

Dental İmplant Materyallerin İyon İmplantasyon Yöntemiyle Modifikasyonlarının İn Vitro Hücre Tutunmasına Etkisi

Ali Erdem Turanlı¹, Emel Sokullu^{2*}, Alexey Nikolayev³, Taner Dağcı⁴, Ahmet Öztarhan⁵

¹Amerikan Hastanesi, Nişantaşı, İstanbul

²İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Mühendislik Bilimleri, Biyomühendislik B. Harmandalı Çiğli İzmir

³High Current Institute, Tomsk, Russia

⁴Ege Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri, Fizyoloji A.B.D. Bornova İzmir

⁵İzmir Üniversitesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümü, İzmir

*İletişimden sorumlu yazar / Corresponding author

Geliş / Recieved: 1 Temmuz (July) 2016

Kabul / Accepted: 2 Ağustos (August) 2016

DOI: <http://dx.doi.org/10.18466/cbujos.40807>

Özet

Bir dental implant tedavisinin başarısında cerrahi teknik, implant materyali ve implant dizaynı gibi faktörlerin yanı sıra, implant materyalinin yüzey özelliklerinin de önemli olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar iyon implantasyonunun dental implantların yüzey modifikasyonu açısından iyi bir aday olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, MEVVA iyon implantasyon teknolojisi kullanılarak, metal+gaz hibrit iyon implantasyonu yapılmış yüzeylerin osteoblast hücre tutunmasına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla, iyon implante edilecek materyal olarak son yıllarda dental implant materyali olarak en çok kullanılan titanyum (ISO 5832-2 Grade 4) seçilmiştir. Titanyum yüzeylere implante edilecek metal element olarak yüksek biyouyumluluğu ile bilinen zirkonyum ve zirkonyum ile eş zamanlı implante edilen gaz elementi olarak titanyum yüzeylerin pasivasyonunu arttırmak için oksijen kullanılmıştır. Osteoblast hücre tutunmaları in vitro ortamda gerçekleştirilerek yüzey pürüzlülüğünün ve iyon implantasyon işleminin osteoblast hücre tutunmaları üzerine etkisi karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. Sonuç olarak pürüzlü ve iyon implante edilmiş yüzeylerde hücrelerin daha iyi tutunduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler — İyon implantasyonu, titanyum, zirkonyum, oksijen, osteoblast tutunması.

The Effects of Ion Implantation Technique on Dental Implant Materials for in-vitro Cell Attachment

Abstract

Achivement of a dental implant treatment depend on also surface properties of implant material as well as surgical method, implant material and implant desing, Studies have shown that ion implantation is a good candidate for modifying of dental implant surface. In this thesis, it was observed the effects on osteoblast attachment on modified surfaces with metal+gas hybrid ion implantation by using MEVVA ion implantation technology. For this aim, the material for ion implantation was chosen as titanium (ISO 5832-2 Grade 4) which is the most common material used in dentistry. Zirconium element known as biocompatible and oxygen to increase the passivation of titanium surfaces were used for creating ions simultaneously. Attachment of osteoblast on samples was investigated in vitro for comparing the effects of the roughnesses and ion implantation surface modification on attachment of osteoblast. It is observed at the end of the in vitro osteoblast cell attachment is better on rough and ion implanted surfaces.

Keywords — Ion implantation, titanium, zirconium, oxygen, osteoblast attachment.

1 Giriş

İnsanoğlu binlerce yıl boyunca kaybolan dişlerinin yerini telafi edebilecek yolları aramıştır. Eski Mısırlılar fildişlerini ve diş şeklindeki kabukları eksik dişlerinin yerine kullanmış; Etruryalılar büyük baş hayvanların kemiklerini oyarak kendilerine yapay diş yapmıştır. 1931 yılında, bir arkeoloji ekibi yaptığı kazılarda, Malyalardan kalma kayıp üç ön kesici dişin yerine yerleştirilmiş diş şeklinde kalıntılar bulmuştur. İnsanlar dişin yerini alabilecek en iyi materyalin ne olduğunu bulabilmek için birçok deneme yapmış, modern implantolojinin başlaması ise 1900'lü yılların başını bulmuştur. İlk girişimler başka bir insandan alınan doğal bir dişin implantasyonu ile başlamış ancak enfeksiyona neden olmuş ve konakçı olduğu doku tarafından reddedilmiştir [1].

Dental implant materyalleri uzun süreli periyotlar için insan vücuduna yerleştirilen materyaller olduğundan vücutla olan ilişkisi ve dayanıklılığı sıkı gerekçelere bağlıdır. Dolayısıyla bir implant materyali, yüksek biyouyumluluk, düşük toksisite, yüksek kimyasal kararlılık ve iyi mekanik dayanım gerektirmektedir. 1950'li yıllara gelindiğinde ilk olarak havacılık endüstrisinde "muhteşem metal" olarak kullanılan titanyum daha sonraki dönemlerde medikal ve dental alanda çok büyük bir yere sahip olmuştur. Titanyum yüksek biyouyumluluğu ve uzun dönem implantasyon sürecinde gösterdiği kararlılık ile kemik ankraj sistemlerinde biyomateryal olarak yaygın bir biçimde kullanılmaya başlanmış ve modern implantolojide bir devrimin başlangıcı olmuştur. Yapay diş kökünden ve buna sabitlenen kromdan oluşan titanyum implantlar günümüzde her yıl yüz binlerce kişiye implante edilmektedir [2-4].

Bir dental implantın implantasyonundan sonra 2 tip yanıt alınmaktadır. Bunlardan birincisi implantın çevresinde kapsüle bir yumuşak fibröz dokunun oluşmasıdır ki bu istenen biyomekanik fiksasyonun sağlanmasını engeller ve implant tedavisinin başarısızlığına neden olur. İkinci tip yanıt ise araya giren herhangi bir yumuşak doku olmaksızın kemik-implant teması ile ilgilidir ki bu da osseointegrasyon olarak bilinir. Osseointegrasyonun hızı ve kalitesi titanyum implantların yüzey özellikleri ile ilişkilidir. Burada yüzey kompozisyonu, hidrofilitesi, pürüzlülük gibi parametreler implant-doku etkileşimi

ve osseointegrasyonda önemli rol oynarlar. Bu nedenle farklı yüzey modifikasyon yöntemleri ile dental implantlarda osseointegrasyonun hızlandırılması amaçlanmıştır [5].

Uygulanan yüzey modifikasyonları ile titanyum dental implantların kimyasal kompozisyonları, yüzey enerjileri, yüzey yükleri, morfolojisi ve topografisi gibi yüzey karakteristikleri değiştirilebilmektedir. İmplant yüzeyindeki kimyasal kompozisyonun protein adsorbsiyonunda ve hücre tutunmasında önemli rolü olduğu bilinmektedir ve implant yüzeyinin hidrofilitisini etkilemektedir. Ayrıca asitleme ve kumlama gibi işlemlerle yüzey pürüzlülüğü değiştirilerek osseointegrasyon hızı ve implantın biyomekanik fiksasyonu arttırılmaktadır [5,6].

Son yıllarda ise titanyum ve alaşımı implantların biyolojik, kimyasal ve mekanik özelliklerini geliştirmek için uygulanan çeşitli iyonların (C⁺, CO⁺) implantasyonu ile yapılan yüzey modifikasyonlarının, implantın yüzey karakteristiğini değiştirdikleri ve osseointegrasyonu arttırdıkları gözlenmiştir [4].

1.2 Metalik dental implant materyalleri

Dental implantlar için en sık kullanılan biyomateryaller, metaller ve bunların alaşımlarıdır. Metaller, yüksek mekanik dayanımları, şekillendirilebilir olmaları, yüksek aşınma ve yorulma dirençlerine sahip olmaları sebebiyle implant materyali olarak tercih nedenidir. Ancak diğer materyallere oranla düşük biyouyumlulukları, korozyona uğrayabilmeleri, yüksek yoğunlukları, dokulara göre çok sert olmaları ve metal iyon salınımı yaparak alerjik reaksiyonlara sebep olabilmeleri nedeniyle kullanım alanları sınırlı kalmaktadır [7,8].

Metal implantların biyolojik ortama uygunluğu, içinde buldukları ortamda korozyona uğramalarıyla ilişkilidir. Metallerin çevreleriyle istenmeyen bir kimyasal reaksiyona girerek oksijen, hidroksit veya farklı bileşikler oluşturmasına korozyon denir. İnsan vücudu, içindeki akışkanların su, çözünmüş oksijen, klorür ve hidroksit gibi çeşitli iyonları içermesi nedeniyle metallerin biyomalzeme olarak kullanımı için oldukça korozif bir ortam oluşturmaktadır. Malzemenin korozyona uğraması, malzemeyi za-

yıflattır. Daha önemlisi korozyon sebebiyle oluşan ürünlerin hücre içine girmesi ile malzemeye etkileşimde olan doku ve hücre ciddi zararlar görür.

Biyomalzeme sıklıkla kullanılan metallere bazıları paslanmaz çelikler, titanyum ve alaşımları, kobalt-krom alaşımları, altın, platindir. Platin ve Altın gibi soy metaller yüksek korozyon direncine sahiptirler ancak mekanik özellikleri zayıftır [9].

Diş hekimliğinde, implant materyali olarak kobalt – krom alaşımları; hem Co-Cr-Mo hem de Co-Cr-Ni-Mo, kullanımı oldukça yaygındır. Kobalt-krom alaşımlarının elastisite modülü paslanmaz çelikten daha büyüktür ve paslanmaz çelik alaşımlarına göre daha iyi korozyon dirençlerine sahiptir. Ancak kobalt-krom alaşımları, korozyon fatiği açısından hala başarısız görülmektedir [10,11]. Bu alaşımların kullanımlarında üzerinde durulan temel konu, paslanmaz çelik alaşımlarına oranla çok daha az olsa da, salınan kromun vücut için kanserojenik potansiyele sahip olmasıdır [11].

Aynı şekilde Co-Cr-Ni-Mo implant materyalinden korozyonun etkisiyle salınan nikel ve kobaltın, implant materyalini saran dokuda inflamatuvar etkiye ve nekrotik fenomalara neden olabilmektedir [12].

Son yıllarda ise titanyum ve alaşımlarının medikal ve dental amaçlı kullanımında çarpıcı bir artış vardır. Titanyum ve alaşımlarının bu kadar tercih edilmesinin nedeni, kimyasal olarak inert olmaları, yüksek mekanik dirençleri, düşük yoğunlukları, toksik olmamaları, korozyon dirençleri ve yüksek biyouyumluluklarıdır. Titanyum ve alaşımları hem endosseoz hem de subperiostal implant olarak kullanılmaktadır [13].

1.3 Dental İmplantlarda Yüzey Modifikasyonları ve İyon İmplantasyonu

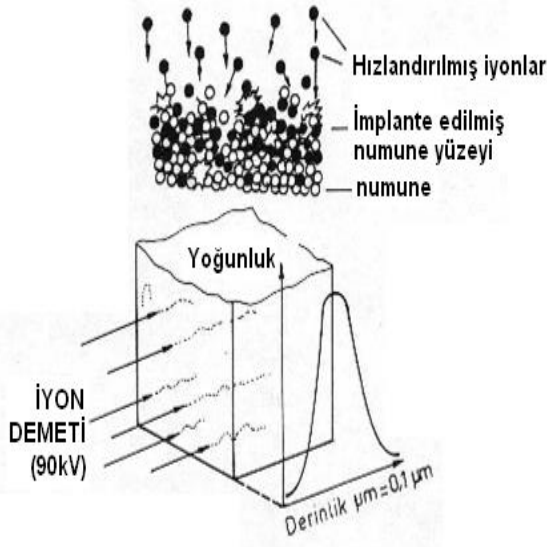
Yüzey modifikasyonu, bulk materyalin sahip olduğu özellikleri değiştirmeden, yüzeyin kompozisyonunu, yapısını ve morfolojisini değiştirerek implant materyalini modifiye etmeye ve biyolojik yanıtını değiştirmeye yönelik bir prosestir [14,15]. İmplant materyaline yüzey modifikasyonları doku uyumluluğunu art-

tırmak, anti bakteriyel etki sağlamak, aşınma ve korozyon direncini arttırmak gibi amaçlarla yapılırlar [14].

İmplant materyalinin yüzey modifikasyonları, fizikokimyasal ve morfolojik olmak üzere sınıflandırılabilir. Fizikokimyasal yüzey modifikasyonları implant materyalinin biyolojik yanıtı değiştirmek amacıyla implant materyalinin yüzey enerjisini, yüzey yükünü, yüzey kompozisyonunu ve yüzeyin fizikokimyasal karakterizasyonunu değiştirmek için yapılan modifikasyonlardır. İmplant materyalinin morfolojisini ve pürüzlülüğünü değiştirmeye yönelik çalışmalar ise implant materyalinin hücre ve dokuya verdiği yanıtı değiştirmek için yapılır [15]. Uygulanan yüzey modifikasyonları ile yalnızca implant ve kemik arasındaki yüzey bağlantısı arttırmakla kalmadığı gibi implantasyon periyodunun ilk aşamasında ara yüzeyde gerçekleşen biyomekanik etkileşimde arttırılmaktadır. İmplant materyallerinin fizikokimyasal ve morfolojik yüzey modifikasyonları için uygulanan bazı işlemler şunlardır; Plazma spreyleme, asitleme, kumlama ve asitleme, anodizasyon, hidroksiapatit ve kalsiyum-fosfat kaplamalardır [16].

Bahsedilen yüzey modifikasyon işlerinin bir çoğu ticari dental implant materyallerine uygulanmaktadır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, iyon implantasyonunun dental implantların yüzey modifikasyonu açısından iyi bir tamamlayıcı aday olduğunu göstermiştir [17,18].

İyon implantasyonu, bir veya birden fazla elementin hızlandırılmış iyonlarıyla başka bir malzemenin bombalanması ile hedef malzeme içine iyonların girmesini sağlar ve bu şekilde hedef malzemenin en dış tabakalarının yapısını ve özelliklerini istenilen şekilde değiştirmek amacı ile uygulanan bir yöntemdir [19].



Şekil 1. Hızlandırılmış iyonların, hedef yüzeyine girmesi ve hedef içindeki iyon dağılımının gösterimi [19]

Hızlandırılmış iyon demetleriyle yapılan işlemde; yüksek enerjili iyonlar yüzeyin alt tabakalarına girer, hedefin ana özelliklerinde olumsuzluk oluşturmadan; yüzeyin sertlik, sürtünme katsayısı, aşınma direnci, korozyon direnci, yüzey enerjisi ve diğer özelliklerinin değişmesini sağlar. Bu işlem sonucunda Hedef malzeme ile etkileşen iyon demetleri yüzeye yakın bölgenin kompozisyon ve yapısında değişmelere neden olur.

İyon implantasyon sistemleri Kütle Analizli İyon İmplantasyon Sistemler, Direkt iyon implantasyon sistemleri ve plazma kaynaklı iyon implantasyon sistemleri 3 gruba ayrılır [19]

2. Materyal ve Metod

2.1 Materyal

Bu çalışmada 24 adet 3mm boy 6 mm çaplı ISO 5832-2 sınıf 4 (grade-4) saf titanyum diskler kullanılmıştır. Kullanılan materyalin kimyasal bileşimi (Bkz. Çizelge 2.2)'de verilmiştir. Deney materyali olan titanyum diskler, dental implant üretimi yapan Şanlılar Ltd. Şt.'inden temin edilmiştir. Bu numunelerden 12 adeti

0,1 Ra pürüzlülüğe, 12 adeti de 0,07 Ra pürüzlülüğe sahiptir. Yüzey pürüzlülüğünün istenen seviyeye getirme işlemleri Eskişehir Osmangazi Üniversitesindeki Metalürji Enstitüsü Metalürji Laboratuvarında METALOGRAFİK NUMUNE PARLATMA CİHAZI "Struers TegraPol 21- TegraForce-5 (baskı kafası)" ile yapılmış ve yüzey pürüzlülüğü aynı laboratuvardaki MITUTOYO SJ-401 marka pürüzlülük ölçüm cihazı ile ölçülmüştür. Ege Üniversitesi Biyomühendislik Fakültesi Yüzey Modifikasyon Laboratuvarındaki MEVVA İyon İmplantasyon sistemi ile Zirkonyum (Zr) ve Oksijen (O₂) iyon implantasyonu eş zamanlı olarak yapılmıştır. Tablo.1'de implantasyon parametreleri verilmiştir.

Tablo 1. : İyon implantasyon parametreleri

Numune	Numune boyutları (mm)	İyon	Doz (iyon/cm ²)	Hızlandırıcı voltajı (kV)	Darbe Sayısı (Sn ⁻¹)
ISO 5832-2 sınıf 4 (grade-4) saf titanyum	Boy: 3 Çap: 6	Zr+O	1x10 ¹⁷	50	8

2.1.1 Hücre tutunma testi materyalleri

SAOS-2 osteoblast hücreleri (DSMZ; ACC 243; human osteogenic sarcoma, Şap enstitüsü), Dulbecco hücre üretme ortamı (DMEM; Biochrom, Almanya), RPMI 1640 hücre üretme ortamı (Biochrom, Almanya), 10 µg/ml L- glutamin (Biochrom, Almanya), %10 fetal dana serumu (FBS; Biochrom, Almanya), 10 µg/ml gentamisin (Biochrom, Almanya), Tripsin-EDTA (Sigma, Almanya), 37°C'de, % 5 CO₂ li inkübatör (Hera Cell, Heraeus, Almanya)

2.1.2 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) materyalleri

Fizyolojik serum, Sodyum kakodilat (Sigma, Almanya), Gluteraldehit (EM grade, %25 aqueous) (Merck, Almanya, pH 7.2), Osmium Tetroksit(Sigma, Almanya), Sukroz (Merck, Almanya) , % 35, % 70, % 85, % 95, %100 etanol, Hekzametildisilazan (Merck, Almanya) , Pipet ucu (1000µl), Santrifüj tüpleri (15 ml, Greiner, Almanya)

- Tampon A: %5 gluteraldehit (pH 7,2) (0,1 M sodyum kakodilat içinde)

- Tampon B: %7 sukroz (7g/100 ml) (0,1 M sodyum kakodilat içinde)
- Tampon C: %2 osmium tetroksit (0,1 M sodyum kakodilat içinde)

2.2 Hücre tutunma testi

SAOS-2 için 10 µg/ml L-glutamin, 10 µg/ml penisilin ve 10 µg/ml gentamisin içeren RPMI 1640 hücre kültürü ortamı kullanılmıştır. Tripsin-EDTA solüsyonu ile yüzeyden kaldırılan hücreler besi ortamı içerisinde 5×10^5 hücre/ml konsantrasyonda olacak şekilde seyreltilmiştir. Numuneler 0.07 Ra ve 0.1 Ra yüzey pürüzlülüklerine göre 3 'erli kontrol ve implante edilmiş olmak üzere sınıflandırılarak kaplarına yerleştirilmiştir. Her bir numune üzerine 20µl (Hücre+üreme ortamı) olacak şekilde yerleştirilip. Numuneler 37°C'de % 5 CO₂'li inkubatöre 12 saatlik ve 24 saatlik süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.1 Materyaller üzerine tutunan hücrelerin taramalı elektron mikroskopuyla (SEM) fotoğraflanması

İnkübasyon süreleri bitiminde, taramalı elektron mikroskopunda görüntülemek için pleytlerden alınan materyaller 30 saniye fizyolojik serum ile yıkanmış, 30 dakika A tamponunda bekletilmiştir. Süre sonunda başka bir solüsyonla yıkama yapmadan 15 dakika B tamponunda bekletilmiştir. Bu basamak iki kere tekrarlanmıştır. Son olarak 30 dakika C tamponunda bekletilmiştir. Bütün bu işlemler buz üzerinde gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda örnekler 5 dakika boyunca distile suda yıkanmıştır. Bu basamak da iki kere tekrarlanmıştır. Örnekler suda yıkandıktan sonra sırasıyla %35, %70, % 85, % 95, %100 etanol çözeltilerinde 5'er dakika bekletildikten sonra heksametildisilazan solüsyonunda 5 dakika bekletilerek oda sıcaklığında kurutulmuştur. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) incelemeleri ve fotoğraflamaları SAOS-2 hücreleri için İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezin'deki Phillips XL-30S FEG marka taramalı elektron mikroskobu ile yapılmıştır.

2.2.2 İstatistiksel analiz

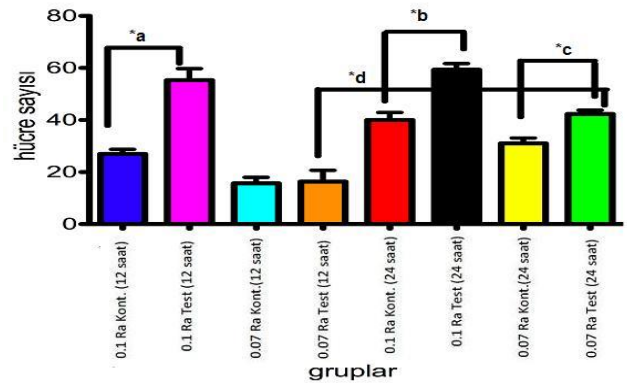
Zirkonyum ve oksijen hibrit iyon implante edilmiş test ve kontrol gruplarındaki tutunan SAOS-2 hücre sayıları "one way ANOVA, Post-hoc Neuman Keuls" istatistik analiz yöntemi ile değerlendirilmiştir

3. Bulgular

Tutunan hücrelerin sayılması işlemi SEM fotoğrafları üzerinden gerçekleştirilmiştir. SEM görüntülerinde her bir örnek için aynı bölgelere noktaya odaklanılmış ve görüntüler x500 büyütmede alınmıştır. Yapılan sayımlardan elde edilen sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. Sayım sonuçlarının grafiksel gösterimini ise Şekil 2'de verilmektedir.

Tablo 2. : 0.07 Ra ve 0.1 Ra yüzey pürüzlülüğüne sahip kontrol ve test grupları için hücre sayım sonuçları.

12 Saat				
Grup	Kont.- 0.07 a	İmp.- 0.07Ra	Kont.- 0.1 Ra	İmp.- 0.1 Ra
1	15	12	27	47
2	12	15	30	57
3	20	25	24	62
24 Saat				
Grup	Kont.- 0.07 a	İmp.- 0.07Ra	Kont.- 0.1 Ra	İmp.- 0.1 Ra
1	30	40	45	55
2	28	45	35	60
3	35	42	40	63



Şekil 2. : 0.07 Ra ve 0.1 Ra yüzey pürüzlülüğüne sahip kontrol ve test grupları için hücre sayım sonuçlarının grafiksel gösterimi.

Şekil 2' de belirtilen *a, *b, *c, *d ifadeleri, tek yönlü Anova (Newman-Keuls, Posthoc) analiz yönteminden faydalanarak belirlenmiş istatistiksel açıdan anlamlı gruplardır.

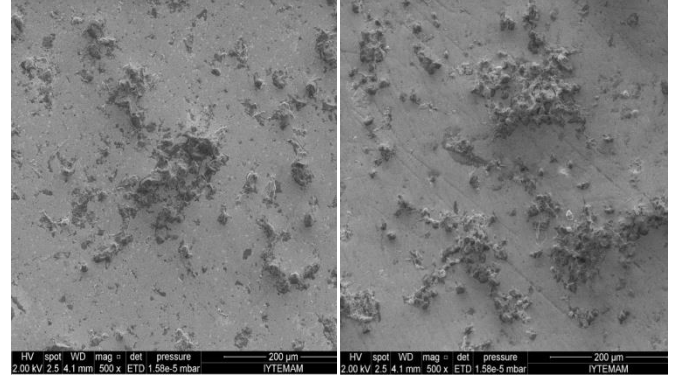
***a:** 0.1 Ra pürüzlülük değerine sahip, 12 saatlik inkübasyon sürecine bırakılmış kontrol ve test gruplarının karşılaştırılması olup, $p < 0.05$ 'tir.

***b:** 0.1 Ra pürüzlülük değerine sahip, 24 saatlik inkübasyon sürecine bırakılmış kontrol ve test gruplarının karşılaştırılması olup, $p < 0.05$ 'tir.

***c:** 0.07 Ra pürüzlülük değerine sahip, 24 saatlik inkübasyon sürecine bırakılmış kontrol ve test gruplarının karşılaştırılması olup, $p < 0.05$ 'tir.

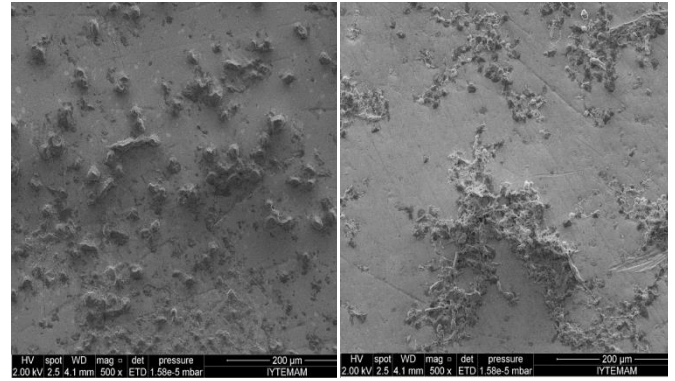
***d:** 0.07 Ra pürüzlülük değerine sahip, 12 saatlik inkübasyon sürecine bırakılmış test ve 24 saatlik inkübasyon sürecine bırakılmış test gruplarının karşılaştırılması olup, $p < 0.01$ 'tir.

Kontrol ve test gruplarının 12 ve 24 saatlik inkübasyon sonundaki SEM görüntüleri Şekil 3. a, b' de verilmiştir.



0.07 Ra Kontrol-x500
büyütme

0.1 Ra Kontrol-x500
büyütme



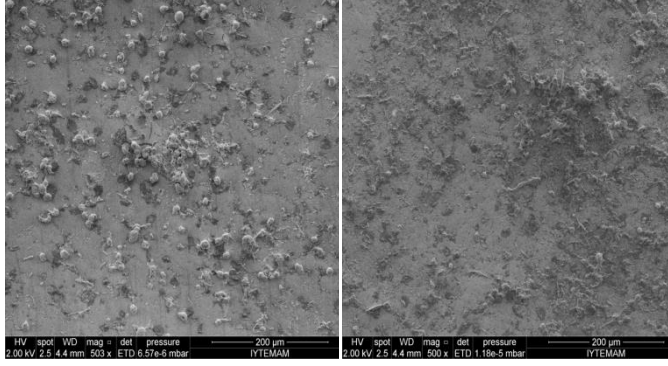
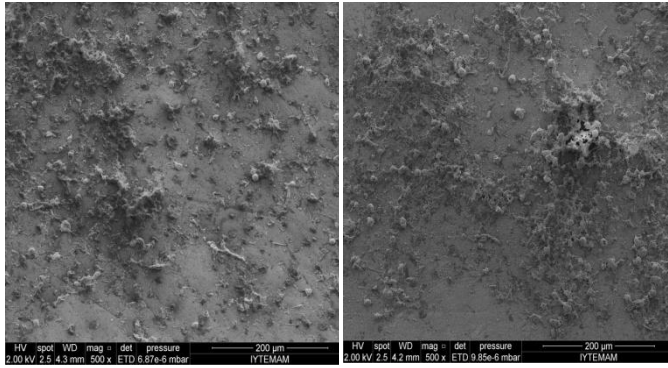
0.07 Ra imp-x500
büyütme

0.1 Ra imp-x500 büyütme

Şekil 3. (a): Kontrol ve test gruplarının 12 saat inkübasyon sonrası SEM görüntüleri.

12 Saat İnkübasyon Sonrası SEM Görüntüleri

24 Saat İnkübasyon Sonrası SEM Görüntüleri

0.07 Ra Kontrol-x500
büyütme0.1 Ra Kontrol-x500
büyütme0.07 Ra imp-x500
büyütme

0.1 Ra imp-x500 büyütme

Şekil 3. (b): Kontrol ve test gruplarının 12 saat inkübasyon sonrası SEM görüntüleri.

4. Tartışma:

Çalışmamızda iyon implantasyon işleminden sonra temas açısı artan test gruplarının hücre kültür testleri sonuçlarında da görüldüğü üzere (Bkz. Şekil 3. a, b); SAOS-2 osteoblast hücrelerinin zirkonyum ve oksijen hibrit iyon implantasyonu yapılmış numunelerin yüzeyi üzerine yayılmalarında düzensizlikler ve yığılmalar oluşmuştur.

Hücre tutunması testlerinin sonuçları 12 saatlik inkübasyona bırakılan örnekler için sayılan hücreler incelendiğinde, 0.07 Ra pürüzlülüğe sahip iyon implante edilen test gruplarında kontrol gruplarına kıyasla % 10'luk bir artış gözlenmiştir. 0.1 Ra

pürüzlülüğe sahip 12 saatlik inkübasyona bırakılan iyon implante edilmiş test gruplarında ise kontrol gruplarına kıyasla % 113'lük bir artış gözlenmiştir.

Hücre tutunması testlerinin sonuçları 24 saatlik inkübasyona bırakılan örnekler için sayılan hücreler incelendiğinde, 0.07 Ra pürüzlülüğe sahip iyon implante edilen test gruplarında kontrol gruplarına kıyasla % 36'luk bir artış gözlenmiştir. 0.1 Ra pürüzlülüğe sahip 24 saatlik inkübasyona bırakılan iyon implante edilmiş test gruplarında ise kontrol gruplarına kıyasla % 48'lik bir artış gözlenmiştir.

Hücre sayılarındaki bu artış değerlerinin anlamlılığı tek yönlü ANOVA (Newman-Keuls) analiz yöntemi ile istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; 12 saatlik inkübasyona bırakılan 0.07 Ra pürüzlülüğe sahip kontrol ve test gruplarının için anlamlı görülmemiştir. Hücre sayılarındaki artış değerleri yine 12 saatlik inkübasyona bırakılan 0.1 Ra pürüzlülüğe sahip kontrol ve test grupları için kıyaslandığında, test gruplarındaki artış anlamlı olup, $p < 0.05$ 'tir.

Hücre sayılarındaki artış değerlerinin anlamlılığı 24 saatlik inkübasyona bırakılmış 0.07 Ra pürüzlülüğe sahip kontrol ve test grupları için kıyaslandığında, test gruplarındaki artış anlamlı olup, $p < 0.05$ 'tir. Aynı şekilde 0.1 Ra yüzey pürüzlülüklerine sahip 24 saatlik inkübasyona bırakılmış kontrol ve test grupları için de test gruplarındaki artış anlamlı olup, $p < 0.05$ 'tir.

0.07 Ra pürüzlülüğe sahip 12 saatlik inkübasyona bırakılan test grubu ile 24 saatlik inkübasyona bırakılan 0.07 Ra pürüzlülüğe sahip test grubu karşılaştırıldığında; hücre sayısındaki artış istatistiksel olarak anlamlı olup, $p < 0.01$ 'tir. Aynı şekilde 0.1 Ra pürüzlülüğe sahip 12 saatlik inkübasyona bırakılan test grubu ile 24 saatlik inkübasyona bırakılan 0.1 Ra pürüzlülüğe sahip test grubu karşılaştırıldığında ise; hücre sayısındaki artış istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir.

Bir çok çalışmada vurgulandığı gibi Chaubey ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı "Cell -Material Interaction" başlıklı çalışmada da pürüzlü yüzeylerin hücre tutunmasında ve çoğalmasında önemi olduğu vurgulanmıştır [20]. Bu doğrultuda yapılan çalışma pürüzlü yüzeylerin hücre tutunmasında ve çoğal-

masında önemi olduğunu kanıtlar niteliktedir.

5. Sonuç

SAOS-2 hücre tutunmalarına yönelik olarak numunelerde genel bir değerlendirme yapıldığında; 0.1 Ra pürüzlülüğe sahip yüzeylerde, 0.07 Ra pürüzlülüğe sahip yüzeylere kıyasla ilk 12 ve 24 saatte hücrelerin daha yoğun tutunduğu, birbirleriyle etkileşimlerinin daha iyi olduğu gözlenmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür. Ayrıca yapılan gözlemlere dayanarak 12 saatlik inkübasyon süreçleri göz önüne alındığında, hücrelerin pürüzlü yüzeylerde, birbirlerine daha kısa sürede daha iyi tutunduğu gözlenmiştir.

Bu çalışma ileride altın (Au) ve gümüş (Ag) gibi elementlerin iyon implantasyonu veya altın+oksijen (Au +O) ve gümüş+oksijen (Ag+O) metal-gaz hibrid iyon implantasyonu yapılarak tekrarlanabilir. Altının hücre tutunmasında ve çoğalmasında olumlu etkisi olduğu ve gümüşün antibakteriyel etki gösterdiği birçok çalışmada belirtilmektedir. Altın veya Altın+Oksijen iyon implantasyonu ile implant materyallerinin osteoblast hücre tutunması, çoğalmasına ve in vivo olarak osseointegrasyona etkisi incelenebilir. Gümüş implantasyonu ile de implant materyali üzerindeki antibakteriyel etki incelenebilir, implantın yine saf titanyum ya da alaşımlarından yapılan abutment kısmının gümüş implantasyonu ile in vivo çalışması yapılabilir böylece, bakteriyel etkilerden kaynaklı kemik resorpsiyonunu engellemeye yönelik etkisi incelenebilir.

6. Referanslar

- [1] A. Gallazo; J. J. Torres; V. Vargas and O. Vega Biomechanics of implants and dental materials, Applications of Engineering Mechanics 2004; 1-12
- [2] B.D. Ratner Dental implants, Biomaterial Science: An introduction to Materials in Medicine, (Eds.), Academic Press 1996; 2-3, 112-116.
- [3] H. Uzun ve F. Bayındır Dental uygulamalarda titanyum ve özellikleri Atatürk Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi 2009; 20-2, 213-220.

- [4] R.T. Rautray; R. Narayanan; T. Kwon and K. Kim Surface modification of titanium and titanium alloys by ion implantation Wiley Periodicals 2010; 581-584.
- [5] L.L. Guehenec; A. Soueidan; P. Layrolle and Y. Amouriq Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration Elsevier 2006; 23, 844-854.
- [6] C.N. Elias; Y. Oshida; J.H.C. Lima and C.A. Muller Relationship between surface properties (roughness, wettability and morphology) of titanium and dental implant removal torque Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials 2008; 234 - 242.
- [7] S.S. Hakkı ve S.A. Ertuğrul Dental implantların yüzey özellikleri ve osseointegrasyondaki önemi S.Ü. Dişhek. Fak. Derg. 2009; 18, 336-341.
- [8] Y.G. Güven ve K. Delikanlı Metalik biyomalzmelere son gelişmeler Timak 2006; 362-369.
- [9] M. Gümüşderelioğlu Biyomalzemeler Bilim ve Teknik Dergisi 2002; 1-23.
- [10] S.H. Teoh Introduction to biomaterials engineering and processing, Engineering Materials for Biomedical Applications (Eds.) World Scientific Publishing, 2004; 350.
- [11] D.J. Blackwood; K.W.H. Seah and S.H. Teoh Corrosion of metallic implants, Engineering Materials for Biomedical Applications (Eds.) World Scientific Publishing 2004; 104-350.
- [12] G. Ciapetti; D. Granchi; C.R. Arciola; E. Cenni; L. Savarino; S. Stea; L. Montanaro and A. Pizzoferrato In vitro testing of cytotoxicity of materials Biomaterials and Bioengineering Handbook Wise, D.L. (Ed.), Marcel Dekker 2003; 193- 920.
- [13] N. Adya; M. Alam; T. Ravindranath; A. Mubben and B. Saluja, Corrosion in titanium dental implants: literature review The Journal of Indian Prosthodontic Society 2005; 5 3, 126-131.
- [14] T. Hanawa; Y. Kamiura; S. Yamamoto; T. Kohgo; A. Amemiya; H. Ukai; K. Murakami and K. Asaoka Early bone formation around calcium-ion-implanted

John Wiley and Sons 1996; 36, 131–136.

[15] C.K. Dee; A.D. Puleo and R. Bizios An Introduction to Tissue-Biomaterial Interactions Willey-Liss Publications 2002; 251.

[16] A.B. Novaes; S.L. Souza; M.R.R. Barros; K.K.Y. Pereira; G. Iezzi and A. Piattelli Influence of implant surfaces on osseointegration Brazilian Dental Journal 2010; 21-6, 471-481.

[17] I. Braceras; J.I. Alava; L. Goikoetxea; M.A. de Maeztu and J.I. Onate Interaction of engineered surfaces with the living world: ion implantation vs. osseointegration Surface and Coatings Technology 2007; 201, 8091–8098.

[18] I. Braceras; J.I. Alava; J. I. Onate; M. Brizuela; A. Garcia-Luis; N. Garagorri; J.L. Viviente and M.A. de Maeztu Improved osseointegration in ion implantation-treated dental implants Elsevier 2002; 28–32.

[19] Z. Tek; A. Öztarhan and S. Selvi Characterization of Ti + N and Zr ion implanted 316L stainless steel Surface and Coatings Technology 2003; 8303-8307.

[20] Chaubey, A. and Burg, J. L. K. Cell-material interactions Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering, Wnek, G.E. and Bowlin, G.L. (Eds.) 2008; 3217.

