KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ELEKTRO-OPTİK SİSTEM MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

LAZERLE İMPLANT YÜZEYLERİN YAPILANDIRILMASI

TUBA İKİER

KOCAELİ 2014

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ELEKTRO-OPTİK SİSTEM MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

LAZERLE İMPLANT YÜZEYLERİN YAPILANDIRILMASI

TUBA İKİER

Doç.Dr. Elif KAÇAR
Danışman, Kocaeli Üniv. .....

Prof.Dr. Arif DEMİR
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv. .....

Prof.Dr. Kadir ESMER
Jüri Üyesi, Marmara Üniv. .....

Tezin Savunulduğu Tarih: 21.01.2014

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince, sabırla ve titizlikle verdiği tüm emeklerle, geleceğe yönelik kazandırdığı bilimsel bakış açısı ve gösterdiği hoşgörüden dolayı sayın hocam Doç. Dr. Elif KAÇAR'a teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen ve bilimsel çalışmalarımda fikirleri ile aydınlatan sayın hocam Prof. Dr. Arif DEMİR'e şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarımı gerçekleştirdiğim Lazer Teknolojileri Araştırma ve Uygulama Merkezinde, yardımlarını esirgemeyen hocalarım Doç. Dr. Ersin KAYAHAN, Yrd. Doç. Dr. Erhan AKMAN, Yrd. Doç. Dr. Belgin Genç ÖZTOPRAK, Araş. Gör. Pınar DEMİR, Öğr. Gör. Murat GÜNEŞ, Uzman Levent CANDAN ve Mesure MUTLU'ya ve desteklerini yanımda hissettiğim arkadaşlarıma saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen ve tüm imkanları ile çalışmamı hazırlamama yardımda bulunan Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın hocam Prof. Dr. Dilek URAL'a ve değerli hocalarım Dr. Gürler AKPINAR, Doç. Dr. Murat KASAP'a ve çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Halime KENAR'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen INM/CVD/Biyo-yüzeyler lideri Sayın Dr. O. Cenk AKTAŞ'a ve Dr. Çağrı Kaan AKKAN'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans tez çalışmamın 110M760 no'lu proje kapsamında gerçekleşmesini sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım süresince her türlü desteği esirgemeyen, bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan, bana olan güvenlerinden ve gösterdikleri sabırdan dolayı anneme, babama ve kardeşime teşekkür ederim.

Ocak-2014 Tuba İKİER

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR 1
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
TABLOLAR DİZİNİ viii
SİMGELER DİZİNİ ve KISALTMALAR ix
ÖZET x
ABSTRACT xi
GİRİŞ 1
1. LAZERLE YÜZEY YAPILANDIRMA 3
1.1. Lazerle Doğrudan Malzeme İşleme ve Yüzey Yapılandırma 4
1.2. Lazerle Periyodik Yapı Üreterek Yüzey Yapılandırma 7
1.2.1. Işık, iyon ya da elektronlar yardımıyla periyodik yapıların oluşturulması 9
1.2.2. Lazerler kullanılarak periyodik yapı oluşturma teknikleri 10
1.2.3. Lazerle girişim litografisi 11
1.2.4. Lazerle oluşturulan periyodik yüzey yapıları (LIPSs) 12
1.2.5. İki ışın girişim tekniği 13
1.3. Sonuç 15
2. LAZERLE İMPLANT MALZEME OLARAK KULLANILABİLEN Al_2O_3 KAPLI YÜZEYLERİN YAPILANDIRILMASI 16
2.1. İmplant Malzemelerde Lazerle Yüzey Yapılandırma 16
2.2. Femto-saniye Ti-Safir Lazerle Al/Al_2O_3 Kaplı Cam Yüzeylerin Yapılandırılması 18
2.2.1. İmplant malzeme yüzeyinde en uygun yapılandırma için femto-saniye lazer parametrelerinin belirlenmesi 20
2.3. Nano-saniye Nd:YAG Lazerle Al/Al_2O_3 Kaplı Cam Yüzeylerin Yapılandırılması……..28
2.4. İmplant Olarak Kullanılma Potansiyeli Olan Al_2O_3 Kaplı Cam Yüzeylerin Lazerle Yapılandırılması Sonucunda Yapılan Hücre Kültürü Çalışmaları……34
2.5. Sonuç……...36
3. NANO-SANİYE LAZER KULLANILARAK GELİŞTİRİLEN İKİ IŞIN GİRİŞİM TEKNİĞİYLE İMPLANT MALZEMELER ÜZERİNDE PERİYODİK YAPILARIN OLUŞTURULMASI……40
3.1. İki Işın Girişim Tekniği: Nd:YAG Lazer İle Michelson İnterferometre Sistemi……40
3.1.1. İşlenen yüzeylerin karakterizasyonu…… 39
3.2. İki Işın Girişim Tekniğiyle Periyodik Yapılandırma Parametreleri……...39
3.3. Al_2O_3 Kaplı Cam Malzemelerin İki Işın Girişim Tekniği İle İşlenmesi…….45

3.3.1. İki ışın girişim tekniği ile oluşturulan periyodik yapıların teorik incelemesi 49
3.3.2. İki ışın girişim tekniği ile yapılandırılan Al_2O_3 kaplı cam slaytlar üzerine hücre kültürü çalışmaları……51
3.4. İki Işın Girişim Tekniği İle Titanyum Üzerine Oluşturulan Periyodik Yapılar……56
3.5. Sonuç.....60
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER……61
KAYNAKLAR 63
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 68
ÖZGEÇMİŞ 69

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Lazerle a) delme [17], b) kesme [18] ve c) kaynak [19] işlemleri sonucunda oluşan yüzeyler 4
Şekil 1.2. Polimer filmi üzerine KrF excimer (210 mJ enerjide ve 300 s ışınlama zamanında) lazerle işlenmesi sonucu oluşan yüzey yapılarının görüntüleri [21] 5
Şekil 1.3. Yüksek şiddetli lazer atımı malzeme yüzeyine düşürüldüğünde gerçekleşen (a) erime, (b) buharlaşma ve (c) plazma oluşumu fiziksel süreçlerinin şematik gösterimi [16] 6
Şekil 1.4. a) Mikro-temas baskılama yönteminin işlem süreci, b) Mikro-transfer baskılama yönteminin işlem süreçleri. PDMS: polydimethysiloxane zar [25] 8
Şekil 1.5. Litografi yöntemini gösteren şema 10
Şekil 1.6. Lazerle girişim litografisi yöntemini gösteren deneysel düzenek [5] 11
Şekil 1.7. Lazerle oluşturulan periyodik yüzey yapıları (LIPSs) yönteminin teorik gösterimi [35] 12
Şekil 1.8. Lazerle oluşturulan periyodik yapı yöntemiyle (LIPS); polikarbonat yüzey (KrF lazerle 1000 atım, 10 mJ/cm^2) üzerinde oluşturulan periyodik yapılar [35] 12
Şekil 1.9. İki ışın girişim tekniği kullanılarak hazırlanan deneysel düzenek. Kısaltmalar; A1, A2, A3, A4: Aynalar, M1, M2: Mercekler, DB: Demet Bölücü, XYZ HS: XYZ Hareket Sistemi [14] 14
Şekil 1.10. İki ışın girişim tekniği kullanılarak Michelson interferometre sistemi yardımıyla periyodik yapıların oluşturulduğu deneysel düzeneğin şematik gösterimi [13]. Kısaltmalar; DB: Demet bölücü, M: Mercek, XYZ BKHS: XYZ Bilgisayar kontrollü hareket sistemi 15
Şekil 2.1. Yüzey üzerinde matris formunda spotlar oluşturmak amacıyla geliştirilen (a) tarama sisteminin şematik gösterimi, (b) deneysel sistem 19
Şekil 2.2. Gücü 100 mW'a ayarlanan Ti-Safir lazerle Al_2O_3 kaplı cam örnek üzerinde oluşturulan 150 µm aralıklı spotları içeren matrisin optik mikroskop görüntüsü 20
Şekil 2.3. Lazerle yüzey yapılandırma işlemi için hazırlanmış, yüzeyleri farklı yoğunluklarda Al_2O_3 kaplı cam numunelerin görüntüleri 21
Şekil 2.4. 800 mW güçte, 150 µm spot aralığında Ti-Safir lazerle Al_2O_3 kaplı cam malzeme üzerinde oluşturulan matris yapının elektron mikroskobu görüntüsü 22
Şekil 2.5. 800 mW güçte Ti-Safir lazerle işlenen ve 150 µm aralıklı spotların oluştuğu Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin (a) Elektron Mikroskobu görüntüsü, (b) Farklı büyütmede elektron mikroskobu görüntüsü, (c) Beyaz Işık İnterferometre görüntüsü 23

Şekil 2.6. Tablo 2.2'de verilen (a) A1-800 mW,(b) A2-700 mW, (c) A3-600 mW, (d) A4-500 mW, (e) B1-400 mW, (f) B2-300 mW, (g) B3-200 mW, (h) B4-100 mW lazer güçlerinde işlenen yüzeylere ait Elektron Mikroskobu görüntüleri (INM Enstitüsü Laboratuvarları) 25
Şekil 2.7. Tablo 2.2'de verilen (a) A1-800 mW, (b) B1-400 mW, (c) B3-200 mW, (d) B4-100 mW lazer güçlerinde işlenen yüzeylere ait Beyaz ışık interferometre görüntüleri (INM Enstitüsü Laboratuvarları) 26
Şekil 2.8. Hücre kültürü çalışmaları: (a) İşlenmemiş numune yüzeyine ekilmiş Endotel hücrelerinin, (b) 100 mW güçte, 150 µm aralıklı matris şeklinde işlenen numune yüzeyine ekilen Düz kas hücrelerinin mikroskop görüntüleri [49] 27
Şekil 2.9. Nano-saniye Nd:YAG lazer ve mikro mercek sistemi kullanılarak oluşturulan deneysel sistem 28
Şekil 2.10. 300 mW güç kullanılarak Nd:YAG nano saniye lazerle Al_2O_3 kaplı cam örnek üzerinde oluşturulan matris yapının optik mikroskop görüntüsü 28
Şekil 2.11. Tablo 2.3'de verilen özelliklerde işlenmiş numunelerin aynı büyütmede Elektron mikroskobu görüntüleri; (a) 100 mW, (b) 150 mW, (c) 200 mW ve (d) 250 mW lazer güçlerinde işlenmiş yüzeyler 29
Şekil 2.12. Tablo 2.3'de verilen 250 mW güçte işlenmiş (a) Orta yoğunlukta Al_2O_3 kaplı, (b) Yüksek yoğunlukta Al_2O_3 kaplı numunelerin Elektron mikroskobu görüntüleri 30
Şekil 2.13. Tablo 2.4'de verilen özelliklerde işlenmiş numunelerin aynı büyütmedeki Elektron mikroskobu görüntüleri; (a) 150 mW, (b) 190 mW, (c) 245 mW, (d) 300 mW, (e) 344 mW, (f) 390 mW, (g) 450 mW lazer güçlerinde işlenmiş yüzeyler 31
Şekil 2.15. 300 mW güçte, 150 µm aralıklı işlenmiş yüzeyin Elektron mikroskopu görüntüleri; (a) spotların yerleşimini gösteren görüntü, (b) a'daki görüntünün farklı büyütmedeki görüntüsü, (c) Yaklaşık 30-50 µm çaplı tek bir spotun görüntüsü 33
Şekil 2.16. 300 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam yüzeyin Elektron mikroskopu görüntüsü; (a) S1 ve S2 olarak iki alana ayrılmıştır. Bu alanlar, sırasıyla spotun iç kısmı ve spotun dış kısmını (işlenmemiş yüzey) göstermektedir. (b) S1 bölgesinin görüntüsü (Spotun merkezi) 33
Şekil 2.17. Kültür kabına ekilen a) HUVEC ve b) HUVSMC hücrelerinin faz kontrast mikroskobunda çekilmiş görüntüsü (10x) 34
Şekil 2.19. İşlenmiş ve işlenmemiş nano yüzeyler üzerinde büyüyen HUVEC hücreleri 36
Şekil 3.1. Deneysel düzeneğin şematik gösterimi. Kısaltmalar; A1(Ayna 1), A2 (Ayna 2), HA1 (Hareketli Ayna 1), HA2 (Hareketli Ayna 2), DB (Demet Bölücü) şeklindedir [53] 38
Şekil 3.2. 40 mW güçte, lazer kağıdı üzerinde deneysel sistemin ayarlanması sonucu oluşan optik mikroskop görüntüsü 40

Şekil 3.3. 0,08º açıda ve 40 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzemenin yüzeyinde oluşan saçakların optik mikroskop görüntüsü [53] 41
Şekil 3.4. 0,04º ayna açısında işlenmiş Al/Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin; (a) 0,4 yoğunluğa sahip filtre kullanıldığında, (b) 0,4 ve 0,2 yoğunluklu filtre kullanıldığında, (c) 0,4 ve 0,3 yoğunluklu filtre kullanıldığında, (d) 0,4, 0,3 ve 0,2 yoğunluklu filtre kullanıldığında alınan optik mikroskop görüntüleri 42
Şekil 3.5. 0.04º'de ve 36 mW güçte işlenmiş Al/Al_2O_3 kaplı cam malzemenin yüzeyinde oluşan periyodik yapıların bozukluklarını optik mikroskop görüntüsü 43
Şekil 3.6. İki demet bölücü kullanılan deneysel sistemde 0,08º'de ve farklı güçlerde işlenen yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri. Saçakların güç ve periyot değerleri, (a) 6,6 mW ve 16 µm, (b) 13 mW ve 16,64 µm, (c) 21,9 mW ve 16,96 µm, (d) 27,4 mW ve 16 µm 44
Şekil 3.7. 0,04º ayna açısında ve 40 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzeme yüzeyinin Elektron mikroskopu görüntüleri; (a) Oluşan periyodik yapılar, (b) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü, (c) a'daki görüntünün farklı büyütmedeki görüntüsü, (d) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü 46
Şekil 3.8. 0,08º ayna açısında ve 40 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzeme yüzeyinin Elektron mikroskopu görüntüleri; (a) Oluşan periyodik yapılar, (b) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü, (c) a'daki görüntünün farklı büyütmedeki görüntüsü, (d) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü 46
Şekil 3.9. 0,12º ayna açısında ve 55 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzeme yüzeyinin Elektron mikroskopu görüntüleri; (a) Oluşan periyodik yapılar, (b) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü, (c) a'daki görüntünün farklı büyütmedeki görüntüsü, (d) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü 47
Şekil 3.10. İki ışın girişim yöntemi ile işlenen Al_2O_3 kaplı cam slaytların yüzeyinde oluşan saçaklar. Ayna açısı ve periyotları sırasıyla; (a) 0,04º ve 26 µm, (b) 0,08º ve 21 µm, (c) 0,12º ve 16 µm. Alt sırada yer alan görüntüler; (a), (b), (c) ile (d), (e), (f) aynı özelliklerde ancak farklı büyütmedeki görüntüleri [53] 48
Şekil 3.11. Teorik olarak hesaplanan periyot değerlerinin ayna açılarına göre değişimi 50
Şekil 3.12. Kare maske ve iris kullanılarak oluşturulan sistemle işlenen Al_2O_3 kaplı cam slaytların periyotlarının açıya göre değişimi 51
Şekil 3.13. Yarısı ayna açısı 0,08º olan iki ışın girişim sistemi ile işlenmiş ve yarısı işlenmemiş Al_2O_3 kaplı cam numune yüzeyine ekilen hücrelerin görüntüleri (a) Numunenin hem periyodik yapılı bölgesini hem de lazerle işlenmemiş bölgesini içeren numune görüntüsü, (b) periyodik yapılı bölgede yerleşen hücreler ve (c) lazerle işlenmemiş bölgede yerleşen hücre görüntüleri [53] 53

Şekil 3.15. 0,04º; 0,08º; 0,12º'de işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzemenin yüzeyinde bulunan boyalı hücrelerin 10x büyütmede periyodik yapıların olduğu kısımdan çekilmiş floresan ve BF (Bright Field) görüntüleri [53] 54
Şekil 3.16. 0,04º; 0,08º; 0,12º'de işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin yüzeyinde bulunan boyalı hücrelerin 10x büyütmede işlenmiş ve işlenmemiş yüzeyinin ara bölgesinden alınmış floresan ve BF (Bright Field) görüntüleri [53] 55
Şekil 3.17. 0,04º; 0,08º; 0,12º'de işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin yüzeyinde bulunan boyalı hücrelerin 40x büyütmede periyodik yapılı kısımdan çekilmiş floresan ve BF (Bright Field) görüntüleri [53] 55
Şekil 3.18. 0,08º açıda (a) 96 mW, (b) 150 mW güçlerde işlenmiş titanyum yüzeyin optik mikroskop görüntüleri 56
Şekil 3.19. 0,12º açıda (a) 77 mW ve (b) 150 mW güçler ile işlenen titanyum yüzeylerin optik mikroskop görüntüleri 57
Şekil 3.20. 77 mW'da (a) 0,04º ve (b) 0,08º ayna açılarında işlenen titanyum yüzeyinin profilometre görüntüleri 58
Şekil 3.21. İşlenmiş titanyum yüzeyinde oluşan saçakların Elektron mikroskobu görüntüleri Ayna açıları ve periyotları; (a) 0,04º ve 26 µm, (b) 0,08º ve 21 µm, (c) 0,12º ve 16 µm, Farklı büyütmelerde, (d) 0,04º ve 26 µm, (e) 0,08º ve 21 µm, (f) 0,12º ve 16 µm 59
Şekil 3.22. İki ışın girişim tekniği ile titanyum yüzeyler üzerine gerçekleştirilen hücrelerin elektron mikroskobu görüntüleri. Ayna açıları ve güçler; (a) 0,04º ve 96 mW, (b) 0,08º ve 44 mW, (c) 0,12º ve 77 mW 59
Şekil 3.23. İki ışın girişim tekniği ile titanyum yüzeyler üzerine ekimi gerçekleştirilen hücrelerin çekirdeklerinin boyanması sonrasında alınan floresan mikroskobu görüntüleri. Ayna açıları ve güçler; (a) 0,04º ve 96 mW, (b) 0,08º ve 44 mW, (c) 0,12º ve 77 mW (Büyütmeler sırasıyla; 10x, 10x ve 40x) 59

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Periyodik yüzey yapıları oluşturma teknikleri 7
Tablo 2.1. Yüzeyleri Al_2O_3 kaplı cam numunelerin 800 nm dalga boylu fs-lazerle yapılandırılması için kullanılan deneysel parametreler (Burada HD: yüksek yoğunluklu, LD: Düşük Yoğunluklu kaplamayı gösterir) 21
Tablo 2.2. Yüzeyleri Al_2O_3 kaplanmış cam malzemelerin 150 µm aralıklı spotlar şeklinde işlenmesi için kullanılan Ti-Safir lazerinin güçleri 24
Tablo 2.3. Yüzeyleri Al_2O_3 kaplanmış cam malzemelerin işlenmesi için hazırlanan deney planı (HD: yüksek yoğunluklu, MD: orta yoğunluklu) 29
Tablo 2.4. Nano-saniye Nd:YAG lazer ve mikro mercek sistemi kullanılarak oluşturulan düzenek ile Al_2O_3 kaplı numuneleri yapılandırma parametreleri 30
Tablo 3.1. Deney sisteminde kullanılan filtre yoğunluklarına karşılık gelen güç değerleri 42
Tablo 3.2. Deneysel sistemde, aynalara (HA1 ve HA2) verilen açı θ değiştirilerek elde edilen yüzeylerin ölçülen periyodu d ve ölçülen kontak açıları [53] 48
Tablo 3.3. D merceğin üzerindeki iki ışın arası mesafe; θ aynalara verilen açı ve d periyot olmak üzere teorik ve deneysel periyot değerleri 50

SİMGELER DİZİNİ ve KISALTMALAR

d	: Periyot, (μm)
λ	: Dalga boyu,(nm)
α	: Odaklama lensinden sonra iki ışın arasındaki açı
D	: Mercek üzerine düşen iki ışın arasındaki mesafe, (mm)
θ	: Ayna açısı, (^{o})
Φ^o	: Kontak açısı

Kısaltmalar

BF	: Bright Field (Beyaz Işık Mikroskobu)
CCD	: Charge-Coupled Device (Yükle Birleştirilmiş Cihaz)
CDs	: Compact Disc (Kompakt Diskler)
CVD	: Chemical Vapor Deposition (Kimyasal Buhar Birikimi Yöntemi)
DEKART	: Kocaeli Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırmalar Merkezi
HUVEC	: Human Umblical Vein Endotel Cell (İnsan Göbek Bağı Veni Kaynaklı Endotel Hücreler)
HUVSMC	: Human Umblical Vein Smooth Muscel Cell (İnsan Göbek Bağı Veni Kaynaklı Düz Kas Hücreleri)
INM	: Leibniz-Institute for New Materials (Yeni Materyaller Enstitüsü, Saarland, Almanya)
kHz	: Kilo Hertz
KrF	: Kripton Florür
KOU MET	: Kocaeli Üniversitesi Metalurji Mühendisliği
LATARUM	: Lazer Teknolojileri Araştırma ve Uygulama Merkezi
LIL	: Laser Interference Lithography (Lazerle Girişim Litografisi)
LIPSs	: Laser Induced Periodic Surface Structure (Lazerle Oluşturulan Periyodik Yüzey Yapıları)
MEMs	: Mikro Elektro Mekanik Sistemler
Nd: YAG	: Neodymium-Doped Yttrium Aluminium Garnet (Neodim Katkılı İtriyum Alüminyum Garnet)
PBS	: Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Tuz)
PCD	: Department of Pediatric Cardiology (Pediatrik Kardiyoloji Bölümü)
PDMS	: Polydimethysiloxane Zar
SEM	: Scanning Electron Microscopy (Taramalı Elektron Mikroskobu)
TÜBİTAK	: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV	: Ultraviyole (Morötesi)

LAZERLE İMPLANT YÜZEYLERİN YAPILANDIRILMASI

ÖZET

İmplant malzemelerin yüzey topografisini değiştirmek hücre-implant etkileşiminde önemli rol oynamaktadır. Bu tezde, implant malzeme olarak kullanılma potansiyeline sahip Al_2O_3 kaplı cam slaytların ve Titanyum plakaların yüzeyleri lazerle yapılandırılmıştır. Bu yüzeyler iki farklı yöntem kullanılarak yapılandırıldı.

İlk olarak, Ti-Safir lazer ve Nd:YAG lazer kullanılarak Al_2O_3 kaplı cam slaytların yüzeyi matris formunda spotlar halinde yapılandırıldı. Elde edilen yüzeylerin analiz sonuçları değerlendirildiğinde, hem kaplaması zarar görmemiş hem de istenen nano ve mikro yapıları barındıran lazerle işlenmiş yüzey seçildi. Bu yüzeyler üzerine İnsan göbek bağı endotel (HUVEC: Human umbilical vein endothelial cell) hücreleri ekildi ve davranışları incelendi.

İkinci olarak; Michelson interferometre sistemi ve 532 nm dalga boylu nano-saniye Nd:YAG Lazer kullanılarak geliştirilen iki-ışın girişim yöntemi ile periyodik yüzey yapıları üretilmiştir. Al/Al_2O_3 iki-fazlı malzeme üzerinde oluşturulan bu saçakların periyotları kolaylıkla kontrol edilebilir. Farklı periyotlara sahip yüzeyleri içeren numuneler üzerine HUVEC hücreleri ekilerek işlenmiş ve işlenmemiş yüzeylerde hücrelerin davranışı incelenmiştir. İşlenmemiş yüzeyler ile karşılaştırıldığında, HUVEC hücrelerinin periyodik yapılar içeren yüzeylere daha iyi tutunduğu gözlenmiştir. Aynı yöntem ile Titanyum üzerinde de periyodik yüzeyler oluşturulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Hücre - İmplant Malzeme Etkileşimi, İki Işın Girişim Tekniği, Lazer İle Yüzey İşleme, Periyodik Yüzey Yapıları.

IMPLANT SURFACE MODIFICATION BY LASER

ABSTRACT

Change the surface topography of implant materials, plays an important role in cell implant interactions. In this thesis, the surface of the titanium plates and the Al_2O_3 coated glass slides which have potential to can used as the implant materials were structured by laser.

Firstly, the surface of the Al_2O_3 coated glass slides was structured as spots in matrix form using Ti-Sapphire laser and Nd:YAG laser. By evaluating of the analysis results of the obtained surfaces, the laser structured surface which has the desired nano-and micro-structures as well as undamaged coating was chosen. This surfaces were structured using two different methods. HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cell) cells were seeded on these surfaces and their behaviours were examined.

Secondly, periodic surface structure were produced by two-beam interference method developed using Michelson interference system and wavelength of the 532 nm laser. Period of these fringes produced on Al/Al_2O_3 bi-phasic materials can be easily controlled. HUVEC cells were seeded onto the structures having different grating periods, and behaviour of these cells were examined. HUVEC cells adheres more well on the surfaces containing periodic structures according to the untreated surfaces. With the same method, on titanium surfaces were also formed periodical structures.

Key Words: Cells - Implant Material Interaction, Two-Beam Interference Technique, Laser Surface Treatment, Periodic Surface Structures.

GİRİŞ

Son yıllarda, lazer kullanılarak malzeme yüzeylerinin işlenmesi, geleneksel yöntemlere göre oldukça tercih edilmektedir. Özellikle tıp alanında kullanılan stent gibi biyo-malzemelerin işlenmesinde lazerler kullanılmaktadır. Tez kapsamında ele alınan ve implant malzeme olarak kullanım potansiyeline sahip Al_2O_3 kaplı cam slaytların ve Grade 2 Titanyum plakaların yüzeyi iki farklı yöntem kullanılarak yapılandırıldı.

Deneysel çalışmalarda kullanılan Al/Al_2O_3 iki fazlı numuneler, bu tez çalışmasının desteklendiği TÜBİTAK 110M760 no'lu projesi kapsamında INM Enstitüsü tarafından kimyasal biriktirme yöntemi kullanılarak üretildi. Bu numuneler nano-boyutlu teller içermektedir. Bu nano-yapılı numuneler üzerine lazerle mikro yapılar oluşturulduğu takdirde implant olarak kullanılabilme potansiyeli artmaktadır. Bu malzemelerin yüzey yapılandırma işlemleri, iki farklı lazer ve iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirildi.

Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen yüzey yapılandırma işlemi için geliştirilen iki farklı deneysel sistemde iki farklı lazer kullanılmıştır. Ti-Safir lazer ve Nd:YAG lazer kullanılarak yüzeyi matris formunda spotlar halinde yapılandırılan Al_2O_3 kaplı cam slaytlar üzerine İnsan göbek bağı endotel (HUVEC: Human umbilical vein endothelial cell) hücrelerinin ekimi ve hücrelerin tutunma davranışlarına ilişkin çalışmalar yapıldı. Bu kapsamda hem kaplaması zarar görmemiş hem de istenen nano ve mikro yapıları barındıran lazerle işlenmiş implant yüzeyler üretildi.

İmplant malzeme yüzeyleri üzerinde periyodik yapıların üretimi için ise farklı bir yöntem kullanılarak deneysel sistem tasarlanmış ve gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, Michelson interferometre sistemi ve nanosaniye atım süreli Nd:YAG Lazer kullanılarak geliştirilen iki ışın girişim tekniğidir. Bu teknik kullanılarak implant yüzeyler üzerine periyodik yüzey yapıların üretimi gerçekleştirildi ve elde edilen bu periyodik yapılı implant yüzeyler üzerine ekilen HUVEC hücrelerinin tutunma davranışları incelendi.

Yapılan analizler sonucunda; lazerle oluşturulan periyodik yapılara sahip yüzeylerin HUVEC hücreleri tarafından tercih edildiği gözlemlendi. Bu tez çalışmasında Al_2O_3 kaplı cam slaytlar ve titanyum plakalar gibi implant olarak kullanılabilecek malzemelerin yüzey yapılandırılması için kullanılan bu teknik farklı implant malzemeler için de kullanılabilir. Ayrıca elde edilen bu periyodik yapılar sadece sağlık alanında değil, mikro elektronik sanayisinde ızgara (grating) üretim sanayisinde de kullanılabilir özelliklere sahiptir.

1. LAZERLE YÜZEY YAPILANDIRMA

Yüzey özellikleri değiştirilen malzemeler, birçok farklı alanda kullanılmaktadır. Malzemelerin yüzeyinde oluşturulan mikro ve nano yapılar malzemenin kimyasal ve topografik özelliklerini değiştirir ve verimliliğini arttırır. Yüzey yapılandırma için kullanılan birçok yöntem vardır. Bu yöntemlerden bazıları; elektrokimyasal işleme [1], plazma işleme [2], titanyum plazma sprey [3] ve lazerle işlemedir [4-11]. Lazerle işleme, malzeme yüzeyinde uygun yüzey topografisi sağlaması ve daha az yüzey kirliliği oluşturması açısından diğer yöntemlere göre daha yaygın kullanılmaktadır [3].

Lazerle malzeme işlenmesi sonucu malzeme yüzeyinde mikro ve nano boyutlu yapılar oluşturulmaktadır. Bu yapılar, matris şeklinde spot, düzenli periyodik saçaklar veya belirli bir düzene sahip olmayan periyodik yapılar şeklindedir. Yüzeylerin lazerle işlenerek bu tip yapıların oluşması için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlere, Lazerle doğrudan işleme [6], lazerle girişim litografisi [5, 7, 12], iki ışın girişim tekniği [13, 14] ve LIPSs (Lazerle Oluşturulmuş Periyodik Yüzey Yapıları) [4, 8, 9] örnek verilebilir. Bu yöntemler kullanılarak farklı amaçlar için kullanılan birçok malzeme işlenebilir. Özellikle sağlık alanında kullanılan titanyum, çelik ve Al_2O_3 kaplı cam gibi biyo-uyumlu malzemeler, yüzeylerinde oluşturulan mikro ve nanoyapılar [9, 12, 15] sayesinde daha verimli implant malzemeler olarak kullanılabilirler.

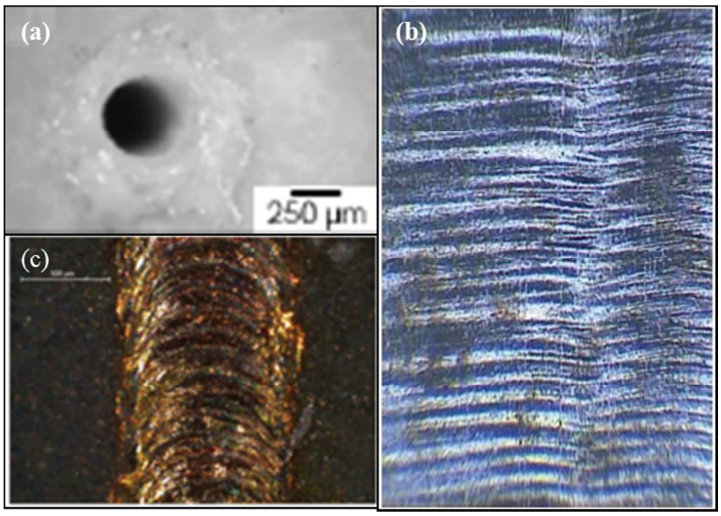
Bu bölümde; lazerlerle doğrudan malzeme işlenerek hedef üzerinde mikro ve nano yapıların oluşturulması ile lazerle mikro ve nano boyutlu periyodik yapı üretimi yöntemleri üzerine literatür bilgisine yer verilmiştir.

1.1. Lazerle Doğrudan Malzeme İşleme ve Yüzey Yapılandırma

Lazerle doğrudan malzeme işleme, lazer demetinin optik sistemler kullanılarak doğrudan hedef yüzeyine gönderilmesi sonucu meydana gelen değişimleri içerir. Lazerler, farklı malzemeler üzerinde kesme, delme, kaynak ve yüzey yapılandırması gibi birçok uygulamaya sahiptirler. Malzeme işlemede özellikle lazerlerin tercih edilme sebepleri; yüksek işlem hızı, düşük ısısal zarar, yüksek derinlik/genişlik oranı ve temiz işlem ortaya çıkarmasıdır [16].

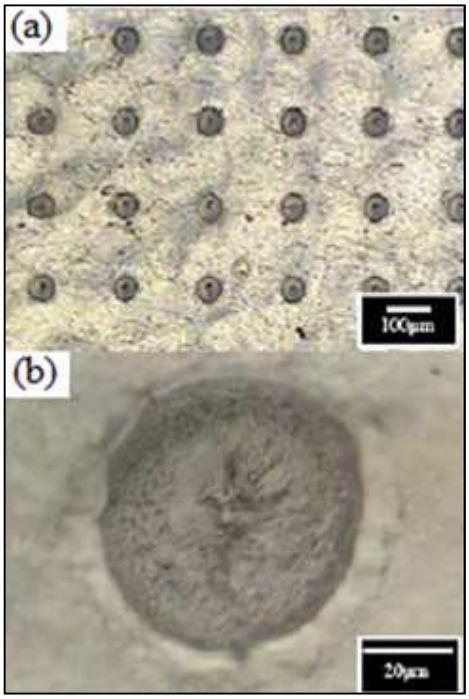
Lazerle kesme; ısıdan etkilenmiş bölgeyi küçülten ve malzeme yüzeyinde oluşabilecek bozuklukları en aza indiren bir yöntemdir. Havacılık, mikro mekanik, mikro elektronik ve otomotiv endüstrilerinde yaygın olarak kullanılır. Lazerle delme ise mikron boyutunda delik delmeye elverişli olduğundan diğer yöntemlere kıyasla daha çok tercih edilir [16].

Lazerler kullanılarak malzemelerin kaynak yoluyla birleştirilmesi; otomotiv, uzay ve gemicilik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer kaynak tekniklerine göre lazerle aynı veya farklı malzemeler yüksek kalitede birleştirilir, kaynak genişliği dardır ve ısıdan etkilenmiş bölge küçüktür [16].



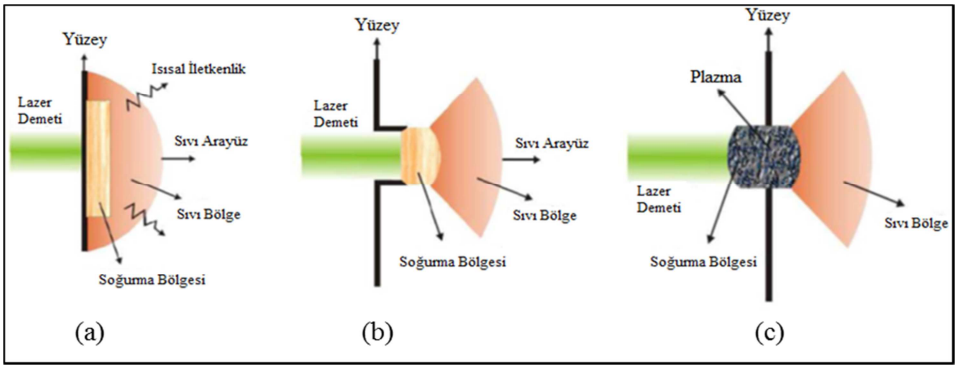
Şekil 1.1. Lazerle a) delme [17], b) kesme [18] ve c) kaynak [19] işlemleri sonucunda oluşan yüzeyler

Lazerle yüzey yapılandırma işlemi sağlık alanında kullanılan titanyum implantlarda [20], doku mühendisliğinde poli zarlarda [21] ve 3D bilgi depolama [22], optik dalga kılavuzu üretimi [22] gibi oldukça geniş uygulama alanına sahiptir. Lazerle yüzey yapılandırması, uygun yüzey topografisi, yüzeye bulaşmanın çok az olması ve karmaşık şekillere de uygulanıyor olması sebebiyle diğer kimyasal ve fiziksel yöntemlere göre daha avantajlıdır [4]. Klasik kimyasal yöntemler kullanılarak hassas yüzey işlemek çok zordur ve işlem sonucunda yüzeyde kirlilik oluşabilir. Ayrıca daha önemlisi malzemenin hacim özelliğinde değişiklikler görülebilir. Bu nedenle özellikle polimer [21] ve implant yüzeylerin işlenmesinde [3] lazerlerin kullanımı tercih edilmektedir. Şekil 1.2'de polimer filmin üzerine KrF excimer lazer ile işlenen yüzey yapıları görülmektedir [21].



Şekil 1.2. Polimer filmi üzerine KrF excimer (210 mJ enerjide ve 300 s ışınlama zamanında) lazerle işlenmesi sonucu oluşan yüzey yapılarının görüntüleri [21]

Lazerlerle yüzey yapılandırma sırasında, yüzey tarafından soğurulan ışın malzemenin erimesi, buharlaşması ve plazma oluşumu gibi fiziksel olaylar gerçekleşir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Yüksek şiddetli lazer atımı malzeme yüzeyine düşürüldüğünde gerçekleşen (a) erime, (b) buharlaşma ve (c) plazma oluşumu fiziksel süreçlerinin şematik gösterimi [16]

Yüzey üzerine düşürülen lazer demeti, öncelikle ısı enerjisi olarak yüzey tarafından depolanır ve ısısal iletkenlik sayesinde malzeme içine nüfuz eder. Şekil 1.3'de görüldüğü gibi yüzey erime sıcaklığına ulaşıldığında malzeme üzerinde sıvı bir ara yüzey oluşur ve bu sayede ısı malzeme içerisine yayılmaya başlar. Şekil 1.3b'de yüzey üzerine ışımanın devam etmesi sonucunda işlem bölgesinde buharlaşma gerçekleştiği görülmektedir. Şekil 1.3c'de ise yeteri kadar güçlü ışıma gerçekleştiğinde buharlaşan eriyik, malzeme içinde plazma veya iyonlaşmış gaz bulutu oluşmasına neden olduğu gösterilmektedir [16].

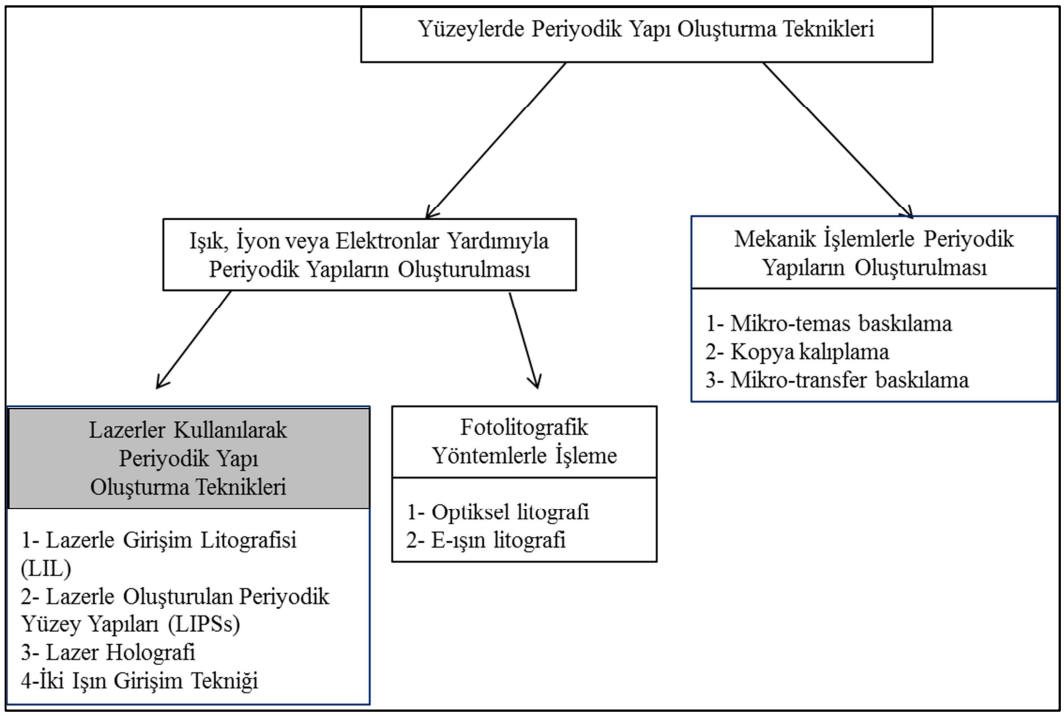
Malzeme çeşidine bağlı olarak lazer özelliklerinde değişiklikler görülmektedir. Geçmiş yıllarda yüzey işleme işlemleri için uzun atımlı nano-saniye Nd:YAG lazer [5-7], nano-saniye excimer lazerler [10], piko-saniye Nd:YAG lazer [8], sub-pikosaniye excimer lazerler kullanılmaktaydı [11]. Günümüzde kısa atım uzunluğuna sahip femto-saniye lazerler kullanılarak düşük termal etki ve yüksek hassasiyetle yüzey yapılandırması yapılabilmektedir [22]. Ayrıca femto-saniye lazerler, ışınlanan bölgenin etrafında daha az miktarda bulaşma (kirlilik) oluştuğundan diğer lazerlere göre avantajlıdır [4].

1.2. Lazerle Periyodik Yapı Üreterek Yüzey Yapılandırma

Yüzeylerinde mikro ve nano yapılar oluşturulan malzemeler, endüstriden sağlık alanına kadar birçok alanda kullanılmaktadır. Bu mikro ve nano yapıların periyodik olması ise; bu malzemelerin mühendislik alanında mikro-elektronik devrelerde [23], sağlık alanında implant yüzeylerde kullanılabilir olmasını sağlar [12]. Bu bölümde, malzeme yüzeylerinde periyodik yapılar üretmek için kullanılan yöntemler irdelenecektir.

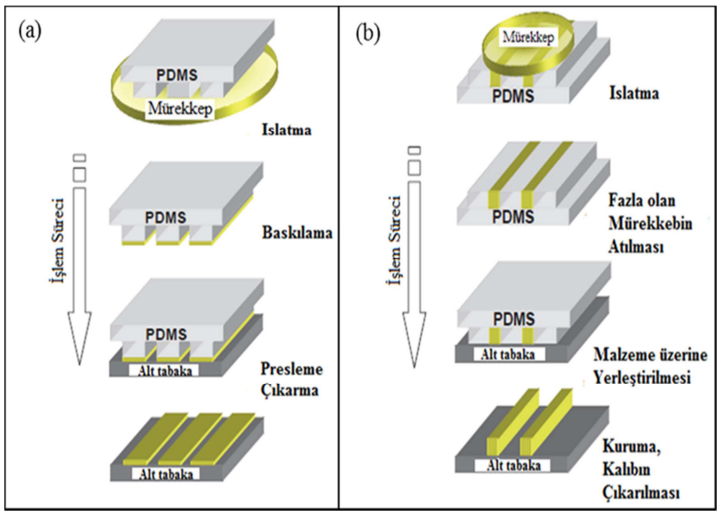
Malzeme yüzeyi üzerinde periyodik yapı oluşturma teknikleri iki gruba ayrılabilir [23]. İlk grupta, mekanik işlemler yardımıyla periyodik yapı oluşturma teknikleri yani, litografik olmayan yöntemler yer alır [23]. İkinci grupta ise ışık, iyon veya elektronlar yardımıyla periyodik yapı oluşturma teknikleri vardır. Tablo 1.1'de periyodik yüzey yapıları oluşturma teknikleri görülmektedir.

Tablo 1.1. Periyodik yüzey yapıları oluşturma teknikleri



Tablo 1.1'de görüldüğü gibi mekanik işlemler yardımıyla periyodik yapı oluşturma tekniklerinde kalıplama ve baskılama gibi mekanik işlemler kullanılmaktadır [23]. Geleneksel litografi olarak da adlandırılan grupta kullanılan tekniklerden bazıları mikro-temas baskılama, kopya kalıplama ve mikro-transfer baskılama olarak verilebilir. Bu yöntemler; düşük termal etki, ucuz maliyet ve geniş alanı tarama özelliğine sahip olması açısından kullanışlıdır. Ancak malzemenin bir dizi işlemden geçirilmesi, işlem sürecinin uzun olması sonucunda zaman kaybı ve özelleştirilmiş örnek yüzeye ihtiyaç duyması, yöntemlerin dezavantajlarıdır [24].

Mikro-temas baskılama yönteminde [25], malzeme yüzeyinde periyodik yüzey yapıları oluşturmak için birkaç işlemden yararlanılır (Şekil 1.4a). Öncelikle örnek yüzeyin kabartmalı olan kısmı sıvı içine daldırılır. Sıvıdan çıkarıldığında kabartmalar üzerine sıvı baskılanmış olur ve doğrudan malzeme yüzeyine preslenir. Örnek yüzey çıkartıldığında malzeme üzerinde periyodik yapılar oluşur.



Şekil 1.4. a) Mikro-temas baskılama yönteminin işlem süreci, b) Mikro-transfer baskılama yönteminin işlem süreçleri. PDMS: polydimethysiloxane zar [25]

Bu yöntem kullanılarak biyolojik molekül ve proteinlerde [26, 27], metal oksit veya seramik parçalarında [28, 29] mikro ve nano boyutlu yapılar üretilebilir.

Kopya kalıplama yöntemi, örnek yüzeyin kopyalanması esasına dayanır. Bu yöntem kullanılarak çok karmaşık yapılar üzerinde sağlam, ucuz ve kolay bir şekilde nanometre boyutunda periyodik yapılar üretilir. Fotolitografik yöntemlerle kopyalanamayan bazı üç boyutlu yapıların bu yöntem kullanılarak kolaylıkla kopyalanabilir. Bazı ızgaralar (gratingler), Kompakt diskler (CDs) ve mikro boyutlu cihazların üretiminde kullanılmaktadır [23].

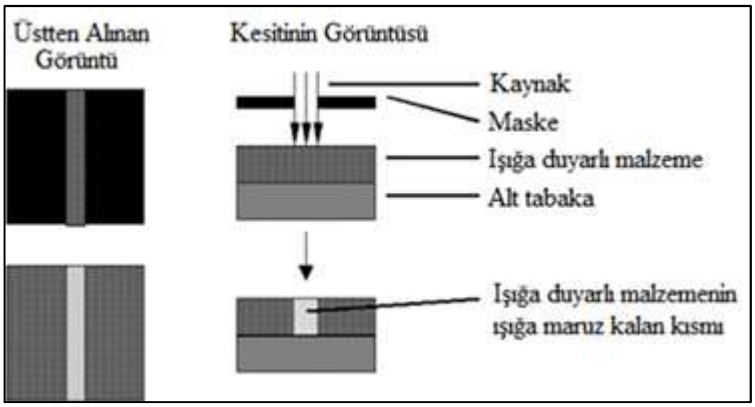
Mikro-transfer baskılama yönteminde, sıvı mürekkep bulunan bir ince film yumuşak kalıbın saçaklarına (yüzeyinde bulunan oluk şeklindeki periyodik yapılar) doldurulur, kalıbın üzerindeki fazla mürekkep düz bir cam slayt yardımıyla atılır ve dolu olan kalıp malzeme üzerine depolanır. Kuruduktan sonra kalıp çıkarılır ve böylelikle yüzeyde periyodik yapılar oluşturulur (Şekil 1.4b).

Bu yöntemle daha çok polimerik malzemeler üzerinde periyodik yapılar oluşturulurken; metaller üzerinde ve protein gibi biyolojik malzemeler üzerinde periyodik yapılar üretilir [30-33]. Mikro-transfer baskılama yöntemi yardımıyla 10 µm kadar küçük boyutlu periyodik saçaklar ince filmler üzerine üretilir. Yöntemin dezavantajı işlem sürecinin uzun olmasıdır, avantajı ise kullanılan cihazların maliyetinin düşük olmasıdır [25].

1.2.1. Işık, iyon ya da elektronlar yardımıyla periyodik yapıların oluşturulması

Geleneksel yöntemler kullanılarak periyodik yapıların üretimi haricinde ışık, elektron veya iyonlardan yararlanılan yöntemlerle de periyodik yapılar üretilebilmektedir. Bu grup kendi içinde fotolitografik yöntemler ve lazerle periyodik yapı oluşturma teknikleri olmak üzere ikiye ayrılır. Fotolitografik yöntemlerden bazıları; optiksel litografi ve elektron-ışın litografisidir [23]. Bu yöntemlerde mor ötesi (UV) ışın kaynağı kullanılarak düzenli periyodik yapılar oluşturulur [23].

Litografi, özellikle mikro-elektro-mekanik sistemlerde (MEMS), ışık gibi radyasyon kaynağı yardımıyla ışığa duyarlı malzeme üzerine periyodik yapıların transferi yöntemidir [34]. Işığın maskeden geçirilmesiyle malzemenin ışığa maruz kalan kısmının fiziksel özelliği değişir. Böylelikle malzeme yüzeyine periyodik yapıların transferi sağlanmış olur.



Şekil 1.5. Litografi yöntemini gösteren şema

Optik litografi yönteminde, görünür bölgedeki ışınlardan yararlanılır ancak özel boyutlu yapıları oluşturmak için daha kısa dalga boylu mor ötesi ışınlardan yararlanılır. Bu yöntem, bir ışık kaynağı ve foto-maske kullanılarak malzeme üzerine periyodik yapıların maske ile yansıtılması işlemini içerir. Genellikle maske olarak cam kullanılır. Malzeme yüzeyinde periyodik yapı oluşturulduktan sonra bir çözelti yardımıyla oluşan bölgeyi ikiye ayırır. Çeşitli işlemlerden geçirildikten sonra malzeme yüzeyinde periyodik yapılar üretilir [23].

Elektron-ışın litografi tekniği, prototip geliştirmek için uygundur ve maske kullanılmasına gerek yoktur. Malzemenin cinsine, ışık kaynağına bağlı olarak fiziksel ve kimyasal işlemleri içerir. Diğer nano-yapılı yüzeyler oluşturan yöntemlerle karşılaştırıldığında, bu yöntem esnekliği ve uygun patern hızı ile yüksek kararlılığın birleşiminden oluşmuştur [23].

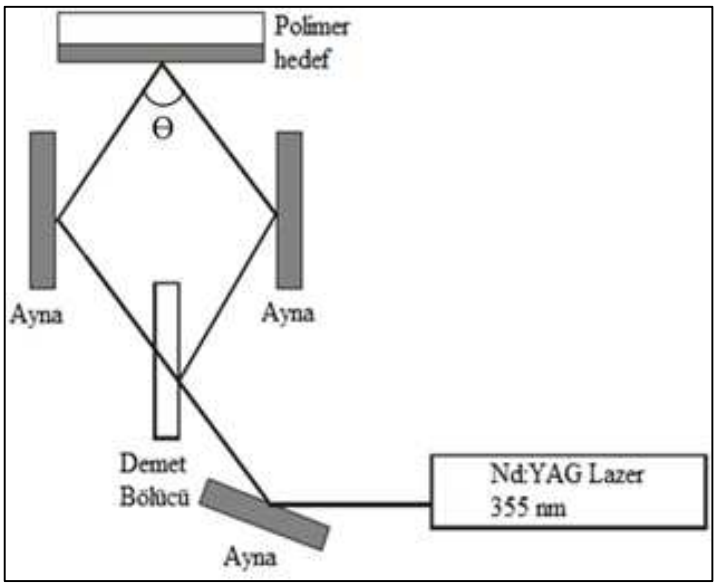
1.2.2. Lazerler kullanılarak periyodik yapı oluşturma teknikleri

Lazerle periyodik yapı üretme teknikleri kendi içinde farklı yöntemler barındırır. Bunlardan bazıları Tablo 1.1'de verildiği gibi; lazerle girişim litografisi (LIL), lazerle oluşturulan periyodik yüzey yapıları (LIPSs), lazer holografi ve iki ışın girişim tekniğidir.

Lazer holografi yöntemiyle periyodik yapıların üretiminde iki ve daha çok ışının girişiminden yararlanılır. Hızlı üretme (saniyelerde) ve yüksek tasarım rahatlığında sınır yoktur. Yöntemde kullanılan deneysel sistemde bir maskeden yararlanılarak lazer ışınlarının malzeme üzerinde periyodik yapıların oluşturması sağlanır. Sistemin basitliği yöntemin avantajıdır. Fotonik kristal üretiminde [23], kırınım ızgaralarında (gratinglerde) [23] ve anti-reflection kaplamalarda [23] kullanılır.

1.2.3. Lazerle girişim litografisi

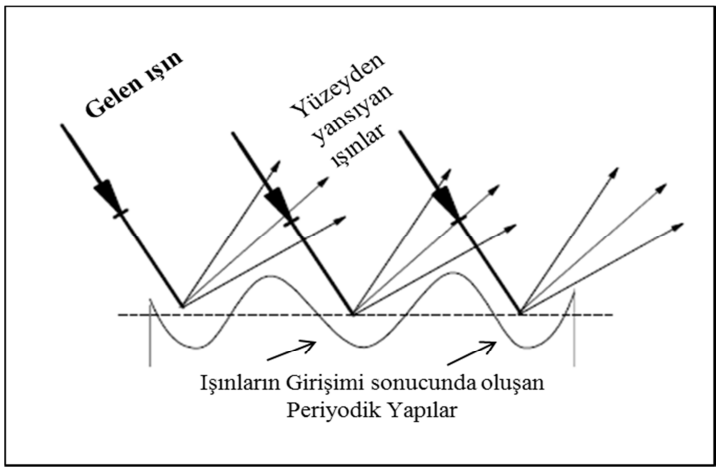
Lazerle girişim litografisi tekniğinde, kaynaktan çıkan lazer demeti bir demet bölücü yardımıyla ikiye ayrılır ve elde edilen iki ışın aynalar yardımıyla hedefe odaklanır. Böylelikle hedefte iki ışının girişimi sonucu periyodik saçaklar üretilir ve saçakların periyodu hedefte iki ışın arasındaki θ açısının değişimine bağlıdır (Şekil 1.6). Bu yöntem kullanılarak polimer [5], Al_2O_3 kaplı cam slaytlar [12] gibi çeşitli malzemeler üzerinde mikron boyutunda periyodik saçaklar üretilir.



Şekil 1.6. Lazerle girişim litografisi yöntemini gösteren deneysel düzenek [5]

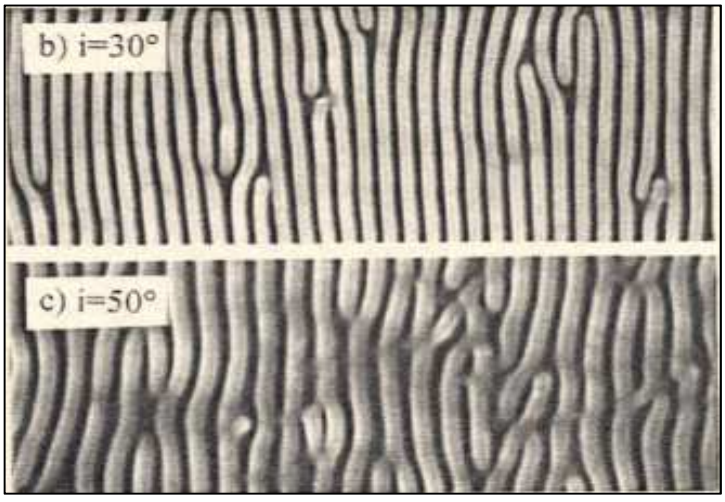
1.2.4. Lazerle oluşturulan periyodik yüzey yapıları (LIPSs)

Lazerle oluşturulan periyodik yüzey yapıları (LIPSs) olarak adlandırılan yöntem kullanılarak periyodik yapılar oluşturulabilir. Bu yöntemde, lazer kaynağından gelen dalgalar ile yüzeyden saçılan veya uyarılmış dalgalar arasındaki girişim sonucu periyodik yapılar oluşur (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Lazerle oluşturulan periyodik yüzey yapıları (LIPSs) yönteminin teorik gösterimi [35]

Ancak yöntem bazı dezavantajlara sahiptir. Çok sayıda lazer atımına ihtiyaç vardır ve oluşan periyodik yapılar düzenli değildir [35]. Bu nedenle Şekil 1.8'de görüldüğü gibi, aynı periyotta tekrar eden yapılar oluşturmak zordur.



Şekil 1.8. Lazerle oluşturulan periyodik yapı yöntemiyle (LIPS); polikarbonat yüzey (KrF lazerle 1000 atım, 10 mJ/cm^2) üzerinde oluşturulan periyodik yapılar [35]

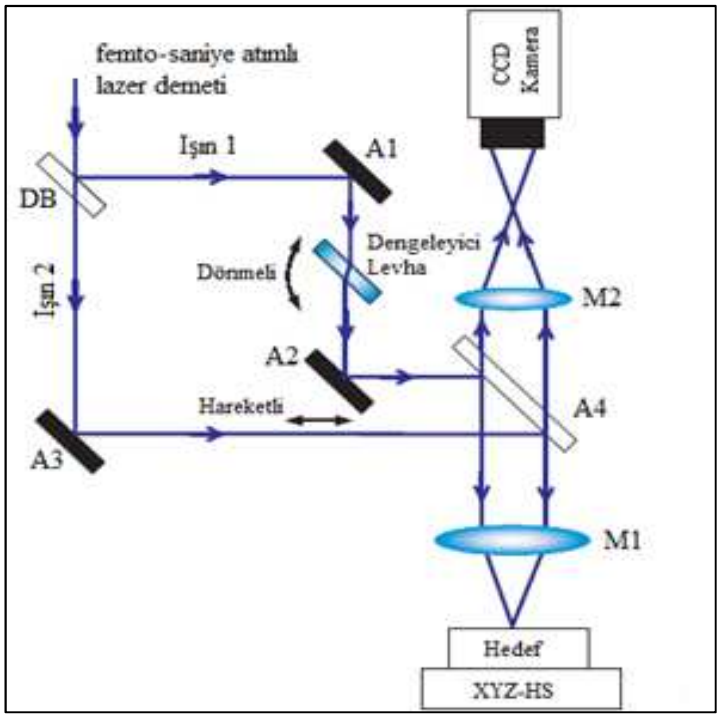
Lazer girişim litografisi yöntemi ile LIPS yöntemi karşılaştırıldığında, lazer girişim litografisi (LIL) yöntemi kullanılarak mikron boyutlu periyotlara sahip düzenli yapılar elde edilir ve çok sayıda lazer atımına ihtiyaç yoktur.

1.2.5. İki ışın girişim tekniği

Malzeme yüzeyleri üzerinde, periyodik yapılar üretmek için İki ışın girişim tekniği yaygın olarak kullanılmaktadır [13, 14, 36-38]. Bu tekniğe göre; bir kaynaktan çıkan ışın demeti, ışın bölücü tarafından ikiye ayrılır. Sonrasında iki ışının uzay ve zamanı çakıştığında girişim oluştururlar. Bu yöntemde, iki ışının girişimi için Mach-Zehnder interferometresi [14], Michelson interferometresi [13] gibi çeşitli interferometre sistemlerinden yararlanılmaktadır.

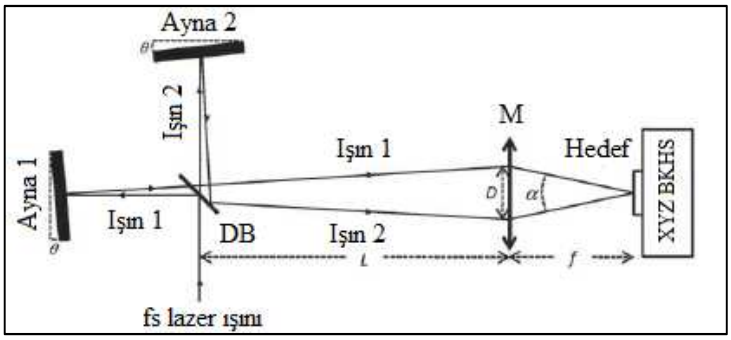
Kawamura ve arkadaşları iki ışın girişim yöntemini kullanarak ızgaralı yapıların (grating) üretimini gerçekleştirmişler [36-38]. Çalışmalarında kullandıkları femto-saniye atımlı lazer kaynağından çıkan ışın demeti, demet bölücü yardımıyla iki ışına ayrılmış. Bu iki ışın aynalar yardımıyla toplanmış ve iki mercek kullanılarak hedef üzerine gönderilmiştir. Kullanılan bu sistemin dezavantajı, hedef üzerindeki aynı spota iki ışını eş zamanlı olarak odaklamak için mercekleri ayarlamaktır [14].

Şekil 1.9'da Venkatarishnan ve arkadaşlarının periyodik yüzey yapıları üretmek için kullandıkları deneysel sistem görülmektedir. Bu sistem, Kawamura ve arkadaşlarının kullandıkları sistemin zorluklarını gidermek için tasarlanmıştır [14]. Mach-Zehnder interferometresine benzer bir sistem kullanılarak ve femto-saniye atımlı lazer ile oluşturulan sistemde bir mercek yardımıyla iki ışının hedefe odaklanması sağlanmış. Ancak iki ışının optik yolunu eşitlemek için dengeleyici levha kullanılmıştır. Ayrıca periyotları değiştirmek için sistemde bulunan A2 aynasını hareket ettirmek gereklidir. A2 aynasının her hareketinde dengeleyici levhayı da ayarlamak gerekmektedir. Işınların birbirlerine paralel olduğunu yani aynı spotta çakıştıklarını görüntülemek için bir CCD kameradan yararlanılmıştır [14].



Şekil 1.9. İki ışın girişim tekniği kullanılarak hazırlanan deneysel düzenek. Kısaltmalar; A1, A2, A3, A4: Aynalar, M1, M2: Mercekler, DB: Demet Bölücü, XYZ HS: XYZ Hareket Sistemi [14]

Şekil 1.10'da İki ışın girişim tekniği kullanılarak periyodik yapı üretimi için Michelson interferometre sisteminden yararlanılmıştır. Oliveira ve arkadaşlarının tasarladığı bu sistem sayesinde Venkatarishnan ve arkadaşlarının kullandığı sistemdeki zorluklar giderilmiştir [13]. Bu sistem de optik yol farkı, iki ışın arasındaki mesafeden bağımsız haldedir. Bu nedenle, dengeleyici levha'ya ihtiyaç yoktur ve zaman çakışması kızılötesi görüntüleyici kart ile görüntülenmiştir [13]. Burada periyodu değiştirmek için aynaların aynı ayna açısında döndürülmesi gerekir ve böylece mercek üzerine düşen iki ışın arasındaki D mesafesi değiştirilir. D mesafesinin değişimi sonucunda hedef üzerindeki ışınlar arası açı değişir ve bu sayede hedef yüzeyi üzerinde farklı periyotlara sahip periyodik yapılar elde edilir (Şekil 1.10).



Şekil 1.10. İki ışın girişim tekniği kullanılarak Michelson interferometre sistemi yardımıyla periyodik yapıların oluşturulduğu deneysel düzeneğin şematik gösterimi [13]. Kısaltmalar; DB: Demet bölücü, M: Mercek, XYZ BKHS: XYZ Bilgisayar kontrollü hareket sistemi

İki ışın girişim tekniği, özellikle ızgaralı yapıların (grating) üretimi [14, 39] gibi bazı farklı alanlarda kullanılmaktadır. Bu yöntemde kullanılan düzenekle malzemenin su sevme gibi yüzeysel özellikleri ve oluşturulan periyodik yapıların periyotları kontrol edilebilir [13].

1.3. Sonuç

Lazerle doğrudan işleme yöntemi ile malzeme kesme, delme, kaynak ve yüzey yapılandırma işlemleri gerçekleştirilmektedir. Bu işlemlerde lazer kullanılmasının nedenleri; yüksek işlem hızı, düşük ısısal zarar, yüksek derinlik/genişlik oranı ve temiz işlem ortaya çıkarmasıdır [16]. Yüzey yapılandırma işlemlerinde özellikle sağlık alanında kullanılan stent gibi implant malzemelerin yüzeyinin işlenmesinde lazerlerin kullanılması önemlidir. Çünkü klasik kimyasal yöntemler, yüzey kirliliğine ve malzemenin hacminin değişmesine neden olmaktadır.

Işığın girişimi sayesinde periyodik yapılar üretilmektedir. LIPSs yönteminde özel olarak gelen ışın ile yüzeyden saçılan ışının girişiminden yararlanılırken diğer lazer kullanılan yöntemlerde bir demet bölücü ile ikiye ayrılan ışının hedef üzerinde girişime uğraması sonucunda periyodik yüzey yapıları elde edilir. LIPSs yöntemi ile çok atımda düzensiz yapılar oluşturulurken diğer lazer kullanılan yöntemlerde tek atımla düzenli periyodik yapılar oluşturulmaktadır. Bu tez çalışmasında, burada verilen lazer kullanılarak periyodik yapı üretimi yöntemlerinden biri olan ve Michelson interferometresine dayalı iki demet girişimi yöntemi kullanıldı.

2. LAZERLE İMPLANT MALZEME OLARAK KULLANILABİLEN Al_2O_3 KAPLI YÜZEYLERİN YAPILANDIRILMASI

Malzemelerin yüzey yapılarının değiştirilmesi, amaç doğrultusunda malzeme verimliliğini arttırır. Yüzeyde oluşturulan mikro ve nano yapılar malzemelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirerek malzemelerin birçok alanda kullanımına olanak sağlar. Yüzey yapılandırılması için, Bölüm 1'de bahsedilen fiziksel ve kimyasal teknikler kullanılmaktadır. Ancak implant olarak kullanılan titanyum gibi biyo-malzeme yüzeylerinin, lazer kullanılarak yapılandırılması; uygun yüzey topografisi, yüzeye bulaşmanın çok az olması ve karmaşık şekillere de uygulanıyor olması sebebiyle diğer fiziksel ve kimyasal yöntemlere göre daha kullanışlıdır [4].

Çalışmanın bu bölümünde; hem femto-saniye lazer hem de nano-saniye lazer kullanılarak, implant malzeme olarak kullanılabilme potansiyeli olan, Al/Al_2O_3 çift-fazlı tabakaların yüzeyinde oluşturulan mikro ve nano yapıların hücre ile etkileşimi incelendi. INM enstitüsünde Kimyasal buhar biriktirme yöntemi (CVD) ile üretilmiş numuneler nano-boyutlu teller içermektedir. Bu nano-yapılı numuneler üzerine lazerle mikro yapılar oluşturulduğu takdirde implant olarak kullanılabilme potansiyeli artmaktadır. Lazerle oluşturulan mikro ve nano yapılar üzerine endotel ve düz kas hücreleri ekilerek hücrelerin yüzeye tutunma ve çoğalma davranışları incelendi.

2.1. İmplant Malzemelerde Lazerle Yüzey Yapılandırma

Lazer ile yüzey işlemede lazer ışını, üzerine düşürülen hedef tarafından soğurulmakta veya yansıtılmaktadır. Soğurulan ışın malzemede erime ve buharlaşmaya neden olur. Bu fiziksel süreçleri ve malzemenin özellikleri lazerle malzeme işleme sınırlarını belirler.

Yüzey yapılandırması için uzun atımlı nano-saniye Nd:YAG lazer [5], nano-saniye excimer lazerler [10], pikosaniye Nd:YAG lazer [8] ve alt-pikosaniye excimer lazerler [11] ve femto-saniye lazerler [4] kullanılmaktadır. Bunların arasında femto-saniye lazerin avantajları diğer lazerlere göre daha yüksek hassasiyet, ısı ile etkileşen bölgenin küçük olması ve etrafa bulaşmanın (contamination) az olmasıdır.

Yüzeylerin lazerle yapılandırılması, mikro-elektronik [23], grating üretimi [14, 39], 3D bilgi depolama [22], optik dalga kılavuzu üretimi [22] gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle sağlık alanında kullanılan stent gibi implant malzemelerin yapılandırılması için lazerlerin kullanımı tercih edilen bir yöntemdir. Lazerle implant malzemelerin işlenmesi, malzeme yüzeyinde mikro ve nano yapılar oluşmasını sağlar. Yüzey topografisindeki bu değişim, hücrelerin yüzeye tutunmasını ve çoğalmasını sağlar.

Doğuştan ya da sonradan kalp rahatsızlıklarına yakalanmış hastalarda, kullanılan implant malzemelerin biyo-uyumluluğunu arttırmak gerekir. İmplant malzemelerin yüzey topografisi ve yüzey kimyası değiştirilerek malzemenin biyo-uyumluluğu arttırılabilir [40, 41].

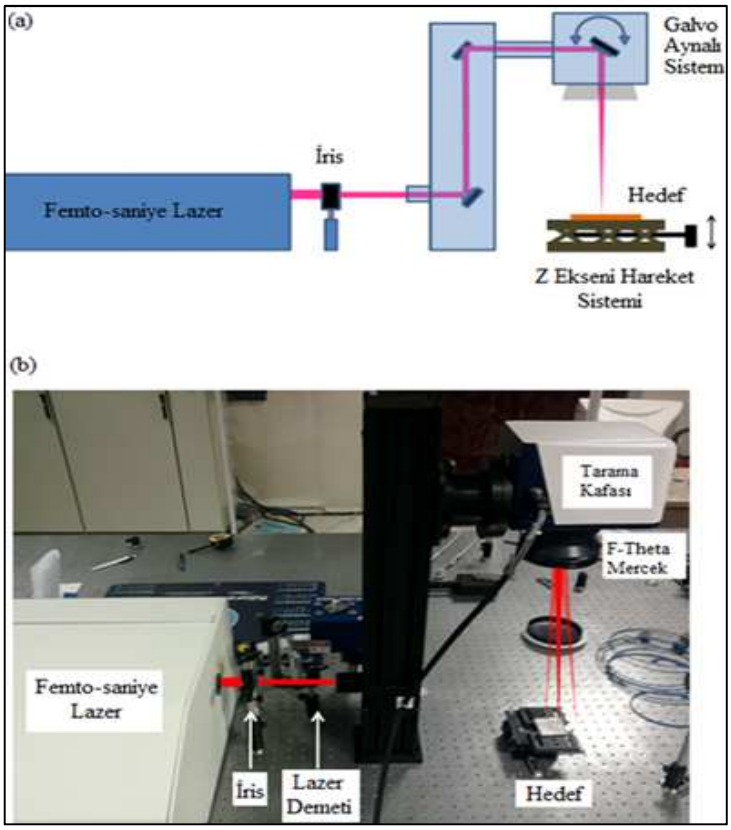
Stent, balon işlemi ile açılan damarın tekrar daralma ihtimalini azaltsın diye damar duvarına takılan ve çok ince metalik tellerden örülmüş silindirik bir kafestir. Stentlerin çoğu metalden yapılmıştır. Metal stentlerin tekrar tıkanma riski yaklaşık %20-30 oranındadır [42]. Metal stentlere karşın ilaç kaplı stentlerin tıkanma oranını azaltmasına rağmen daha geliştirilmeye ihtiyacı vardır. İlaç kaplı stentlerin en önemli sorunu; düz kas hücrelerinin çoğalmasını önlemesi ve pıhtılaşmaya neden olmasıdır [43]. Bu bağlamda bazı araştırma grupları, implant malzemenin biyo-uyumluluğunu geliştirmek için seramik kaplamanın uygun olduğunu göstermiştir [44-46]. Bu nedenle, bu çalışmada kullanılan Al/Al_2O_3 iki fazlı kaplamalar, Kimyasal buhar biriktirme yöntemi ile ısıtılmış cam altlıklar üzerine INM enstitüsü tarafından gerçekleştirildi [47].

Çalışmanın bu bölümünde femto-saniye atım uzunluğuna sahip Ti-Safir lazer ve nano-saniye atım uzunluğuna sahip Nd:YAG lazer kullanıldı. Al/Al_2O_3 iki tabanlı cam numunelerin yüzeyi her iki lazer kullanılarak işlendi. Lazerlerle yüzeylerin yapılandırılması; Al çekirdeğinin oksitlenmesini ve erimesini sağlamaktadır. Böylece yüzeyler kimyasal değişime uğramadan yalnızca topografik olarak değiştirilmektedir. Böylelikle mikro ve nano yapılı yüzeyler üzerinde gerçekleştirilen hücre kültürü çalışmalarında; hücre-yüzey etkileşiminde yüzey kimyasından bağımsız olarak yalnızca yüzey topografisinin etkisi incelenebilmektedir. Çalışmada insan endotel hücreleri ve düz kas hücreleri kullanılarak hücrelerin yüzeye tutunma ve çoğalma davranışları ile ilgili incelemelere yer verildi.

2.2. Femto-saniye Ti-Safir Lazerle Al/Al_2O_3 Kaplı Cam Yüzeylerin Yapılandırılması

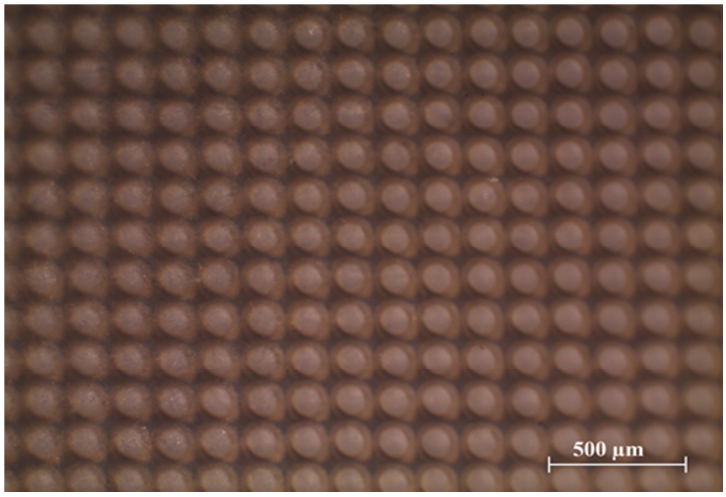
Bu bölümde, Al/Al_2O_3 iki fazlı cam malzemeler femto-saniye atım uzunluğuna sahip Ti-Safir lazer kullanılarak yapılandırıldı. Yüzeyler üzerinde matris şeklinde spotlar elde etmek amacıyla geliştirilen deneysel sistem Şekil 2.1'de görülmektedir.

Deneyde kullanılan Ti-Safir lazer (Quantronix-Integra C); 130 femto-saniye atım uzunluğunda, 1 kHz tekrarlama oranında, maksimum 2,5 mJ atım enerjisinde ve 800 nm dalga boyunda lazer çıkışı verebilen bir lazerdir [48]. Deneysel sistemde; Ti-Safir lazer ile etkileşimde 330 mm odak uzunluğuna sahip F-Theta mercek içeren galvo tarayıcı aynalar kullanıldı. Şekil 2.1(a)'da görüldüğü gibi lazer demeti, galvo ayna sistemine girmeden önce ayarlanabilir iristen geçirilerek çapı 6 mm'ye düşürüldü ve demet F-theta mercek tarafından hedef üzerinde 50 µm boyutunda spot oluşturulacak şekilde odaklandı.



Şekil 2.1. Yüzey üzerinde matris formunda spotlar oluşturmak amacıyla geliştirilen (a) tarama sisteminin şematik gösterimi, (b) deneysel sistem

Deneysel sistem kullanılarak elde edilen matris şeklinde spotları gösteren optik mikroskop görüntüsü Şekil 2.2'de yer almaktadır. Femto-saniye lazerin gücü 100 mW olmak üzere Al/Al_2O_3 kaplı cam slaytların yüzeyi üzerinde 150 μm aralıklı spotlar elde edildi.

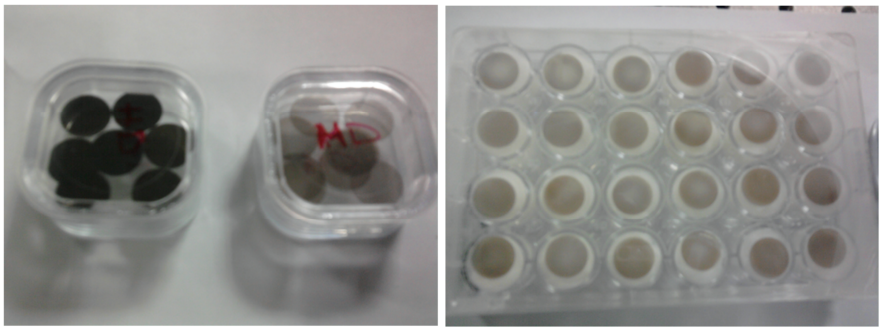


Şekil 2.2. Gücü 100 mW'a ayarlanan Ti-Safir lazerle Al_2O_3 kaplı cam örnek üzerinde oluşturulan 150 µm aralıklı spotları içeren matrisin optik mikroskop görüntüsü

2.2.1. Implant malzeme yüzeyinde en uygun yapılandırma için femto-saniye lazer parametrelerinin belirlenmesi

Implant olarak kullanılması planlanan Al/Al_2O_3 kaplı cam malzemeler üzerine matris şeklinde spotlar üretmek amacıyla geliştirilen deneysel sistem ile öncelikle en uygun yapılandırma için deneysel parametrelerin optimizasyonu çalışmaları gerçekleşti.

Deneylerde, INM Enstitüsü tarafından üretilen yüzeyleri yüksek yoğunluklu (HD) ve düşük yoğunluklu (LD) olmak üzere iki farklı yoğunlukta Al_2O_3 ile kaplanmış cam malzemeler kullanılmıştır (Şekil 2.3). Bu örnekler; 800 nm dalga boyuna sahip Ti-Safir lazer ile farklı lazer güçleri kullanılarak yüzeyde matris olarak konumlandırılmış spotlar şeklinde ve farklı aralıklarda işlendi (Tablo 2.1). Bu numuneler, 800 nm dalga boyunda Ti-Safir lazeri farklı lazer güçleri ve farklı spot aralıkları kullanılarak işlendi. Matris şeklinde spotlar oluşturmak amacıyla kullanılan deneysel parametreler Tablo 2.1'de verilmektedir.

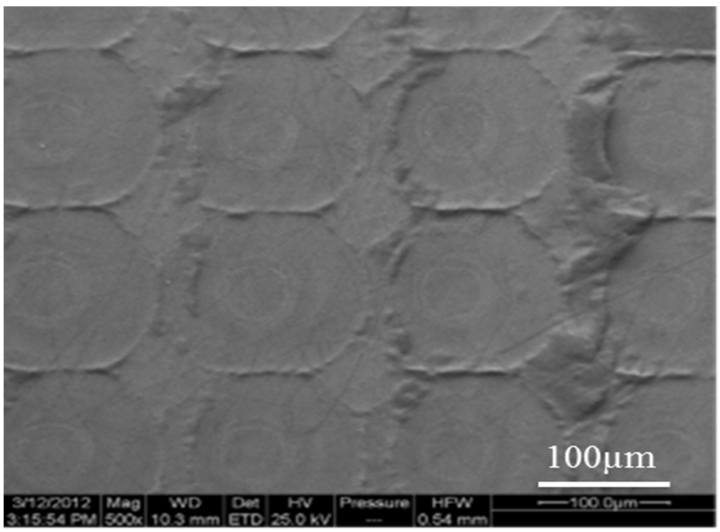


Şekil 2.3. Lazerle yüzey yapılandırma işlemi için hazırlanmış, yüzeyleri farklı yoğunluklarda Al_2O_3 kaplı cam numunelerin görüntüleri

Tablo 2.1. Yüzeyleri Al_2O_3 kaplı cam numunelerin 800 nm dalga boylu fs-lazerle yapılandırılması için kullanılan deneysel parametreler (HD: Yüksek, LD: Düşük Yoğunluklu kaplama)

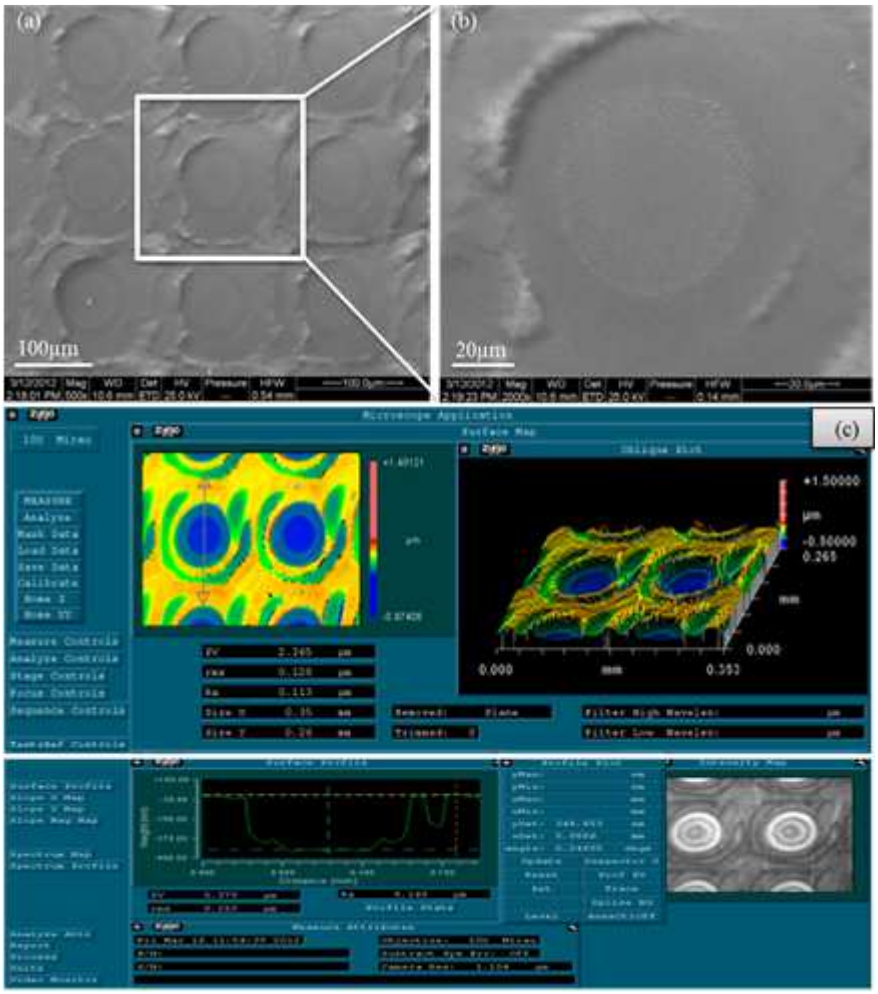
Numune no	Lazer Gücü (mW)	Spot aralığı (µm)	Al_2O_3 Kaplama yoğunluğu
1	600	150	HD
2	600	150	LD
3	400	150	HD
4	400	150	LD
5	800	150	HD
6	800	150	LD
7	400	175	HD
8	400	175	LD
9	600	175	HD
10	600	175	LD
11	800	175	HD
12	800	175	LD
13	400	200	HD
14	400	200	LD
15	600	200	HD
16	600	200	LD
17	800	200	HD
18	800	200	LD
19	400	225	HD
20	400	225	LD
21	600	225	HD
22	600	225	LD
23	800	225	HD
24	800	225	LD

Deney sonucunda elde edilen yüzeylerin taramalı elektron mikroskobu analizleri yapıldı ve sonuçlar INM enstitüsü ile paylaşıldı. En uygun yüzey olarak 800 mW güçte işlenen, yüksek yoğunluğa sahip olan ve yüzeyinde 150 µm spot aralıklı matris şeklinde yapılar oluşturulan yüzey seçildi (Şekil 2.4). Bu parametreler kullanılarak işlenen yüzeyler, INM enstitüsüne gönderilerek amaç doğrultusunda ayrıntılı olarak incelendi.



Şekil 2.4. 800 mW güçte, 150 µm spot aralığında Ti-Safir lazerle Al_2O_3 kaplı cam malzeme üzerinde oluşturulan matris yapının elektron mikroskobu görüntüsü

Seçilen numunelerin SEM ve Beyaz ışık interferometre (White Light interferometre) görüntüleri incelendi (Şekil 2.5). Şekil 2.5a'da numune yüzeyinde oluşturulan spotların görüntüleri görülmektedir. (b)'de seçilen bir spotun ayrıntılı görüntüleri yer almaktadır. Dikkatle incelendiğinde spot kenarlarının homojen olmadığı görülür. Özellikle beyaz ışık interferometre görüntüsü Şekil 2.5c'de incelendiğinde lazerle oluşturulan spotların etrafında, yani cam malzemenin kaplanmış yüzeyinde kusurların ve düzensizliklerin meydana geldiği görüldü. Bu kusurlar; cam slaytlar üzerindeki kaplamaların zarar gördüğünü göstermektedir. Bu önemli nokta dikkate alınarak; devam eden çalışmalarda sekiz adet örnek daha farklı parametrelerde işlendi. Bu gruptaki çalışmada orta yoğunluklu kaplanan (MD) örnekler kullanıldı.



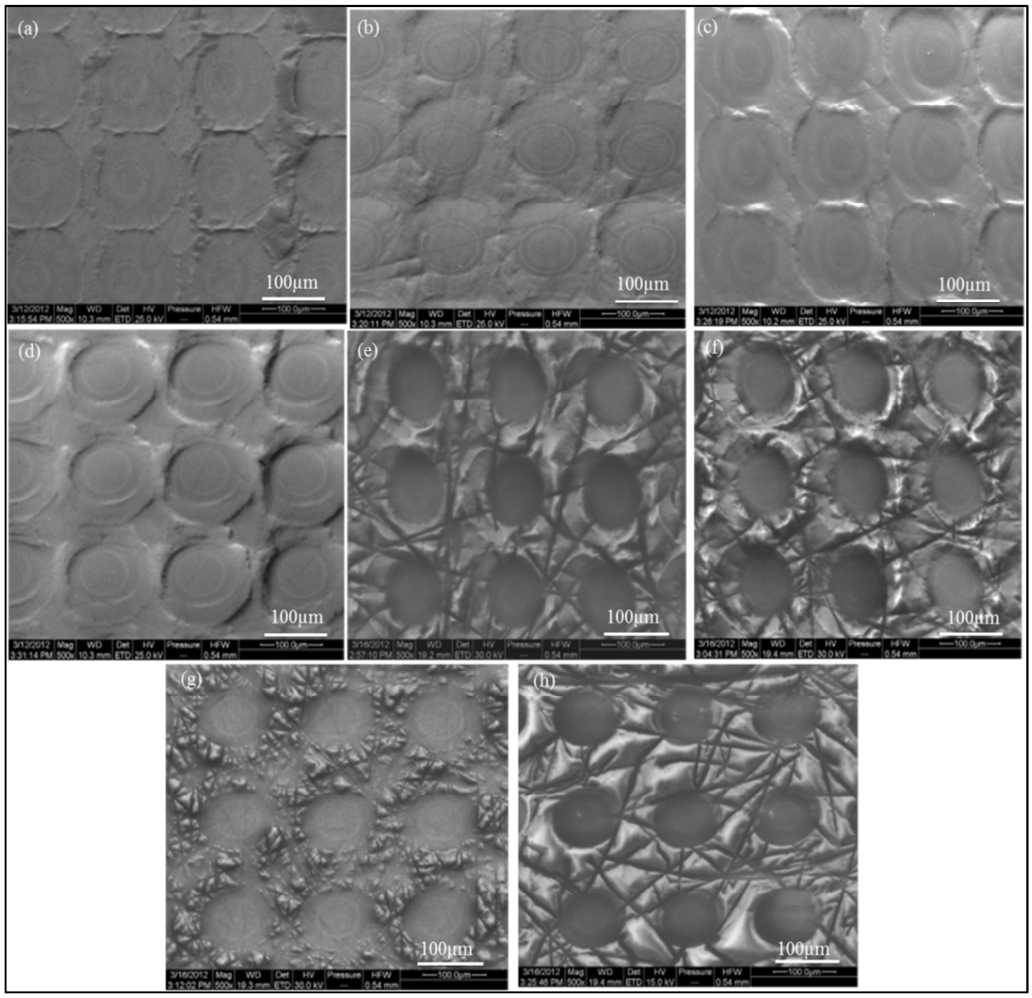
Şekil 2.5. 800 mW güçte Ti-Safir lazerle işlenen ve 150 µm aralıklı spotların oluştuğu Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin (a) Elektron Mikroskobu görüntüsü, (b) Farklı büyütmede elektron mikroskobu görüntüsü, (c) Beyaz Işık İnterferometre görüntüsü

Kaplama sırasında oluşan nano yapılar ile uyum gösteren 150 µm spot aralığı sabit tutularak, sadece lazerin gücü azaltılarak değiştirildi. Uygun yüzey yapısının oluşturulması için kaplamaya zarar vermeyecek düşük güçler tercih edildi (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Yüzeyleri Al_2O_3 kaplanmış cam malzemelerin 150 µm aralıklı spotlar şeklinde işlenmesi için kullanılan Ti-Safir lazerinin güçleri

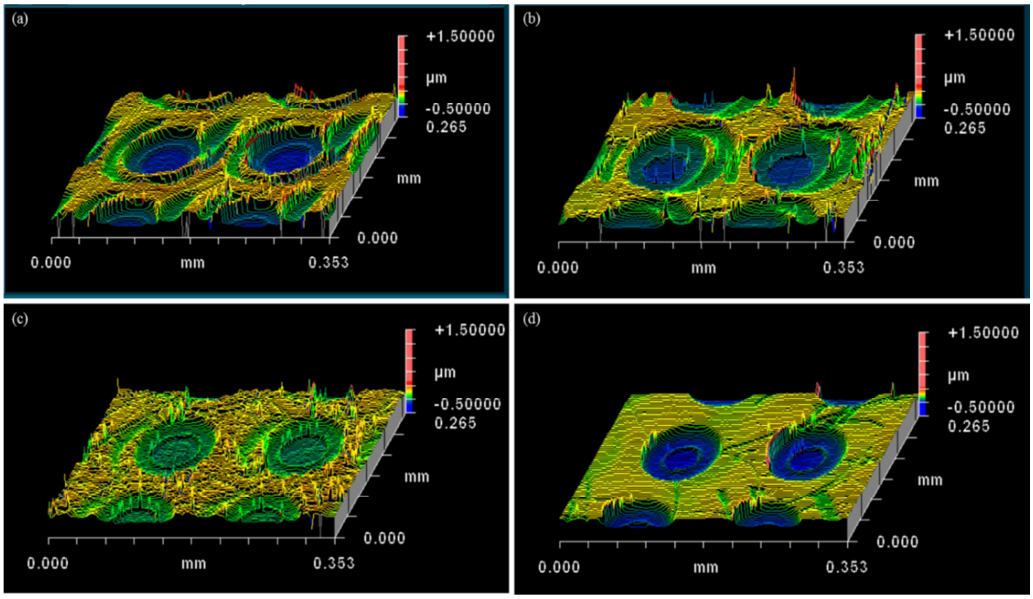
Numune No	Lazer Gücü (mW)
A1	800
A2	700
A3	600
A4	500
B1	400
B2	300
B3	200
B4	100

Tablo 2.2'de verilen parametreler kullanılarak elde edilen numunelerin Elektron Mikroskobu görüntüleri ve Beyaz Işık İnterferometresi analizi INM enstitüsünde yapıldı. Şekil 2.6'da azalan güçlerde işlenen yüzeylerin elektron mikroskobu görüntüleri yer almaktadır. Görüntüler karşılaştırıldığında lazer gücü azaldıkça işlenen yüzeyde oluşan spotların belirginleşmeye başladığı görüldü (Şekil 2.6a-d). İlk dört görüntüde, yüzeyler yüksek lazer gücüne maruz kaldığından yüzeyde erime meydana geldi ve spotların birbirlerine yaklaştığı görüldü. Şekil 2.6e-h arasındaki görüntülerde ise lazer gücü azaldıkça spotlar belirginleşti ve özellikle 100 mW güçte işlenmiş son görüntüde spotların tamamen yuvarlak olduğu görüldü.



Şekil 2.6. Tablo 2.2'de verilen (a) A1-800 mW, (b) A2-700 mW, (c) A3-600 mW, (d) A4-500 mW, (e) B1-400 mW, (f) B2-300 mW, (g) B3-200 mW, (h) B4-100 mW lazer güçlerinde işlenen yüzeylere ait Elektron Mikroskobu görüntüleri (INM Enstitüsü Laboratuvarları)

Şekil 2.7'de farklı güçlerde işlenmiş yüzeylerin beyaz ışık interferometre görüntüleri görülmektedir. Lazerin gücü 800 mW, 400 mW, 200 mW ve 100 mW olmak üzere alınan görüntüler incelendiğinde; (a), (b) ve (c)'de görüldüğü gibi yüksek güçlerde spotların etrafında işlenmemiş yüzeyde kusurlar meydana geldi. Ayrıca 100 mW güçte işlenmiş yüzey haricinde diğer güçlerle işlenerek oluşturulan spotların iç kısımlarında da düzensizlik olduğu görüldü (Şekil 2.7a-c).

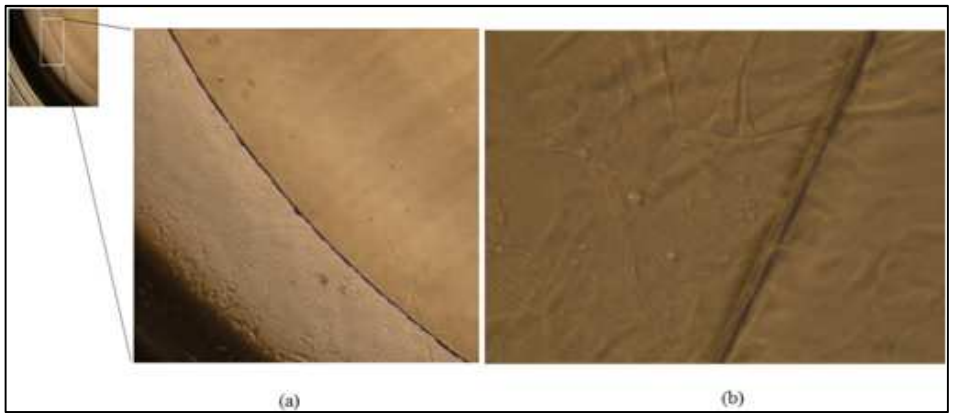


Şekil 2.7. Tablo 2'de verilen (a) A1-800 mW, (b) B1-400 mW, (c) B3-200 mW, (d) B4-100 mW lazer güçlerinde işlenen yüzeylere ait Beyaz ışık interferometre görüntüleri (INM Enstitüsü Laboratuvarları)

Analiz sonuçları değerlendirildiğinde, hem kaplamaya zarar vermeyen hem de istenen nano ve mikro yapıları barındıran yüzey olarak B4 (100 mW güçte, 150 µm aralıklı işlenen numune) seçildi. Şekil 2.7'de 100 mW güçte işlenen yüzeyin, ışınlanan bölgelerinin etrafında kusurların oluşmadığı açıkça görülmektedir.

Belirlenen bu parametrelerde 80 adet numune işlendi. Burada oluşturulan matris şeklindeki spotların tekrarlanabilirliği önemlidir. Bu amaçla her 10 numunede bir sistem kontrol edildi ve numuneler incelendi. İşlenen numuneler Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi DEKART Proteomiks laboratuvarlarına hücre ekimi gerçekleştirilmek üzere gönderildi.

Şekil 2.8'de işlenmiş ve işlenmemiş numuneler üzerine ekilen hücrelerin mikroskop görüntüleri görülmektedir. Alınan görüntülerde iki yüzey arasında bir fark gözlenemedi. Deneyler tekrarlanmak istendi ancak femto-saniye lazer bozuldu. Femto-saniye lazerde meydana gelen arızanın giderilme süresinin uzaması nedeniyle planlarda değişikliğe gidildi. Devam eden süreçte Femto-saniye lazer yerine Lazer Araştırma ve Uygulama Merkezinde (LATARUM) var olan nano-saniye Nd:YAG lazer kullanılarak yüzeylerin yapılandırılması çalışmaları gerçekleştirildi.

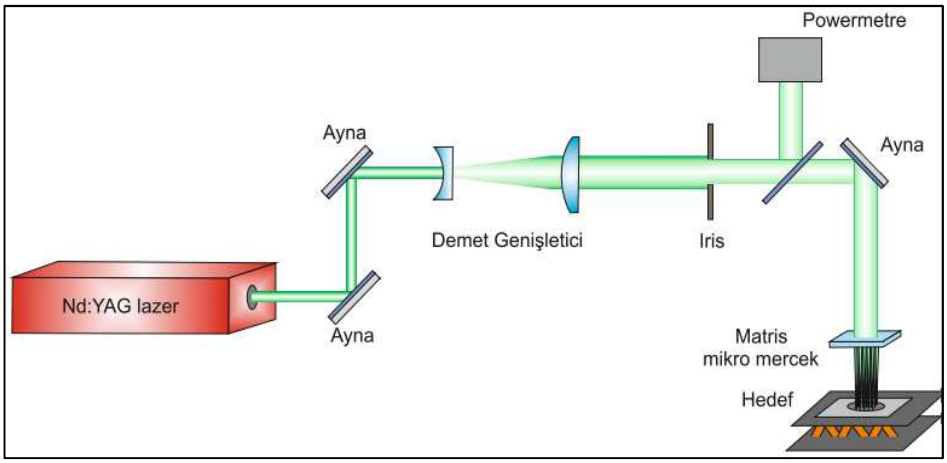


Şekil 2.8. Hücre kültürü çalışmaları: (a) İşlenmemiş numune yüzeyine ekilmiş Endotel hücrelerinin, (b) 100 mW güçte, 150 µm aralıklı matris şeklinde işlenen numune yüzeyine ekilen Düz kas hücrelerinin mikroskop görüntüleri [49]

2.3. Nano-saniye Nd:YAG Lazerle Al/Al_2O_3 Kaplı Cam Yüzeylerin Yapılandırılması

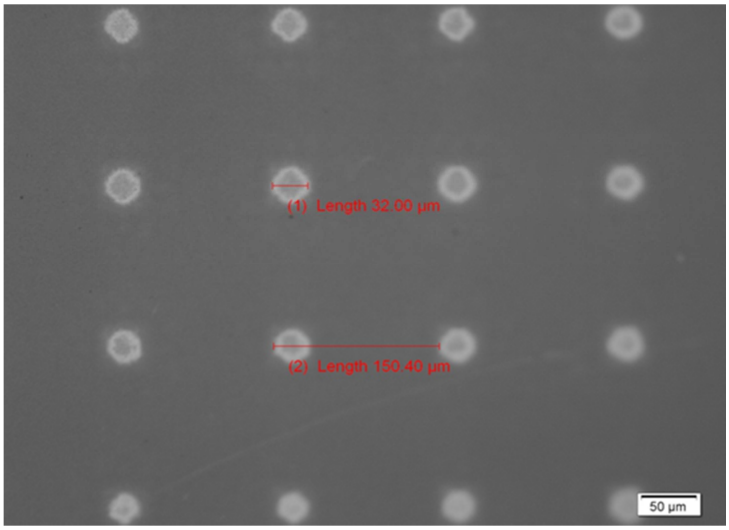
Çalışmanın bu kısmında, Al/Al_2O_3 kaplı cam malzemeler nano-saniye atım uzunluğuna sahip Nd:YAG (Continuum Surelite III) lazer ve mikro mercek sistemi kullanılarak tasarlanan deneysel sistem ile yapılandırıldı. Elde edilen yüzeylerin analizleri yapıldı ve en uygun yüzey seçilerek hücre ekimi gerçekleştirildi.

Deneysel sistemde kullanılan mikro mercek sayesinde yüzeylerde matris şeklinde simetrik spotlar elde edildi. Bu amaçla geliştirilen deneysel düzenek Şekil 2.9'da görülmektedir. Kurulan deneysel düzenekte; kaynaktan çıkan lazer ışını Galile tipi demet genişletici sistemden geçirilerek spotun büyütülmesi sağlandı. Dairesel spot oluşturulabilmek için 10 mm iris kullanıldı. Mikro mercek sistemi; 17,383 mm eğrilik yarıçapına sahiptir ve sistem üzerinde bulunan mercekler arası mesafe 150 µm'dir.



Şekil 2.9. Nano-saniye Nd:YAG lazer ve mikro mercek sistemi kullanılarak oluşturulan deneysel sistem

Deneysel sistem kullanılarak elde edilen matris şeklinde spotları gösteren optik mikroskop görüntüsü Şekil 2.10'da yer almaktadır. Nano-saniye lazerin gücü 300 mW olmak üzere Al/Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin yüzeyi üzerinde 150 µm aralıklı ve 30-50 µm çapında spotlar elde edildi.



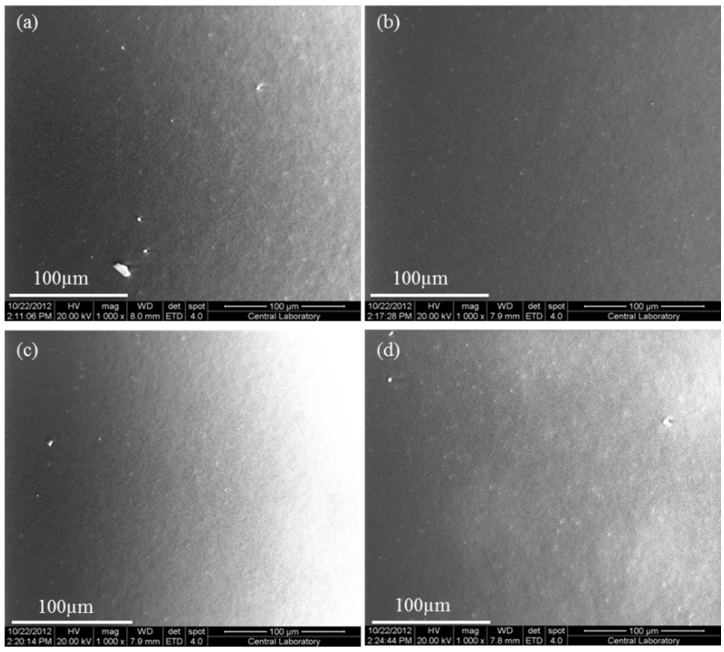
Şekil 2.10. 300 mW güç kullanılarak Nd:YAG nano saniye lazerle Al_2O_3 kaplı cam örnek üzerinde oluşturulan matris yapının optik mikroskop görüntüsü

Geliştirilen bu deneysel sistem yardımıyla Tablo 2.3'de verilen farklı lazer güçleri kullanılarak Al_2O_3 kaplı numuneler işlendi.

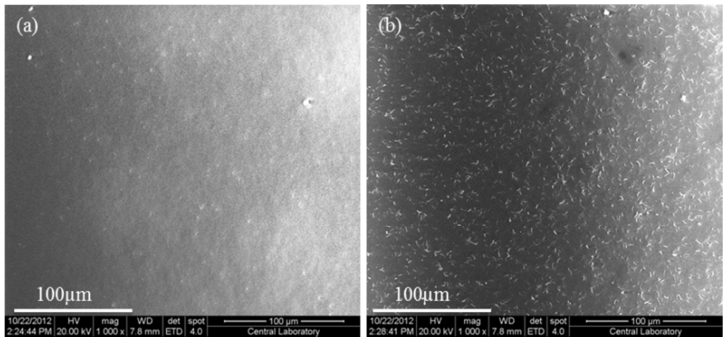
Tablo 2.3. Yüzeyleri Al_2O_3 kaplanmış cam malzemelerin işlenmesi için hazırlanan deney planı (HD: yüksek yoğunluklu, MD: orta yoğunluklu)

Numune no	Lazer Gücü (Mili Watt)	Al_2O_3 Kaplama yoğunluğu
1	100	MD
2	150	MD
3	200	MD
4	250	MD
5	250	HD

Yapılandırılmış yüzeylerin SEM analizi gerçekleştirildi (Şekil 2.11 ve 2.12). Bu görüntüler incelendiğinde işlenmiş yüzeylerde beklenen matris şeklindeki spot yapılar oluşmadı (Şekil 2.11a-d). Deneysel sistem tekrar gözden geçirildiğinde mikro mercek sistemi ile hedef arasındaki mesafenin yanlış ayarlandığı ortaya çıktı. Ayrıca farklı yoğunlukta kaplanmış numune (Numune 4 ve 5) durumu değiştirmedi ve malzeme yüzeyi lazerden etkilenmedi (Şekil 2.12a,b).



Şekil 2.11. Tablo 2.3'de verilen özelliklerde işlenmiş numunelerin aynı büyütmede Elektron mikroskobu görüntüleri; (a) 100 mW, (b) 150 mW, (c) 200 mW ve (d) 250 mW lazer güçlerinde işlenmiş yüzeyler



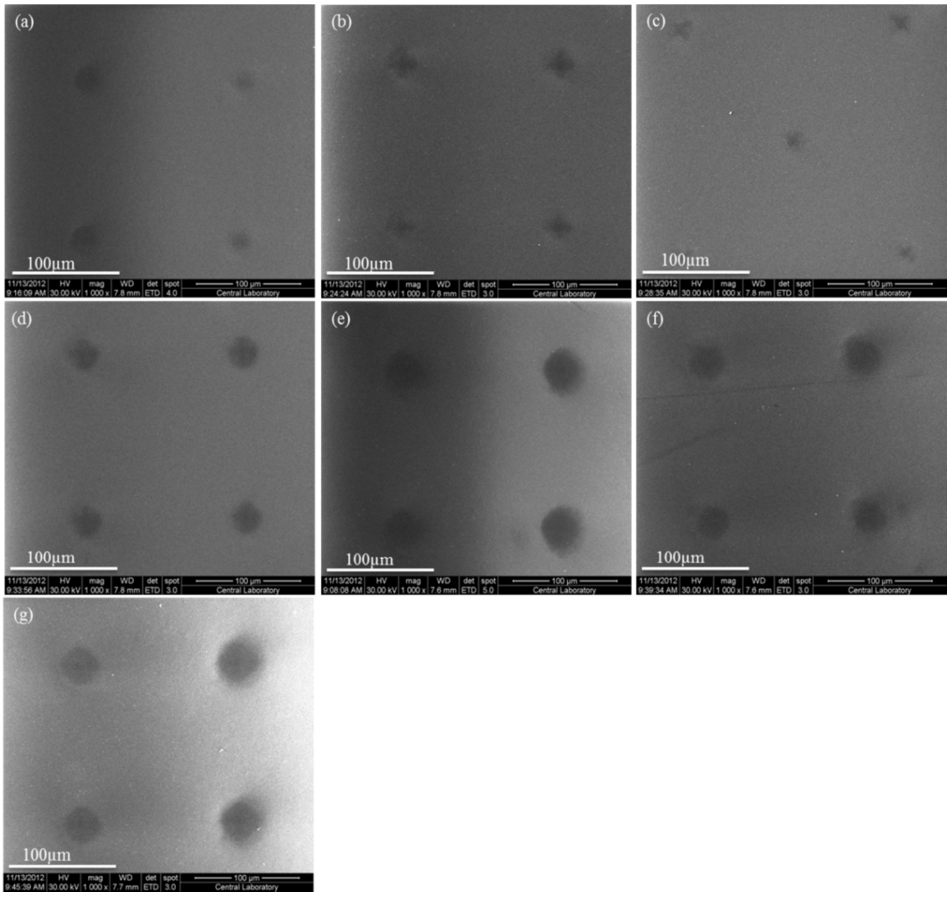
Şekil 2.12. Tablo 2.3'de verilen 250 mW güçte işlenmiş (a) Orta yoğunlukta Al_2O_3 kaplı, (b) Yüksek yoğunlukta Al_2O_3 kaplı numunelerin Elektron mikroskobu görüntüleri

Deneysel sistemde mikro mercek sistemi tekrar ayarlanarak Tablo 2.4'deki güçleri de içerecek şekilde farklı lazer güçlerinde yüzey yapılandırma çalışmaları yapıldı.

Tablo 2.4. Nano-saniye Nd:YAG lazer ve mikro mercek sistemi kullanılarak oluşturulan düzenek ile Al_2O_3 kaplı numuneleri yapılandırma parametreleri

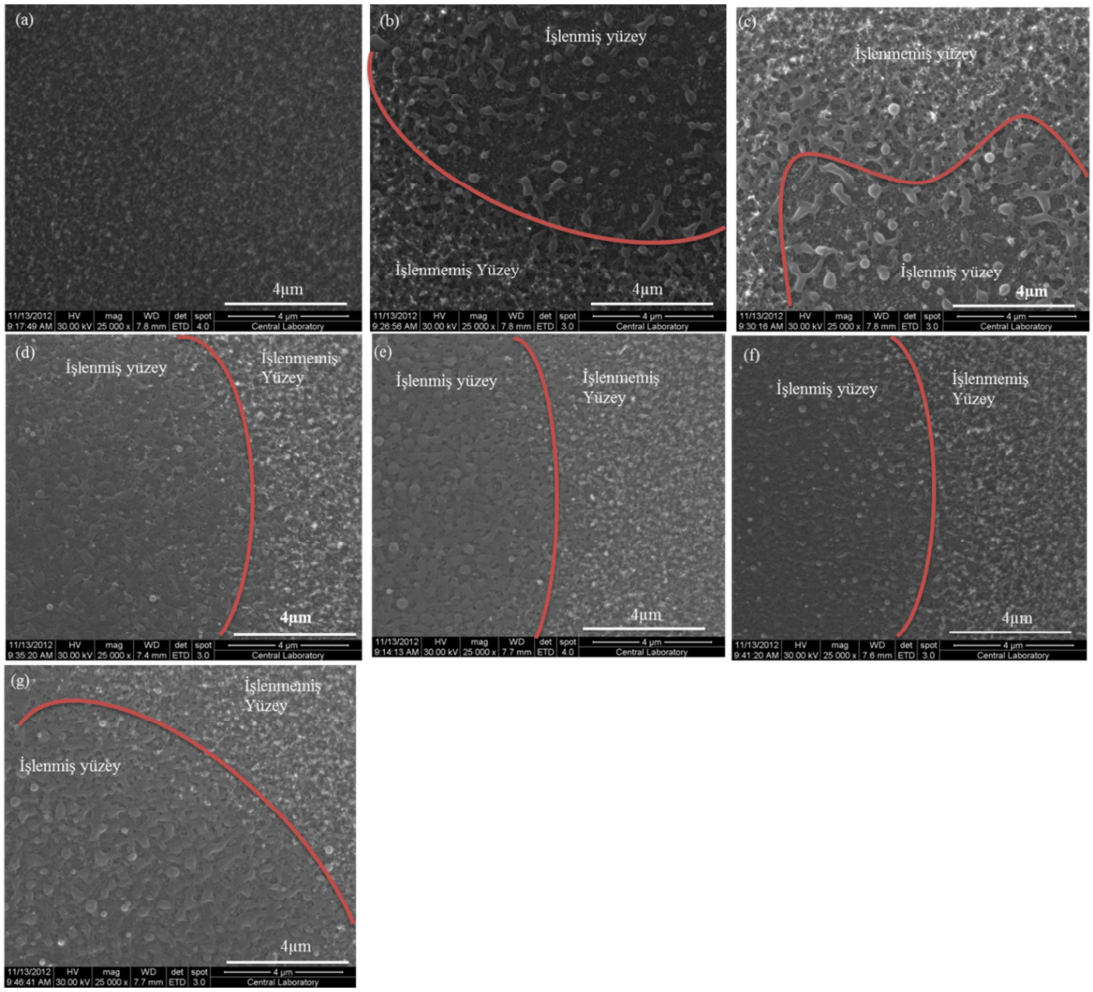
Numune no	Güç (mW)
A1	150
A2	190
A3	245
A4	300
B1	344
B2	390
B3	450

Şekil 2.13'de deneysel sistem kullanılarak Tablo 2.4'de verilen farklı güçlerde işlenmiş Al_2O_3 kaplı numunelerin yüzeylerinde oluşan yapıların Elektron mikroskobu görüntüleri yer almaktadır.



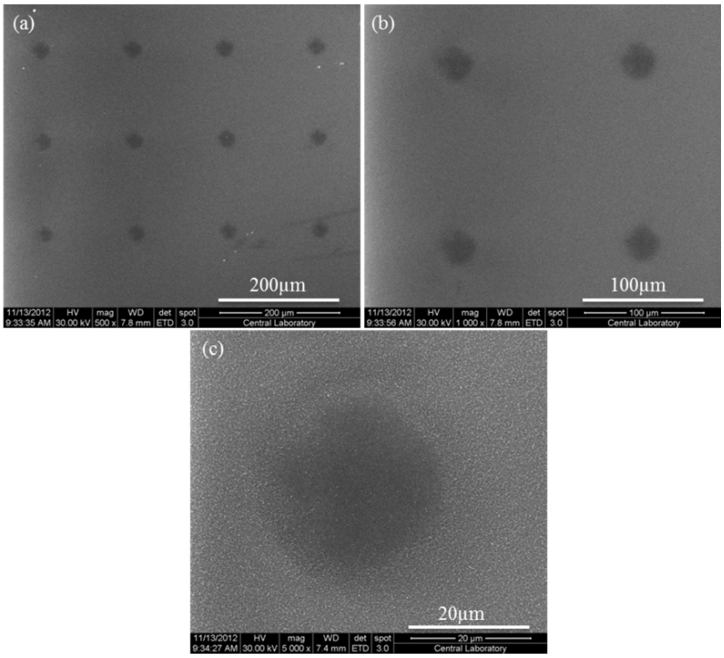
Şekil 2.13. Tablo 2.4'de verilen özelliklerde işlenmiş numunelerin aynı büyütmedeki Elektron mikroskobu görüntüleri; (a) 150 mW, (b) 190 mW, (c) 245 mW, (d) 300 mW, (e) 344 mW, (f) 390 mW, (g) 450 mW lazer güçlerinde işlenmiş yüzeyler

Şekil 2.14'de yüzeyler farklı güçlerde işlendiğinde oluşan spotlar ile işlenmemiş yüzeyin aynı anda gösterildiği elektron mikroskobu görüntülerine yer verildi. Görüntüler incelendiğinde 150 mW güçte işlenen yüzey ile işlenmemiş yüzey arasında herhangi bir farklılık görülmedi (Şekil 2.14a). Lazer güçleri; 190 ve 245 mW kullanılarak oluşturulan spotlarda şekil bozuklukları görüldü (Şekil 2.14b,c). Artan güçlerde oluşan spotlar ile işlenmemiş yüzeyde var olan nano yapılar karşılaştırıldığında gücün artması ile spotun içinde bulunan nano yapıların büyüdüğü gözlendi (Şekil 2.14 e-g). Bu durumun gözlenmediği yüzey 300 mW güçte işlenen yüzey olduğu için yüzeylerin bu güçte işlenmesine karar verildi (Şekil 2.14d).

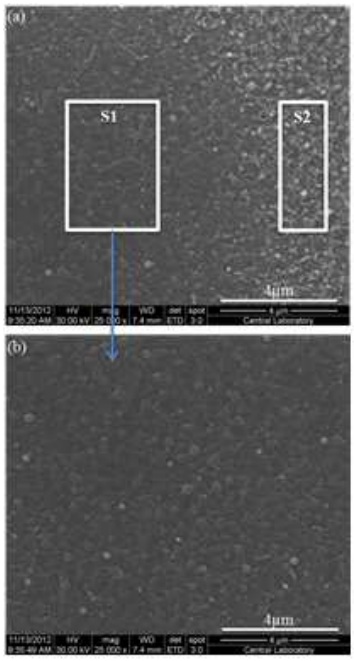


Şekil 2.14. Tablo 2.4'de verilen özelliklerde işlenmiş numunelerin aynı büyütmedeki Elektron mikroskobu görüntüleri; (a) 150 mW, (b) 190 mW, (c) 245 mW, (d) 300 mW, (e) 344 mW,(f) 390 mW, (g) 450 mW güçte işlenmiş yüzeyler

Belirlenen parametrelerde (300 mW güçte, 150 µm aralıklı) işlenen yüzeylerin farklı büyütmelerde elektron mikroskobu görüntüleri alındı (Şekil 2.15a-c). Yüzeyler üzerinde oluşan spotlar, matris şeklinde düzenli yapılar olduğu görüldü. Farklı büyütmelerde spotun hem iç kısmından hem de işlenmemiş yüzeyden alınan görüntülerinde, işlenmemiş kısımda (malzemenin kaplamasında) bulunan nano yapılar ile lazerle mikro boyutta oluşturulan spottaki nano yapıların uygun olduğu görülmektedir (Şekil 2.16).



Şekil 2.15. 300 mW güçte, 150 µm aralıklı işlenmiş yüzeyin Elektron mikroskopu görüntüleri; (a) Spotların yerleşimini gösteren görüntü, (b) a'daki görüntünün farklı büyütmedeki görüntüsü, (c) Yaklaşık 30-50 µm çaplı tek bir spotun görüntüsü

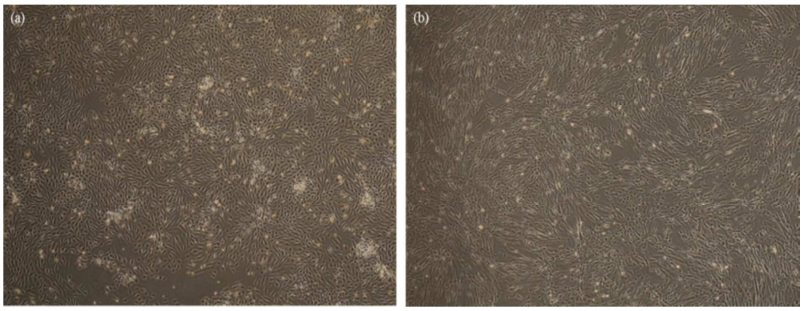


Şekil 2.16. 300 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam yüzeyin Elektron mikroskopu görüntüsü; (a) S1 ve S2 olarak iki alana ayrılmıştır. Bu alanlar, sırasıyla spotun iç kısmı ve spotun dış kısmını (işlenmemiş yüzey) göstermektedir. (b) S1 bölgesinin görüntüsü (Spotun merkezi)

2.4. Implant Olarak Kullanılma Potansiyeli Olan Al_2O_3 Kaplı Cam Yüzeylerin Lazerle Yapılandırılması Sonucunda Yapılan Hücre Kültürü Çalışmaları

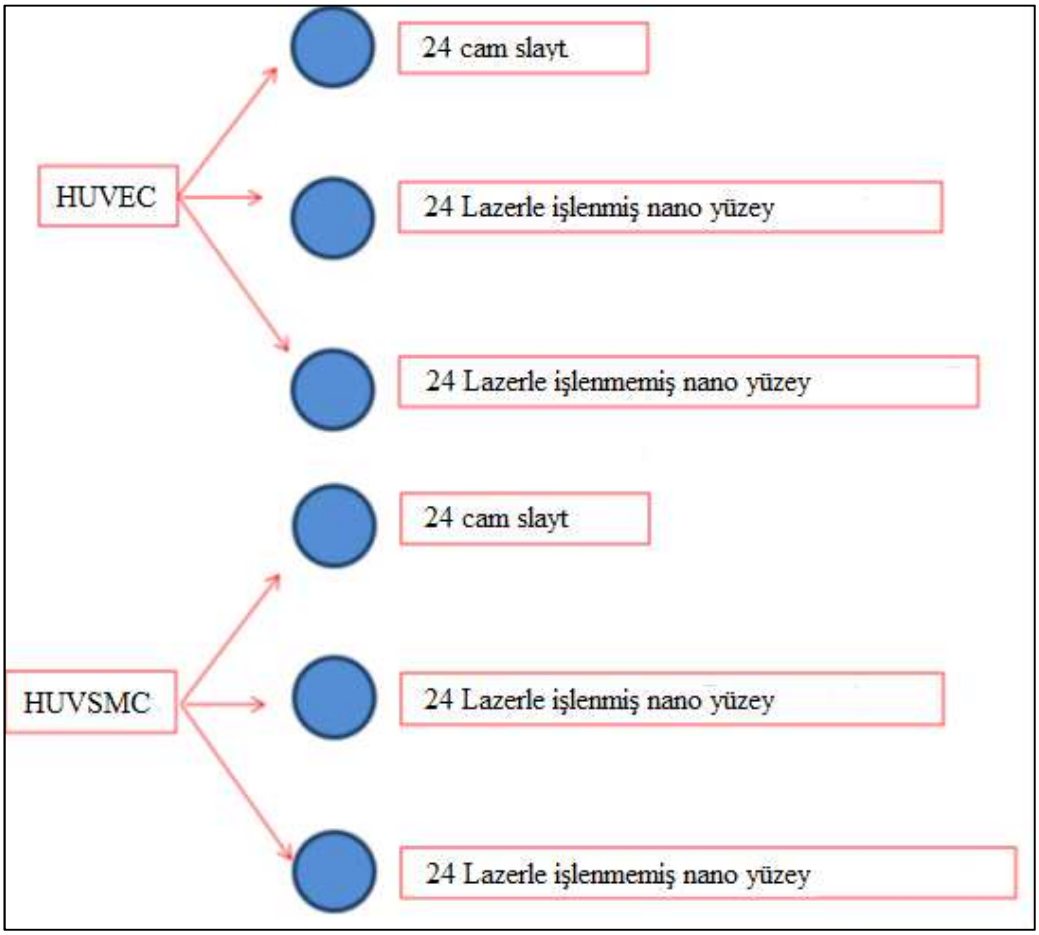
Hücre kültürü çalışmalarında, Bölüm 2.3'de detaylı olarak anlatılan 300 mW lazer gücünde matris şeklinde işlenen Al_2O_3 kaplı yüzeyler üzerine İnsan Endotel Hücreleri (HUVEC) ve Düz Kas Hücreleri (HUVSMC) ekilerek hücrelerin davranışları incelendi. Bu işlemler Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi DEKART Proteomiks Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

Hücre kültürü çalışmaları için öncelikle HUVEC ve HUVSMC hücreleri kültür tabaklarına ekilerek büyütüldü. Alınan mikroskop görüntülerine göre HUVEC hücrelerinin kültür tabağında yavaş büyüdüğü, HUVSMC hücrelerinin ise kısa süre içinde büyüdüğü görüldü (Şekil 2.17).



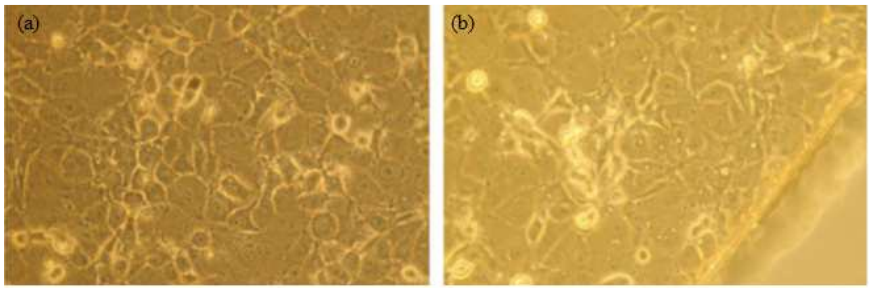
Şekil 2.17. Kültür tabağına ekilen a) HUVEC ve b) HUVSMC hücrelerinin faz kontrast mikroskobunda çekilmiş görüntüsü (10x)

Şekil 2.18'de görüldüğü gibi, hücre kültürü çalışmalarında cam slaytlar kontrol amaçlı kullanıldı, lazerle işlenmiş ve işlenmemiş Al_2O_3 kaplı cam yüzeylere uygun koşullarda hücre ekimi gerçekleştirildi.



Şekil 2.18. Hücre Kültürü Çalışma Aşamaları

Hücre kültürü çalışmaları başladığında her iki hücre tipinin de kontrol yüzeylerinde ve normal kültür kaplarında iyi bir şekilde gelişim gösterdiği gözlenmesine rağmen deneylerde kullanılan lazerle işlenmiş ve işlenmemiş yüzeylerde HUVSMC hücrelerinin yeteri kadar çoğalamaması bundan sonraki deneylerin HUVEC hücreleri kullanılarak devam edilmesine neden oldu (Şekil 2.19).



Şekil 2.19. (a) İşlenmemiş ve (b) İşlenmiş Al_2O_3 kaplı cam yüzeyler üzerinde büyüyen HUVEC hücreleri

Deney sonucunda yapılan analizlerde farklılık gösteren proteinler elde edildi. Vimentin, keratin ve lamin proteinleri hücre sağkalımı, büyümesi ve göçü gibi birçok hücresel faaliyette görev almaktadır [50, 51, 52]. Bu çalışmada farklılıkları gösterilen bu proteinlerin, özellikle hücre göçü, çoğalması ve sağkalımı gibi özellikleri göz önüne alındığında, değişen yüzey topografisinden kaynaklanan değişimler olduğunu bulundu. Bu değişimlerin özellikle hücre düzeyinde oluşan yüzeylere uyum sağlamak için arttığı düşünülmektedir. Ayrıca, işlenmemiş Al_2O_3 kaplı cam yüzeylerin endotel hücrelerinin (HUVEC) doğal davranışları için daha iyi yüzeyler oluşturduğu ve bu yüzeylerin hücresel düzeyde düz kas hücrelerinin (HUVSMC) gelişmesi için uygun olmadığını söylenebilir.

2.5. Sonuç

Bu bölümde, femto-saniye Ti-Safir lazer ve nano-saniye Nd:YAG lazer kullanılarak Al_2O_3 kaplı cam slaytların yüzeylerini yapılandırılması çalışmalarına yer verildi. Her iki deneysel düzenek kullanılarak işlenen numunelerin analizleri ve değerlendirilmeleri INM enstitüsünde yapıldı. En uygun yapılandırılmış yüzeyler hücre ekimi için üretildi. Üretilen numunelerin bir kısmı Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi DEKART Proteomiks Laboratuvarlarına gönderildi bir kısmı ise Almanya' da PCD grubuna gönderildi. Hücrelerin yüzeyler üzerindeki tutunma, yaşama, büyüme ve göç davranışları incelendi.

3. NANO-SANİYE LAZER KULLANILARAK GELİŞTİRİLEN İKİ IŞIN GİRİŞİM TEKNİĞİYLE İMPLANT MALZEMELER ÜZERİNDE PERİYODİK YAPILARIN OLUŞTURULMASI

Son yıllarda malzemelerin yüzeylerinde mikro ve nano yapılar oluşturmak endüstriden sağlık alanına kadar birçok alanda kullanım olanağı sağlar. Özellikle periyodik yapılar oluşturmak; mühendislik alanında mikro-elektronik devrelerde [23], sağlık alanında hücre-yüzey etkileşiminde [12] yaygındır.

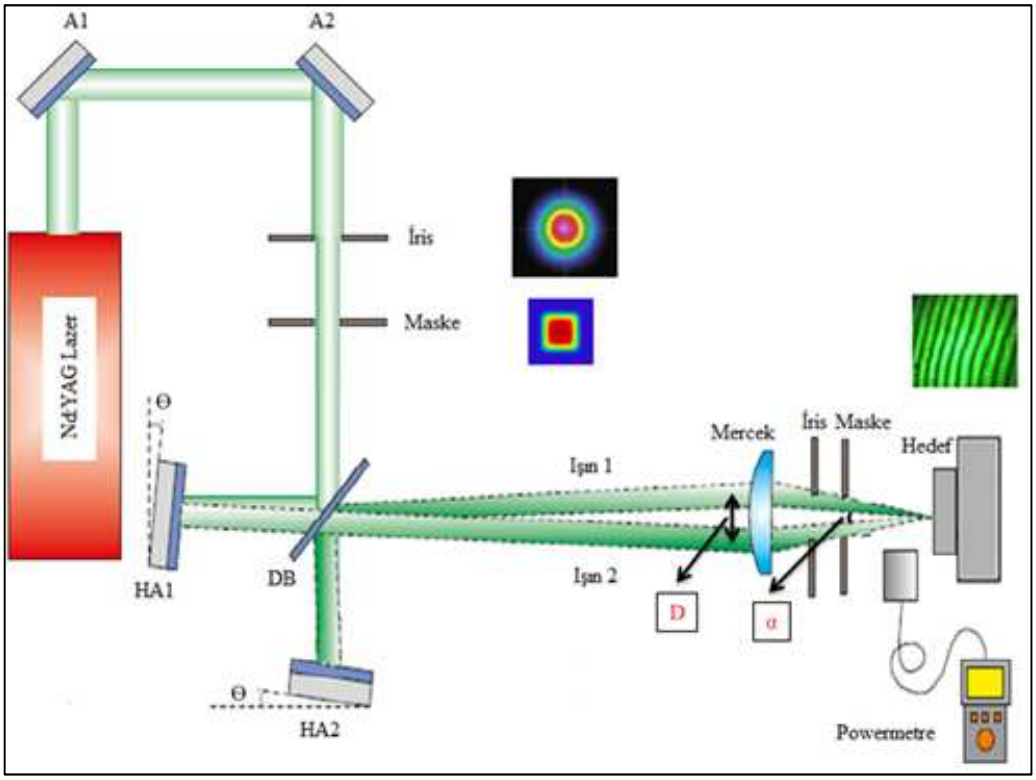
Periyodik yüzey yapıları oluşturmak için birçok yöntem bulunmaktadır [23]. Ancak son zamanlarda, iki ışın girişim yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem ve femto-saniye lazerler kullanılarak periyodik yapılar başarı ile üretilmektedir [13].

İki ışın girişim yöntemi kullanılarak nano-saniye atım uzunluğuna sahip Nd:YAG lazer ile implant malzeme üzerinde periyodik yapılar (girişim saçakları) üretildi. Kullanılan implant yüzeyler, Bölüm 2'de ayrıntıları verilen kimyasal buhar birikimi yöntemiyle cam malzeme üzerine Al/Al_2O_3 iki fazlı tabakalar kaplanarak hazırlanan numunelerdir. Oluşturulan periyodik yapılı yüzeyler üzerinde gerçekleştirilen hücre kültürü çalışmalarında insan endotel hücrelerİ (HUVEC) kullanılarak hücrelerin yüzeye tutunma ve çoğalma davranışları ile ilgili incelemelere yer verildi.

3.1. İki Işın Girişim Tekniği: Nd:YAG Lazer İle Michelson İnterferometre Sistemi

Bu bölümde, lazerle periyodik yapı üretme tekniklerinden iki ışın girişim tekniği için hazırlanan deneysel düzenek anlatılmaktadır. Bu teknik için nano-saniye atım süreli Nd:YAG lazer ile Michelson interferometre sistemi oluşturuldu (Şekil 3.1). Sistemde tekrarlama oranı 10 Hz olan Nd:YAG (Continuum Surelite III) lazerin ikinci harmoniği (532 nm) kullanıldı.

Deneysel düzenekte kaynaktan çıkan lazer ışını aynalar yardımıyla iris'e gönderilir. İriste temizlenen ışın, kare maskeden geçerek ışın bölücüde ikiye ayrılır. Işın 1, HA1 (Hareketli ayna 1) üzerine giderken, diğeri de HA2 (Hareketli ayna 2) üzerine gider, her iki ışın da geri dönerek 150 mm odak uzunluğuna sahip olan merceğe doğru yol alırlar. Mercek tarafından hedefe odaklanan ışınlar, merceğin arkasında bulunan iris ve kare maskeden geçtikten sonra hedef üzerinde periyodik yapı oluştururlar.



Şekil 3.1. Deneysel düzeneğin şematik gösterimi. Kısaltmalar; A1 (Ayna 1), A2 (Ayna 2), HA1 (Hareketli Ayna 1), HA2 (Hareketli Ayna 2), DB (Demet Bölücü) şeklindedir [53]

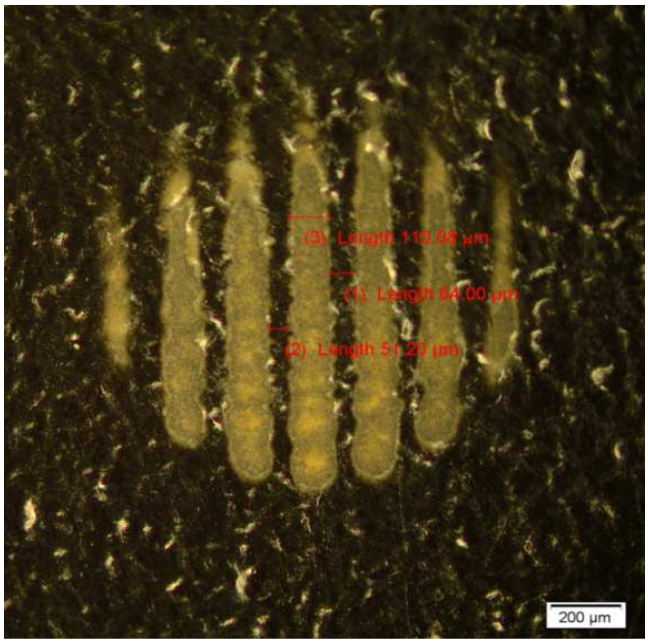
Bu deneysel sistem kullanılarak, CVD yöntemi ile Al/Al_2O_3 kaplanan cam numuneler ve 4x4 mm^2 boyutlarında tel erozyon yöntemiyle kesilerek hazırlanmış Grade 2 Titanyum numuneler üzerinde periyodik yapılar oluşturuldu. Titanyum numuneler işlenmeden önce alkol ile temizlendi.

3.1.1. İşlenen yüzeylerin karakterizasyonu

Yüzeyi işlenmiş Al/Al_2O_3 kaplı cam slaytlar ve titanyum malzemelerin yüzey karakterizasyon işlemi; optik mikroskop (OLYMPUS-BX51M), taramalı elektron mikroskopu (SEM; FEI-QUANTA 400F) ve profilometre (NANOVEA PROFESSIONAL 3D) kullanılarak gerçekleştirildi. Optik mikroskop kullanılarak farklı periyotlara sahip yapıların yüzey görüntüleri incelendi. Taramalı elektron mikroskopunda görüntü alınmadan önce yüzeyler, kaplama cihazı ile (Sputter Coater-Polaron Range) 5 nm kalınlığında Altın-Pladyum (Au-Pl) kaplandı. Sonrasında alınan farklı büyütmelerdeki görüntülerde oluşan periyodik yapıların yüzeyde meydana getirdikleri değişikler incelendi. Profilometre görüntülerinden periyodik yapıların yüzeylerde oluşturdukları derinlikler incelendi. Kontak açıları ise kontak açı video sistem (CAM 101) kullanılarak ölçüldü. Kontak açıları, 4 farklı yerden ölçülerek ortalaması alındı. Ayrıca hücre ekimi gerçekleştikten sonra alınan elektron mikroskobu görüntüleri (SEM KOU MET: FEI-QUANTA 400F) ve floresan mikroskobu görüntüleri (KOU TIP DEKART: Olympus CKX41) alındı.

3.2. İki Işın Girişim Tekniğiyle Periyodik Yapılandırma Parametreleri

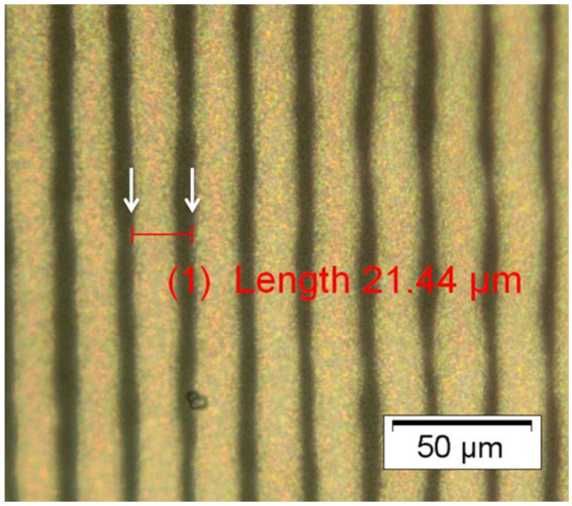
İmplant olarak kullanılması planlanan Al/Al_2O_3 kaplı cam numuneler ve titanyum numuneleri için iki ışın girişim tekniği ile yapılandırma parametre çalışmaları yapıldı. Lazer kağıdı ve Al/Al_2O_3 kaplı numuneler üzerinde yapılan bu çalışmada; ayna açısı, lazer gücü, ve periyot değerlerinin belirleme denemeleri gerçekleştirildi. Denemelerin yapılabilmesi için öncelikle deneysel sistemin ayarlanması gerekmektedir. Bunun için deneysel sistemde kullanılan Michelson interferometre sistemindeki hareketli aynalara açı verilmeden ışınların (Işın 1 ve Işın 2) üst üste binmesi sağlandı. En uygun periyodik yapılar oluşturularak sistem ayarlandı. Şekil 3.2'de lazer kağıdı üzerinde sistemin ayarlanması sonucu oluşan periyodik yapılı yüzey görülmektedir.



Şekil 3.2. 40 mW güçte, lazer kağıdı üzerinde deneysel sistemin ayarlanması sonucu oluşan optik mikroskop görüntüsü

Deneysel sistem ayarlandıktan sonra lazer kağıdı ve Al/Al_2O_3 kaplı cam numuneler üzerinde periyodik yapı üretimi için ayna açısı belirleme çalışmaları gerçekleştirildi. Çalışmada, Michelson interferometre sisteminde bulunan hareketli aynalara 0,04º, 0,08º, 0,12º, 0,16º ve 0,20º olmak üzere beş farklı açı verildi. Analizler sonucunda 0,16º ve 0,20º ayna açıları kullanılarak işlenen yüzeylerde oluşan periyodik yapılarda şekil bozuklukları görüldü. Bunun üzerine yüzey işleme çalışmalarında; 0,04º, 0,08º ve 0,12º ayna açıları kullanıldı.

Ayna açılarının değişimiyle periyodik yapıların periyotları değişmektedir. Periyot değerleri belirlenirken optik mikroskop görüntülerinden yararlanıldı. Şekil 3.3'de yüzeylerin işlenmesi sonucu oluşan periyodik yapıların optik mikroskop görüntüsü yer almaktadır. Burada lazerle işlenen yüzeyde siyah ve beyaz periyodik yapılar oluştu. Siyah yapılar, periyodik yapıların boşluklarını gösterirken (lazerle işlenmemiş yüzey iken) beyaz yapılar, yüzeyin lazere maruz kalması sonucu malzemenin kaplamasının eriyip tekrar katılaşmasıyla oluşan yapıdır. Yani beyaz yapılar periyodik yapıları oluştururlar. Saçakların periyotu, Şekil 3.3'de gösterildiği gibi iki ok arası mesafe olarak ölçülmektedir.



Şekil 3.3. 0,08º açıda ve 40 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzemenin yüzeyinde oluşan saçakların optik mikroskop görüntüsü [53]

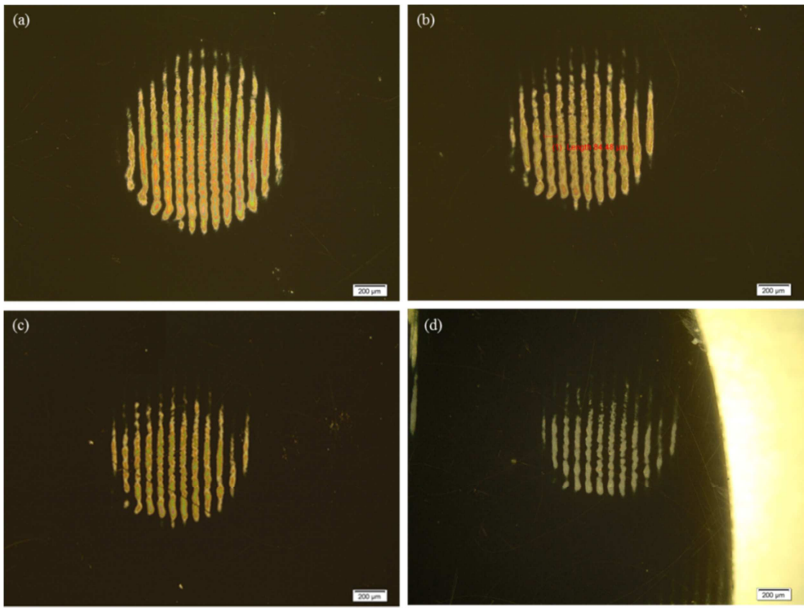
Ayna açıları belirlendikten sonra lazer gücü belirleme çalışmaları gerçekleştirildi. Yüksek lazer güçlerinde malzemelerin kaplamasının zarar görmesi, daha düşük güçlerde ise nano-saniye atımlı Nd:YAG lazerin kararsızlık göstermesi nedeniyle lazer kağıdı ve Al/Al_2O_3 kaplı cam numuneler sadece 40 mW lazer gücü ile işlenebildi. Yüksek güçlere çıkabilmek için deneysel sisteme filtre, demet bölücü, iris ve maske gibi çeşitli optik malzemeler eklenerek denemeler gerçekleştirildi.

Yüksek lazer güçlerinde çalışabilmek için yapılan denemelerin birincisinde, filtrelerden yararlanıldı. Farklı yoğunluğa sahip filtreler; deneysel düzenekte, lazer kaynağı ile Michelson interferometre sisteminin arasına yerleştirildi. Filtreli sistemde lazer güçleri ölçülürken filtrelerden sonra seramik powermetre kullanıldı. Tablo 3.1'de sisteme yerleştirilen filtrelere karşılık gelen lazer güçleri yer almaktadır. Lazer güçleri ölçülürken powermetre ile 5 adet ölçüm alındı ve bu ölçümlerin ortalamaları alınarak elde edildi. Filtrelere karşılık gelen güçlere bakıldığında yaklaşık 40 mW güç elde etmek için 0,4, 0,3 ve 0,2 yoğunluğa sahip olan filtrelerin sistemde aynı anda kullanılması gerekir. Ancak sistemde bu yoğunluğa sahip filtreler kullanılarak oluşturulan periyodik yapılarda şekil bozuklukları meydana geldi (Şekil 3.4d). Ayrıca Şekil 3.5'de görülen optik mikroskop görüntüsünde 0,04º ayna açısında ve 36 mW güçte işlenen yüzeyde oluşan saçakların periyodu teoriden oldukça uzaktır. Bu açıda oluşan periyodik yapıların periyodu teorik olarak 26 µm olması beklenirken görüntüde yaklaşık 48 µm olduğu görüldü.

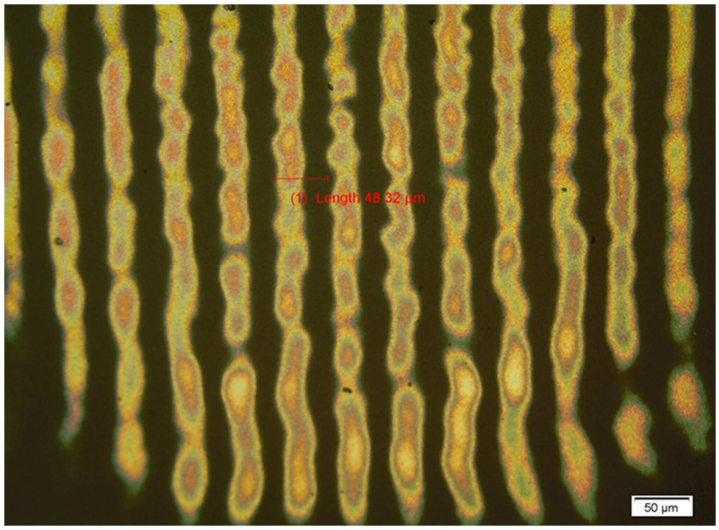
Tablo 3.1. Deney sisteminde kullanılan filtre yoğunluklarına karşılık gelen güç değerleri

Filtre Yoğunluğu	Ölçülen güç (mW)
0,4	67,22
0,4+0,2	58
0,4+0,3	47,22
0,4+0,3+0,2	36,42

Şekil 3.4'de 0,04º ayna açısında Al/Al_2O_3 kaplı cam numuneler işlenirken kullanılan farklı yoğunluğa sahip filtrelerle yapılan denemeler gösterilmektedir. Alınan optik mikroskop görüntüleri karşılaştırıldığında oluşan periyodik yapılarda şekil bozuklukları görüldü (Şekil 3.4a-d). Ayrıca sisteme eklenen filtre sayısı arttıkça periyodik yapıların üst kısımlarının belirginliği azaldı (Şekil 3.4b-d). Sisteme üç farklı yoğunluğa sahip filtre eklendiğinde ise periyodik yapıların neredeyse yarısının yok olmaya başladığı görüldü (Şekil 3.4d).



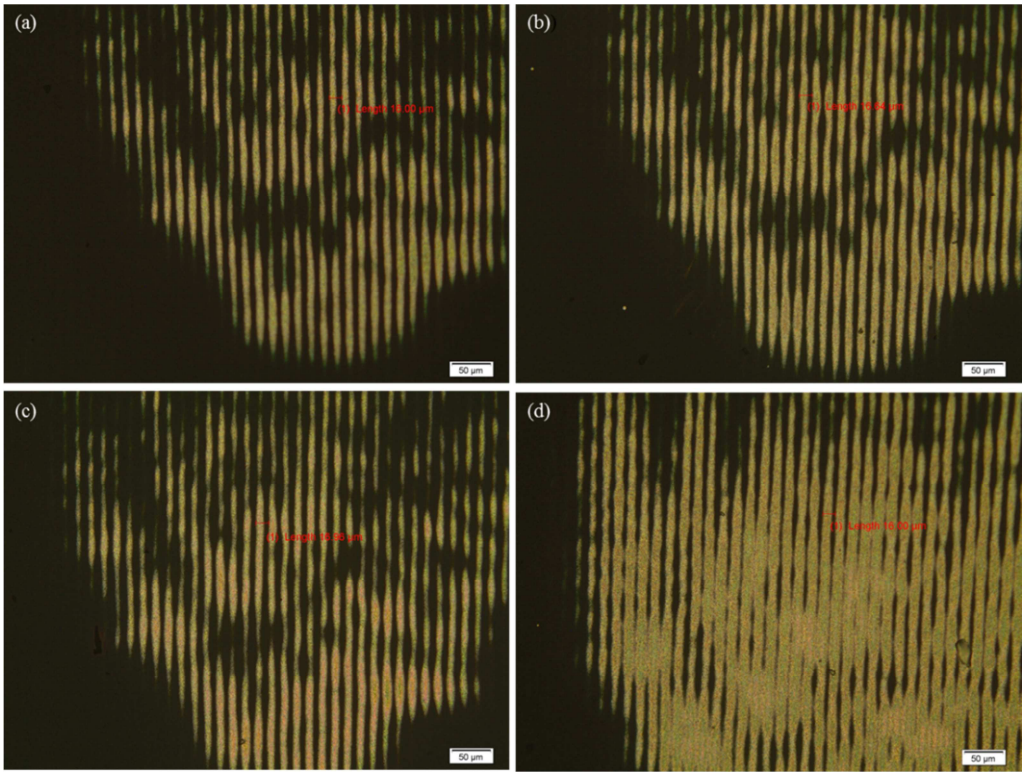
Şekil 3.4. 0,04º ayna açısında işlenmiş Al/Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin; (a) 0,4 yoğunluğa sahip filtre kullanıldığında, (b) 0,4 ve 0,2 yoğunluklu filtre kullanıldığında, (c) 0,4 ve 0,3 yoğunluklu filtre kullanıldığında, (d) 0,4, 0,3 ve 0,2 yoğunluklu filtre kullanıldığında alınan optik mikroskop görüntüleri



Şekil 3.5. 0,04º'de ve 36 mW güçte işlenmiş Al/Al_2O_3 kaplı cam malzemenin yüzeyinde oluşan periyodik yapıların bozukluklarını optik mikroskop görüntüsü

Periyodik yapılarda şekil bozukluklarının oluşması ve oluşan periyotların teoriden uzak olması nedeniyle sistemde filtre kullanılması uygun görülmedi. Bunun üzerine sistem iki adet demet bölücü ile tekrar tasarlandı. İki adet demet bölücü lazer kaynağı ile Michelson interferometresi arasına yerleştirildi. Kaynaktan çıkan lazer demeti, ilk ışın bölücüden geçtiğinde gücünün yarısını kaybetti, ikinciden geçtiğinde kalan gücünün yarısını daha kaybetti. Böylece lazer çıkış gücü arttırılabilirken iki demet bölücü sayesinde kaplamaya zarar vermeyecek lazer güçleri elde edildi.

İki demet bölücü kullanılan sistem yardımıyla; 0,04º, 0,08º ve 0,12º olmak üzere üç farklı ayna açısında yüzeyler işlendi. Şekil 3.6'da, ayna açısı 0,08º'de sabit tutulup farklı lazer güçlerinde işlenen Al_2O_3 kaplı cam slaytların üzerinde oluşan periyodik yapılar görülmektedir. Aynı açıda ve farklı lazer güçleri kullanılarak işlenen yüzeyde elde edilen periyodik yapıların periyotlarında çok fazla değişim gözlenmedi. Ancak Şekil 3.6a-d görüntüleri incelendiğinde periyodik yapılarda şekil bozuklukları oluştuğu görülmektedir. Ayrıca aynı ayna açısında işlenen yüzeylerde oluşan periyodik yapıların boşluklarının, Şekil 3.6d'de görüldüğü gibi lazer güçlerinin artması ile yok olmaya başladığı görüldü. Burada lazer gücü arttıkça malzeme daha fazla eridiğinden periyodik yapılar birbirine yapışır ve sonuç olarak periyodik yapıların arasındaki boşluklar kaybolur.



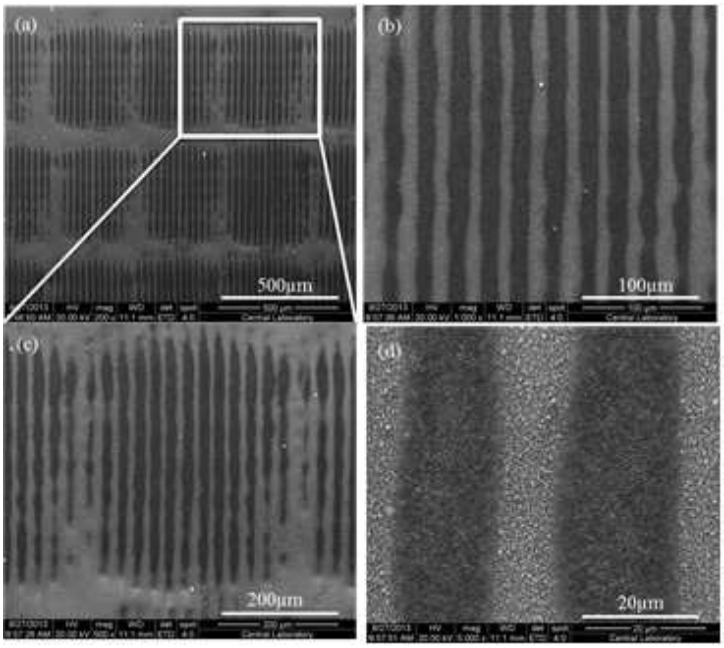
Şekil 3.6. İki demet bölücü kullanılan deneysel sistemde 0,08º'de ve farklı güçlerde işlenen yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri. Saçakların güç ve periyot değerleri, (a) 6,6 mW ve 16 µm, (b) 13 mW ve 16,64 µm, (c) 21,9 mW ve 16,96 µm, (d) 27,4 mW ve 16 µm

İki demet bölücü kullanılarak tasarlanan deneysel sistemle lazer gücü belirlenmesi çalışmasında kullanılan demet bölücüler yardımıyla yüksek lazer gücü kullanılarak kaplamaya zarar vermeyecek güçler elde edildi. Ancak oluşan saçakların şeklinde ve düzeninde bozukluklar görüldü. Bu bozuklukları düzeltmek için deneysel sistemde kullanılan demet bölücüler çıkarıldı. İris ve maskelerden yararlanılarak yeni bir sistem tasarlandı. Son olarak tasarlanan bu sistem kullanılarak Al_2O_3 kaplı cam malzeme yüzeylerinin işlenmesine karar verildi.

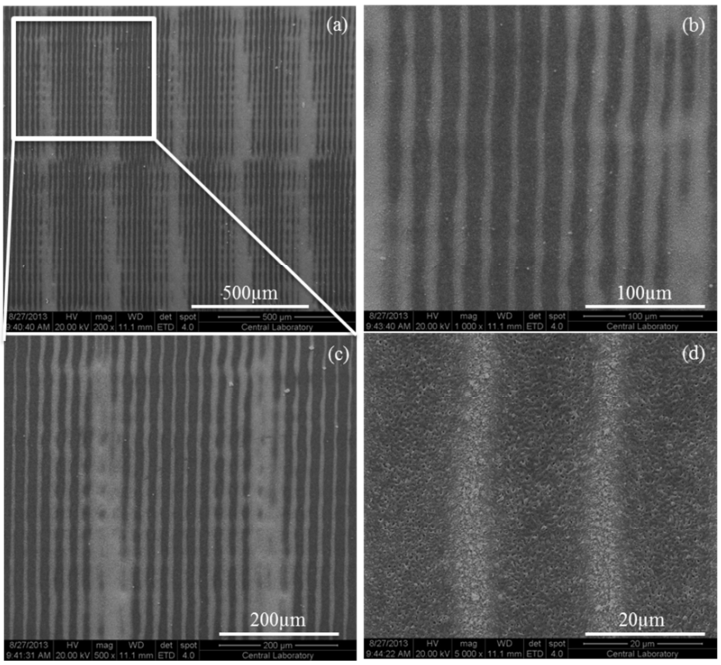
3.3. Al_2O_3 Kaplı Cam Malzemelerin İki Işın Girişim Tekniği İle İşlenmesi

Yapılandırma parametrelerinin belirlenmesi çalışmaları sonucunda, iris ve maske kullanılan deneysel düzenek ile Al_2O_3 kaplı cam malzemeler üzerinde periyodik yapılar oluşturuldu. İki ışın girişim tekniğinin kullanıldığı, Bölüm 3.1'de ayrıntılı olarak anlatılan bu deneysel sistem (Şekil 3.1) ile Al_2O_3 kaplı cam malzemeler, 40 mW güçte ve 0,04º, 0,08º ve 0,12º ayna açılarında işlendi.

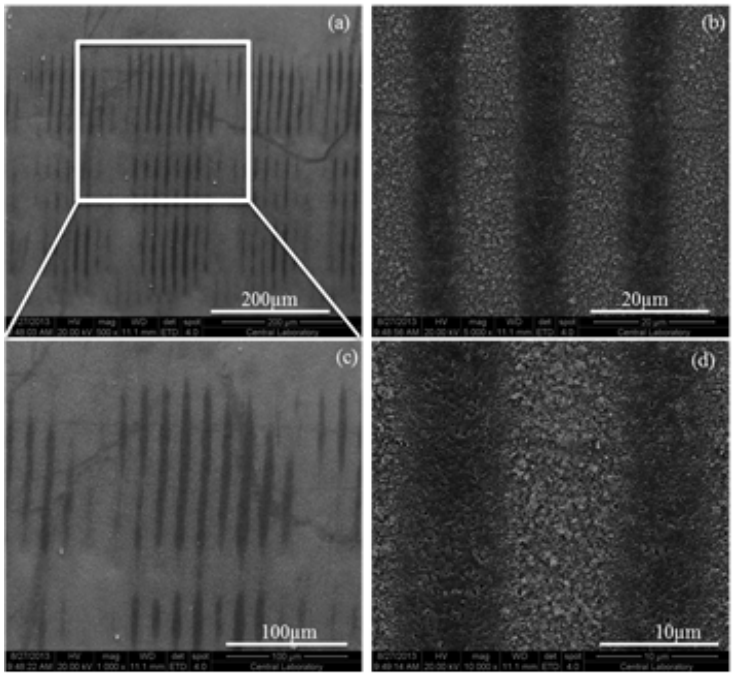
Şekil 3.7-3.9 görüntülerinde ayna açıları ve güçleri sırasıyla 0,04º ve 40 mW, 0,08º ve 40 mW, 0,12º ve 55 mW şeklinde verilen özelliklerde işlenen yüzeylerin farklı büyütmelerde alınan elektron mikroskobu görüntüleri yer almaktadır. Yüzeyler üzerinde lazerle oluşturulan periyodik yapıların kare maske ile sınırlandırıldığı Şekil 3.7-3.9 (a) görüntülerinde görülmektedir. Diğer görüntüler farklı açılarda işlenmiş yüzeylerdeki görüntülerle karşılaştırıldığında Şekil 3.8 (b) ve (c)'de elde edilen periyotların ne kadar düzgün olduğu görülmektedir. Şekil 3.8 (d) incelendiğinde; cam yüzey üzerine kaplama sonucu oluşan nano yapılar ile birlikte 21 µm büyüklüğünde periyotlar görülmektedir. Böylece implant yüzey üzerinde hem nano hem de mikro yapılar oluşturuldu.



Şekil 3.7. 0,04º ayna açısında ve 40 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzeme yüzeyinin Elektron mikroskopu görüntüleri; (a) Oluşan periyodik yapılar, (b) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü, (c) a'daki görüntünün farklı büyütmedeki görüntüsü, (d) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü

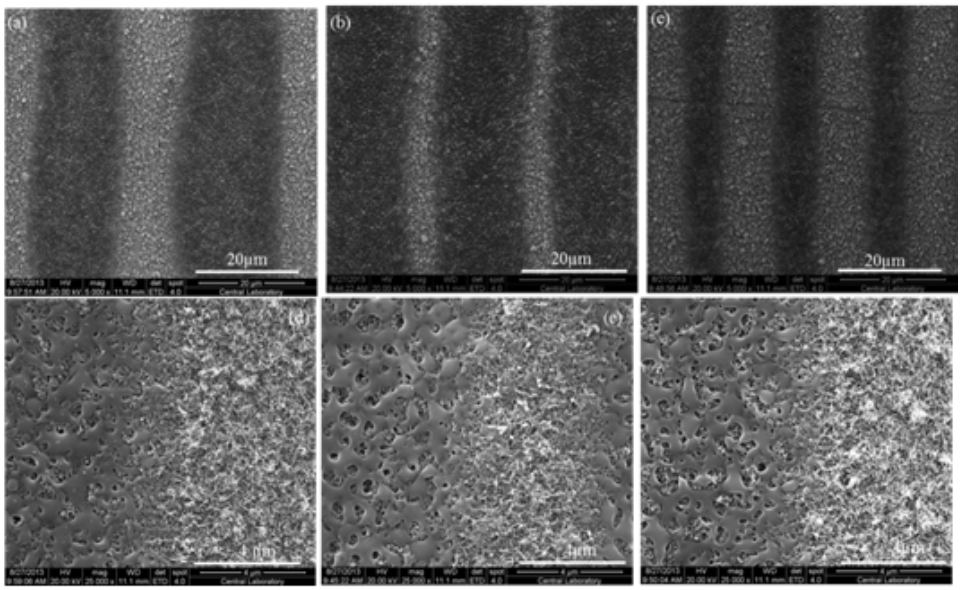


Şekil 3.8. 0,08º ayna açısında ve 40 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzeme yüzeyinin Elektron mikroskopu görüntüleri; (a) Oluşan periyodik yapılar, (b) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü, (c) a'daki görüntünün farklı büyütmedeki görüntüsü, (d) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü



Şekil 3.9. 0,12º ayna açısında ve 55 mW güçte işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzeme yüzeyinin Elektron mikroskopu görüntüleri; (a) Oluşan periyodik yapılar, (b) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü, (c) a'daki görüntünün farklı büyütmedeki görüntüsü, (d) Oluşan saçakların farklı büyütmelerdeki görüntüsü

Şekil 3.10'de aynaların açılarının değiştirilmesi ile ışınlar arası mesafe değişir ve sonuç olarak periyotların değişimi görülmektedir. Ayna açıları sırası ile 0,04º, 0,08º ve 0,12º olacak şekilde değiştirildi ve görüntülerin büyütmeleri aynıdır. Ölçülen periyotlar, Tablo 3.3'de verildiği üzere 26, 21 ve 16 µm'dir.



Şekil 3.10. İki ışın girişim yöntemi ile işlenen Al_2O_3 kaplı cam slaytların yüzeyinde oluşan saçaklar. Ayna açısı ve periyotları sırasıyla; (a) 0,04º ve 26 µm, (b) 0,08º ve 21 µm, **(**c) 0,12º ve 16 µm. Alt sırada yer alan görüntüler; (a), (b), (c) ile (d), (e), **(**f) aynı özelliklerde ancak farklı büyütmedeki görüntüleri [53]

Tablo 3.2'de Michelson interferometre sisteminde bulunan aynaların (HA1 ve HA2) açılarının değiştirilmesi sonucu yüzeyde oluşan saçakların yani periyotların ölçülen değerleri ve ölçülen kontak açı değerleri verildi.

Tablo 3.2. Deneysel sistemde, aynalara (HA1 ve HA2) verilen açı θ değiştirilerek elde edilen yüzeylerin ölçülen periyodu d ve ölçülen kontak açıları [53]

Aynaların açısı θ º	Ölçülen Periyot d (µm)	Kontak Açısı Φº
0,04	26	173
0,08	21	158
0,12	16	148

3.3.1. İki ışın girişim tekniği ile oluşturulan periyodik yapıların teorik incelemesi

İki ışın girişim tekniği kullanılarak Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin yüzeylerinde periyodik yüzey yapıları oluşturuldu. Hedef yüzeyinde oluşan periyodik yapıların periyotlarının (d) teorik olarak hesaplanmasında;

$$d = \frac{\lambda}{(2\sin\alpha)} \tag{3.1}$$

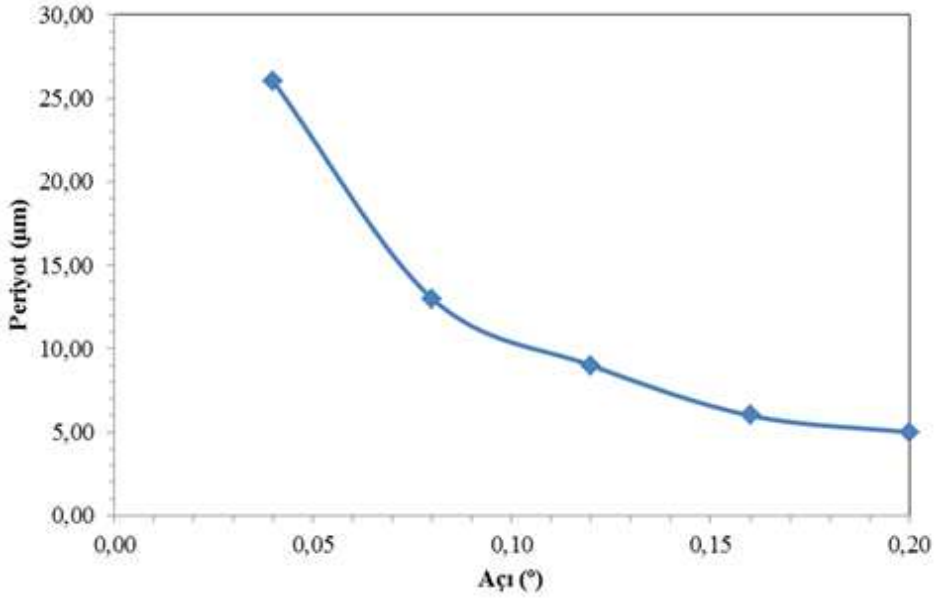
formülünden yararlanılır [14]. Burada; λ, ışının dalga boyudur (532 nm'dir). α açısı, odaklama lensinden sonra iki ışın arasındaki açı olarak bilinir,

$$\alpha = \tan^{-1}(\frac{D}{2f}) \tag{3.2}$$

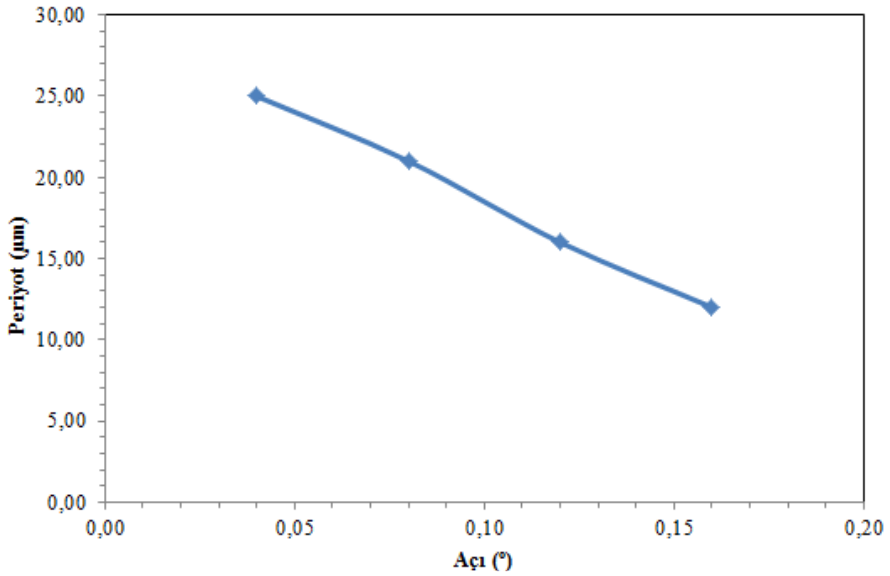
ile hesaplanır [14]. Bu α değerinin değişmesi ile hedef yüzeyinde oluşan periyotlar değişir. Burada f lensin odak uzaklığıdır ve sistemde 150 mm'de sabit tutuldu. D ise mercek üzerine düşen iki ışın arasındaki mesafedir. Bu çalışmada hareketli aynaların açıları θ değiştirilerek D mesafesi değiştirilmiş olur. D mesafesinin değişimiyle α açısı değişir ve dolayısıyla periyot değerleri değişim gösterir. Tablo 3.3'de ayna açılarının (θ) değişimiyle elde edilen deneysel ve teorik periyot değerleri görülmektedir. Bu değerler incelendiğinde, ayna açısının artması ile periyot değerlerinin azaldığı görülmektedir. Şekil 3.11'de değişen açı değerlerine karşılık teorik olarak hesaplanmış periyotların değişim grafiği gösterilmektedir. Grafiğe göre, artan açı değerlerinde periyodun azaldığı gözlendi. Benzer şekilde, deneysel olarak elde edilen periyot değerleri artan ayna açılarında azalmaktadır (Şekil 3.12). Bu durum, deneysel çalışmanın teori ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Teorik olarak hesaplanan periyot değerleri ile elde edilen deneysel periyot değerleri karşılaştırıldığında yakın değerler olduğu görülmektedir.

Tablo 3.3. D merceğin üzerindeki iki ışın arası mesafe; θ aynalara verilen açı ve d periyot olmak üzere teorik ve deneysel periyot değerleri

İki Işın Arası Mesafe	Ayna açısı	Teorik Periyot	Deneysel Periyot
D(mm)	θ (º)	d(µm)	d(µm)
3	0,04	26	26
6	0,08	13	21
9	0,12	9	16



Şekil 3.11. Teorik olarak hesaplanan periyot değerlerinin ayna açılarına göre değişimi



Şekil 3.12. Kare maske ve iris kullanılarak oluşturulan sistemle işlenen Al_2O_3 kaplı cam slaytların periyotlarının açıya göre değişimi

3.3.2. İki ışın girişim tekniği ile yapılandırılan Al_2O_3 kaplı cam slaytlar üzerine hücre kültürü çalışmaları

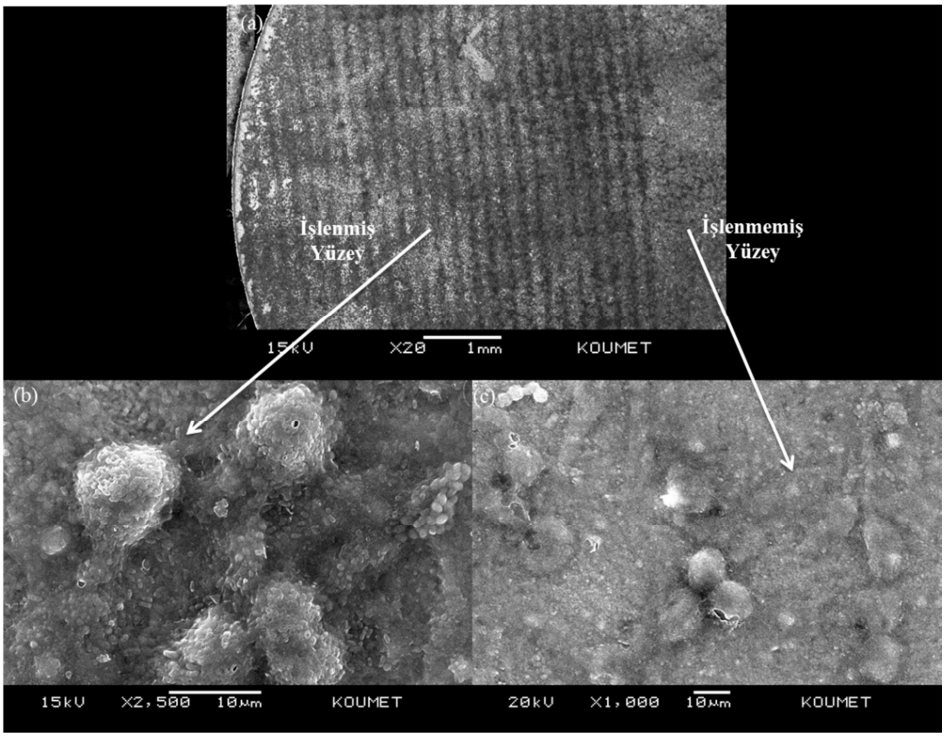
Hücre kültürü çalışmaları için Bölüm 3.2'de ayrıntılı olarak anlatılan nano-saniye Nd:YAG lazer kullanılarak iki ışın girişim tekniği ile Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin yüzeyinin yarısında periyodik yapılar oluşturuldu, diğer yarısı işlenmeden bırakıldı (Şekil 3.13a). Ayna açıları 0,04º, 0,08º ve 0,12º olmak üzere üç farklı açıda işlenmiş yüzeyler üzerine endotel hücreleri (HUVEC) ekildi ve hücrelerin yüzey üzerinde tutunma davranışları incelendi.

Hücre ekimi çalışmalarında, İnsan endotel hücreleri (HUVEC), Cell Applications Inc. (California, US) firmasından temin edildi ve hücreler özel ortamlarında muhafaza edildi (ortam katalog numarası 211-500, Cell applications Inc. US). Hücreler, 37°C sıcaklıkta ve % 5 CO_2 / % 95 havanın bulunduğu nemlendirilmiş atmosfer şartlarında 75 $cm^{2'}$ lik kültür kaplarına ekildi ve % 85 ile % 90 arasında değişen akışla numune yüzeylerine aktarıldı. Hücrelerin sayısı trypan olarak adlandırılan mavi boya kullanılarak hemocytometre yardımıyla belirlendi. Hücreler, lazerle işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzeme ve titanyum yüzey üzerine eşit sayıda (3×10^4cells/well) ekildi.

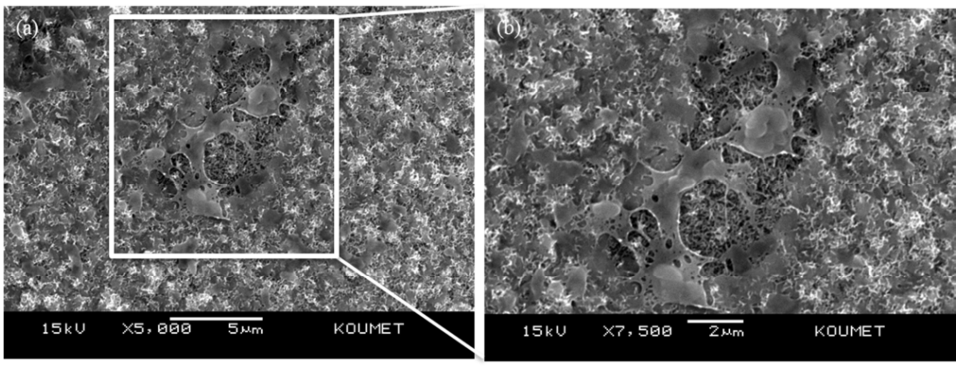
Numunelere hücre ekimi gerçekleştikten bir gün sonra SEM analizi için hücrelerin sabitlenmesi çalışmaları yapıldı. Bunun için, PBS (Phoshate Buffered Saline) ve % 2,5 Gluteraldehit çözeltisi hazırlandı. Hücre ekimi gerçekleştirilmiş numuneler PBS içine batırılıp yıkandıktan sonra hazırlanan çözelti içine sırasıyla alındı ve 20 dk bekletildi. PBS ile yıkandıktan sonra yine PBS içinde +4 ºC' de buzdolabında bir gün bekletildi. Ertesi gün tüplere % 15, 30, 50, 70, 100 oranlarında etanol-su çözeltisi hazırlandı ve her bir numune damıtılmış suda yıkandıktan sonra 15'er dk. damıtılmış suda ve çözeltide bekletildi. Sonrasında içlerinde PBS bulunan petri kaplarında oda sıcaklığında SEM gününe kadar bekletildi. Hazırlanan numuneler SEM analizi için gümüş ile kaplandı. SEM analizi gerçekleştikten sonra yine aynı numunelerin floresan mikroskobu kullanılarak analizleri yapıldı. Floresan mikroskobu görüntülerinin alınabilmesi için hücrelerin çekirdekleri, PBS içinde 0.2% oranında ethidium homodimer-1 maddesi ile 30 dk süreyle boyandı.

Şekil 3.13a'da yarısı ayna açısı 0,08º olan iki ışın girişim sistemi ile işlenmiş ve yarısı işlenmemiş Al_2O_3 kaplı cam numune yüzeyine ekilen hücrelerin görüntüleri yer almaktadır. Şekil 3.13b'de lazerle periyodik yapıların oluşturulduğu bölgeden Şekil 3.13c'de de işlenmeyen bölgede yerleşen hücrelerin elektron mikroskobu görüntüleri görülmektedir.

Her iki yüzeyde de hücreler tüm yüzeyi kapladığından işlenmiş yüzeyler ve işlenmemiş yüzeylerde hücre davranışı tam olarak gözlenemedi. Şekil 3.14'de ayna açısı 0,04º'de işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam numune üzerinde iyi tutunmuş hücre görüntüsü yer almaktadır, bu hücrenin büyütülmüş hali Şekil 3.14b'de görülmektedir. Hücrelerin iyi tutunduğu anlaşılmakla beraber, işlenmiş ve işlenmemiş yüzeyler üzerindeki tercihleri ayırt edilememektedir.



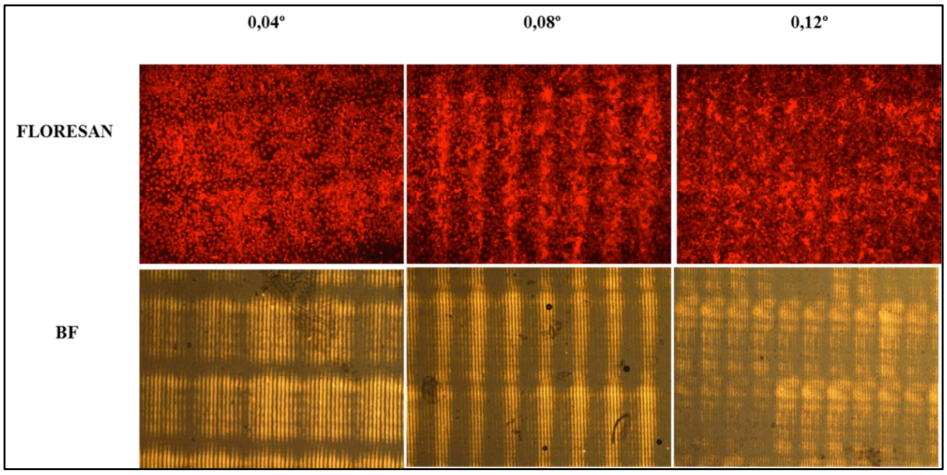
Şekil 3.13. Yarısı ayna açısı 0,08º olan iki ışın girişim sistemi ile işlenmiş ve yarısı işlenmemiş Al_2O_3 kaplı cam numune yüzeyine ekilen hücrelerin görüntüleri; (a) Numunenin hem periyodik yapılı bölgesini hem de lazerle işlenmemiş bölgesini içeren numune görüntüsü, (b) Periyodik yapılı bölgede yerleşen hücreler ve (c) Lazerle işlenmemiş bölgede yerleşen hücre görüntüleri [53]



Şekil 3.14. (a) Ayna açısı 0,04º olan iki ışın girişim sistemi ile işlenmiş numune yüzeyine ekilen hücreler, (b) İlk görüntüde işaretlenen, iyi tutunmuş hücrenin büyütülmüş görüntüsü [53]

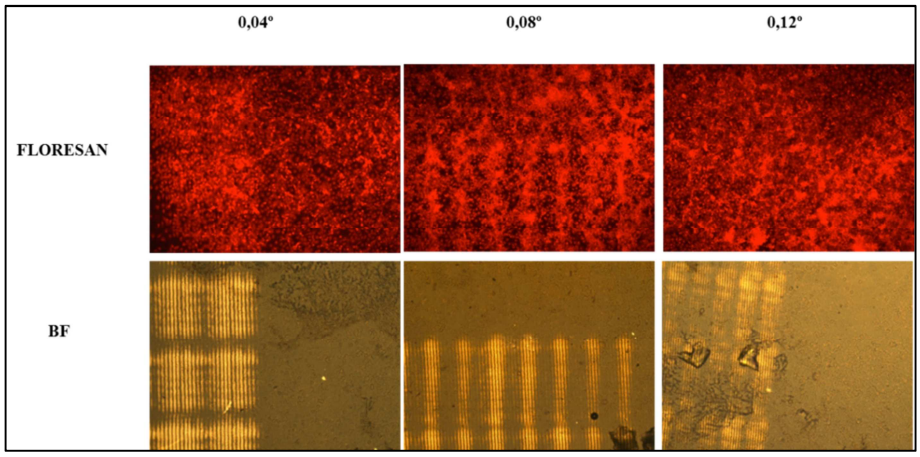
Hücre davranışlarının işlenmiş ve işlenmemiş yüzeylerde daha etkili bir şekilde incelenebilmesi için, farklı bir analiz yöntemi uygulandı. Yüzeyde bulunan periyodik yapılara hücrelerin yönelimlerini belirlemek amacıyla hücrelerin çekirdekleri kırmızıya boyandı ve floresan, beyaz ışık (Bright Field) mikroskop görüntüleri alındı. Alınan görüntülerde hücrelerin işlenmiş kısımlara dizilimleri incelendi.

Şekil 3.15'de 0,04^{o}, 0,08^{o} ve 0,12^{o} açılarda elde edilmiş periyodik yapılara sahip numuneler üzerine ekilen hücrelerin çekirdekleri boyanarak alınan Floresan ve BF görüntüleri verilmektedir. Görüntüler incelendiğinde hücrelerin periyodik yapılı bölgeleri daha çok tercih ettiği ve üst üste yığılmalar gösterdiği görülmektedir. 0,04^{o} açıda numunenin BF görüntülerinde kare maskenin periyodik yapılarını çevrelediği açıkça görülmektedir. Floresan görüntüsüne bakıldığında kare maskenin çerçevesi hücrelerin yoğunluk göstermesi ile belirginleştiği görülmektedir. En düzgün dizilim gösteren yüzeyin 0,08^{o} de 21 µm periyotlu yüzey olduğu görüldü. Ayna açısı 0,12^{o}'' de işlenen yüzeyde periyodik yapılarda oluşan kusurlar hücrelerin tutunmalarını etkilediği açıkça gözlenmektedir. Bu açıda işlenmiş yüzeyde boyanan hücrelerin saçakların dizilimine göre olduğu görüldü.

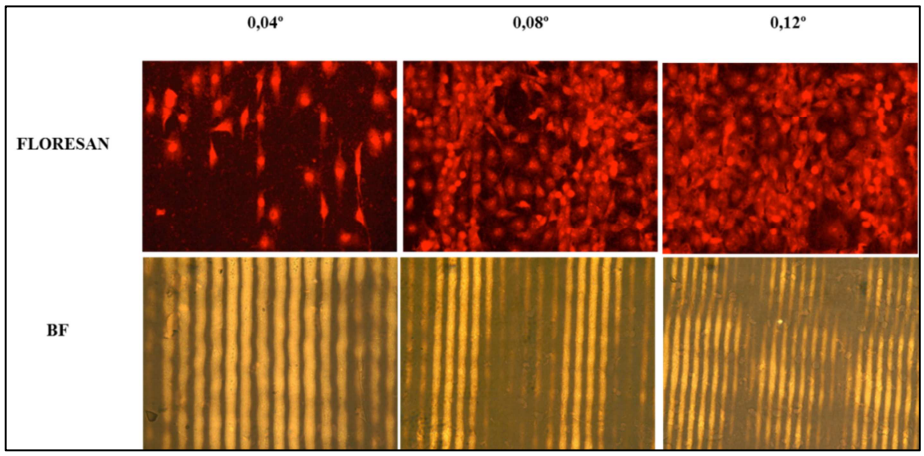


Şekil 3.15. 0,04^{o}; 0,08^{o}; 0,12^{o}''de işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzemenin yüzeyinde bulunan boyalı hücrelerin 10x büyütmede periyodik yapıların olduğu kısımdan çekilmiş floresan ve BF (Bright Field) görüntüleri [53]

Şekil 3.16'da 0,04^{o}, 0,08^{o} ve 0,12^{o} ayna açıları kullanılarak yarısı işlenen Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin yüzeyinde büyüyen boyalı hücrelerin işlenmiş ve işlenmemiş yüzeyinin ara bölgesinden alınmış floresan ve BF görüntüleri yer almaktadır. HUVEC hücrelerinin çeşitli yüzeyler üzerinde kolaylıkla büyüdüğü bilinmektedir [54]. Şekil 3.16'da açıkça görülmektedir ki HUVEC hücreleri lazerle işlenen bölgelere daha fazla tutunma isteği gösterdi ve işlenmemiş bölgelerde üst üste yığıldı. Şekil 3.17'de 0,04^{o}, 0,08^{o} ve 0,12^{o} işlenmiş alümina yüzeyde büyüyen boyalı hücrelerin işlenmiş yüzeyde 40x büyütme ile alınan görüntülerinde, hücrelerin periyodik yapılar üzerinde büyüme eğilimi açıkça görülmektedir.



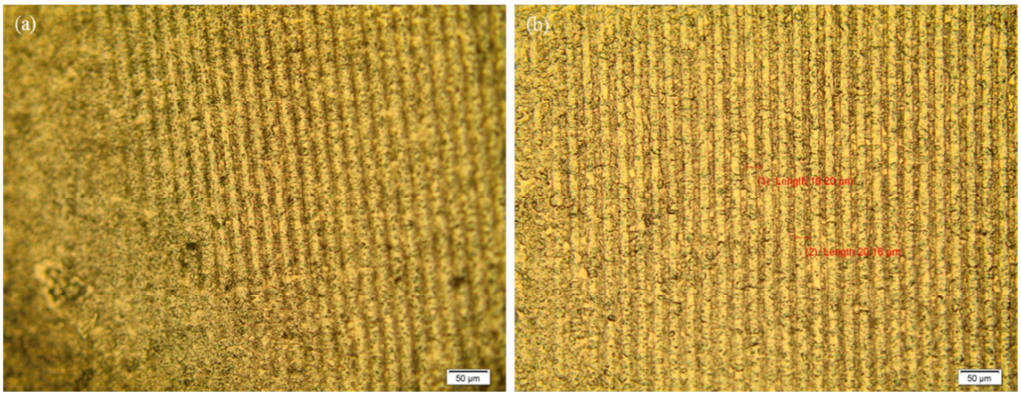
Şekil 3.16. 0,04º; 0,08º; 0,12º'de işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin yüzeyinde bulunan boyalı hücrelerin 10x büyütmede işlenmiş ve işlenmemiş yüzeyinin ara bölgesinden alınmış floresan ve BF (Bright Field) görüntüleri [53]



Şekil 3.17. 0,04º; 0,08º; 0,12º'de işlenmiş Al_2O_3 kaplı cam malzemelerin yüzeyinde bulunan boyalı hücrelerin 40x büyütmede periyodik yapılı kısımdan çekilmiş floresan ve BF (Bright Field) görüntüleri [53]

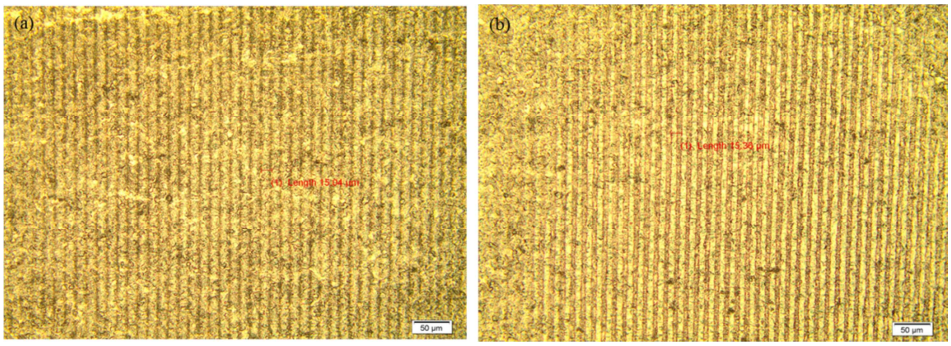
3.4. İki Işın Girişim Tekniği İle Titanyum Üzerine Oluşturulan Periyodik Yapılar

Titanyum malzemesi yüzeyinde periyodik yapı oluşturmak için Bölüm 3.2'de ayrıntılı olarak anlatılan deneysel sistem (Şekil 3.1) kullanıldı. Öncelikle titanyum malzeme için lazer gücü belirleme çalışmaları yapıldı. Bu çalışmada sistemde var olan iki kare maske kaldırıldı ve Michelson interferometre sisteminde bulunan hareketli aynalara 0,04º, 0,08º ve 0,12º olmak üzere üç faklı açıda lazerle tek atım yapılarak titanyum yüzeyler 77 mW-150 mW güçler arasında işlendi. Yüzeyde oluşan periyodik yapıları kontrol etmek için optik mikroskop görüntüleri alındı. Ayrıca oluşan yapıların profilometre yardımıyla derinliklerine bakıldı. Artan güçlerde işlenen titanyum yüzeyin optik mikroskop görüntülerine bakıldığında oluşan saçaklarda, lazer gücü arttıkça saçak boşluklarının kaybolduğu görüldü. Şekil 3.18'de görüldüğü gibi 96 mW güçte işlenen yüzeyde oluşan periyodik yapıların boşlukları görünürken 150 mW güçte işlenen yüzeyde periyodik yapıların boşlukları kayboldu ve saçaklarla aynı görünüme sahip oldular.



Şekil 3.18. 0,08º açıda (a) 96 mW, (b) 150 mW güçlerde işlenmiş titanyum yüzeyin optik mikroskop görüntüleri

Şekil 3.19'da 0,12º açıda sırasıyla 77 mW (periyot 15,04 µm) ve 150 mW (periyot 15,30 µm) güçlerde işlenen titanyum yüzeylerin optik mikroskop görüntüleri incelendiğinde, lazer gücü arttıkça oluşan periyodik yapıların periyotlarının değişmediği görülmektedir. Ayrıca lazer gücünün artması ile periyodik yapıların aralarındaki boşlukların kaybolduğu görülmektedir.

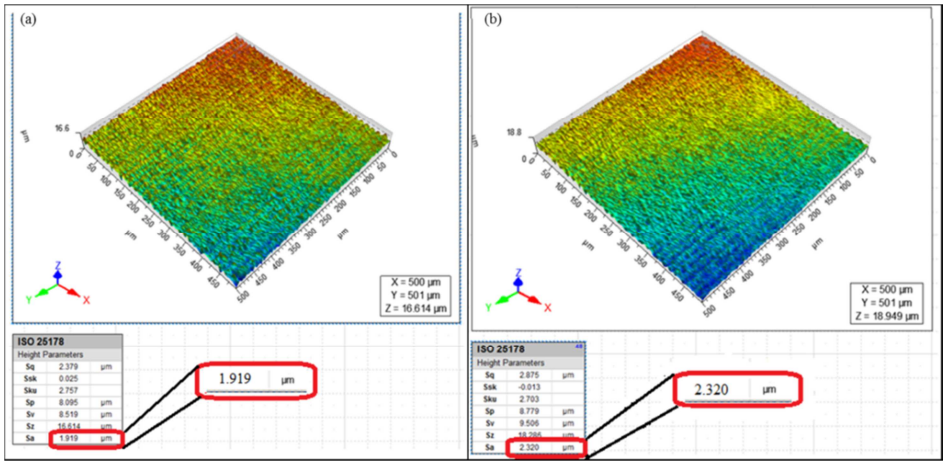


Şekil 3.19. 0,12º açıda (a) 77 mW ve (b) 150 mW güçler ile işlenen titanyum yüzeylerin optik mikroskop görüntüleri

Farklı açı ve güçlerde işlenen titanyum yüzeylerde oluşan saçakların derinliklerinin belirlenmesi için profilometre görüntüleri alındı. Derinliklere bakıldığında ilk iki açıda (0,04º ve 0,08º'de) lazer gücü arttıkça derinlik belirli bir güce kadar artıp sonrasında azalma görüldü. Yani lineer bir artış gözlenmedi. Ancak işlenmemiş yüzeyle (derinliği yaklaşık olarak 1,6 µm) kıyaslandığında saçakların derinliği daha fazladır.

Ayna açıları 0,12º ve 0,16º olduğunda lazer gücünün artması ile oluşan saçak derinlikleri artış gösterdi ancak alınan sonuçlarda derinlik en fazla işlenmemiş yüzeyin derinliğine eşit çıktı. Sonuç olarak, 0,04º ve 0,08º ayna açılarında işlenen titanyum yüzeylerde oluşan saçaklar bir derinliğe sahipken 0,12º ve 0,16º ayna açılarında işlenen yüzeylerdeki saçaklar belirli bir derinliğe sahip değildirler.

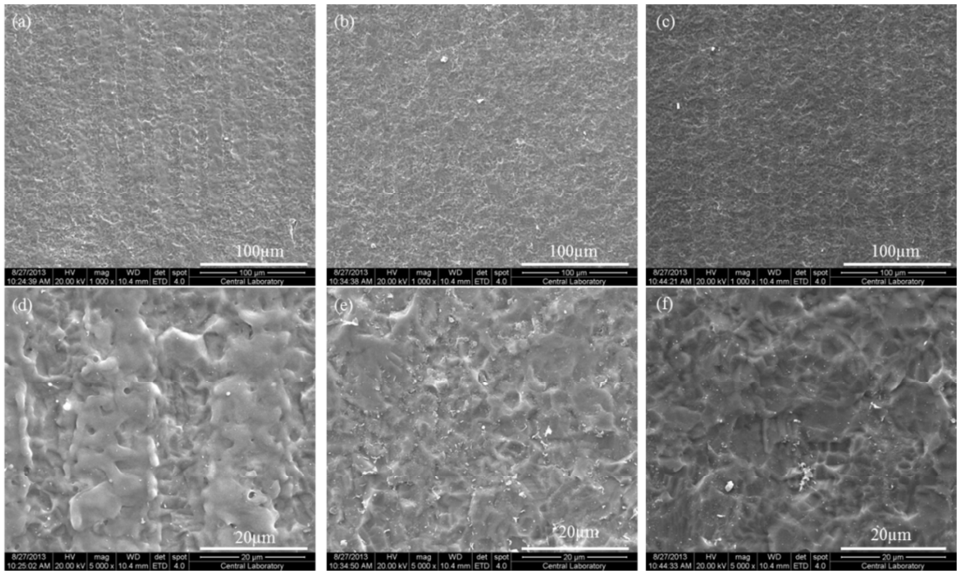
Şekil 3.20'de 0,04º ve 0,08º olmak üzere iki farklı ayna açısında işlenmiş yüzeylerin profilometre görüntüleri yer almaktadır. Oluşan yüzeylerin derinliklerini sırasıyla 1,9 µm ve 2,3 µm'dir ve derinlikleri karşılaştırdığımızda 0,08º ayna açısı ile işlenen yüzeydeki periyotların derinliği diğer açısından daha derin saçaklar oluştuğu gözlendi.



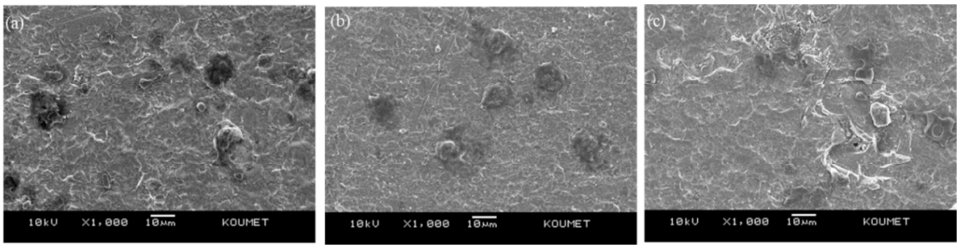
Şekil 3.20. 77 mW'da (a) 0,04º ve (b) 0,08º ayna açılarında işlenen titanyum yüzeyinin profilometre görüntüleri

Tek spot çalışmalarından alınan sonuçlara bakılırsa özellikle 0,04º ve 0,08º açıda, yüksek güçlerde saçak boşluklarının kaybolduğu ve bu nedenle artan lazer gücü ile derinliklerde azalma olduğu görüldü. Bu sonuçtan yola çıkılarak hücre kültürü için hazırlanan titanyum yüzeylerde daha düşük güçler kullanıldı. Böylece titanyum yüzeyler; 0,04º, 0,08º ve 0,12º olmak üzere üç farklı ayna açısında sırasıyla 96 mW, 44 mW ve 77 mW lazer gücünde işlendi. Oluşturulan periyodik yapıların periyotları ise sırasıyla 26, 21, 16 µm'dir. Sonuçta bu yüzeyler üzerine hücre ekimi çalışmaları gerçekleştirildi.

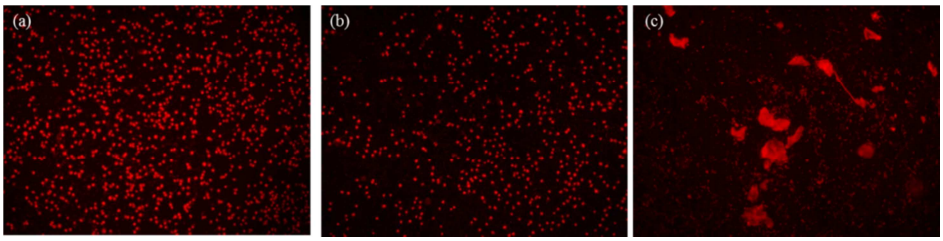
Şekil 3.21'de farklı açılarda işlenmiş titanyum yüzeylerde oluşan saçakların elektron mikroskobu görüntüleri verilmektedir. Şekil 3.21a ve d görüntülerine bakıldığında 0,04º açıda işlenen yüzeyleri diğer açılarla karşılaştırıldığında oluşan saçakların belirgin olduğu görülmektedir. Şekil 3.22'de işlenen titanyum yüzeyler üzerine hücre ekimi gerçekleştikten sonra alınan elektron mikroskobu görüntüleri yer almaktadır. Görüntüler incelendiğinde hücrelerin yüzeylere tutunmadığı görüldü. Aynı yüzeylerin floresan mikroskobu görüntüleri Şekil 3.23'de gösterilmektedir. Bu görüntülerde de hücrelerin yüzeylere tutunma davranışı göstermediği görülmektedir. Şekil 3.23c'de floresan mikroskobu ile 10x büyütmede görüntü alınamadığı için 40x büyütmedeki görüntü görülmektedir.



Şekil 3.21. İşlenmiş titanyum yüzeyinde oluşan saçakların Elektron mikroskobu görüntüleri Ayna açıları ve periyotları; (a) 0,04º ve 26 µm, (b) 0,08º ve 21 µm, (c) 0,12º ve 16 µm, Farklı büyütmelerde, (d) 0,04º ve 26 µm, (e) 0,08º ve 21 µm, (f) 0,12º ve 16 µm



Şekil 3.22. İki ışın girişim tekniği ile titanyum yüzeyler üzerine gerçekleştirilen hücrelerin elektron mikroskobu görüntüleri. Ayna açıları ve güçler; (a) 0,04º ve 96 mW, (b) 0,08º ve 44 mW, (c) 0,12º ve 77 mW



Şekil 3.23. İki ışın girişim tekniği ile titanyum yüzeyler üzerine ekimi gerçekleştirilen hücrelerin çekirdeklerinin boyanması sonrasında alınan floresan mikroskobu görüntüleri. Ayna açıları ve güçler; (a) 0,04º ve 96 mW, (b) 0,08º ve 44 mW, (c) 0,12º ve 77 mW (Büyütmeler sırasıyla; 10x, 10x ve 40x)

3.5. Sonuç

Bu bölümde, nano-saniye Nd:YAG lazer kullanılarak Al_2O_3 kaplı cam slaytların yüzeyleri üzerinde periyodik yapılar oluşturmak için iki ışın girişim tekniği ile yüzey yapılandırma ile ilgili deneysel çalışmalara yer verildi. Bölüm 3.2'de periyodik yapılandırma parametreleri belirleme çalışmaları ayrıntılı olarak anlatılmaktadır. Bölüm 3.3.2'de iki ışın girişim tekniği ile oluşturulan farklı periyotlara sahip periyodik yapılara insan endotel hücrelerinin ekilmesi ve hücrelerin periyodik yapılara davranışlarının incelenmesi ile ilgili çalışmalar anlatılmaktadır. Hücre kültürü çalışmaları Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi DEKART Proteomiks Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Lazerle yüzey yapılandırma işlemi, sağlık alanında kullanılan titanyum, çelik, ince film kaplı numuneler gibi çeşitli implant malzemelere, doku mühendisliğinde kullanılan membranlara, 3 boyutlu bilgi depolayan numunelere, optik dalga kılavuzu ve ızgara (grating) üretimi gibi çok farklı alanlarda kullanılan numunelere uygulanmaktadır. Lazerle yüzey yapılandırması, uygun yüzey topografisi, yüzeye bulaşmanın çok az olması ve karmaşık şekillere de uygulanıyor olması sebebiyle diğer kimyasal ve fiziksel yöntemlere göre daha avantajlıdır. Bu tez çalışmasında; femto-saniye atım uzunluğuna sahip Ti-Safir lazer ve nano-saniye atımlı Nd:YAG lazer kullanılarak tasarlanan deneysel sistemlerle çeşitli implant malzeme yüzeylerinin yapılandırılması gerçekleştirildi. Lazerle yapılandırılan bu yüzeyler üzerine endotel ve düz kas hücreleri ekilerek, hücrelerin bu yüzeyler üzerindeki davranışları incelendi.

Deneysel çalışmalarda; implant olarak kullanılma potansiyeline sahip Al_2O_3 kaplanmış cam numuneler ve Grade 2 Titanyum malzemeler kullanıldı. Al/Al_2O_3 iki fazlı numuneler, bu tez çalışmasının desteklendiği TÜBİTAK 110M760 no'lu projesi kapsamında INM Enstitüsü tarafından kimyasal biriktirme yöntemi kullanılarak üretildi. Bu numuneler nano-boyutlu teller içermektedir. Bu nano-yapılı numuneler üzerine lazerle mikro yapılar oluşturulduğu takdirde implant olarak kullanılabilme potansiyeli artmaktadır. Bu malzemelerin yüzey yapılandırma işlemleri, iki farklı lazer ve iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirildi.

Yüzeylerin yapılandırılması için lazerle doğrudan işleme yöntemi ve iki ışın girişim tekniği kullanıldı. Lazerle doğrudan işleme yöntemiyle malzeme üzerinde mikro boyutlarda matris şeklinde spotlar oluşturuldu. Elde edilen işlenmiş Al_2O_3 kaplı numuneler ve Titanyum plakalar üzerine endotel (HUVEC) hücreleri ile düz kas (HUVSMC) hücreleri ekildi ve tutunma etkileri incelendi. Bu yapılar üzerinde düz kas hücrelerinin yaşamadığı gözlemlendi ve çalışmalara endotel hücreler ile devam edildi. Ancak endotel hücrelerde tutunma gözlenmesine rağmen kesin bir sonuç alınamadı.

Bu tez çalışmasında kullanılan ikinci yapılandırma yöntemi de; Michelson interferometresi ve nanosaniye atım süreli Nd:YAG lazer kullanılarak geliştirilen iki ışın girişim tekniğidir. Bu teknik kullanılarak Al_2O_3 kaplı cam malzemeler ve Titanyum plakalar üzerine periyodik yapılar oluşturuldu. Periyodik yapıları barındıran bu yüzeyler üzerine endotel HUVEC hücreleri ekildi. Elde edilen sonuçlara göre özellikle endotel hücrelerin lazerle oluşturulan periyodik yapılara tutunduğu ve çoğaldığı gözlendi.

Elde edilen bu sonuçlar ışığında, iki ışın girişim tekniği ile üretilen periyodik yapılar, her türlü implant malzeme üzerine uygulanabilir özelliktedir. Bu implant malzemeler kardiyoloji alanında stent yapımında kullanılabileceği gibi ortopedi alanında kol ve bacak protezlerinde de kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Periyodik yapıların kontrol edilebilirliği; implant malzemelerin istenilen özelliklerde yapılabilir olması açısından önemlidir.

Ürettiğimiz periyodik yapılara sahip bu materyaller; sadece implant olarak değil mikro-elektronik, doku mühendisliği gibi farklı alanlarda da kullanılabilme özelliğine sahiptirler. Ayrıca bu periyodik yapı oluşturma yöntemi, ızgara üretimi (grating) ve optik dalga kılavuzu gibi malzemelerin üretimi için de kullanılabilir.

Bu yöntemlerin ülkemizde geliştirilmesi ve uygulamaya dönüştürülmesi ile birçok alanda ihtiyaç duyulan malzemelerin üretilmesini sağlayarak dışa bağımlılığın azalmasına katkıda bulunulur.

KAYNAKLAR

[1] Kim K. H., Ramaswamy N., Electrochemical surface modification of titanium in dentistry, *Dental Materials Journal*, 2009, **28**, 20-36.

[2] Chu P. K., Chen. J. Y., Wang L. P., Huang N., Plasma-surface modification of biomaterials, *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 2002, **36**, 143-206.

[3] Gaggl A., Schultes G., Müller W. D., Korcher H.,Scanning electronmicroscopical analysis of laser treated titanium implant surfaces a comparative study, *Biomaterials*, 2000, **21**, 1067-1073.

[4] Vorobyev A. Y., Guo C., Femtosecond laser structuring of titanium implants, *Applied Surface Science*, 2007, **253**, 7272–7280.

[5] Lippert T., Gerber T., Wokaun A., Funk D. J., Fukumura H., Single pulse nm-size grating formation in polymers using laser ablation with an irradiation wavelength of 355 nm, *Applied Physics Letters*, 1999, **75**, 1018-1020.

[6] Wang W., Lü B., Liu C., Zhang D., Luo Y., The morphology of pulsed laser induced damage on the surface of a copper film mirror, *Optics & Laser Technology*, 2003, **35**, 303 – 307.

[7] Yu F., Li P., Shen H., Mathur S., Lehr C.-M., Bakowsky U., Mücklich F., Laser interference lithography as a new and efficient technique for micropatterning of biopolymer surface, *Biomaterials*, 2005, **26**, 2307–2312.

[8] Trtica M. S., Gakovic B. M., Radak B. B., Batani D., Desai T., Bussoli M., Periodic surface structures on crystalline silicon created by 532 nm picosecond Nd:YAG laser pulses, *Applied Surface Science*, 2007, **254**, 1377–1381.

[9] Kenar H., Akman E., Kacar E., Demir A., Park H., Abdul-Khaliq H., Aktas C., Karaoz E., Femtosecond laser treatment of 316L improves its surface nanoroughness and carbon content and promotes osseointegration: An in vitro evaluation, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, **108**, 305-312.

[10] Milovanović D. S., Petrović S. M., Shulepov M. A., Tarasenko V. F., Radak B. B., Miljanić Š. S., Trtica M. S., Titanium alloy surface modification by excimer laser irradiation, *Optics & Laser Technology*, 2013, **54**, 419–427.

[11] Bereznai M., Pelsöczi I., Toth Z., Turzo K., Radnai M., Bor Z., Fazekas A., Surface modifications induced by ns and sub-ps excimer laser pulses on titanium implant material, *Biomaterials*, 2003, **24**, 4197–4203.

[12] Lee J., Schwarz L. K., Akkan C. K., Miro M. M., Abad O. T., Schaofer K.-H., Veith M., Aktas C., Guidance of glial cells and neurites from dorsal root ganglia by laser induced periodic patterning of biphasic core/shell nanowires, *Physica Status Solidi (A)*, 2013, **210**, 952-956.

[13] Oliveira V., Polushkin N. I., Conde O., Vilar R., Laser surface patterning using a Michelson interferometer and femtosecond laser radiation, *Optics & Laser Technology*, 2012, **44**, 2072-2075.

[14] Venkatakrishnan K., Sivakumar N. R., Hee C. W., Tan B., Liang W. L., Gan G. K., Direct fabrication of surface-relief grating by interferometric technique using femtosecond laser, *Applied Physics A*, 2003, **77**, 959–963.

[15] Aktas C., Dörrschuck E., Schuh C., Miró M. M., Lee J., Pütz N., Wennemuth G., Metzger W., Oberringer M., Veith M., Abdul-Khaliq H., Micro and nanostructured Al_2O_3 surfaces for controlled vascular endothelial and smooth muscle cell adhesion and proliferation, *Materials Science and Engineering: C*, 2012, **32**, 1017-1024.

[16] Candan L., Karbon-fiber takviyeli kompozitler ve polikarbonat malzemelerin lazerle delme parametrelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2008, 232756.

[17] Kacar E., Mutlu M., Akman E., Demir A., Candan L., Canel T., Günay V., Sınmazçelik T., Characterization of the drillng alümina ceramic using Nd:YAG laser, *Journal of Materials Processing Technology*, 2009, **209**, 2008–2014.

[18] http://www.ipfonline.com/IPFCONTENT/articles/an-introduction-to-laser cutting.php (Ziyaret tarihi: 29.12.2013)

[19] Oztoprak B. G., Akman E., Hanon M. M., Gunes M., Gumus S., Kacar E., Gundogdu O., Zeren M., Demir A., Laser welding of copper with stellite6 powder and investigation using LIBS technique, *Optics and Laser Technology*, 2012, **45**, 748-755.

[20] Trtica M., Gakovic B., Batani D., Desai T., Panjan P., Radak B., Surface modifications of a titanium implant by a picosecond Nd: YAG laser operating at 1064 and 532 nm, *Applied Surface Science*, 2006, **253**, 2551-2556.

[21] Tiaw K. S., Goh S. W., Hong M., Wang Z., Lan B., Teoh S. H., Laser surface modification of poly (€-caprolactone) (PCL) membrane for tissue engineering applications, *Biomaterials*, 2005, **26**, 763-769.

[22] Momcilovic M., Limpouch J., Kmetik V., Redaelli R., Savovic J., Batani D., Stasic J., Panjan P., Trtica M., Surface modification of copper using high intensity, 10^{15} W/ cm^2, femtosecond laser in vacuum, *Applied Surface Science*, 2012, **258**, 8908-8914.

[23] Lasagni A. F., Advanced design of periodical structures by laser interference metallurgy in the micro/nano scale on macroscopic areas, Doctoral Thesis, University of Saarland, The Engineering Department, Saarland Germany, 2006.

[24] Dalili A., Tan B., Venkatakrishnan K., Silicon wafer surface patterning using femtosecond laser irradiation below ablation threshold, *Optics and Lasers in Engineering*, 2010, **48**, 346–353.

[25] Holthaus M. M. M., Fabrication of ceramic micropatterns and their impact on bone cells, Doctoral Thesis, University of Bremen, Production Engineering, Bremen Germany, 2011.

[26] Bernard A., Renault J. P., Michel B., Bosshard H. R., Delamarche E., Microcontact printing of proteins, *Advanced Materials*, 2000, **12**, 1067-1070.

[27] Dusseiller M. R., Schlaepfer D., Koch M., Kroschewski R., Textor M., An inverted microcontact printing method on topographically structured polystyrene chips for arrayed micro-3-D culturing of single cells, *Biomaterials*, 2005, **26**, 5917-5925.

[28] Clem P. G., Jeon N.-L., Nuzzo R. G., Payne D. A., Monolayer-mediated deposition of tantalum (V) oxide thin film structures from solution precursors, *Journal of the American Ceramic Society*, 1997, **80**, 2821-2827.

[29] Heule M., Schonholzer U. P., Gauckler, L. J., Patterning colloidal suspensions by selective wetting of microcontact-printed surfaces, *Journal of the European Ceramic Society*, 2004, **24**, 2733-2739.

[30] Bailey R. C., Stevenson K. J., Hupp J. T., Assembly of Micropatterned Colloidal Gold Thin Films via Microtransfer Molding and Electrophoretic Deposition, *Advanced Materials*, 2000, **12**, 1930-1934.

[31] Cavallini M., Murgia M., Biscarini, F., Patterning a conjugated molecular thin film at submicron scale by modified microtransfer molding, *Nano Letters*, 2001, **1**, 193-195.

[32] Tang M. D., Golden A. P., Tien, J., Molding of three-dimensional micro-structures of gels, *Journal of the American Chemical Society*, 2003, **125**, 12988-12989.

[33] Thibault C., Severac C., Trévisiol E., Vieu C., Microtransfer molding of hydrophobic dendrimer, *Microelectronic Engineering*, 2006, **83**, 1513-1516.

[34] https://www.memsnet.org/mems/processes/lithography.html, (Ziyaret Tarihi: 17.12.2013).

[35] Yu F., Laser interference lithography micropatterning of polymer surface for cell adhesion, University of Saarland, Faculty of Natural Sciences and Technology III, Saarbrücken Germany, 2006.

[36] Hirano M., Kawamura K., Hosono H., Encoding of holographic grating and periodic nano-structure by femtosecond laser pulse, *Applied Surface Science*, 2002, **197-198**, 688–698.

[37] Kawamura K., Ogawa T.., Sarukura N., Hirano M., Hosono H., Fabrication of surface relief gratings on transparent dielectric materials by two-beam holographic method using infrared femtosecond laser pulses, *Applied Physics B*, 2000, **71**, 119-121.

[38] Kawamura K., Sarukura N., Hirano M., Hosono H., Holographic encoding of fine- pitched micrograting structures in amorphous SiO_2 thin films on silicon by a single femtosecond laser pulse, *Applied Physics Letters*, 2001, **78**, 1038–1040.

[39] Venkatakrishnan K., Sivakumar N. R., Tan B., Fabrication of planar gratings by direct ablation using an ultrashort pulse laser in a common optical path configuration, *Applied Physics A*, 2003, **76**, 143–146.

[40] Ball M. D., Sherlock R., Glynn T., Cell interactions with laser-modified polymer surfaces, *Journal of Materials Science: Materials in medicine*, 2004, **15**, 447- 449.

[41] Rebollar E., Frischauf I., Olbrich M., Peterbauer T., Hering S., Preiner J., Hinterdorfer P., Romanin C., Heitz J., Proliferation of aligned mammalian cells on laser-nanostructured polystyrene, *Biomaterials*, 2008, **29**, 1796 - 1806.

[42] Sprague E. A., Pomeranz M. L., Odess I., Furnish S. M., Granada J. F., Surface material, surface treatment and nanotechnology in cardiovascular stent development, *EuroIntervention: Journal of EuroPCR in collaboration with Working Group on Interventional Cardiologyof the European Society of Cardiology*, 2008, **4**, suppl C:C60-C62.

[43] Jiménez-Valero S., Moreno R., Sánchez-Recalde A., Very late drug-eluting stent thrombosis related to incomplete stent endothelialization: in-vivo demonstration by optical coherence tomography, *The Journal of Invasive Cardiol*ogy, 2009, **21**, 488–490.

[44] Veith M., Aktas O. C., Metzger W., Sossong D., Wazir H. U., Grobelsek I., Pütz N., Wennemuth G., Pohlemann T., Oberringer M., Adhesion of fibroblasts on micro- and nanostructured surfaces prepared by chemical vapor deposition and pulsed laser treatment. *Biofabrication*, 2010, **2**, 035001.

[45] Toni A., Lewis C. G., Sudanese A., Stea S., Calista F., Savarino L., Pizzoferrato A., Giunti A., Bone demineralization induced by cementless alumina-coated femoral stems, The *Journal of Arthroplasty*, 1994, **9**, 435–444.

[46] Wang C., Karlis G. A., Anderson G. I., Dunstan C. R., Carbone A, Berger G., Ploska U., Zreiqat M., Bone growth is enhanced by novel bioceramic coatings on Ti alloy implants, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2009, **90A**, 419–428.

[47] Veith M., Lee J., Miro M. M., Akkan C. K., Dufloux C., Aktas O. C., Bi-phasic nanostructures for functional applications, *Chemical. Society Reviews,* 2012, **41**, 5117-5130.

[48] Akman E., Femtosaniye lazerle metalik nanoyapıların oluşturulması ve biyolojik uygulamaları, Doktora Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2012, 323163.

[49] İkier T., Kaçar E., Akman E., Öztoprak B. G., Demir A., Akpınar G., Kasap M., Ural D., Lee J., Miro M. M., Karin L., Aktas C., Abdul-Khaliq H., Veith M., Implant surface modification by laser, 8. Türkiye Nanobilim ve Nanoteknoloji Konferansı, Ankara, 2012.

[50] Toivola D. M., Strnad P., Habtezion A., Omary M. B., Intermediate filaments take the heat as stress proteins, *Trends in Cell Biology*, 2010, **20**, 79-91.

[51] Lahat G., Zhu QS., Huang KL., Wang S., Bolshakov S., Liu J., Torres K., Langley R. R., Lazar A. J., Hung M. C., Lev D.,Vimentin is a novel anti-cancer therapeutic target; insights from in vitro and in vivo mice xenograft studies, *Plos One*, 2010, **5**, e10105.

[52] Linder S., Pinkowsk W., Aepfelbacher M., Adhesion, cytoskeletal architecture and activation status of primary human macrophages on a diamond-like carbon coated surface, *Biomaterials*, 2002, **23**, 767-773.

[53] İkier T., Kaçar E., Akman E., Akpınar G., Kasap M., Demir A., Aktas C., Production of Periodic Surface Structures on Implant Surfaces using Pulsed Nd-YAG Laser (Applied Surface Science dergisine gönderildi- Hakemlerde).

[54] Heng B. C., Xia Y., Shang X., Preiser P. R., Law S. K. A., Boey F. Y.-C., Venkatraman S. S., Comparison of the adhesion and proliferation characteristics of HUVEC and two endothelial cell lines (CRL 2922 and CRL 2873) on various substrate, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2011, **16**, 127-135.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

[1] **İkier T**., Kaçar E., Akman E., Akpınar G., Kasap M., Demir A., Aktas C., Production of Periodic Surface Structures on Implant Surfaces using Pulsed Nd-YAG Laser (Applied Surface Science dergisine gönderildi- Hakemde), 2014.

[2] **İkier T**., Kaçar E., Akman E., Demir A., Aktas C., Obtain Periodic Surface Structure on Implant Surfaces by Laser Treatment, *Turkish Physical Society 30th International Physics Congress*, İstanbul, 02-05 September 2013.

[3] **İkier T**., Kaçar E., Akman E., Demir A., Aktas C., Lazer Kullanılarak Implant Yüzeylerde Periyodik Yüzey Yapılarının Oluşturulması, *15. Ulusal Optik, Elektro Optik ve Fotonik Çalışma Toplantısı*, Ankara, 06 Eylül 2013.

[4] **İkier T**., Kaçar E., Akman E., Öztoprak B. G., Demir A., Akpınar G., Kasap M., Ural D., Lee J., Miro M. M., Karin L., Aktas C., Abdul-Khaliq H., Veith M., Lazerle Implant Yüzeylerin Modifikasyonu, *İzmir Genç Fizikçiler Kongresi*, İzmir, 13-15 Haziran 2012.

[5] **İkier T**., Kaçar E., Akman E., Öztoprak B. G., Demir A., Akpınar G., Kasap M., Ural D., Lee J., Miro M. M., Karin L., Aktas C., Abdul-Khaliq H., Veith M., Implant Surface Modification by Laser Treatment, *8th Nanoscience and Nanotechnology Congress*, Ankara, 26 June 2012.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Kocaeli'nde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Körfez ilçesinin Hereke beldesinde tamamladı. 2006 yılında girdiği Kocaeli Üniversitesi Fizik Bölümü'nden 2011 yılında mezun oldu. Aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisansını yapmaya başladı. 2012 yılında Kocaeli Üniversitesinde bulunan Elektro-Optik Sistem Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisansını yapmaya başladı. Tuba İKİER halen Elektro-Optik Sistem Mühendisliği Yüksek Lisans programında öğrenimini sürdürmektedir.