıkarak örnek çaplarımızı 5mm olarak belirledik.

*In vitro* testlerin, *in vivo* koşulları ne derece yansıttığı şüpheli olmakla birlikte standardizasyonunun kolay sağlanabilmesi, deneysel kontrolün daha kolay olması, etik problemler oluşturmaması gibi avantajları söz konusudur. *In vivo* testler gerçeği daha iyi yansıtmalarına rağmen, karmaşık olan sistemik etkileşimler deney sonuçlarını etkileyebilmektedir (145). Ayrıca bileşimi yeni oluşturulmuş malzemelerin etik şartlar göz önüne alınarak *in vivo* koşullardan önce *in vitro* olarak test edilmesi gereklidir.

Tornalanmış titanyum diskler üzerine SLM tekniği ile yüzey kaplaması yaptığımız örneklerin, canlı doku üzerinde yapılmış bir çalışması mevcut olmadığından, bu çalışmada *in vitro* deney koşullarının öncelikli olarak tercih edilmesine neden olmuştur.

Witek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada lazer metal sinterleme ile üretilen implant yüzeyi ve  $Al_2O_3$  ile kumlanmış ve asitle pürüzlendirilerek elde edilmiş (AB/AE) yüzeyler karşılaştırılmıştır (13).

Bizim çalışmamıza da kontrol grubu olarak tornalanmış titanyum yüzeyin yanısıra, piyasada sıklıkla tercih edilen, birçok çalışmayla başarısı kanıtlanmış SLA yüzey dahil edilmiştir. Hem SLM işlemi uygulanmış grup 3' te hem de SLM ve SLA işlemi uygulanmış Grup 4'te, sadece SLA işlemi uygulanmış Grup 2'ye göre daha fazla yüzey pürüzlülüğü bulunmuştur ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmıştır.

Mangano ve arkadaşları, yaptıkları çalışmalarda implant üretim ve yüzey pürüzlendirme prosedürü olarak SLS yöntemini (19,164,165). SLS yönteminde, metal partikülleri kısmen eritilerek pöröz bir yapı oluşturacak şekilde birbirine bağlandığı için, üretilen materyalin mekanik özellikleri

kötüdür (20,123). Bu nedenle çalışmamızda Chen ve arkadaşlarının kullandığı gibi, daha ileri bir teknoloji olan metal partiküllerinin tamamen eritildiği SLM yöntemi tercih edilmiştir (20).

Bir malzemenin yüzey pürüzlülüğünün belirlenmesinde, yüzeyin nitel (görsel veya SEM) veya nicel (profilometre veya AFM) incelemeleri kullanılabilir. Dental malzemeler üzerinde yapılan pek çok çalışmada yüzey pürüzlülüğünün profilometre ile değerlendirildiği görülmektedir (106,166,167). Bunun nedeni profilometre ile istatistiksel analize daha uygun olan nicel verilerin elde edilebilmesi, SEM ve AFM'ye göre daha geniş alanda ölçüm yapabilmesi ve böylece örneğin tamamına ait pürüzlülüğün daha iyi temsil edilebilmesi, kullanımı kolay ve ucuz olması, tekrarlanabilir ölçümler sağlaması olarak gösterilmiştir.

Bazı çalışmalarda profilometre ile elde edilen verilere ek olarak, pürüzlülüğü etkileyen yüzey topografisinin de görsel olarak incelendiği görülmektedir. Zhou ve arkadaşlarının (168), titanyum yüzeylere osteoblast tutunmasında yüzey pürüzlülüğünün ve titanyum oksit tabakasının etkisinin araştırıldığı çalışmalarında, yüzeyler görsel olarak SEM ile sayısal olarak profilometre ile incelenmiştir.

Scarano ve arkadaşlarının çalışmasında (107), TiN kaplı olan ve olmayan titanyum yüzeylerinde yüzey pürüzlülüğü sayısal olarak profilometre ile, görsel olarak ise SEM ile incelenmiştir.

Çalışmamızda da SLM tekniği ile yüzeyini kapladığımız örneklerin ve diğer grupların yüzey topografisinin nicel değerlendirmesi optik profilometre ile nitel değerlendirmesi yine SEM ile yapılmıştır.

Kim ve arkadaşlarının (169), titanyum yüzeylerle ilgili çalışmasında her gruptan beş örnek üzerinde üç farklı noktadan yüzey pürüzlülüğü ölçümü yapılmıştır. Bizim çalışmamızda ise tüm örneklerin yüzeyinden (n=12) optik profilometre ile üç farklı ölçüm yapılarak, her bir örneğin ortalama Ra değeri hesaplanmıştır. İstatistiksel olarak tüm gruplar arasında yüzey pürüzlülüğünde bulunan farklılık, SEM ile görsel olarak da desteklenmiştir.

Dental implantlar üzerine yapılan bir derlemede, dental implant biyouyumluluğunu materyalin fiziksel ve kimyasal yapısının yanısıra, implant

yüzeyindeki mikro ve makro pürüzlülüklerin de etkilediğinden bahsedilmiştir. Aynı derlemede implant biyouyumluluğunu test etmede osteoblast ve fibroblastların benzer markerler ürettikleri ve bu sebeple benzer bulgular verdikleri sonucuna ulaşılmıştır (170).

İmplant yüzey yapısı ve pürüzlülüğünün hücre proliferasyonuna etkisini gösteren başka bir çalışma ise Ramaglio ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (171). Tornalanmış, düz yüzeyli ve çift asitleme yöntemiyle pürüzlendirilmiş titanyum disk yüzeylerinde gingival fibroblastların çoğalmaları izlenmiş 14 gün sonunda ELISA ile kantitatif sonuçlara ulaşılmıştır. Pürüzlü yüzeylerde ELISA ile bakılan hücre dışı matriks bileşenlerinin (Kollajen ve fibrin gibi) değerleri daha yüksek bulunmuş, dolayısıyla gingival fibroblastların daha fazla proliferasyon gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamızda da benzer şekilde tornalanmış yüzeyli ve çeşitli yöntemlerle pürüzlendirilmiş titanyum disk yüzeyleri insan dişeti fibroblastı (HGF-1) tutunması açısından karşılaştırılmış, yine kantitatif ölçümler ELISA plaka okuyucu vasıtasıyla yapılmıştır. Bizim çalışmamızda da tornalanmış yüzeye sahip kontrol grubu örneklerinde diğer gruplara göre daha az HGF-1 proliferasyonu olmuştur.

Titanyum yüzey pürüzlülüğü ile ilgili yapılan pekçok çalışmada, yüzeylere yapılan işlemler sonrası pürüzlülük ile tornalanmış yüzeylerin pürüzlülüğü ve bununla histolojik sonuçların korelasyonu saptanmaya çalışılmıştır. Abrahamsson ve arkadaşlarının yaptığı bir *in vivo* çalışmada (79), tornalanmış yüzeylerin Ra değeri 0,35  $\mu\text{m}$ , kumlama ve asitle pürüzlendirilmiş yüzeylerin pürüzlülüğü ise 2,29  $\mu\text{m}$  bulunmuştur. Tavşanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise tornalanmış yüzeylerdeki Ra değeri 0.78  $\mu\text{m}$  olarak saptanmıştır (172). Tornalanmış ve asitle pürüzlendirme sonrası kumlama yapılmış yüzeylerde osteoblastik aktivitenin değerlendirildiği bir diğer çalışmada ise tornalanmış yüzeylere ait Ra değeri 0,56  $\mu\text{m}$  bulunmuştur (172). Farklı çalışmalarda çıkan tornalanmış yüzeylerin pürüzlülük miktarları birbirinden farklılık gösterse de bu değer 0,3-0,9  $\mu\text{m}$  aralığında seyretmektedir.

Çalışmamızda optik profilometre ile ölçülen yüzey pürüzlülük değerleri, gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Kontrol grubu olan tornalanmış titanyum yüzeylerin ortalama 0,59  $\mu\text{m}$  bulunan Ra değeri, daha önceki pek çok çalışmanın sonuçlarını desteklemektedir.

SLA yüzey ilk kez Straumann firması tarafından bulunan ve piyasaya sürülen bir modifiye titanyum implant yüzeyidir. Diğer implant yüzeyleri ile histolojik ve morfolojik karşılaştırmaları yapılmıştır (78,82,173). Çalışmalarda SLA yüzey işlemi gören titanyum örneklerde Ra değeri yaklaşık 2  $\mu\text{m}$  bulunmuştur. Buser ve arkadaşlarının (78), sadece asitle pürüzlendirme işlemi görmüş Ossetite implantlarla, SLA yüzeye sahip Straumann implantları karşılaştırdıkları çalışmalarında, ortalama yüzey pürüzlülük değerlerini karşılaştırmışlar ve öngördükleri üzere Ossetite implantların ortalama yüzey pürüzlülüğü (Ra=1,3  $\mu\text{m}$ ), SLA' ninkinden (Ra=2  $\mu\text{m}$ ) düşük bulunmuştur. Çalışmamızda SLA yüzeye sahip 2. grup örneklerde ise ortalama yüzey pürüzlülük değeri 1.78  $\mu\text{m}$ 'dir. Bu değer Straumann tarafından belirtilen değerden (Ra=2-4  $\mu\text{m}$ ) daha düşük bulursa da diğer çalışmaları destekler biçimde hem tornalanmış yüzeylerin hem de sadece asitle pürüzlendirilmiş yüzeylerin ortalama yüzey pürüzlülük değerinden daha yüksektir.

İstatistiksel olarak da çalışmamızda kontrol grubuna ait Ra değeri, 2. grubun değerlerinden anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur.

SLM tekniği ile üretilen titanyum materyal yüzeylerinin topografik değerlendirmeleriyle ilgili çok fazla çalışma olmasa da, ortalama yüzey pürüzlülük değerleri SLA yüzeylerden daha fazladır. Chen ve arkadaşlarının çalışmasında (20), SLM ile üretilen implantlardaki Ra değeri 4,7  $\mu\text{m}$  iken bizim çalışmamızda bu değer sadece SLM işlemi görmüş 3. grup örneklerde 2,3  $\mu\text{m}$ , SLM işleminden sonra SLA prosedürü uygulanan 4. grup örneklerde ise 3,4  $\mu\text{m}$  olarak bulunmuştur.

SLM işleminin ardından SLA prosedürünün uygulanmasının ortalama yüzey pürüzlülüğünü artırması beklenen bir sonuçtur. Nitekim bizim çalışmamızda da bu değer 2,3  $\mu\text{m}$ 'den 3,4  $\mu\text{m}$ 'ye çıkmıştır. Traini ve arkadaşlarının (19), SLS yöntemiyle ürettikleri implantlarda da hem organik

asitle hem de inorganik asitle pürüzlendirme sonrasında yüzey pürüzlülüğünde artış olmuştur.

Başka bir çalışmada (13), kumlanmış ve asitle pürüzlendirilmiş yüzeylerle SLM ile üretilmiş implant yüzeyleri karşılaştırılmış, kumlama ve asitle pürüzlendirme işlemi gören implantlara göre lazer sinterleme yapılmış örneklerin daha fazla yüzey pürüzlülüğü bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde SLA işlemi uygulanan 2. grup örneklerde ( $Ra=1,78 \mu m$ ), SLM işlemi uygulanan 3. grup örneklere ( $Ra=2,3 \mu m$ ) göre ortalama yüzey pürüzlülük değeri daha az bulunmuştur.

SEM görüntüleri incelendiğinde, CNC tornada materyal yüzeyinin pürüzsüze yakın hazırlandığı görülmektedir. Kontrol grubunun yüzey pürüzlülük değerleri de bu bulguyu doğrulamaktadır. Grup 3'teki SLM'li örneklerin düzenli, birbirine paralel yapıda çıkıntılarının olduğu bir yüzey topografisine sahip olduğu görülmektedir. Literatürde belirtilen, lazer metal sinterleme yöntemleriyle elde edilen implant yüzeylerinin düzenli ve kumlama ve asitle pürüzlendirme işlemine göre daha yoğun olan pürüzlülüğü, çalışmamızdaki SEM görüntüleriyle ve Ra değerleri bulgularıyla örtüşmektedir (13,174). SLA işlemi, titanyum yüzeylerde daha seyrek ve düzensiz bir pürüzlülük oluşturmuştur.

Hem kontrol grubunda, hem de Lazer grubunda görülen kabarcıkların, tornalama ve sinterleme işlemleri sonrası yüzeyde oluşan metal oksitlerin görüntüsü olduğu düşünülmektedir. Çok daha yüksek güçle üretilen SLM yüzeylerinde, bu görüntü çok daha belirgindir. SLA ve Lazer+SLA grubunda benzer bulguların olmaması, yüzeylerin kumlama ve güçlü asitlerle etkileşimi sonucu artık metal oksit katmanının elimine edilmesine bağlanmaktadır.

SLM ile yüzey kaplamasının ardından SLA işleminin uygulandığı 4. grup örneklerden alınan SEM görüntülerine göre, yüzeylerin, tüm gruplar içinde en yoğun ve düzensiz pürüzlülüğe sahip olduğu söylenebilir. Bu bulgular, Ra değeri bulgularıyla da desteklenmektedir.

Bu çalışmada insan dişeti fibroblast hücrelerinin modifiye titanyum yüzeyler üzerindeki canlılık düzeyleri MTT yöntemi ve fluoresans görüntüleme kullanılarak farklı zaman aralıklarında izlenmiştir. MTT yöntemi

çeşitli materyellerin hücre canlılığı üzerine etkisini belirlemek için basit, hassas, güvenilir ve oldukça yaygın olarak kullanılan enzimatik bir deneydir. Yöntemin prensibi, canlı hücrelerin metabolik aktivitesinin bir ölçütü olarak sarı renkli çözünen tetrazolyum tuzunu (MTT) mor renkli formazan bileşiklerine dönüştürmesi esasına dayanmaktadır. Bu amaçla farklı titanyum yüzeylerin (Kontrol, SLA, Lazer ve Lazer + SLA) üzerine HGF-1 hücreleri ekilmiş ve artan sürelerde canlılık düzeyleri MTT yöntemi ile ölçülmüştür.

24, 48 ve 72. saatlerde hücreler MTT yöntemine tabi tutulmuş ve sonuçlar spektrofotometrik olarak kaydedilmiştir. Bulgular, 8 deneyin ortalamasını ve istatistik analizlerini içermektedir. İstatistik yöntemlerde 24, 48 ve 72 saat deneylerinin kendi içerisindeki anlamlılığı Tukey testi, gruplar arasındaki anlamlılığı tek yönlü Anova varyans analiz testi kullanılarak hesaplanmıştır.

Yüksek biyoyumluktaki titanyum alaşımlar üzerinde yapılan histolojik çalışmalarda doğru sayım ve istatistiksel karşılaştırma yapılabilmesi açısından erken dönem (24., 48., 72. saatler) tercih edilmiştir (175-177). Daha uzun süreli deneylerde ise hücrelerin tüm yüzeyi kaplamasından dolayı hassas sayım ve karşılaştırma problem yaşanacağı düşünüldüğünden çalışmamızda en uzun deney süresini 72 saat olarak belirledik.

Lazer irradiye yüzeylerde yapılan histolojik bir çalışmada (178), 24 saatten daha erken dönem gözlemlerde fark gözlenmezken, 24. saatte HGF-1 tutunması, 72. saatte ise proliferasyonu değerlendirilmiştir. Çalışmamızda 24. ve 72. saat MTT bulgularına ek olarak 48. saatteki HGF-1 proliferasyonu da karşılaştırılmıştır.

24. saat MTT bulgularına göre tüm yüzeylerde HGF-1 tutunması mevcuttur. Buna göre 24 saat sonunda kontrol grubuna kıyasla Lazer, SLA ve Lazer + SLA gruplarında hücre canlılığının sırasıyla % 35, % 33 ve % 64 civarında artmış olduğu görülmektedir. Sayısal değerler Kontrol grubunda en az, Lazer+SLA grubunda en fazla olarak bulunsa da, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bunun 24. saat değerlendirmesinin hücre proliferasyonu için erken bir süre olmasıyla ilişkili

olduğu düşünölmektedir. Bu sebeple 24. saat değeriendirmesinin sadece yüzeylerdeki hücre adezyonu hakkında bilgi verdiği söylenebilir.

48 saat sonunda bu değeriilere bakıldığında kontrol grubuna kıyasla aynı gruptaki canlılığın yaklaşık % 57, % 55 ve % 22 civarında artmış olduğu görölmektedir. Gruplar arasındaki bu farklılık istatistik olarak anlamlı bulunmuştur.

72 saat sonunda ise yine kontrol grubuna kıyasla SLA ve Lazer + SLA gruplarında hücre canlılığının sırasıyla % 57 ve % 32 civarında artmış olduğu görölmektedir. Buna karşılık Lazer grubunda kontrol grubuna kıyasla canlılık % 10 kadar azalmıştır. Yine 72 saat sonunda elde edilen deney bulguları istatistik olarak anlamlılık göstermiştir.

Zamana bağılı olarak canlılık deneyinin sonuçlarını incelediğimizde istatistik olarak anlamlı bulguların 48 ve 72. saatlerde elde edildiğı göz önüne alınırsa, SLA yüzeylerde hücrelerin en kararlı durumda oldukları ve en yüksek canlılık oranına ulaştıkları görölmektedir. Lazer + SLA yüzeylerde SLA yüzeylere kıyasla canlılık yaklaşık % 10 civarında daha düşük kaydedilmesine rağmen kontrol grubuna göre daha yüksek tutunma göstermiş olması ve süreye bağılı olarak yine kararlı bir davranış göstermiş olmaları Lazer + SLA yüzeylerin de tutunma açısından elverişli bir yüzey sağladığını göstermektedir.

Buna karşılık bu çalışmada uygulanan canlılık deneylerinin sonucunda Lazer yüzeylerin diğeri yüzeylere kıyasla aynı ölçüde tutunmaya elverişli bir ortam sağlamadığı ve hücrelerin bu yüzeyler üzerinde kararlı davranmadığı gösterilmiştir. Bunun SLM işleminin sonrasında yüzeyde oluşan metal oksit katmanının ( $TiO_2$ ,  $Al_2O_3$ ,  $V_2O_5$ ) yüzeyden uzaklaştırılamamasıyla ilgili olduğu düşünölmektedir. Bu konunun aydınlatılması için ileri yüzey analiz testlerinin yapılması gereklidir.

Yapılan çalışmalarda (121), lazer sinterleme yöntemleriyle elde edilen implant yüzeylerinin arındırılması amacıyla izlenen, distile su ile yıkama, ardından NaOH (20 g/L) ve hidrojen peroksitte (20 g/L) bekletme ve tekrar distile suyla yıkama işlemleri çalışmamızda da uygulanmıştır. Lazer grubunun çok güçsüz bir asit olan hidrojen peroksitten başka bir asitle



muamele görmemesi, SLM işleminden sonra oluşan metal oksit katmanının yüzeyde kalmasına ve hücre proliferasyonunun azalmasına sebep olduğu düşünülmektedir.

Buna karşılık Lazer+SLA grubunun, birden fazla güçlü asitle etkileşimi sonrasında uzaklaşan metal oksit katmanına bağlı olarak hücre proliferasyonu artış göstermeye devam etmiştir. Yine de bu gruptaki canlılığın SLA yüzeyden az bulunması, ortalama yüzey pürüzlülük değeri (Ra) ile ilişkili olabilir. Medonca ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (63), hücre tutunması için pürüzlülüğün optimal ölçüsünün 1,5-2  $\mu\text{m}$  olduğu, daha düz ya da daha pürüzlü yüzeylerin hücre proliferasyonuna etkisinin negatif yönde olduğunu sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızda optimal Ra değerleri dışında kalan yüzey topografisine rağmen, Lazer+SLA grubunun artan hücre canlılığı, Grade 5'e göre daha biyoyumlu olan Grade 23 ile kaplanmasına bağlanmaktadır. Bu konuyla ilgili yapılacak ileri çalışmalarda, ortalama yüzey pürüzlülük değeri optimal sınırlara (1,5-2  $\mu\text{m}$ ) düşürüldüğünde, hücre proliferasyonunda çok daha fazla artış olacağı düşünülmektedir.

Lazer+SLA grubunun 3,4  $\mu\text{m}$  olarak bulunan Ra değeri, yüzeydeki hücre canlılığının SLA grubuna (Ra= 1,78  $\mu\text{m}$ ) göre daha az olmasını açıklayabilir.

Yapılan bir *in vivo* çalışmada da (179), bizim çalışmamızın sonuçlarına paralel şekilde, SLM sonrası başka herhangi bir işlem görmemiş gruplara kıyasla, SLM sonrası kumlama ve asitle pürüzlendirme yapılan gruplarda daha fazla hücre proliferasyonunun olduğu gözlenmiştir.

Hücrelerin titanyum ve modifiye titanyum yüzeylerindeki davranışını morfolojik olarak belirleyebilmek için floresan mikroskop deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için lipofilik özellikte uzun zincirli bir dialkylkarbosiyanin olan Dil boyası kullanılmıştır. Bu turuncu-kırmızı renkli boyanın özelliği hücre membranından difüze olduktan sonra bütün hücre yüzeyini boyaması ve floresan altında ışımaya yapmasıdır. Canlı hücre içerisine nüfuz ettikten sonra boya sabitlenmekte ve her hücre bölünmesinde yeni hücrelere geçmektedir. Diğer katyonik özellikteki boyalara veya

interkalasyon yapan ajanlara kıyasla çok daha hassas ve güvenilir sonuçlar elde edilmekte ve canlı hücrelerin görüntülenmesini yüksek özgüllükte sağlamaktadır. Elde edilen floresan görüntüler, hücre morfolojisinin kalitatif bir ölçüsüdür. Aynı zamanda sadece canlı ve bölünmekte olan hücreler floresan özelliği gösterdiği için diğer boyalarda sıklıkla karşılaşılan özgül olmayan arka plan boyamaları da Dil boyasında görülmemektedir.

Hücre canlılık deneylerinin bulgularına paralel olarak floresan görüntüleme için yukarıda anlatılan sebeplerden ötürü 48. saat zaman aralığı seçilmiş ve deneyler gerçekleştirilmiştir. 6 kuyucuklu plakalara örnekler yerleştirilmiş ve Dil boyası ile boyandıktan sonra hücreler ekilmiştir. 48 saat süren inkübasyon sonunda floresan mikroskop altında hücreler incelenmiş ve 10X büyütme altında fotoğrafları çekilmiştir. Kontrol grubu üzerinde proliferasyon olan hücrelerin 10X ve 40X büyütme altında sağlıklı bir morfolojiye sahip oldukları gösterilmiştir (Şekil 4.12 ve Şekil 4.16). Her bir grup için alınan fotoğrafların, hücre canlılık deneylerinde elde edilen sayısal bulguları desteklediği gözlemlenmiştir. 48. saat MTT sonuçlarının en yüksek bulunduğu 2. grup (SLA) ve 3. grubun (Lazer) floresan mikroskop altındaki hücre yoğunlukları da en fazla olarak gözlenmiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda kalitatif ve kantitatif ölçümlerde tüm gruplarda hücre tutunması ve çoğalması gözlenmiştir. 72. saatte en fazla hücre proliferasyonu, optimal Ra değerine sahip SLA grubunda bulunurken, bunu lazer+SLA grubu takip etmiştir. Titanyum üzerinde yapılan histolojik çalışmaların hemen hepsinde olduğu gibi bizim çalışmamızda da kontrol grubu olarak kullanılan tornalanmış yüzeylerde hücre canlılığı en az bulunmuştur. Lazer grubunda erken dönemde oldukça yüksek olan hücre canlılık oranının 72. saatte düşmüş olması, SLM işlemi ile oluşan metal oksit katmanın yüzeyden uzaklaştırılmaması ile açıklanabilmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın yürütüldüğü *in vitro* deneysel koşullar altında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Titanyum yüzeyin topografisi, hücre proliferasyonu üzerinde etkili bir faktördür.
2. Tornalanmış yüzeylere kıyasla pürüzlü yüzeylerde hücre canlılığında daha fazla artış meydana gelmiştir.
3. Selektif lazer ergitme işlemi yüzey pürüzlülüğünde artışa neden olmuştur. Pürüzlülük değerinin 2  $\mu\text{m}$ 'nin üstüne çıkması hücre proliferasyonunu azaltmıştır.
4. Pürüzlülük değeri yüksek olmasına rağmen, Grade 23 titanyumla kaplı yüzeylerde gittikçe artan ve SLA yüzeydekine yakın bulunan hücre proliferasyonu, Grade 23 titanyumun biyouyumluluğu ile ilişkilendirilebilir.
5. Selektif lazer ergitme işlemi sonrası yüzeyde oluşan metal oksit katmanının uzaklaştırılması için kumlama ve güçlü asitlerin uygulanması uygun bir yöntemdir.
6. Bu konuda yapılacak ileri çalışmalarda selektif lazer ergitme ile kaplanan yüzeylerin Ra değerinin 1,5-2  $\mu\text{m}$  aralığına düşürüldüğünde hücre proliferasyonunun artacağı düşünülmektedir.

