



**FATİH SULTAN MEHMET VAKIF ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARINDA
3 BOYUTLU BİYOFONKSİYONEL KULAK ZARI
YAMASI TASARIMI VE GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BETÜL MERYEM ARPAÇAY

İSTANBUL, 2024



**FATİH SULTAN MEHMET VAKIF ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARINDA
3 BOYUTLU BİYOFONKSİYONEL KULAK ZARI
YAMASI TASARIMI VE GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BETÜL MERYEM ARPAÇAY
(220231002)**

**Danışman
(Dr. Öğretim Üyesi Fatih Çiftçi)**

İSTANBUL, 2024



FATİH SULTAN MEHMET VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TEZ ONAY FORMU

02/07/2024

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans programı öğrencisi 220231002 numaralı Betül Meryem ARPAÇAY'ın hazırladığı "Çözücü Döküm Yöntemiyle 3 Boyutlu Biyofonksiyonel Kulak Zarı Yaması Tasarımı ve Geliştirilmesi" konulu Yüksek Lisans/Doktora/Sanatta Yeterlik tezi ile ilgili Tez Savunma Sınavı, 02/07/2024 Salı günü saat 11:00'da yapılmış, sorulara alınan cevaplar sonunda adayın tezinin **Kabulüne Oy Çoğunluğu/Oy Birliği** ile karar verilmiştir.

Tez adı değişikliği yapılması halinde: Tez adının **Kemik Doku Mühendisliği Uygulamalarında 3 Boyutlu Biyofonksiyonel Kulak Zarı Yaması Tasarımı ve Geliştirilmesi** şeklinde değiştirilmesi uygundur.

Jüri Üyesi	Karar
1. (Danışman) Dr. Öğr. Üyesi Fatih ÇİFTÇİ	KABUL
2. Doç Dr. Gökhan ÖZER	KABUL
3. Dr. Öğr. Üyesi Nilüfer DUYGULU	KABUL
4.
5.
6. (İkinci Danışman)*.....

*2. Danışman varsa doldurulması gerekmektedir.

ETİK BİLDİRİM

Bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bağlı olduğum üniversite veya bir başka üniversitedeki başka bir çalışma olarak sunulmadığını beyan ederim.

Betül Meryem Arpaçay

TEŞEKKÜR

Tüm hayatım boyunca sürekli yanımda olan yapamayacağımı düşündüğüm anlarda bile gerekirse kendi oturup çalışıp bana anlatan babama, beni bugünlere getiren ve akademik başarıyı sağlamam için hiçbir şeyi eksik etmeyen anneme, tez sürecime başlamamdan sonuna kadar destekleyen hayat arkadaşım eşime, en çok da “babası gibi çalışkan” “aman dikkat et sen ablasın senden örnek alırlar” ünvanlarının verdiği sorumlulukları göğüsleyen kendime teşekkür ederim.

Betül Meryem Arpaçay

KEMİK DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARINDA 3 BOYUTLU BİYOFONKSİYONEL KULAK ZARI YAMASI TASARIMI VE GELİŞTİRİLMESİ

Betül Meryem Arpaçay

ÖZET

Bu tez çalışmasında, kulak zarında perforasyon sonucunda kaybolan fibröz dokuyu yenilemek amacıyla grafen oksit (GO) ve hidroksiapatit (HAP) ile modifiye edilmiş Resveratrol (RSV) yüklü PCL-PEG biyokompozit kulak zarı tasarımları gerçekleştirilmiştir. RSV ilacının biyokompozit membranlar üzerindeki farmasötik aktivitesi için salım kinetik modelleri Franz difüzyon cihazı ile karşılaştırılmış ve hücre adezyonu için *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilirliği için mekanik testler yapılmıştır. Korsmeyer-Peppas, Higuchi ve Baker matematik modellerindeki korelasyon katsayısı (R^2) değerleri her biyokompozit kulak zarı için 0,99'a yakındır. Mekanik testler, gerilim-gerilme testlerinin sonuçları bulunmuştur. GO ve HAP ile modifiye edilmiş kompozit kulak zarı hücre yapışma testleri DAPI floresan boya ile görselleştirme yapılmış kompozit membranlarda 1, 3, 5, 7 ve 14. Gün sonunda hücre tutunmasının arttığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kulak Zarı, Grafen Oksit, Hidroksiapatit, Biyokompozit, Resveratrol

**DESIGN AND DEVELOPMENT OF 3D BIOFUNCTIONAL
TYMPANIC MEMBRANE IN BONE TISSUE ENGINEERING
APPLICATIONS**

Betül Meryem Arpaçay

ABSTRACT

In this thesis study, Resveratrol (RSV) loaded PCL-PEG biocomposite eardrum designs modified with graphene oxide (GO) and hydroxyapatite (HAP) were designed to replace the fibrous tissue lost as a result of perforation in the eardrum. Release kinetic models for the pharmaceutical activity of RSV drug on biocomposite membranes were compared with the Franz diffusion device and *in vitro* studies were performed for cell adhesion. Mechanical tests have been performed for its usability in tissue engineering applications. The correlation coefficient (R^2) values in the Korsmeyer-Peppas, Higuchi and Baker mathematical models are close to 0.99 for each biocomposite eardrum. The results of mechanical tests and stress-strain tests were found. Composite tympanic membrane cell adhesion tests modified with GO and HAP. It was observed that cell adhesion increased at the end of the 1st, 3rd, 5th, 7th and 14th days in the composite membranes visualized with DAPI fluorescent dye.

Keywords: Tympanic Membrane, Graphene Oxide, Hydroxyapatite, Biocomposite, Resveratrol

ÖN SÖZ

Tez çalışmam boyunca çalışmalarımı, bilgilerimi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Fatih ÇİFTÇİ' ye, lisans eğitim hayatım boyunca özveriyle derslerine dinleyip çalıştığım, enerjisine hayran kaldığım hocam Prof. Dr. Bahattin KARAGÖZOĞLU' na, tez çalışmamın bitmesi için gerekirse kendisinin de yüksek lisansa başlayacağını söylemekten ve yapmaktan çekinmeyip maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen babam Fikret'e, sadece derslerime odaklanmam için beni her zaman destekleyen annem Şenay'a, kardeşlerime, yüksek lisansa başlamamda öncü olan sevgili abim Burak POLATCAN' a ve en büyük teşekkürü ve minnet duygularımı sevgili eşim Serkan'a iletmeyi bir borç bilirim.

Mayıs, 2024

Betül Meryem Arpaçay

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
ÖN SÖZ.....	vii
SEMBOLLER	x
KISALTMALAR	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
TABLO LİSTESİ	xiv
GİRİŞ	1
BİRİNCİ BÖLÜM.....	5
1. KULAK ANATOMİSİ	5
1.1. DIŞ KULAK.....	5
1.2. ORTA KULAK	6
1.3. İÇ KULAK	7
1.3.1. İç Kulak Histolojisi	8
1.3.2. İç Kulak Fizyolojisi.....	10
1.4. İŞİTME FİZYOLOJİSİ	11
1.5. KULAK ZARI ANATOMİSİ	12
1.6. KULAK ZARI CERRAHİSİ VE DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMARI	14
1.7. KULAK ZARI İSKELESİ ÜRETİM YÖNTEMLERİ	16
1.7.1. Doku Mühendisliğinde 3 Boyutlu Biyofonksiyonel Baskı ve Önemi..	19
1.7.2. Kulak Zarı Üretiminde Kullanılan Biyomalzemeler	22
1.7.3. Kulak Zarı Doku İskelesi Hücre Destekleri Ve Büyüme Faktörleri..	25
1.7.4. Kulak Zarı Mühendisliğinde Ticari Uygulamalar.....	27
İKİNCİ BÖLÜM.....	30
2. MALZEMELER VE YÖNTEM.....	30
2.1. KULLANILAN POLİMERLER	30
2.1.1. Resveratrol (RSV).....	30
2.1.2. Polikaprolakton (PCL)	32
2.1.3. Polietilen Glikol (PEG).....	33
2.1.4. Grafen Oksit (GO)	34
2.1.5. Hidroksiapatit (HAP)	36
2.2. KULLANILAN ÖLÇÜM VE KARAKTERİZASYON CİHAZLARI	37
2.2.1. Franz Difüzyon Cihazı	37
2.2.2. Elektro-eğirme Cihazı	38

2.2.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	40
2.3. HAP SENTEZİ.....	41
2.4. GO SENTEZİ.....	41
2.5. BİYOKOMPOZİT KULAK ZARI TASARIMI.....	42
2.6. KARAKTERİZASYON VE ANALİZLER.....	43
2.6.1. Mekanik Analizler	43
2.6.2. Morfolojik Analizler	43
2.6.3. FTIR Analizi	44
2.6.4. XRD Analizi	44
2.7. FRANZ DİFÜZYON MATAMETİKSEL MODELLEMESİ	44
2.8. <i>IN VITRO</i> HÜCRE ÇALIŞMASI.....	45
2.9. İSTATİKSEL ANALİZLER.....	46
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM	47
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	47
3.1. MORFOLOJİK ANALİZ.....	47
3.2. FTIR-XRD.....	49
3.3. MEKANİK DAVRANIŞ	51
3.4. <i>IN VITRO</i> SALINIM ÇALIŞMASI	53
3.5. HÜCRE YAPISI.....	59
SONUÇ	62
KAYNAKÇA	63

SEMBOLLER

((NH₄) H₂PO₄)	: Amonyum Di-hidrojen Fosfat
(Ca(NO₃)₂·4H₂O)	: Kalsiyum Nitrat Tetra-Hidrat
(-COOH)	: Karboksil
(NH₄OH)	: Amonyak Çözeltisi
(-O-)	: Epoksi
(-OH)	: Hidroksil
Cu	: Bakır
DCM	: Diklorometan
GelMA	: Jelatin Metakriol
GEN	: Gentamisin
GO	: Grafen Oksit
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
H₂SO₄	: Sülfürik Asit
H₃PO₄	: Fosforik Asit
HA	: Hidroksiapatit
HA	: Hyaluronik Asit
H_z	: Her
KMnO₄	: Potasyum Permanganat
PCL	: Polikaprolakton
PEG	: Polietilen Glikol
PEGDA	: Nanopartikülleri polietilen glikol diakrilat
PGA	: Poliglikolik Asit
PLA	: Polaktrik Asit
PLGA	: Polilaktik-koglikolik Asit
PTFE	: Politetrafloroetilen
PVA	: Polivinil Alkol
RSV	: Resveratrol

KISALTMALAR

ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi
bFGF	Temel Büyüme Faktörü
CAD	Bilgisayar Destekli Tasarım
DLP	Dijital Işık İşleme
ECM	Hücre Dışı Matriks
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
EHDA	Elektrohidrodinamik Atomizasyon
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
FTIR	Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
PDGF	Trombosit Türevli Büyüme Faktörü
SIS	Submukoza
TGF- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü- Beta
TM	Timpanik Membran
XRD	X-Işını Kırınımı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1. Kulak zarının histopatolojik görünüm a) dış kulak derisi, b) fibröz tabaka c) orta kulak mukozası DKY: dış kulak yolu TM: kulak zarı(Yöneticisi et al., n.d.-b).	13
Şekil 2.1. PCL'nin molekül yapısı.....	32
Şekil 2.2 PEG'in molekül yapısı.....	33
Şekil 2.3 GO'nun molekül yapısı.....	35
Şekil 2.4 Elektro-eğirme yöntemi şematik gösterimi (Karayeğen, 2016).....	39
Şekil 3.1. PCL-PEG, BCM1, BCM2, BMC3 ve BMC4'ün SEM görüntüleri; A) 5KX büyütmede ve B) 10KX büyütmede.....	48
Şekil 3.2. BCM malzemelerinin FTIR analizi.....	50
Şekil 3.3. BCM malzemelerinin XRD analizi.....	51
Şekil 3.4. PCL-PEG ve BCM malzemelerinin çekme davranışı.....	52
Şekil 3.5. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Korsmeyer-Peppas matematiksel modeli.....	54
Şekil 3.6. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Birinci Dereceden matematiksel modeli.....	54
Şekil 3.7. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Sıfır Dereceden matematiksel modeli.....	55
Şekil 3.8. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Higuchi matematiksel modeli.....	55
Şekil 3.9. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Hixson-Crowell matematiksel modeli.....	56
Şekil 3.10. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Baker-Lonsdale matematiksel modeli.....	56
Şekil 3.11. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Korsmeyer-Peppas matematiksel modelleri.....	57
Şekil 3.12. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Birinci Dereceden matematiksel modelleri.....	57

Şekil 3.13. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Sıfır Dereceden matematiksel modelleri.....	58
Şekil 3.14. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Higuchi matematiksel modelleri.....	58
Şekil 3.15. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Hixson-Crowell matematiksel modelleri.....	59
Şekil 3.16. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Baker-Lonsdale matematiksel modelleri.....	59
Şekil 3.17. 1. Gün, 2. Gün, 3. Gün, 5. Gün, 7. Gün ve 14. Gün BCM'nin DAPI hücrelerinin floresans mikrografları.....	61

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1. Çekme özellikleri PCL-PEG ve BCM malzemeleri.....	52
--	----

GİRİŞ

İşitme organının bir parçası olan kulak zarı, dış kulak yolunu orta kulağa bağlayan ince zar bir tabakadır. Kulak Zarı Perforasyonu, kulak zarında meydana gelen yırtılma, delinme, yüksek ses seviyelerine maruz kalma, orta kulak iltihabı, barotravma veya travmatik bir olay sonucunda oluşur. Kulakta oluşan perforasyon sonucunda orta kulak ve dış kulak arasında kalıcı delik ortaya çıkar. Bu delik işitme kaybına, kulaktan sıvı gelmesine, kulakta ağrıya, rahatsızlığa ve kulak çınlamasına sebebiyet verir. İşitme organının eski işlevine geri dönmesi için perforasyonun kapatılması gerekmektedir. Akut kulak zarı perforasyonu cerrahi operasyon gerektirmeden; gözlem ve bekleme yöntemi, topikal antibiyotik tedavi yöntemi ve kulak koruyucu takma yöntemleri ile tedavi edilebilir. Ancak kronik kulak zarı perforasyonu cerrahi onarım yöntemi ile tedavi edilmektedir. Cerrahi onarım yöntemi, tıbbi işitme cihazı veya timpanoplasti adı verilen cerrahi kulak zarı onarımı ve işitme fonksiyonun düzeltilmesini kapsamaktadır. Perforasyon tedavisinde hastaya ve doktorun becerisine bağlı olarak işlem sırasında komplikasyonlar meydana gelebilir. Tedavi sırasında perforasyonun tamamen ortadan kalkması için birden fazla operasyon gerektirmesi ve hasta başvurularının kısıtlı olması gibi olumsuzluklarla karşılaşılabilir (Baykara, 2023).

Kulak zarı perforasyonu tedavisindeki geleneksel yöntemler genellikle cerrahi müdahale içerir, fakat doku mühendisliği alanındaki ilerlemelerle yenilikçi ve etkili tedavi seçenekler meydana çıkmaktadır. Günümüzde, doku mühendisliğinde komplike ve gelişmekte olan yapıları mikro düzeyde spesifik organ ve dokuları ortaya çıkarmak için 3B baskı yöntemi kullanılmaktadır (Baykara, 2023). 3B baskı yöntemi, özgün tasarım, zaman tasarrufu, tasarım kolaylığı, verimlilik ve baskı çözünürlüğü gibi geleneksel yöntemlerden ayrılmasını sağlayan özelliklere sahiptir. Tasarlanmış malzemelerin polimerize etmek için projeksiyon ışığı kullanılan dijital ışık işleme (DLP) tabanlı 3B baskı teknolojisi, doku mühendisliği alanında yaygınca kullanılmaktadır.

Üretilecek yapının doğal yapısını taklit edecek biyofonksiyonel özelliğe sahip olması için malzeme seçimi önemlidir. Biyofonksiyonellik malzemenin veya sistemin biyolojik organizma veya süreçlerle etkileşime girebilme, biyolojik sistemlerle uyumlu olma özelliğidir. Biyofonksiyonel kulak zarı yamalarının temel özellikleri, dış kulak ve iç kulakla biyolojik olarak uyumlu, iletişim sırasında seslerin iletilmesi için biyolojik moleküllerle etkileşim halinde olması, immün sistemle uyumlu olmalıdır.

GEÇMİŞTEN GÜNÜMÜZE KULAK ZARI TEDAVİLERİ

Kulak Zarı perforasyonlarının kapanmasını kolaylaştıran iki farklı mekanizmaya odaklanılmıştır. Birincisi, yenilenen dokuya rehberlik etmek için stromal destek sağlamaktır. Diğeri ise hücre çoğalmasını ve göçünü teşvik etmektedir. Kulak zarı delinmesini tedavi etmeye yönelik ilk girişimler 17. yüzyılda başlanmıştır. 1640 yılında kulak zarındaki bir deliği kapatmak için domuz mesanesi kullanılmıştır. 1841'de gliserine batırılmış yün uygulanmıştır. 1853 yılında kulak zarındaki delikleri kapatmak için kauçuk benzeri bir madde kullanılması önerilmiştir. Perforasyonların otogreftlerle cerrahi olarak kapatılması ilk kez 1878'de denenmiş ve işleme "miringoplasti" adı verilmiştir. Ön kolundan tam kalınlıkta deri grefti yapılmış ancak nihai sonuç beklentileri karşılanmamıştır. Temporomandibular eklem perforasyonunun kapatılmasına ilişkin araştırmalar 20. Yüzyılın ortalarına kadar terkedilmiş halde kalmıştır. 1950 yılında kulak zarı perforasyonunun kapatılmasıyla yeniden başlanmıştır. İlk greftleme olarak yarı veya tam kalınlıkta deri grefti kullanılmıştır. Dezavantajı ise aşırı pul pul dökülmesidir, bu nedenle başka greft materyalleri aranmıştır. Daha sonra konu yeniden gündeme gelmiş ve birçok farklı greft malzemesi düşünülmüştür. Otolog, allojenik ve ksenograft denemeleri değişen derecelerde başarı sağlamıştır. Cerrahi ve optik sistemlerdeki gelişmeler ve antibiyotik tedavisinin gelişmesi miringoplasti ameliyatını güvenli hale getirmiştir. Greftin kullanımı yaygınlaşmıştır. Kulak zarı perforasyonlarının onarımında en sık kullanılan materyal temporal fasyadır. İlk kez 1960'ların başında bu amaçla kullanılmıştır. Günümüzde otolog temporal fasya greftleri en sık kullanılan greft malzemesidir. Deneyimli doktorlar başarı oranını yüzde 88 ila 97 arasında değerlendiriyor. Perikondrium, özellikle temporal fasyanın bulunmadığı durumlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak temporal fasya greftlerinin uzun süreli takibinde

aynı başarı oranı sağlanamamakta ve farklı greft materyalleri araştırılmaya devam edilmektedir. Yeniden timpanoplastinin prognozunun tubal disfonksiyon, adezyon süreci, timpanik membran fibrozisi ve tam membran perforasyonu nedeniyle kötüleştiği bildirilmektedir. Bu gibi durumlarda fasya veya perikondrium yerine tragus ve konkal kıkırdak önerilerek daha iyi sonuçlar alınabilmektedir. Kalınlığın azaltılmasıyla akustik şeffaflığın artırılmasının yanı sıra implantın şeklinin ve konumunun değiştirilmesi de mümkündür (Palisade yöntemi, küçük adacık nakli yöntemi, büyük adacık nakli yöntemi).

Son zamanlarda, perforasyonu kapanması için hyaluronik asit (yüksek molekül ağırlıklı hücre dışı bir polisakarit) kullanılmasına yönelik girişimlerde bulunulmuştur. Tavşanlarda deneysel kulak zarı perforasyonlarının ototoksisiteye neden olmadan iyileşme oranını arttırdığı bulunmuştur. Hastanın kendi kanı fibrin yapıştırıcı olarak kullanılmış ve jel film, pentoksifilin gibi diğer deneysel materyaller, poli(B-benzil-L-aspartat-L-lösin) 50/50 gibi biyolojik olarak parçalanabilen materyaller modellerde başarıyla kullanılmıştır. Kulak zarı delinmesini onarmanın pratik yöntemlerinden biri kâğıt yamasıdır. Diğer cerrahi yöntemlerle karşılaştırıldığında timpanoplastiye göre çok daha uygun maliyetlidir, daha hızlıdır, hastanın uzanmasını gerektirmez, rutin işlerinde kayıp yaşanmaz ve uygulanması daha kolaydır.

Timpanoplasti vakaların %88 ila %97'sinde başarılıdır. Ancak bu prosedürle ilgili operasyonel riskler, maliyet ve ülkenin küçük kasabaları ve kırsal alanlarındaki teknik ekipman eksikliği gibi endişeler bulunmaktadır. Kronik kulak zarı perforasyonlarının onarmanın kolay ve uygun maliyetli bir yolu, otologlara çok yardımcı olacaktır. Bu tedavinin fizibilitesi 1990'larda araştırılmıştır. Bu, moleküler biyoloji ve yara iyileştirme araştırmalarındaki ilerlemelerin sonucudur. Rekombinant DNA teknolojisinin gelişmesiyle birlikte polipeptit büyüme faktörleri, travma bölgesinde haberci olarak işlev görmeye başlamış ve hem kemotaksis hem de doku onarımından sorumlu olarak hücre çoğalmasını uyarmaktadır. Laboratuvar ve klinik çalışmalarda umut, rekombinant büyüme faktörlerinin, doğal olarak iyileşemeyen kulak zarı perforasyonlarını uyararak timpanoplastiye bir alternatif sunmasıdır.

Timpanik membran kendi kendini yenileme özelliğine sahiptir. Timpanik Membran perforasyonlarının kimyasal dağlama ile kapatılması çalışmasının amacı

kronik kulak zarı perforasyonunun sert kısmında alçı ile kimyasal koterlemenin etkinliğini değerlendirmektir. Bu çalışmaya inflamatuvar veya travmatik nedenlere bağlı kuru kulak zarı perforasyonu olan 38 hasta dahil edilmiştir. Araştırmacılar, septum deviasyonu ve alerjik rinit gibi başlıca etiyolojileri araştırdıktan sonra, kenarları dağlamak için %50 gümüş nitrat uygulamıştır. Perforasyon daha sonra ince steril alüminyum folyo ile yamanarak kapatılmıştır. En fazla 5 uygulama yapılmış ve hastalar 5 yıl boyunca gözlemlenmiştir. En yüksek başarı oranı 38 hastada travmatik perforasyonda görülmüştür. Miringoplasti ile büyük bir delik daha küçük bir delik boyutuna küçültülmüş ve etkili bir şekilde kapatılmıştır. Genel başarı oranının %73,75 olması, ilk kez 1953 yılında Derlacki tarafından popüler hale getirilen bu yöntemin, küçük ve orta büyüklükteki kulak zarı perforasyonlarının kapatılmasında güvenilir ve kanıtlanmış bir yaklaşım olduğunu göstermektedir. Bu çalışma, basitliği, maliyet etkinliği ve minimal komplikasyonları nedeniyle bu tekniğin cerrahi müdahale öncesinde birinci basamak tedavi seçeneği olarak değerlendirilmesini önermektedir. Kullanılan materyallerdeki farklılıklara rağmen yöntemin temel prensipleri tutarlı ve bu çalışmada elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla karşılaştırılabilir niteliktedir (Santhi & Rajan, 2012).

TEZİN AMACI VE KAPSAMI

Klinik çalışmalarda ve literatürde eksik olan kulak zarı yama çalışmalarının iyileştirilmesi ve geliştirilmesi adına yenilenen teknolojik çalışmalarla birlikte doku mühendisliği ile kulak zarı yaması üretilmesi amaçlanmaktadır. Bu tez çalışmasında PCL-PEG bazlı polimerlere terapötik aktiviteye sahip RSV ilacını yükleyerek GO ve HAP malzemeleriyle elektro-eğirme yoluyla biyokompozit membranlar tasarlamıştır. Tasarlanan biyokompozit membranların mekanik özellikleri, ilaç yükleme kapasiteleri, salım kinetiği davranışları ve hücrel sitotoksite davranışları karşılaştırılarak doku mühendisliği alanında kullanım alanlarının artırılması amaçlanmaktadır.

BİRİNCİ BÖLÜM

1. KULAK ANATOMİSİ

İşitme ve denge organı olarak da bilinen kulak, temporal kemik içinde bulunmaktadır. Yapı ve görevleri açısından incelendiğinde kulak, dış orta ve iç kulak olmak üzere üçe ayrılır.

1.1. DIŞ KULAK

Dış kulak, kulak kepçesi, 2,5 cm uzunluğunda dış kulak yolu ve kulak zarından oluşur. Kulak kepçesi sesin yönünü belirlemede önemlidir. Kulak kepçesi ve dış kulak yolundan kulak zarına giden ses dalgaları, kemikçik zincir ve oval pencere aracılığıyla iç kulağa iletilir. Dış kulak yolunun sonunda yer alan kulak zarı, dış kulak yolundan orta kulak boşluğunu ayıran kısımdır (*Dr_bunyamin_turhan (İç Kulak Histoloji ve Fizyoloji)*, n.d.).

Kulak kepçesi birçok kıvrımı vardır. Bu kıvrımlar targus, konka, antitragus, heliks ve antihelikstir. Lobül bölgesi kulak kepçesinde kıkırdak olmayan tek kısımdır. Kulak kepçesini dış kulak yolu takip eder. Epitel doku ile kaplı olan dış kulak yolu, ses dalgalarını toplayarak orta kulağa yönlendirir. Toplanan sesler filtrelenip amplifiye edilerek dış kulak yolu boyunca iletilip kulak zarına iletilir.

Yaklaşık 2 cm uzunluğunda olan kulak kanalı aracılığıyla kulak kepçesinden giren ses dalgaları kulak zarına kadar iletilir. 3000 Hz ve üzeri frekanstaki sesler kulak kepçesi ve kanalının yapısı gereğince şiddeti arttırılarak orta kulağa yönlendirilir. Ortalama 7 mm çapında, 2,5 – 2,7 cm uzunluğunda olan dış kulak yolunun 3'te biri kartilajdan 3'te ikisi kemik dokudan oluşmaktadır. Timpanik kemik çocuklarda henüz tam gelişmediği için kıkırdak kısmı dış kulak yolunda daha uzundur (*Dr_bunyamin_turhan*, n.d.). Serumen adı verilen salgı ile kaplı dış kulak yolu bu doku ile korunmaktadır.

1.2. ORTA KULAK

Kulak zarı ile kemik labirent arasında orta kulak yer alır. Boşluk şeklinde olan orta kulakta timpanik membran bulunur. Bu boşluk epitel doku ile kaplıdır. Östaki boru aracılığıyla, aditus yolu, mastoid hava boşlukları ile dış ortam arasında bağlantısı vardır. Mukoz zarlarla örtülü olan orta kulağın ortalama hacmi $0,5 \text{ cm}^3$ 'dür. Oval pencere ve yuvarlağın bulunduğu kemik duvar, iç kulağın iç kısmında yer alır. Arka kısmında ise mastoid kemik ve hava boşlukları mevcuttur. Ön kısmındaki duvarda ise tuba auditiva bulunur. Tuba auditiva timpan boşluğu ve nazofarinks arasında bağlantıyı oluşturur.

Orta kulak boşluğu 6 duvara sahiptir (*Dr_bunyamin_turhan (İç Kulak Histoloji ve Fizyoloji)*, n.d.).

- 1) Dış Duvar: Hipotimpanum, kulak zarı ve scutum olarak üç bölümden oluşur.
- 2) İç Duvar: İç kulak ile promotoryumun çıkıntısı komşudur. Promotoryumun üzerinde oval pencere ve yuvarlak pencere vardır. Oval pencere stapes tabanında yerleşilidir.
- 3) Ön Duvar: Tensör timpani kası, östaki borusu ve karotis internadaki çıkıntı ön duvarda bulunur.
- 4) Arka Duvar: Stapes tendonunun yapıştığı eminentia pyramidalis, stapes kası arka duvarda bulunur. Faical sinirin ikinci kısmı ile yakınlık gösterir. Ayrıca arka duvar mastoid ile de bağı vardır.
- 5) Alt Duvar: Arka kısımda bulunan stiloid çıkıntısı ile komşuluğu olan alt duvar, juguler bulbus ve juguler ve ile de bağlantısı vardır. Hipotimpanumun tabanı alt duvarda oluşur.
- 6) Üst Duvar: Orta kranial fossa ile komşu olan üst duvar, hipotimpanumun tavanını da buradadır.

Stapes, inkus ve malleus hareketli kemikçikleri orta kulak boşluğunda bulunmaktadır. Orta kulak boşluğunun arka ve üst kısmında yerleşik olarak bulunan kemikçikler bağlar ile boşlukta tutunmaktadır (*Dr_bunyamin_turhan*, n.d.).

Stapes vücudun en küçük kemiğidir. Stapes, taban, iki bacak baş ve boyundan olmak üzere 6 parçadan oluşmaktadır. Tensör timpani ve stapes kası kemikçiklere

yapışan kaslardır. Kulak zarı tespit yöntemlerinden biri de tensör timpani kasının kasılıp manibriumu arka ve içe çekilmesidir. İki kol ve bir gövdeden oluşan inkus, kol kısımları stapes ile gövde kısmı ile malleus ile bağlantılıdır. Malleus kemikçiklerin en büyüğüdür. Uç, boyun ve baş olmak üzere üç çıkıntıdan oluşur. Malleusun baş kısmı kulak zarı ile yapışıktır.

Nazofarenksi ile orta kulak boşluğunu birbirine bağlayan östaki tüpü huni şeklinde yapıdır. Bu yapı çocuklarda düz ve daha kısadır.

Kendisine gelen akustik enerjiyi 30 dB yükselten kemikçikler ve orta kulak, yükselen sesi perilemfe aktarır. Ancak ses dalgaları atmosferde akustik direnci düşükken direnci yüksek olan perilemfe geçiş yaparken şiddet kaybı yaşanır. Bu kayıp yaklaşık olarak 30 dB'lidir.

1.3. İÇ KULAK

Temporal kemiğin petröz kısmında yer alan iç kulak, denge ve işitme reseptörlerinin bulunduğu kısımdır. Denge ve işitme organları iç kulakta bulunur. Zar labirent ve kemik olmak üzere iki bölümden oluşur. Oval ve yuvarlak pencere ile orta kulak ile bağlantısı bulunmaktadır.

Zar Labirent kemik labirentin iç kısmında aynı şekildedir. Kemik labirenti tamamen kapsayamaz. Ancak 1/3 bölümünü kapsar. Zar labirentin kısımları;

- Korti Organı
- Sakkulus
- Duktus Semisirkularis
- Duktus Perilemfatikus
- Duktus Endolenfatikus
- Duktus Koklearis
- Utrikulusden oluşmaktadır.

Kemik labirent otik kapsülden oluşmaktadır. Otik kapsül sert ve kompakt kemik dokusu içermektedir. Zar labirentte içeride yer almaktadır. Zar labirent ile kemik labirenti ayıran perilemf sıvısı mevcuttur.

Kemik labirent kısımları ise;

- Aquaduktus koklea
- Vestibulum
- Koklea
- Kemik Semisirküler Kanallar
- Aquaduktus Vestibuliden oluşmaktadır.

1.3.1. İç Kulak Histolojisi

Koklea: Duktus koklearis, kokleanın duyuşal reseptör hücrelerinin bulunduğu yerdir.

Reissner Membranı: İnce bazal laminadan yapılmış olan skala vestinuli ve skala mediyayı birbirinden ayıran sıra hücreler arasına yerleşmiş yapıdır. Apikal mikrovilluslar içeren yapıda endolenfe bakan hücreler küboid şeklindedirler. Skuamöz yapıda olan gevşek biçimli yapılar ise perilenfe bakarlar.

Lateral Duvar: Çoğunluğu Tip 1 fibroblast benzeri yapılardan oluşan spirial ligamentten oluşur. Yassı çok katlı epitel stria vaskülaris, spirial ligamentin iç kısmında bulunur. Düşük sodyum iyon potansiyeli ve yüksek potasyum sağlayan stria vaskülaris endolenfi, moleküler geçize izin verilmeyen bazal yapılardan meydana gelmiştir.

Baziller Membranı: Bazal turdan başlayıp apikale doğru membran genişliği artan bağ dokusuna sahip baziller membranının hareketleri frekanslara özel olması, ses şiddetini alıp frekansı analiz edebilmesi bu sayededir. Cladius hücreleri baziller membranın dış tarafında endolenfle temas eden mikrovilluslu hücrelerden oluşmaktadır. Taban kısmı ile baziller membran arasında Boettcher hücresi bulunmaktadır.

Korti Organı: Perilenf ve baziller membranda oluşan mekanik titreşimleri sinir liflerini uyararak elektrik akımlarına dönüştürürler. Destek hücreleri, spirial konumlanmış çeşitli duyuşal hücreler, baziller membran ve tektorial membran yapılarının tümünden korti organı oluşmaktadır.

Bu hücrelere ek olarak birçok destek hücreleri, duyuşal hücreler, iç sulkus, spirial limbus, tektorial membran ve kemiksi spirial lamina bulunmaktadır.

Destek Hücreleri;

Hensen Hücreleri: uzunlukları koklea apeksine doğru uzar ve korti organının yanında bulunur. Dış türlü tirek hücreler ve hensen hücreleri arasında dış korti tüneli bulunur. Hensen hücreleri birkaç dizi halinde sıralanmıştır.

Deilters Hücreleri: Baziller membrana bağlı olan deilters hücresi dış tüylü hücrelerin yardımcı hücreleridir ve çevresini sararlar. Parmaksı çıkıntılarla dış tirek tüylü hücreler ve deilters hücreler retiküller membranın meydana gelmesinde yardımcı olurlar.

Sütun Hücreleri: Sütun hücreler iç ve dış olmak üzere ikiye ayrılırlar. Korti tünelinin oluşmasında retiküler laminanın bazı bölümleri de yardımcı olur. Genel olarak destek hücrelerinin çekirdekleri yuvarlak tabanları geniştir. Yan sınırları deilters hücreler ve iç tirek tüylü hücrelerdir.

İç Sınır ve Parmaksı Hücreler: Bu hücreler iç sulkus hücreleri ve iç tirek tüylü hücreleri birbirinden ayırır. Tabanda, iç tirek tüylü hücrelerle, iç falengal hücreler myelinsiz sinir liflerini çevreler.

Duyusal Hücreler ise;

Stereosillia: bu hücrelerin dış ve iç saçlı kısımlarında, hücre iletimi için önemli olan apikal stereosillialar bulunur. Boyları içten dışa doğru ve alttan üste doğru artar. İç saçlı hücre stereosillialar dış saçlı olanlara göre iki kat daha kalındır. “V” veya “W” şeklinde dizilen dış saçlı hücrelerin stereosillialar mevcuttur.

Dış Saçlı Hücreler: Ortalama insanda 13400 adet dış saçlı hücre bulunmaktadır. Bu hücrelerin uzunluğu 14 mikrodan 55 mikrona kadar değişmektedir.

İç Saçlı Hücreler: Taban kısmında birden fazla sinaptik sinir sonlaması görülmektedir. İç saçlı hücreler vestibüler saçlı hücrelere oldukça benzemektedir. İç saçlı hücrelere yardımcı hücreler sık ve yassı görünümlü tabaka oluştururlar.

Cladius hücreleriyle benzerlik gösteren iç sulkuslar açık spiral bir kanalda bulunmaktadır. Hücre aralarında flamanlar varken üst yüzeylerinde mikoviller mevcuttur.

Spiral Limbular; damarsal elemenler, fibroblast türevi hücreler ve ekstrasellüler filamentlerden oluşmaktadır. Damarsal konnektif doku tabakası olarak kemik spiral laminanın iç kenarında bulunurlar.

Tektorial Membran; endolenfle ıslanmışlar fibröz yapıdan oluşmuştur. Altı bölümden oluşur; fibröz matriks, ağsı örtü, Hardesty membranı, limbal tabaka, marjinal bant ve Hensen çubuğu. Korti organı seviyesine kadar olan dış saçlı hücreleri kaplar.

Kemiksi spiral lamina; ince uzun ve modiolustan bazillere kadar uzanan spiral kemiksi tabakadır. Spiral lamina habenulae perforata adındaki kanallar delinir.

1.3.2. İç Kulak Fizyolojisi

Basiller membranı tabandan apekse doğru hareketlendiren mekanik dalga, stapes hareketi ile başlar ve perilenf ile iletilmektedir. Mekanik dalganın özelliği amplitüdün artması ve titreşimlerin belirlenen bir bölgede maksimum amplitüde eriştikten sonra aniden sönmesidir. Boyuna ve enine olarak titreşimler yayılırlar. Basiller membran üzerinden stimulusun taşıdığı iletim dalgası maksimum amplitüde ulaşarak hareket için fibriller uyarılır.

İnce, kısa ve gergin olan kokleadaki baziller membranının tabanıdır. Apekse yakın olan kısmı ise gevşek, kalın ve uzundur. Bu sebeple en üst kısım en alçak frekansları uyarır; en alt kısım yüksek frekansları uyarır. Baziller membran titreşirken tektorial membranda çarpılarak ayrılır ve ses dalgaları mekanik enerjiden elektrokimyasal enerjiye dönüşür. Enerji 8. Sinir lifleri ile merkeze iletilmiş olur. Sesler frekanslarına göre beynin ilgili bölümlerine gider ve işlem biter.

Her frekansın yeri farklıdır, tiz ve pes seslerinin ayrıldığı tanımlı olduğu alanlar ayrıştırılmıştır. Düşük tonlar işitme merkezinin yüzeylerinde sönümlenirken yüksek tonlar ise derinliklerde sönümlenir. Korteksten geçen sesler önceki ses profillerine göre ayırmaştırılır. Beyin ile kulaklar arasındaki bağlantı çift kanallı sinir sistemi ile yapılmıştır. Koklear çekirdek, kollikulus inferior, süperior oliva ve medial genikular cisimlerinden geçen sinirler karışık yol izlerler.

Kortilenf, perilenf ve endolenf olmak üzere iç kulak sıvıları üçe ayrılır.

Kortilenf Nuel boşluğu ve korti tüneline konumlanmıştır. Beyin omurilik sıvısından kemiksi spiral laminanın boyunda akustik sinirlerden ulaşır. Yüksek potasyum içeriği nöral iletişimi ortadan kaldıracığı için korti tüneline ulaşan dış saçlı hücreler perilenfle benzerlik gösteren kortilenfle örtülmüştür.

Perilenf Beyin omurilik sıvısından oluşmaktadır. Potasyum açısından fakir, Sodyum açısından zengin olan perilenf, kimyasal ekstrasellüler sıvıyla benzerdir.

Endolenfin oluşmasında stria vaskularis görev almaktadır. Perilenfin aksine Potasyum açısından zengin Sodyum açısından fakirdir.

1.4. İŞİTME FİZYOLOJİSİ

Ses, enerji kaynağından açığa çıkan titreşimler sonucu katı, sıvı ve gaz ortamlarda moleküllerin sıkışıp gevşemesi sonucu meydana gelen enerji türüdür. Sıkışma ve gevşeme ses dalgalarını meydana getirir. Ses dalgaların ortamdaki hızı yayıldığı ortama göre değişiklik göstermektedir. Gaz ortamlarda en düşük hızla yayılırken katı ortamlarda ise en hızlı yayılmaktadır. Örneğin deniz seviyesinde 20 °C sıcaklıktaki hava ortamında sesin yayılma hızı 344 m/sn, sıvı ortamda 1437 m/sn, sesin kemikteki yayılma hızı ise 3013 m/sn olarak hesaplanmıştır. Saniyedeki sesin titreşim sayısına frekans adı verilir. Frekansın birimi Hertz (Hz) ile gösterilir. İnsan kulağının işitebileceği seslerin frekans aralığı 20-20000 Hz arasındadır. Sesin şiddeti desibeldir ve dB kısaltması ile ifade edilmektedir. İnsan kulağının işitebileceği ses şiddeti aralığı 0-120 dB aralığındadır. Bir ortamda ses dalgalarının yayılması için meydana gelen dirence ise empedans veya akustik direnç avı verilmiştir. Akustik direnç esneklik ve ortam yoğunluğu ile orantılıdır. Eğer ses dalgaları ortam değiştirirken ortamlar arasındaki akustik direnç birbirlerine yakınsa sesin yeni ortama geçerken oluşturduğu enerji miktarı fazladır.

İşitme, ortamda açığa çıkan ses dalgalarının kulağımız tarafından toplanarak beyindeki işitme merkezlerine iletilerek burada karakterizasyonların yapılıp analiz edilmesinden algılanmasına kadar olan süreçtir. İç, orta ve dış kulak ile merkezi işitme sistemi ve işitme merkezi bu işlemlerin bir parçasıdır. İşitme için dört ana evreden oluşmaktadır.

- 1) İletim Evresi: Ses bizzat kendi enerjisi ile ortamdan dış ve orta kulak aracılığıyla korti organına iletimi gerçekleştirir. Orta kulak, kulak zarına ulaşan ses dalgalarının iç kulakta bulunan sıvı ortama aktarılmasında rol oynar. Ses dalgaları orta kulaktan iç kulağa geçerken (gaz olan ortamdan sıvı olan ortama) ortalama 30 dB enerji azalması yaşar. Bu enerji

azalmasını engellemek için orta kulak empedans denkleştirme görevini gerçekleştirir.

- 2) Dönüşüm Evresi: İç kulağa gelen sesin frekansları periferik olarak analizi gerçekleştirilir ve korti organında sesin enerjisi biyokimyasal olarak sinir enerjisi olarak dönüştürülür.
- 3) Sinir Şifresi Evresi: Dış ve iç saçlı hücrelerde oluşan elektriksel akım, ilgili sinir liflerini uyarır. Böylece enerji şiddet ve frekansına göre korti organına işlenmiş olur.
- 4) Algı- Birleştirme Evresi: Adım adım gelen sinir iletimleri, işitme merkezinde birleştirilerek işlenilir. Sonuç olarak sesin karakteri ve anlamı meydana çıkar.

1.5. KULAK ZARI ANATOMİSİ

130 mikron kalınlığında, 9-10 mm yatay uzunluğu, 8-9 mm dikey uzunluğa sahip kulak zarı orta kulağı dış kulak yolundan ayıran kısımdır (Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Kulak Burun Boğaz Servisinin Tıpta Uzmanlık Eğitimi İçin Öngördüğü et al., 2015). 3 tabakadan oluşan kulak zarı, oval oblik yapıya sahiptir ve yarı saydamdır. 3 tabakanın dış kulak yolu tarafında olan parçası yassı epitel dokudan, orta kulağa komşu olan kısmı ise tek katlı kübik epitellerden oluşmaktadır. Ortada kalan tabaka ise elastik fibril, fibroblastlar ve kolajen yapıları içeren bağ dokuları mevcuttur.

Timpanik kemiğin iki uzantısının uç noktalarından malleusun başına doğru iki plika devam eder ve bu plikalar kulak zarını malleusla bağlar. Zarın gergin ve esas titreşen kısmına pars tensa denir. Pars tensa translüsendir. Pars flaksida ise rivinus çentiğini dolduran gevşek kısımdır.

Kulak zarı yapı itibarıyla düz eğilimli bir yerleşim yerindedir. Pars tensanın ön kısmı dışa daha uzak, arka kısmı daha yakındır. Kulak zarı içerisinde yukarıdan aşağıya doğru uzanan ve pars tensanın parçası olan manibrium mallei bulunmaktadır. Konkav şeklinde bulunan kulak zarı, çukur yerinde ise umbo ile ifade edilen manibrium malleinin ucu bulunur.

Kulak zarı histolojik olarak pars tensada içte mukoza, ortada fibröz ve dışta epitel dokulardan meydana gelen üç katlı bir oluşumdur. En dışta bulunan epitelyum

1.6. KULAK ZARI CERRAHİSİ VE DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMARI

Kulak zarı cerrahisi, genellikle kulak zarında delikler, yırtıklar veya diğer problemlerle ilgilenir. Bu tür sorunlar, işitme kaybına, enfeksiyonlara veya diğer kulak sağlığı sorunlarına yol açabilir. Kulak zarı cerrahisinde yaygın uygulanan prosedürler şunlardır:

Miringoplasti: Miringoplasti, kulak zarında bulunan deliklerin veya yırtıkların cerrahi olarak onarılması işlemidir. Kulak zarı, dış kulaktan gelen ses dalgalarını orta kulağa iletir ve orta kulağı dış ortamdan korur. Ancak bazı durumlarda, kulak zarında delikler veya yırtıklar meydana gelebilir. Bu durumlar genellikle travma, tekrarlayan orta kulak enfeksiyonları, cerrahi müdahaleler veya diğer nedenlerden kaynaklanabilir. Miringoplasti prosedürü, kulak zarındaki bu delikleri veya yırtıkları kapatmayı amaçlar. Bu işlem genellikle lokal veya genel anestezi altında gerçekleştirilir. Kulak zarının zarar görmüş bölgesi, genellikle kulak zarının arkasında, işitme kemiğinin bulunduğu bölgede yer alır. Miringoplasti sırasında, kulak zarının zarar görmüş kısmı, genellikle kulak zarının arkasından alınan bir doku parçası ile veya sentetik bir yama kullanılarak kapatılır. Bu doku parçası veya yama, kulak zarı üzerine yerleştirilir ve yerine sabitlenir. Bu, kulak zarının bütünlüğünü yeniden sağlar ve işitme fonksiyonunun düzelmesine yardımcı olur. Miringoplasti işlemi, işitme kaybına neden olan delik veya yırtıkların kapatılmasıyla işitme fonksiyonunun iyileştirilmesini sağlar. Ayrıca, tekrarlayan orta kulak enfeksiyonlarının riskini azaltabilir ve orta kulağın sağlığını koruyabilir.

Timpanoplasti: Kulak zarında ve orta kulaktaki yapıların onarımı için yapılan bir operasyondur. Bu işlem de genellikle lokal veya genel anestezi altında gerçekleştirilir. Timpanoplasti sırasında, cerrah, zarar görmüş kulak zarını ve orta kulağın diğer yapılarını onarmak için çeşitli teknikler kullanır. Bunlar arasında:

Zarar Görmüş Dokunun Onarılması: İlk olarak, zarar görmüş kulak zarı veya orta kulak yapıları temizlenir ve düzeltilir. Bu, genellikle kulak zarındaki deliği veya yırtığı kapatmayı içerir.

Greft Uygulanması: Bazı durumlarda, zarar görmüş bölgeyi tamir etmek için başka bir dokudan alınan greft (doku parçası) kullanılır. Bu greft, zarar görmüş bölgeye yerleştirilir ve sabitlenir. Greft, kulak zarının tamir edilmesine ve işitme fonksiyonunun düzelmesine yardımcı olur.

İşitme Kemiği Onarımı: Eğer orta kulaktaki işitme kemikleri (örneğin, çekiç, örs, üzengi) zarar görmüşse, cerrah bu kemikleri onarabilir veya yerine yeni implantlar yerleştirebilir.

Timpanoplasti, kulak zarı ve orta kulağın yapılarını onarmak için etkili bir yöntemdir. Bu prosedür, işitme fonksiyonunun iyileştirilmesine ve tekrarlayan orta kulak enfeksiyonlarının riskinin azaltılmasına yardımcı olabilir.

Myringotomi: Kulak zarına yapılan küçük bir delikle, orta kulağın havalandırılmasını sağlamak amacıyla yapılan bir işlemdir. Bu prosedür genellikle orta kulaktaki basıncı düzenlemek veya orta kulaktaki sıvıyı boşaltmak amacıyla yapılır.

Myringotomi prosedürü şu adımları içerebilir:

Yerel veya Genel Anestezi: Myringotomi özellikle çocuklarda genellikle lokal anestezi altında gerçekleştirilir, ancak bazen genel anestezi de tercih edilebilir.

Kulak Zarının Delinmesi: Cerrah, steril bir teknik kullanarak kulak zarına küçük bir delik açar. Bu delik, kulak zarının tam ortasında genellikle posterosuperior kısımda açılır. Delik, bir miringotom denilen özel bir alet kullanılarak yapılır.

Sıvı Boşaltma veya Basıncın Düzenlenmesi: Kulak zarındaki delik, orta kulağa hava geçişine izin verir, böylece orta kulaktaki basıncı dengeler veya orta kulaktaki birikmiş sıvının boşaltılmasını sağlar. Bu işlem, orta kulak enfeksiyonlarının tedavisinde veya kulak tüpü yerleştirilmesi gereken durumlarda kullanılabilir.

Deliklerin Doğal Olarak Kapanması: Myringotomi işleminden sonra, kulak zarındaki delikler genellikle kendi kendine kapanır ve iyileşir. Ancak bazen, deliğin kapanmasını desteklemek için küçük bir yama yerleştirilmesi gerekebilir.

Doku mühendisliği, insan dokularının veya organların vücuda nakledilebilmesi için laboratuvar ortamında yapay dokuların üretilmesiyle ilgilenir. Kulak zarı ve iç kulak gibi kulak dokularının yeniden yapılandırılması ve yeniden oluşturulması da doku mühendisliğinin bir parçasıdır. Kulak zarı doku mühendisliği, genellikle biyobaskılı, biyouyumlu malzemelerin kullanılmasıyla yapılır. Bu malzemeler, hücrelerin büyümesini ve doku oluşturmasını teşvik etmek için tasarlanmıştır. Üretilen yapay kulak zarları, cerrahi müdahalelerde kullanılabileceği gibi, işitme cihazları veya implantlarla da entegre edilebilir. Doku mühendisliği

ayrıca işitme kaybı veya iç kulak hastalıkları gibi durumlar için yapay iç kulak cihazlarının geliştirilmesinde de kullanılabilir. Bu cihazlar, işitme duyusunu restore etmek veya desteklemek için iç kulağın doğal yapısını taklit eder. Kısacası, kulak zarı cerrahisi ve doku mühendisliği, işitme sağlığı ve işitme kaybıyla ilgili çeşitli problemlerin tedavisinde ve yeniden yapılandırılmasında önemli bir rol oynamaktadır.

1.7. KULAK ZARI İSKELESİ ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Kulak zarı iskelesi, kulak zarının perforasyonu sonucunda oluşan zararı onarmak için kullanılan bir tür protezdir.

Cerrahi Yöntemler: Kulak zarı iskelesi cerrahi olarak implant edilebilir. Bu yöntemde, genellikle lokal anestezi altında yapılan bir işlemle, iskele materyali kulak zarının zarar gören kısmına yerleştirilir. Cerrahi yöntemler 3 ana şekilde gerçekleşir.

Tympanoplasti: Bu cerrahi işlemde, zarar gören kulak zarı bölgesi temizlenir ve onarılır. Ardından, iskele materyali (genellikle otolog doku veya sentetik materyaller) kulak zarı üzerine yerleştirilir. Bu yöntem, kulak zarı perforasyonlarının onarılmasında sıklıkla kullanılır. Tympanoplasti, kulak zarı ve orta kulak yapılarının cerrahi olarak onarılması için kullanılan bir prosedürdür. Bu prosedür genellikle kulak zarı perforasyonlarının onarımı, orta kulak kemiklerinin onarımı veya işitme kaybının düzeltilmesi amacıyla uygulanır.

Tympanoplasti genellikle şu adımları içerir:

- 1) Hasta Değerlendirmesi: Öncelikle, bir kulak burun boğaz uzmanı tarafından hastanın kulak yapısı ve işitme kaybı gibi faktörler değerlendirilir.
- 2) Anestezi: Genellikle, tympanoplasti lokal veya genel anestezi altında gerçekleştirilir.
- 3) Cerrahi Erişim: Kulak zarının arka kısmına erişim sağlamak için kulak içine bir kesi yapılır.
- 4) Zararlı Doku Temizliği: Kulak zarının perforasyon bölgesindeki zararlı dokular temizlenir ve sağlıklı dokular hazırlanır.
- 5) Gerekirse İskele Materyali Kullanımı: Perforasyon büyük ise veya zarar gören dokular yetersiz ise, iskele materyali olarak otolog dokular

(hastanın kendi dokuları) veya sentetik materyaller kullanılabilir. Bu iskele materyali, kulak zarını desteklemek ve tamir etmek için kullanılır.

- 6) Kulak Zarının Onarımı: Hazırlanan sağlıklı dokular, perforasyonun kapatılması için kullanılır. Bu adım, kulak zarının yapısının yeniden oluşturulmasını içerir.
- 7) Orta Kulak İçin Gerekli Onarımlar: Eğer orta kulakta hasar varsa, bu alandaki yapılar da tamir edilir veya gerektiğinde orta kulak kemiklerinin yerine konması sağlanır.
- 8) Kulak İçinde Drenaj Tüpü Yerleştirme (Opsiyonel): Bazı durumlarda, orta kulak sıvı birikimini önlemek için bir drenaj tüpü kulak zarına yerleştirilebilir.
- 9) Kesi Kapatma: Cerrahi işlem tamamlandıktan sonra, kulak içindeki kesi dikişlerle kapatılır.

Tympanoplasti, işitme kaybını azaltmak veya ortadan kaldırmak, tekrarlayan orta kulak enfeksiyonlarını önlemek ve kulak zarı perforasyonlarını onarmak için etkili bir yöntemdir.

Tympanomastoidektomi: Tympanomastoidektomi, kulak zarı, orta kulak ve mastoid boşluğunun cerrahi olarak çıkarılması veya yeniden yapılandırılması için yapılan bir cerrahi prosedürdür. Bu işlem sırasında, zarar gören dokular temizlenir ve kulak zarı iskelesi implant edilir. Bu prosedür, genellikle kronik otitis media gibi orta kulak enfeksiyonlarının veya mastoidit gibi mastoid bölgesini etkileyen enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Tympanomastoidektomi, ileri derecede enfeksiyonlar veya komplikasyonlarla ilişkili orta kulak ve mastoid sorunlarının tedavisinde etkili bir yöntemdir. Ancak, prosedür ciddi olabileceğinden ve bazı riskleri içerebileceğinden, doktor tarafından dikkatlice değerlendirilmelidir.

3B Yazıcılarla Üretim: Gelişen teknolojiyle birlikte, kulak zarı iskeleleri 3 boyutlu yazıcılar kullanılarak da üretilebilir. Bu yöntemde, hasta özel olarak taranır ve ona uygun bir iskele tasarlanır ve 3B yazıcıyla basılır.

Kulak zarı iskelesi üretiminde 3B yazıcılar kullanılarak yapılan yöntem, geleneksel yöntemlere göre daha yenilikçi ve kişiselleştirilmiş bir yaklaşımdır. 3B yazıcılar ile üretim de aşamalar aşağıda belirtilmiştir.

- 1) **Hasta Kulak Yapısının Belirlenmesi:** İlk adım, hastanın kulak yapısının dijital olarak taranmasıdır. Bu, hasta için tam olarak uygun bir iskele tasarımı yapılabilmesi için önemlidir.
- 2) **Tasarım Süreci:** Dijital taramadan elde edilen veriler, bir bilgisayar programı veya BDT (Bilgisayar Destekli Tasarım) yazılımı kullanılarak işlenir. Kulak zarı iskelesinin şekli ve boyutları, hastanın kulak yapısına uygun olarak tasarlanır.
- 3) **3B Yazıcı ile Üretim:** Tasarım sürecinden sonra, 3B yazıcıya uygun bir dosya oluşturulur ve yazıcıya gönderilir. 3B yazıcı, bu dosyaya göre biyoaktif veya biyobozunur materyallerden kulak zarı iskelesini katman katman oluşturur. Bu materyaller genellikle polimerler veya biyolojik malzemelerdir.
- 4) **Son İyileştirme ve Testler:** Yazıcıdan çıkan iskele, son kontroller ve kalite testlerinden geçirilir. Bu adımda, iskele materyalinin uygunluğu, dayanıklılığı ve biyouyumluluğu gibi faktörler gözden geçirilir.
- 5) **İmplantasyon:** Üretilen kulak zarı iskelesi, cerrahi bir prosedürle hastanın kulak zarı bölgesine yerleştirilir. Bu işlem genellikle lokal anestezi altında gerçekleştirilir.

3B yazıcılarla yapılan kulak zarı iskelesi üretimi, hasta için daha iyi uyum sağlama ve daha hızlı bir iyileşme süreci sunabilir. Ayrıca, iskelelerin kişiselleştirilmiş olarak üretilmesi, hastanın ihtiyaçlarına daha iyi yanıt verme ve daha etkili bir tedavi sağlama potansiyeline sahiptir.

Biyomateryal Kullanımı: Kulak zarı iskeleleri için biyobozunur veya biyouyumlu malzemeler kullanılabilir. Bu malzemeler genellikle vücut tarafından tolere edilir ve zamanla parçalanır. Kulak zarı iskelesi üretiminde biyomateryal kullanımı, biyolojik kökenli malzemelerin veya biyouyumlu sentetik malzemelerin kullanılması anlamına gelir. Bu malzemeler, kulak zarı iskelesinin oluşturulmasında destekleyici bir rol oynar ve iskele materyalinin vücut tarafından tolere edilmesini sağlar. Kulak zarı iskelesi üretiminde biyomateryal kullanımının genel yaklaşımlar aşağıdaki gibidir.

Otolog Dokular: Otolog dokular, hastanın kendi vücudundan alınan doku veya hücrelerdir. Bu dokular genellikle kulak zarı iskelesi için kullanılan birincil biyomateryaldir. Örneğin, hastanın kıkırdak dokusu (genellikle kaburga kıkırdağından alınır) kulak zarı iskelesi için kullanılabilir.

Sentetik Biyouyumlu Materyaller: Sentetik malzemeler, vücut tarafından tolere edilen ve biyolojik dokularla uyumlu olan malzemelerdir. Bu malzemeler genellikle polimerlerden oluşur ve genellikle 3D yazıcılarla üretilir. Polimerlerin özellikleri, iskele materyalinin dayanıklılığını, biyouyumluluğunu ve işitsel performansını etkileyebilir.

Biyolojik Materyaller: Biyolojik kökenli malzemeler, genellikle vücuttan alınan veya laboratuvar ortamında üretilen biyolojik bileşenlerdir. Örneğin, kollajen veya hyaluronik asit gibi doğal malzemeler kulak zarı iskelesi için kullanılabilir.

Biyomateryal Tabanlı Kompozitler: Biyomateryal tabanlı kompozitler, farklı biyomateryallerin bir araya getirilmesiyle oluşturulan malzemelerdir. Bu kompozitlerin amacı, bir biyomateryalin avantajlarını diğerine eklemek veya eksikliklerini telafi etmektir.

Biyomateryal kullanımı, kulak zarı iskelesi üretimindeki başarı ve uyumluluğu artırabilir. Ancak, hangi biyomateryalin kullanılacağı, hastanın özel durumuna, iskele materyalinin amaçlarına ve cerrahi gereksinimlere bağlı olarak dikkatlice değerlendirilmelidir.

Kulak zarı iskelesi üretim yöntemlerinin her birinin avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Hangi yöntemin kullanılacağı, hastanın durumu, sağlık geçmişi, tercihleri ve doktorun önerilerine bağlı olarak belirlenir.

1.7.1. Doku Mühendisliğinde 3 Boyutlu Biyofonksiyonel Baskı ve Önemi

Doku mühendisliği, insan dokularının yeniden oluşturulması veya hasar görmüş dokuların onarılması için biyomedikal ve mühendislik prensiplerini birleştiren disiplinlerarası bir alandır. 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı, bu alandaki önemli bir teknolojidir. 3 Boyutlu biyofonksiyonel baskılar çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisinde kullanılabilir. Bunlara örnek vermek gerekirse;

Doku Yeniden Oluşturma ve Onarımı: 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı, hücrelerin ve biyomateryallerin belirli bir desen veya yapıya göre tabaka tabaka bir

araya getirilmesini sağlar. Bu, hasar görmüş veya eksik doku parçalarının yeniden oluşturulmasını veya onarılmasını mümkün kılar. Doku mühendisliğinde 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı, doku yeniden oluşturma ve onarımı için bir dizi adımla gerçekleşir:

- 1) Biyoink Materyallerinin Seçimi: İlk adım, doku oluşturmak için kullanılacak biyoink materyallerinin seçimidir. Biyoink materyalleri, hücrelerin büyümesini destekleyen ve doku mühendisliği için uygun olan jel veya hidrojellerdir. Bu materyaller genellikle kolajen, jelatin, fibrin, alginat gibi biyolojik kökenli veya sentetik polimerler olabilir.
- 2) Hücre Seçimi ve Kümelenmesi: Doku oluşturma sürecinde kullanılacak hücreler belirlenir ve uygun bir şekilde kültürlenir. Bu hücreler genellikle hastanın kendi hücreleri (örneğin, kök hücreler) veya uygun donör hücreleri olabilir. Hücreler, biyoink materyali içinde veya üzerinde uygun bir şekilde dağıtılarak veya yerleştirilerek doku oluşturma işlemine başlanır.
- 3) Baskı Süreci: 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı işlemi, önceden belirlenmiş bir desene veya yapıya göre hücreler ve biyoink materyallerinin tabaka tabaka bir araya getirilmesini içerir. Baskı işlemi genellikle bir bilgisayar destekli tasarım dosyasına dayanır ve bir biyobaskı cihazı kullanılarak gerçekleştirilir. Bu adım, doku oluşturma sürecindeki hassas kontrolü sağlar ve istenilen doku yapısının oluşturulmasına izin verir.
- 4) Hücre Proliferasyonu ve Diferansiyasyonu: Doku oluşturulduktan sonra, hücreler tabaka tabaka büyür ve çoğalır. Bu süreçte, hücreler belirli bir işlev kazanmak üzere farklılaşabilirler. Örneğin, kemik dokusu oluşturmak için hücreler kemik hücrelerine dönüşebilir veya kıkırdak dokusu oluşturmak için kondrositlere dönüşebilirler.
- 5) Matürasyon ve Vaskülarizasyon: Oluşan doku, uygun ortamda matürasyon sürecine girer. Bu süreçte, doku daha fazla organize olur ve işlevsel hale gelir. Ayrıca, doku içinde kan damarları oluşturulması veya doku içine kan damarlarının entegrasyonu gibi vaskülarizasyon süreçleri

de gerçekleşebilir. Bu, doku için gerekli olan oksijen ve besin maddelerinin doku içine taşınmasını sağlar ve doku sağlığı için önemlidir.

Sonuç olarak, doku mühendisliğinde 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı, belirli bir desen veya yapıya göre hücrelerin ve biyoteknolojik materyallerinin tabaka tabaka bir araya getirilmesini sağlar. Bu süreç, doku oluşturma ve onarımını mümkün kılar ve kişiselleştirilmiş tedavilerin geliştirilmesine olanak tanır.

Özelleştirilmiş Tedavi: Her insanın anatomisi farklıdır ve her birinin doku ihtiyaçları da farklı olabilir. 3B biyofonksiyonel baskı, hastaya özgü doku ve organlar üretme potansiyeline sahiptir. Bu, kişiselleştirilmiş tedavilerin geliştirilmesine olanak tanır ve tedavi sürecini daha etkili hale getirebilir. Doku mühendisliğinde 3B biyofonksiyonel baskı, doku yeniden oluşturma ve onarımı için yenilikçi bir yaklaşım sağlar.

İlaç Testleri ve Araştırmaları: 3B biyofonksiyonel baskı, laboratuvar ortamında insan dokularının ve organlarının doğru bir şekilde modellenmesini sağlar. Bu, ilaçların etkinliğini ve güvenliğini test etmek için insan vücudunda gerçekleşen reaksiyonları daha iyi anlamamıza yardımcı olur. Bu da ilaç geliştirme sürecini hızlandırabilir ve maliyetleri düşürebilir. Doku mühendisliğinde 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı, ilaç testleri ve araştırmaları için önemli bir platform sağlar.

Doku mühendisliğinde 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı, ilaç testleri ve araştırmaları için önemli bir platform sağlar. Bu süreç, ilaçların etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmek için insan vücudunu daha doğru bir şekilde taklit eden doku modelleri kullanarak ilaç geliştirme sürecini iyileştirmeye yardımcı olur.

Yenilikçi Araştırmalar: Bu teknoloji, araştırmacıların doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanlarında yeni keşifler yapmalarına olanak tanır. Örneğin, 3B biyofonksiyonel baskı, biyolojik olarak aktif doku ve organların oluşturulması için yeni malzemelerin ve yöntemlerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Sonuç olarak, 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı, doku mühendisliği alanında önemli bir teknolojidir çünkü hastalar için özelleştirilmiş tedavilerin geliştirilmesine, ilaç testlerinin iyileştirilmesine ve yenilikçi araştırmaların yapılmasına olanak sağlar. Bu teknoloji, gelecekte sağlık sektöründe önemli bir rol oynamaya devam edecektir.

Doku mühendisliğinde 3 boyutlu biyofonksiyonel baskı, sürekli olarak yenilikçi yaklaşımların geliştirildiği dinamik bir alandır. Sürekli gelişmeye açık olan yenilikçi yaklaşımlar;

- Çok Materyalli Biyoinklerin Kullanımı
- Hücre Odaklı Baskı Teknolojileri
- Vasküler Ağların Entegrasyonu
- Dinamik Doku Modelleri

Bu yenilikçi yaklaşımlar, doku mühendisliğinde 3 boyutlu biyofonksiyonel baskının etkinliğini ve çeşitliliğini artırarak, daha sağlam, fonksiyonel ve hastaya özgü doku modellerinin geliştirilmesine olanak tanır.

1.7.2. Kulak Zarı Üretiminde Kullanılan Biyomalzemeler

Miringoplasti veya timpanoplasti greftleri olarak bilinen yapay veya yedek kulak zarı üretiminde kullanılan malzemeler, spesifik amaca ve istenilen özelliklere göre değişiklik gösterebilmektedir. Kulak zarı üretiminde kullanılan bazı yaygın biyomateryaller şunlardır:

- Otogreftler: Bazı durumlarda temporal fasya veya tragal perikondrium gibi hastanın kendi dokuları toplanıp greft malzemesi olarak kullanılabilir. Otogreftler biyoyumlu olmaları ve reddedilme riskini azaltmaları nedeniyle avantajlıdır. Otogreftler, vücuttan alınan doku veya organların aynı kişiye geri yerleştirilmesini ifade eder. Kulak zarı onarımında, genellikle hastanın kendi vücut dokusu, yani deri veya kıkırdak, otogreft olarak kullanılır. Özellikle kulak zarı perforasyonları veya hasarları durumunda, cerrahi müdahale sırasında hastanın kendi vücut dokusu alınarak kulak zarının onarımı yapılabilir. Bu, vücut dışından yabancı bir madde yerine, hastanın kendi dokusunun kullanılmasını sağlar. Otogreft kullanımı, doku reddi riskini azaltır ve daha doğal bir iyileşme sürecine katkıda bulunabilir. Ancak, otogreft kullanımı da bazı sınırlamalara sahiptir ve cerrahi prosedürün karmaşıklığına, hasarın boyutuna ve hastanın genel sağlık durumuna bağlı olarak değişir.

- Allogreftler: Allogreftler, aynı türün başka bir bireyinden alınan greft materyallerinin kullanılmasını içerir. Kulak zarı onarımı için allograftlar insan kadavralarından veya doku bankalarından temin edilebilir. Yaygın allograft materyalleri arasında fasya lata, perikondrium veya dermis bulunur. Kulak zarı onarımında, başka bir insanın sağlıklı kulak zarı dokusu alınarak hasarlı veya eksik olan bölgeye yerleştirilebilir. Allogreftlerin kullanımı, özellikle hastanın kendi dokusunun uygun olmadığı durumlarda tercih edilebilir. Örneğin, hastanın kendi dokusunun yetersiz olduğu veya daha önce cerrahi müdahale geçirmiş olması durumlarında allogreftler kullanılabilir. Ayrıca, allogreftlerin kullanılması, cerrahi prosedürü hızlandırabilir ve hastanın iyileşme sürecini kolaylaştırabilir. Ancak, allogreft kullanımı da bazı riskleri beraberinde getirebilir. En önemli risklerden biri, doku reddi olasılığıdır. Allogreftin kabul edilmemesi veya reddedilmesi durumunda ek cerrahi müdahaleler gerekebilir. Bu nedenle, allogreft kullanımı her hasta için uygun olmayabilir ve cerrahi ekibin dikkatli bir değerlendirmesi gereklidir.
- Ksenograftlar; Kulak zarı onarımı için ksenograftlar daha az yaygındır ancak domuz ince bağırsak submukozası (SIS) gibi malzemeler kullanılarak araştırılmıştır. Ksenograftlar, farklı türlerden, genellikle hayvanlardan alınan dokuları ifade eder. Kulak zarı onarımında ksenograft kullanımı oldukça nadirdir. Bunun nedeni, ksenograftların insan vücuduyla uyumlu olmama ve doku reddi riski taşıma potansiyeline sahip olmalarıdır. Kulak zarı onarımı için ksenograft kullanımı, genellikle diğer seçeneklerin uygun olmadığı özel durumlarda düşünülebilir. Ancak, insan vücuduyla uyumlu biyomalzemelerin kullanılması tercih edilir. Bu nedenle, otogreftler ve allogreftler genellikle kulak zarı onarımında daha sık tercih edilen seçeneklerdir.
- Sentetik malzemeler: Sentetik biyomateryaller kulak zarı rekonstrüksiyonunda da kullanılabilir. Bazı örnekler şunları içerir:

- Teflon: Yaygın olarak Teflon olarak bilinen Politetrafloroetilen (PTFE), geçmişte kullanılmış olan sentetik bir malzemedir. Ancak uzun vadeli biyouyumluluk ve ekstrüzyon riski ile ilgili endişeler nedeniyle kullanımı azalmıştır.
- Kollajen, doğal kaynaklardan elde edilen veya rekombinant DNA teknolojisiyle üretilen kollajen bazlı materyallerin kulak zarı onarımında kullanımları araştırılmıştır. Kollajen iyi bir biyouyumluluk sunar ve hücre yapışmasını ve doku entegrasyonunu destekler. Kulak zarı onarımında kullanılan biyomalzemelerden biri olan kollajen, vücutta bulunan bir protein olup, dokuların yapısal desteğini sağlar. Kulak zarı onarımında, özellikle kulak zarı perforasyonları veya yırtıklarının onarımında kollajen bazlı implantlar kullanılabilir. Kollajen bazlı implantlar, kulak zarının onarımını desteklemek ve doğal iyileşme sürecini teşvik etmek için kullanılabilir. Bu implantlar genellikle steril bir şekilde hazırlanır ve cerrahi müdahale sırasında hasarlı bölgeye yerleştirilir. Kollajen, vücuda yabancı bir madde değildir ve genellikle iyi tolere edilir. Ancak, kulak zarı onarımında kullanılan kollajen implantların etkinliği ve güvenilirliği üzerine yapılmış klinik çalışmaların sonuçlarına dayanarak kullanılmalıdır. Her hasta ve durum farklı olduğu için, doğru tedavi seçeneğinin belirlenmesi için cerrahi ekibin dikkatli bir değerlendirmesi gereklidir.

Polietilen, polipropilen ve polyesterler gibi çeşitli sentetik polimerler, timpanik membran grefti olarak uygunlukları açısından değerlendirilmiştir. Bu malzemeler belirli mekanik özelliklere ve bozunma oranlarına sahip olacak şekilde tasarlanabilir.

Sentetik malzemeler, genellikle özel olarak tasarlanmış polimerlerden oluşur ve biyouyumlu özelliklere sahip olabilir. Kulak zarı onarımında kullanılan sentetik malzemelerin bazıları şunlardır:

- Poliglikolik Asit (PGA) ve Polietilen Glikol (PEG): PGA ve PEG, biyobozunur bir polimerdir ve genellikle dikiş malzemesi olarak

kullanılır. Kulak zarı onarımında, dikiş malzemesi olarak kullanılabilir ve zamanla vücut tarafından emilir.

- Polaktik Asit (PLA): PLA, bir diğer biyobozunur polimerdir ve cerrahi implantlar için kullanılabilir. Kulak zarı onarımında, implant olarak kullanılabilir ve zamanla vücut tarafından emilir.
- Polikaprolakton (PCL): PCL, biyobozunur bir polimerdir ve genellikle yumuşak doku rejenerasyonu için kullanılır. Kulak zarı onarımında, implant olarak kullanılabilir ve yavaşça vücut tarafından emilir.

1.7.3. Kulak Zarı Doku İskelesi Hücre Destekleri Ve Büyüme Faktörleri

Kulak zarı, bir doku örneğidir ve doku, hücrelerin bir araya gelerek belirli bir işlevi yerine getirmek üzere organize olduğu yapıdır. Kulak zarı, özel bir doku olan epitelyum ve bağ dokusundan oluşur. İşitme işlevini gerçekleştirmek için titreşimleri alır ve orta kulağa iletir. Bu doku, hücrelerin yanı sıra, aralarında bulunan ekstraselüler matris adı verilen bir madde tarafından da desteklenir. Ekstraselüler matris, hücreler arası iletişimi sağlayan ve dokunun yapısal bütünlüğünü koruyan bir ağ gibidir. Bağ dokusu, ekstraselüler matrisin önemli bir bileşenidir ve kulak zarının dayanıklılığını sağlar. Dolayısıyla, kulak zarı hücreleri, doku içindeki ekstraselüler matris tarafından desteklenir. Bu matris, hücrelerin birbirleriyle etkileşim kurmasına ve doku bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur. Bu şekilde, kulak zarı işitme fonksiyonunu yerine getirebilir ve işitsel titreşimleri orta kulağa doğru aktarabilir.

Kulak zarı dokusu iskelesi hücre destekleri, kulak zarı yenilenmesi sırasında hücre büyümesini desteklemek üzere tasarlanmış malzemeler veya yapılarıdır. Bu hücre destekleri, hücrelerin ECM'ye bağlanması, çoğalması ve salgılaması için fiziksel bir çerçeve ve biyolojik olarak uygun bir ortam sağlar ve sonuçta yeni kulak zarı dokusunun oluşumuna rehberlik eder. Hücre desteğinin seçimi biyoyoumluluk, mekanik özellikler, bozunma hızı ve doku mühendisliği yaklaşımının istenen sonucu gibi faktörlere bağlıdır.

Biyobozunur polimerler kulak zarı doku mühendisliğinde hücre destekleri olarak yaygın olarak kullanılır. Bu polimerler, mekanik dayanıklılık, bozunma hızı ve biyoyoumluluk gibi spesifik özelliklere sahip olacak şekilde uyarlanabilir. Hücrelerin yapışması, çoğalması ve hücre dışı matriks salgılaması için geçici bir

iskele sağlarlar. İskele olarak biyobozunur polimerler kulak zarı doku mühendisliğinde hücre destekleri olarak yaygın olarak kullanılır. Hücrelerin yapışması, çoğalması ve hücre dışı matriks salgılaması için geçici bir iskele sağlarlar. İskele zamanla bozuldukça yerine yeni doku oluşur. Kulak zarı doku hücreleri destekleri olarak kullanılan biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin örnekleri arasında poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) ve PLA yer alır.

Doğal Hücre Dışı Matriks Bileşenler dokulardan elde edilen doğal ECM bileşenleri, kulak zarı doku mühendisliğinde hücre desteği olarak da görev yapabilir. Bu malzemeler hücre bağlanmasını, gücünü ve doku yenilenmesini destekleyen biyolojik olarak uygun bir ortam sağlar. Kolajen ve jelatin, kulak zarı doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılan doğal ECM bileşenleridir. Hücreye yapışan bölgelere sahiptirler ve hücre davranışını ve ECM sentezini etkileyebilirler.

Kulak zarı dokusu iskelesi hücre destekleri, kulak zarı yenilenme sürecinde hücrelerin bağlanmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını kolaylaştırır. Doğal dokuyu taklit eden ve fonksiyonel kulak zarı dokusunun oluşumunu teşvik eden destekleyici bir ortam yaratırlar. Hücre desteğinin seçimi biyoyumluluk, mekanik özellikler, bozunma hızı ve doku mühendisliği yaklaşımının istenen sonucu gibi faktörlere bağlıdır.

Kulak zarının doku iskelesi, hücrelerin büyümesini, çoğalmasını ve doku onarımını düzenleyen bir dizi büyüme faktörü içerir. Yaygın olarak görülen büyüme faktörleri;

- 1) Epidermal Büyüme Faktörü (EGF): EGF, hücre çoğalmasını, gücünü ve yara iyileşmesini destekleyen bir büyüme faktörüdür. Kulak zarı da dahil olmak üzere çeşitli dokuların yenilenmesinde rol oynar. EGF, hasarlı kulak zarı dokusunun yeniden epitelizasyonu için çok önemli olan epitel hücrelerinin çoğalmasını ve gücünü uyarır.
- 2) Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta (TGF- β): TGF- β , hücre çoğalması, farklılaşması ve hücre dışı matris üretimi gibi çeşitli hücreyel süreçleri düzenleyen çok yönlü bir büyüme faktörüdür. Kulak zarı doku mühendisliğinde, TGF- β genellikle doku onarımını ve yenilenmesini

desteklemek için kullanılır. Fibroblast çoğalmasını ve ECM sentezini uyararak yeni doku oluşumuna katkıda bulunabilir.

- 3) Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF): FGF'ler, hücre çoğalması, anjiyogenez ve ECM sentezinde önemli rol oynayan bir büyüme faktörleri ailesidir. Temel FGF (bFGF), kulak zarı onarımını ve yenilenmesini destekleme potansiyeli açısından araştırılan FGF'lerden biridir. Hücre proliferasyonunu artırabilir ve ECM bileşenlerinin üretimini uyararak dokunun yeniden şekillenmesini kolaylaştırabilir.
- 4) Trombosit Türevli Büyüme Faktörü (PDGF): PDGF, yara iyileşmesi ve doku onarımı süreçlerinde rol oynar. Hücre göçünü, anjiyogenezi ve ECM sentezini destekler.
- 5) İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF): IGF, hücre büyümesinde, çoğalmasında ve doku onarımında rol oynayan bir büyüme faktörüdür. Kulak zarı dokusunun yenilenmesi de dahil olmak üzere yara iyileşmesini ve doku yenilenmesini destekleme potansiyeli açısından araştırılmıştır.

Bu büyüme faktörleri, kulak zarının doku iskelesinde hücre büyümesini ve onarımını düzenleyerek işitme fonksiyonunun sürdürülmesine katkıda bulunur. Büyüme faktörleri kulak zarı dokusu iskelelerine dahil edilebilir veya yaralanmış veya yenilenmiş kulak zarı dokusuna lokal olarak uygulanabilir. Bunlar, iskele malzemesi aracılığıyla, kontrollü salım sisteminin bir parçası olarak veya doğrudan uygulama yoluyla çeşitli yollarla dağıtılabilir. Büyüme faktörlerinin spesifik kombinasyonu ve dozajı, istenen sonuçlara ve doku yenilenme aşamasına bağlıdır. İyileşmeyi ve fonksiyonel iyileşmeyi artırmak amacıyla kulak zarı doku mühendisliğinde büyüme faktörlerinin kullanımını optimize etmek için kapsamlı araştırmalar devam etmektedir.

1.7.4. Kulak Zarı Mühendisliğinde Ticari Uygulamalar

Kulak dokusu mühendisliği çeşitli ticari uygulamalar için önemli bir potansiyele sahiptir. Yaygın olan ticari uygulamalar aşağıdaki gibidir.

Timpanik Membran (Kulak Zarı) Onarımı: Yaygın olarak kulak zarı yırtılması olarak bilinen kulak zarı delinmeleri, işitme kaybına ve diğer komplikasyonlara neden olabilir. Doku mühendisliği yaklaşımları kulak zarı onarımı

için çözümler sunar. Biyomühendislik ürünü kulak zarı yamaları veya iskeleleri gibi ticari olarak temin edilebilen ürünler, hasarlı kulak zarlarının iyileşmesini ve yenilenmesini kolaylaştırmak için geliştirilebilir. Bu ürünler, cerrahlar tarafından kulak zarı deliklerini onarmak için yapılan işlemler sırasında kullanılarak geleneksel yöntemlere göre daha verimli ve etkili bir çözüm sunabilmektedir.

İşitme Restorasyonu: Çoğunlukla iç kulaktaki tüy hücrelerinin hasar görmesinden kaynaklanan sensörinöral işitme kaybı, doku mühendisliği yoluyla giderilebilir. Ticari uygulamalar, hasar görmüş saç hücrelerinin işlevini geri kazanmayı amaçlayan hücre bazlı tedavilerin veya rejeneratif tedavilerin geliştirilmesini içerebilir. Bu, saç hücrelerinin yenilenmesini uyarmak ve işitme kaybı olan bireylerde işitmeyi iyileştirmek için kök hücrelerin, büyüme faktörlerinin veya gen terapilerinin kullanımını içerebilir.

Koklear İmplantlar: Koklear implantlar, ileri derecede işitme kaybı veya sağırılığı olan bireylerde işitmeyi yeniden sağlamak için kullanılan elektronik cihazlardır. Doku mühendisliği gelişmiş koklear implant teknolojilerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Bu alandaki ticari uygulamalar, implant ile çevre dokular arasındaki entegrasyonu güçlendiren ve implant işlevselliğinin ve hasta sonuçlarının iyileştirilmesine yol açan özel biyomateryallerin veya yüzey kaplamalarının tasarımını ve üretimini içerebilir.

İlaç Dağıtım Sistemleri: Doku mühendisliği aynı zamanda kulak bozukluklarının tedavisi için ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesinde de uygulamalara sahip olabilir. Ticari olarak temin edilebilen ürünler, antibiyotikler, antiinflamatuvar ilaçlar veya büyüme faktörleri gibi terapötik ajanları doğrudan kulaktaki etkilenen bölgeye iletmek üzere tasarlanmış lokalize ilaç dağıtım platformlarını içerebilir. Bu sistemler, ilaçların kontrollü ve sürekli salınımını sağlayarak tedavi etkinliğini artırırken sistemik yan etkileri en aza indirebilir.

Klinik Öncesi Testler ve İlaç Taraması: Doku mühendisliğiyle üretilmiş kulak modelleri, klinik öncesi testler ve ilaç taraması amacıyla kullanılabilir. Bu modeller kulağın yapısal ve işlevsel özelliklerini taklit ederek araştırmacıların ve ilaç şirketlerinin yeni ilaçların veya tedavilerin güvenliğini ve etkinliğini değerlendirmesine olanak tanır. Ticari uygulamalar, araştırma, ilaç geliştirme ve

düzenleme amaçlarıyla doku mühendisliğiyle üretilmiş kulak modellerinin üretimini ve dağıtımını içerebilir.

Kulak Rekonstrüksiyonu: Doğuştan kulak deformitesi olan veya travma veya cerrahi rezeksiyon geçirmiş kişiler için kulak kepçesi rekonstrüksiyonu sıklıkla gereklidir. Doku mühendisliği, kulağın şeklini ve yapısını taklit eden biyomühendislik ürünü kulak çerçeveleri veya yapı iskeleleri geliştirerek kulak kepçesinin yeniden yapılandırılması için çözümler sağlayabilir. Bu çerçeveler, doğal görümlü ve fonksiyonel kulak çevresi dokusunun yenilenmesini kolaylaştırmak için hastadan türetilen hücrelerle veya diğer hücre kaynaklarıyla birleştirilebilir.

Özelleştirilmiş İşitme Cihazları: Doku mühendisliği yaklaşımları, özelleştirilmiş işitme cihazlarının geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Hastaya özel anatomik veriler 3 boyutlu baskı teknolojileriyle birleştirilerek kulak kalıpları veya işitme cihazı kabukları gibi kişiye özel işitme cihazları üretilebiliyor. Bu cihazlar, her bireyin kulağının benzersiz şekline ve hatlarına uyacak şekilde özelleştirilebilir ve böylece daha fazla konfor ve performans sağlanır.

İKİNCİ BÖLÜM

2. MALZEMELER VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında kullanılan Polikaprolakton (PCL, Mw= 80.000 g/mol), Polietilen Glikol (PEG Mw = 2000) ve Resveratrol (RSV), Sigma-Aldrich'ten (Münih, Almanya) satın alınmıştır. Diklorometan (DCM), Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alınmıştır. Tüm malzemeler kimyasal olarak stabil ve biyolojik olarak uyumludur. Grafen oksit sentezi için sülfürik asit (H₂SO₄), potasyum permanganat (KMnO₄), fosforik asit (H₃PO₄) ve hidrojen peroksit (H₂O₂), Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Hidroksiapatit (HA) için ve kalsiyum nitrat tetra-hidrat (Ca(NO₃)₂·4H₂O), amonyum di-hidrojen fosfat ((NH₄)₂HPO₄) ve amonyak çözeltisi (NH₄OH), Sigma-Aldrich/Almanya'dan temin edilip yüzey aktif madde olarak sodyum tripolifosfat seçilmiştir.

2.1. KULLANILAN POLİMERLER

2.1.1. Resveratrol (RSV)

RSV, kırmızı şarapta, üzümde ve diğer bazı bitkilerde bulunan doğal bir polifenolik bileşiktir (Tian & Liu, 2020). Üzüm, meyveler, yer fıstığı ve bazı şifalı bitkiler de dahil olmak üzere çeşitli bitkilerde bulunur. RSV, kırmızı şaraptaki varlığı ve potansiyel sağlık yararları nedeniyle popülerlik kazanmıştır. Araştırmalar, RSV'nin antioksidan ve antienflamatuvar özelliklere sahip olduğunu, yani vücudun serbest radikallerin neden olduğu hasara karşı korunmasına ve inflamasyonun azaltılmasına yardımcı olabileceğini öne sürülmektedir. Ayrıca kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli sağlık koşulları üzerindeki potansiyel etkileri açısından da incelenmiştir. Bazı çalışmalar RSV'nin kan akışını iyileştirerek ve kan pıhtı oluşumu riskini azaltarak kardiyovasküler faydalara sahip olabileceğini öne sürmektedir. Ayrıca kanser hücrelerinin büyümesini engellemeye ve tümörlerin yayılmasını önlemeye yardımcı olabileceği için potansiyel antikanser özellikleri açısından da araştırılmıştır. Ek olarak RSV'nin yaşlanma ve uzun ömür üzerindeki potansiyel etkileri açısından da incelenmiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan bazı araştırmalar, RSV'nin belirli

organizmalarda yaşam süresini uzatabildiğini ve genel sağlığı iyileştirebildiğini göstermiştir, ancak insan ömrü üzerindeki etkileri hala belirsizdir. RSV sağlığın çeşitli alanlarında umut vaat etse de araştırmaların çoğunun hayvanlar üzerinde veya laboratuvar ortamlarında yürütüldüğünü belirtmek önemlidir. Etkilerini tam olarak anlamak ve insanlar için en uygun dozu belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Antioksidan ve antienflamatuvar özellikleri de dâhil olmak üzere potansiyel sağlık yararları nedeniyle dikkat çekmiştir (Ciftci, 2023). RSV, doku mühendisliğindeki potansiyel rolü de dâhil olmak üzere çeşitli uygulamalar için incelenmiştir. RSV'nin antienflamatuvar ve antioksidan özellikleri, doku hasarı ve hastalıkta yaygın faktörler olan inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltmaya yardımcı olabilir. RSV'nin doku mühendisliği yapı iskelelerine veya hidrojellere dahil edilmesi, potansiyel olarak doku yenilenmesine yardımcı olabilir ve implantasyon bölgesindeki inflamasyonu azaltabilir (Fiod Riccio et al., 2020; Xiao et al., 2019). RSV, potansiyel kardiyovasküler faydaları açısından da incelenmiştir. Hasarlı kalp dokusunu onarmayı veya yenilemeyi amaçlayan doku mühendisliği yapılarına dâhil edilebilir. Antioksidan özellikleri kalp hücrelerinin oksidatif hasardan korunmasına yardımcı olabilir.

Bazı çalışmalarda RSV'nin kemik sağlığı üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Kemik rejenerasyonunu teşvik etmek, kemik yoğunluğunu arttırmak ve potansiyel olarak osteoporozla ilişkili kırıkları önlemek amacıyla kemik doku mühendisliği için iskelelere veya matrislere dahil edilebilmektedir (Shaito et al., 2020), (Malviya et al., 2022).

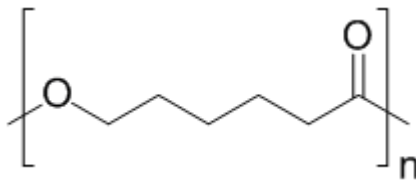
RSV, nöroprotektif özellikleri açısından da araştırılmıştır. Sinir dokusu mühendisliğinde nöronların büyümesini ve hayatta kalmasını desteklemek için kullanılabilir, bu da RSV'yi omurilik yaralanmaları veya nörodejeneratif hastalıklar gibi durumlarda hasar görmüş sinir dokusunun onarılması için potansiyel bir aday haline getirir. RSV'nin antioksidan özellikleri, cilt hücrelerini UV radyasyonundan ve diğer çevresel stres faktörlerinden koruyarak cilt dokusu mühendisliğine fayda sağlayabilir (Alonso et al., 2017; Annaji et al., 2021). Yara iyileştirme veya yaşlanma karşıtı uygulamalar için tasarlanmış cilt iskelelerine veya kremlere dahil edilebilir (Alonso et al., 2017; Caddeo et al., 2016). Doğrudan doku mühendisliğiyle ilgili

olmasa da RSV'nin potansiyel yaşlanma karşıtı özellikleri ilgi uyandırmaktadır. Hücresel yaşlanmayı ve uzun ömürlülüğü nasıl etkilediğine dair araştırma, genel sağlığı ve doku dayanıklılığını teşvik ederek doku mühendisliği çabalarına dolaylı olarak fayda sağlayabilir (Khaimov et al., 2019; Uchida et al., n.d.)

RSV, terapötik özellikleri nedeniyle aktif bileşiktir. RSV'nin tedavi edici özelliklerini korumak ve arttırmak amacıyla elektro-eğirme yöntemiyle biyokompozit membranlar üretilmiştir. Biyouyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen PCL-PEG polimerleri, biyokompozit membran tasarımı için temel malzeme olarak seçilmiştir (Karakucuk & Tort, 2020; H. Zhou et al., 2016).

2.1.2. Polikaprolakton (PCL)

PCL, alifatik polyester ailesine ait biyolojik olarak parçalanabilen sentetik bir polimerdir. Kaprolakton monomerlerinin polimerizasyonu yoluyla oluşturulur. PCL, onu çeşitli uygulamalarda faydalı kılan benzersiz özellikleriyle bilinir. PCL'nin temel özelliklerinden biri biyolojik olarak parçalanabilirliğidir. Toprak veya kompost gibi çevresel koşullar altında nispeten uzun bir süre boyunca toksik olmayan yan ürünlere ayrışır. Bu biyolojik olarak parçalanabilirlik, PCL'yi tıbbi cihazlar, ilaç dağıtım sistemleri ve doku mühendisliği gibi geçici bir destek veya iskeleyle ihtiyaç duyulan uygulamalar için popüler bir malzeme haline getirir.



Şekil 2.1. PCL'nin molekül yapısı

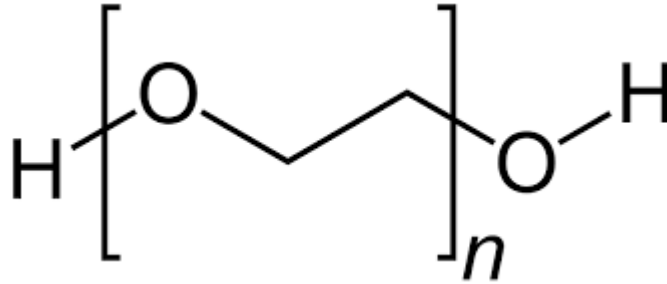
PCL, tipik olarak 60-65°C civarında düşük bir erime noktasına sahiptir; bu, enjeksiyon kalıplama, ekstrüzyon veya 3B baskı gibi geleneksel teknikler kullanılarak kolayca eritilebileceği ve işlenebileceği anlamına gelir. Bu özellik PCL'yi filmler, fiberler, kaplamalar ve 3B baskılı nesnelere dahil olmak üzere çeşitli ürünlerin üretiminde çok yönlü hale getirir.

İşlenebilirliği ve biyolojik olarak parçalanabilirliğine ek olarak PCL, iyi mekanik özellikler sergiler. Nispeten esnek bir malzemedir, bu da onu yüksek uzamaya ve düşük sertliğe sahip malzemeler gerektiren uygulamalar için uygun kılar.

Biyouyumluluğu ve yavaş bozunma hızı nedeniyle PCL, tıp alanında kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. İlaç dağıtım sistemlerinde farmasötik bileşiklerin kontrollü bir şekilde kapsüllenmesi ve salınması için kullanılmıştır. PCL bazlı yapı iskeleleri, hücre büyümesi ve doku yenilenmesi için yapısal destek sağlamak üzere doku mühendisliğinde de kullanılmıştır.

2.1.3. Polietilen Glikol (PEG)

PEG, tekrarlanan etilen oksit birimlerinden oluşan bir polieter bileşiktir. İlaç, kozmetik, kişisel bakım ürünleri ve gıda gibi çeşitli endüstrilerde geniş bir uygulama alanına sahip, sentetik, suda çözünebilir bir polimerdir.



Şekil 2.2 PEG'in molekül yapısı

PEG, polimerin çeşitli molekül ağırlıkları ve boyutlarıyla sonuçlanan bir işlem olan etilen oksidin polimerizasyonu ile üretilir. PEG'in moleküler ağırlığı onun viskozitesi, erime noktası ve çözünürlüğü gibi fiziksel özelliklerini belirler. Daha düşük moleküler ağırlığa sahip PEG molekülleri tipik olarak sıvıdır, daha yüksek moleküler ağırlığa sahip olanlar ise katı veya mumsu yapıdadır.

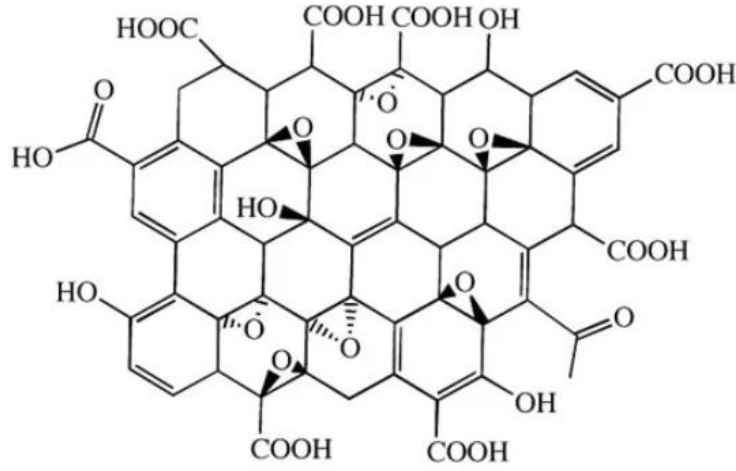
PEG, su ve birçok organik çözücüdeki mükemmel çözünürlüğü ile bilinir. Aynı zamanda ilaçlar, boyalar ve kokular gibi çok çeşitli diğer maddelerle de uyumludur, bu da onu çeşitli formülasyonlarda çok yönlü bir bileşen haline getirir. PEG'in birincil kullanımlarından biri farmasötik bir yardımcı maddedir. Oral solüsyonlar, merhemler, kremler ve fitiller de dâhil olmak üzere ilaçlarda sıklıkla bir

çözdürücü, dengeli ve viskozite değiştirici olarak kullanılır. PEG, suda çözünlüğü zayıf olan ilaçların çözünlüğünü ve biyoyararlanımını artırabilir ve ayrıca ilaçların formülasyonlardan salınımını da uzatabilir.

PCL, biyoyumluluk, toksik olmayan bozunma ürünleri, kullanım kolaylığı ve iyi mekanik özellikler gibi çeşitli avantajlara sahip, biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir. PCL yapısal destek sağlarken PEG hidrofiliği artırır. Aynı zamanda PEG, zaman içinde sürekli RSV salınımı sağlayan ilaç dağıtım sistemleri oluşturmak için de kullanılmıştır. Bunun vücuttaki bileşiğin terapötik seviyelerini korumaya yardımcı olması amaçlanmaktadır (Vijayakumar et al., 2016). Bu çalışmada PCL-PEG polimerlerine elektro-eğirme yöntemiyle RSV ilacı eklenmiştir. Biyokompozit membran tasarımı, PCL-PEG polimerlerine grafen oksit (GO) ve hidroksiapatit (HAP) yüklenerek gerçekleştirilmiştir. Elektro-eğirme yöntemi, polimerler ve RSV gibi biyoaktif bileşikler de dahil olmak üzere çeşitli malzemelerden nano lifli membranlar veya iskeleler oluşturmak için çok yönlü bir tekniktir. Elektro-eğirme, RSV membranları yüksek yüzey alanı ve kontrollü ilaç salma özellikleri nedeniyle ilaç dağıtımı, doku mühendisliği ve yara iyileşmesinde potansiyel uygulamalara sahiptir (Maria Leena et al., 2020).

2.1.4. Grafen Oksit (GO)

GO, iki boyutlu bir bal peteği örgüsünde düzenlenmiş tek bir karbon atomu katmanı olan grafenin bir türevidir. GO, grafenin oksidasyonu ile elde edilir ve bu, hidroksil (-OH), karboksil (-COOH) ve epoksi (-O-) grupları gibi oksijen içeren fonksiyonel grupların grafen yapısına eklenmesiyle sonuçlanır.



Şekil 2.3 GO'nun molekül yapısı

Oksidasyon süreci GO'yu hidrofilik hale getirir ve topaklanma eğilimi gösteren grafenin aksine suda ve bazı organik çözücülerde dağılıbilir hale getirir. Oksijen fonksiyonel gruplarının varlığı, GO'ya saf grafene kıyasla artan elektriksel yalıtım davranışı ve gelişmiş çözünürlük gibi farklı özellikler de kazandırır.

GO, benzersiz özellikleri nedeniyle bilimsel araştırmalarda ve çeşitli uygulamalarda büyük ilgi görmüştür. Geniş bir yüzey alanı, yüksek mekanik mukavemet ve olağanüstü termal ve kimyasal stabilite sunar. Ayrıca GO'nun oksijen fonksiyonel grupları onu çeşitli organik ve inorganik malzemelerle uyumlu hale getirerek kompozit malzemelere kolay işlevselleştirme ve entegrasyon sağlar. Uygulamalar açısından GO, elektronik, enerji depolama, sensörler, membranlar ve biyomedikal uygulamalar gibi alanlarda araştırılmıştır. Biyomühendislik alanında GO, ilaç dağıtımı, biyo-görüntüleme, doku mühendisliği ve biyo-algılama gibi uygulamalar için incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında RSV ilacının terapötik aktivitesini arttırmak için kullanılan bir diğer katkı maddesi GO'dur (Gong et al., 2023). GO, ilaç yüklemesi için mekanik gücü, elektriksel iletkenliği ve yüzey alanını artırır (Sainz-urruela et al., 2021).

GO, yüksek yüzey alanı, mekanik mukavemeti ve ilaç adsorpsiyon potansiyeli nedeniyle bir destek malzemesi olarak hizmet vermektedir. RSV ile yüklenmiş ve GO ile modifiye edilmiş bir biyokompozit membran oluşturmak, ilaç

dağıtımı, doku mühendisliği veya diğer biyomedikal alanlardaki potansiyel uygulamalara sahip karmaşık ancak umut verici bir yaklaşımdır (Liu et al., 2017; Sainz-urruela et al., 2021; Wang et al., 2021).

2.1.5. Hidroksiapatit (HAP)

HAP, kalsiyum apatitin doğal olarak oluşan bir mineral formudur. Omurgalı kemiklerinin ve dişlerinin ana inorganik bileşenidir. HAP, kalsiyum, fosfat ve hidroksit iyonlarının bileşimini gösteren $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ kimyasal formülüne sahiptir.

Yapı açısından HAP, kristalli bir kafes düzeni oluşturarak ona denge ve güç kazandırır. Kalsiyum ve fosfat iyonları birleşerek sert bir çerçeve oluştururken, hidroksit iyonları kafes içinde belirli bölgeleri işgal eder.

HAP biyolojik olarak uyumludur, yani canlı dokular tarafından iyi tolere edilir. İnsanlarda ve diğer omurgalılarda kemik ve dişlerin gelişiminde, büyümesinde ve onarımında çok önemli bir rol oynar. Kemiklere gerekli yapısal desteği ve sertliği sağlayarak mekanik kuvvetlere dayanmalarını sağlar.

HAP, biyolojik sistemlerdeki öneminin yanı sıra diş hekimliği, ortopedi ve biyomalzeme bilimlerinde de çeşitli uygulamalar bulmuştur. Laboratuvarında sentezlenebilir ve kemik grefti malzemesi, diş implantları, tıbbi cihazlar için kaplamalar ve doku mühendisliği için iskele olarak kullanılabilir.

HAP, membrana biyoaktivite ve potansiyel osteojenik özellikler katacaktır. HAP, özellikle kemik dokusu mühendisliğinde biyoaktivitesi ile bilinmektedir. RSV yüklü HAP membranı, özellikle kemik veya diş uygulamalarında hücre yapışmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını desteklemelidir (Li et al., 2021). HAP'ın biyokompozit membranlarda kullanım amacı, HAP parçacıkları üzerinde pürüzlü bir yüzey oluşturmaktır; bu, su molekülleri ile etkileşim için mevcut yüzey alanını artırabilir ve potansiyel olarak hidrofiliği artırabilir. Artan hidrofiliklik, ilacın yüzey alanındaki salınım kinetiği süresini arttırabilir. Aşındırma veya aşındırıcı işlemler gibi teknikler kullanılabilir. HAP'ın hidrofiliğinin arttırılması, biyolojik sıvılarla daha iyi etkileşimleri, hücre yapışmasını ve iyonların ve besin maddelerinin değişimini destekleyebilir ve bunların tümü onun biyoaktif özelliklerine katkıda bulunur.

2.2. KULLANILAN ÖLÇÜM VE KARAKTERİZASYON CİHAZLARI

2.2.1. Franz Difüzyon Cihazı

Franz difüzyon hücresi veya Franz hücresi olarak da bilinen Franz difüzyon cihazı, farmasötik araştırma ve testlerde yaygın olarak kullanılan bir ayardır. İlaçlar gibi maddelerin bir membrandan difüzyonunu ölçmek için özel olarak tasarlanmıştır.

Franz difüzyon cihazı, bir membranla ayrılmış iki bölmeden oluşur. Donör bölgesi ilgilenilen maddeyi içeren numuneyi veya formülasyonu tutarken, reseptör bölgesi alıcı dokuyu veya hedef bölgeyi simüle eden uygun bir ortam içerir. Membran, iki bölme arasında bir bariyer görevi görerek, maddenin donörden reseptör bölgesine kontrollü difüzyonuna izin verir.

Franz difüzyon hücresinin temel bileşenleri şunları içerir:

Donör Bölmesi: Test edilen numunenin veya formülasyonun bulunduğu bölmedir. Tipik olarak maddenin yerleştirildiği küçük bir rezervuar veya kuyudur. Donör bölgesi membranla doğrudan temas halindedir.

Reseptör Bölmesi: Bu oda, maddenin yayılmasının amaçlandığı ortamı taklit eden uygun bir sıvı olan reseptör ortamını tutar. Bir tampon çözeltisi veya fizyolojik bir sıvı içerebilir. Reseptör bölgesi donör bölgesinden membranla ayrılır.

Membran: Membran, Franz difüzyon cihazının kritik bir bileşenidir. Maddenin donörden reseptör bölgesine kontrollü difüzyonuna izin veren bir bariyer görevi görür. Franz hücrelerinde kullanılan zar tipik olarak selüloz veya sentetik polimerler gibi sentetik bir zar veya hayvan derisi veya sentetik deri ikameleri gibi biyolojik bir zardır.

Karıştırma Sistemi: Reseptör ortamında tekdüzeliği korumak ve difüzyon işlemini kolaylaştırmak için sıklıkla bir karıştırma sistemi kullanılır. Ortamın sürekli çalkalanmasını ve iyice karıştırılmasını sağlayarak maddenin difüzyon hızının doğru ölçümüne olanak sağlar.

Franz difüzyon cihazının kullanıldığı bir deney sırasında ilgi konusu madde donör bölgesine uygulanır. Zamanla madde, konsantrasyonunun belirli aralıklarla ölçüldüğü reseptör bölgesine membrandan yayılır. Araştırmacılar, reseptör bölgesindeki maddenin konsantrasyonunu analiz ederek onun difüzyon hızını, salınım kinetiğini ve diğer ilgili parametreleri belirleyebilir.

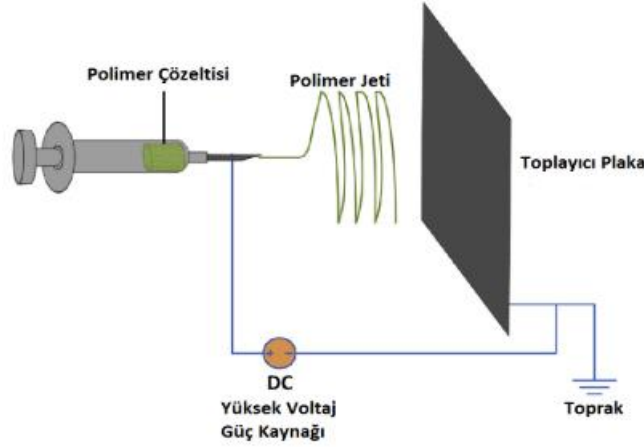
2.2.2. Elektro-eğirme Cihazı

Elektro-eğirme yöntemi, 1897 yılında elektrostatik kuvvet kullanarak çok ince lifler üretmek amacıyla ortaya atılmış, ancak yöntemin kabul edilip yaygınlaşması 1934'te Formhals'ın patent almasıyla başlamıştır (Hu et al., 2014; Ünal, 2017). O zamandan günümüze kadar elektro-eğirme uygulamaları ilaç verme (Pillay et al., 2013; Sill & von Recum, 2008), askeri koruyucu giysiler (S. Lee & Obendorf, 2006; M. Gorji, Ali. A. A. Jeddi, 2010), filtreleme (Aussawasathien et al., 2008; Gopal et al., 2006), enzim immobilizasyonu (Shi et al., 2008), yara örtüleri (Pillay et al., 2013), kozmetik maskeler, nano-sensörler (Kowalczyk et al., 2008), enerji uygulamaları ve doku mühendisliği yapı iskeleleri (Pham et al., 2006) gibi alanlarda kullanılmaktadır.

Elektro-eğirme, hücre gelişimi için uygun bir ortam oluşturan ve hücre dışı matrisin doğal halini taklit ederek nano/mikro liflerden iskeleler üretebilen çok yönlü bir tekniktir (Boudriot et al., 2006). Yüksek elektrik alan oluşturularak bir polimer çözeltisinden nano boyutlu lifler üretme işlemidir. Elektro-eğirme, üretimin hızlı olması, malzemelerin yaygın ve kolay bulunabilir olması, düşük maliyetli olması ve oluşturulan lifin kalitesinin sabit tutulabilmesi gibi özelliklere sahip elektro-hidrokinamik yöntemlerden biridir (Bhardwaj & Kundu, 2010; Chen et al., 2007; Hu et al., 2014). İstenen lif özelliklerini sağlayabilme ve lif inceliğinin kontrol edilebilir olması, elektro-eğirmenin sunduğu avantajlardandır. İtici elektrostatik kuvvetin yüzey gerilimini aşması ve Taylor konisinin ucundan yüklü bir sıvı jetinin püskürtülmesi ile kritik bir değere ulaşabilmesi, polimerik çözeltiden nanofiberler üretimini mümkün kılar (Frenot & Chronakis, 2003).

İlaç yükleme yöntemleri arasında harmanlama, koaksiyel elektro-eğirme, yüzey modifikasyonu ve emülsiyon gibi çeşitli teknikler bulunur. Bu yöntemler, farklı ilaç salım mekanizmaları ve lif yapısı oluşumları sağlar. Harmanlama, ilacın elektro-eğirme işleminden önce doğrudan polimer çözeltisi ile dağıtılması veya çözülmesi ile gerçekleşen temel yöntemlerden biridir (Bhattarai et al., 2019; Kaiyal et al., 2014; Zhang et al., 2017). İlaç ve polimer arasındaki fizikokimyasal özelliklerin benzerliği arttıkça, çözünme sistemi daha iyi sonuç verir. Ancak, ilaç ve polimer arasındaki benzerlik azaldığında uyumsuzluk ortaya çıkarsa, ilacın yükleme dozunun düşürülmesi çözünmesini kolaylaştırabilir (Kim et al., 2004; Zhang et al.,

2017). Düşük ilaç çözünürlüğü, ilaç dağılımını üniform olmayan bir şekle dönüştürebilirken, yüksek çözünürlüğe sahip ilaçlarda da performans olumsuz etkilenebilir; ilaç çözünürlüğü, ilaç dispersiyonunun performansını belirler (Kim et al., 2004).



Şekil 2.4 Elektro-eğirme yöntemi şematik gösterimi (Karayeğen, 2016).

Elektro-eğirme cihazı tipik olarak aşağıdaki bileşenlerden oluşur:

Yüksek Gerilim Güç Kaynağı: Bu bileşen, polimer çözeltisi ile topraklanmış toplayıcı arasında yüksek bir elektrik potansiyeli farkı oluşturur. Uygulanan voltaj genellikle birkaç kilovolt ila onlarca kilovolt aralığındadır.

Şırınga veya Düze: Polimer çözeltisi veya eriyik, yüksek voltajlı güç kaynağına bağlı bir şırınga veya püskürtme memeciğine yüklenir. Şırınga veya düze, içinden polimer çözeltisinin ekstrüzyona tabi tutulduğu ince bir iğneye veya ağızlığa sahiptir.

Düzeden Toplayıcıya Mesafe: Düze veya şırınga ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe, elektro-eğirme prosesinde çok önemli bir rol oynar. Polimer jetinin düzeden toplayıcıya doğru giderken gerilmesini ve katılaşmasını belirler.

Topraklanmış Kollektör: Toplayıcı tipik olarak elektrik devresini tamamlamak için topraklanmış dönen bir tambur veya sabit bir plakadır. Yüklü polimer jeti ekstrüzyona tabi tutulduğunda elektrik alanı tarafından toplayıcıya doğru çekilir ve lifli bir yapı oluşturur.

Polimer Çözeltisi Haznesi: Elektro-eğirme cihazı, polimer çözeltisini veya eriyiği tutan bir hazne içerebilir. Rezervuar, elektro-eğirme işlemi sırasında polimer malzemenin sürekli olarak beslenmesini sağlar.

Elektro-eğirme işlemi aşağıdaki adımları içerir:

Polimer Solüsyonunun Hazırlanması: Bir polimer, bir solüsyon oluşturmak veya eritmek için uygun bir solvent içerisinde çözülür veya eritilir. Başarılı elektro-eğirme için polimer çözeltisinin istenen viskoziteye ve iletkenliğe sahip olması gerekir.

Polimer Çözeltisinin Yüklenmesi: Polimer çözeltisi elektro-eğirme cihazının şırıngasına veya memeciğine yüklenir.

Yüksek Gerilim Uygulaması: Düze ile toplayıcı arasında yüksek bir elektrik alanı uygulanarak yüksek gerilim güç kaynağı etkinleştirilir. Bu, polimer çözeltisinin yüklü bir jet oluşturmasına neden olur.

Lif Oluşumu: Yüklü polimer jeti, elektrostatik kuvvetler nedeniyle gerilme ve kırılmaya maruz kalır. Çözücünün buharlaşması veya soğutulması, jetin topraklanmış toplayıcıda toplanan ultra ince lifler halinde katılaşmasına yol açar.

Elektro-eğirme yoluyla üretilen nanolifler, yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahiptir ve yüksek gözeneklilik ve mekanik mukavemet gibi benzersiz özellikler sergileyebilir. Doku mühendisliği, filtreleme, ilaç dağıtım sistemleri, sensörler ve enerji depolama cihazları dahil olmak üzere çeşitli alanlarda uygulama alanı bulurlar.

2.2.3. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

HPLC sistemi veya HPLC cihazı olarak da bilinen bir HPLC cihazı, bir karışımdaki bileşenleri ayırmak, tanımlamak ve ölçmek için kullanılan karmaşık bir analitik araçtır.

HPLC cihazı, kromatografi, özellikle de sıvı kromatografi prensibine göre çalışır. Kolon içindeki hareketli faz ile sabit faz arasındaki bileşenlerin diferansiyel bölünmesine veya adsorpsiyonuna dayanır. Numune sisteme enjekte edilirken, farklı bileşenler sabit fazla farklı şekilde etkileşime girdiğinden ayrılmaya uğrar. Bileşenler kolondan farklı zamanlarda ayrılarak kromatogramda farklı tepe noktaları oluşturur.

HPLC, ilaç, biyoteknoloji, yiyecek ve içecek, çevresel analiz ve adli bilimler dahil olmak üzere çeşitli endüstrilerde yaygın olarak kullanılmaktadır. İlaç analizi,

kalite kontrol, safsızlık profili oluşturma, bileşik saflaştırma ve eser bileşenlerin tanımlanması gibi görevlerde kullanılır. HPLC, yüksek çözünürlüklü ayırmalar, mükemmel hassasiyet ve çok çeşitli numune türlerinin işlenmesinde çok yönlülük sağlar ve bu da onu analitik kimyada güçlü bir teknik haline getirir.

2.3. HAP SENTEZİ

HAP nano tozu, daha önce Melike ve arkadaşları tarafından tarif edilen ıslak kimyasal çökeltme yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir (Ozder et al., 2023). HAP çökeltisi ve su, HAP nano tozunun öncül olarak sentezinde kullanılan asit ve alkali çözeltilerin (sırasıyla amonyum di-hidrojen fosfat ve kalsiyum nitrat tetra-hidrat) reaksiyonuyla oluşturuldu. HAP'ın istenen özelliklerini elde etmek için deney sıcaklığı 25°C'ye ayarlanmış ve reaksiyon ortamının pH'ı 10'un üzerine ayarlanmıştır. Kısaca, 0,1 mol kalsiyum nitrat tetra-hidrat ve 0,02 mol amonyum di-hidrojen fosfat, 100 ml damıtılmış su içerisinde ayrı ayrı çözülmüştür. Daha sonra iki çözeltinin pH'ı amonyum çözeltisi ile 10'a ayarlanmış ve 10 dakika ultrasonikasyona tabi tutulmuştur. Bu iki çözelti birbirine damlatıldığında HAP nano tozu çökelti halinde oluşmuştur. Çöken HAP nano tozu distile su ile yıkanıp 4100 rpm'de 4 dakika santrifüj edilmiş ve bu işlem 6 kez tekrarlanmıştır.

2.4. GO SENTEZİ

Tipik bir sentez protokolünde standart bir prosedür kullanılmıştır. Öncelikle 1 L'lik bir beher hazırlanmış ve içine 360 mL konsantre sülfürik asit ve 40 mL fosforik asit karışımı ilave edilmiştir. İyice karıştırmayı kolaylaştırmak için büyük bir karıştırma çubuğu yerleştirilmiş ve kap bir yağ banyosuna yerleştirilmiştir. Böylece yağ seviyesinin kap içindeki sıvı seviyesini aşması sağlanmıştır. Yağ banyosu, sıcaklığı 60°C'de tutacak şekilde ayarlanırken, sıcaklığı izlemek ve kontrol etmek için sentez hacmine bir termometre yerleştirilmiştir. Eş zamanlı olarak karıştırma plakası, 200 rpm'lik bir karıştırma hızına ayarlanmıştır. Daha sonra, asit karışımı içerisine kademeli olarak 3,0 g grafit ve 18,0 g potasyum permanganat ilavesi edilmiştir. Elde edilen reaksiyon karışımı, buzla doldurulmuş behere dikkatlice dökülmüştür. Ek olarak, 3 mL'lik ağırlıkça 30'luk 3 ila 5 kısım % hidrojen peroksit eklenmiştir. Bu, süspansiyonda mor renk tonundan, fark edilebilir parlak beyaz

benekler içeren canlı sarı renk tonuna geçişe neden olmuştur. Ortaya çıkan ürünü daha da saflaştırmak için, distile suyla art arda altı durulamadan ve ardından 45 dakika süreyle 3000 rpm'de santrifüjlemeden oluşan kapsamlı bir yıkama adımlarına tabi tutulmuştur. Asit bileşeni daha sonra bol miktarda akan su ile birlikte kanalizasyona atılmıştır. Ürün ayrıca saf suyla yıkamaya tabi tutulmuş; burada her santrifüj tüpü saf suyla doldurulmuştur ve peleti parçalamak için bir cam çubuk kullanılmıştır. Bir kez daha 3000 rpm'de 45 dakika boyunca santrifüjleme yapılmıştır. Bu yıkama prosedürü, bu kez ağırlıkça %35 konsantre hidroklorik asit kullanılarak üç kez tekrarlanmıştır. Pelet, bir cam karıştırma çubuğu kullanılarak yavaşça parçalanmış ve tüplerin daha iyi karışmasını sağlamak için hafifçe çalkalanmıştır. Santrifüjleme daha sonra 3000 rpm'de 45 dakika süreyle tekrarlanmıştır. Bunu takiben ürün üç kez susuz etanol ile yıkanılmış ve 3000 rpm'de 45 dakika santrifüje tabi tutulmuştur. Bir etanol çözeltisi içerisinde GO elde edilmiştir.

2.5. BİYOKOMPOZİT KULAK ZARI TASARIMI

PCL ağırlıkça 1, 3, 5 ve 7 olmak üzere çeşitli yüzdelerde çözülmüştür. Diklorometan (DCM) içindeki %'ler manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında (23°C) 1 saat karıştırılmıştır. Bu adımdan sonra 0,005 g PEG ve RSV ağırlıkça %3 oranında ayrı ayrı ilave edilmiştir. % PCL solüsyonu manyetik karıştırıcıda 1 saat karıştırılmıştır. GO ve HAP malzemeleri, her biri 2 saat süren üç ultrasonikasyon döngüsü ve ardından dispersiyonlar oluşturmak için 30 dakika karıştırarak tamamen çözülmüştür. Sabit bir sıcaklığı korumak için ultrasonik banyoya periyodik olarak soğuk su ilave edilmiştir. Daha sonra, her biri ağırlıkça %1 konsantrasyondaki GO ve HAP dispersiyonları, gece boyunca oda sıcaklığında sürekli manyetik karıştırma altında %10 PCL-PEG ile karıştırılmıştır. Elektro-eğirme cihazının malzemelerinin ideal özelliklerinden dolayı %10'luk bir PCL çözümü seçilmiştir. Saf PCL-PEG, PCL-PEG-RSV, PCL-PEG/GO-RSV, PCL-PEG/HAP-RSV ve PCL-PEG/GO-HAP-RSV hazırlamak için geleneksel bir Elektro-eğirme ekipmanı (Fatih Sultan Mehmet Vakıf Üniversitesi, BİORGİNE Laboratuvarı, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Karışım, 19 kalibrelik paslanmaz çelik bir iğneyle donatılmış 10 ml'lik bir cam

şırıngaya yerleştirilmiş ve ardından sabit koşullar altında elektro-eğirme işlemine tabi tutulmuştur.

Kullanılan parametreler şu şekildedir:

- 1 ml/saat akış hızı
- 15 cm iğne-toplayıcı mesafesi
- 15 kV yüksek voltaj
- %40 bağıl nem ile 25°C kontrollü sıcaklık

Elde edilen lifler, çapı 100 mm olan, alüminyum folyo kaplı, topraklanmış bir döner tambur üzerinde toplanmıştır. Tambur 5 devir/dakika hızla dönmüş ve toplama işlemi 90 dakika sürmüştür. Toplandıktan sonra biyokompozit membranlar, kalan solventleri etkili bir şekilde ortadan kaldırmak için çeker ocak altında en az 2 gün boyunca dikkatlice kurutulmuştur.

Hazırlanan biyokompozit membran grupları;

BCM1: PCL-PEG-RSV

BCM2: PCL-PEG/RSV-GO

BCM3: PCL-PEG/RSV-HAP

BMC4: PCL-PEG/RSV-GO-HAP

2.6. KARAKTERİZASYON VE ANALİZLER

2.6.1. Mekanik Analizler

Numuneler (100×20×0,1) mm boyutlarında dikdörtgen şeritler halinde işlenmiştir. Daha sonra ASTM D882 standart koduna uygun olarak PCL-PEG ve BCM malzemelerinin kırılma noktasına kadar 5 mm/dk hızla çekilmesiyle gerilim/gerinim testi gerçekleştirilmiştir.

2.6.2. Morfolojik Analizler

Biyokompozit membranların morfolojik analizi taramalı elektron mikroskobu (SEM, EVO LS 10, ZEISS) kullanılarak yapılmıştır. SEM'in çalışma koşulları ikincil elektron moduyla 5 kV'ye ayarlanmıştır. İletkenliği sağlamak için, polimerlerin doğal iletkenliği olmadığından tüm BCM numuneleri bir altın-paladyum tabakasıyla kaplanmıştır. Fiber çapı dağılımı, Diameter J adı verilen bir araç kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu araç, fiberin ekseni boyunca her pikseldeki nano fiberlerin

çapını belirlemek için bir görüntüyü analiz etme kapasitesine sahiptir. Sonuç olarak Çap J, ortalama fiber çapı da dahil olmak üzere özet istatistiklerle birlikte bu çapların dağılımını temsil eden bir histogram oluşturulmuştur.

2.6.3. FTIR Analizi

Biyokompozit membranların fonksiyonel gruplarını belirlemek için Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopi (FTIR, Shimadzu) cihazı kullanılmıştır. Biyokompozit membranlarla fonksiyonel grupların tespiti için 4000 - 400 cm⁻¹ aralığı seçilmiştir.

2.6.4. XRD Analizi

Biyokompozit membranların kristal yapısını belirlemek için X-Işını Kırınımı (XRD; Braket XPERT-PRO) cihazı kullanılmıştır. Cu (Bakır) iç dalga boylarındaki anot ile XRD ölçümü 40 mA ve 45 kV jeneratör kullanılarak yapılmıştır. Kompozit membranların XRD desenleri 2 teta =10-70'de elde edilmiştir.

2.7. FRANZ DİFÜZYON MATAMETİKSEL MODELLEMESİ

Franz Yasası veya Franz difüzyon hücresi olarak da bilinen Franz difüzyon matematiksel modellemesi, farmasötik bir formülasyondan, özellikle topikal formülasyonlardan ilaç salınımı sürecini tanımlamak için kullanılan matematiksel bir modeldir. 1970'lerde Rosa Maria Franz tarafından geliştirilmiştir. Franz difüzyon hücresi, farmasötik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan bir cihazdır. Bir membranla ayrılmış iki bölmeden oluşur. Donör bölmesi ilaç formülasyonunu içerirken, reseptör bölmesi alıcı dokuyu veya cildi simüle eden uygun bir ortam içerir. Franz difüzyonuyla ilişkili matematiksel model, bir ilacın membrandan reseptör bölmesine yayılma hızını tanımlar. Difüzyon hızının ilacın konsantrasyon gradyanı ve difüzyon katsayısı ile doğru orantılı olduğunu belirten Fick'in Birinci Difüzyon Yasasına dayanmaktadır.

Franz difüzyon modellemesinde kullanılan denklem şöyledir:

$$J = \frac{(D \times A \times (C_0 - C_r))}{h} \quad (2.1)$$

Burada;

- J, ilacın membran boyunca akışı veya taşınma hızı
- D, ilacın membrandaki difüzyon katsayısı
- A, membranın etkili yüzey alanı
- C₀ ilacın donör bölgesindeki başlangıç konsantrasyonu
- C_r ilacın reseptör bölgesindeki konsantrasyonu
- h ise membranın kalınlığıdır.

Bu denklem, araştırmacıların ilaç salınım hızını tahmin etmelerine, ilacın membrandan nüfuzunu tahmin etmelerine ve membran özellikleri, ilaç konsantrasyonu ve membran kalınlığı gibi ilaç difüzyonunu etkileyen faktörleri değerlendirmelerine olanak tanır. Bilim insanları, Franz difüzyon matematiksel modellemesini kullanarak ilaç formülasyonlarını optimize edebilir, ilaç salım profillerini tahmin edebilir ve topikal ilaç dağıtım sistemlerinin etkinliğini ve güvenliğini değerlendirebilir. Farmasötik geliştirme ve formülasyon tasarımında çok önemli olan ilaç salınım kinetiğini anlamak ve kontrol etmek için niceliksel bir yaklaşım sağlar.

2.8. *IN VITRO* HÜCRE ÇALIŞMASI

Literatürde açıklanan bir prosedürde hafif değişiklikler yapılarak salım çalışmaları yapılmıştır (Górska et al., 2021). Kısaca, 3:2 hacimsel oranda dH₂O ve EtOH'dan oluşan 50 ml salım ortamına 10 mg liyofilize mikrokapsül eklenmiştir. Süspansiyon manyetik karıştırıcı ile 500 rpm'de karıştırılarak, ilk 8 saat ve 24. saatte saatte 1'er ml numune alınmıştır. Alınan örnekler 9000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatantlar Epoch II Multiplate Reader ile uygun dalga boylarında analiz edilmiştir. Kalibrasyon eğrisi hesaplamaları ile salınan aktif madde miktarı belirlenmiş ve Denklem 2'e bağlı olarak kümülatif salınım yüzdesi hesaplanmıştır.

$$\text{Kümülatif Sürüm \%} = \frac{\text{Serbest Bırakılan Aktif Madde}}{\text{Yüklü Aktif Madde}} \times 100 \quad (2.1)$$

Hazırlanan biyokompozit membranlardan RSV'nin salınımı, Franz difüzyon hücreleri kullanılarak incelenmiştir. Franz difüzyon cihazı, aktif bileşenin bir cilt numunesinin yüzeyine uygulandığı, dermal emilimi ölçmek için yaygın olarak kullanılan bir *in vitro* tekniktir. Biyokompozit membran örnekleri durumunda,

Çözünme testi için en yaygın yöntem Franz difüzyon cihazının kullanılmasını içerir (Malviya et al., 2022). Bu çalışmada etken maddeyi içeren biyokompozit membranlar Franz cihazının membran bölümüne yerleştirilmiştir. Deney, sürekli karıştırma ile 37°C'lik sabit bir ortam sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Belirli zaman noktalarında (15. ve 30. dakika, 1., 2., 4., 6., 8. ve 24. saatler), difüzyon hücresinin alt kısmından 2,5 mL numune toplanmış ve önceden 37°C'ye ısıtılmış taze besiyeri ile değiştirilmiştir. Bu işlem deney boyunca tekrarlanmıştır. Toplanan numuneler daha sonra mevcut aktif madde miktarını belirlemek için HPLC kullanılarak analiz edilmiştir. Hücrelerden geçen aktif maddenin kümülatif yüzdesi zamana karşı grafiğe geirilmif ve 24 saat sonunda geçen kümülatif yüzde hesaplanmıştır. Biyokompozit membranlar için kümülatif kütle kayıplarının istatistiksel analizi Minitab programı kullanılarak yapılmıştır. Kapsülleme verimliliği ve RSV yüklemesi, verilen metinde sağlanmayan belirli formüller veya ilişkiler kullanılarak hesaplanmıştır.

2.9. İSTATİKSEL ANALİZLER

Sonuçlar ortalama değer \pm standart sapma olarak sunulmuş ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Veriler, her bir tahlil üç kopya halinde gerçekleştirilen üç bağımsız tahlilden elde edilmiştir. Gruplar arasındaki farkların önemi, istatistiksel anlamlılığı gösteren 0,05'ten küçük bir p değeri kullanılarak belirlenmiştir.

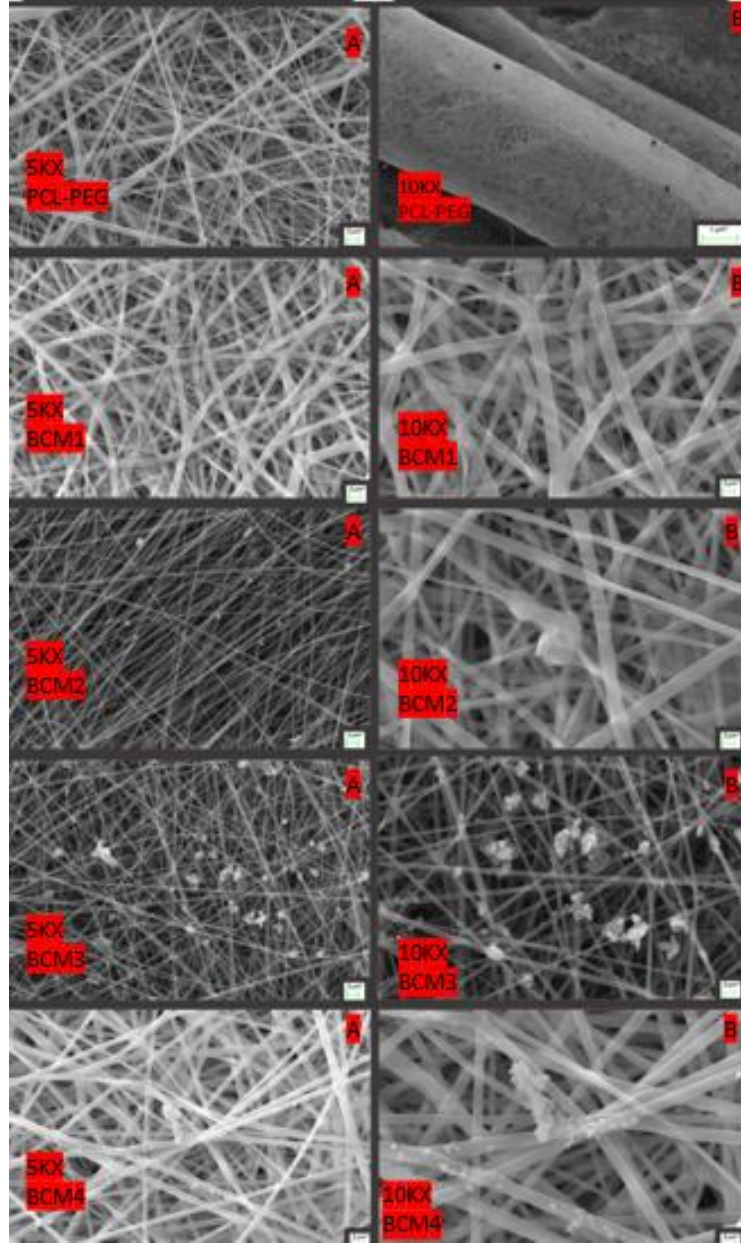
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. MORFOLOJİK ANALİZ

Şekil 3.1. 5KX ve 10KX büyütmelemede biyokompozit membran örneklerinin SEM görüntülerini göstermektedir. SEM analizi, elde edilen görüntülerden de anlaşılacağı üzere tüm numunelerin başarılı bir şekilde üretildiğini göstermektedir. Özellikle PCL-PEG örneği için 10KX büyütmede elde edilen SEM görüntüleri, nanofiberlerin bir araya gelerek iç içe geçtiği ve fark edilebilir bir kompozit yapı oluşturduğu uygun bir fenomen sergilemektedir. Ayrıca BCM1'in SEM görüntülerinin analizi, ilaç yüklü kompozit yapının morfolojisinin, ilaç yüksüz kompozit yapıya kıyasla değişmeden kaldığını ortaya koymaktadır. Bu gözlem, ilacın varlığının kompozit malzemenin genel morfolojisini önemli ölçüde değiştirmedeğini ileri sürmektedir; bu da kompozitin yapısal bütünlüğünden ödün vermeden etkili ilaç birleştirme potansiyeline işaret etmektedir. Elde edilen SEM görüntüleri, önceki çalışmalardaki SEM görüntülerine benzerlikler sergileyerek, gözlemlenen nanofiber kompozit yapıların tutarlılığını ve tekrarlanabilirliğini doğrulanmıştır (Dadashpour et al., 2018). Ayrıca GO ve/veya HAP içeren BCM numunelerinin SEM görüntüleri, bu malzemelerin katkı maddesi olarak dahil edilmesinin kompozit yapıların morfolojisi üzerinde herhangi bir zararlı etkiye sahip olmadığını göstermiştir. Gözlemlenen morfoloji sağlam kalır ve PCL-PEG ve BCM1 kompozit yapılarınıninkine karşılaştırılabilir kalır; bu, kompozitlerin genel yapısal bütünlüğünü olumsuz etkilemeden GO ve/veya HAP'ın dahil edilmesinin sağlanabileceğini göstermektedir. Seramik ve polimerlerden oluşan kompozit yapıları gösteren benzer SEM görüntüleri Joo ve arkadaşlarının önceki çalışmalarından elde edilmiştir (Joo et al., 2022). Bizim çalışmamız ile onların arasındaki paralel bulgular, bu tür kompozit sistemlerde gözlemlenen morfolojik özelliklerin tutarlılığını ve tekrarlanabilirliğini daha da doğrulamaktadır. Zhou ve arkadaşları tarafından yürütülen ayrı bir çalışmada (K. Zhou et al., 2012), grafenle modifiye edilmiş PCL polimeri kullanılarak elde edilen yapıların SEM görüntüleri, mevcut çalışmamızda elde edilen SEM görüntüleri ile uyum göstermektedir. Aslında bu çalışmada ilaç

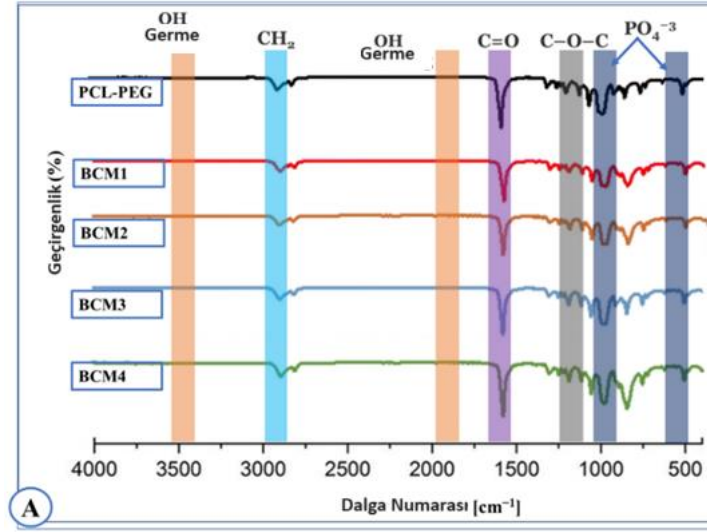
yüklü ve seramikle modifiye edilmiş polimer malzemeler, diğer araştırmacılar tarafından yürütölen çeşitli çalışmalarda elde edilen SEM göröntöleri ile benzer morfoloji sergilemiştir (Ciftci et al., 2022; Scaffaro et al., 2017). Farklı bağımsız çalışmalardaki bu anlaşma, seramikle modifiye edilmiş polimer içeren kompozit yapılarda gözlemlenen morfolojik özelliklerin tutarlılığı ve tekrarlanabilirliğıne dair daha fazla kanıt sağılamaktadır.



şekil 3.1. PCL-PEG, BCM1, BCM2, BMC3 ve BMC4'ün SEM göröntöleri; A) 5KX büyütmeye ve B) 10KX büyütmeye.

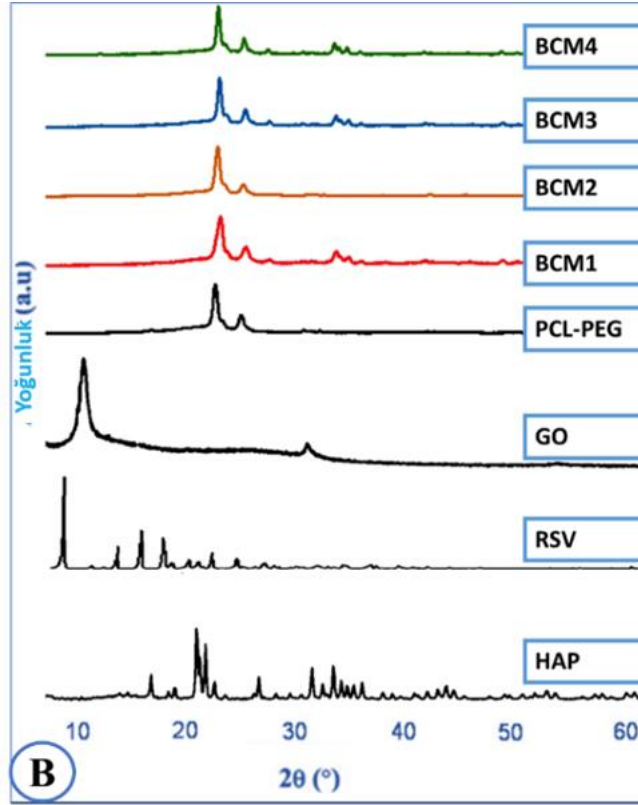
3.2. FTIR-XRD

Şekil 3.2, standart bileşikler, fiziksel karışımlar ve BCM malzemeleri dahil olmak üzere çeşitli örneklerin ayırt edici zirvelerini ortaya çıkaran FT-IR spektrumunu görüntülerdir. BCM malzemeleri RSV ve RSV içermeyen PCL-PEG kompozit malzemeden oluşmuştur. Spesifik olarak, FT-IR spektrumunda PCL'nin -OH gerilmesine karşılık gelen karakteristik tepe noktası 3442 cm^{-1} 'de tanımlanmıştır. 1732 cm^{-1} 'deki ek bir zirve, PCL'de alifatik ester grubunun varlığını göstermiştir. Ayrıca PCL'nin CH₂ uzamasına karşılık gelen 2858 cm^{-1} ve 2923 cm^{-1} 'de bantlar gözlenmiştir. PEG için karakteristik tepe noktaları aşağıdaki titreşim bölgelerinde bulunmuştur. 2942,9 cm^{-1} ve 2849,5 cm^{-1} 'deki bantlar sırasıyla CH₂ gruplarının simetrik ve asimetrik gerilmesiyle ilgilidir. 1720 cm^{-1} 'de C=O karbonil grubuna bağlı yoğun bir titreşim bandı doğrulanmış, ayrıca 1240 ve 1169 cm^{-1} 'de asimetrik ve simetrik C-O-C gerilme titreşimleri gösterilmiştir. 3431 cm^{-1} 'de fenolik -OH grubu için karakteristik bantlar sergilerken, 897.1 cm^{-1} 'deki bant C-H bükülme titreşimine atfedilmektedir (Ozder et al., 2023; Ciftci et al., 2023). Aynı bantlar BCM3 ve BCM4 yapısında HAP, PCL-PEG için de görülmektedir. BCM3 ve BCM4 kompozitlerinde PO₄⁻³ deformasyonuna atanan 1028 cm^{-1} ve 983 cm^{-1} 'deki bantlar HAP'ın varlığını doğrulamaktadır. GO'lu BCM2 ve BCM4 kompozitlerinin spektrumlarının, bir miktar OH gerilme titreşimine karşılık gelen 3600-2400 cm^{-1} bölgesinde geniş ve yoğun bir absorpsiyon bandına ve 1723 ve 1619 cm^{-1} 'de tanınabilir iki absorpsiyon bandına sahip olduğu gözlenmiştir (Rajitha & Mohana, 2020).



Şekil 3.2. BCM malzemelerinin FTIR analizi

Şekil 3.3, BCM kompozit yapılarının karakteristik modelini gösteren X-Işını Kırınım grafiğini göstermektedir. PCL-PEG yapısı için (111) ve (200) düzlemlerinde $20,8^\circ$ ve $22,5^\circ$ deki pikler gözlenmiştir. PCL-PEG yapılarına HAP eklendiğinde, BCM3 ve BCM4 kompozitlerinin XRD eğrileri, (211) ve (300) sırasıyla HAP eklendiğinde hidroksiapatitin varlığını doğrulamıştır. GO yapıları (002) düzleminde 12° de bir tepe noktası göstermiştir. BCM2 ve BCM4 yapılarında yüklenen GO miktarı düşük olduğundan bu pik kompozit yapılarda gözlenememiştir (Ciftci et al., 2023; Karakucuk & Tort, 2020; Gong et al., 2023); (Karimi-Soflou et al., 2022; Li et al., 2021).

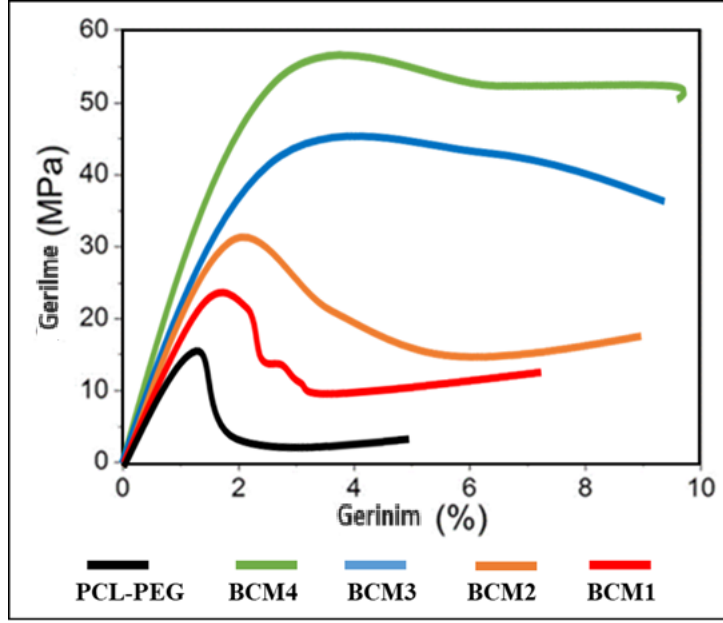


Şekil 3.3. BCM malzemelerinin XRD analizi

3.3. MEKANİK DAVRANIŞ

PCL-PEG ve BCM malzemelerinin gerilim-gerinim grafiği (Şekil 3.4), BCM malzemelerinin gerilim davranışı hakkında bilgi sağlamaktadır. Kompozitler, PCL-PEG'in uzamasıyla doğrudan akma noktasından kırılmıştır.

Sırasıyla; PCL-PEG: % 4.9; BCM1: % 7.2; BCM2: % 9.0; BCM3: % 9,3; BCM4: % 9.8.



Şekil 3.4. PCL-PEG ve BCM malzemelerinin çekme davranışı

Tablo 3.1, PCL-PEG ve BCM malzemeleri için gerilim-gerinim eğrilerinden elde edilen gerilim özelliklerinin ayrıntılı değerlerini göstermektedir. Çekme tokluğu, BCM numunelerinin kırılmadan önce emdiği enerji ve gerilim-gerinim eğrisinin altındaki alan hesaplanarak değerlendirildi. Bu durumda, PCL-PEG kompozitine katılan GO, RSV ve HAP malzemeleriyle doğru orantılı olarak BCM1 numunesinden BCM4 numunesine doğru toklukta kademeli bir artış gözlemlenmiştir (Rajitha & Mohana, 2020; Nadia et al., 2022).

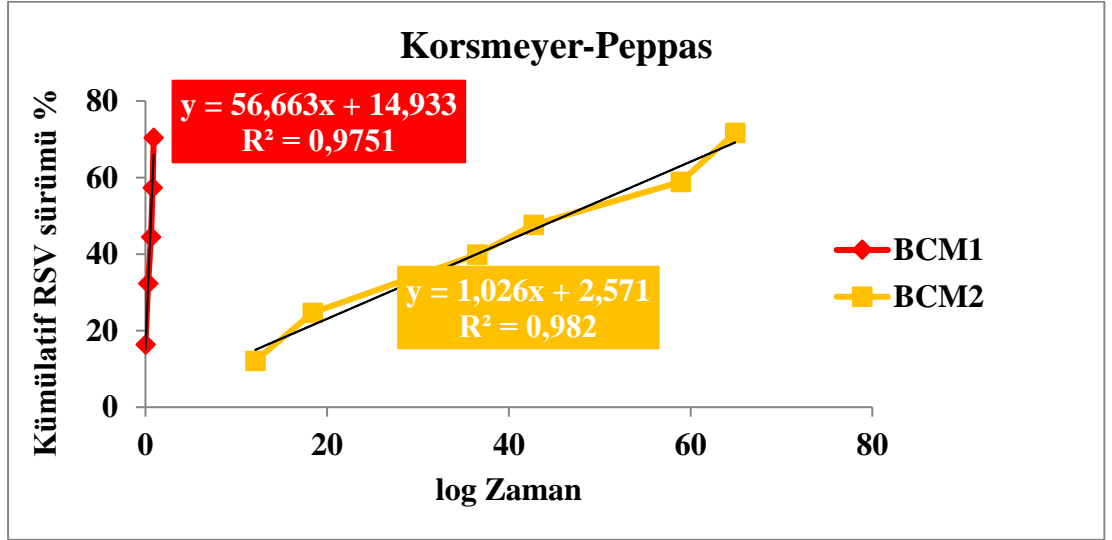
Tablo 3.1. Çekme özellikleri PCL-PEG ve BCM malzemeleri

Kompozit Numuneler	Gerilme Direnci (MPa)	Gerilim Modülleri (MPa)	Kopma Uzaması (%)	Dayanıklılık (MJ/m ³)
PCL-PEG	39.6 ± 3.9	2293 ± 142	5.0 ± 0.4	1.59 ± 0.15
BCM1	30.5 ± 2.3	2973 ± 116	2.8 ± 0.3	0.66 ± 0.09
BCM2	45.3 ± 3.1	2276 ± 135	5.6 ± 0.6	1.99 ± 0.23
BCM3	93.2 ± 4.9	3513 ± 182	7.4 ± 0.8	5.06 ± 0.30
BCM4	105.2 ± 5.8	3895 ± 159	8.4 ± 0.9	5.88 ± 0.46

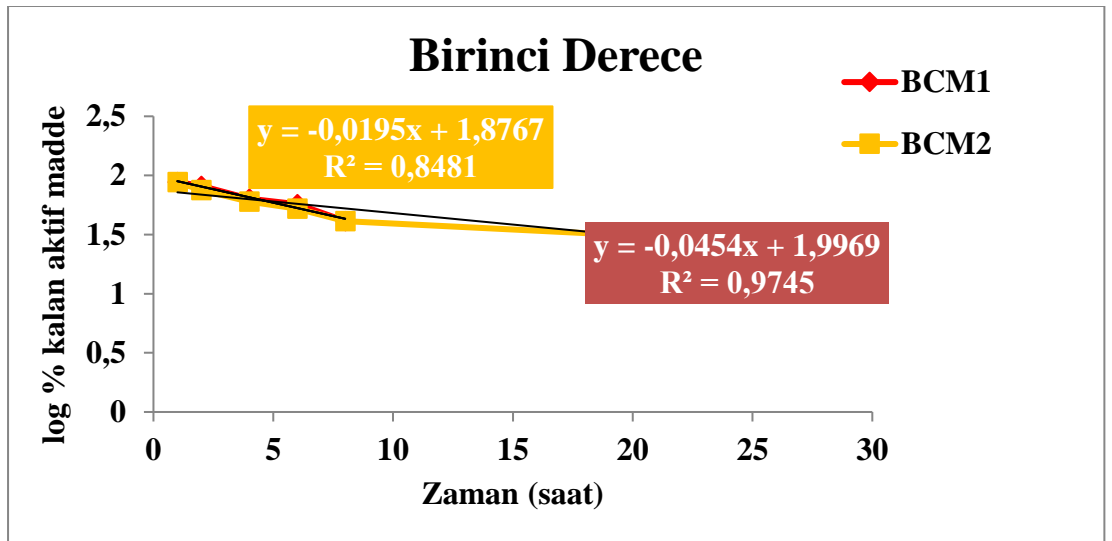
3.4. *IN VITRO* SALINIM ÇALIŞMASI

In vitro salım kinetiği çalışması, Şekil 3.5...10 (BCM1, BCM2) ve Şekil 3.11...16'da (BCM3, BCM4) gösterildiği gibi Sıfır dereceli, birinci dereceden, Higuchi, Hixson, Korsmeyer-Peppas ve Baker matematiksel modelleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. BCM Kompozit biyomateryalleri üzerinde PCL-PEG yapısına yüklenen RSV ilacının salım kinetiği modeller ile analiz edilmiştir. Çeşitli salım profillerinin etkinliği korelasyon katsayısı (R^2) kullanılarak değerlendirilmiştir. En yüksek korelasyon katsayısını gösteren matematiksel modelin ilaç salım kinetiğini en uygun şekilde temsil ettiği belirlenmiştir (Ciftci et al., 2023).

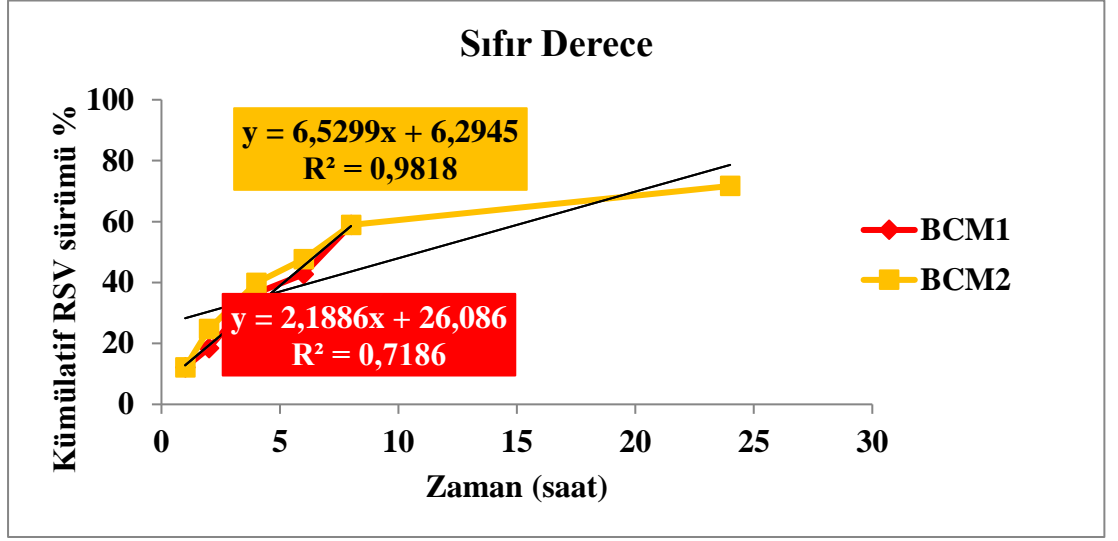
Salım kinetik analizi sonuçları, BCM1 için korelasyon katsayısı değeri ve salım modelinin 0,9845 (Baker-Londsdale matematiksel modeli) (Şekil 3.10), BCM2 için korelasyon katsayısı değeri ve salım modelinin 0,9845 olduğunu görülmektedir. BCM2 için korelasyon katsayısı (R^2) değeri ve salım modelinin 0,9913 (Higuchi matematiksel modeli) (Şekil 3.8), BCM3 için korelasyon katsayısı (R^2) ve salım modeli; 0,9725 (Baker-Londsdale matematiksel modeli) (Şekil 3.16), BCM4 için korelasyon katsayısı (R^2) ve salım modeli 0,9773 (Korsmeyer-Peppas matematiksel modeli) (Şekil 3.11) olduğunu görülmektedir. Sonuç olarak RSV ilacının salım profilinin konsantrasyona bağlı olduğu belirlenmiştir. İlaç salım mekanizmasını anlamak için salım verileri, sırasıyla difüzyon tipi hakkında fikir veren Baker-Londsdale, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas denklemleri kullanılarak analiz edilmiştir. Matematiksel model denklemleri yoluyla oluşturulan karşılık gelen grafik, yüksek derecede doğrusallık sergilemiştir. Korelasyon katsayısının 0,90'dan büyük veya ona eşit olmasıyla gösterildiği gibi bu değer, süper durumun 3 farklı modele salındığını göstermektedir. Salım profili, difüzyon kontrollü ve şişme kontrollü RSV salınımının bir kombinasyonunu göstermiştir. Salım çalışmalarının genel sonuçları, sürekli miktarlarda RSV sağlamanın bir yolu olarak RSV yüklü kompozit membranların uygunluğunu göstermektedir. Başlangıçtaki hızlı salım, hastalığın yayılmasını etkili bir şekilde kontrol eden bir yükleme dozu görevi görürken, sürekli salım aşaması, iyileştirilmiş terapötik sonuçlarla sonuçlanacaktır (Ciftci et al., 2023; Li et al., 2021; Zemljič et al., 2020).



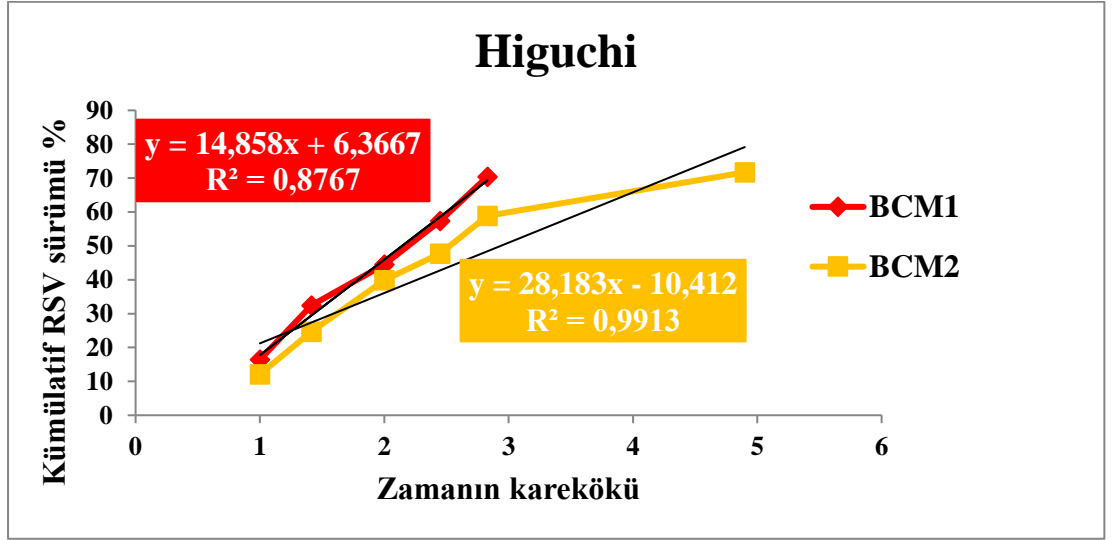
Şekil 3.5. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Korsmeyer-Peppas matematiksel modeli.



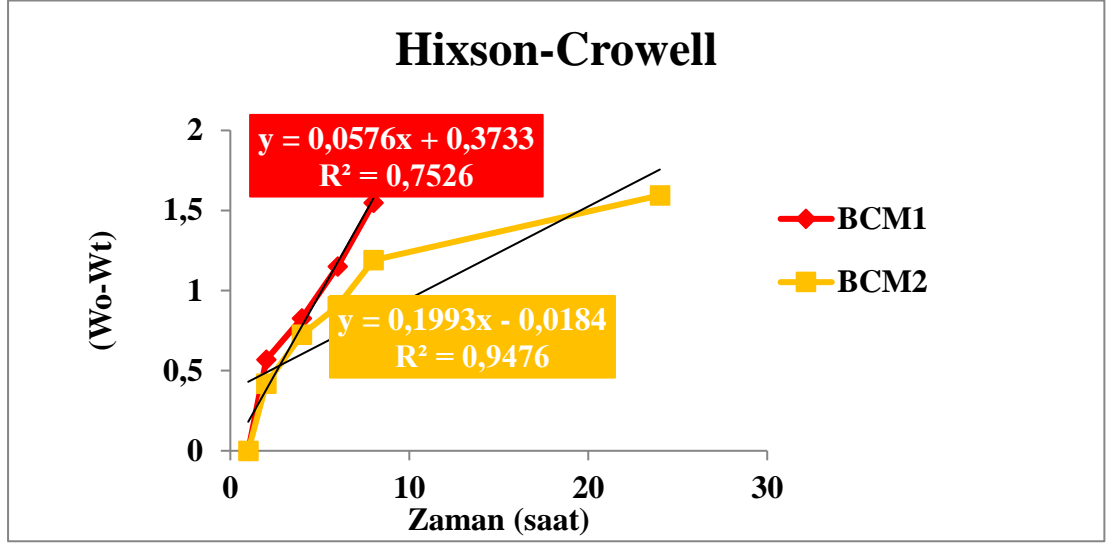
Şekil 3.6. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Birinci Dereceden matematiksel modeli.



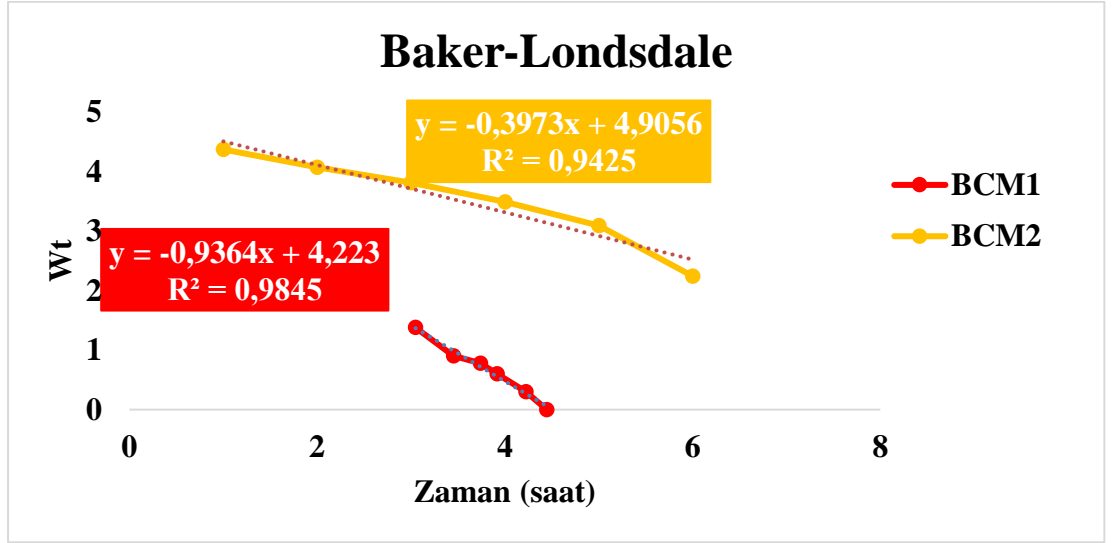
Şekil 3.7. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Sıfır Dereceden matematiksel modeli.



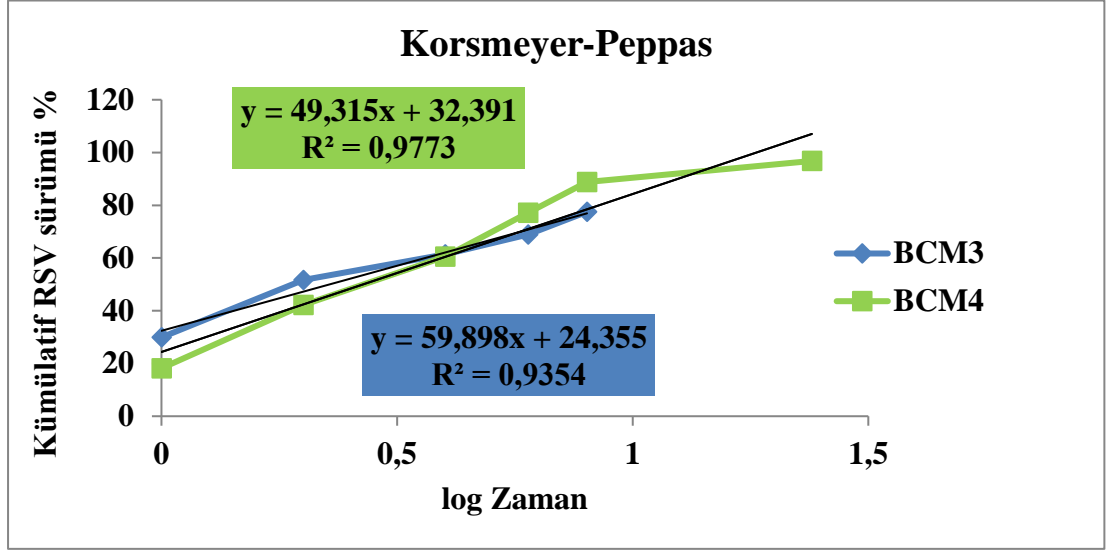
Şekil 3.8. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Higuchi matematiksel modeli.



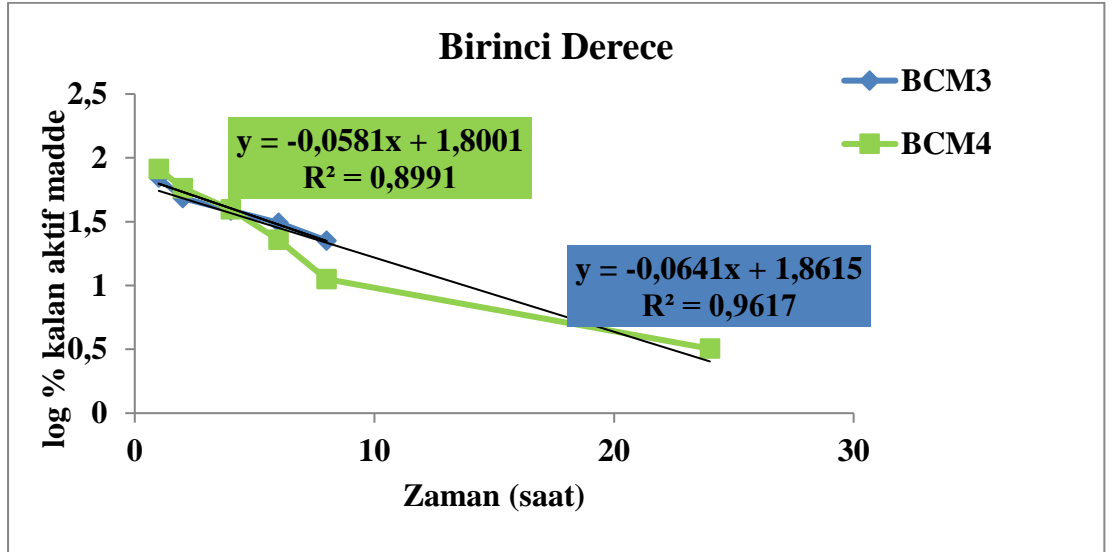
Şekil 3.9. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Hixson-Crowell matematiksel modeli.



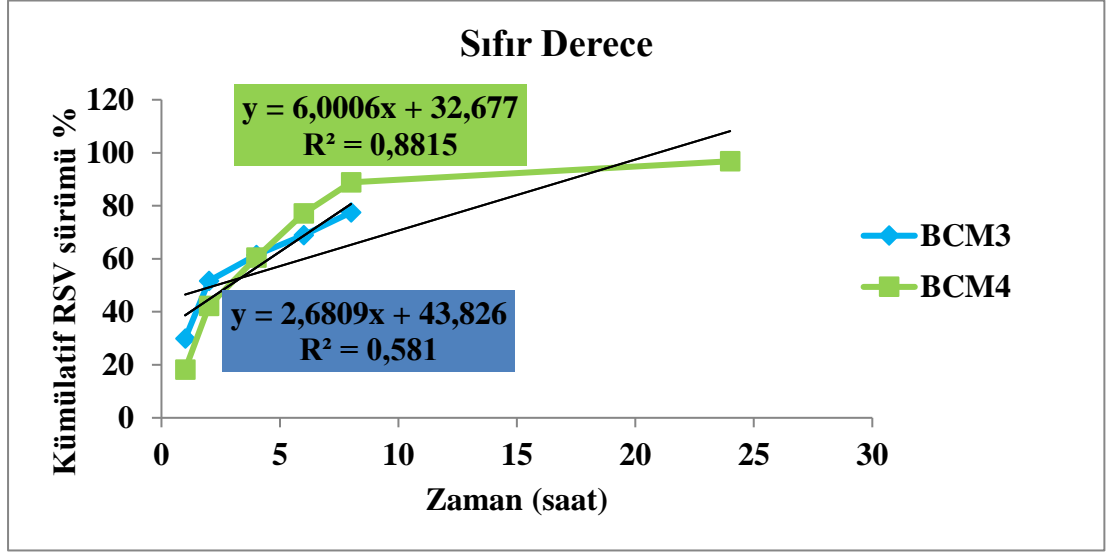
Şekil 3.10. RSV aktif madde içerikleri için BCM1 ve BCM2'nin salım kinetiği Franz Difüzyon Baker-Londdale matematiksel modeli.



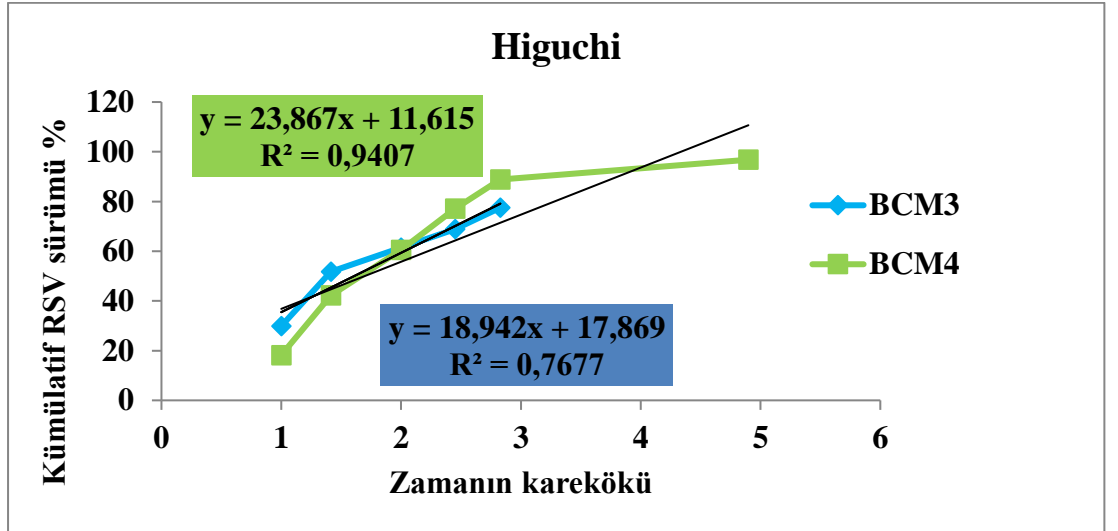
Şekil 3.11. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Korsmeyer-Peppas matematiksel modelleri.



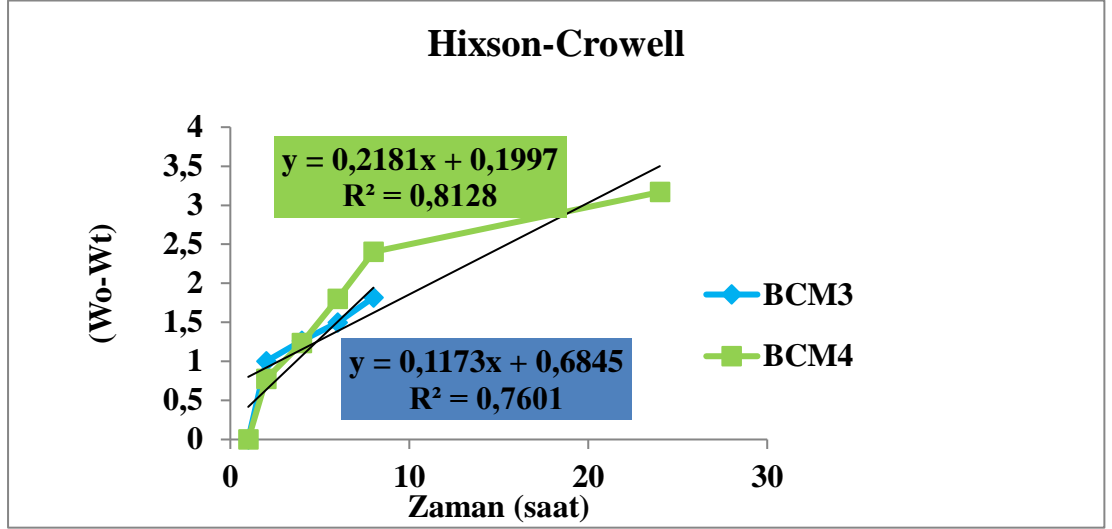
Şekil 3.12. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Birinci Dereceden matematiksel modelleri.



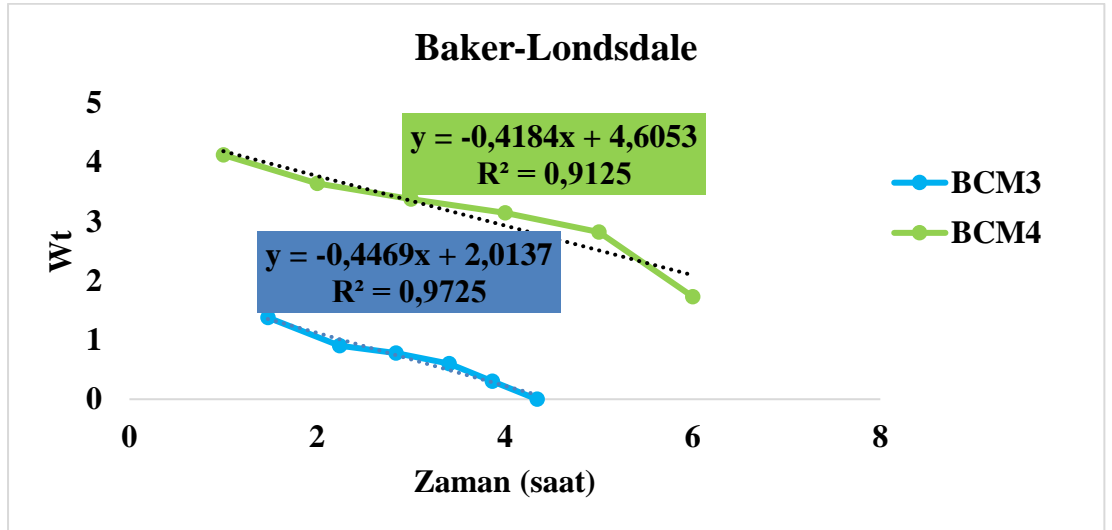
Şekil 3.13. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Sıfır Dereceden matematiksel modelleri.



Şekil 3.14. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Higuchi matematiksel modelleri.



Şekil 3.15. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Hixson-Crowell matematiksel modelleri.

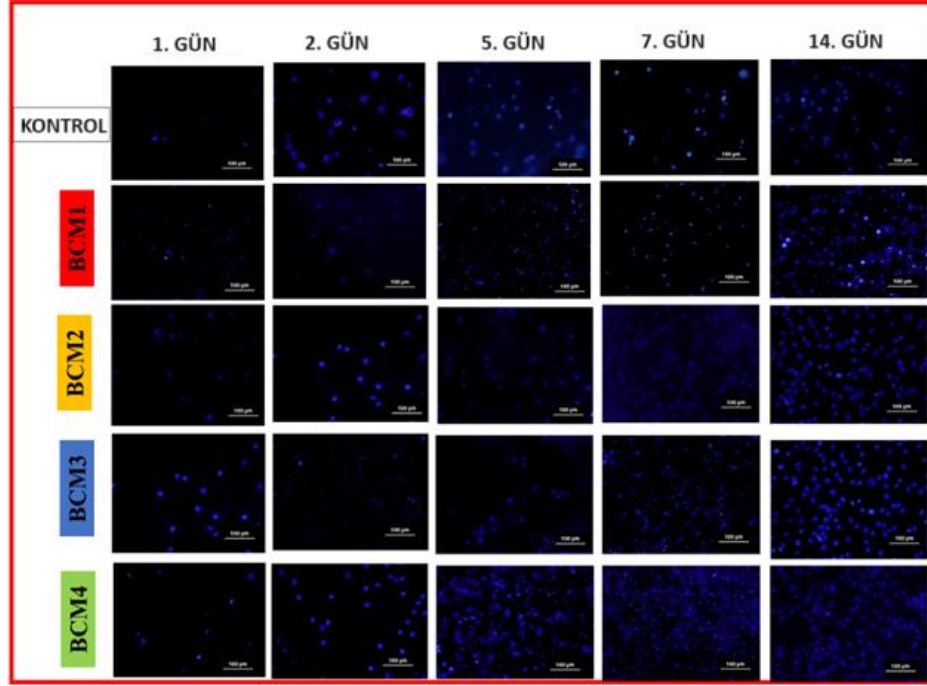


Şekil 3.16. RSV aktif madde içerikleri için BCM3 ve BCM4'ün salım kinetiği Franz Difüzyon Baker-Lonsdale matematiksel modelleri.

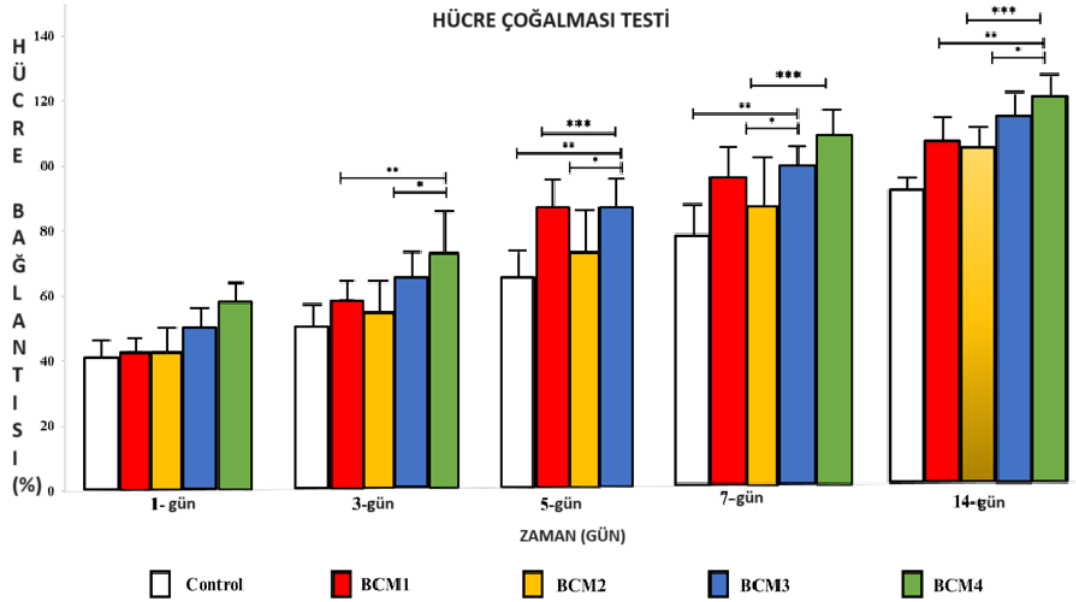
3.5. HÜCRE YAPISI

Biyokompozit yapıların doku mühendisliğindeki potansiyel uygulamalarını araştırmak için, seçilen BCM yapılarında 14 gün boyunca MTT hücre kültürleri gerçekleştirildi. Amaç, bu materyaller üzerindeki hücrelerin çoğalma öncesi hızını değerlendirmektir. BCM yapılarında hücre bağlanması ve çoğalmasının

değerlendirilmesi, 1, 3, 5, 7 ve 14 günlük kuluçkadan sonra BCM numunelerindeki canlı hücrelerin DAPI floresans görüntülemesi yoluyla gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.17). Elde edilen floresans görüntüleri dikkate değer gözlemleri ortaya çıkardı. BCM2 ve BCM4 örneklerinin (Şekil 3.17) yüzeyinde kültürlenmiş hücreler hem kontrol grubu hem de BCM1 örnekleriyle karşılaştırıldığında PCL-PEG bileşeni için oldukça yüksek bir afinite sergilenmiştir. Bu, düşük bir konsantrasyonda bile GO'nun dahil edilmesinin, RSV ilacına hücre yapışmanın desteklenmesinde önemli bir rol oynadığını ve çoğalma derecesinin artmasına yol açtığını göstermektedir. Sonuç olarak, GO'nun biyokompozit yapıya dahil edilmesi, RSV ilacının hücre yapışması ve çoğalması üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir ve doku mühendisliğinde faydalı uygulamalar için ümit verici potansiyeline işaret etmektedir. Bulgular, bu tür biyokompozit malzemelerin rejeneratif tıp ve doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmasının potansiyel avantajlarına ışık tutmaktadır (Matsuda et al., 2018). PCL-PEG kontrol grubuna kıyasla test edilen tüm BCM örneklerinde hücre sayılarında önemli artışlar gözlemlendi (Şekil 3.18'de, $p < 0,05$) (Şekil 3.17 ve Şekil 3.18). Gözlenen en yüksek hücre sayıları, istatistiksel olarak benzer olan BCM3 ve BCM4 örneklerinde 7. ve 14. günde ($p > 0,05$) (Şekil 3.17 ve Şekil 3.18) gözlemlenmiştir. GO yüklü RSV/PCL-PEG kompozitlerinde (BCM2 ve BCM4) hücre toksisitesinin artmadığı, aksine diğer biyomateryallerle birleştirildiğinde hücre tutunmasına ve çoğalmasına izin verdiği gözlemlenmiştir. Benzer çalışmalar GO'nun mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve hücre ölümünü artırabildiğini göstermiştir. HAP yüklü BCM3 ve BCM4 örneklerinde hücre canlılığı ve hücre hayatta kalma değerlerinin, BCM2'ye eşdeğer hücre proliferasyonu gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir. Bu durumda PCL-PEG polimerik malzemenin farmasötik etkinliğini ve doku mühendisliğine uygulanabilirliğini artıran substrat özelliği için kullanılan/yüklenen GO ve HAP malzemelerinin BCM yapılarını sitotoksik hale getirmediği, kimyasal stabilitesini arttırdığı gözlemlenmiştir. HAP'ın biyoaktif özelliklerinin eklenmesiyle PCL-PEG/RSV ve GO'nun hidrofilik özelliklerinin eklenmesiyle doku mühendisliğinde uygulanabilirliği sağlanmaktadır (Gong et al., 2023; Ekambaram et al., 2022; Li et al., 2021).



Şekil 3.17. 1. Gün, 2. Gün, 3. Gün, 5. Gün, 7. Gün ve 14. Gün BCM'nin DAPI hücrelerinin floresans mikrografları



Şekil 3.18. Kültürlenmiş L929 hücrelerinin hücre bağlanma yüzdesi

SONUÇ

Günümüzde oldukça yaygınlaşan kulak zarı perforasyonları, tedavi yöntemlerinde gelişen teknoloji kullanılmaya başlanmıştır. Doku mühendisliği uygulamalarında kullanıma uygun PCL-PEG bazlı polimerik malzemeler üzerinde salım modelleme ve hücre profili çıkarabilen, RSV, GO ve HAP yüklü biyokompozit membranlar tasarlanmıştır. Hem GO hem de HAP üretimi literatüre uygun olarak üretilmiştir. Oldukça iyi mekanik performans sergileyen RSV ilacının BCM3 ve BCM4 yapıları üzerindeki salım modelleme korelasyon değeri 0,99'a yakındır. Hücre yapışması ve hücre çoğalması, DAPI boyaması ile GO hidrofilik yapısı, HAP'ın biyoaktif özellikleri, kompozit membranların kullanım özelliklerini ortaya çıkarmıştır. PCL-PEG/RSV kompozit materyalinin GO ve HAP modifikasyonu hücre proliferasyonunda iyileşme sağlamaktadır. GO ve HAP RSV ile değiştirmenin ana nedeni, çekirdekletirici ajanlar olarak görev yapmaktır. GO ve HAP benzer mekanik özellikler üzerinde güçlü bir etki göstermiştir. Her iki parçacığın da varlığı nedeniyle ikincil bir etki gözlemlenmiştir. Yüzey serbest enerjisinin polar bileşeni büyük ölçüde değişmiştir. Dağıtıcı bileşen önemli bir değişiklik göstermedi ancak polar bileşenin her iki parçacık türü olan HAP ve GO ile arttığı gözlenmiştir. Tüm bu sonuçlar, yüzey modifikasyonunda kullanılan GO'nun, ilacın biyoaktif özelliğini artıran HAP'ın ve salım modellerinde farklı matematiksel modellerle hücre yapışması ve çoğalması bu iki ana aktif maddede yer alan RSV ilacının difüzyonda karakteristik özellikler gösterdiğini belirlenmiştir. Bu çalışmada modifiye tüm BCM yapılarının doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilirliği ortaya konmuştur.

KAYNAKÇA

- Alonso, C., Martí, M., Barba, C., Carrer, V., Rubio, L., & Coderch, L. (2017). Skin permeation and antioxidant efficacy of topically applied resveratrol. *Archives of Dermatological Research*, 309(6), 423–431. <https://doi.org/10.1007/s00403-017-1740-5>
- Annaji, M., Poudel, I., Boddu, S. H. S., Arnold, R. D., Tiwari, A. K., & Babu, R. J. (2021). Resveratrol-loaded nanomedicines for cancer applications. In *Cancer Reports* (Vol. 4, Issue 3). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/cnr2.1353>
- A. Górska, A. Krupa, D. Majda, P. Kulinowski, M. Kurek, W.P. Węglarz, R. Jachowicz, Poly(Vinyl Alcohol) Cryogel Membranes Loaded with Resveratrol as Potential Active Wound Dressings, *AAPS PharmSciTech*. (2021). <https://doi.org/10.1208/s12249-021-01976-1>.
- Caddeo, C., Nacher, A., Vassallo, A., Armentano, M. F., Pons, R., Fernández-Busquets, X., Carbone, C., Valenti, D., Fadda, A. M., & Manconi, M. (2016). Effect of quercetin and resveratrol co-incorporated in liposomes against inflammatory/oxidative response associated with skin cancer. *International Journal of Pharmaceutics*, 513(1–2), 153–163. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.014>
- Ciftci, F., Ayan, S., Duygulu, N., Yilmazer, Y., Karavelioglu, Z., Vehapi, M., Cakır Koc, R., Sengor, M., Yilmazer, H., Ozcimen, D., Gunduz, O., & Ustundag, C. B. (2022). Selenium and clarithromycin loaded PLA-GO composite wound dressings by electrospinning method. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 71(12), 898–909. <https://doi.org/10.1080/00914037.2021.1925276>
- Dadashpour, M., Pilehvar-Soltanahmadi, Y., Mohammadi, S. A., Zarghami, N.,

Pourhassan-Moghaddam, M., Alizadeh, E., Jafar Maleki, M., Firouzi-Amandi, A., & Nouri, M. (2018). Watercress-based electrospun nanofibrous scaffolds enhance proliferation and stemness preservation of human adipose-derived stem cells. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 46(4), 819–830. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1345925>

dr_bunjamin_turhan (iç kulak histoloji ve fizyooji). (n.d.).

F. Ciftci, Release kinetics modelling and in vivo-vitro, shelf-life study of resveratrol added composite transdermal scaffolds, *Int. J. Biol. Macromol.* 235 (2023) 123769. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.123769>.

F. Ciftci, N. Duygulu, Y. Yilmazer, Z. Karavelioğlu, R. Çakır Koç, O. Gündüz, C.B. Ustündag, Antibacterial and cellular behavior of PLA-based bacitracin and zataria multiflora nanofibers produced by electrospinning method, *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* 72 (2023) 319–334. <https://doi.org/10.1080/00914037.2021.2008391>.

Fiod Riccio, B. V., Fonseca-Santos, B., Colerato Ferrari, P., & Chorilli, M. (2020). Characteristics, Biological Properties and Analytical Methods of Trans-Resveratrol: A Review. In *Critical Reviews in Analytical Chemistry* (Vol. 50, Issue 4, pp. 339–358). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1637242>

F.J. de Nadai Dias, S.A. de Andrade Pinto, A. Rodrigues dos Santos, M. do C.A.J. Mainardi, K. Rischka, C.A. de Carvalho Zavaglia, Resveratrol-loaded polycaprolactone scaffolds obtained by rotary jet spinning, *Int. J. Polym. Anal. Charact.* 27 (2022) 289–301. <https://doi.org/10.1080/1023666X.2022.2068242>.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Kulak Burun Boğaz Servisinin Tıpta Uzmanlık Eğitimi İçin Öngördüğü, T., Hazırlanmıştır, O., & Doğru Doçtbpkdalb, S. (2015). Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Servis Şefliği Kulak Zarı Tamirinde Trombositten Zengin Fibrin (Tzf) Kullanımının Araştırılması Kadir Yıldız.

- G. Joo, M. Park, S.S. Park, G. Tripathi, B.T. Lee, Tailored alginate/PCL-gelatin- β -TCP membrane for guided bone regeneration, *Biomed. Mater.* 17 (2022). <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ac6bd8>.
- Kanemaru, S.-I., Umeda, H., Kitani, Y., Nakamura, T., Hirano, S., & Ito, J. (2011). Regenerative Treatment for Tympanic Membrane Perforation. In *Otol Neurotol* (Vol. 32).
- Karakucuk, A., & Tort, S. (2020). Preparation, characterization and antimicrobial activity evaluation of electrospun PCL nanofiber composites of resveratrol nanocrystals. *Pharmaceutical Development and Technology*, 25(10), 1216–1225. <https://doi.org/10.1080/10837450.2020.1805761>
- Karimi-Soflou, R., Mohseni-Vadeghani, E., & Karkhaneh, A. (2022). Controlled release of resveratrol from a composite nanofibrous scaffold: Effect of resveratrol on antioxidant activity and osteogenic differentiation. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 110(1), 21–30. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37262>
- Khaimov, V., Reske, T., Matschegewski, C., Grabow, N., & Eickner, T. (2019). Safety evaluation of resveratrol as an active compound for drug-eluting cardiovascular implants. *Current Directions in Biomedical Engineering*, 5(1), 331–333. <https://doi.org/10.1515/cdbme-2019-0083>
- Li, L., Yu, M., Li, Y., Li, Q., Yang, H., Zheng, M., Han, Y., Lu, D., Lu, S., & Gui, L. (2021). Synergistic anti-inflammatory and osteogenic n-HA/resveratrol/chitosan composite microspheres for osteoporotic bone regeneration. *Bioactive Materials*, 6(5), 1255–1266. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.10.018>
- Liu, L., Zhou, Y., Kang, Y., Huang, H., Li, C., Xu, M., & Ye, B. (2017). Electrochemical evaluation of trans -resveratrol levels in red wine based on the interaction between resveratrol and graphene. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5749025>
- Maria Leena, M., Yoha, K. S., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2020). Edible coating with resveratrol loaded electrospun zein nanofibers with

- enhanced bioaccessibility. *Food Bioscience*, 36.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100669>
- Matsuda, Y., Minagawa, T., Okui, T., & Yamazaki, K. (2018). Resveratrol suppresses the alveolar bone resorption induced by artificial trauma from occlusion in mice. *Oral Diseases*, 24(3), 412–421.
<https://doi.org/10.1111/odi.12785>
- M.N. Ozder, F. Ciftci, O. Rencuzogullari, E.D. Arisan, C.B. Ustündag, In situ synthesis and cell line studies of nano-hydroxyapatite/graphene oxide composite materials for bone support applications, *Ceram. Int.* 49 (2023) 14791–14803.
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.01.075>
- Rajitha, K., & Mohana, K. N. (2020). Application of modified graphene oxide – Polycaprolactone nanocomposite coating for corrosion control of mild steel in saline medium. *Materials Chemistry and Physics*, 241.
<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122050>
- Sainz-urruela, C., Vera-lópez, S., Andrés, M. P. S., & Díez-pascual, A. M. (2021). Graphene-based sensors for the detection of bioactive compounds: A review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 7). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/ijms22073316>
- Santa Maria, P. L., Redmond, S. L., McInnes, R. L., Atlas, M. D., & Ghassemifar, R. (2011). Tympanic membrane wound healing in rats assessed by transcriptome profiling. *Laryngoscope*, 121(10), 2199–2213.
<https://doi.org/10.1002/lary.22150>
- Santhi, T., & Rajan, K. V. (2012). A Study of Closure of Tympanic Membrane Perforations by Chemical Cauterisation. *Indian Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery*, 64(4), 389–392. <https://doi.org/10.1007/s12070-011-0425-1>
- Scaffaro, R., Lopresti, F., Maio, A., Botta, L., Rigogliuso, S., & Ghersi, G. (2017). Electrospun PCL/GO-g-PEG structures: Processing-morphology-properties relationships. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 92, 97–

107. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2016.11.005>

- Shaito, A., Posadino, A. M., Younes, N., Hasan, H., Halabi, S., Alhababi, D., Al-Mohannadi, A., Abdel-Rahman, W. M., Eid, A. H., Nasrallah, G. K., & Pintus, G. (2020). Potential adverse effects of resveratrol: A literature review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 6). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21062084>
- Tian, B., & Liu, J. (2020). Resveratrol: a review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* (Vol. 100, Issue 4, pp. 1392–1404). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10152>
- Uchida, N., Yanagi, M., Shimoda, K., & Hamada, H. (n.d.). Transdermal Delivery of Small-Sized Resveratrol Nanoparticles to Epidermis Using Anionic Phospholipids. In *Natural Product Communications* (Vol. 15, Issue 9).
- V. Malviya, M. Tawar, P. Burange, R. Jodh, A Brief Review on Resveratrol, *Asian J. Res. Pharm. Sci.* (2022) 157–162. <https://doi.org/10.52711/2231-5659.2022.00027>.
- Vijayakumar, M. R., Kosuru, R., Vuddanda, P. R., Singh, S. K., & Singh, S. (2016). Trans resveratrol loaded DSPE PEG 2000 coated liposomes: An evidence for prolonged systemic circulation and passive brain targeting. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 33, 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2016.02.009>
- Wang, Z., Jiang, L., Pan, H., Cui, Y., & Zong, C. (2021). Green and facile preparation of graphene/resveratrol/polyaniline composites for high-performance supercapacitors. *New Journal of Chemistry*, 45(7), 3581–3588. <https://doi.org/10.1039/d0nj04739b>
- X. Gong, Y. Wang, K. Yao, J. Yang, Y. Li, X. Ge, H. Xie, G. Pan, R. Xing, Supercapacitors Based on Resveratrol/Reduced Graphene Oxide Composites, *ACS Appl. Nano Mater.* 6 (2023) 4162–4169. <https://doi.org/10.1021/acsanm.2c04939>.

Xiao, Q., Zhu, W., Feng, W., Lee, S. S., Leung, A. W., Shen, J., Gao, L., & Xu, C. (2019). A review of resveratrol as a potent chemoprotective and synergistic agent in cancer chemotherapy. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 9, Issue JAN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01534>

Yöneticisi, T., Koten, M., & Meral, Y. (n.d.-a). Hastalıkları Anabilim Dalı Deneysel Olarak Oluşturulan Travmatik Timpan Membran Perforasyonlarında *Nigella Sativa* Yağının Topğkal Uygulamasının İyileşme Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi (Uzmanlık Tezi).

Zemljič, L. F., Maver, U., Glaser, T. K., Bren, U., Hrnčič, M. K., Petek, G., & Peršin, Z. (2020). Electrospun composite nanofibrous materials based on (Poly)-phenol-polysaccharide formulations for potential wound treatment. *Materials*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/ma13112631>

Zhou, H., Liu, X., Wu, F., Zhang, J., Wu, Z., Yin, H., & Shi, H. (2016). Preparation, Characterization, and Antitumor Evaluation of Electrospun Resveratrol Loaded Nanofibers. *Journal of Nanomaterials*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/5918462>

Zhou, K., Thouas, G. A., Bernard, C. C., Nisbet, D. R., Finkelstein, D. I., Li, D., & Forsythe, J. S. (2012). Method to impart electro- and biofunctionality to neural scaffolds using graphene-polyelectrolyte multilayers. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 4(9), 4524–4531. <https://doi.org/10.1021/am3007565>

Url-1 <<https://www.duymer.com.tr/kulagin-bolumleri-ve-gorevleri>> erişim tarihi 15.01.2024.

Url-2 <<https://www.ahmethamdikepekci.com/isitme-anatomisi-ve-fizyolojisi>> erişim tarihi 10.12.2023.