

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TİTANYUM DENTAL İMPLANTLAR İÇİN GÜMÜŞ NANOPARÇACIK
KATKILI HİDROKSİAPATİT KAPLAMALARIN (AgNP/HAP) ÜRETİMİ,
UYGULANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Arda ÜÇOK

**Mikro ve Nanoteknoloji
Anabilim Dalı**

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Zeynep TUTUMLU

ARALIK 2021



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.



Arda ÜÇOK

İMZA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TITANYUM DENTAL İMPLANTLAR İÇİN GÜMÜŞ NANOPARÇACIK KATKILI HİDROKSİAPATİT KAPLAMALARIN (AgNP/HAP) ÜRETİMİ, UYGULANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Arda Üçok

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Ünvan. Adı Soyadı

Tarih: Aralık 2021

Dental implant uygulamalarında osseointegrasyon hızının artırılması ve enfeksiyon riskinin azaltılması için gümüş nanoparçacık katkılı (AgNP) hidroksiapatit (HAP) nanoparçacıklar sentezlenmiş; sentezlenen kaplama malzemesi miktarının üç farklı bakteri türü (*S. aureus*, *E. coli*, *S. mutans*) üzerindeki antibakteriyel aktivitesi agar kuyucuk difüzyon ve agar disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Üretim protokolü hazırlanırken değiştirilen parametreler, DLS ve UV-Vis karakterizasyonları kullanılarak 60 nm boyutlarında, 0,088 PDI değerinde AgNP sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen AgNP+HAP parçacıklar Sprey Kaplama yöntemi kullanılarak grade 4 saflıkta temin edilen titanyum dental implantlara uygulanmıştır. İmplant malzemesi üzerindeki mikro yapı incelemeleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tekrarlı gümüş nanoparçacık üretimi ile optimum değerlerde AgNP sentezi gerçekleştirilmiş, sentezlenen AgNP'nin HAP'a katkılanması sonucu antibakteriyel aktivite gösterilmiştir. Sentezlenen kaplama malzemesinin sprej kaplama yöntemi kullanılarak dental implant uygulamalarında kullanılmak üzere titanyum implantlara uygulanabilirliği tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gümüş nanoparçacık, Hidroksiapatit, Titanyum implant, Antibakteriyel aktivite, Sprej kaplama

ABSTRACT

Master of Science

PRODUCTION, APPLICATION AND CHARACTERIZATION OF SILVER
NANOPARTICLE DOPED HYDROXYAPATITE COATINGS (AgNP/HAP) FOR
TITANIUM DENTAL IMPLANTS

Arda ÜÇOK

TOBB University of Economics and Technology
Institute of Natural and Applied Sciences
Micro and Nanotechnology Science Programme

Supervisor: Title. Name Surname

Date: December 2021

In order to increase the rate of osseointegration and reduce the risk of infection in dental implant applications, silver nanoparticle added (AgNP) hydroxyapatite (HAP) nanoparticles were synthesized; The antibacterial activity of the synthesized coating material on three different bacterial species (*S. aureus*, *E. coli*, *S. mutans*) was investigated by agar well diffusion and agar disc diffusion methods. With using the parameters changed during the preparation of the production protocol, DLS and UV-Vis characterizations, AgNP synthesis was carried out at 60 nm in size with a PDI value of 0,088. The synthesized AgNP+HAP particles were applied to grade 4 (purity) titanium dental implants with using the Spray Coating method. Microstructure investigations on the implant material were performed with using scanning electron microscopy (SEM). AgNP synthesis was carried out at optimum values with repeated silver nanoparticle production processes, and antibacterial activity was demonstrated as a result of the doping of the synthesized AgNP to HAP. The applicability of the synthesized coating material to titanium implants for use in dental implant applications using the spray coating method has been discussed.

Keywords: Silver Nanoparticles, Hydroxyapatite, Titanium implant, Antibacterial activity, Spray coating

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisi ve tecrübelerinin yanı sıra, sabrı ve hoşgörüsü ile yanımda olan danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Zeynep TUTUMLU'ya,

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde büyük rol oynayan titanyum dental implantların bizlerle paylaşılmasını sağlayan *DETECH İmplant Teknolojileri*'nden Sayın Ercüment DEMİRTAŞ'a,

Hayatımın her alanında maddi, manevi desteğini ve bilgi birikimini benden esirgemeyen annem Prof. Dr. Cemile Özlem ÜÇOK ve babam Prof. Dr. Cahit ÜÇOK'a

Karşılaştığım zorluklarda hep yanımda olan, bilgisi ve tecrübesiyle birlikte ilerlediğim bu hayattaki yol arkadaşım Burcu YILMAZ'a,

Tez çalışmamın mikrobiyolojik değerlendirilme aşamasındaki değerli katkıları için sayın Doç. Dr. Gülçin AKÇA'ya

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi bünyesi altında gerçekleştirdiğim çalışmalarda bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen Ece BAYRAK, Merve ÇELİK'e,

Lisans eğitimimden itibaren dostluğunu ve bilgisini eksik etmeyen Emre ve Çağla GÜLTAKTI'ya,

Yüksek lisansın bana kazandırdığı değerlerden biri olan Ahmet Ersin MEYDAN'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince çalıştığım laboratuvar ve teknik alt yapıyı sağlayan TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi'ne ve tüm çalışanlarına,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİL LİSTESİ	xv
ÇİZELGE LİSTESİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 İmplant Malzemeleri	3
2.1.1 Metal İmplant Malzemeleri.....	5
2.1.1.1 Titanyum İmplantlar	6
2.1.2 Seramik İmplant Malzemeleri.....	8
2.1.3 Polimerik İmplant Malzemeleri	10
2.2 Limitasyonlar ve Risk Faktörleri	11
2.2.1 Ameliyat Sonrası Enfeksiyon ve Osseointegrasyon Süreci	11
2.2.2 Limitasyonların Aşılması ve Yüzey modifikasyonu.....	13
2.2.2.1 Yüzey Modifikasyon Yöntemleri.....	14
2.3 Gümüş Nanoparçacıkların Antibakteriyel Uygulamaları	18
2.4 Gümüş Nanoparçacıkların Oral Toksisitesi	20
3. MALZEME VE YÖNTEM	23
3.1 Kullanılan Malzemeler	23
3.1.1 Titanyum İmplant.....	23
3.1.2 Gümüş Katkılı Hidroksiapatit Nanoparçacık Üretim Malzemeleri	24
3.1.2.1 Gümüş Nitrat.....	24
3.1.2.2 İndirgeyici Ajanlar	24
3.1.2.3 Polivinilpirolidon (PVP)	25
3.1.2.4 Nano Hidroksiapatit (nano-HAP)	25
3.2 Gümüş Nanoparçacık Sentezi	26
3.3 Hidroksiapatitin Gümüş Nanoparçacık ile Katkılanması.....	29
3.4 Titanyum İmplantların Kaplanması	30
3.5 Karakterizasyon	31
3.5.1 UV-VIS Spektrofotometre ile Absorbans Ölçümü	31
3.5.2 DLS (Dinamik Işık Saçılımı) ile Boyut Analizi.....	31
3.5.3 Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)	32
3.5.4 Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)	32
3.5.5 Optik Mikroskop	32
3.5.6 Antimikrobiyal Aktivite Testleri.....	32

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	33
4.1 Sentezlenen AgNP'nin Karakterizasyonu	33
4.2 AgNP Katkılı HAP Karakterizasyonu.....	37
4.3 Soğuk Sprey (CS) Kaplama Yöntemi Optimizasyonu.....	38
4.4 Kaplama Malzemesinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	40
4.5 Titanyum İmplantların Sprey Kaplama ile Kaplanması.....	43
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	47
6. KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	57



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1: Paslanmaz Çelik (ASTM F138) korozyon testi.....	4
Şekil 2.2: Metal İmplant uygulamaları	5
Şekil 2.3: Metal implant uygulamaları.....	5
Şekil 2.4: Yapay kalça eklemi ve diz implantı.....	7
Şekil 2.5: Hidroksiapatit kaplamalar	9
Şekil 2.6: Yetişkin azı dişi yandan kesiti	12
Şekil 2.7: Sinüs kaldırma uygulaması	13
Şekil 2.8: İmplant yüzey modifikasyonları	15
Şekil 2.9: Güncel implant yüzeyi optimizasyon uygulamaları	16
Şekil 2.10: İmplant Yüzey Modifikasyonları	16
Şekil 2.11: Gümüş Nanoparçacık Antibakteriyel Aktivite	17
Şekil 2.12 AgHAP tozu SEM görüntüleri.....	18
Şekil 2.13: <i>E.coli</i> üzerinde inhibisyon bölgesi	19
Şekil 2.14: <i>Staphylococcus aureus</i> üzerinde çeşitli gümüş konsantrasyonlarının antibakteriyel etkileri	19
Şekil 2.15: <i>Staphylococcus aureus</i> üzerindeki antibakteriyel aktivite.....	20
Şekil 2.16 AgNP DLS sonuçları	21
Şekil 3.1: Kullanılan implant malzemesi boyutları.....	23
Şekil 3.2: Kullanılan implant malzemesinin yüzey özellikleri.	23
Şekil 3.3: Nano-HAP SEM görüntüleri.	25
Şekil 3.4: Gümüş nanoparçacık sentez şeması (NaBH ₄).	27
Şekil 3.5: Gümüş nanoparçacık yıkama ve kurutma şeması (NaBH ₄).	27
Şekil 3.6: Gümüş nanoparçacık sentez düzeneği (NaBH ₄).	28
Şekil 3.7: Gümüş nanoparçacık yıkama düzeneği (NaBH ₄).	28
Şekil 3.8: TSC ile üretilmiş gümüş nanoparçacıklar.....	29
Şekil 3.9: Gümüş nanoparçacık sentez şeması (TSC).....	29
Şekil 3.10: AgNP katkılı HAP üretimi	30
Şekil 3.11: Sprey kaplama düzeneği şeması.	30
Şekil 3.12: a) Lazer pointer sprej tabancası b) Sprej kabini.....	31
Şekil 3.13: a) 75 rpm AC motor b) Titanyum implant kaplama düzeneği.....	31
Şekil 3.16: Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi	32
Şekil 4.1: Farklı dakikalarda alınan UV-Vis grafiği (TSC).	34
Şekil 4.2: Farklı oranlarda kullanılan indirgeyici ajan UV-Vis grafiği.	35
Şekil 4.3: a) İndirgeyici ajan oranına bağlı boyut/PDI değişimi.....	36
Şekil 4.4: TSC kullanımına bağlı gerçekleştirilen boyut optimizasyonu.....	36
Şekil 4.5: AgNP katkılı Hidroksiapatit parçacıkların TEM görüntüleri.	37
Şekil 4.6: Cover glass 12 mm.	38
Şekil 4.7: AgNP kaplanmış cover glass optik mikroskop görüntüleri	39

Şekil 4.8: AgNP kaplanmış cover glass; optik mikroskop görüntüleri	39
Şekil 4.9: AgNP+HAP cover glass kaplama	40
Şekil 4.10: Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile <i>Streptococcus mutans</i> bakterisi üzerinde antimikrobiyal etki	42
Şekil 4.11: Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile <i>Escehrichia coli</i> bakterisi üzerinde antimikrobiyal etki	42
Şekil 4.12: Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisi üzerinde antimikrobiyal etki	42
Şekil 4.13: Disk difüzyon yöntemi ile kaplama malzemesi (AgNP, AgNP+HAP) testi	43
Şekil 4.14: Titanyum implant kaplama yüzeyi 1000x.....	44
Şekil 4.15: Noktasal elementel analiz (EDX)	44
Şekil 4.16: Noktasal element dağılımı. (Edax) (UNAM).....	45
Şekil 4.17: Noktasal element dağılımı. (Edax) (TOBB ETÜ)	45
Şekil 4.18: Serbest AgNP dağılımı (TOBB ETÜ).	45
Şekil 4.19 Titanyum implant kaplama yüzeyi	46
Şekil 4.20 Topaklanma gözlenen titanyum implant kaplama yüzeyi (SEM).....	46
Şekil 5.1: Tez çalışması için izlenen adımlar	49

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1: Kullanılan İmplant Malzemeleri	3
Çizelge 2.2: Kemik dokusunun ve başlıca kullanılan implant malzemelerin mekanik özellikleri	4
Çizelge 2.3: Metalik biyomalzemelerin özellikleri	6
Çizelge 2.4: Alümina ve Zirkonya modifikasyonları	8
Çizelge 2.5: Hidroksiapatit mekanik özellik kıyaslaması	9
Çizelge 2.6: Hidroksiapatit ve dental biyolojik malzemelerin konsantrasyonları ...	10
Çizelge 2.7: Organlardaki gümüş birikimi.....	22
Çizelge 3.1: Gümüş Nitrat Kimyasal Özellikleri	24
Çizelge 3.2: Trisodyum Sitrat Kimyasal Özellikleri.....	24
Çizelge 3.3: Sodyum Borhidrür Kimyasal Özellikleri.....	25
Çizelge 4.1: Gümüş Nanoparçacık Sentezi İçin Kullanılan Parametreler	33
Çizelge 4.2: AgNP ve AgNP+HAP'ın agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile <i>Staphylococcus aureus</i> bakterisi üzerine antimikrobiyal etkisinin değerleri.....	41
Çizelge 4.3: AgNP ve AgNP+HAP'ın agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile <i>Eschehrichia coli</i> bakterisi üzerine antimikrobiyal etkisinin değerleri.....	41
Çizelge 4.4: AgNP ve AgNP+HAP'ın agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile <i>Streptococcus mutans</i> bakterisi üzerine antimikrobiyal etkisinin değerleri.....	41

KISALTMALAR

SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu (Scanning Electron Microscopy)
TEM	: Transmisyon elektron mikroskobu (Transmission Electron Microscopy)
AgNP	: Gümüş Nanoparçacık
HAP	: Hidroksiapatit
DLS	: Dinamik ışık saçılımı (Dynamic light scattering)
UV-VIS	: Ultraviyole-Görünür Spektroskopi (Ultraviolet-visible spectroscopy)
Ti	: Titanyum
Ca(OH)₂	: Kalsiyum Hidroksit
(NH₄)₂HPO₄	: Diamonyum Fosfat
H₂SO₄	: Sülfürikasit
HNO₃	: Nitrikasit
AgNO₃	: Gümüş Nitrat
PVP	: Polivinil Prolidon
nano-HAP	: Nano Hidroksiapatit parçacıklar
NaBH₄	: Sodyum Bor Hidrür
Na₃C₆H₅O₇	: Trisodyum Sitrata
PDI	: Polidispersite indeksi

SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
----------	----------

T	Sıcaklık
ρ	Yoğunluk
E	Elastik Modülü
mM	Milimolar
ul	Mikrolitre
rpm	Tur sayısı / dk

1. GİRİŞ

Günümüzde kısmen veya tamamen diş kaybı görülen hastalarda dental implantların kullanımı yaygınlaşmaya devam etmektedir. Dental implant ameliyatlarının sayısındaki yıllık artışla birlikte, hastaların ve hekimlerin beklentileri, hızlı implant iyileşmesi ve uzun vadeli stabilite doğrultusunda artmaktadır [1]. İmplantlar, biyolojik olmayan dokular ve biyolojik malzemeler olarak tanımlanırken çeşitli biyolojik işlevlere yardımcı olmak veya estetik ihtiyaçları gidermek için uygulanır. İmplant uygulamalarından biri olan diş implantları ise kemiklerin içine ya da mukozaya yerleştirilen, dişlerin yerini alması amaçlanan yapılardır. Uygulanan implantın amacı, implant ile canlı ve sağlıklı kemik dokusu arasında doğrudan yapısal ve fonksiyonel bir bağ yani osseointegrasyon sağlamaktır [2]. Doğru implant uygulamasında hasta endikasyonu , doğru cerrahi yöntem ve uygun implant materyalinin seçilmesi, seçilen implant malzemesi üzerindeki yüzey modifikasyonları implantasyon başarısını etkileyen faktörler arasındadır. Bu başarı, implant malzemeleri üzerinde gerçekleştirilen çeşitli yüzey modifikasyon yöntemleri ile optimize edilebilmektedir. Bu tez çalışmasında, biyoaktif kaplama malzemesi sentezi eşliğinde, titanyum implant yüzeylere biyoaktif yüzey kaplaması yapılmıştır. Kaplama uygulaması sonucunda çeşitli bakteriler üzerinde antibakteriyel aktivite incelenmiştir. Sentezlenen biyoaktif kaplama malzemesinin spreysel kaplama yöntemi kullanılarak dental implant uygulamalarında kullanılmak üzere titanyum implantlara uygulanabilirliğinin tartışılması amaçlanmıştır.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 İmplant Malzemeleri

İmplant malzemeleri için temel gereksinim olarak hasta güvenliği gösterilebilir. Dental ve maksilofasiyal implant uygulamalarında hasta memnuniyetini ve güvenliğini arttırmak amacı ile birçok malzeme kullanılmaktadır. Bu malzemeler sırasıyla metaller ve metal alaşımları, polimer esaslı malzemeler, seramikler ve karbon bazlı kompozit malzemeler şeklinde sıralanabilir [3]. Kullanılan bu malzemelerden üretilen implantların tamamı ticari kullanıma uygun üretilmekle birlikte birçoğu araştırma fazından uzağa gidememiştir. Bu problemin temelinde malzemelerin mekanik ve kimyasal özelliklerinin pratik çalışmalarda beklenen sonuçları karşılamaması ve uygulama aşamasında çeşitli problemlere sebep olmaları gösterilebilir.

Çizelge 2.1: Kullanılan implant malzemeleri [4].

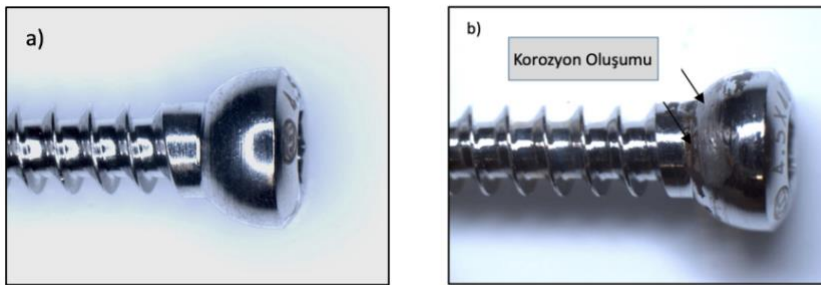
Metaller
<ul style="list-style-type: none">• Östenitik Paslanmaz Çelik : 316L• Ticari Saflıkta Titanyum ve Alaşımları (Ti-6Al-4V)• Co-Cr-Mo ve Kobalt Bazlı Alaşımlar
Polimerler
<ul style="list-style-type: none">• Termoplastik Polyether Ketone (PEEK)• Akrilik Kemik Çimentoları (PMMA)• Ultra yüksek molekül ağırlıklı polietilen (UHMWPE)
Seramikler
<ul style="list-style-type: none">• Zirkonya (ZrO₂)• Kalsiyumfostat Seramikler (HAP)• Alumina Al₂O₃

İmplant malzemelerin seçiminde implantın uygulanacağı çene yapısı, uygulanacak olan cerrahi operasyon tekniği ve hastanın kemik uyumu göz önüne alınmalıdır. Bu parametreler doğrultusunda implant malzemesinin sahip olması gereken mekanik özellikler arasında implant malzemesinin kemiğin elastikiyet modülüne yakın olması, yüksek basma ve çekme dayanımına sahip olması gösterilebilir [5]. Bu özellikler doğrultusunda hasta sağlığının ve memnuniyetinin optimum düzeyde sağlanması için uygun implant malzemesinin seçimi esastır.

Çizelge 2.2: Kemik dokusunun ve başlıca kullanılan implant malzemelerin mekanik özellikleri [4].

Malzemeler	Elastik Modül (GPa)	Akma Mukavemeti (MPa)	Çekme Mukavemeti (MPa)	Uzama Miktarı (%)
Kemik (Kortikal)	15-30	30-70	70-150	0-8
316 Paslanmaz Çelik	210	240	600	55
Ti6Al4V	120	830	900	18
Al2O3	350	-	1000-10000	0
Polietilen	0.4	-	30	15-100

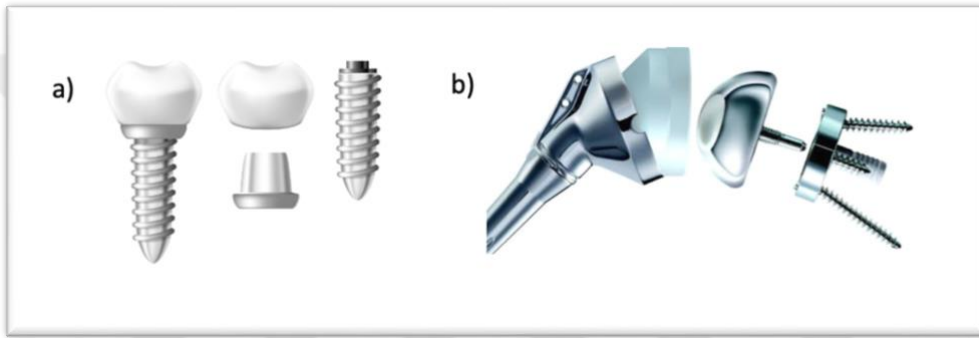
Kimyasal olarak inert ve korozyon dirençlerinin yüksek olması uzun vadeli stabilitenin sağlanmasını kolaylaştırır. İmplant malzemeleri canlı dokulara karşı inert olmalı, kanserojen olmamalı, iç vücut ortamının etkisine dayanıklı olmalıdır[6]. Uygulanan implant malzemelerinin vücut sıvısıyla temas ettiği durumlarda meydana gelen korozyon oluşumları, vücut için zararlı olmakla birlikte memeli canlıların hücreleri bu korozyona uğramış atıkları metabolize edemez (Şekil 2.1).



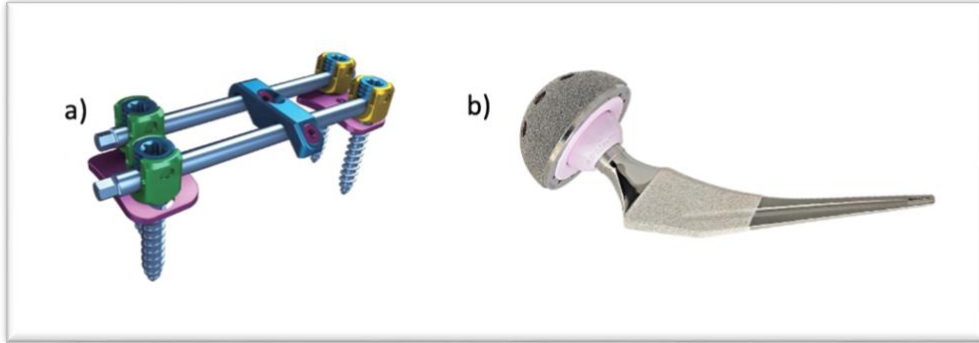
Şekil 2.1: Paslanmaz Çelik (ASTM F138) korozyon testi a) öncesi b) sonrası [7].

2.1.1 Metal İmplant Malzemeleri

İmplantasyon uygulaması için seçilen malzemeler, özelliklerine göre karışık bir denge üzerine kuruludur. Metallerin biyomekanik özellikleri, yüzey kalitesi ve kimyasal dayanımları implant malzemelerinden beklenen özelliklere uygundur. Günümüzde implant uygulamaları için kullanılan metalik malzemeler arasında Titanyum ve Titanyum alaşımları ile birlikte Zirkonyumda yer almaktadır. Yüksek mukavemet, düşük yoğunluk, korozyona karşı yüksek direnç ve biyouyumluluk özellikleri sayesinde metal malzemeler çeşitli kemik rekonstrüksiyonu için kullanılırlar (Şekil 2.2) [4].



Şekil 2.2: Metal İmplant uygulamaları a) dental İmplant b) omuz implantı [4].



Şekil 2.3: Metal implant uygulamaları

a) omurga fiksasyon çubukları b) kalça implantı [4].

Metalik implantların kullanım şartlarının kusursuz kılınması için biyolojik ve mekanik biyouyumluluğuna iyileştirme yapılması gerekmektedir. Yüzey modifikasyonları işlemlerinin eksikliğinde korozyon nedeniyle açığa çıkan metal iyonlarının sistemik toksisitesi ortaya çıkabilir.

Bu özelliklere ilaveten yükleme koşulları altında zayıf aşınma direncine sahip olmaları dental uygulamalarda dikkat edilmesi gereken bir durum olarak belirtilmektedir [2].

Çizelge 2.3: Metalik biyomalzemelerin özellikleri [8].

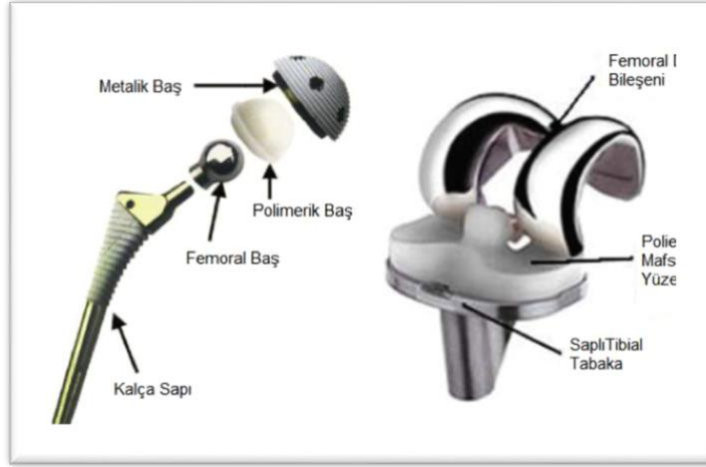
Metalik Malzeme	Avantajları	Dezavantajları
<ul style="list-style-type: none"> • 316 L Paslanmaz Çelik 	<ul style="list-style-type: none"> • Kısa vadede iyi korozyon ve yorulma dayanımı • Kolay işlenebilir • Uygun ticari fiyat 	<ul style="list-style-type: none"> • Uzun süreli uygulamalarda korozyon riski • Yüksek elastisite modülü • Biyouyumluluk problemleri
<ul style="list-style-type: none"> • Titanyum 	<ul style="list-style-type: none"> • Uzun vadede iyi korozyon direnci • Biyouyumluluk • Yüksek kırılma dayanımı • Yüksek aşınma dayanımı 	<ul style="list-style-type: none"> • Maliyet • Yüksek elastisite modülü • Düşük kayma dayanımı
<ul style="list-style-type: none"> • Kobalt ve Alaşımları 	<ul style="list-style-type: none"> • Uzun vadede iyi korozyon direnci • İyi yorulma ve aşınma dayanımı • Biyouyumluluk 	<ul style="list-style-type: none"> • Düşük kayma dayanımı • Yüksek maliyet • İşlenmesi zor • Ni ve Cr alerjisi riski

2.1.1.1 Titanyum İmplantlar

Titanyum ve Ti64 alaşımı 1950'lerden beri implant uygulamaları için biyomateryal olarak kullanılmasına rağmen, güvenlik ve kalite standartları açısından sürekli olarak yüzey modifikasyonlarına uğrarlar. Titanyum ve Titanyum alaşımlarının özellikleri üzerindeki araştırmalar hala devam etmektedir. Düşük Young modülü, şekil hafızası ve süper elastik davranışa sahip yeni titanyum alaşımlarının yaratılmasının yanı sıra aşınma direncini ve osteointegrasyonu hızlandırıcı biyouyumluluk özelliklerini geliştirme çalışmaları devam etmektedir [6].

TiO, TiO₂, TiO₃ formlarında bulunan saf titanyumun en stabil formu TiO₂'dir. Çeşitli saflık gradeleri halinde bulunan ve bu gradelerin içeriği dolayısıyla saf titanyumlar farklı mekanik ve kimyasal özellik sergilerler. İmplant uygulamalarında kemik ile titanyum yüzeyleri arasında uygun stres dağılımı meydana gelmesi ve titanyumun

doku içinde inert kalması osteointegrasyon sürecini hızlandıran en önemli faktörler arasındadır [9] .



Şekil 2.4: Yapay kalça eklemi ve diz implantı [10].

Uzun süreli stabilitenin beklendiği implant uygulamalarında aşınma direnci, implantın mekanik işleyişinde hayati bir role sahiptir. Titanyum dahil olmak üzere bütün metalik implant malzemeleri sürtünmeye maruz kaldıkları zaman ciddi aşınma eğilimi göstermektedir. İmplantlar aşınma sonucunda çevresindeki dokunun iltihaplanmasına ve dolayısıyla implantın gevşemesine sebep olabilmektedir. Meydana gelen bu durum sonucunda implantın değiştirilmesi gerekmektedir [11]. Titanyum ve Titanyum alaşımları, yüksek ağırlık oranı, erime sıcaklığı ve korozyon direnci sayesinde biyomedikal uygulamalarda başlıca kullanılan malzemeler arasındadır. Biyouyumlulukları ve iyi osseointegrasyon özellikleri sayesinde doku üzerine yapılan sabit veya dinamik yükleme uygulamalarında, çeşitli sıcaklıklar altında kullanılabilir oldukları gösterilmektedir [12] .

Yüzey korozyonunu önleyen doğal oksit tabakası implant uygulamalarında meydana gelen temas yükleri sonucunda oluşan yüzey hasarları, kullanılan titanyum malzemesini çevre dokularla etkileşime sokabilir. Bu ve benzeri sorunların ortadan kaldırılıp uzun vadeli stabilitenin sağlanması amacı ile yüzey modifikasyon tekniklerinin geliştirilmesi ve bu tekniklerin hasta memnuniyetini artırıcı yönde uygulanması implantın ömrünü uzatarak kritik bir önem taşımaktadır.

2.1.2 Seramik İmplant Malzemeleri

Diğer bir implant çeşidi olan seramik implant malzemeleri günümüzde vücutla biyokimyasal uyumluluk açısından kas-iskelet sisteminin rekonstrüksiyonu için kullanılırlar. Rekonstrüksiyon haricinde implant yüzeyinin kaplanmasıyla termodinamik olarak stabil ve hidrofilik yüzey eldesini sağlarlar. Oluşan yüzey sayesinde kemik ve implantı çevreleyen dokularla güçlü bir bağlantı yapabilmektedirler. Kırılgan olmaları, yüksek elastik modülüne ve düşük çekme dayanımına sahip olmaları kullanım alanlarını kısıtlamaktadır [13].

Çizelge 2.4: Alümina ve Zirkonya modifikasyonları [14].

Mekanik Özellikler	Alümina ile sertleştirilmiş Zirkonya	Zirkonya ile sertleştirilmiş Alümina
Sertlik (Gpa)	15.3 ± 0.9	21.3± 1.5
Young Modülü (Gpa)	245±9	363±5
Kırılma Mukavemeti (Mpa)	633±127	441±24

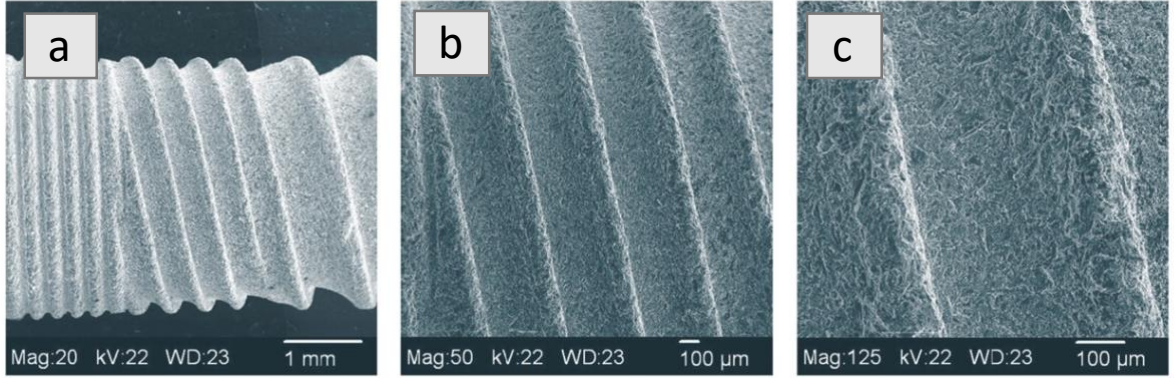
Canlı doku ile birleşme özelliğine sahip olan biyoaktif seramikler, kemik yeniden şekillendirme, ve hızlı osseointegrasyona imkan sağlar [15].

Biyoaktif seramikler için yapılan araştırmaların sürmesi ile birlikte seramik implantların, implant çevresindeki mükemmel ve iltihapsiz yumuşak doku uyumu klinik deneylerde olumlu sonuçlar vermiştir. Şu anda, seramik implantların kullanım ömrünü ve güvenilirliğini artırabilen, çatlak yayılmasına karşı oldukça dirençli yeni nesil alüminyum ve zirkonyum nanokompozitler üzerinde araştırmalar devam etmektedir [14].

Seramik implant malzemeleri metaller ve polimerler ile karşılaştırıldığında bariz avantajlarına rağmen, biyo inert seramiklerin kemik protezlerinde kullanımını sınırlayan faktörler vardır. Son zamanlarda implantlar üzerindeki çatlakların hızlı büyümesi nedeniyle zirkonyum protezlerin implantasyonunda başarısızlıklar bildirilmiştir. Bu veriler doğrultusunda implant malzemelerinin gövde parçalarında

kullanılmak yerine kaplama malzemesi olarak tercih edilmeye başlanmıştır (Şekil 2.5) [16].

Dişlerin ana organik bileşeni olan Hidroksiapatit (HAP) kaplama malzemesi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Biyoaktivitesi ve iyi biyouyumluluğu kemik onarımında ve dental reconstruction uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Organik ve inorganik yapısı sayesinde yüksek sertliğe ve yüksek aşınma direncine sahiptir [17].



Şekil 2.5: Hidroksiapatit kaplamalar a) 20x b) 50x c) 125x [18].

Hidroksiapatit, bir arayüzey tabakası oluşturarak kendisini çevreleyen sert dokularla kimyasal bağ oluşturma kabiliyetine sahiptir. Doğal hidroksiapatitin kemikle benzer fiziksel ve kimyasal özellikleri onu biyouyumlu kılar [16].

Çizelge 2.5: Hidroksiapatit mekanik özellik kıyaslaması [16].

Seramikler	Basma Dayanımı (MPa)	Çekme Dayanımı (Mpa)	Elastik Modülü (Gpa)	Kırılma Tokluğu (MPa√ m)
Hidroksiapatit	>400	40	100	1.0
Bioglass	500	42	35	0.5 - 1.0
Apatit Wollastonit	1080	215	118	2.0
Kortikal Kemik	130-180	50-151	12-18	6 - 8

Çizelge 2.6: Hidroksiapatit ve dental biyolojik malzemelerin konsantrasyonları [16].

Parametreler	Hidroksiapatit	Diş Minesi	Kemik
Kalsiyum (Ca, ağırlıkça%)	39.6	36	24.5
Fosfat (P, ağırlıkça%)	1835	17	11.5
Ca/P oranı (molar)	1.67	1.62	1.65

Hidroksiapatitin biyolojik olarak parçalanabilirliği, biyouyumluluğu ve biyoaktivitesi nedeniyle biyomedikal uygulamalar için önemli bir malzeme olduğu gösterilmiştir [16].

2.1.3 Polimerik İmplant Malzemeleri

Polimerler, canlı bir sistemin bir bölümünü değiştirmek veya canlı dokuyla yakın temas halinde işlev görmek için kullanılan sentetik veya doğal yapılardır. Biyouyumlu polimer implantlar vücuttaki herhangi bir dokunun veya organın işlevini yerine getirmek amacı ile kullanılır [10].

Bir polimerin vücut veya vücut sıvılarına maruz kalmaya uygunluğu vücudun alerjik reaksiyonlar veya diğer olumsuz yan etkiler gibi herhangi bir komplikasyon olmaksızın işlev görmesine imkan hazırlar [19]. Biyopolimerler, canlı organizmalar, bitkiler ve kültürlenmiş mikrobiyal sistemler gibi temel biyo-mantık sistemlerden kimyasal sentez ile elde edilirler. İyi tanımlanmış karmaşık yapıya, yenilenebilirliğe ve parçalanabilirliğe sahip olduklarından, sentetik polimerlere kıyasla önemli avantajlar sağlarlar.

Biyopolimerler, çoğunlukla hidroksiapatit ve seramik kompozitler olmak üzere diğer malzemelerle kombinasyon halinde diş implantlarının yüzey özelliklerini değiştirmek için organik kaplamalar olarak kullanılırlar [20]. Bu, polimer malzemelerinin yapısı gereği biyolojik olarak parçalanabilirliği ve biyo-uyumluluğu artırmaya yardımcı olur. Polimer biyokompozit malzemeler, isteğe göre uyarlanabilir üretim süreçleri ve konak dokularınkilerle karşılaştırılabilir özellikleri nedeniyle araştırılmaya devam etmektedir. Kompozit malzeme tasarımı ve üretim süreçlerindeki yenilikler,

iyileştirilmiş performansa sahip implantların gerçekleştirilmesi olasılığını artırmaktadır [19]. Bununla birlikte, başarılı bir uygulama için cerrahların, polimer kompozit biyomalzemelerin uzun vadeli dayanıklılığı ve güvenilirliği konusunda ikna olması gerekir. Monolitik malzemeler uzun süredir kullanılmaktadır ve sürekli kullanımlarını destekleyen önemli deneysel ve klinik veriler bulunmaktadır. Polimer kompozit biyomalzemelere ilişkin bu tür veriler nispeten küçüktür. Bu, insan vücudu koşullarında kompozit biyomalzemelerin uzun vadeli dayanıklılığını arttırmak için daha fazla araştırma gereklidir [21].

2.2 Limitasyonlar ve Risk Faktörleri

Çeşitli diş bölgelerini restore etmek amacı ile dental implantların kullanımı güvenli ve başarılı bir tedavi yöntemi olarak kabul edilmekle birlikte uzun ve kısa vadede oluşan komplikasyonların varlığı çeşitli çalışmalar sonucu gösterilmektedir. Bu komplikasyonlar kısaca; şişme veya morarma, uzun süreli kanama, ağrı, nöro-duyusal bozukluk, mandibular kırık, enfeksiyon veya dental implantın osseointegrasyona uğramaması şeklinde sıralanabilir. Uzun vadede meydana gelen komplikasyonlar, hastanın kişisel hijyeni ile bağlantılı olarak gelişmekle birlikte implant mukoziti, peri-implantitis ve implant kırığı olarak ta gözlenebilir.

Operasyon sonrası meydana gelen komplikasyonlar sırasıyla ;

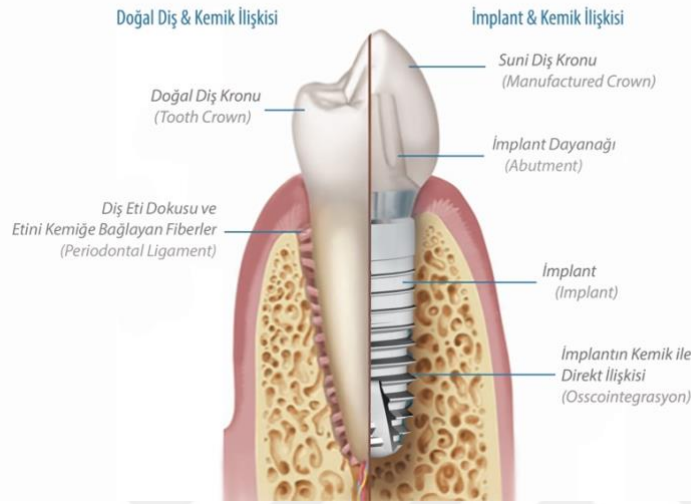
- Ameliyat sonrası kanama
- Ameliyat sonrası şişlik
- Ameliyat sonrası gelişen enfeksiyon
- Osseointegrasyon sürecinin kötü optimizasyonu
- Sinir-duyu bozukluğu şeklinde sıralanabilir [22].

İmplant ve implant kaplama üreticilerinin implantın başarılı bir şekilde uygulanabilirliğini artırmak adına yapmış oldukları çalışmalarda, ameliyat sonrası gelişen enfeksiyonun en aza indirgenip kemik ile implant arasında meydana gelen osseointegrasyon sürecinin en aza indirgenmesi esas alınmıştır [23].

2.2.1 Ameliyat Sonrası Enfeksiyon ve Osseointegrasyon Süreci

Ameliyat sonrası gelişen enfeksiyona bağlı implant başarısızlığı riski, açılan yaranın epitelizasyona başladığı zaman aralığına kadar en yüksektir. Erken implant

başarısızlıkları, implantın osseointegrasyon eksikliği ve fibröz doku enkapsülasyonu ile karakterize edilir. Implant osseointegrasyonun başarısızlığı, konak malzemenin yetersiz iyileşme özellikleri ve yetersiz primer implant stabilitesi ile gösterilmektedir [22].



Şekil 2.6: Yetişkin azı dişi yandan kesiti [24].

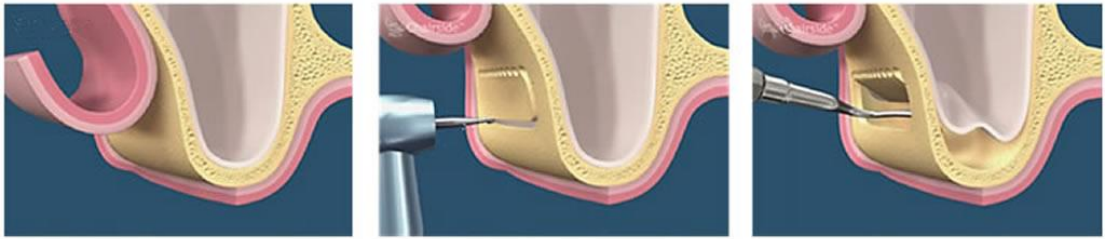
Uygulanan implant ile kemik arasında periodontal ligament bağlantısının olmamasından dolayı bu iki yapı arasında kurulan yapısal ve fonksiyonel bağ osseointegrasyon olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.6). İmplantın osseointegrasyon olduğu durumda, implant ile doğrudan temas halinde olan kemik dokusu arasında progresif hareketlilik beklenmez. İmplantın primer stabilitesinin radyofrekans (RFA) yöntemi ile ölçülmesi çalışmaları 1996 yılında Meredith ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Elektromanyetik olarak yapılan bu ölçümler implant stability quotient (ISQ) olarak ifade edilir ve değer (1-100) arasında olması beklenir. Osseointegrasyon oluşumu kırık iyileşmesine benzeyen mekanizmalar aracılığıyla esas olarak canlı dokuya aittir ve açılan implant boşluğuna yerleştirilen implant malzemesi bu oluşumu destekleyerek sürecin hızlanmasında önemli bir rol oynar [24].

Başarılı bir osseointegrasyon, kullanılan implant malzemesine bağlı olarak oluşabilecek oksit tabakası kontaminasyonu sonucu inhibe olarak enflamatuvar reaksiyon ve granülasyon dokusunun şekillenmesiyle sonuçlanabilir. Ameliyat sonrası enfeksiyonlar, genellikle diş implantı yerleştirildikten sonraki ilk hafta içinde ortaya

çıkan nadir komplikasyonlardır [23]. Yayınlanmış çalışmalarda ameliyat sonrası enfeksiyonlar %11,5 oranında tespit edilmiştir. Herhangi bir biyomateryal enfeksiyonunda olduğu gibi, bu tür komplikasyonların tedavisi oldukça karmaşık olabilir ve implante edilen malzemenin yerinden çıkarılmasına kadar enfeksiyon devam edebilir. Dolayısıyla osseointegrasyonun nihai etkinliği, implantın yüzey topografisine bağlıdır. İmplant yüzeyinin özellikleri, osseointegrasyonun ilk aşamasında ve uzun vadede kemiğin yeniden şekillenmesinde, osteoblastların yapışması ve farklılaşması için çok önemlidir [5].

2.2.2 Limitasyonların Aşılması ve Yüzey modifikasyonu

Ameliyat sonrası enfeksiyonun önüne geçip osseointegrasyon süresinin optimize edilmesi için çeşitli çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmalara örnek olarak implant yüzeyinin optimizasyonu, implantın çene yapısına göre değişen yükleme teknikleri, sinüs kaldırma (Şekil 2.7), kısa implant uygulamaları ve üç boyutlu baskı ile üretilen implant malzemeleri verilebilir [25].



Şekil 2.7: Sinüs kaldırma uygulaması [26].

Yüzey optimizasyonunda pürüzlü yüzeylerin pürüzsüz yüzeylere kıyasla daha hızlı ve başarılı osseointegrasyon oluşturduğu bilinmektedir. İmplant malzemelerinin yüzey pürüzlülüğü plazma sprey kaplama, kumlama, asitle aşındırma, anotlama ve biomalzeme kaplamalar sayesinde optimize edilebilmektedir. Yüzey pürüzlülüğü topolojik olarak makro, mikro ve nano boyutlu olmak üzere 3 temel boyutta incelenmektedir. Makro ölçekli işlemler 10 μ m'den fazla yüzey pürüzlülüğü veren dişli vida ve makro gözenekli yüzey işlemleri ile doğrudan implant geometrisinin değiştirilmesi esasına dayanır. Mikro ve nano ölçekli işlemler ise implant geometrisini değiştirmeden doğrudan implant yüzeyine uygulanan kemik ve implant malzemesi arasındaki biomekanik dengenin oluşturulması esasına dayanır [27].

2.2.2.1 Yüzey Modifikasyon Yöntemleri

Dental implantlarda osseointegrasyon sürecinin hızlandırılması için çeşitli yüzey modifikasyonları geliştirilmiştir. Bu modifikasyonlar Bagno ve Di Bello (2004) tarafından 3 ana sınıfta belirtilmektedir ;

- Fiziksel (Mekanik) metodlar
- Kimyasal metodlar
- Biyokimyasal metodlar

Fiziksel güce bağlı olarak yüzeyin şekillendiği teknikler; **işleme** (machining), **tornalama** (turning), titanyum plazma sprey (**TPS**) ve **kumlama** (blasting) olarak kabul edilir (Şekil 2.8) [27]. Titanyum esaslı alaşımlarda fiziksel yüzey modifikasyonları, yüzey pürüzlülüğünü arttırmaya yönelik ele alınıp sonucunda osseointegrasyon hızının artırılmasında kullanılmaktadır (Şekil 2.9). İmplant yüzey alanının artırılması amacıyla sıklıkla kullanılan Fiziksel metodlar arasında TPS, Kimyasal metodlar arasında ise Asitleme ve Kumlama uygulamaları literatürde sıklıkla tartışılmaktadır. **TPS** tekniği, 40 µm büyüklükteki titanyum partiküllerinin, plazma alevi ile ısıtıldıktan sonra yüksek hızla titanyum yüzeye püskürtülmesi ile gerçekleştirilir. TPS tekniğinin alternatifi olarak kullanılan **Asitleme** uygulamasında hidroklorikasit (HCl), sülfürikasit (H₂SO₄) ve nitrikasit (HNO₃) gibi güçlü asitlerle titanyum yüzeylerin dağlanarak pürüzlendirilmesi sağlanır. En sık kullanılan fiziksel yüzey modifikasyonlarından biri de **Kumlama** uygulamasıdır [28].

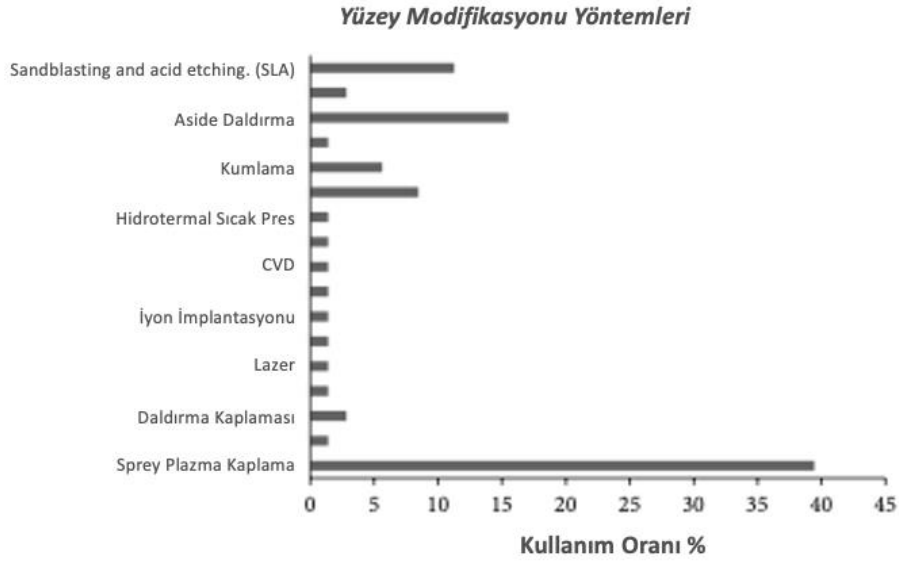
Kumlama parçacıkları basınçlı hava ile yüzeye gönderilirken parçacıkların büyüklüklerine göre titanyum yüzeyinde farklı boyutlarda pürüzlülük elde edilir. Bu iki tekniğin birlikte kullanılması sonucu 1997'de Straumann tarafından piyasaya sürülen Sandblasted Large Grid Acid-Etched (SLA) tekniği ile üretilen implant yüzeylerinde, kumlama tekniği sayesinde elde edilen makro yapılar hemen ardından asit kullanılarak mikro yapıya dönüştürülür.



Şekil 2.8: İmplant yüzey modifikasyonları ([29]'dan uyarlanmıştır).

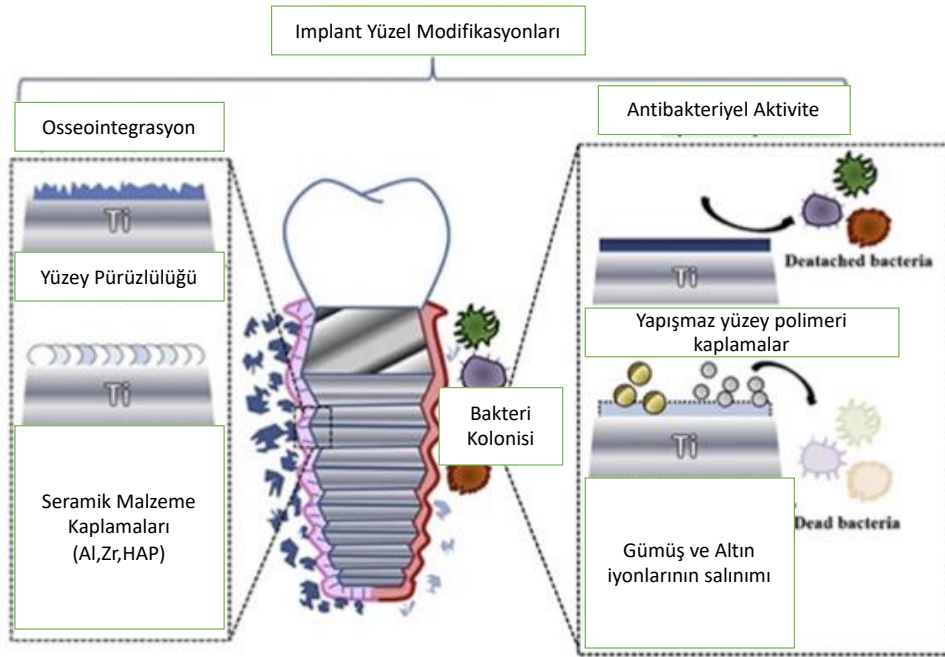
Malzeme biliminin gelişmesi sonucunda yaygın olarak kullanıma geçen Biyokimyasal kaplama metodları; Hidroksiapatit (HAP), Kalsiyumfosfatın (CaPO_4) ve Flor gibi organik malzemelerin kullanılması ile literature girmiştir. Hidroksiapatitin kaplama malzemesi olarak kullanılmasının yanı sıra HAP ile üretilen Kalsiyumfosfatın (CaPO_4), içeriğinin kemik mineraline olan benzerliği ve implant yüzeyinde karbonat hidroksiapatit oluşturma kabiliyeti sayesinde implant uygulamalarında sıklıkla kullanılan biyoaktif kaplama malzemesi olarak kabul edilmektedir [30]. İnorganik malzemelerin (hidroksiapatit, kalsiyum, fosfat) kaplama malzemesi olarak çeşitli nanomorfolojik yüzey modifikasyonu aracı olarak kullanıldıkları bilinmektedir.

Hayvan çalışmalarından paylaşılan veriler ışığında, kaplama malzemesi olarak kullanılan inorganik malzemelerin yara bölgesindeki iyileşmenin erken evrelerinde implant ile canlı doku arasındaki kemik oluşumunu desteklediği ve bu sayede osseointegrasyonun daha başarılı gerçekleştiği bilinmektedir [24].



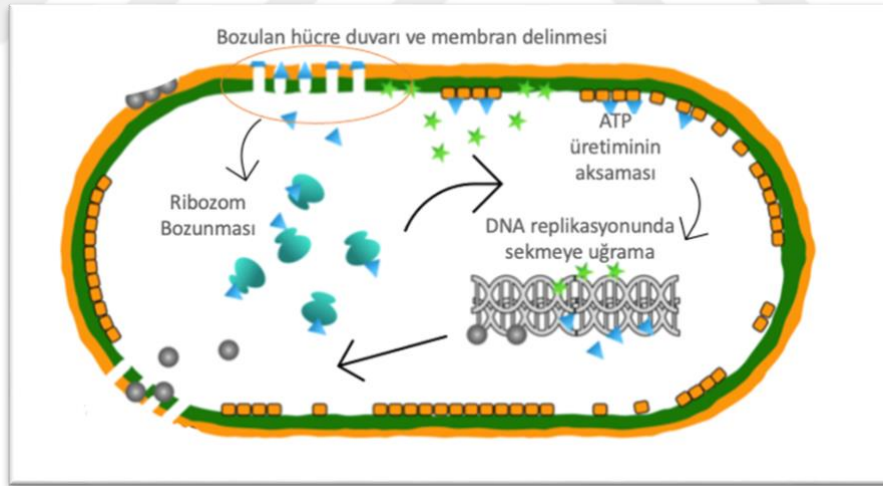
Şekil 2.9: Güncel implant yüzeyi optimizasyon uygulamaları [29].

Yapılan araştırmalarda, titanyum implant malzemelerin nanomorfolojik özelliklerinin biyoaktif kaplamalar kullanılarak optimize edilmesi sonucunda osseointegrasyon başarısı ve ameliyat sonrası meydana gelen olası enfeksiyonların en aza indirilmesi tartışılmaktadır [12].



Şekil 2.10: İmplant YüzeY Modifikasyonları ([31]'den uyarlanmıştır).

Yüzey pürüzlülüğünün artması bakteri kolonilerini ve dolayısıyla ameliyat sonrası meydana gelen bakteriyel enfeksiyonları beraberinde getirmektedir. İmplant malzemesi üretim süreçlerinin daha pürüzlü yüzeyler oluşturma esası, bakteriyel kolonizasyon doğrultusunda biyofilm oluşumunun hızlanmasına yol açmaktadır. Bu nedenle, implant malzelerinin antibakteriyel özellikler kazanması için ek modifikasyonlara ihtiyaç vardır [27]. Mikro-ark oksidasyon prosesleri ve metalik nanoparçacıkların kullanımı yüzey pürüzlerinde rahat kolonileşen çeşitli bakteri oluşumlarının önüne geçmek amacı ile ortaya atılmıştır. Çeşitli metalik nanoparçacıklar arasında, gümüş nanoparçacıklar, son yıllarda en popüler araştırma konularından biri olmuştur [32]. Gümüş nanoparçacıklar, büyük yüzey-hacim oranları nedeniyle düşük konsantrasyonda bile başarılı antimikrobiyal aktivite sergiler. Gümüş nanoparçacıkların antibakteriyel etkilerinin mekanizması tam olarak açıklığa kavuşturulmamış olsa da, nanoparçacıkların düzenli olarak ortama saldıkları gümüş iyonlarının peptidoglikan hücre duvarı ile etkileşime girerek yapısal değişikliklere, artan membran geçirgenliğine ve son olarak hücre ölümüne neden olduğu görülmektedir (Şekil 2.11) [33].



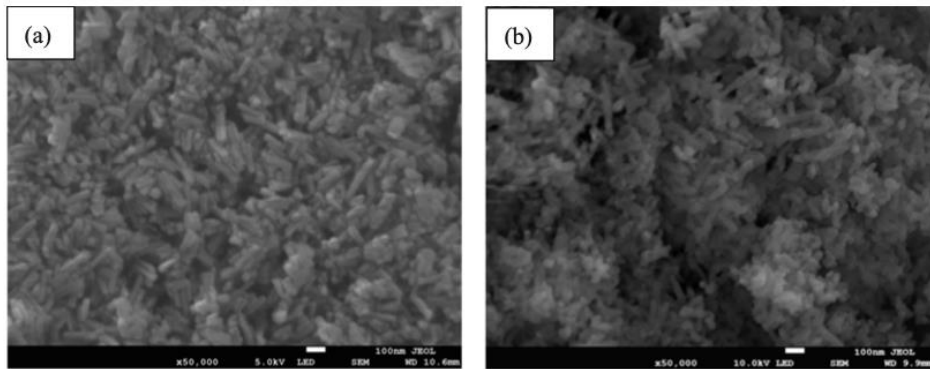
Şekil 2.11: Gümüş Nanoparçacık Antibakteriyel Aktivite [34]'ten uyarlanmıştır.

Gümüş nanoparçacıkların antibakteriyel etkisi ortamdaki çözünme durumuna, parçacık boyutuna ve şekline doğrudan bağlantılıdır. Küresel forma sahip küçük gümüş nanoparçacıklar, daha geniş yüzey alanları nedeniyle gümüş salınımına daha yatkındır [35]. Bu durum aynı zamanda agregat olmuş nanoparçacıkların homojen bir dağılıma sahip nanoparçacıklardan daha düşük antibakteriyel etkiye sahip olmalarını

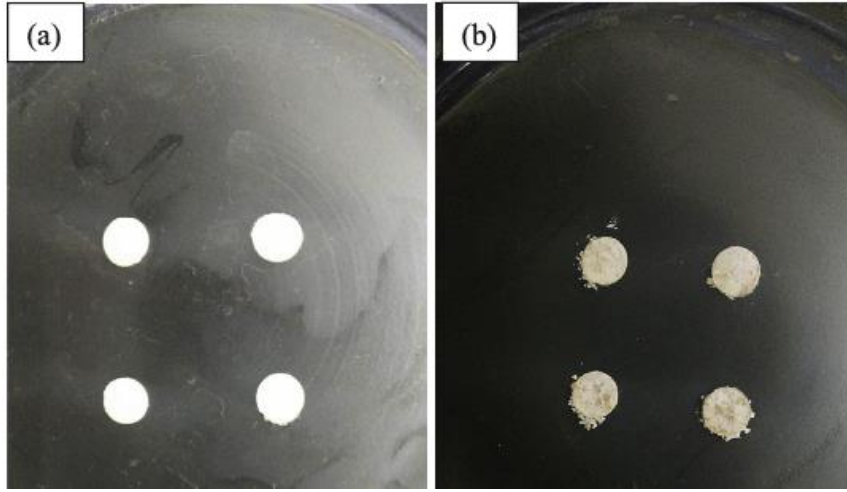
açıklar. Ortamdaki organik veya inorganik bileşenlerin varlığı, gümüş nanopartiküller ile birleşerek antibakteriyel etkiyi olumlu yada olumsuz yönde etkileyebilir [20]. Yapılan araştırmalar gümüş nano parçacıkların gümüş iyonlarını asidik çözeltide nötr çözeltiliye oranla daha hızlı saldığını göstermiştir. Ağız içi salgı ortamının pH'ı nötre yakın olmakla birlikte asidik olarak değerlendirilebilir. Ortalama 6.6 olan bu değer gümüş nanoparçacıkların gümüş iyonlarının salınımı konusunda destekleyeceği bir eğilim gösterir [2]. Mekanik ve biyolojik faktörlerin implant tedavisinin uzun vadeli başarısında büyük rol oynadıkları görülmektedir. Mekanik olarak dayanıklı ve biyouyumlu olmalarına rağmen titanyum implantlar, implant yüzeyi boyunca biyofilm oluşumu nedeniyle yine de başarısız bir implant uygulamasına dönüşebilir [11]. Bakterilerin implant çevresinde birikmesi sonucunda meydana gelen periimplantitis, implantın yanlış uygulanması sonucunda implant çevresindeki dokularda oluşur ve bu dokularda kemik erimesine yol açar [32]. Bu nedenle, peri-implant hastalıkları ortadan kaldırmak amaçlı bakteri kolonilerinin yapışmasını ve çoğalmasını önlemek amacı ile titanyum implant malzemelerin yüzeyine antibakteriyel film stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir. AgNP kaplamaların bu amaçla uygulanması meydana gelebilecek bakteriyel enfeksiyonların önüne geçmekte anahtar rol oynamaktadır [35].

2.3 Gümüş Nanoparçacıkların Antibakteriyel Uygulamaları

Literatürde osseointegrasyonu hızlandırıp enfeksiyon riskini azaltmak amacı ile AgNP kaplamaların hidroksiapatit ile medikal uygulamalarda kullanılabilirliği çeşitli bakteriler üzerinde kanıtlanmıştır. Yuan [36] ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Ag katkılı HA tozları elde etmek için kimyasal çökeltme yöntemini kullanıp sonrasında ilk kez döndürme kaplama tekniği ile metal yüzeyler üzerinde PLA ile Ag-HAP katkılı kompozit kaplamalar üretmişlerdir.

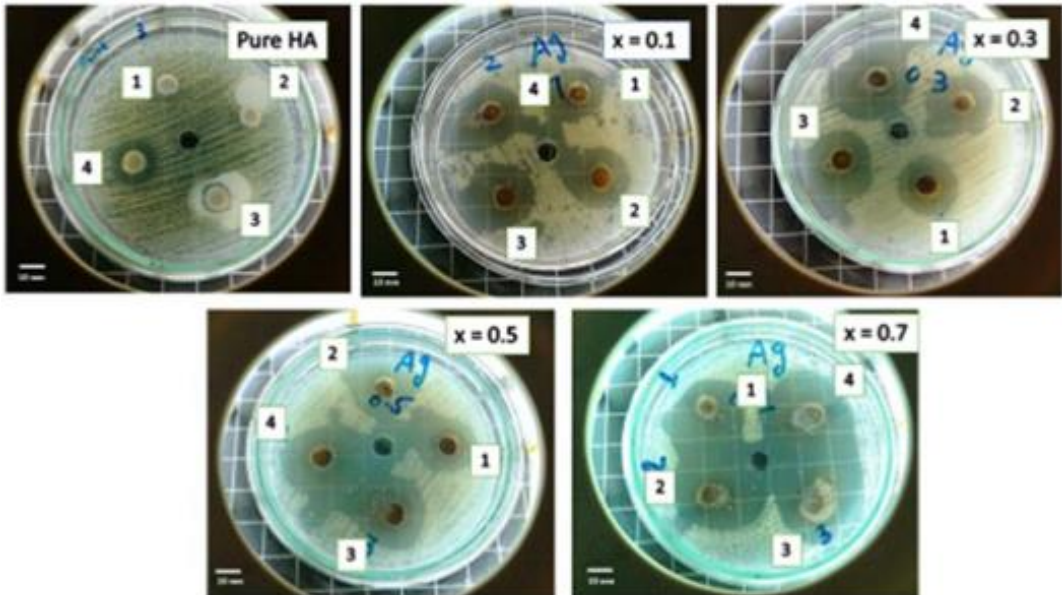


Şekil 2.12 AgHAP tozu SEM görüntüleri a) 1AgHAP b) 3AgHAP [36].



Şekil 2.13: *E.coli* üzerinde inhibisyon bölgesi a) HA/PLA b) AgHA/PLA [36].

Benzer bir çalışma ise M. Riaz ve arkadaşlarının [37] presipitasyon yöntemi kullanarak üretilen monofazik gümüş katkılı hidroksiapatit parçacıkların antibakteriyel etkilerini incelemek için yapılmıştır. Gümüş katkılı hidroksiapatit numunelerinde minör faz olmaksızın tek bir altıgen hidroksiapatit fazının tanımlandığını göstermiştir, bu da Ag⁺'nin kristal yapıyı bozmadan kafes içinde konumlandırıldığı gösterilmiştir. Ag⁺ konsantrasyonunun artmasıyla antibakteriyel aktivitenin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir.



Şekil 2.14: *Staphylococcus aureus* üzerinde çeşitli gümüş konsantrasyonlarının antibakteriyel etkileri [37].

Farklı bir üretim tekniğinin kullanıldığı çalışmada Charlena ve arkadaşları [38] monohidrat glikoz kullanarak kimyasal indirgeme yöntemi ile elde ettikleri gümüş

nanoparçacıkları, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ve $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ çözeltisi arasındaki reaksiyona sokarak gümüş katkılı hidroksiapatit tozu elde etmişlerdir. Elde ettikleri gümüş nanoparçacıkların 35-50 nm aralığında olduğunu bildirirken HAP ile katkılanmış formda üretilen gümüş nanoparçacıklarda antibakteriyel aktivite gözlenmemiştir. Sebep düşük gümüş konsantrasyonu olarak gösterilirken HAP-AgNPs nanoparçacıklarının granüller olduğu ve HAP'a kıyasla daha küçük boyuta sahip olduğu ve boyut aralığının 1-6 μm arasında olduğu belirtilmiştir.



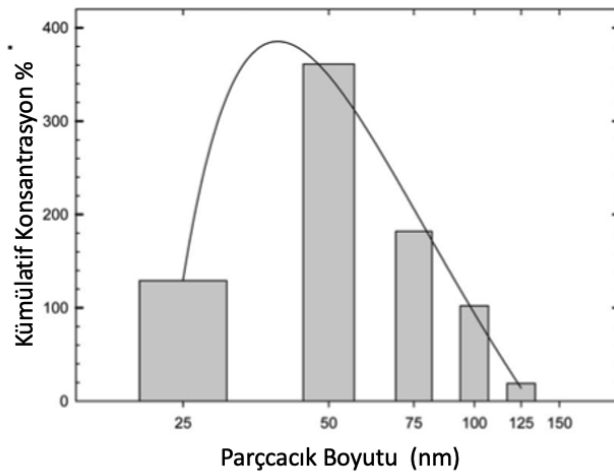
Şekil 2.15: *Staphylococcus aureus* üzerindeki antibakteriyel aktivite
a) HAP b) HAP-AgNP [38].

2.4 Gümüş Nanoparçacıkların Oral Toksisitesi

Gümüş nanoparçacıklar antimikrobiyal etkilerinden dolayı lokal antimikrobiyal tedavi amaçlı implant yüzeylerde, tıbbi ve gıda endüstrisi ekipmanlarında, iç ve dış yüzey kaplamalarında boya olarak ve tekstil sektöründe kullanılmaktadır. Bununla birlikte, potansiyel olarak toksik olduğu için sistemik kullanımı Avrupa Birliği'nde yasaklanmıştır. AgNP'lerin antimikrobiyal etkilerinin mekanizması, gümüş iyonlarının (Ag^+) salınımına bağlı güçlü oksidatif aktivitedir, bu aynı zamanda çeşitli organlardaki toksisitenin de temelini oluşturmaktadır [39]. Oral yollarla maruz kalınan gümüş nanoparçacıkların, insanlarda %18 oranında, memelilerde ise %0.4-18 arasında emildiği açıklanmıştır. Hayvanlardaki bulgulara dayanarak, gümüşün incelenen tüm organlara dağıldığı ve en yüksek seviyelerin bağırsak ve midede gözlemlendiği bildirilmiştir. Atılım safra ve idrar yoluyla gerçekleşir. Parçacık halinde bulunan gümüşün neden olduğu etkilerin parçacık yüzeyinden salınan gümüş iyonları aracılığıyla gerçekleştiğini gösteren önemli kanıtlar mevcuttur [40]. Günümüzde koloidal gümüş, AB'de bir biyosit olarak sınıflandırılmaktadır. İmplantın primer stabilitesinin radyofrekans (RFA) yöntemi ile ölçülmesi çalışmaları 1996 yılında

Meredith ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Elektromanyetik olarak yapılan bu ölçümler implant stability quotient (ISQ) olarak ifade edilir ve değerin (1-100) arasında olması beklenir. Bu kılavuz değer gümüşe yüksek dozda maruz kalma doğrultusunda deride oluşan *Argyria* hastalığı baz alınarak hazırlanmıştır [40].

Piyasadaki koloidal gümüş nanoparçacık içeren ürünlerin çoğunun 10-30 mg/l gümüş içerdiği iddia edilmektedir: bu nedenle, koloidal gümüş nanoparçacık içeren ürünlerin kullanımında verilen kılavuz değerler kolayca aşılabılır [40], [41]. Kim ve arkadaşlarının fareler üzerinde gerçekleştirdikleri 90 günlük oral toksisite çalışmasında, gümüş nanoparçacıkların oral kullanımının LOAEL (gözlemlenebilir en düşük yan etki) seviyesi 125 mg/kg, NOAEL (gözlemlenemeyen yan etki) seviyesinin ise 30 mg/kg olarak kullanılabilirliği kılavuz aralığı oluşturulacak şekilde belirlenmiştir [38]. Bu çalışmada kullanılan gümüş parçacıkların boyutlarına bağlı olarak değişen kümülatif konantrasyonları Şekil 2.16'da verilmiştir.



Şekil 2.16 AgNP DLS sonuçları [38]

Ag-NP'nin çevresel ve insan toksisitesine olası etkisi, antimikrobiyal direncin oluşumu ve mekanizması hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır. Hakemler tarafından gözden geçirilmiş literatürden elde edilen mevcut veriler, AgNP'ye sürekli maruz kalınmasının olası sağlık etkileri hakkında endişeler uyandırmaktadır. AgNP, tüketici ürünlerinde kullanıldığında, ürünlerin işlevsel olmakla birlikte güvenli kullanım aralığında olması için kısıtlı gümüş salınımına ihtiyaç vardır [41].

Çizelge 2.7: Organlardaki gümüş birikimi

Gümüş ($\mu\text{g/g}$)			
Doz	Testis	Karaciğer	Böbrekler
0 mg/Kg	0.04 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01	0.04 \pm 0.02
<i>Erkek/Kadın</i>		0.01 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01
30 mg/Kg	6.56 \pm 0.33	4.20 \pm 1.57	1.49 \pm 0.37
<i>Erkek/Kadın</i>		8.56 \pm 3.22	7.98 \pm 0.91
125 mg/Kg	1.84 \pm 1.62	10.19 \pm 2.09	8.82 \pm 2.13
<i>Erkek/Kadın</i>		29.13 \pm 9.74	37.09 \pm 17.44
500 mg/Kg	23.75 \pm 9.13	68.65 \pm 33.59	99.19 \pm 32.82
<i>Erkek/Kadın</i>		98.75 \pm 31.65	226.88 \pm 55.64
Doz	Beyin	Akciğer	Kan
0 mg/Kg	0.02 \pm 0.01	0.10 \pm 0.08	0.001 \pm 0.000
<i>Erkek/Kadın</i>	0.01 \pm 0.01	0.05 \pm 0.02	0.002 \pm 0.002
30 mg/Kg	0.47 \pm 0.18	1.94 \pm 0.64	0.111 \pm 0.016
<i>Erkek/Kadın</i>	0.38 \pm 0.05	4.97 \pm 0.90	0.087 \pm 0.017
125 mg/Kg	0.69 \pm 0.06	10.97 \pm 3.81	0.191 \pm 0.037
<i>Erkek/Kadın</i>	0.77 \pm 0.11	17.64 \pm 9.06	0.122 \pm 0.010
500 mg/Kg	3.54 \pm 1.44	56.04 \pm 51.14	0.419 \pm 0.083
<i>Erkek/Kadın</i>	3.70 \pm 1.17	45.83 \pm 11.43	0.303 \pm 0.099

Günümüzde olası uzun vadeli etkiler hakkında yeterli veri bulunmadığından, AgNP için belirli risk değerlendirmesi yapmak mümkün değildir. Bu nedenle, uzun süreli maruziyetten sonra insan sağlığına etkileri hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Gümüş iyonlarının salınımı çoğu bakteriyel toksisiteden sorumlu olabilirken, AgNP'nin bakterilerle etkileşimlerinin moleküler mekanizmaları iyi anlaşılmamıştır. İyonik gümüşe karşı bakteri direnci kanıtlanmış olmasına rağmen, özellikle akış sistemleri ve diğer direnç mekanizmalarının da daha derinlemesine araştırılması gerekir [42].

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Malzemeler

3.1.1 Titanyum İmplant

Günümüz dental implant teknolojisinde diş hekimleri tarafından hasta memnuniyeti göz önüne alınarak titanyum bazlı implantlar tercih edilmektedir. Bu tercihten yola çıkarak çeşitli saflık derecelerinde bulunan titanyum implant malzemelerinden *Grade 4* saflıkta, 4.8mm çapında ve farklı boyutlarda üretilebilen *DETECH implantlar* DETECH IMPLANT TECHNOLOGY tarafından temin edildi. İmplant malzemesinin teknik özellikleri Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’de belirtildiği gibidir.



Şekil 3.1: Kullanılan implant malzemesi boyutları.



Şekil 3.2: Kullanılan implant malzemesinin yüzey özellikleri.

3.1.2 Gümüş Katkılı Hidroskiapatit Nanoparçacık Üretim Malzemeleri

3.1.2.1 Gümüş Nitrat

Bu çalışmada AgNP'ler kimyasal indirgenme metoduyla üretilmiş olup, metal bazlı öncüler olarak TOBB ETÜ tarafından Sigma Aldrich'ten satın alınan Gümüş Nitrat (AgNO_3) kullanılmıştır. Kullanılan (AgNO_3) tozunun teknik özellikleri Çizelge 3.1'de belirtildiği gibidir

Çizelge 3.1: Gümüş nitrat kimyasal özellikleri.

AgNO ₃	
Kaynama Sıcaklığı	444 °C (1013 hPa)
Yoğunluk	4.350 g/cm ³
Erime Noktası	212 °C
Ph	5.4 - 6.4 (100 g/l H ₂ O, 20 °C)
Bulk Yoğunluk	2350 kg/m ³
Çözünürlük	2160 g/l

3.1.2.2 İndirgeyici Ajanlar

Literatürde Gümüş nanoparçacıkların üretimi için genellikle Trisodyum sitrat, Sodyum Borhidrür, Organik solventler, Glukoz gibi farklı indirgeyici ajanlar kullanılmaktadır. Sitrat iyonunun hem indirgeyici ajan hem de stabilizatör olarak görev yaptığı görülmektedir. Bu çalışmada kimyasal indirgenme metoduyla AgNP üretmek amacıyla Trisodyum Sitrat (TSC) ve Sodyum Borhidrür (NaBH_4) kullanılmıştır. Kullanılan indirgeyici ajanlar TOBB ETÜ bünyesinde bulunan stoklardan temin edilmiştir. TSC ve NaBH_4 'ün teknik özellikleri sırasıyla Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.2: Trisodyum sitrat kimyasal özellikleri.

C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇	
Molekül Ağırlığı	258.06 gr/mol
Erime Noktası	300 °C
Ph Aralığı	3,5 - 4
Yoğunluğu	1.70 gr / cm ³

Çizelge 3.3: Sodyum borhidrür kimyasal özellikleri.

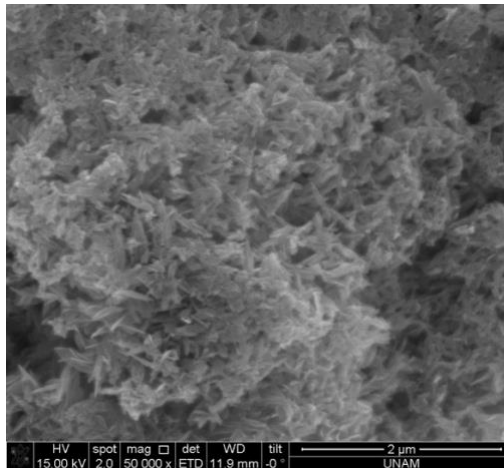
NaBH ₄	
Moleküler ağırlığı	37,84 g/mol
Teorik hidrojen içeriği (ağırlıkça)	% 10,60
Ergime noktası (2-6 atm. H₂ basıncında)	500 °C
Bozunma sıcaklığı (vakum altında)	400 °C
Kristal yapısı	Yüzey merkezli kübik (a=6,15Å)
Oluşum entalpisi(AfH°) 25°C	-188,6 kJ mol ⁻¹
Oluşum Gibbs enenisii(AfG°) 25°C	-123,9 kJ mol ⁻¹
Entropi (S°)	101,3 J mol ⁻¹ K ⁻¹
Isı kapasitesi (C) 25°C	86.8 J mol ⁻¹ K ⁻¹ h

3.1.2.3 Polivinilpirolidon (PVP)

Sentezlenen metalik nanoparçacıklarda meydana gelen agregasyonu önlemek amacıyla stabilizatörler kullanılmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında kullanılan stabilizatör Polivinil Prolidon (PVP) olarak belirlenmiştir.

3.1.2.4 Nano Hidroksiapatit (nano-HAP)

Kaplama malzemelerinden biri olan nano-Hidroksiapatit, TOBB ETÜ bünyesinde *BÜYÜKSERİN Araştırma Grubu* tarafından güncel olarak devam eden çalışmalar sonucunda üretilmiş olup bu çalışmada kullanılmak üzere onlardan temin edilmiştir.



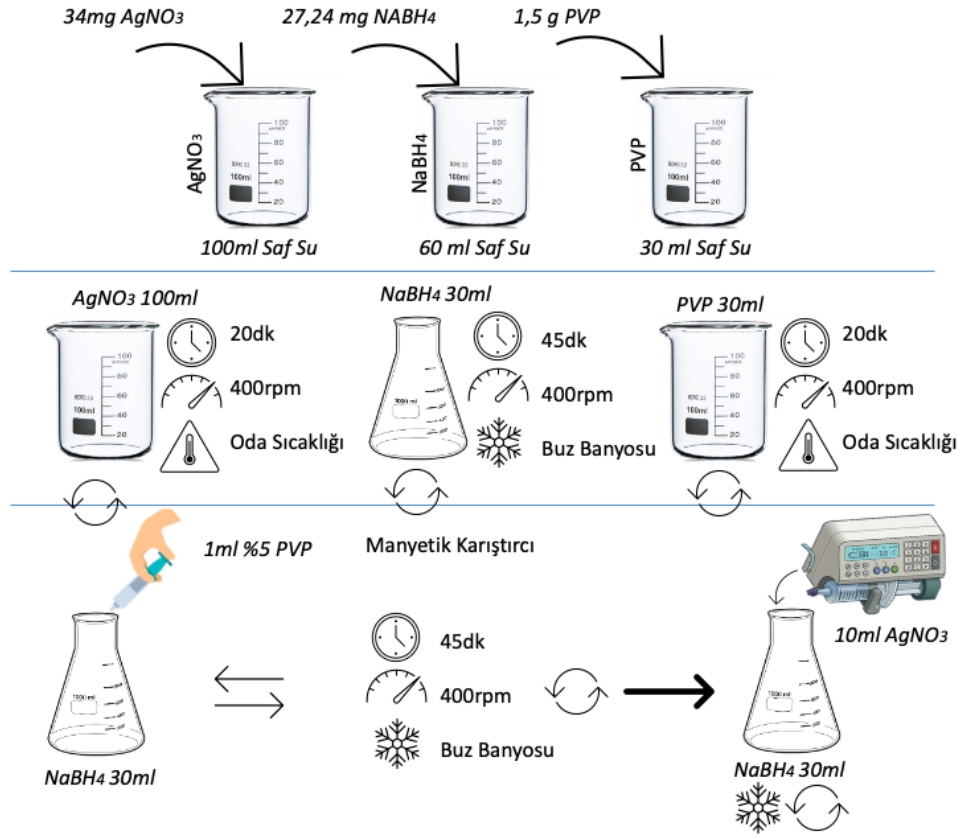
Şekil 3.3: Nano-HAP SEM görüntüleri.

3.2 Gümüş Nanoparçacık Sentezi

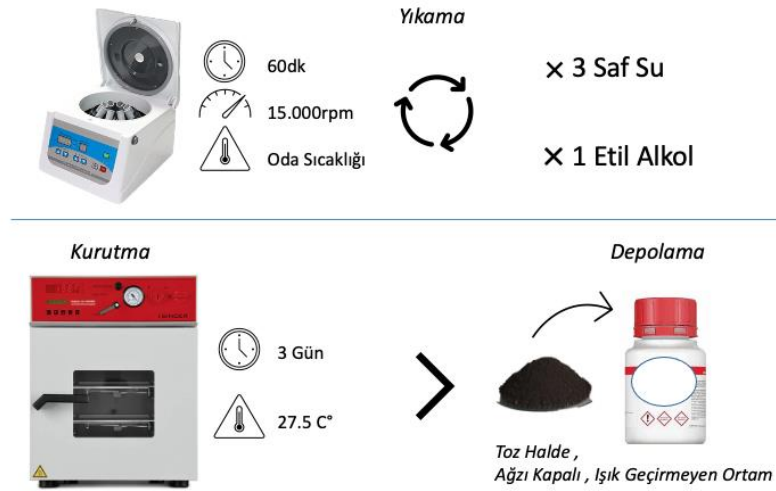
Bu çalışmada iki farklı kimyasal indirgeme reaksiyonu kullanılarak monodisperse gümüş nanoparçacık sentezlenmiştir. İki farklı indirgeyici ajan ve 10 farklı parametre, çeşitli formasyonlarda kullanılarak 100 nm altında gümüş nanoparçacık üretimi için gerekli optimizasyonlar yapılmıştır. İndirgeyici ajan olarak NaBH_4 kullanılarak üretilen gümüş nanoparçacık sentezinin yöntem basamakları Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te kısaca özetlenmiştir.

i. *Sodyum Bor Hidrür (NaBH_4) ile Gümüş Nanoparçacık Üretimi*

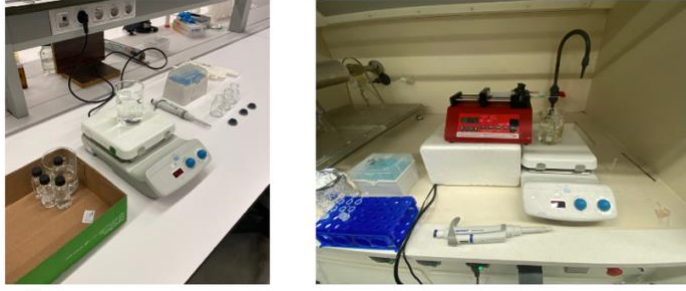
Buna göre, ilk olarak, 34 mg AgNO_3 100 ml saf su içerisinde tamamen çözünene kadar manyetik karıştırıcıda (400 rpm) karıştırılmıştır. Ardından farklı bir beherde, 27,24 mg NaBH_4 60 ml saf su içerisinde tamamen çözünene kadar buz banyosunda bekletilerek manyetik karıştırıcıda (400 rpm) karıştırılmıştır. 60 ml hazırlanan NaBH_4 çözeltisi iki adet erlen kabına 30'ar ml paylaştırılmıştır. %5'lik PVP çözeltisi 1,5 g PVP tozunun 30 ml saf su içerisinde çözünene kadar manyetik karıştırıcıda (400 rpm) karıştırılarak hazırlanmıştır. Buz banyosunda manyetik karıştırıcı üzerinde 45 dk soğumaya bırakılan 30ml NaBH_4 çözeltisi üzerine 1ml %5'lik PVP çözeltisi bir damla/saniye şeklinde ilave edilmiştir. PVP eklenen NaBH_4 çözeltisi 15 dk daha soğumaya bırakılmıştır. Şırınga pompası kullanılarak 0,45 ml/min damlatma hızında, 10 ml AgNO_3 çözeltisi damla damla NaBH_4 + PVP çözeltisine eklenmiştir. Şırıngada bulunan son damlanın damlatılmasının ardından manyetik karıştırıcıdan alınan çözelti 1.5 ml'lik eppendorf tüplere paylaştırılmıştır. Işık ve hava teması kesilen gümüş nanoparçacık çözeltisi 15.000 rpm santrifüj hızında, 60 dk, dört defa yıkanmıştır. Üç yıkama saf su ile yapılırken son yıkama etil alkol kullanılarak yapılmıştır. Yıkaması gerçekleştirilen örneklere sırasıyla UV-VIS spektrofotometrede ve DLS'te (Dinamik Işık Saçılımı) bakılarak üretilen gümüş nanoparçacıkların boyutlarına ve homojen boyut dağılımlarına bakılmıştır. Yapılan karakterizasyon işlemlerinin ardından elde edilen nanoparçacıklar vakumlu fırında 3-4 gün bekletilmiştir.



Şekil 3.4: Gümüş nanoparçacık sentez şeması ($NaBH_4$).



Şekil 3.5: Gümüş nanoparçacık yıkama ve kurutma şeması ($NaBH_4$).



Şekil 3.6: Gümüş nanoparçacık sentez düzeneği (NaBH₄).



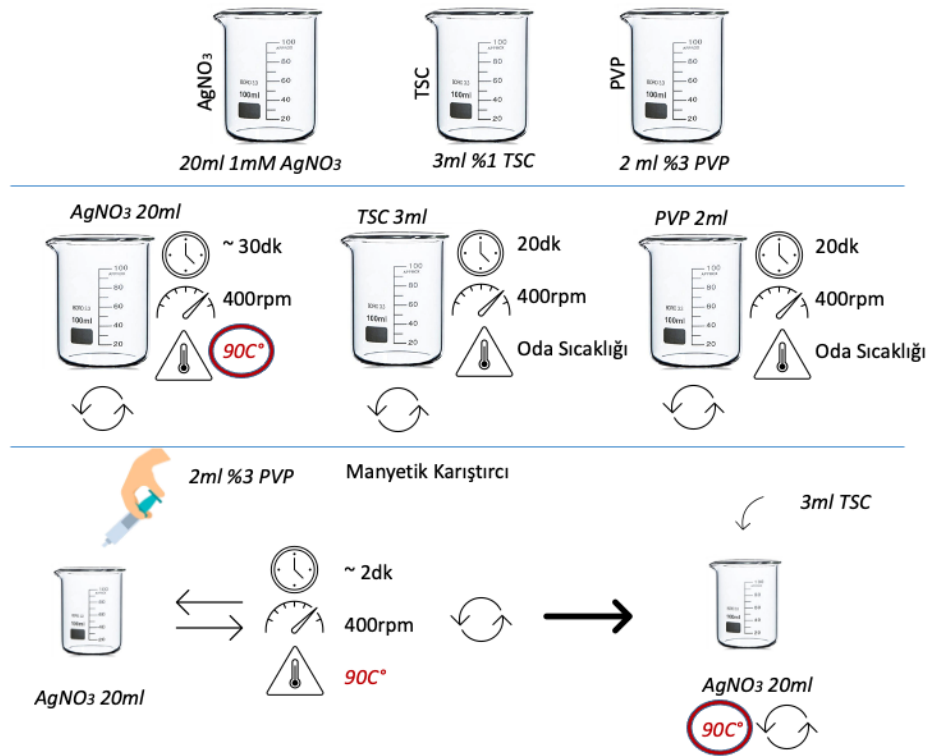
Şekil 3.7: Gümüş nanoparçacık yıkama düzeneği (NaBH₄).

ii. Trisodyum Sitrat ($Na_3C_6H_5O_7$) ile Gümüş Nanoparçacık Üretimi

Diğer bir diğer üretim metodunda, indirgeyici ajan olarak TSC kullanılarak üretilen gümüş nanoparçacık sentezinin yöntem basamakları Şekil 3.9'da kısaca özetlenmiştir. TSC kullanılarak yapılan üretimde geleneksel Turkevich ve Lee&Meisel metodu kullanılmıştır [43]. AgNO₃ çözeltisi (1 mM, 20 mL) 90 C° sıcaklığa ulaşana kadar manyetik karıştırıcıda (400 rpm) ısıtılarak karıştırılmıştır. 90C° sıcaklığa ulaşıldığında %1 3mL'lik TSC çözeltisi, saniyede 1 damla olacak şekilde AgNO₃ çözeltisine ilave edilmiştir. Belirli dakikalarda örnek toplanarak alınan örnekler arasında boyut analizi yapılmıştır. Standart Turkevich metodunu modifiye etmek amacıyla stabilizatör olarak polivinil pirolidon (PVP) kullanılmıştır. Benzer bir metod olarak 20 mL AgNO₃ çözeltisine kütlece %3'lük, 2 mL PVP eklenip sıcaklık 90 C°'ye ulaştığında TSC çözeltiye eklenerek aynı süreler göz önüne alarak (6, 8, 10, 12, 15dk) örnekler toplanmıştır. Üretim bittikten sonra her çözeltiden ependorf tüplere örnek alınmış ve ikişer tur yıkama yapılmıştır. Yıkaması gerçekleştirilen örnekler UV-VIS ve DLS ölçümlerinin ardından vakum fırında kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.8: TSC ile üretilmiş gümüş nanoparçacıklar.

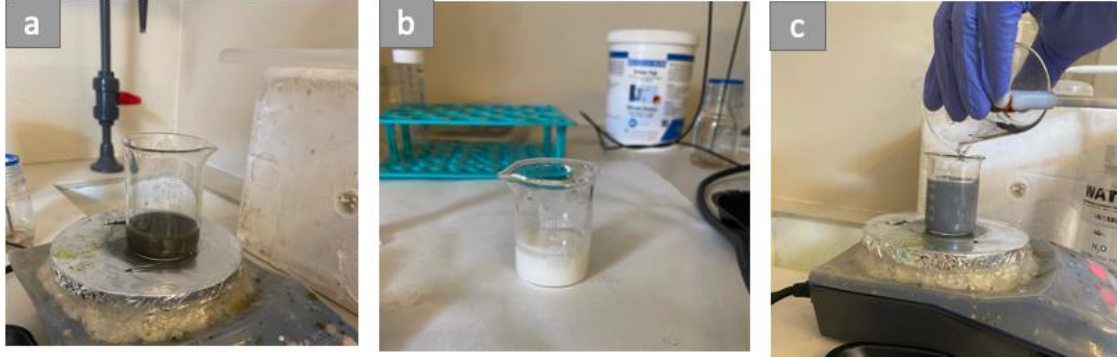


Şekil 3.9: Gümüş nanoparçacık sentez şeması (TSC).

3.3 Hidroksiapatitin Gümüş Nanoparçacık ile Katkılanması

Toz halde elde edilen AgNP'nin HAP kristallerine katkılanması Andrade ve arkadaşlarının 2015 yılında kullandığı üretim yöntemi ile gerçekleştirilmiştir [44]. Bu çalışmada da 1 g HAP tozu na karşılık 100 mg AgNP tozu kullanılmıştır. Gümüş nanoparçacık tozları ve HAP tozları 25ml saf su kullanılarak oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı (400 rpm) üzerinde çözülmeye bırakılmıştır. HAP tozu suda uzun sürelerde çözüldüğü için 30dk olarak verilen çözünme süresi homojen çözelti elde edilmesi amacı ile 1 saat olarak uygulanmıştır. Saf suda çözünen AgNP çözeltisi sabit

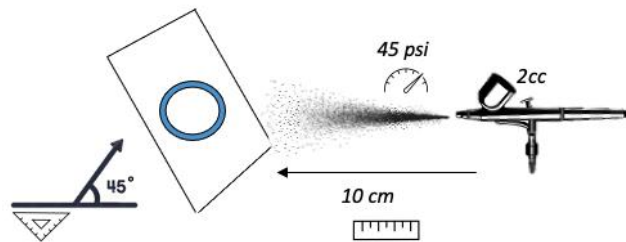
kariştırma hızı altında (400 rpm) HAP çözeltili içerisine ilave edilmiştir. 90 dk karişmaya bırakılan çözeltili kurutulmak üzere vakum fırına konarak 27.5 C° sabit sıcaklıkta 3 gün bekletilmiştir.



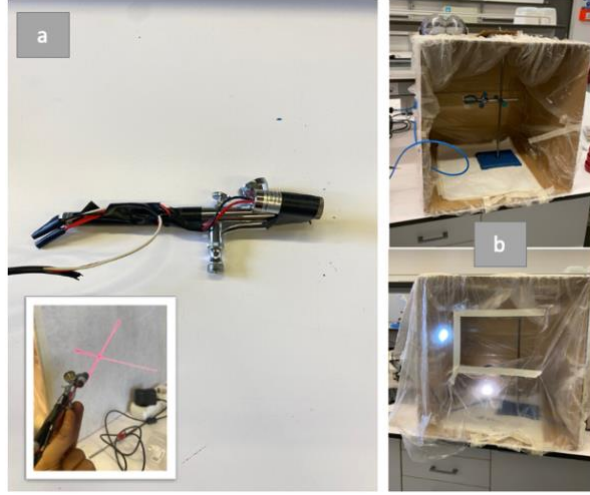
şekil 3.10: AgNP katkılı HAP üretimi a) AgNP Çözeltili b) HAP Çözeltili c) AgNP-HAP Çözeltili.

3.4 Titanyum İmplantların Kaplanması

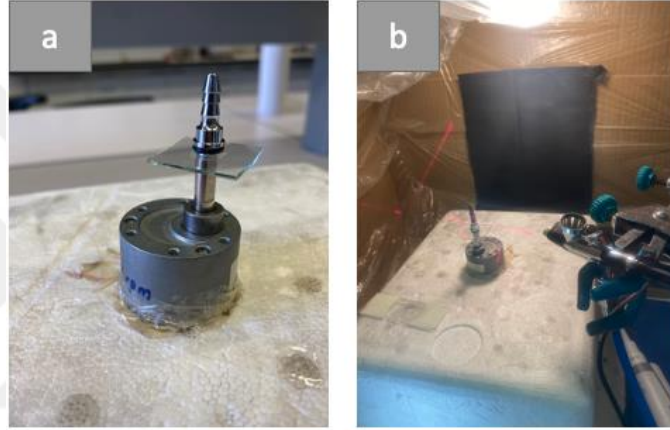
DETECH İmplant Teknolojileri'nden temin edilen Grade 4 saflıktaki titanyum implantlar üzerinde Sprey Kaplama (Cold Spray Coating CS) tekniği kullanılmıştır. Hazırlanan kaplama malzemeleri (%1 AgNP çözeltili) titanyum implantlar üzerine uygulanmadan önce 12 mm çapında daire şeklinde kestirilen cam lameller üzerinde farklı miktarlarda (100, 200, 400, 800 μ l) uygulanmıştır. Çeşitli optimizasyon ve bakteri çalışmalarının ardından Grade 4 titanyum implantlar AgNP ve AgNP+HAP olmak üzere 2 farklı kaplama malzemesi ile kaplanmıştır. Sprey tabancası olarak Dual Act. Airbrush Badsector 136, 0.20 mm kullanılmıştır. 45 psi hava basıncı ile 10 cm uzaklıktan 45°'lik açı ayarlanarak titanyum yüzeylere uygulanmıştır. Titanyum malzeme 75 rpm hızında sabit hızda çevrilerek homojen kaplama uygulaması gerçekleştirilmiştir. Kaplanan titanyum implantlar önceden 300 C°'ye ısıtılmış fırında 30 dk kurlenmiştir. Soğuk sprej kaplama düzeneği şekil 3.11'de şematize edilmiştir.



şekil 3.11: Sprey kaplama düzeneği şeması.



Şekil 3.12: a) Lazer pointer spray tabancası b) Sprey kabini.



Şekil 3.13: a) 75 rpm AC motor b) Titanyum implant kaplama düzeneği.

3.5 Karakterizasyon

3.5.1 UV-VIS Spektrofotometre ile Absorbans Ölçümü

Sentezlenen gümüş nanoparçacık örnekler TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi bünyesinde bulunan Hitachi-U5100 UV-VIS spektrofotometre kullanılarak absorbans analizine tabi tutulmuştur. 300-750 nm dalga boyu aralığında tarama yapılmıştır. Referans solisyonu olarak saf su kullanılmıştır. Örnekler 1 mL kuvarz küvete alınıp UV-VIS Spektrofotometre kullanılarak absorbans ölçümü yapılmıştır.

3.5.2 DLS (Dinamik Işık Saçılımı) ile Boyut Analizi

Sentezlenen gümüş nanoparçacıkların boyut analizi TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi bünyesinde bulunan Malvern Zetasizer Nano ZS karakterizasyon cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Analiz, AgNP'nin kırılma indeksi (0.135) ve absorpsiyon indeksi (3.99) ayarlanarak yapılmıştır.

3.5.3 Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Kaplanan implant yüzeylerinin morfoloji analizleri, UNAM bünyesinde hizmet veren FEI ve Nova NanoSEM 640 cihazları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. UNAM bünyesinde alınan görüntülemenin öncesinde, TOBB ETÜ bünyesinde bulunan Phenom XL Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılarak ön çalışma yapılmıştır.

3.5.4 Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)

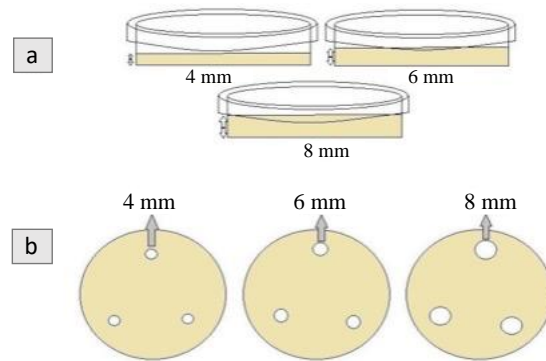
Sentezlenen AgNP ve HAP çözeltilerinden üretilen AgNP-HAP nanoparçacıkların görüntülenmesinde İstanbul Sağlık Bilimleri Üniversitesi bünyesinde bulunan Hitachi suv7000 Geçirimli Elektron Mikroskobu kullanılmıştır.

3.5.5 Optik Mikroskop

Sentezlenen kaplama malzemesinin kullanım miktarı optimizasyonu TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi bünyesinde bulunan Nikon Eclips LV150N optik mikroskobu (20x, 50x yakınlaştırma) kullanılarak yapılmıştır.

3.5.6 Antimikrobiyal Aktivite Testleri

Sentezlenen gümüş nanoparçacık ve hidroksiapatite katkılanmış gümüş nanoparçacıkların çözelti formundaki antimikrobiyal testleri *Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi (AGAR WELL)* kullanılarak 2 farklı konsantrasyon (200 ve 400 µl) için yapılmıştır. 12 mm çapında kesilen dairesel cam cover glass üzerindeki kaplama malzemelerinin *Agar Disk Difüzyon Yöntemi* kullanılarak antibakteriyel testleri gerçekleştirilmiştir. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi Şekil 3.16'da şematize edilmiştir.



Şekil 3.14: Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi a) Farklı besiyeri kalınlıkları b) Kuyucuk çapı büyüklükleri

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Sentezlenen AgNP'nin Karakterizasyonu

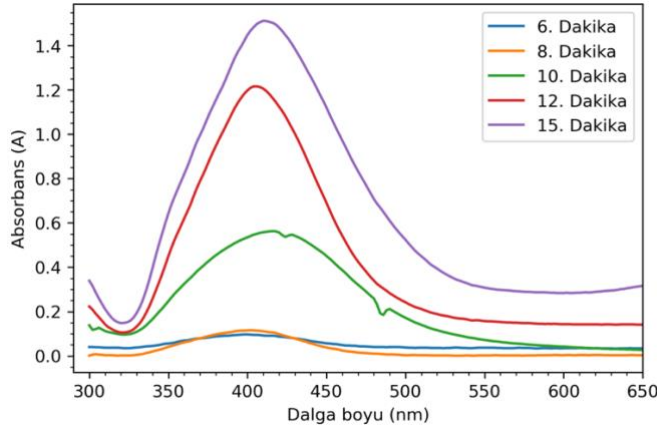
İki farklı indirgeyici ajan kullanılarak sentezlenen gümüş nanoparçacıklar UV-Vis ve DLS kullanılarak optimize edilmiştir. 2 farklı indirgeyici ajan başta olmak üzere 10 farklı parametre değiştirilerek parçacıklarda homojen boyut dağılımının sağlanması esas alınmıştır. Kullanılan parametreler Çizelge 4.1'de listelenmiştir.

Çizelge 4.1: Gümüş nanoparçacık sentezi için kullanılan parametreler.

<i>Parametreler</i>	<i>Test Edilen Değerler</i>	<i>Karar Kılınan Değerler</i>
Damlatma Hızı (ml/min)	0,25 / 0,45 / 0,65 / 1.0	0,45
PVP Konsantrasyonu	%3 / %5 / %10	%5
PVP Miktarı (mL)	0,5 / 1 / 2	1
Ph	9,5 / 10 / 11 / 12	9,5
AgNO₃ NaBH₄ Oranı	1:2 / 1:6 / 1:10	1:6
Santrifüj Hızı (rpm)	3000 – 15000 arası	15000
Çözücü Cinsi	UPW / Etil Alkol	UPW
Yıkama Miktarı	0 / 1 / 2 / 3 / 4	3
İndirgeyici ajan	TSC / NaBH ₄	NaBH ₄
Eklenen AgNO₃ Miktarı	2mL – 10mL arası	10mL

Gümüş nanoparçacık sentezinde yapılan optimize çalışması parametrelerinden biri olan; indirgeyici ajan olarak TSC kullanılarak sentezlenen gümüş nanoparçacıklardan farklı zaman aralığında örnekler elde edilen UV-Vis karakterizasyon grafiği Şekil 4.1'de verilmiştir. UV-Vis grafiği kullanılarak üretilen nanoparçacıklar hakkında bilgi sahibi olmak mümkündür. Alınan pik absorbans değerine bağlı olarak, üretilen nanoparçağın boyutları hakkında fikir sahibi olunabilmektedir.

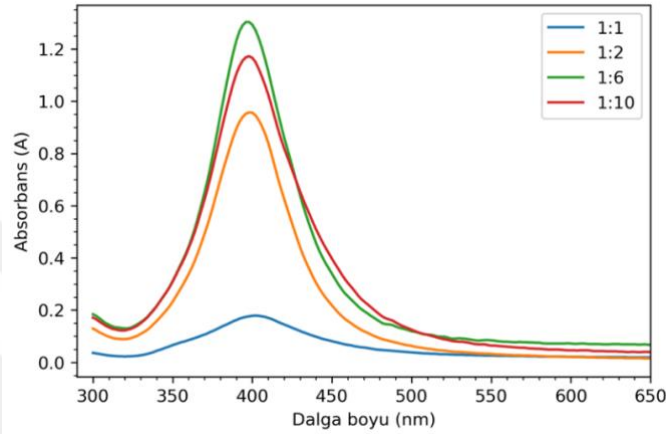
Üretilen nanoparçacıkların homojen boyut dağılımları, elde edilen grafik pikinin sivriliği ile orantılı olarak tespit edilebilirken ölçülen absorbans değerleri ise üretilmiş olan nanoparçacık miktarı hakkında bir ölçek olarak kullanılabilir. Bu bilgiler doğrultusunda 6. ve 8. dakikalarda TSC kullanılarak gümüş nanoparçacık oluşumu görülmemiştir. 12. ve 15. dakikalarda alınan örnekler 404 ve 410 nm’de pik verirken absorbans değerleri 1,216 ve 1,512 olarak ölçülmüştür. Sıcaklık ve tepkime süresine bağlı olarak agrege olma eğilimi gösteren gümüş nanoparçacıkların pik değerlerinde kaymalar meydana gelmektedir (404 nm’den 410 nm’ye kaymıştır). TSC ile üretilen gümüş nanoparçacıklardan sivri pik alınamamış olması nanoparçacıkların homojen boyutlarda üretilmediğinin bir göstergesidir.



Şekil 4.1: Farklı dakikalarda alınan UV-Vis grafiği (TSC).

Bir diğer indirgeyici ajan olan NaBH_4 kullanımına bağlı olarak değişen parametrelerin optimizasyon çalışmalarından önce, TSC ile yapılan gümüş üretimi sonucunda elde edilemeyen düşük PDI değerinin elde edilmesi amacı için gerekli olan parçacık boyutu optimizasyonu, farklı konsantrasyonlarda ilave edilen PVP kullanılarak yapılmıştır. Dört farklı konsantrasyonda PVP kullanılmış olup elde edilen sonuçları Şekil 4.4’te gösterilmiştir. Optimal sonuçlar %3 ve %5 PVP kullanıldığında elde edilmiştir. UV-Vis grafiğinde görüldüğü üzere PVP kullanımına bağlı olarak değişen pik aralığı, PVP miktarındaki artışa bağlı olarak gelişen polidispersite değişimi ile literatür uyumu sağlamaktadır. NaBH_4 + PVP kullanılarak sentezlenen nanoparçacıkların optimize çalışması parametrelinden biri olan farklı oranlarda AgNO_3 : NaBH_4 (mM) kullanımına bağlı olarak üretilen AgNP’lerden elde edilen UV-Vis karakterizasyon grafiği Şekil 4.2’de verilmiştir. Monodisperse dağılımın bir göstergesi olan sivri pik

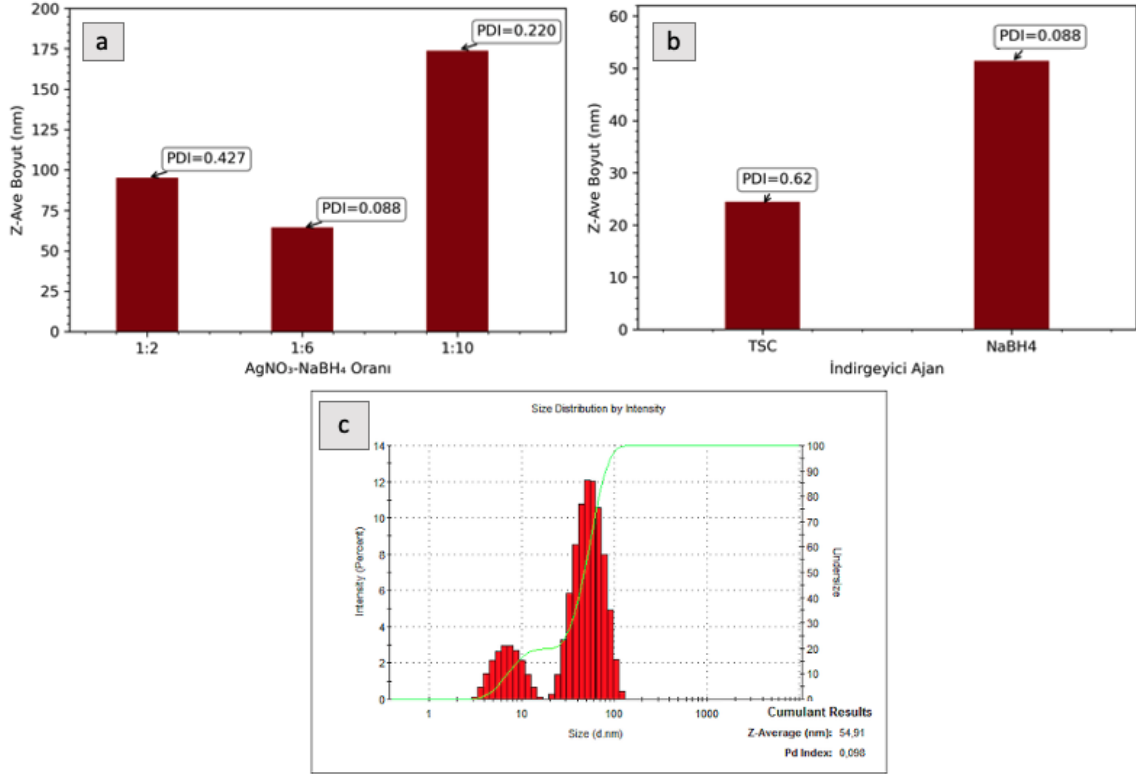
çıktısı, indikatör konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Kullanılan indikatör konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak alınan pik çıktısında sivrilme gözlenmiştir. TSC kullanılarak üretilen gümüş nanoparçacıklara kıyasla istenilen boyut homojenliği değerine yaklaşılmıştır. Ancak ulaşılan eşik değerinden sonra tekrar agregatlaşan gümüş nanoparçacıklar, konsantrasyon artışına bağlı olarak polidisperse boyut dağılımına yönelme eğilimindedir. Eşik değeri 1:6 olarak belirlenen $\text{AgNO}_3:\text{NaBH}_4$ konsantrasyon oranı, 396 nm dalga boyunda 1,303 absorbans değeri vermiştir.



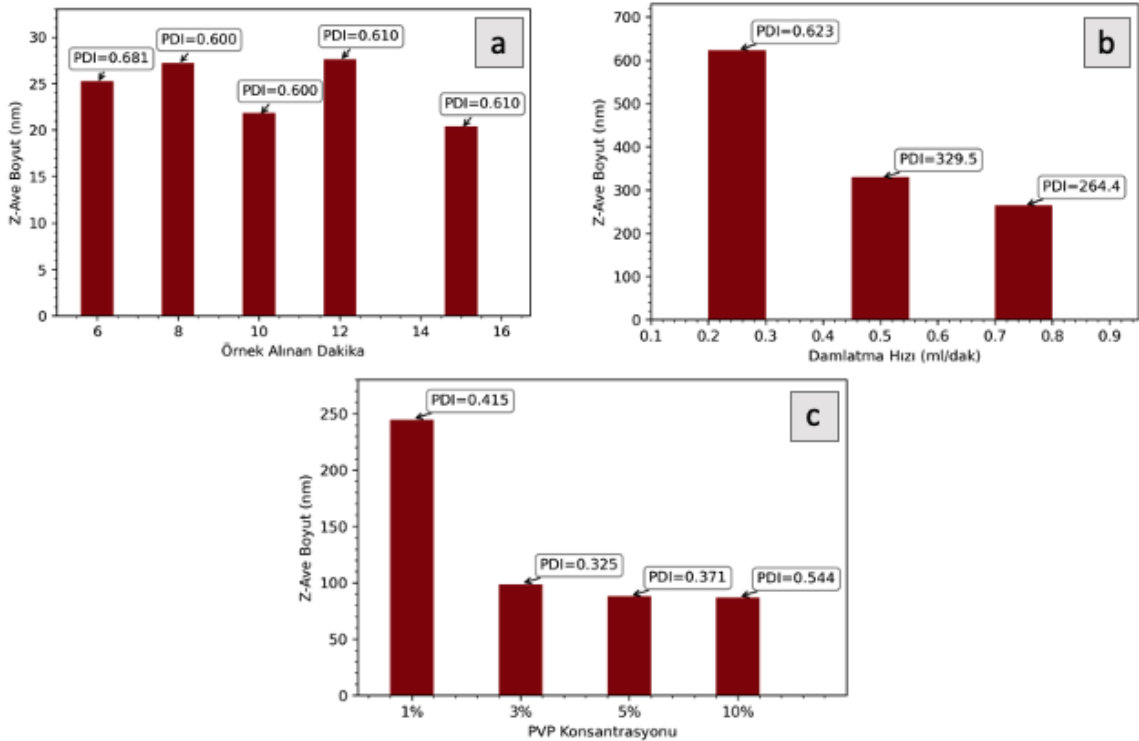
Şekil 4.2: Farklı oranlarda kullanılan indirgeyici ajan UV-Vis grafiği.

Sentezlenen gümüş nanoparçacıkların hidrodinamik boyut ölçümleri DLS karakterizasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Üretilen AgNP çözeltilerinin boyut analizleri doğrultusunda düşük PDI (Polidispersite indeksi) ve 50 ± 10 nm boyutlarında nanoparçacık konsantrasyonu elde edilene kadar listenelen parametreler sırasıyla denenmiştir.

Cihaz tarafından ölçülen boyutlar PDI değerleri göz önünde bulundurularak analiz edilmiştir. Değişen parametreler sonucunda elde edilen veriler, 1:6 konsantrasyon oranında hazırlanan çözeltiler ($\text{AgNO}_3:\text{NaBH}_4$) 1ml %5 PVP kullanımı ile birlikte 64,57 nm boyutlarında ve 0,088 PDI değerine sahip AgNP çözeltisi üretiminin gerçekleştirildiğini göstermektedir. Veriler ışığında belirlenen optimum parametrelerin doğruluğu sentezin tekrarı ile desteklenmiştir. DLS sonuçları ile UV-Vis sonuçları uyumluluk göstermektedir. AgNP üretimi için kullanılan 2 farklı indirgeyici ajan arasındaki DLS sonuçları Şekil 4.3'te kıyaslanmıştır.



Şekil 4.3: a) İndirgeyici ajan oranına bağlı boyut/PDI değişimi b) İndirgeyici ajan türüne göre boyut/PDI değişimi c) AgNP boyut dağılımı (DLS).



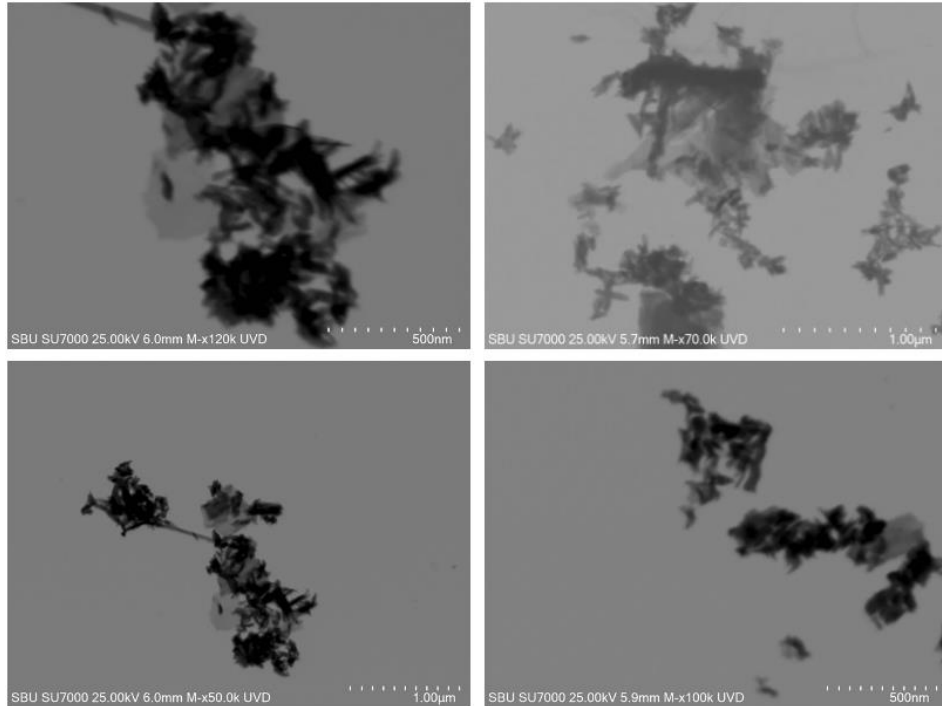
Şekil 4.4: TSC kullanımına bağlı gerçekleştirilen boyut optimizasyonu

a) Örnek alma dakikası b) Damlatma hızı c) PVP konsantrasyonu.

TSC ve NaBH_4 kullanımına bağı olarak değişen boyut ve PDI analizlerinden yola çıkarak soğuk yöntem (NaBH_4) kullanılarak üretilen gümüş nanoparçacıklardan daha homojen bir boyut analizi elde edilmiştir. DLS verilerine dayanarak, kullanılan PVP miktarındaki artış parçacık boyutunda azalma ve instabilitenin artmasıyla sonuçlanmaktadır. Stabilizatör konsantrasyonundaki artışa bağı olarak gümüş iyonları ile etkileşen anyon miktarı artmakta ve ortamda bulunan negatif iyon fazlalığı nanoparçacıkların agregasyonuna engel olarak parçacıkların agregolmalarının önüne geçmektedir. PVP miktarı ile yapılan tekrarlı deneyler sonucunda kullanılabilir en uygun PVP miktarının 1 mL kullanılmasına karar verilmiştir.

4.2 AgNP Katkılı HAP Karakterizasyonu

NaBH_4 + PVP kullanılarak üretilen gümüş nanoparçacıklar önceki çalışmalarda üretilmiş olan nano-HAP'a katıldıktan sonra Hitachi suv7000 Geçirimli Elektron Mikroskobu kullanılarak, AgNP+HAP nanoparçacıkların kaplama ve şekil analizi yapılmıştır. 60 nm boyutlarındaki gümüş nanoparçacıklar ile kaplanmış hidroksiapatit kristalleri farklı kontrast ayarları ile Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Hidroksiapatit yüzeyini kaplayan gümüş nanoparçacıklar koyu renkle gösterilmiştir. Sivri HAP uçların homojen bir şekilde kaplandığı görüntülenmiştir.



Şekil 4.5: AgNP katkıli Hidroksiapatit parçacıkların TEM görüntüleri.

4.3 Soğuk Sprey (CS) Kaplama Yöntemi Optimizasyonu

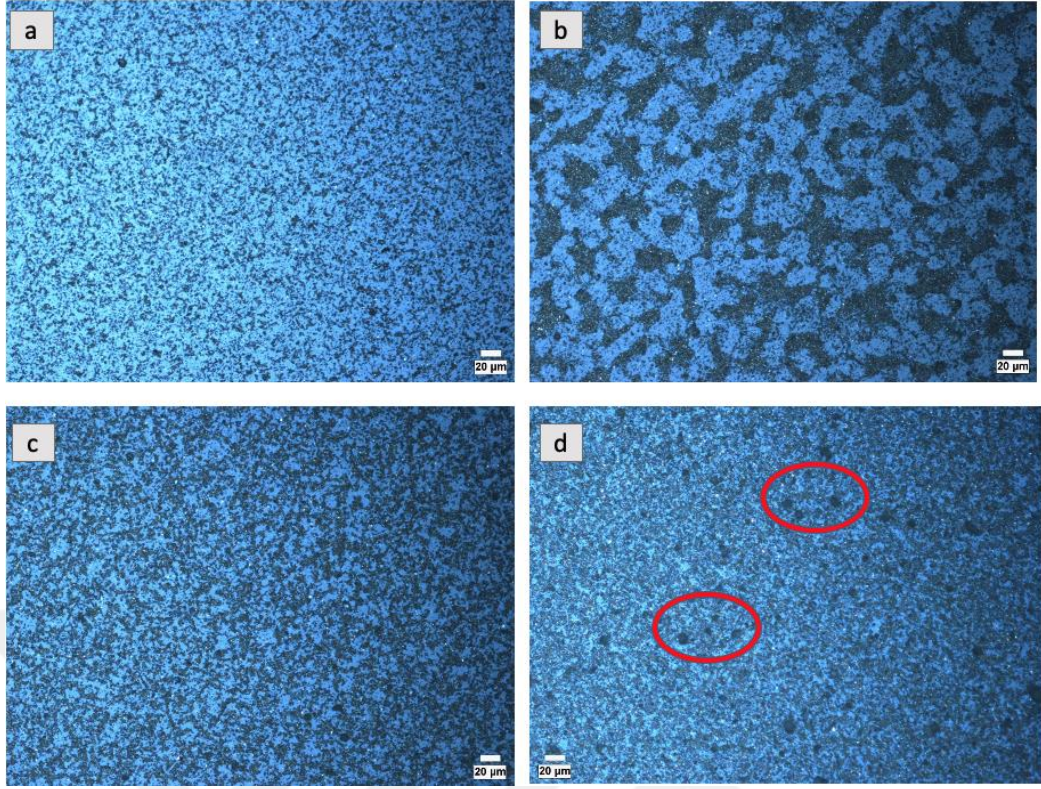
Gümüş nanoparçacık ile katkılanan HAP kristalleri, kaplama malzemesi olarak titanyum implantlara CS kaplama yöntemi kullanılarak uygulanmıştır. Kullanılacak kaplama malzemesinin miktarına bağlı olarak yapılan optimizasyon çalışması 12 mm'lik daire şeklinde kesilen cover glass malzemeler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Kullanılan 12 mm'lik camlar Şekil 4.6'de gösterilmiştir.



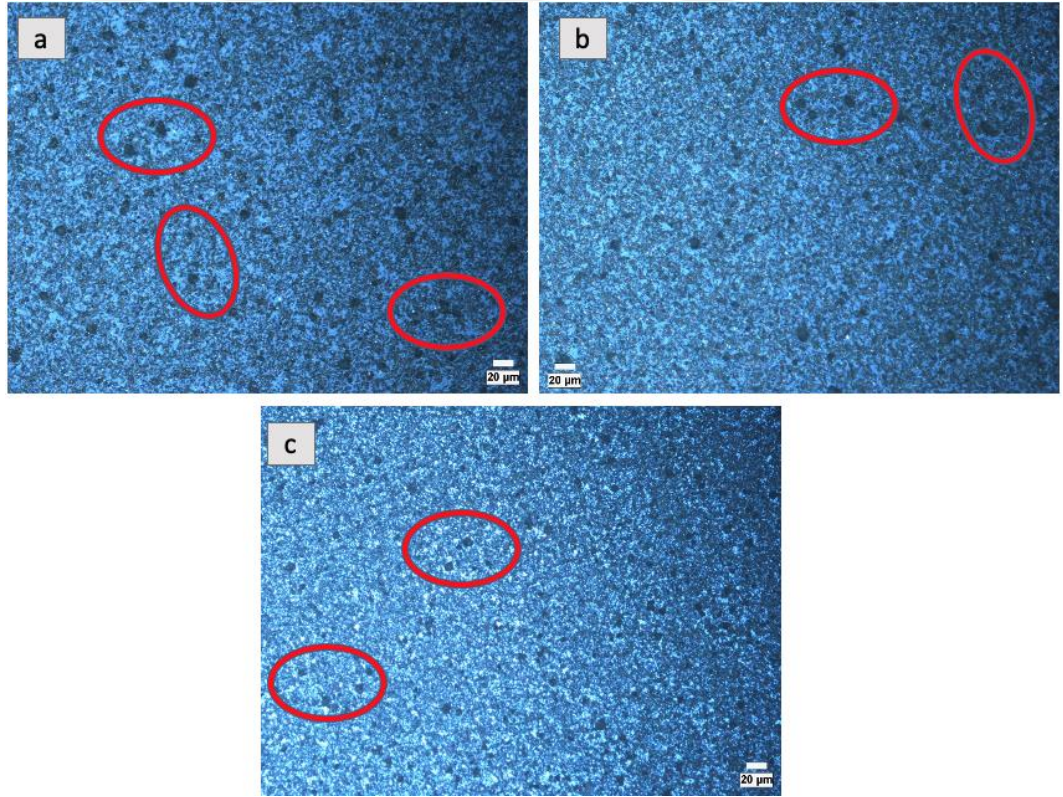
Şekil 4.6: Cover glass 12 mm.

Kaplama malzemesinin doz ayarı, sentezlenen gümüş nanoparçacıkların ağırlıkça %1 olacak şekilde etil alkol çözeltisinde çözünmesiyle ayarlanmıştır.

Farklı miktarlarda (100, 200, 400, 500, 600, 800, 1000 μ l) hazırlanan AgNP çözeltiler sırasıyla sprej tabancası kartuşuna eklenerek 12mm çapındaki cover glass üzerine sıkılmıştır. Cam yüzeylere uygulanan farklı miktarlardaki kaplama uygulamalarının optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'te verilmiştir. Yüzeyin homojen ve boşluk kalmayacak şekilde kaplanması planlanmıştır. 100 μ l ve 200 μ l kullanılarak gerçekleştirilen kaplamalarda yüzeydeki boşluklar dikkat çekerken 500 μ l ve üstünde kullanılarak gerçekleştirilen kaplamalarda ise topaklanmalara ve kapanmayan boşluklara rastlanmıştır. Cam yüzeye uygulanan kaplama malzemesinin 500 μ l ve üstü uygulamalarında, yüzey kaplamasındaki homojen dağılıma bir katkı sağlamadığı görülmüştür. 12 mm'lik daire yüzeyi için yapılan hesaplamalarda, 113.09 mm²'lik alanda kullanılan malzeme kaybını minimumda tutmak amacıyla optimum kaplama malzemesi miktarının %1'lik AgNP çözeltisi için 400 μ l kullanılmasına karar verilmiştir.

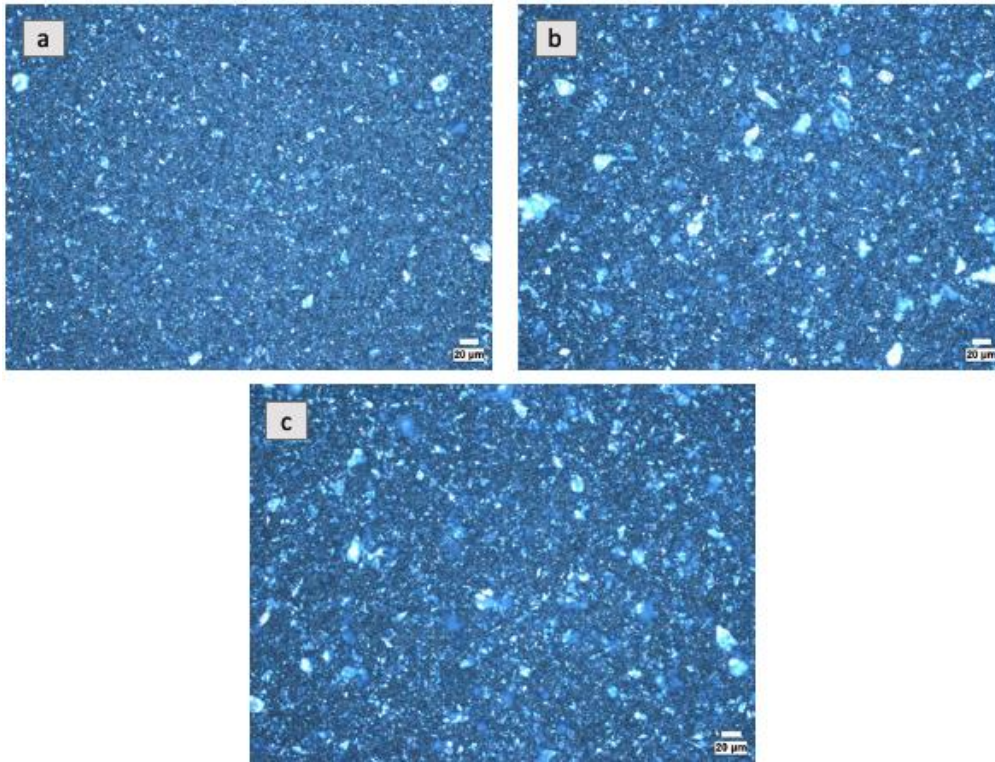


Şekil 4.7: AgNP kaplanmış cover glass optik mikroskop görüntüleri
a) 100 µl b) 200 µl c) 400 µl d) 500 µl.



Şekil 4.8: AgNP kaplanmış cover glass; optik mikroskop görüntüleri
a) 600 µl b) 800 µl c) 1000 µl.

AgNP kullanılarak yapılan optimizasyon çalışmalarının ardından, ağırlıkça aynı AgNP kullanılarak tekrarlanan AgNP+HAP kaplama çalışmalarından elde edilen görüntüler Şekil 4.9’da verildiği gibidir. Sırasıyla 200 µl, 400 µl ve 800 µl AgNP+HAP çözeltisi kullanılarak kaplanan 12 mm’lik cover glass yüzeylerde hidroksiapatit ve gümüş parçacıklar görülmektedir. HAP olmadan yapılan kaplama sonucunda görülen boşluklar AgNP’nin HAP ile uygulandığı kaplama uygulaması sonucunda kapanmıştır. Kullanılan malzeme oranları, homojen yüzey kaplaması optimizasyonu ile belirlenmiş olup antibakteriyel testler ve titanyum implant yüzey kaplaması çalışmalarında kullanılmak üzere kesinleştirilmiştir.



Şekil 4.9: AgNP+HAP cover glass kaplama a) 200 µl b) 400 µl c) 800 µl.

4.4 Kaplama Malzemesinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

AgNP+HAP kaplama malzemesinin, titanyum implant yüzeylere kaplanması öncesinde antimikrobiyal etkinliği Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi bünyesinde bulunan Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda incelenmiştir.

Agar Kuyucuk Difüzyon ve Agar Disk Difüzyon yöntemleri ile incelenen antibakteriyel aktivite *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Streptococcus*

mutans üzerinde gösterilmiştir. Peri-implantitis kaynaklı ağız içi enfeksiyonlarında büyük rol oynayan bu 3 bakteri türü üzerinde yapılan Kuyucuk Difüzyon yönteminde, çözelti halinde hazırlanan AgNP ve AgNP+HAP kaplama malzemeleri, 200 µl ve 400 µl olmak üzere 2 farklı dozda, bakteri içerisine açılan kuyulara enjekte edilmiştir. 3 gün bekletilen örneklerin inhibisyon çap ölçümleri Çizelge 4.2’de gösterildiği gibidir. 200 µl kullanılan AgNP çözelti konsantrasyonunda, *Escehrichia coli* bakterisi üzerinde antibakteriyel etki görünmezken diğer türlerde inhibisyon çapı ölçülebilmştir. 200 µl kullanılan AgNP+HAP çözelti konsantrasyonunda, *Staphylococcus aureus* haricinde antibakteriyel etki gözlenmemiştir. 400 µl kullanılan AgNP çözelti konsantrasyonunda ise üç farklı türü üzerinde antibakteriyel etki gözlenmiş olup inhibisyon çapları hesaplanmıştır. 400 µl kullanılan AgNP+HAP çözelti konsantrasyonunda, kullanılan miktar *Streptococcus mutans* bakterisi üzerinde yetersiz kalırken diğer iki bakteri türü üzerinde antibakteriyel etkisini kanıtlamıştır.

Çizelge 4.2: AgNP ve AgNP+HAP’ın agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerine antimikrobiyal etkisinin değerleri.

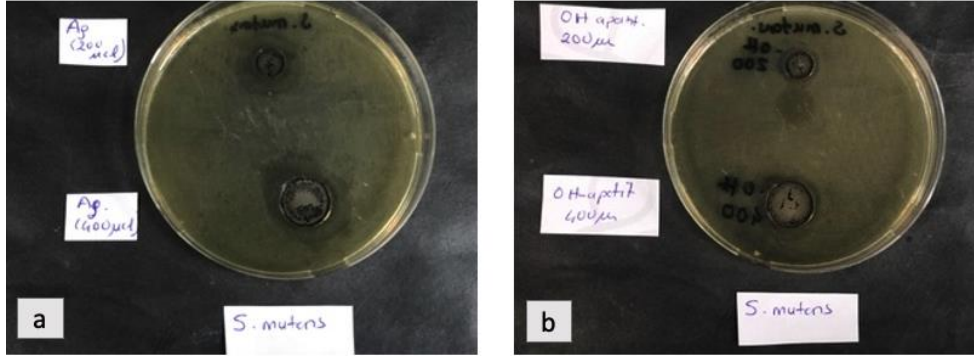
Maddelerin konsantrasyonları	AgNP	AgNP+HAP
400 µl	İnhibisyon çapı: 22 mm	İnhibisyon çapı: 23 mm
200 µl	İnhibisyon çapı: 13 mm	İnhibisyon çapı: 17 mm

Çizelge 4.3: AgNP ve AgNP+HAP’ın agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *Escehrichia coli* bakterisi üzerine antimikrobiyal etkisinin değerleri.

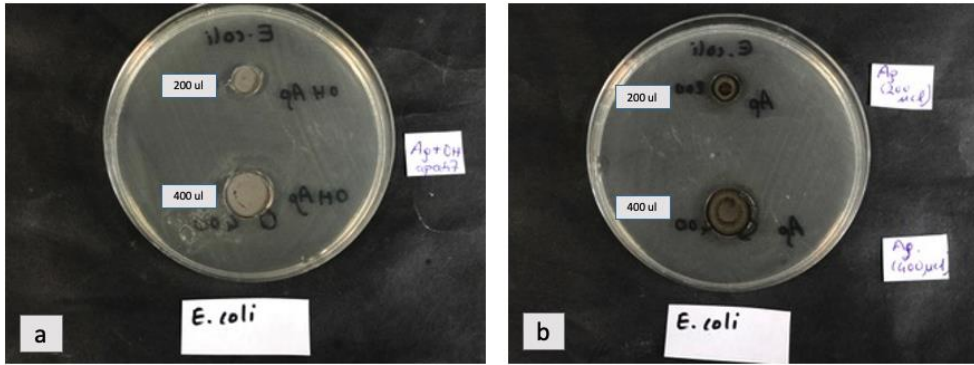
Maddelerin konsantrasyonları	AgNP	AgNP+HAP
400 µl	İnhibisyon çapı: 25 mm	İnhibisyon çapı: 25 mm
200 µl	İnhibisyon yok	İnhibisyon yok

Çizelge 4.4: AgNP ve AgNP+HAP’ın agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *Streptococcus mutans* bakterisi üzerine antimikrobiyal etkisinin değerleri.

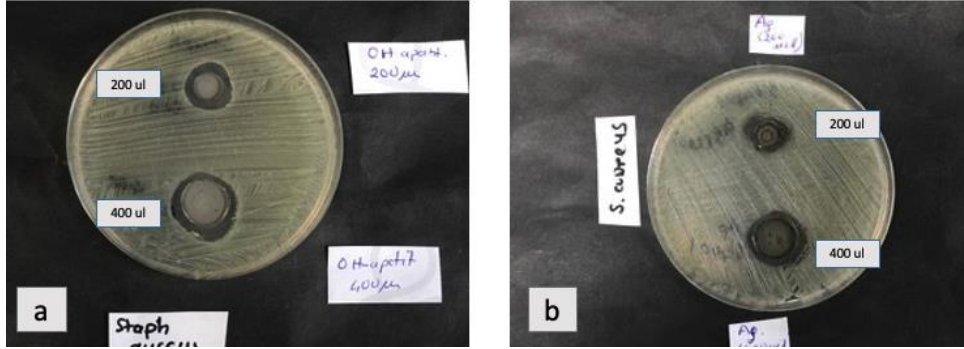
Maddelerin konsantrasyonları	AgNP	AgNP+HAP
400 µl	İnhibisyon çapı: 30 mm	İnhibisyon yok
200 µl	İnhibisyon çapı: 18 mm	İnhibisyon yok



Şekil 4.10: Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *Streptococcus mutans* bakterisi üzerinde antimikrobiyal etki a) AgNP b) AgNP+HAP.



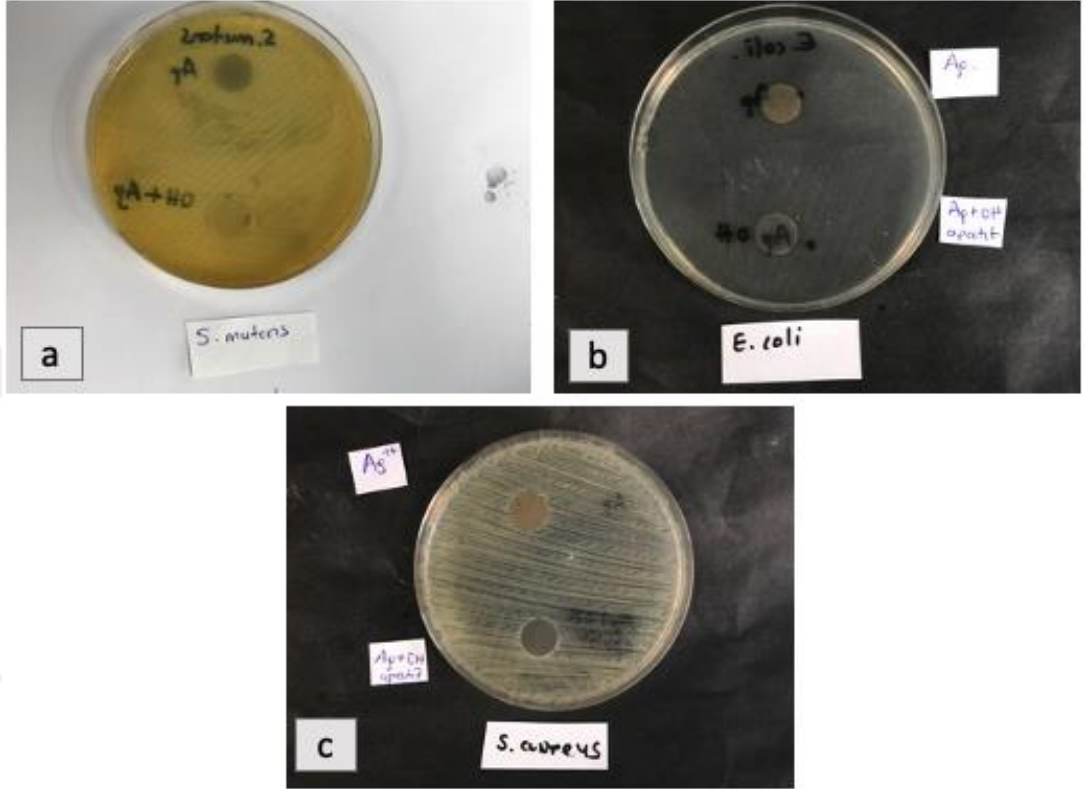
Şekil 4.11: Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *Escherichia coli* bakterisi üzerinde antimikrobiyal etki a) AgNP+HAP b) AgNP.



Şekil 4.12: Agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerinde antimikrobiyal etki a) AgNP+HAP b) AgNP.

Antibakteriyel aktivite, bir diğer metod olan Agar Disk Difüzyon yöntemi ile, 12 mm çapında kesilen cam lamellerin yüzeyi soğuk sprey metodu kullanılarak iki farklı kaplama malzemesi (AgNP, AgNP+HAP) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kuyucuk yönteminde test edilen bakteri türleri kullanılarak gerçekleştirilen düzenek, 12 mm'lik cam yüzeylerin, AgNP ve AgNP+HAP (ağırlıkça aynı AgNP) olacak şekilde 400 µl miktarlarda ayrı ayrı kaplandıktan sonra bakteri kolonileri üzerine ters kapatılmasıyla gerçekleştirilmiştir. AgNP ve AgNP+HAP ile kaplı

disklerin bakteri kolonisindeki antibakteriyel etkileri sadece disk yüzeyinde gerçekleşmiştir. Bölgesel bir Ag⁺ salınımı görülmemiştir, inhibisyon alanı bu sebepten oluşmamıştır. Yüzey kaplaması olarak kullanılan kaplama malzemelerinin düşük salınım ve yüzey temaslı antibakteriyel etkileri ile antibakteriyel kaplama malzemesi olarak kullanılabilirliklerini göstermiştir.

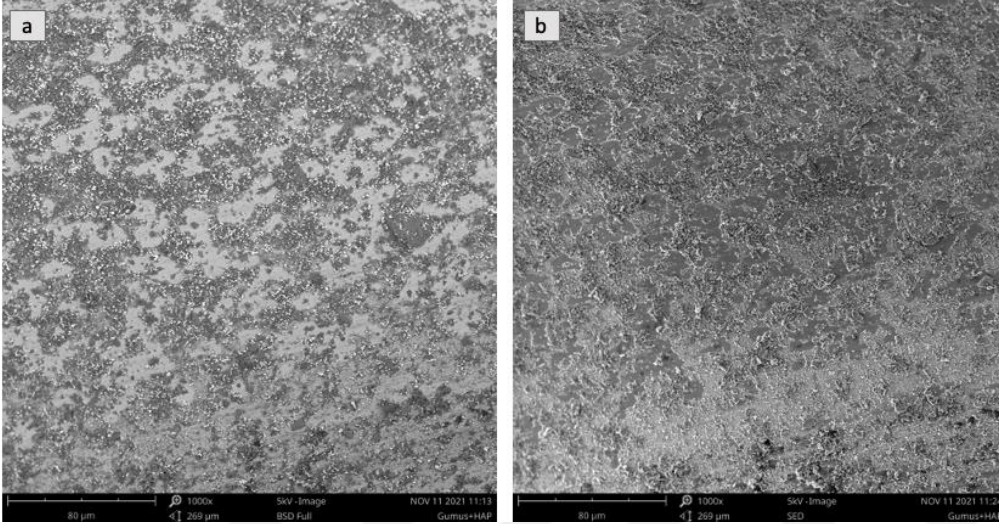


Şekil 4.13: Disk difüzyon yöntemi ile kaplama malzemesi (AgNP, AgNP+HAP) testi
a) *Streptococcus mutans* b) *Escherichia coli* c) *Staphylococcus aureus*.

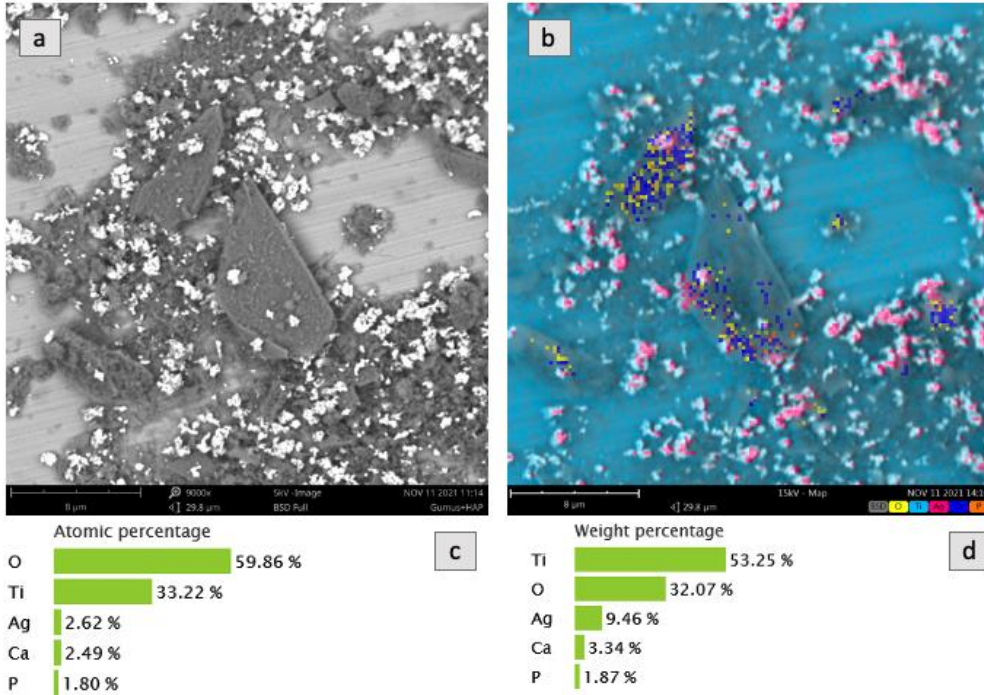
4.5 Titanyum İmplantların Sprey Kaplama ile Kaplanması

Gerçekleştirilen yüzey kaplama optimizasyonları ve kullanılan kaplama malzemelerinin antibakteriyel aktivite testleri sonucunda ulaşılan veriler doğrultusunda, titanyum implant malzemesi üzerine soğuk spreyle kaplama metodu kullanılarak AgNP+HAP yüzey kaplaması yapılmıştır. Kaplama malzemesi miktarı, yapılan yüzey kaplama optimizasyonları sonucu kullanılacak titanyum implantın yüzey alanı hesap edilerek ayarlanmıştır. Titanyum implantın 75 rpm hızda döndürülmesi, 45°'lik açı ve 10 cm'lik spreyle mesafesi ile gerçekleştirilen AgNP+HAP kaplama uygulamasının yüzey analizi SEM kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

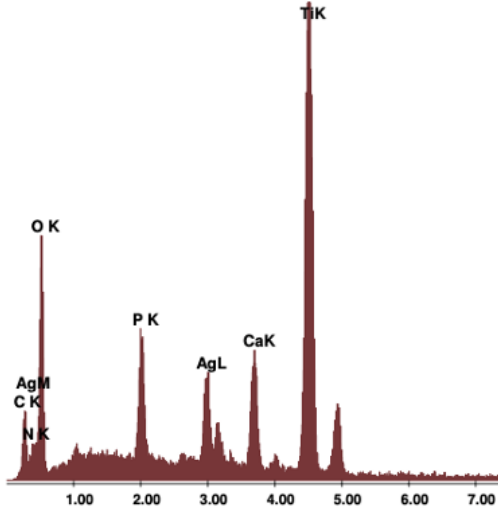
TOBB ETÜ bünyesinde bulunan Phenom XL kullanılarak yapılan ön çalışmada elde edilen görüntüler Şekil 4.14'te verilmiştir. Farklı noktalardan alınan EDX analizinde implant yüzeyinde hidroksiapatitin ana bileşenlerine ve gümüş elementine rastlanmıştır (Şekil 4.15). 75 rpm hızda döndürülme sonucunda elde edilen 360°'lik homojen kaplama uygulamasının detay görüntüleri, UNAM bünyesindeki FEI ve Nova NanoSEM 640 cihazı kullanılarak elde edilmiştir.



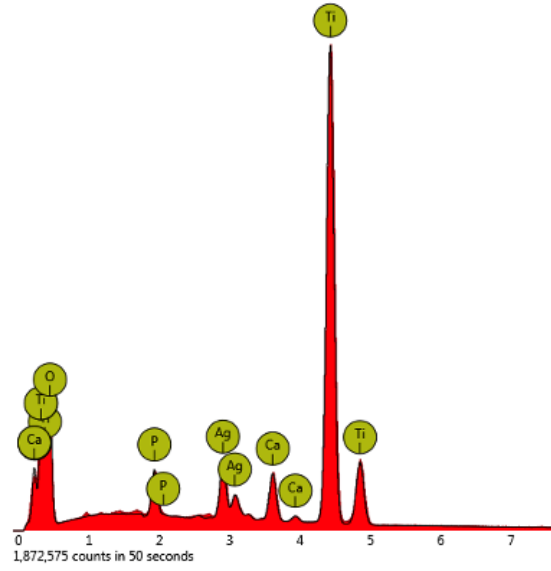
Şekil 4.14: Titanyum implant kaplama yüzeyi 1000x a) backscatter (BSD) b) ikincil elektron (SED).



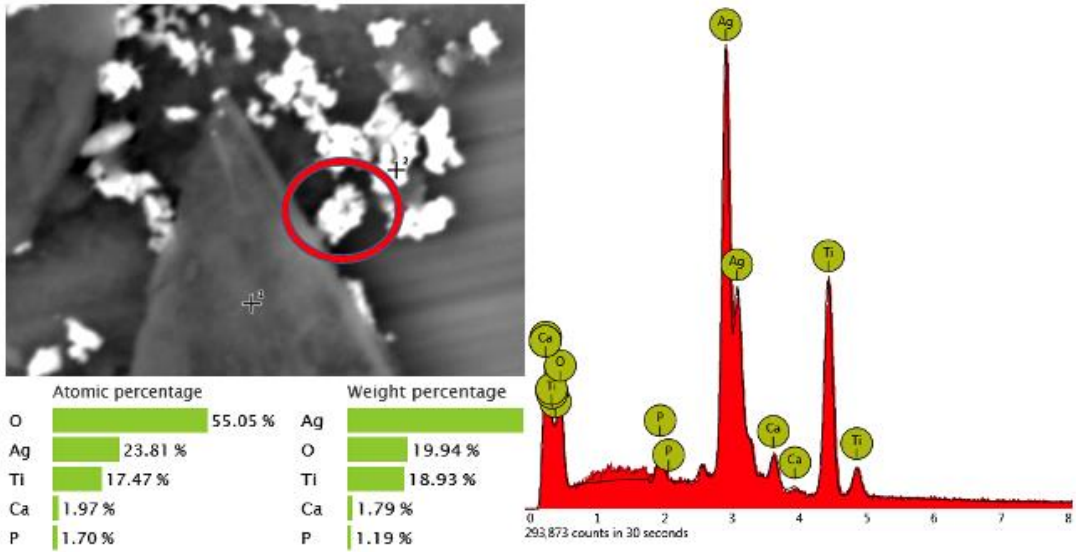
Şekil 4.15: Noktasal elementel analiz (EDX)
a) BSD b) EDX c) Yüzdesel atom oranı d) Yüzdesel ağırlık.



Şekil 4.16: Noktasal element dağılımı. (Edax) (UNAM)

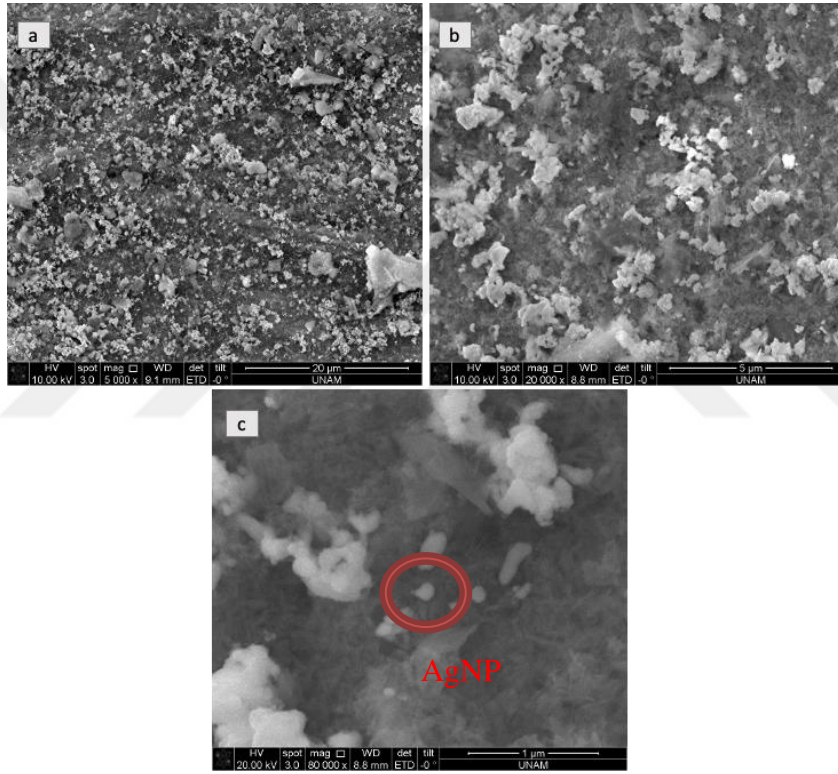


Şekil 4.17: Noktasal element dağılımı. (Edax) (TOBB ETÜ)

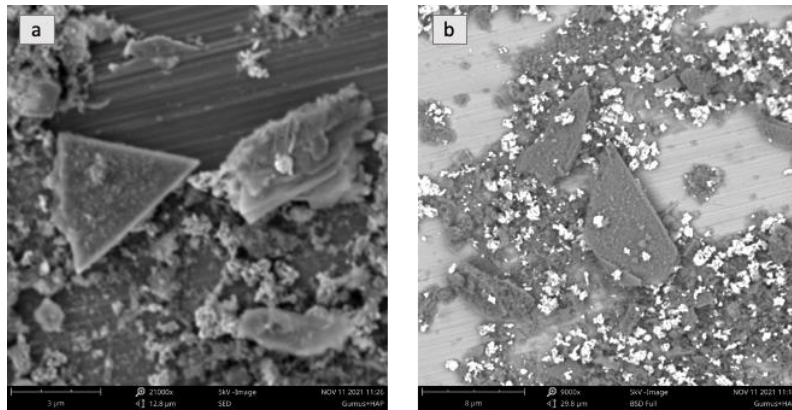


Şekil 4.18: Serbest AgNP dağılımı (TOBB ETÜ).

Kaplama malzemesinin çözünme süresindeki yetersizliğe bağlı olarak AgNP+HAP parçacıklarında bölgesel topaklanma görülmektedir. Noktasal alınan element analizi doğrultusunda HAP yüzeyine katılan gümüş nanoparçacıklarının bir kısmının serbest halde buldukları gözlemlenmiştir (Şekil 4.19). Bu veri, gümüş nanoparçacık katkılı HAP üretim metodunda verilen kütlece ağırlık hesaplamalarındaki gümüş nanoparçacık kaybını destekler niteliktedir. Girintili çıkıntılı yüzey morfolojisine sahip implant yüzeyinin, sprej düzeneğinin verdiği limitasyonlar sonucu bazı bölgelerindeki kaplama yoğunluğu yetersiz kalmıştır (Şekil 4.20). Kaplama malzemesi miktarının, implant yüzeyi kaplama uygulaması için doğru hesaplandığı ve uygulamanın optimize edilmesi doğrultusunda daha iyi sonuç vereceği görülmüştür.



Şekil 4.19 Titanyum implant kaplama yüzeyi 5000x b) 20000x c) 80000x.



Şekil 4.20 Topaklanma gözlenen titanyum implant kaplama yüzeyi (SEM).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kısmen veya tamamen diş kaybı görülen hastalarda diş implantlarının kullanımı, ameliyatların sayısındaki yıllık artışla birlikte, hastaların ve hekimlerin beklentileri, hızlı implant iyileşmesi ve ameliyat sonrası enfeksiyon riskinin en az olması doğrultusunda belirlenmektedir. Hızlı osseointegrasyon, implant malzemesinin biyouyumlu olması ve cerrahi işlem sonrası %11,5 oranında gelişen bakteriyel enfeksiyon riskinin en aza indirgenmesiyle mümkündür. İmplantasyon için seçilen malzemeler, kimyasal ve fiziksel özellikleri doğrultusunda seçilerek karışık bir denge içermektedir. Titanyum implantlar, mekanik ve kimyasal özelliklerinin kemik ile uyumu sayesinde başta diş hekimliği olmak üzere bir çok farklı implant uygulamalarında öne çıkmaktadır. Öte yandan hızlı osseointegrasyon sürecine olan düşük katkısı ve doğrudan bakteri temasının olduğu durumlarda implant sürecinde yetersiz kalması sebebiyle çeşitli yüzey modifikasyonlarına ihtiyaç duyar. Bu bağlamda yapılan tez çalışmasında, günlük hayatta aktif olarak kullanılan titanyum implant malzemesine AgNP ve HAP kullanılarak biyoaktif kaplama uygulaması yapılmıştır (Şekil 5.1).

Temin edilen implantlar *Grade 4* saflıkta, 4.8mm çapında ve farklı boyutlarda üretilme imkanına sahipken kemik ile benzer fiziksel özellikleri sayesinde de bu tez araştırmasının temelini oluşturmaktadır. Üretim sürecinde uygulanan SLA protokolüne ek olarak üretici firma tarafından geliştirilen kimyasal yöntemler doğrultusunda tamamen alkali bir yüzey elde edilmiştir. Yüzeyin homojen ve hidrofilik yapısı osseointegrasyon sürecine katkı sağlamaktadır. Dental implantın yüzey modifikasyon süreci biyoaktif kimsayasal kaplama çalışmalarıyla devam etmiştir. TSC ve NaBH₄ kullanımına bağlı olarak değişen boyut ve PDI analizlerinden yola çıkarak, homojen boyut dağılımına sahip 60 nm boyutlarında 0,088 PDI değerine sahip gümüş nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Sentezlenen AgNP önceden üretilmiş olan Hidroksiapatit tozuna katkılanıp implant kaplama malzemesinin üretilme aşaması

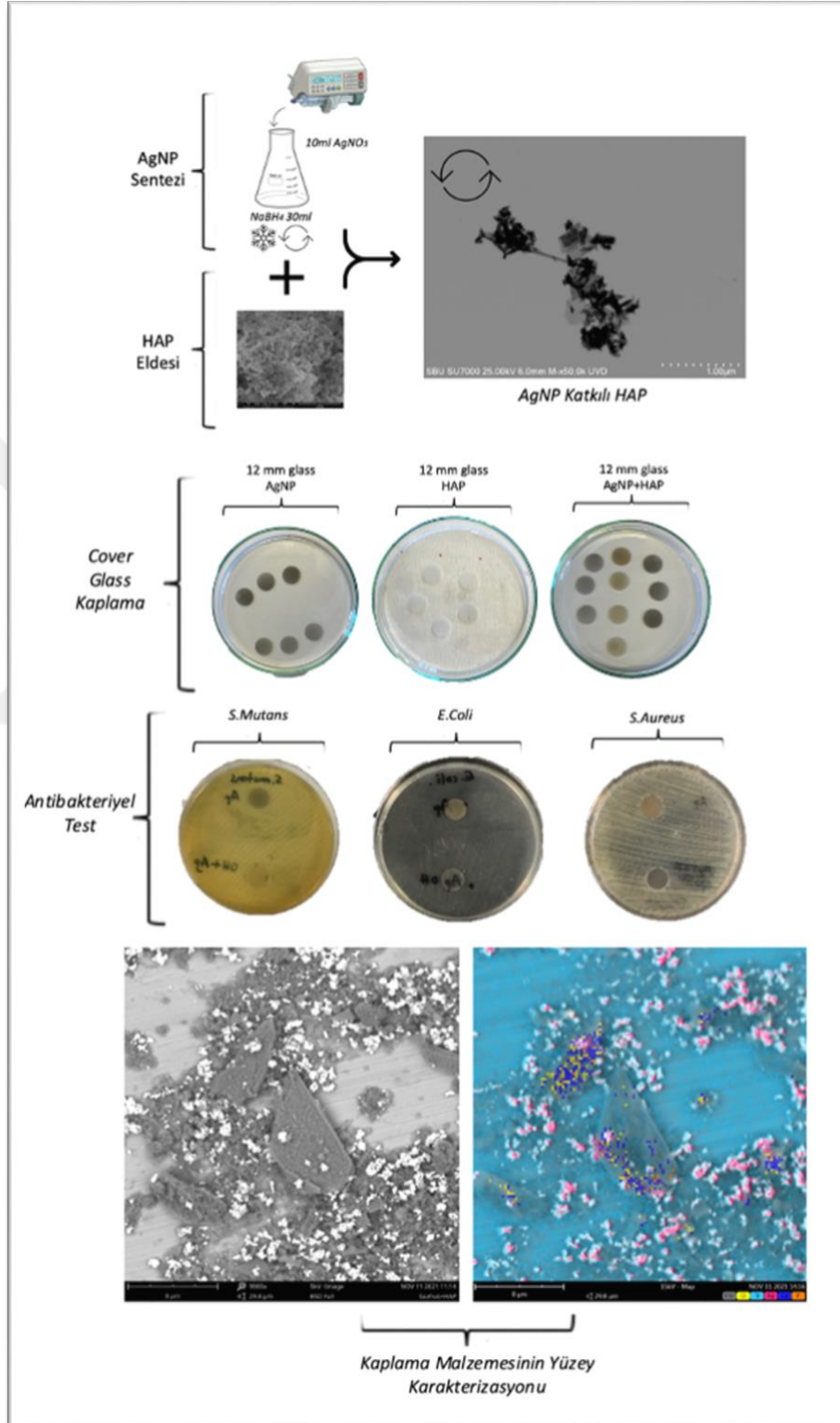
tamamlanmıştır. Sentezlenen kaplama malzemesi soğuk sprey metodu kullanılarak 12 mm çapında kesilen cover glass üzerine uygulanmıştır. Sıcaklığı bağlı olarak gelişebilen gümüş nanoparçacık agregasyonunun önüne geçilmesinde soğuk sprey yöntemi büyük rol oynamıştır. Cover glass kaplama uygulaması kaplama malzemesinin kullanım miktarını belirlemek için gerçekleştirilmiştir.

Farklı miktarlarda (100, 200, 400, 600, 800,1000 µl) tekrarlanan bu uygulamada birim alanda uygulanması gereken kaplama malzemesi miktarı belirlenmiştir. Yüzeyde homojen bir kaplama ve topaklanma oranının en az olduğu miktar (400 µl) belirlenmiş olup tez çalışmasının antibakteriyel aktivite testlerinde referans değer olarak kullanılmıştır. Referans değer baz alınarak yapılan kaplama malzemesi miktarı hesapları doğrultusunda AgNP ve AgNP+HAP kaplama malzemeleri 3 farklı bakteri (*Staphylococcus Aureus*, *Escherichia coli* ve *Streptococcus mutans*) üzerinde 2 farklı antibakteriyel teste (Agar Kuyucuk Difüzyon ve Agar Disk Difüzyon) tabi tutulmuştur. Önceden planlanan *Anaerob* bakteriler üzerindeki antibakteriyel testler, Hemin+K2 vitamininin temin edilememesi, dolayısıyla da bakteri kültürünün oluşturulamaması sonucunda gerçekleştirilememiştir. Sentezlenen kaplama malzemeleri, test edilen bakteriler üzerinde antibakteriyel etki göstermişlerdir. *Streptococcus mutans* bakterisi için yeniden doz ayarı yapılması gerekmektedir. Güvenilirliğin devamı için farklı çeşit bakteriler üzerinde antibakteriyel aktivite testlerine ihtiyaç vardır.

Dünyaca kabul edilen toksisite sınırlarına uygun dozda gümüş nanoparçacık kullanılarak güvenli AgNP+HAP kaplama malzemesinin üretiminin önemli adımları atılmıştır. Antibakteriyel testlerden alınan olumlu sonuçların ardından son olarak, sentezlenen implant kaplama malzemesinin implant yüzeye uygulanabilirliği test edilmiştir. Yetmiş beş (75) rpm hızda döndürülen motor üzerine sabitlenen implant malzemesi, soğuk sprey metodu kullanılarak optimizasyonlar sonucunda elde edilen uygun AgNP+HAP kaplama miktarı ile kaplanmıştır. Kaplama uygulamasının yüzey analiz sonuçları iki farklı SEM görüntüleme cihazı ile detaylıca incelenmiş olup gelecek çalışmalar için örnekler toplanmıştır. İmplant yüzeyinde gümüş nanoparçacıklar eşliğinde hidroksiapatite ait kalsiyum/fosfor görülmüştür.

Kurulan düzenek dolayısıyla, kaplanması zor bir yüzeye sahip dental implantlarda bölgesel boşluklar gözlemlenmiştir. Gelecek çalışmalarda sprey düzeneği geliştirilerek yeni bir sprey modifikasyon çalışması yürütülebilir. Topaklanmanın

minimumda olduğu antibakteriyel kaplama malzemesi uygulamasının, soğuk sprey yöntemi ile dental implant yüzeylerde uygulanabilirliği kanıtlanmıştır.



Şekil 5.1: Tez çalışması için izlenen adımlar.



6. KAYNAKLAR

- [1] **J. Li, J. A. Jansen, X. F. Walboomers, and J. J. van den Beucken**, “Mechanical aspects of dental implants and osseointegration: A narrative review,” *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 103. Elsevier Ltd, Mar. 01, 2020. doi: 10.1016/j.jmbbm.2019.103574.
- [2] **Ali ÇETİN**, “Dental İmplantolojide Kısa İmplant Uygulamaları” , T.C. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı , 2011 , Yüksek Lisans Tezi
- [3] **C. Gherde, P. Dhatrak, S. Nimbalkar, and S. Joshi**, “A comprehensive review of factors affecting fatigue life of dental implants,” in *Materials Today: Proceedings*, 2020, vol. 43, pp. 1117–1123. doi: 10.1016/j.matpr.2020.08.414.
- [4] **A. T. Güner and C. Meran**, “Biomaterials Used in Orthopedic Implants,” *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, vol. 26, no. 1, pp. 54–67, 2020, doi: 10.5505/pajes.2019.46666.
- [5] **C. Pekşen, A. Doğan**, A. Üniversitesi, M.-M. Fakültesi, M. Bilimi, and M. Bölümü, “Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği İmplant dayanımı İmplant permanence,” 2011.
- [6] **T. v. Basova, E. S. Vikulova, S. I. Dorovskikh, A. Hassan, and N. B. Morozova**, “The use of noble metal coatings and nanoparticles for the modification of medical implant materials,” *Materials and Design*, vol. 204. Elsevier Ltd, Jun. 01, 2021. doi: 10.1016/j.matdes.2021.109672.
- [7] **C. T. dos Santos, C. Barbosa, M. de J. Monteiro, I. de C. Abud, I. M. V. Caminha, and C. R. de M. Roesler**, “Fretting corrosion tests on orthopedic plates and screws made of ASTM F138 stainless steel,” *Revista Brasileira de Engenharia Biomedica*, vol. 31, no. 2, pp. 169–175, Jul. 2015, doi: 10.1590/2446-4740.0710.
- [8] **Q. Chen and G. A. Thouas**, “Metallic implant biomaterials,” *Materials Science and Engineering R: Reports*, vol. 87. Elsevier Ltd, pp. 1–57, 2015. doi: 10.1016/j.mser.2014.10.001.
- [9] **R. Masa and G. Braunitzer**, “Titanium and its alloys in dental implantology Pure titanium and titanium alloys for dental purposes.”

- [10] **P. Kadambi, P. Luniya, and P. Dhatrak**, “Current advancements in polymer/polymer matrix composites for dental implants: A systematic review,” in *Materials Today: Proceedings*, 2021, vol. 46, pp. 740–745. doi: 10.1016/j.matpr.2020.12.396.
- [11] **S. Fujibayashi, M. Neo, H. M. Kim, T. Kokubo, and T. Nakamura**, “Osteoinduction of porous bioactive titanium metal,” *Biomaterials*, vol. 25, no. 3, pp. 443–450, 2004, doi: 10.1016/S0142-9612(03)00551-9.
- [12] **P. G. Coelho et al.**, “Basic research methods and current trends of dental implant surfaces,” *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, vol. 88, no. 2, pp. 579–596, Feb. 2009. doi: 10.1002/jbm.b.31264.
- [13] **F. Mussano, T. Genova, L. Munaron, M. G. Faga, and S. Carossa**, “Ceramic Biomaterials for Dental Implants: Current Use and Future Perspectives,” in *Dental Implantology and Biomaterial*, InTech, 2016. doi: 10.5772/62701.
- [14] **D. Chacun et al.**, “Histologic and histomorphometric evaluation of new zirconia-based ceramic dental implants: A preclinical study in dogs,” *Dental Materials*, vol. 37, no. 9, pp. 1377–1389, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.dental.2021.06.010.
- [15] **S. Pokhrel**, “Hydroxyapatite: Preparation, Properties and Its Biomedical Applications,” *Advances in Chemical Engineering and Science*, vol. 08, no. 04, pp. 225–240, 2018, doi: 10.4236/aces.2018.84016.
- [16] **M. Du, J. Chen, K. Liu, H. Xing, and C. Song**, “Recent advances in biomedical engineering of nano-hydroxyapatite including dentistry, cancer treatment and bone repair,” *Composites Part B: Engineering*, vol. 215. Elsevier Ltd, Jun. 15, 2021. doi: 10.1016/j.compositesb.2021.108790.
- [17] **A. Biedrzycka, E. Skwarek, and U. M. Hanna**, “Hydroxyapatite with magnetic core: Synthesis methods, properties, adsorption and medical applications,” *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 291. Elsevier B.V., May 01, 2021. doi: 10.1016/j.cis.2021.102401.
- [18] **Charlena, N. A. Nuzulia, and Handika**, “Synthesis and Characterization of Composite Hydroxyapatite-Silver Nanoparticles,” in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Apr. 2017, vol. 58, no. 1. doi: 10.1088/1755-1315/58/1/012064.
- [19] **C. Giroto, B. P. Rand, S. Steudel, J. Genoe, and P. Heremans**, “Nanoparticle-based, spray-coated silver top contacts for efficient polymer solar cells,” *Organic Electronics*, vol. 10, no. 4, pp. 735–740, 2009, doi: 10.1016/j.orgel.2009.03.006.
- [20] **D. Patil, M. K. Wasson, S. Aravindan, V. Perumal, and P. v. Rao**, “Fabrication of silver nanoparticles-embedded antibacterial polymer surface through thermal annealing and soft molding technique,” *Materials Research Express*, vol. 6, no. 4, Jan. 2019, doi: 10.1088/2053-1591/aaf916.

- [21] **G. Hatti and G. H. K R Dinesh**, “Polymers used as implant Biomaterials: A review Diffrent Polymer Matrix Composite (Pmc’s) Used As Tibia Implant Material Or Biomaterials And Their Applcation In Tibia Implant. Polymers used as implant Biomaterials: A review,” 2018.
- [22] **G. Bryce, D. I. Bomfim, and G. S. Bassi**, “Pre- and post-operative management of dental implant placement. Part 2: Management of early-presenting complications,” *British Dental Journal*, vol. 217, no. 4, pp. 171–176, Aug. 2014, doi: 10.1038/sj.bdj.2014.702.
- [23] **O. Camps-Font, P. Martín-Fatás, A. Clé-Ovejero, R. Figueiredo, C. Gay-Escoda, and E. Valmaseda-Castellón**, “Postoperative infections after dental implant placement: Variables associated with increased risk of failure,” *Journal of Periodontology*, vol. 89, no. 10, pp. 1165–1173, 2018, doi: 10.1002/JPER.18-0024.
- [24] **Ali ÇETİN**, “Dental İmplantolojide Kısa İmplant Uygulamaları” , T.C. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız-Diş-Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı , 2011 , Yüksek Lisans Tezi
- [25] **Thomas D. Taylor**, Prosthodontic Problems And Limitations Associated With Osseointegration “*The Journal of Prosthetics* ” JProsthet Dent 1998;79:74-8.
- [26] **D. G. K. Hong and J. Oh**, “Recent advances in dental implants,” *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 39, no. 1, Dec. 2017, doi: 10.1186/s40902-017-0132-2.
- [27] **L. le Guéhennec, A. Soueidan, P. Layrolle, and Y. Amouriq**, “Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration,” *Dental Materials*, vol. 23, no. 7. pp. 844–854, Jul. 2007. doi: 10.1016/j.dental.2006.06.025.
- [28] **D. Prof and H. Ataoğlu**, “İmplant Uygulamalarında Farklı Yüzey Özelliklerinin Osseointegrasyon Üzerine Etkisinin Rezonans Frekans Analizi İle Değerlendirilmesi, Burcu GÜRSOYTRAK Doktora Tezi Ağız, Diş Ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı.” 2012
- [29] **F. H. Schünemann et al.**, “Zirconia surface modifications for implant dentistry,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 98. Elsevier Ltd, pp. 1294–1305, May 01, 2019. doi: 10.1016/j.msec.2019.01.062.
- [30] **T. Xue et al.**, “Surface modification techniques of titanium and its alloys to functionally optimize their biomedical properties: Thematic review,” *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol. 8. Frontiers Media S.A., 2020. doi: 10.3389/fbioe.2020.603072.
- [31] **M. F. Kunrath**, “Customized dental implants: Manufacturing processes, topography, osseointegration and future perspectives of 3D fabricated implants,” *Bioprinting*, vol. 20. Elsevier B.V., Dec. 01, 2020. doi: 10.1016/j.bprint.2020.e00107.

- [32] **V. T. Noronha *et al.***, “Silver nanoparticles in dentistry,” *Dental Materials*, vol. 33, no. 10. Elsevier Inc., pp. 1110–1126, Oct. 01, 2017. doi: 10.1016/j.dental.2017.07.002.
- [33] **J. M. Corrêa, M. Mori, H. L. Sanches, A. D. da Cruz, E. Poiate, and I. A. V. P. Poiate**, “Silver nanoparticles in dental biomaterials,” *International Journal of Biomaterials*, vol. 2015. Hindawi Publishing Corporation, Jan. 15, 2015. doi: 10.1155/2015/485275.
- [34] **I. X. Yin, J. Zhang, I. S. Zhao, M. L. Mei, Q. Li, and C. H. Chu**, “The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry,” *International Journal of Nanomedicine*, vol. 15. Dove Medical Press Ltd., pp. 2555–2562, 2020. doi: 10.2147/IJN.S246764.
- [35] **R. A. Bapat *et al.***, “An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 91. Elsevier Ltd, pp. 881–898, Oct. 01, 2018. doi: 10.1016/j.msec.2018.05.069.
- [36] **Q. Yuan *et al.***, “Bioactive silver doped hydroxyapatite composite coatings on metal substrates: Synthesis and characterization,” *Materials Chemistry and Physics*, vol. 218, pp. 130–139, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.matchemphys.2018.07.038.
- [37] **M. Riaz, R. Zia, A. Ijaz, T. Hussain, M. Mohsin, and A. Malik**, “Synthesis of monophasic Ag doped hydroxyapatite and evaluation of antibacterial activity,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 90, pp. 308–313, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.msec.2018.04.076.
- [38] **Charlena, N. A. Nuzulia, and Handika**, “Synthesis and Characterization of Composite Hydroxyapatite-Silver Nanoparticles,” in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Apr. 2017, vol. 58, no. 1. doi: 10.1088/1755-1315/58/1/012064.
- [39] **V. Leino, R. Airaksinen, M. Viluksela, and K. Vähäkangas**, “Toxicity of colloidal silver products and their marketing claims in Finland,” *Toxicology Reports*, vol. 8, pp. 106–113, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.toxrep.2020.12.021.
- [40] **N. Hadrup and H. R. Lam**, “Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver - A review,” *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 68, no. 1, pp. 1–7, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.yrtph.2013.11.002.
- [41] **European Commission. Directorate General for Health & Consumers.**, *Opinion on nanosilver : safety, health and environmental effects and role in antimicrobial resistance*. [European Commission], 2014.
- [42] **G. R. Tortella *et al.***, “Silver nanoparticles: Toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment,” *Journal of Hazardous Materials*, vol. 390. Elsevier B.V., May 15, 2020. doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.121974.

- [43] **L. F. Gorup, E. Longo, E. R. Leite, and E. R. Camargo**, “Moderating effect of ammonia on particle growth and stability of quasi-monodisperse silver nanoparticles synthesized by the Turkevich method,” *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 360, no. 2, pp. 355–358, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.jcis.2011.04.099.
- [44] **F. A. C. Andrade, L. C. de Oliveira Vercik, F. J. Monteiro, and E. C. da Silva Rigo**, “Preparation, characterization and antibacterial properties of silver nanoparticles-hydroxyapatite composites by a simple and eco-friendly method,” *Ceramics International*, vol. 42, no. 2, pp. 2271–2280, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.ceramint.2015.10.021.

