







Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

Mikrodeformasyon ile Yüzey Özellikleri Değiştirilen 316L Paslanmaz Çeliğin Sentetik Vücut Sıvısı ile Etkileşimi

 Sıdika Mine TOKER ^{a,*},  Eray BATTAL ^a,  Zeynep DEMİR ^a,  Kamile Ezgi ÇEVİK ^a

^a Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, TÜRKİYE

^b Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, TÜRKİYE

^c Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, TÜRKİYE

^d Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, TÜRKİYE

* Sorumlu yazarın e-posta adresi: stoker@ogu.edu.tr

DOI: 10.29130/dubited.707023

ÖZET

Bu çalışmada ortopedik uygulamalarda yaygın olarak kullanılan bir biyomedikal alaşım olan 316L paslanmaz çelik yüzeyinde mikro sertlik ölçüm cihazı kullanılarak mikrodeformasyon alanları oluşturulmuş ve elde edilen farklı yüzey desenlerinin biyoyumluluğa etkisi sentetik vücut sıvısı içinde statik daldırma deneyleri ile test edilmiştir. 7 ve 21 günlük daldırma periyotlarının ardından örnek yüzeyleri oksit ve kalsiyum-fosfatlı yapıların çökmesi, sıvılar ise iyon salımı açısından incelendiğinde, her iki açıdan da oluşturulan farklı mikrodeformasyon desenlerinin kontrol numunesine kıyasla iyileştirme sağladığı saptanmıştır. Oluşturulan desenler arasında ise iz boyutu büyük, izler arası mesafesi geniş olan desenin optimum özellikleri sağlayan yüzey olduğu gözlenmiştir. Yüzey pürüzlülüğü ve sıvı içi oksit ve kalsiyum-fosfatlı yapıların çökmesi arasında bir doğru orantı tespit edilememiş, bu da yüzey enerjisini belirlemede mikrodeformasyonun mikroyapısal mekanizmalar üzerindeki etkisinin daha belirleyici olabileceğine dair ön bulgular ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: *Biyomedikal alaşım, 316L, mikrodeformasyon, biyoyumluluk*

Interaction of Surface Modified 316L Stainless Steel via Microdeformation with Simulated Body Fluid

ABSTRACT

In the current study, 316L stainless steel, which is a widely used biomedical alloy in orthopedic applications, was subjected to a surface microdeformation process with the use of a micro hardness testing device and the effects of the obtained microdeformation patterns on biocompatibility were tested via static immersion tests in simulated body fluid. Following immersion periods of 7 and 21 days, the investigations of sample surfaces for formation of oxide and Calcium-Phosphate products and the fluids in terms of ion release revealed that the microdeformation patterns resulted in improvements in both aspects as compared to the control sample. Among the formed patterns, the pattern with bigger indent size and wider inter indent spacing was found to exhibit optimum properties. A direct correlation between surface roughness and oxide and Calcium-Phosphate product precipitation from fluid was not detected, which reveals early indications that the effects of microdeformation on microstructural mechanisms can be more influential for determining surface energy.

I. GİRİŞ

Günümüzde, eklem rahatsızlıkları, vücudun kendi kendine onarmayacağı boyutta büyük kemik kayıpları veya kompleks kırıklar gibi pek çok nedenle kemik doku yerine geçebilecek implantlara ihtiyaç duyulmaktadır [1, 2]. Özellikle diz veya kalça implantı gibi ortopedik implant uygulamalarında, mekanik dayanımları sebebiyle metalik biyomalzemeler yaygın olarak tercih edilmektedir. Çoğunlukla kullanılan metalik biyomalzemeler arasında 316 L paslanmaz çelik, çeşitli titanyum (Ti) alaşımları, kobalt-krom (Co-Cr) alaşımları gibi metalik alaşımlar bulunmaktadır [1, 2]. Bu alaşımların tercih edilmesinde mekanik özelliklerine ek olarak ön plana çıkan en önemli etken biyouyumluluklarıdır [1-3].

Biyouyumluluk; bir biyomalzemenin vücutta toksik ve alerjik bir etki yaratmaması, temas halinde olduğu doku ile biyolojik ve mekanik olarak uyum sağlaması olarak tanımlanır [2]. Biyolojik uyumda öne çıkan faktörler, özellikle metalik biyomalzemeler için, implantın vücut sıvılarına maruz kaldığında toksik iyon salımında bulunmaması ve çevreleyen dokuya ait hücrelerin implant yüzeyine rahatça tutunabilmesi ve yayılabilmesi olarak sıralanabilir [1-3]. İmplantın dokuyla mekanik uyumu düşünüldüğünde ise, bu uyum hem implantın maruz kalacağı yükleri taşıyabilecek mukavemete sahip olması hem de sahip olduğu mekanik özelliklerin dokunun mekanik özellikleri ile benzeşmesini kapsar [2, 4].

Özellikle kemik dokularında kullanılacak metalik implant malzemelerinin biyouyumluluğu düşünüldüğünde, kemik doku ile metal arasındaki mekanik benzerlik ayrı bir önem kazanır. İmplant uygulamalarında başarısızlığa sebep olan ve ameliyat tekrarı gerektiren en yaygın nedenlerden biri implantın zaman içinde kemik ile olan bağının zayıflaması ve implantın hareket edebilir hale gelmesidir [4]. Bu durumun meydana gelmesinde en önemli etken ise ‘elastik uyumsuzluk’ olarak tanımlanan, kemik doku ile implant malzemesi arasındaki mekanik özellik farklılığıdır [4]. Kullanılan malzemenin mekanik dayanımının kemiğe oranla çok daha yüksek olduğu durumlarda, kemik doku yük taşıma işlevini implanta devreder, bu da implant etrafındaki kemik dokunun vücut tarafından emilmesine ve implantın gevşemesine yol açar. Bu durum zaman içinde kemik doku miktarının azalması sebebiyle kolaylıkla meydana gelen kırıklar, iltihaplanma gibi birçok soruna sebep olmakta ve hasta için zorlu bir süreç olan ameliyat tekrarına yol açmaktadır [4].

Bu nedenle kemik implantlarının güvenli biçimde işlev göstermesi, implantın kemik dokuya sağlıklı ve sağlam bir şekilde ve kalıcı olarak tutunabilmesi ile mümkündür [2, 5]. Bu tutunmayı başarılı kılan etkenlerden biri, yukarıda da sözü geçen, kemik doku ile implant malzemesinin mekanik uyumudur. Bir diğer önemli faktör ise kemik hücrelerinin sağlıklı bir biçimde tutunup çoğalabileceği, bir implant yüzeyidir [5-8]. İmplantın aynı zamanda, vücut sıvıları ile teması sırasında korozyona ve iyon salımına karşı dirençli olması ve yüzeyin bu direnci sağlayacak kararlı bir pasif oksit tabakası ile kemik doku oluşumunu destekleyici kalsiyum-fosfatlı (Ca-P’lı) yapı oluşumuna elverişli özellik göstermesi de yine kemik implantının biyouyumluluğu açısından kritik faktörler arasında yer alır [3, 7, 9, 10]. Bahsi geçen tüm malzeme-doku etkileşimlerinin ilk gerçekleşeceği yer malzemenin yüzeyi olduğundan, birçok biyomalzeme gibi, metalik implant malzemelerinde de biyouyumluluğun belirlenmesinde yüzey özellikleri ön plana çıkar [1, 2, 4]. Malzemelerin yüzey özellikleri; yüzey pürüzlülüğü, yüzey gerilimi/ıslanabilirlik, yüzey enerjisi ve yüzey kimyası gibi özellikleri kapsar [1, 6].

Metalik malzemelerin özelliklerinin belirlenmesinde en önemli faktörlerden biri mikroyapıdır [2, 11, 12]. Metallerin başta deformasyon davranışı ve mekanik özellikleri olmak üzere, yüzey özellikleri ve buna bağlı olarak biyouyumluluğu da dislokasyonlar, ikizlenmeler, tane sınırları, gibi metalin mikroyapısal unsurları ile yakından ilişkilidir [11-18].

Biyomalzemelerin biyoyumluluklarının yüzey özellikleri ile ilişkisi konusunda literatürde birçok çalışma bulunmaktadır [13-18]. Özellikle metalik biyomalzemelerin yüzey özelliklerinin biyoyumluluklarına etkisi ile ilgili daha önce yürütülen çalışmalara bakıldığında, yüzey pürüzlülüğünün yüzey enerjisine etki ederek hücrelerin tutunma davranışı açısından belirleyici olduğu, ayrıca topografik özelliklerin hücrelerin büyüme ve yayılma davranışını yakından etkilediğine dair sonuçlar elde edildiği görülmektedir [13-16]. Yüzey özelliklerinin korozyon direnci ve oksit tabakası oluşumuna etkisi de çeşitli çalışmalarda ele alınmıştır [8, 10, 19].

Yüzey özelliklerinin belirlenmesinde altta yatan mekanizmalar incelendiğinde ise, mikroyapısal özelliklerin öne çıktığı görülmüştür [18-20]. Örneğin, metalik biyomalzemelere tane boyutu değiştirme işlemleri uygulanmasının etkilerinin incelendiği çalışmalarda hem tane boyutu değişikliğinin hem de işlem sonucu değişen dislokasyon yoğunluğunun, hücre yapışması ve çoğalmasına etki ettiği gözlenmiştir [17, 18]. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise, çekme gerilimi altında farklı miktarlarda deformasyona maruz bırakılan paslanmaz çelik örneklerin yüzeylerindeki beyin tümörü hücrelerinin davranışları incelenmiştir [20]. Bu çalışma da deformasyon sonucu değişen dislokasyon yoğunluğu başta olmak üzere, ikizlenme, tane yönelimi gibi mikroyapısal mekanizmaların yüzey topografisini ve buna bağlı olarak da malzeme yüzeyine hücre tutunması ve çoğalması davranışlarını yakından etkilediğini göstermiştir [20].

Metalik biyomalzemelerin biyoyumluluğunun incelenmesinde, vücut içerisindeki korozif ortama karşı direncinin ölçülmesi, olası korozyon ve toksik iyon salımının belirlenmesi ve önlenmesi açısından biyomedikal alaşımların kullanılacağı bölgeye benzer iyon derişimi ve pH değerlerindeki sentetik vücut sıvıları içerisindeki davranışının test edilmesi (ex situ testler) de büyük önem taşır. [19, 21]. Bu konuda yakın zamanda yapılan bir çalışma, dislokasyon yoğunluğu gibi mikroyapısal mekanizmaların yüzey enerjisini etkileyerek bölgesel oksit tabakası oluşmasını tetikleyerek ex situ davranışını da yakından etkilediğini göstermiştir [19].

Kısacası biyomedikal alaşımların biyoyumluluğu ile yüzey özellikleri arasındaki ilişkiyi inceleyen bu çalışmalar, metallerde mikroyapısal mekanizmaların biyoyumluluğu hem ex situ hem de in vitro seviyede yakından etkilediğine dair önemli bulgular sunmaktadır.

Bu çalışmada ise, ortopedik implantlarda yaygın olarak kullanılmakta olan bir metalik biyomalzeme olan paslanmaz çelik yüzeyinde mikrodeformasyon alanları oluşturarak, mikroyapısal özelliklerde meydana gelen değişikliklerin biyoyumluluğa etkisine dair bir ön inceleme yapmak amaçlanmıştır. Bu amaçla, 316L paslanmaz çelik üzerinde Vickers sertlik cihazı ile farklı özelliklerde mikrodeformasyon alanları oluşturulmuş ve bu alanların ex situ düzeydeki biyoyumluluğa etkisi sentetik vücut sıvısı içerisinde statik daldırma testleri ile incelenmiştir.

II. DENEYSEL YÖNTEM

Silindirik geometrideki 316 L paslanmaz çelik numunelerin yüzeyleri zımpara ve parlatma ön işlemleri ile yüzey mikro-deformasyonu için hazırlanmıştır. Deneylerde kullanılan 316L paslanmaz çeliğin içerdiği elementlerin ağırlıkça yüzde (%) oranları Tablo 1’de listelenmiştir.

Tablo 1. Deneylerde kullanılan 316L paslanmaz çeliğin elementel bileşimi

Element	Elementi Oranı (%)
Karbon (C)	0,027
Mangan (Mn)	1,760
Fosfor (P)	0,042
Sülfür (S)	0,029
Silikon (Si)	0,270
Krom (Cr)	16,800
Nikel (Ni)	10,120
Molibden (Mo)	2,120

Bakır (Cu)	0,380
Azot (N)	0,080
Demir (Fe)	68,372

Mikrodeformasyon için yük uygulanması işleminde bilgisayar kontrollü Vickers Sertlik Cihazı kullanılmıştır. Paslanmaz çelik örnekler uygulanacak mikrodeformasyon işlemleri için 5 gruba ayrılmıştır. 1 numaralı kontrol grubuna hiçbir mikrodeformasyon uygulanmazken; 2, 3, 4, 5 numaralı numune gruplarının her birine 5 saniye süresince; iki farklı miktarda yük uygulanarak farklı boyutlarda izler elde edilmiş ve iz merkezleri arasındaki mesafe iki farklı uzunlukta olacak şekilde ayarlanarak, toplam dört farklı yüzey mikrodeformasyon deseni oluşturulmuştur. Numunelere uygulanan yük, elde edilen iz boyutları ve izler arası mesafe bilgileri Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Mikrodeformasyon işlemlerinde her bir numuneye uygulanan yük ve elde edilen desene ait bilgiler

Örnek No	Uygulanan Yük Miktarı, Süresi	İz Boyutu(μm)	İz Merkezleri Arası Mesafe (μm)
1	-----	-----	-----
2	1KGF, 5SN	85	100
3	1KGF, 5SN	85	200
4	0.5 KGF, 5SN	55	100
5	0.5 KGF, 5SN	55	200

Yüzeylerinde 9’ar deformasyon izi ile dört farklı mikrodeformasyon alanı oluşturulan örnekler ile kontrol numuneleri, Hitachi Regulus 8230 Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (Field Emission-Scanning Electron Microscope, FE-SEM) ile ön incelemeye tabi tutulmuştur. Elde edilen yüzeylerin yüzey özelliklerinin kıyaslanması amacıyla Mitutoyo (mekanik temaslı, iğneli) profilometre kullanılarak numunelerin yüzey pürüzlülüğü incelenmiştir. Her bir numune yüzeyinde, profilometre iğnesinin yatay eksenindeki hareketine karşılık dikey ekseninde ölçülen derinlik değişimlerini ifade eden, R profili olarak tanımlanan, iki boyutlu yüzey profilleri elde edilmiştir. Bu analizler sonucu numunelerin ortalama yüzey pürüzlülüğü (R_a) ile izlerin oluşturduğu derinlik (R_z) değerleri cinsinden ölçümler alınmıştır. Mikrodeformasyon uygulanan örneklerin ortalama R_a hesabında, mikrodeformasyon bölgesine ait ölçümler baz alınmış, ölçümler her bir numune için en az üçer kez tekrarlanmıştır.

Yüzeyde oluşturulan mikrodeformasyon alanlarının örneklerin vücut içerisindeki korozyon davranışına, özellikle Ca-P’lı yapı oluşumu ve sıvı içerisinde metal iyon salımı davranışlarına etkisinin araştırılması için, iyon içeriği ve pH değeri açısından insan kan sıvısını simüle eden sentetik vücut sıvısı (simulated body fluid – SBF) Kokubo protokolüne göre hazırlanmıştır [22]. Sıvının kimyasal içeriği Tablo 3’te belirtilmiştir. Hazırlanan sentetik vücut sıvısının pH değeri 7.4 olarak sabitlenmiştir.

Tablo 3. Statik daldırma deneylerinde kullanılmak üzere hazırlanan sentetik vücut sıvısının kimyasal içeriği

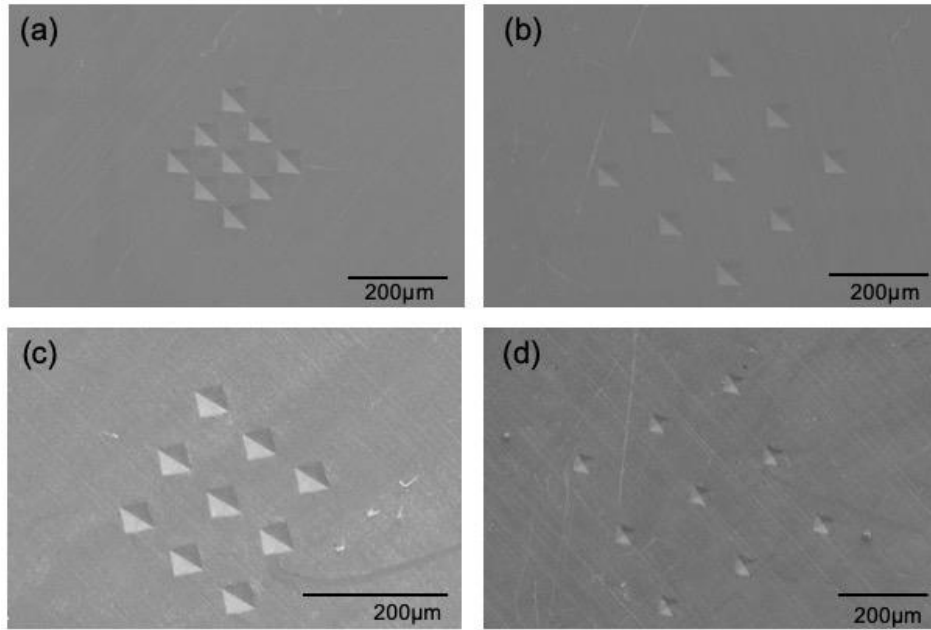
Eklenme Sırası	Kimyasal	1litre için Eklenen Miktar (Gr)
1	NaCl	7,996
2	NaHCO ₃	0,35
3	KCl	0,224
4	K ₂ HO ₄ .3H ₂ O	0,228
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305
6	1M-HCl	40ML
7	CaCl ₂	0,278
8	Na ₂ SO ₄	0,071
9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6,057

Hazırlanan 5 grup numune, her bir numunenin yüzey alanına 15 ml sıvı temas edecek şekilde ayrı tüplere koyulmuş ve 7 ve 21 gün süre ile 37°C sıcaklığın sağlandığı su banyosu içerisinde statik

daldırma işlemine maruz bırakılmıştır. Daldırma sürelerinin seçiminde Ca-P'lı yapı oluşumlarının başlaması için yeterli zaman geçmesi adına 7 gün, zaman içinde yapılarıdaki değişimin gözlenmesi için yeterli süre sağlanması açısından ise 21 gün bekletmenin uygun olacağı literatür göz önüne alınarak belirlenmiştir [22]. Belirlenen süreler sonunda sıvı içerisinde çıkarılan numunelerin yüzey topografisi taramalı elektron mikroskobu (SEM), örnek yüzeyinde statik daldırma süresince oluşan yapıların kimyasal analizi ise Enerji-Dağılımlı X-Işınlı Spektroskopisi (EDS) ile yapılmıştır. İçerisinde metal numunelerin bekletildiği sentetik vücut sıvıları ise, 7 ve 21 günlük daldırma sürelerinin sonunda, pH değerlerinde dikkate değer bir değişim gerçekleşmediği saptandıktan sonra, İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy, ICP-MS) ile analiz edilerek, metal örneklerden kaynaklı metal iyon salımı gerçekleşip gerçekleşmediği incelenmiştir. 316L çeliğinin kimyasal içeriği (Tablo 1) ve vücut için toksik etki yaratması muhtemel elementler göz önüne alınarak Demir (Fe), Nikel (Ni), Bakır (Cu), Krom (Cr) ve Molibden (Mo) iyon salımı miktarları, ölçümler üçer kez tekrarlanarak, tespit edilmiştir.

III. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yüzeylerinde mikrodeformasyon alanı oluşturulan örneklerin yüzeyleri, ön yapısal incelemeler kapsamında öncelikle SEM ile incelenmiştir. 2, 3, 4 ve 5 numaralı örneklerin deformasyon bölgelerine ait SEM fotoğrafları Şekil 1'de verilmiştir. SEM incelemelerinde, desen bölgelerinin içindeki iz boyutu ve izler arası mesafe değerlerinin farklı olması sebebiyle toplam alanları farklılık gösteren desen bölgelerini tümüyle içermek amacıyla farklı büyütme kullanılmış, kıyaslamada kolaylık sağlaması adına ise tüm fotoğraflarda aynı ölçek kullanılmıştır. (Kullanılan büyütme değerleri şekil açıklamalarında belirtilmiştir.) İncelenen fotoğraflarda, mikrodeformasyon bölgelerinin planlandığı şekilde oluşturulduğu ve beklenmeyen herhangi bir yüzey özelliği bulunmadığı saptanmıştır.



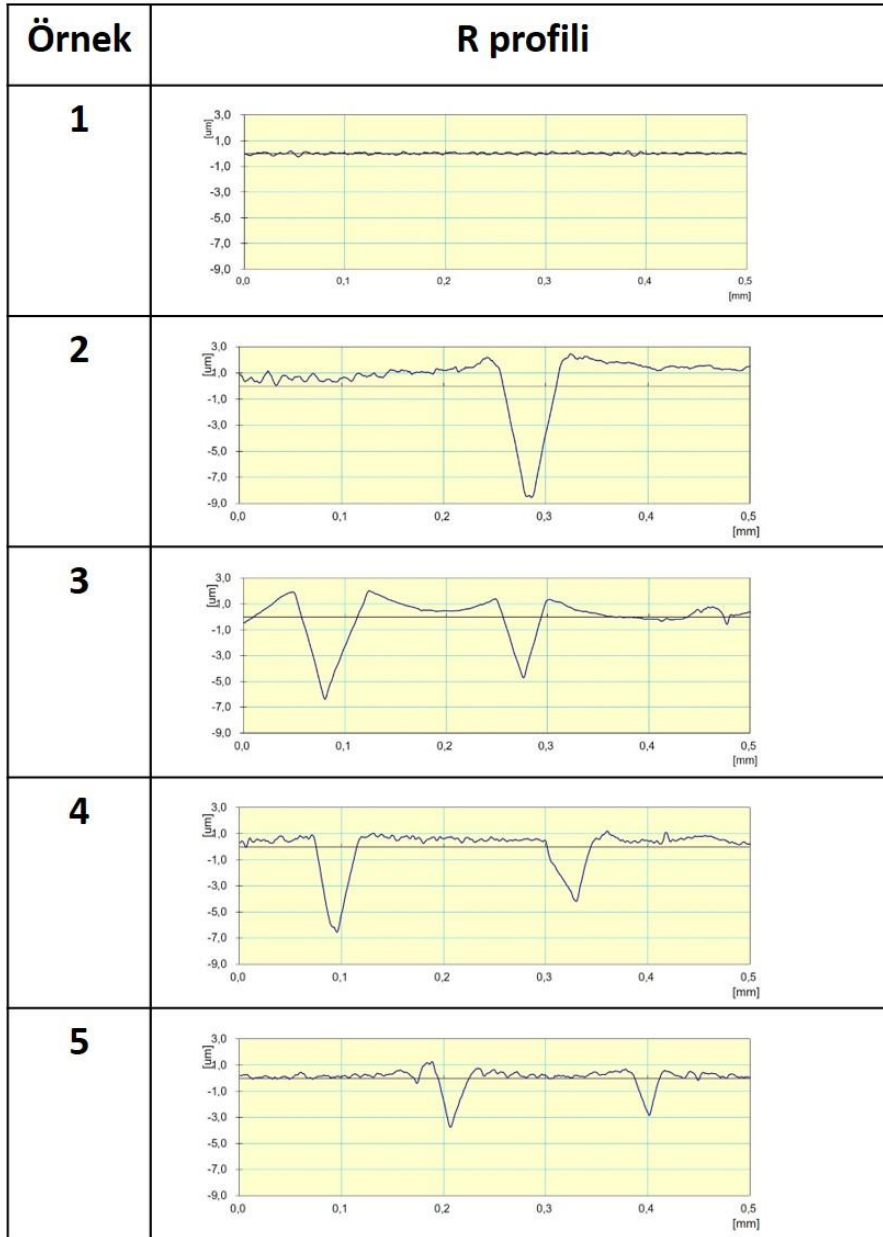
Şekil 1. Mikrodeformasyon işlemi uygulanmış örneklerin statik daldırma deneyleri öncesi SEM fotoğrafları (a-2 numaralı örnek (110X), b-3 numaralı örnek (110X), c-4 numaralı örnek (200X), d-5 numaralı örnek(120X)).

Oluşturulan mikrodeformasyon alanlarının yüzey pürüzlülüğü incelemeleri için uygulanan profilometre analizi ile her bir numune grubu için ölçülen Ra ve Rz değerlerinden hesaplanan ortalama Ra ve maksimum Rz değerleri Tablo 4'te listelenmiştir. Örnek yüzeylerinin profilometre analizinden elde edilen iki boyutlu R profilleri ise, mikrodeformasyon uygulanmış örneklerin işlem bölgesine ait

profiller ile kontrol numunesinin genel özelliklerini temsil eden profiller bir araya getirilerek Şekil 2'de verilmiştir.

Tablo 4. Profilometre analizi sonuçları

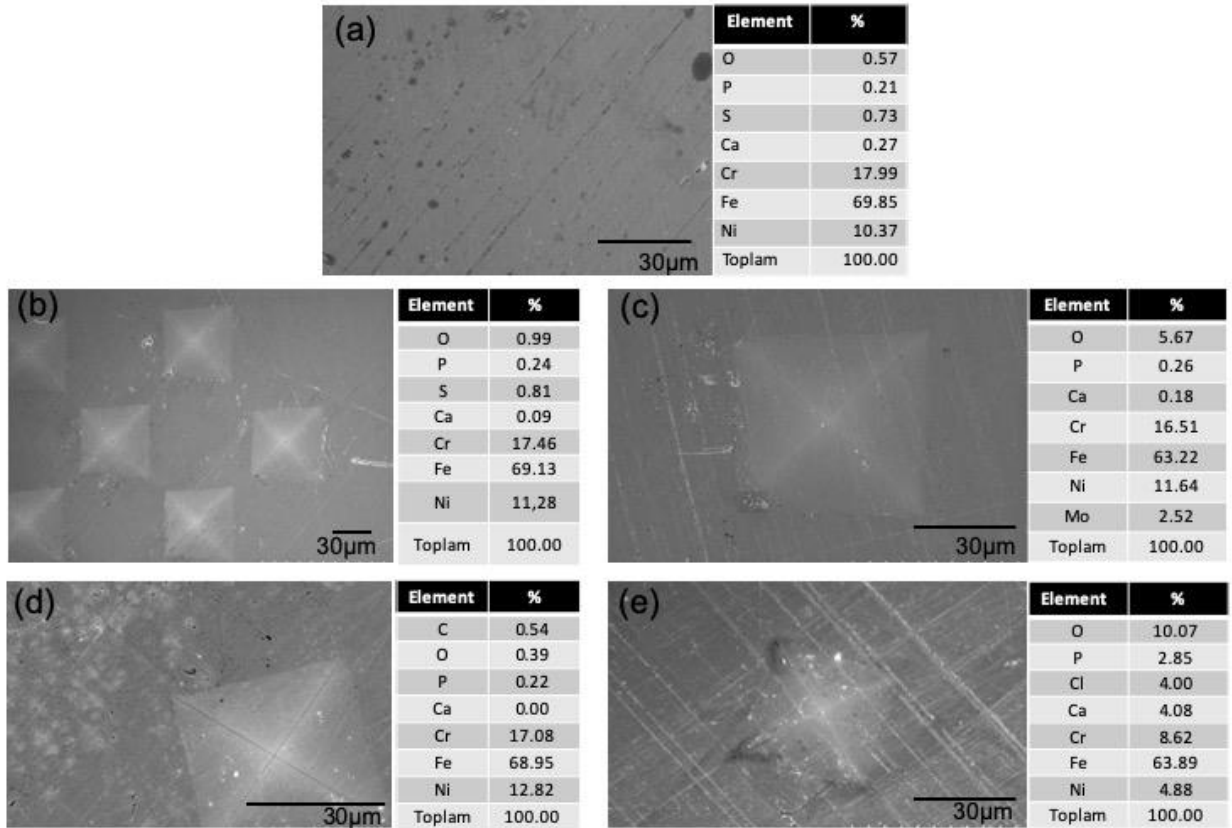
Örnek no	Ortalama Ra (μm)	Maksimum Rz (μm)
1	0.04	0.2
2	1.41	9.7
3	1.18	9.2
4	0.79	7.4
5	0.72	7.2



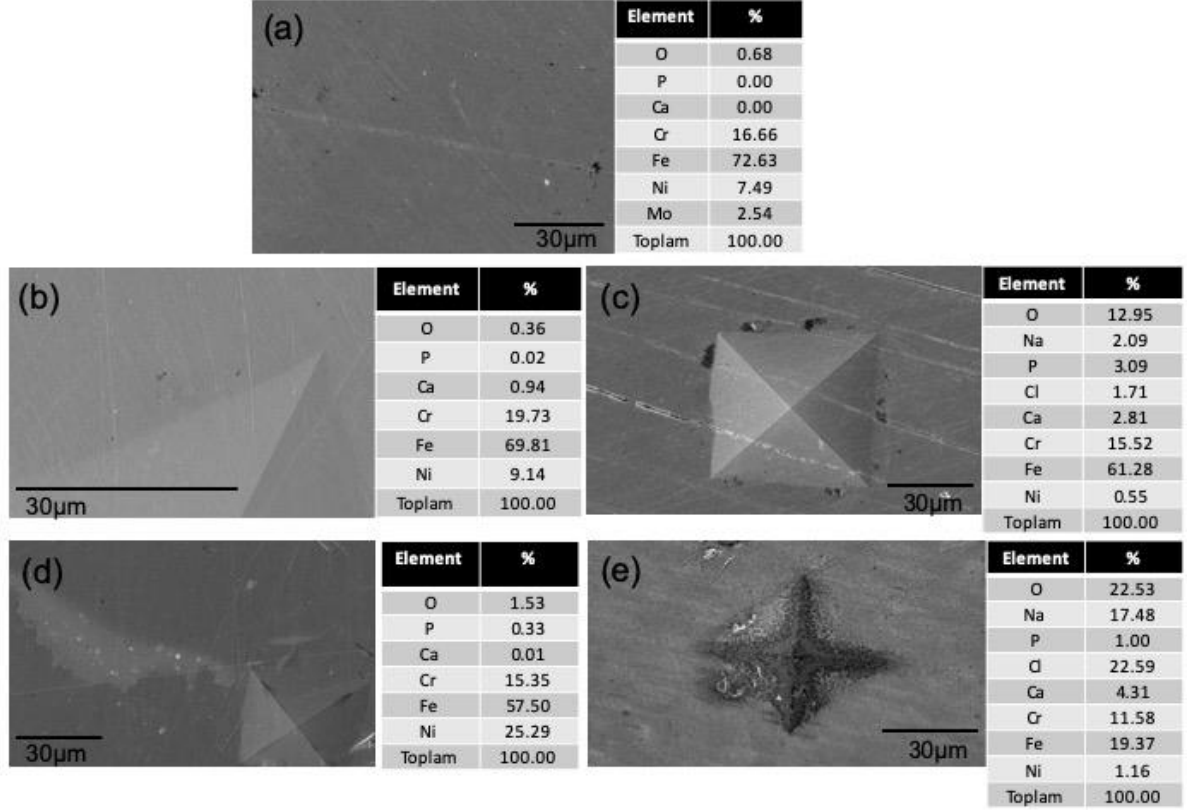
Şekil 2. Her bir örneğin profilometre ile yüzey analizinden elde edilen 2 boyutlu R profili

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, öncelikle yüzeyinde mikrodeformasyon alanları oluşturulan örneklerin hepsinin yüzey pürüzlülüğünün 1 numaralı kontrol numunesine göre büyük oranda arttığı gözlenmiştir. Mikro-deformasyona uğrayan yüzeyler kıyaslandığında ise örnekler arası ortalama Ra değerlerinin birbirine yakın sayılabilecek değerlerde olduğu görülmekle beraber, artan iz boyutu ile pürüzlülüğün arttığı, izler arası mesafenin artışı ile ise pürüzlülüğün azaldığı görülmüştür. Bununla birlikte, 2 ve 3 numaralı numunelere uygulanan yük miktarının 4 ve 5 numaralı numunelere uygulanan yük miktarından daha fazla olmasının iz derinliklerini (Rz) artırdığı hem R profillerinde (Şekil 2), hem de ölçülen maksimum Rz değerlerinde (Tablo 4) gözlenmiştir. İz derinliklerindeki bu artış da 2 ve 3 numaralı numunelerin daha yüksek ortalama pürüzlülük değerlerine (Ra) sahip olmasına etki eden bir diğer faktördür.

Oluşturulan mikrodeformasyon alanlarının biyouyumluluğa etkisini anlamak amacıyla 7 ve 21 günlük süreler boyunca 37°C sıcaklık ortamında, sentetik vücut sıvısı içerisinde bekletilen örnekler, bu süreler sonunda sıvı içerisinde çıkarılarak örnek yüzeylerinde sıvı ile temasa bağlı olarak meydana gelen değişiklikler SEM ile incelenmiştir. 316L, kemik doku ile temas halinde olması muhtemel ortopedik implant gibi uygulamalar için tercih edilen bir biyomedikal alaşım olduğundan, EDS analizinde kemik doku oluşumu hakkında fikir verici elementler olan Ca, P gibi elementler ile oksit tabakası oluşumu açısından kritik olan O elementine öncelik verilmiştir [9, 10]. Bütün örneklerin yüzeyleri detaylı olarak incelenmiş, yüzey işlemine maruz bırakılmış örnekler ise özellikle mikrodeformasyon alanlarına odaklanılarak incelenmiştir. Bu şekilde, bu örnekler 1 numaralı kontrol numunesi ile de kıyaslanarak, mikrodeformasyonun SBF içinde özellikle O ve Ca-P'li yapı oluşumuna etkisinin gözlemlenmesi hedeflenmiştir. Örnek yüzeylerinin sentetik vücut sıvısı (simulated body fluid – SBF) içinde 7 ve 21 gün bekletilmesi sonunda yapılan SEM ve EDS analizi sonuçları sırasıyla Şekil 3 ve 4'te verilmiştir. Şekil 3 ve 4'te yapılan analizlerde, gözlenen yeni yapılar ve bu yapıların desenlere göre konumunu daha iyi anlamak adına farklı büyütme kullanılmış, kıyaslama kolaylığı için fotoğraflarda aynı ölçek kullanılmıştır. (Kullanılan büyütme değerleri Şekil 3 ve 4'ün açıklama kısımlarında belirtilmiştir.)



Şekil 3. (a) 1 numaralı örneğin (1000X), (b) 2 numaralı örneğin (400X), (c) 3 numaralı örneğin (1000X), (d) 4 numaralı örneğin (1000X), (e) 5 numaralı örneğin (1000X); SBF içinde 7 gün bekletilmesi sonrası yüzeyinin SEM ile incelenmesi ve incelenen bölgenin EDS ile kimyasal analiz sonuçları. (EDS analizlerinde incelenen bölgede sinyali dikkat çeken tüm elementler listelenmiştir.)



Şekil 4. (a) 1 numaralı örneğin (1000X), (b) 2 numaralı örneğin (2500X), (c) 3 numaralı örneğin (1000X), (d) 4 numaralı örneğin (1000X), (e) 5 numaralı örneğin (1000X); SBF içinde 21 gün bekletilmesi sonrası yüzeyinin SEM ile incelenmesi ve incelenen bölgenin EDS ile kimyasal analiz sonuçları. (EDS analizlerinde incelenen bölgede sinyali dikkat çeken tüm elementler listelenmiştir.)

Ayrıca, örnek yüzeylerinde tespit edilen elementlerin zamana bağlı değişimini gözlemlemek amacıyla, her bir örneğin 7. ve 21. gün EDS analizlerine ait % element oranları Tablo 5'te listelenmiştir.

Tablo 5. Statik daldırma deneyleri sonrası her bir örneğin 7. ve 21. gün EDS analizlerine ait % element oranları. (Tüm örneklerde ortak olarak gözlenmeyen elementler, yüzdeleri toplanarak "Diğer elementler" satırında listelenmiştir. Bu elementlere ait detaylı dağılım Şekil 3 ve 4'teki element listelerinde mevcuttur.)

Element	1. Örnek		2. Örnek		3. Örnek		4. Örnek		5. Örnek	
	7 gün	21 gün	7 gün	21 gün	7gün	21 gün	7 gün	21 gün	7 gün	21 gün
O	0.57	0.68	0.99	0.36	5.67	12.95	0.39	1.53	10.07	22.53
P	0.21	0.00	0.24	0.02	0.26	3.09	0.22	0.33	2.85	1.00
Ca	0.27	0.00	0.09	0.94	0.18	2.81	0.00	0.01	4.08	4.31
Cr	17.99	16.66	17.46	19.73	16.51	15.52	17.08	15.35	8.62	11.58
Fe	69.85	72.63	69.13	69.81	63.22	61.28	68.95	57.50	63.89	19.37

Ni	10.37	7.49	11,28	9.14	11.64	0.55	12.82	25.29	4.88	1.16
Diğer elementler	0.73	2.54	0.81	0	2.52	3.8	0.54	0	4.00	40.07

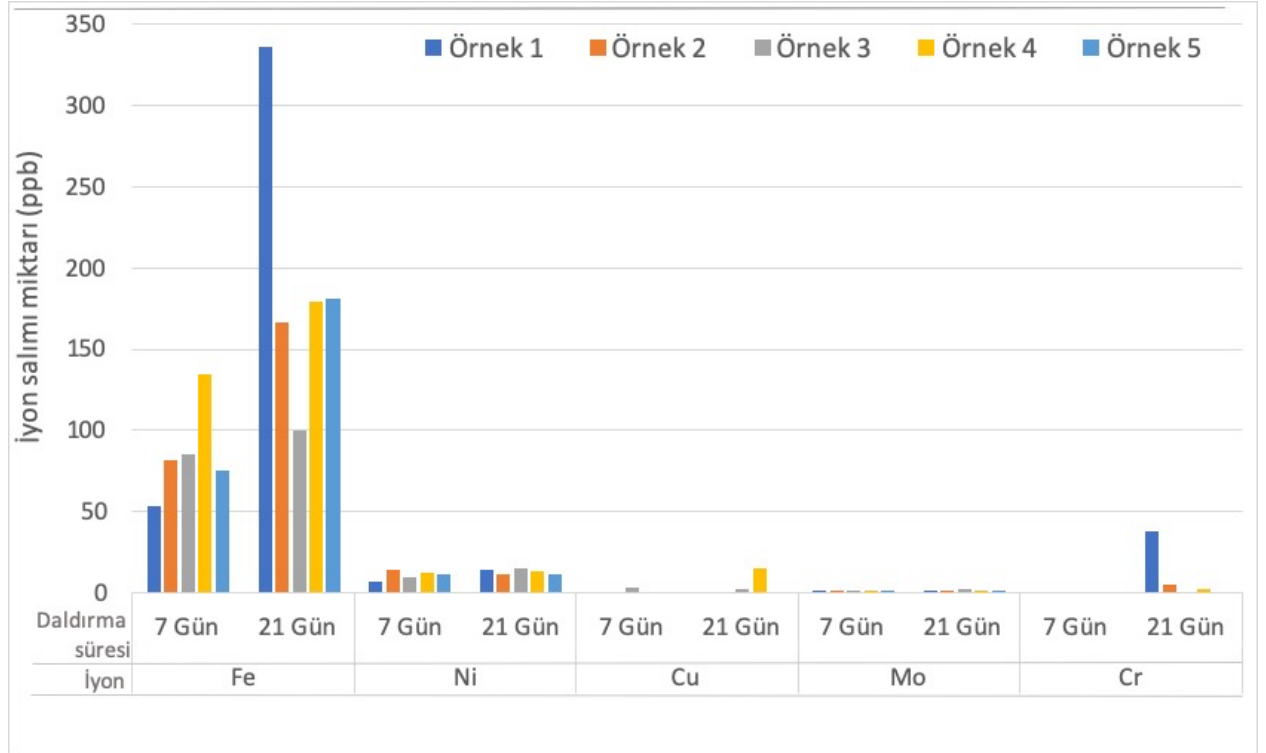
SEM ve EDS sonuçları incelendiğinde, oluşturulan farklı mikrodeformasyon desenlerine sahip yüzeylerin biyouyumluluk özelliklerinin önemli farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol numunesi ile mikrodeformasyon uygulanmış örneklerin yüzeyinde sıvı içinde oluşan yeni yapılar ve içerikleri kıyaslandığında, yeni yapı oluşumunun mikrodeformasyonlu yüzeylerde daha yoğun olduğu ve bu yapıların O ve özellikle Ca-P içeriği açısından kontrol numunesine kıyasla daha zengin olduğu saptanmıştır. Bunun yanında mikrodeformasyonlu yüzeylerde oluşan O ve Ca-P'lı yapıların genellikle izlerin civarında olduğu gözlenmiştir. Geçmiş çalışmaların bulguları göz önüne alındığında artan yüzey pürüzlülüğü ve buna bağlı artması beklenen yüzey enerjisinin bu tarz yapıların oluşması için daha elverişli bir yüzey oluşturması beklenmektedir [13-15]. Yakın zamanda paslanmaz çelik ve Ti-Al-V alaşımı gibi metalik biyomalzemelerle yapılan çalışmalar da, çeşitli yüzey işlemleri sonucu artan yüzey pürüzlülüğünün, yüzey ıslanabilirliğini artırdığına dair bulgular ortaya koymuştur [23-25]. Özellikle bu çalışmada kullanılan 316L paslanmaz çeliğine benzer özellikler gösteren bir diğer biyomedikal alaşım olan 304L paslanmaz çeliği üzerine yapılan güncel bir çalışmada, uygulanan plastik deformasyon işlemi ile yüzey pürüzlülüğü artırılan örneklerin serbest yüzey enerjisi değerlerinin işlemsiz numuneye kıyasla %5 ila %33 arasında arttığı gözlenmiştir [24]. Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada da uygulanan işlemler ile mikrodeformasyonlu örneklerde yüzey pürüzlülüğünün işlemsiz numuneye kıyasla büyük ölçüde artmasının (Tablo 4), özellikle desen bölgelerinde, serbest yüzey enerjisini de artıracak kanısına varılmıştır. Bu nedenle, mikrodeformasyonlu yüzeyler üzerinde daha fazla O ve Ca-P'lı yapı oluşumunun gerçekleşmesi ve bu oluşumun özellikler izler etrafında yoğunlaşmasının bu bölgelerin daha yüksek enerjili bölgeler olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Metalik implant malzemelerinin yüzeyinde koruyucu oksit tabakası oluşumunun iyon salımına karşı direnç sağlama açısından olumlu bir etkisinin olduğu, Ca-P'lı yapı oluşumunun ise kemik doku oluşumu göstergesi olması açısından biyouyumluluğa katkısının olduğu bilinmektedir [3, 9, 10, 26]. Bu bilgiler ışığında, oluşturulan mikrodeformasyon desenlerinin kontrol numunesine kıyasla O ve Ca-P'lı yapı oluşumunu tetiklemesi açısından biyouyumluluğa olumlu etki yarattığı düşünülmüştür.

Mikrodeformasyon uygulanmış yüzeyler kendi aralarında kıyaslandığında ise, artan yüzey pürüzlülüğü ile yeni yapı oluşumu arasında bir doğru orantı saptanmamıştır. Örneğin en yüksek yüzey pürüzlülüğü değerine sahip olan 2 numaralı örnek üzerindeki O ve Ca-P'lı yapı oluşumunun hem görsel olarak hem de EDS sinyalleri açısından, her iki daldırma süresi sonunda da daha düşük pürüzlülüğe sahip 3, 4 ve 5 numaralı numunelere göre daha az olduğu gözlenmiştir (Şekil 3, 4). Bu bulgu, uygulanan mikrodeformasyon alanlarında oluşturulan dislokasyon gibi mikroyapısal mekanizmalardan kaynaklı enerji değişiminin yüzey enerjisini belirlemede yüzey pürüzlülüğünden daha etkili olduğuna dair bir fikir oluşturmuştur. Bunun yanında metalik biyomalzemelerin vücut sıvıları içinde yüzeylerinde oluşan oksit tabakaları ile Ca-P'lı yapıların zaman içinde dinamik bir çözünme ve tekrar oluşma döngüsü içine girebileceği bilinmektedir [3, 19, 26]. Söz konusu elementlere ait EDS ile ölçülen değerlerdeki zamana bağlı artış, özellikle oksit tabakasının bu döngü sırasındaki kararlılığına dair ipucu vermektedir [3, 26]. Bu çalışmada incelenen örneklerde ise 2 numaralı örnek üzerindeki O ve Ca-P miktarının zamanla neredeyse hiç değişmediği gözlenirken, 3, 4 ve 5 numaralı numunelerin her üçünde de 21. güne gelindiğinde O miktarında belirgin bir artış, Ca-P miktarlarında ise hafif artışlar veya birbirine yakın değerler gözlenmiştir (Tablo 5). Bu bulgu, 3, 4 ve 5 numaralı numune yüzeylerinin oksit tabakası ve Ca-P'lı yapıların oluşumuna ve bu yapıların kararlı bir şekilde muhafaza edilmesine daha elverişli yüzeyler olduğunu göstermektedir.

Öte yandan artan yüzey enerjisi, korozif sıvılar içinde iyon salımını artırıcı etki de yapabilmektedir. Daha önce belirtildiği üzere, vücut sıvıları gibi korozif sıvıların içinde oluşan oksit tabakaları sürekli bir çözünme ve tekrar oluşma döngüsü içindedir [3, 19, 26]. Bu nedenle koruyucu oksit tabakası oluşumu, özellikleri ve koruyuculuğu, zamana bağlı olarak, iyon salımı ile birlikte incelenmelidir [3].

Bu amaçla SBF içi statik daldırma deneylerinin ardından, numunelerin maruz bırakıldığı SBF sıvıları da ICP-MS ile analiz edilerek, daldırma esnasında meydana gelebilecek metal iyon salımları da incelenmiştir. Her bir örneğin 7 ve 21 günlük statik daldırma süreleri sonunda maruz bırakıldıkları SBF analiz edilerek ölçülen Fe, Ni, Cu, Mo ve Cr miktarları parts-per-billion (ppb) yani $\mu\text{g}/\text{lt}$ olarak Şekil 5'te verilmiştir.



Şekil 5. Örneklerin 7 ve 21 günlük SBF içi statik daldırma sonrası ICP-MS ile ölçülen iyon salımı miktarları

İncelenen metallerin vücut açısından alerjik veya toksik etki gösterecek seviyeleri çeşitli çalışmalarda kişilerin yaş ve fiziksel özelliklerine göre; Fe için 500-1750 $\mu\text{g}/\text{lt}$, Ni için 120-500 $\mu\text{g}/\text{lt}$, Cr için 3-10 $\mu\text{g}/\text{lt}$, Cu içinse 1000-1500 $\mu\text{g}/\text{lt}$ aralıklarında verilmiştir [27-30]. Bu veriler göz önüne alarak ICP-MS sonuçları incelendiğinde; genel olarak ölçülen iyon salımı miktarlarının, testin uygulandığı 7 ve 21 günlük sürelerde, (1 numaralı örneğin 21. gündeki Cr salımı haricinde) vücut açısından toksik sayılacak düzeylere ulaşmadığı görülmüştür. (Mo iyon salım ölçümlerinde minimum saptama değeri seviyesinde düşük değerler ölçüldüğünden, bu element için ayrıca bir toksisite kıyaslaması yapılmamıştır.) Fakat mikrodeformasyon uygulanmamış 1 numaralı numunenin 7. günden 21. güne geçişte Fe ve Cr iyonu salım miktarının dikkat çekici seviyede arttığı gözlenmiştir. Mikrodeformasyon uygulanan örneklerde ise özellikle 21. günde 1 numaralı numuneye kıyasla çok daha düşük seviyelerde Fe ve Cr iyon salımı gerçekleştiği görülmüştür. Bu bulgu, mikrodeformasyon uygulanan yüzeylerde oluşan pasif oksit tabakanın iyon salımını önleme açısından literatüre benzer şekilde daha koruyucu olduğunu gösterir ve bu çalışmadaki SEM ile EDS bulgularını destekler niteliktedir [26]. Mikrodeformasyonlu yüzeyler kendi aralarında kıyaslandığında ise hem Fe iyonu hem de ölçülen diğer iyonların salımı açısından en az değişimi gösteren numune 3 numaralı örnektir. Bu örneğe ait EDS sonuçları 5. örneğe kıyasla daha düşük; diğer örneklerle kıyasla da daha yüksek O ve Ca-P sinyalleri göstermektedir (Tablo 5). Geçmiş çalışmalar oksit tabakası kalınlığı arttıkça tabakada çatlak oluşumu ihtimalinin artması sebebiyle iyon salımının da artabileceğini, bu sebeple iyon salımını önleme açısından optimum kalınlıktaki oksit tabakalarının daha etkin olabileceğini göstermiştir [3]. Bu çalışmada elde edilen bulgular da daha kararlı ve koruyucu özellik gösteren oksit tabakasının, test edilen örnekler arasındaki optimum O ve Ca-P sinyallerini veren, 3 numaralı örnek olduğunu göstermiştir.

Devam eden çalışmalarda mikrodeformasyonun dislokasyonlar gibi mikroyapısal unsurlar üzerindeki etkileri ve buna bağlı yüzey enerjisinde meydana getirdiği değişiklikler daha detaylı yapısal analizler ile incelenerek altta yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılması hedeflenmektedir. Ayrıca biyouyumluluk özelliklerinin daha iyi anlaşılması açısından bulgular in vitro deneylerle desteklenmelidir.

IV. SONUC

Bu çalışmada 316L paslanmaz çelik yüzeyinde mikro-deformasyon alanları oluşturularak değiştirilen yüzey özelliklerinin biyouyumluluğa etkisi sentetik vücut sıvısı içinde statik daldırma deneyleri ile ex situ düzeyde incelenmiştir. Oluşturulan mikro-deformasyonlu yüzeylerin hem sıvı içinde O ve Ca-P'lı yapı oluşumu, hem de iyon salımına karşı direnç açısından işlemsiz yüzeye kıyasla iyileştirme sağladığı saptanmıştır. Mikrodeformasyon uygulanan örnekler birbiri ile kıyaslanırken ise; iyon salımına karşı koruyuculuk sağlama açısından oksit tabakası oluşumuna elverişlilik, sentetik vücut sıvısı içinde düşük iyon salımı gösterme ve de kemik doku yapışmasını destekleme anlamında Ca-P'lı yapı oluşumuna uygun bir yüzey olma özellikleri dikkate alınmıştır. Bu değerlendirme sonucu mikrodeformasyonlu örneklerin kıyaslanmasıyla; iyon salımını engelleyici oksit tabakası oluşumunda artış, buna bağlı düşük iyon salım değerleri ve Ca-P'lı yapı oluşumuna elverişlilik açısından 3 numaralı örnek yüzeyinin daha umut vaat edici olduğu kanısına varılmıştır. Yüzey pürüzlülüğü ile yüzeylerde vücut sıvısı içinde yeni yapıların çökmesi arasında bir doğru orantı gözlemlenmemesi ise, oluşturulan mikrodeformasyon alanlarının mikroyapısal mekanizmalar üzerindeki etkisinin de yüzey enerjisini belirlemede önemli bir etken olduğuna dair bir ön bulgu oluşturmuştur.

TEŞEKKÜR: Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2018/15038).

V. KAYNAKLAR

- [1] R. Agarwal, A.J. García, “Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 94, no. 1, pp. 53–62, 2015.
- [2] N.S. Manam, W.S.W. Harun, D.N.A. Shri, S.A.C. Ghani, Kurniawan T, M.H. Ismail, M.H.I. Ibrahim, “Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review,” *Journal of Alloys Compounds*, vol. 701, no. 1, pp. 698-715, 2017.
- [3] S.M. Toker, D. Canadinc, H.J. Maier, O. Birer “Evaluation of passive oxide layer formation–biocompatibility relationship in NiTi shape memory alloys: Geometry and body location dependency,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 36, no.1, pp. 118-119, 2014.
- [4] T. Lu, J. Wen, S. Qian, H. Cao, C. Ning, X. Pan, Jiang X, X. Liu, P.K. Chu, “Enhanced osteointegration on tantalum-implanted polyetheretherketone surface with bone-like elastic modulus,” *Biomaterials*, vol. 51, no. 1, pp. 173-183, 2015.
- [5] G. Uzun, F. Keyf, “Surface Characteristics Of The Implant Systems And Osseointegration,” *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, vol. 2, no. 1, pp. 43-50, 2007.
- [6] C. Şahin, C. Korkmaz, G. Uzun, “Osseointegration, Surface Porosity And Nanotechnology,” *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, Supplement*, vol. 13, no.1, pp. 174-181, 2015.
- [7] Y. Hayran, N. Akbulut, M.K. Tümer, “Surface Treatment Technologies of Dental Implants,” *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, vol. 2, no. 2, pp. 98-105, 2016.

- [8] E. Ünal, M. Özçatal, Ş. Taktak, A. Evcin, Y. Kayalı, “Surface Modification of Pure Titanium Implant Using Acid and Alkali Treatments,” *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, vol. 15, no. 3, pp. 6-13, 2015.
- [9] B. Yılmaz, Z. Evis, M. Güldiken “Biomimetic Calcium Phosphate Coating Of Titanium Alloy,” *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, vol. 29, no.1, pp. 105-109, 2014.
- [10] M. İzmir, Y. Tufan, B. Ercan “Interaction of anodized Ti6Al7Nb with simulated body fluid,” *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, vol. 34, no.1, pp. 495-503, 2019.
- [11] S.M. Toker, D. Canadinc, A. Taube, H.J. Maier, G. Gerstein “On the Role of Slip – Twin Interactions on the Impact Behavior of High-Manganese Austenitic Steels,” *Materials Science and Engineering A*, vol. 593, no. 1, pp. 120–126, 2014.
- [12] S.M. Toker, F. Rubitschek, T. Niendorf, D. Canadinc, H.J. Maier. “Anisotropy of ultrafine-grained alloys under impact loading: The case of biomedical niobium–zirconium,” *Scripta Materialia*, vol. 66, no. 7, pp. 435–438, 2012.
- [13] K. Anselme, M. Bigerelle, B. Noël, A. Lost, P. Hardouin “Effect of grooved titanium substratum on human osteoblastic cell growth,” *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 60, no. 4, pp. 529-540, 2002.
- [14] C. Wu, M. Chen, T. Zheng, X. Yang, “Effect of surface roughness on the initial response of MC3T3-E1 cells cultured on polished titanium alloy,” *Bio-Medical Materials and Engineering*, c. 26, s. 1, ss. 155-164, 2015.
- [15] L. Le Guehennec, M.A. Lopez-Heredia, B. Enkel, P. Weiss, Y. Amouriq, P. Layrolle, “Osteoblastic cell behaviour on different titanium implant surfaces,” *Acta Biomaterialia*, vol. 4, no. 1, pp. 535–543, 2008.
- [16] S.M. Toker, G. Sugerman, E.C. Frey, “Effects of Surface Characteristics on the in Vitro Biocompatibility Response of NiTi Shape Memory Alloys,” *Academic Platform Journal of Engineering and Science*, vol. 7, no. 2, pp. 112-116, 2019.
- [17] Y. Estrin, C. Kasper, S. Diederichs, R. Lapovok “Accelerated growth of preosteoblastic cells on ultrafine grained titanium,” *Journal of Biomedical Materials Research A*, vol. 90, no. 4, pp. 1239-1242, 2008.
- [18] P.K.C. Venkatsurya, W.W. Thein-Han, R.D.K. Misra, M.C. Somani, L.P. Karjalainen “Advancing nanograined/ultrafine-grained structures for metal implant technology: Interplay between grooving of nano/ultrafine grains and cellular response,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 30, no. 1, pp. 1050-1059, 2010.
- [19] S.M. Toker, G. Gerstein, H.J. Maier, D. Canadinc “Effects of microstructural mechanisms on the localized oxidation behavior of NiTi shape memory alloys in simulated body fluid,” *Journal of Materials Science*, vol. 53, no. 2, pp. 948-958, 2018.
- [20] B. Uzer, S.M. Toker, A. Cingoz, T. Bagci-Onder, G. Gerstein, H.J. Maier, D. Canadinc “An exploration of plastic deformation dependence of cell viability and adhesion in metallic implant materials,” *Journal Of The Mechanical Behavior Of Biomedical Materials*, vol. 60, no. 1, pp. 177-186, 2016.

- [21] B. Yilmaz, A.E. Pazarceviren, A. Tezcaner, Z. Evis, "Historical Development of Simulated Body Fluids Used in Biomedical Applications: A Review," *Microchemical Journal*, vol. 155, no. 1, pp. 1-49, 2020.
- [22] T. Kokubo, H. Takadama "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?," *Biomaterials*, vol. 27, no. 1, pp. 2907-2915, 2006.
- [23] B. Uzer, "Modulating The Surface Properties Of Metallic Implants And The Response Of Breast Cancer Cells By Surface Relief Induced Via Bulk Plastic Deformation," *Frontiers in Materials*, vol.99, no.7, pp. 1-10, 2020.
- [24] R.R. Behera, A. Das, A. Hasan, D. Pamu, L.M. Pandey, M.R. Sankar, "Deposition of biphasic calcium phosphate film on laser surface textured Ti-6Al-4V and its effect on different biological properties for orthopedic applications," *Journal of Alloys and Compounds*, In press, pp. 1-50, 2020.
- [25] T. Hanawa, "Titanium–Tissue Interface Reaction and Its Control With Surface Treatment," *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, vol.170, no.7, pp. 1-13, 2019.
- [26] H.W. Yuen, W. Becker. "Iron Toxicity". Treasure Island, FL, USA: StatPearls Publishing; 2020. (Accessed June 22, 2020.) [Online].Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459224/>
- [27] H.H. Huang, Y.H. Chiu, T.H. Lee, S.C. Wu, H.W. Yang, K.H. Su, C.C. Hsu, "Ion release from NiTi orthodontic wires in artificial saliva with various acidities," *Biomaterials*, vol.24, no.1, pp. 3585-3592, 2003.
- [28] G.S. Matharu, M. Res, F. Berryman, A. Judge, A. Reito, J. McConnell, O. Lainiala, S. Young, A. Eskelinen, H.G. Pandit, D. Phil, D. W. Murray, "Blood Metal Ion Thresholds to Identify Patients with Metal-on-Metal Hip Implants at Risk of Adverse Reactions to Metal Debris," *The Journal Of Bone & Joint Surgery*, vol.99-A, no.18, pp. 1532-1539, 2017.
- [29] A. Hordyjewska, Ł. Popiołek, J. Kocot, "The many "faces" of copper in medicine and treatment," *Biometals*, vol.27,no.1, pp. 611-621, 2014.