



**IZMIR DEMOCRACY UNIVERSITY**

**NATURAL & APPLIED  
SCIENCES JOURNAL**

**IDUNAS**

**E-ISSN: 2645-9000**

**Year: 2018**

**Volume: 1, Issue: 1**

## **Yüksek İrtifada Yapılan Egzersizin Oksidatif Stres Düzeyine Etkisi**

## **The Effect of High Altitude Exercise on Oxidative Stress Level**

## Özet

Oksidatif stres 30 yıldan daha fazladır egzersiz temelli çalışmaların odak noktasını oluşturmaktadır. Son yıllarda ise egzersiz, oksidatif stres ve yükseklikte dahil olmak üzere farklı iklim senaryolarında yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Yüksekliğe egzersiz adaptasyonları, 1000-1500 m civarında başlamaktadır. Bununla birlikte, literatürde yapılan bir araştırma, 'yüksek rakım' yanıtlarının genellikle 3000 m'nin üzerinde olduğunu ortaya koymaktadır [1, 2]. Bireylerin deniz seviyesinde sahip oldukları performanslarını daha iyi düzeye getirmek için yüksekte antrenman yapma düşüncesi yıllardır vardır. Bununla birlikte yaklaşık 30 yıldır yapılan araştırma sonuçlarından elde edilen atletik performans verileri (oksijen doygunluğu, maksimum oksijen tüketimi, kalp atım sayısı, arteriyel kan basıncı gibi) birbirinden oldukça farklıdır. Yüksek irtifa şartları organizma fonksiyonlarında değişimlere neden olmaktadır [3, 4]. Dağ ve doğa sporları gibi ağır ve yorucu fiziksel aktivitelerin insan üzerine sistemik ve lokal olarak önemli akut etkileri olduğu bilinmektedir. Vital fonksiyonlar birinci dereceden olarak üzere yüksek irtifanın oksidatif stresi tetiklediği ve farklı doku ve hücrelerin hasarlanmasına neden olduğu ileri sürülmektedir. Hipobarik hipoksik ortamlarda vücut düzenleme mekanizmaları, canlılığın devamı için her yükseklik ortamında farklı davranmaktadır [5]. Vital fonksiyonlar başta olmak üzere canlılığı oluşturan tüm sistemler ve onların işlevlerinin nasıl değiştiği, açıklanması gereken önemli konular olarak belirtilmektedir. Düşük oksijen basıncına maruz kalmanın hem metabolik hem de fizyolojik değişikliklere yol açtığı bilinmektedir [6]. Yüksek irtifada hipoksiden dolayı oksijen talebi sınırlı olacağı için Reaktif oksijen türevlerinin (ROT) üretiminde az olacağı düşünülmese rağmen, yüksek irtifaya maruz kalmanın da (ROT oluşumu ve antioksidan aktivitesindeki değişikliklerden dolayı) oksidatif hasara yol açabileceği rapor edilmektedir [6, 7]. Yüksek irtifada egzersiz ve oksidatif stres hakkında halihazırda bilinenler genellikle sınırlı sayıda çalışmalardan elde edilmiştir. Bu araştırma kapsamında Google akademi ve PubMed' de 1997 ve 2017 tarihleri arasında ilgili yayınlar gözden geçirilerek yüksek irtifada yapılan egzersizlerin oksidatif stres düzeyine etkisini tartışacağız.

**Anahtar Kelimeler:** Spor, Yüksek irtifa, Oksijen yetmezliği, Oksidatif stres

## Abstract

Oxidative stress is more than 30 years and is the focus of exercise-based studies. In recent years, intensive studies have been carried out in different climate scenarios including exercise, oxidative stress and altitude. The adaptation of exercise to height starts around 1000-1500 m. However, a survey in the literature reveals that 'high altitude' responses are generally greater than 3000 m [1, 2]. It has been for decades that people have been training at high altitudes to improve their performance at sea level. However, the athletic performance data (oxygen saturation, maximum oxygen consumption, heart rate, arterial blood pressure, etc.) obtained from the research results of about 30 years are quite different from each other. High altitude conditions cause changes in organism functions [3, 4]. It is known that heavy and exhausting physical activities such as mountain and nature sports have systematic and locally significant acute effects on human beings. It has been suggested that the vital functions, first degree, induce oxidative stress and damage different tissues and cells. Body-regulating mechanisms in hypobaric hypoxic environments behave differently in each altitude environment for survival [5]. Vital functions, especially all the systems that make up life and how their functions are changed are mentioned as important issues to be explained. It is known that exposure to low oxygen pressure causes both metabolic and physiological changes [6]. It is reported that exposure to high altitude (due to changes in ROT formation and antioxidant activity) may lead to oxidative damage, although oxygen is not expected to be low in the production of reactive oxygen species (ROT) because oxygen demand will be limited due to hypoxia at high altitudes [6, 7]. Current knowledge about exercise and oxidative stress at high altitudes has been obtained from a limited number of studies. We will discuss the effect of high altitude exercise on oxidative stress level by reviewing relevant publications between 1997 and 2017 at Google academy and PubMed.

**Keywords:** Exercise, High altitude, Hypoxia, Oxidative stress

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu, KAYSERİ, TALAS

\*Sorumlu Yazar: nakpinar@erciyes.edu.tr

Manuscript received date: February 28, 2018

Accept Date: April 12, 2018

Published Date: June 01, 2018.

## Yüksek İrtifa ve Performans İlişkisi

Yüksek irtifanın organizma üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalara 1878 yılında başlanmış ise de, yüksek irtifa konusu 1968 yılında Mexico olimpiyatları ile sporda en önemli konulardan biri haline gelmiştir. Yüksekli basınç yüksekliği, mutlak yükseklik, hakiki yükseklik olarak üç başlıkta tanımlanmaktadır. Basınç yüksekliğinin de deniz seviyesinden 760mmHg basınç ve 15C0 hava sıcaklığı irtifa için sıfır noktasıdır. Mutlak yükseklik havadan herhangi bir noktanın yere olan mesafesidir. Hakiki yükseklik ise havadaki bir cismin deniz seviyesine olan uzaklığıdır. Sportif etkinlikler, çoğunlukla deniz seviyesinden 500 m' ye kadar olan yüksekliklerde yapılır ancak günümüzde yeryüzünün tüm kesimlerinde spor yapan insan sayısı artmaktadır. 1000 m ve üzerindeki rakımlar yükseklik(yükselti) olarak kabul edilmektedir. Dünya üzerindeki birçok yerleşim bölgesi 1000 m'nin üzerindedir. Deniz seviyesinden yukarı çıkıldıkça atmosfer basıncı azalmakta, PO<sub>2</sub> basıncının değişimi solunum fonksiyonlarını etkilemektedir. Yükseklik artışına paralel olarak ortam ısısı da atmosferik olaylardan bağımsız olarak belirgin düşüş gösterir. 1500 m ve daha yükseklerde fiziksel performans olumsuz etkilenmekte ve yüksekliğin artışına bağlı olarak da bu etkilerde artış görülmektedir. Çok yüksek irtifada fiziksel performans ve VO<sub>2</sub>' de (maksimal oksijen alımı ) max %60<sup>0</sup>dan daha fazla azalma olmaktadır. 1500m<sup>0</sup>den sonra çıkılan her 300m de maxVO<sub>2</sub><sup>0</sup>de %3 – 3,5 azalma görülmektedir. Performansı etkileyen ortam koşullarının altında yatan temel faktörler atmosfer basıncı, hipoksi, aklimatizasyon, hiperventilasyon'dur [8].

## Atmosfer Basıncı

Atmosfer dünyanın etrafını çepeçevre saran hava ortamı olarak tanımlanır. Değişik oranlarda gaz, su buharı ve yerçekimi tarafından tutulan partiküllerden oluşur. Bu gazlardan %71'i hidrojen, %20,9'u oksijenden oluşur. Atmosfer basıncı, dünya yüzeyine baskı yaratan atmosferik gazların ağırlığının toplamıdır. Bu kuvvet yerçekimi tarafından moleküllerin dünyaya çekilmesi ile oluşur ve irtifa çıkıldıkça yerçekiminin azalan etkisiyle atmosferik basınçta azalır. Deniz seviyesinde Dalton yasasına göre; atmosfer basıncı 760 mmHg iken solunan havadaki P<sub>O2</sub> ( kandaki parsiyel oksijen basıncı) 149 mmHg'dir. Solunan havadaki P<sub>O2</sub> alveollerde 100 mmHg'ye düşerek arteriyel kana geçmekte ve bu şekilde dokulara taşınmaktadır. Yüksek irtifada ise azalan atmosfer basıncı, havadaki O<sub>2</sub> miktarı (%20.1) aynı kaldığından dolayı atmosferik P<sub>O2</sub> ve Alveolar P<sub>O2</sub>'nin azalmasına neden olur. Örneğin, deniz düzeyinde 149 mmhg olan P<sub>O2</sub> 3048 m yükseklikte 107 mmHg basıncına düşer. Alveolar P<sub>O2</sub>'ninde bu etkiye bağlı olarak 60 mmHg gibi bir düzeye inmesi de bu düşük alveol ve arteriyel kan P<sub>O2</sub> 'si nedeniyle, organizmada dokunun yeterince O<sub>2</sub> alamama durumu olarak tanımlanan hipoksiya neden olur ve bu da performansın azalması ile sonuçlanır [9].

## Hipoksi

Doku yüzeyinde O<sub>2</sub> eksikliği olarak tanımlanır. Hipoksinin organizmaya etkileri yükseklik düzeyine, yüksekliğe çıkış hızına, kalış süresine, ortam sıcaklığına, yapılan egzersizlere, kişisel faktörlere göre değişebilir. Hipoksini etkileri P<sub>O2</sub>'nin 35 mmHg'ye düşmesi ile beyin fonksiyonlarında bozulma görülür. Bu durum 4000 m'den itibaren görülmeye başlar. Düşük P<sub>O2</sub> basıncına maruz kalındığında kemoreseptörler yoluyla solunum dakika hacmi artırılır. Yani hiperventilasyon oluşur. Yükseklikte meydana gelen solunum artışı egzersizdeki gibi değildir. Hiperventilasyon sonucu PCO<sub>2</sub>'de (kandaki parsiyel karbondioksit basıncı) azalarak respiratuar alkalozu oluşturur ki buda kanın asit-baz dengesini bozar. Yükseklikte ayrıca kalp atım hızı ve kalp debisinin artışı ile birlikte dokuya yeterli O<sub>2</sub> sağlanmaya çalışılır. Ayrıca bir takım hormonal adaptasyonlarla da (epinefrin, norepinefrin salınımı) dokuya daha fazla O<sub>2</sub> verilmeye çalışılır. Hipoksinin belirtileri baş dönmesi, uyuşma, karıncalanma, baygınlık, sıcaklık- soğukluk hissi, görme azlığı, siyanoz, kas koordinasyon bozukluğu, öfari, konfizyon'dur [10].

## Aklimatizasyon

Aklimatizasyon yüksekliğe uyum sağlanmasıdır. Aklimatizasyon kısa süreli ve uzun süreli uyumlar şeklinde gerçekleşir. Yükseltiye uyum açısından ne kadar uzun süre yükseltide kalınırsa performansta o derecede anlamlı iyileşmeler gerçekleşir. Ancak hiç bir zaman deniz düzeyine ulaşamaz. Yükseltiye uyum sağlanması amacıyla gereken süre birçok araştırmacı tarafından değişik şekillerde açıklanmıştır. Genel olarak yükseltiye uyum için kalınan süre bireysel özelliklere bağlıdır. Ancak yinede 2300m'ye kadar olan yüksekliklere uyum için 2 hafta ve 2300 m'den sonraki her 610 m için (4500 m yüksekliğe kadar) ek bir hafta süreye ihtiyaç duyulur. Bazı insanların hiç bir zaman yüksekliğe aktimatize olamadıkları ve bunun sonucu olarak dağ veya irtifa hastalıklarına yakalandıkları belirtilmektedir [11].

## Yüksek İrtifaya Kısa Süreli Uyumlar

Yüksekliğe (2000 m'ye kadar) çıkılması ile başlayan ilk fizyolojik uyumlar kısa süreli uyumlar olarak adlandırılır. Bunlar; Hiperventilasyon, Doku kan akımında artış (dinlenirken ve submaksimal egzersizde) P<sub>O2</sub> 'nin azalımı nedeniyle dokuya ihtiyaç

duyulan O<sub>2</sub> 'nin sağlanabilmesi için hiperventilasyonun oluşur. Kalp atım hızının artışıyla dokulara kan akımının artırılmasının sağlanması (istirahatte ve egzersizde). Hiperventilasyon sonucu CO<sub>2</sub> azalması ile respiratuar ve metabolik alkaloz oluşması. Kanda PH alkali tarafa kayar [12].

### Hiperventilasyon

Yüksek irtifaya çıkış ile ilk bir kaç günde belirgin bir artış varken, yaklaşık bir hafta sonra sabitleşir. Hiperventilasyon azalmaya başlasa da normal düzeye dönebilmesi için yıllarca yüksek irtifada kalınmasını gerektirir [12].

### Yükseltiye Uzun Süreli Uyumlar

Yükseltide kalış süresi bir kaç günden daha uzun olduğunda gerçekleşen metabolik ve fizyolojik uyumlar şu şekildedir; Asit baz dengesinin düzenlenmesi, Hemogloblin ve kırmızı kan hücresi yapımında artış, Lokal dolaşım ve hücre fonksiyon değişimleri

### Asit - Baz Dengesinin Sağlanması

Yükseltide hiperventilasyon sonucu organizmaya daha fazla O<sub>2</sub> sağlanırken, organizmadan da daha fazla CO<sub>2</sub> atılımı gerçekleşir. Bunun sonucu olarak arter kanında CO<sub>2</sub> miktarı azalmakta ve alkali maddelerin miktarı artmaktadır. Respiratuar alkalozun oluşumu ile kanın PH dengesi alkali tarafa kayar. Yükseltiye uyum sağlanması için böbreklerde alkali maddelerin (HCO<sub>3</sub> bikarbonat) atılımı ile kanın PH dengesi normale döndürülür [12, 13].

### Hematokrit (kan hücrelerinde) Düzeyinde Meydana Gelen Artışlar

Yükseltiye çıkışla birlikte plazma hacminin azalmasına bağlı olarak kan hücrelerinde artış görülür. Hipoksiya bağlı olarak uyarılan ve P0<sub>2</sub> 'nin azalışına bağlı olarak böbreklerden salınan Enritropoietin hormonu salınımı eritropoiesize neden olunur. Böylece kırmızı kemik iliğinde kırmızı kan hücrelerinin (eritrosit) yapımı ile birlikte kan hücrelerinde (eritrosit ve hemoglobin) artış görülür. Özellikle ilk 2-3 günde artış görülmeye başlanır ve irtifada kalış süresince artış devam eder. Eritrosit ve Hb (hemoglobin) de meydana gelen artışlarla kanın O<sub>2</sub> taşıma kapasitesinin artırılır [14].

### Dokuda Meydana Gelen Değişiklikler

Kasın O<sub>2</sub> kullanma düzeyi artırılır. Bunun için kas dokuda kılcal damar sayısında, mitokondri yoğunluğunda ve kandan dokuya O<sub>2</sub> diffüzyon yeteneğinde meydana gelen artışlarla dokularda daha fazla O<sub>2</sub> 'nin kullanılması sağlanır . Ayrıca yüksek irtifada barometrik basıncın düşmesi ile P0<sub>2</sub>'nin de düşmesi O<sub>2</sub> saturasyonunu da azaltır. Hemogloblinin oksijene bağlanma eğiliminin azalması ile O<sub>2</sub> ayrışım eğrisinin sağa kayması ile dokuya oksijen daha kolay bırakılmaktadır [8].

### Ultraviyole Işınları

Ultraviyole radyasyon atmosfer tarafından hem emilir hem de dağıtılır. UV-C radyasyonun tamamı yüksek atmosferdeki oksijen ve ozon molekülleri tarafından emilir. UVB radyasyonun büyük bir kısmı stratosferik ozon tarafından emilirken ancak çok az bir kısmı yer yüzeyine kadar ulaşabilir. UV-A radyasyonun ise tamamı yere kadar ulaşır. UV-B radyasyonun tehlikeli biyolojik etkileri bilinmektedir. UV-A radyasyonun ise biyolojik etkileri daha da azdır ve insan cildine daha az zarar verir. Atmosferde UV-B radyasyonu emen temel faktör ozondur. Yer yüzeyine ulaşabilen UV-B radyasyon miktarı, tamamen toplam ozon kalınlığı ile orantılıdır. Ultraviyole radyasyon en yüksek değerlere dik güneş açılarında ulaşır. Çünkü güneşin dik açya ulaşması, güneş ışınlarının daha kısa atmosferik yol alması anlamına gelir. Yere ulaşabilen ultraviyole radyasyon miktarı deniz seviyesinden itibaren yüksekliğin artması ile doğru orantılı olarak artar. Yükseklik arttıkça yutucu parametrelerin etkisi azaldığı için, yere ulaşan radyasyon miktarının artması da kaçınılmaz bir sonuçtur. Yapılan çalışmalarda her 1.000 metrelik yüksekliğin ultraviyole radyasyonda ortalama %10 civarında bir artışa neden olduğu belirlenmiştir. Oksidatif stres, pek çok hastalığa neden olabilir. UV ışınları da yüksek irtifada serbest radikaller oluşturabilmektedir [15].

### Yüksek irtifa egzersizi sırasında oksidatif stres

Yapılan literatür incelemesi sonucu, hipoksik hipoksinin oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Yükseklikte yapılan antrenmanlar, hem yüksek irtifada yapılacak olan müsabakalar için aklimatize olmak hem de deniz seviyesinde yapılacak müsabakalara hazırlık amacıyla antrenör ve sporcular tarafından kullanılmaktadır. Yüksek irtifa antrenmanlarının aerobik performansı arttıracığını savunan araştırmacıların yanı sıra yüksek performanstaki sporcular için

bir faydasının bulunmadığını savunan yazarlar da vardır. Yüksek irtifada hipoksiden dolayı oksijen talebi sınırlı olacağı için Reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretiminde az olacağı düşünülmese rağmen, yüksek irtifaya maruz kalmanın da (ROT oluşumu ve antioksidan aktivitesindeki değişikliklerden dolayı) oksidatif hasara yol açabileceği rapor edilmektedir [6, 7]. ROT'lar yüksek enerjili bir ya da daha çok çiftleşmemiş molekülleri içerir. Normal hücre metabolizması oksijen moleküllerinin %1-2 kadarını ROT'lerine çevirir. Bu ROT potansiyel olarak toksiktir. ROT kas kasılması gibi normal fiziksel aktivitelerin düzenlenmesinde önemli katkıları olmasına rağmen, ROT'ların konsantrasyonlarındaki ciddi artışlar normal hücre fonksiyonu bozabilir, çeşitli biyomoleküllerin (protein, lipid) ve hücre DNA'nın oksidatif hasarlanmasına yol açabilir [16–18]. ROT, organ, doku hasarında ve değişik hastalıkların etyopatogenezindeki rolünden dolayı son yıllarda tıbbın giderek artan ilgi alanını oluşturmaktadır. Yüksek irtifa şartları organizma fonksiyonlarında değişimlere neden olur. Solunan havadaki düşük oksijen konsantrasyonu, düşük ısı ve uzun süre ultraviyole ışınlarına maruz kalmak bu değişiklikleri tetiklemektedir. Derin solunum hareketleri, kalp atım sayısının artması, dolaşımdaki eritrositlerin sayısı ve hemoglobin konsantrasyonundaki artış, yüksek irtifa şartlarına aklimatizasyonun etkileridir. Bu etkileri nedeni ile hipoksik ortamda kamp yapma profesyonel sporcular için, bir antrenman programı olarak kullanılmaktadır. Egzersiz ile yapılan çalışmalarda en çok araştırılan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), hücre DNA materyalinin ve reaktif oksijen türlerinin karşılıklı etkileşimiyle oluşan, oksidatif DNA ürünlerinden biridir [16, 17, 19, 20]. 8-OHdG oksidatif DNA hasarının iyi bir indikatörü olarak tanımlanmasına rağmen, 8-OHdG'nin orijinini (hücre DNA'sından mı, mitokondrial DNA'dan mı kaynaklandığını) tam olarak ayırt etmek oldukça zordur [23]. Mikronukleus testi (MN) DNA hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir ve kromozom hasarlarını tespit etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [21, 22]. Oksidatif stresin bir göstergesi olarak birçok çalışmada Malondialdehit (MDA) seviyesi ölçülmüştür [23]. Malondialdehit (MDA), non-enzimatik oksidatif lipid peroksidlerinin parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerden birisidir. Antioksidanların vücuttaki aktivitelerinin belirlenmesi oksidatif hasar hakkında önemli bilgiler verebilir. Egzersizle oluşan oksidatif stresi tespit etmek için en yaygın araştırılan antioksidan enzimler süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerinin ölçümüdür [24]. İlk yıllarda Chance ve ark. [23] ile Groot ve Littauer [24], yaptıkları çalışmalarla yükseklik hipoksisine maruz kalmanın serbest radikal oluşumunu azalttığını ileri sürmüşlerdir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalar, yükseklik hipoksisinin oksidatif stres artışıyla ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda hipobarik hipoksinin hem plazma hem de doku örneklerinde oksidatif stresi artırdığı ileri sürülmüştür [25–27]. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda ise kısa süreli (1–4 hafta) yükseklik hipoksisi ile oksidatif stres arasında çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Bazı çalışmalar lipid peroksidasyon gibi oksidatif hasarı gösteren belirteçlerde artış bulurken [28, 29], diğer çalışmalar lipid peroksidasyon artışı ile hipoksinin ilişkili olmadığı ileri sürülmüştür [30]. Birkaç çalışmada ise, yüksekte lipid peroksidasyon artışının egzersizle ilişkili olduğu rapor edilmiştir [9, 31–33]. Jefferson ve ark. [7] tarafından deniz seviyesinde yaşayan 28 kişide hem bazal seviyede, hem de 48 saat 4300 m yükseklikte kaldıktan sonra, 4300 m yükseklikte devamlı olarak yaşayan 25 kişide ve hem bu yükseklikte yaşayan hem de hematokrit değeri > %65 olan ve kronik dağ hastalığı gelişen 27 kişide yükseklik hipoksisinin oksidatif stres üzerine etkileri araştırılmıştır. Akut olarak yüksekte hipoksiye maruz kalmanın idrar örneklerinde F2-izoprostan, 8-izo *PGF2α*, plazma da total glutatyon ve tiyobarbiturik asit (TBARS) artışına yol açtığını bulmuşlardır. Yüksekte yaşayan kişilerin idrar örneklerinde 8-izo *PGF2α* ve plazmada TBARS, total glutatyon içeriklerinin deniz seviyesinde yaşayanlara göre yüksek olduğunu bulmuşlardır. Dağ hastalığı oluşan ve yüksekte yaşayan kişilerde ise, normal hematolojik değerlere sahip olan ve yüksekte yaşayan kişilere göre oksidatif stres düzeyinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre, hem akut hem de kronik olarak egzersiz yapmadan yüksekte hipoksiye maruz kalmanın oksidatif stresi artırdığını ileri sürmüşlerdir. Lundby ve ark. [34], uzun süreli yüksekte hipoksiye maruz kalmanın etkilerini insan iskelet kaslarında araştırmışlardır. Deniz seviyesinden 4100 m. yükseklikte 2–8 hafta hipoksiye maruz bırakılan 7 kişinin kas biyopsilerinde oksidatif DNA hasarını comet assay yöntemi ile araştırmışlardır. İki haftalık hipoksiye maruz bırakılmanın sonucunda, DNA zincir kırıklarında ve endonükleaz-III'e duyarlı bölgelerde artış olduğu, halbuki formamidopirimidin DNA glikosilaz (FPG) protein yöntemi ile belirlenen oksidatif DNA hasarlarının ve 8-okzoguanin glikosilaz 1 (OGG1)'in değişmeden kaldığını bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre, yüksekte hipoksinin oksidatif stres oluşumu için bir model olduğunu ve yüksekliğin oksidatif DNA hasarını artırdığını ileri sürmüşlerdir. Ohkuva ve ark. [21], ratların karaciğer biyopsilerinde hipoksinin 8-OHdG, glutatyon (GSH), oksitlenmiş glutatyon (GSSG) ve glutatyon redüktaz (GR) aktivitesine etkisini araştırmışlardır. Ratları 3 gruba bölmüşler, 1. grup ratlara hipoksik egzersiz (HE) yaptırmışlar, 2. grup ratları egzersiz yaptırmadan hipoksik ortama (HS) maruz bırakmışlar, 3. grup ratlar ise normal şartlar altında sedanter olarak (NS) kalmışlardır. Ratlar normobarik hipoksik çember kullanılarak hipoksiye (O<sub>2</sub> %16) maruz bırakılmıştır. Ratların karaciğer doku örnekleri incelendiğinde normal şartlarda kalan ratlara göre, HE ve HS gruplarda 8-OHdG içeriğini daha düşük bulmuşlardır. HE ve HS grupları arasında 8-OHdG içeriği açısından fark bulamamışlardır. Bununla birlikte GSH içeriği, HS grupta NS grubuna göre daha düşük, HE grupta ise HS gruba göre daha yüksek bulunmuştur. GR aktivitesi, HS grubunda NS grubuna göre daha düşük, HE grubunda ise HS grubundan daha yüksek bulunmuştur. GR aktivitesi açısından HE ve NS grup arasında fark bulunmamıştır. Bu verilere göre, orta düzeyde hipoksi ve hipoksik egzersizin oksidatif stresi azalttığını rapor etmişlerdir. Gonzalez ve ark. [35], yaşları 19–23 arasında olan 7 gönüllü kişinin deniz seviyesinden 3500 m yükseklikte 3 gün kalmalarını sağlayıp, 3 günün sonunda tekrar döndüklerinde, normal hipoksik şartların bu kişiler üzerindeki etkilerini araştırmışlardır.

Bunun için, her iki şartlarda kişilerden dinlenik vaziyette kan örnekleri almışlar ve eritrosit membran lipitlerinde oksidatif hasarın indikatörü olan MDA'yı ölçmüşlerdir. Kişiler yeniden deniz seviyesine döndüklerinde MDA içeriklerinin, yükseklikteki MDA içeriklerine göre önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre 3500 m yüksekliğe çalışmak ya da eğlenmek için çıkan kişilerin deniz seviyesine tekrar döndüklerinde (reoksijenasyonun) eritrosit membran lipitlerinde oksidatif hasar riskinin oluşabileceğini ileri sürmüşlerdir. Magalhaes ve ark. [36], 6 gönüllü erkek kişiyi 4 saat laboratuvar şartlarında hipobarik çemberde 5500 m (52,52 kPa) yüksekliğe denk gelecek şekilde hipoksiye ve sonrasında da 30 dakika deniz seviyesine maruz bırakmışlardır. Sonuçta, akut dağ hastalığının skorlarının yükseldiği ve arterial oksijen saturasyonunda önemli değişikliklerin olduğunu bulmuşlardır. Oksidatif değişikliğin bir indikatörü olan oksitlenmiş glutasyon yüzdesinin bazal seviyeye göre önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır. Veriler doğrultusunda, hipobarik hipoksinin oksidatif stresi artırdığını ileri sürmüşlerdir. Joanny ve ark. [30], 8 bireyi 8848 m yüksekliğe denk gelecek şekilde laboratuvar şartlarında 31 gün süreyle basınç çemberi içerisine maruz bırakmışlardır. Tam kanda lipit peroksidasyonun 6000m'de %23, 8000 m'de %79 ve 8848 m'de %94 oranında arttığını bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre uzun süreli hipobarik-hipoksiye maruz kalmanın oksidatif stres oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Moller P ve ark. [6] normal şartlar altında ve 4559 metre yükseklikte bitim oluşturacak şekilde bisiklet ergonometre testi yaptırmışlardır. Her iki çevre şartlarında da egzersizden önce ve egzersizden hemen, 24 saat ve 48 saat sonra kan örnekleri almışlardır. 24 saat boyunca da idrar örnekleri toplamışlardır. Yüksek irtifada 1.gün boyunca toplanan idrar örneklerinde 8-OHdG seviyesi normal şartlardakine göre arttığını bulmuşlardır. DNA zincir kırıkları ise, 3 gün boyunca normal şartlara göre giderek daha fazla meydana gelmiş olup, DNA zincir kırıklarının seviyesi yüksekte yapılan egzersizden hemen sonra daha da arttığı belirtilmektedir. Bunun aksine, normal şartlarda yaptırılan egzersizin DNA zincir kırıkları üzerinde etkisinin olmadığı bildirilmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre hipoksinin, insanlarda DNA zincir kırıklarına ve oksidatif DNA hasarına yol açtığı, normal şartlarda yapılan egzersizin ise DNA zincir kırıklarının oluşuma bir etkisinin bulunmadığı ileri sürülmüştür. Bu araştırmacılar DNA kırıklarını tespit etmek için formapirimidin glikolaz ve endonükleaz III enzim yöntemi ile tespit etmişlerdir. Snyder ve ark [37], hipoksinin fare kemik iliği örneklerinde (in vivo olarak) mikronükleus (MN) oluşumuna etkisini araştırmışlardır. Fareleri silikonlu kauçuk membrandan oluşan özel kafesler içerisine yerleştirip kafesteki oksijen seviyesini normal seviyeden (%21), yaklaşık olarak %7,5'e düşürmüşler ve fareleri bu ortamda 3–7 gün bırakmışlardır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hipoksik şartlarda kalan farelerin kemik iliği örneklerinde MN frekansının önemli ölçüde yükseldiğini bulmuşlardır. Bu sonuçlara göre hipoksinin tek başına genotoksik olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, bu artışın mekanizmasının muhtemelen, hipoksik şartlarda yükselen eritropoezisten dolayı bozulan hücre bölünmesine bağlı olduğunu ve bunun tartışılması gerektiğini ileri sürmüşlerdir. Bireylerin deniz seviyesinde sahip oldukları performanslarını daha iyi düzeye getirmek için yüksekte antrenman yapılması gerektiği düşüncesi yıllardır vardır. Bununla birlikte yaklaşık 30 yıldır yapılan araştırma sonuçlarından elde edilen atletik performans verileri (oksijen doyunluğu, maksimum oksijen tüketimi, kalp atım sayısı, arteriyel kan basıncı gibi) birbirlerinden oldukça farklıdır. Woorons ve ark. [38], farklı hipoksik şartlarda (1000 m, 2500 m, 4500 m) antrenmanlı ve sedanter olan bayanlara maksimal bisiklet ergonometri testi yaptırmışlardır. Hem antrenmanlı hem de sedanter olan bayanlarda farklı hipoksik şartlarda, maksimum oksijen tüketim (VO<sub>2</sub>max) kapasitesinde deniz seviyesi ile karşılaştırıldığında azalma ve bu azalmanın antrenmanlı bayanlarda daha da fazla olduğunu bulmuşlardır. Arterial oksijen doyunluğunun antrenmanlı bayanlarda her yükseklikte azaldığını, maksimal kalp atım sayısının ise her iki grupta da 1000 m'de azaldığını bulmuşlardır. Nishihara ve ark. [39], deniz seviyesinden 2700 ve 3700 m yüksekliğe çıkan bireylerde bu yüksekliğin kardiovasküler parametreler üzerine etkisini araştırmışlardır. Bireylerin, deniz seviyesi ile 2700 ve 3700 m yüksekliklerdeki kalp atım sayıları ve arteriyel kan basınçları arasında fark olmadığını, fakat egzersizden sonra bu değerlerin yükseklikte daha da arttığını bulmuşlardır. Egzersizden sonra kandaki laktaz konsantrasyonunu 3700 m'de, 2700 m ve deniz seviyesine göre oldukça yüksek bulmuşlardır. Egzersizle birlikte 2700 m ve 3700 m'de oksijen doyunluğunda azalma bulunurken, deniz seviyesinde oksijen doyunluğunda değişiklik bulmamışlardır. Lundby ve ark [14], deniz seviyesinde yaşayan 8 kişiyi 14 gün boyunca hipobarik çemberde (4100 m, 470 mmHg) günde iki saat hipoksiye maruz bırakmışlardır. Bireylerin egzersiz performanslarını hipoksiden önce ve sonra değerlendirmişler, kan parametrelerini ise hipoksiden önce sonra ve 14 gün boyunca farklı zamanlarda (4., 6., 8., 10., 12. ve 14. gün) değerlendirmişlerdir. Sonuçta 14 gün boyunca günde 2 saatlik 4100 m'de hipobarik hipoksinin kan ve egzersiz parametreleri üzerine etkisinin olmadığını ileri sürmüşlerdir. Yapılan literatür incelemesi ışığında, hipoksik hipoksinin oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili çalkılı sonuçların olduğu görülmüştür.

## Kaynaklar

- [1] S. Sinha, U. Ray, M. Saha, S. Singh, and O. Tomar, "Antioxidant and redox status after maximal aerobic exercise at high altitude in acclimatized lowlanders and native highlanders," *European journal of applied physiology*, vol. 106, no. 6, pp. 807–814, 2009.
- [2] R. Faiss, V. Pialoux, C. Sartori, C. Faes, O. Dériaz, and G. P. Millet, "Ventilation, oxidative stress, and nitric oxide in hypobaric versus normobaric hypoxia," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 45, no. 2, pp. 253–260, 2013.

- [3] L. E. Miller, G. R. McGinnis, B. Kliszczewicz, D. Slivka, W. Hailes, J. Cuddy, C. Dumke, B. Ruby, and J. C. Quindry, “Blood oxidative-stress markers during a high-altitude trek,” *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, vol. 23, no. 1, pp. 65–72, 2013.
- [4] N. Lewis, D. M. Bailey, G. R. Dumanoir, L. Messinger, S. J. Lucas, J. D. Cotter, J. Donnelly, J. McEneny, I. S. Young, M. Stembridge *et al.*, “Conduit artery structure and function in lowlanders and native highlanders: relationships with oxidative stress and role of sympathoexcitation,” *The Journal of physiology*, vol. 592, no. 5, pp. 1009–1024, 2014.
- [5] J. Quindry, C. Dumke, D. Slivka, and B. Ruby, “Impact of extreme exercise at high altitude on oxidative stress in humans,” *The Journal of physiology*, vol. 594, no. 18, pp. 5093–5104, 2016.
- [6] P. Møller, S. Loft, C. Lundby, and N. V. Olsen, “Acute hypoxia and hypoxic exercise induce dna strand breaks and oxidative dna damage in humans,” *The FASEB Journal*, vol. 15, no. 7, pp. 1181–1186, 2001.
- [7] J. A. Jefferson, J. Simoni, E. Escudero, M.-E. Hurtado, E. R. Swenson, D. E. Wesson, G. F. Schreiner, R. B. Schoene, R. J. Johnson, and A. Hurtado, “Increased oxidative stress following acute and chronic high altitude exposure,” *High altitude medicine & biology*, vol. 5, no. 1, pp. 61–69, 2004.
- [8] A. M. Wrynn, “‘a debt was paid off in tears’: Science, ioc politics and the debate about high altitude in the 1968 mexico city olympics,” *The international journal of the history of sport*, vol. 23, no. 7, pp. 1152–1172, 2006.
- [9] M. C. Schmidt, E. Askew, D. E. Roberts, R. L. Prior, W. Ensign, and R. E. Hesslink, “Oxidative stress in humans training in a cold, moderate altitude environment and their response to a phytochemical antioxidant supplement,” *Wilderness & environmental medicine*, vol. 13, no. 2, pp. 94–105, 2002.
- [10] M. Grocott, H. Montgomery, and A. Verceuil, “High-altitude physiology and pathophysiology: implications and relevance for intensive care medicine,” *Critical Care*, vol. 11, no. 1, p. 203, 2007.
- [11] A. G. Vij, R. Dutta, and N. K. Satija, “Acclimatization to oxidative stress at high altitude,” *High altitude medicine & biology*, vol. 6, no. 4, pp. 301–310, 2005.
- [12] C. Lundby, J. A. Calbet, G. van Hall, B. Saltin, and M. Sander, “Pulmonary gas exchange at maximal exercise in danish lowlanders during 8 wk of acclimatization to 4,100 m and in high-altitude aymara natives,” *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 287, no. 5, pp. R1202–R1208, 2004.
- [13] D. Penalzoa and J. Arias-Stella, “The heart and pulmonary circulation at high altitudes: healthy highlanders and chronic mountain sickness,” *Circulation*, vol. 115, no. 9, pp. 1132–1146, 2007.
- [14] C. Lundby, T. Nielsen, F. Dela, and R. Damsgaard, “The influence of intermittent altitude exposure to 4100 m on exercise capacity and blood variables,” *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, vol. 15, no. 3, pp. 182–187, 2005.
- [15] A. Dosek, H. Ohno, Z. Acs, A. W. Taylor, and Z. Radak, “High altitude and oxidative stress,” *Respiratory physiology & neurobiology*, vol. 158, no. 2-3, pp. 128–131, 2007.
- [16] Z. Radák, J. Pucsek, S. Boros, L. Jofai, and A. Taylor, “Changes in urine 8-hydroxydeoxyguanosine levels of super-marathon runners during a four-day race period,” *Life sciences*, vol. 66, no. 18, pp. 1763–1767, 2000.
- [17] K. Nakatani, M. Komatsu, T. Kato, T. Yamanaka, H. Takekura, A. Wagatsuma, K. Aoyama, B. Xu, T. Hirano, H. Kasai *et al.*, “Habitual exercise induced resistance to oxidative stress,” *Free radical research*, vol. 39, no. 9, pp. 905–911, 2005.
- [18] H. Orhan, B. van Holland, B. Krab, J. Moeken, N. P. Vermeulen, P. Hollander, and J. H. Meerman, “Evaluation of a multi-parameter biomarker set for oxidative damage in man: increased urinary excretion of lipid, protein and dna oxidation products after one hour of exercise,” *Free radical research*, vol. 38, no. 12, pp. 1269–1279, 2004.
- [19] R. J. Bloomer, A. H. Goldfarb, and M. J. McKenzie, “Oxidative stress response to aerobic exercise: comparison of antioxidant supplements,” *Medicine & science in sports & exercise*, vol. 38, no. 6, pp. 1098–1105, 2006.
- [20] A. Hartmann, S. Pfuhrer, C. Dennog, D. Germadnik, A. Pilger, and G. Speit, “Exercise-induced dna effects in human leukocytes are not accompanied by increased formation of 8-hydroxy-2’-deoxyguanosine or induction of micronuclei,” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 24, no. 2, pp. 245–251, 1998.
- [21] T. Ohkuwa, H. Itoh, T. Yamamoto, C. Minami, Y. Yamazaki, S. Kimoto, and R. Yoshida, “Effects of hypoxia and hypoxic training on 8-hydroxydeoxyguanosine and glutathione levels in the liver,” *Metabolism-Clinical and Experimental*, vol. 53, no. 6, pp. 716–719, 2004.
- [22] K. Umegaki, M. Higuchi, K. Inoue, and T. Esashi, “Influence of one bout of intensive running on lymphocyte micronucleus frequencies in endurance-trained and untrained men,” *International journal of sports medicine*, vol. 19, no. 08, pp. 581–585, 1998.



- [23] M. Fenech, "Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a "cytome" assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death," *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 600, no. 1, pp. 58–66, 2006.
- [24] Z. Hamurcu, H. Dönmez-Altuntas, M. Borlu, H. Demirtas, and Ö. Aşçioslu, "Micronucleus frequency in the oral mucosa and lymphocytes of patients with behçet's disease," *Clinical and experimental dermatology*, vol. 30, no. 5, pp. 565–569, 2005.
- [25] M. L. Urso and P. M. Clarkson, "Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation," *Toxicology*, vol. 189, no. 1-2, pp. 41–54, 2003.
- [26] Z. Radak, K. Lee, W. Choi, S. Sunoo, T. Kizaki, S. Oh-Ishi, K. Suzuki, N. Taniguchi, H. Ohno, and K. Asano, "Oxidative stress induced by intermittent exposure at a simulated altitude of 4000 m decreases mitochondrial superoxide dismutase content in soleus muscle of rats," *European journal of applied physiology and occupational physiology*, vol. 69, no. 5, pp. 392–395, 1994.
- [27] S. Sarada, P. Dipti, B. Anju, T. Pauline, A. Kain, M. Sairam, S. Sharma, G. Ilavazhagan, D. Kumar, and W. Selvamurthy, "Antioxidant effect of beta-carotene on hypoxia induced oxidative stress in male albino rats," *Journal of ethnopharmacology*, vol. 79, no. 2, pp. 149–153, 2002.
- [28] G. Ilavazhagan, A. Bansal, D. Prasad, P. Thomas, S. Sharma, A. Kain, D. Kumar, and W. Selvamurthy, "Effect of vitamin e supplementation on hypoxia-induced oxidative damage in male albino rats." *Aviation, space, and environmental medicine*, vol. 72, no. 10, pp. 899–903, 2001.
- [29] J.-P. Richalet, A. Hornych, C. Rathat, J. Aumont, P. Larmignat, and P. Remy, "Plasma prostaglandins, leukotrienes and thromboxane in acute high altitude hypoxia," *Respiration physiology*, vol. 85, no. 2, pp. 205–215, 1991.
- [30] P. Joanny, J. Steinberg, P. Robach, J. Richalet, C. Gortan, B. Gardette, and Y. Jammes, "Operation everest iii (comex'97): the effect of simulated severe hypobaric hypoxia on lipid peroxidation and antioxidant defence systems in human blood at rest and after maximal exercise," *Resuscitation*, vol. 49, no. 3, pp. 307–314, 2001.
- [31] S. L. Wing, E. W. Askew, M. J. Luetkemeier, D. T. Ryujin, G. H. Kamimori, and C. K. Grissom, "Lack of effect of rhodiola or oxygenated water supplementation on hypoxemia and oxidative stress," *Wilderness & environmental medicine*, vol. 14, no. 1, pp. 9–16, 2003.
- [32] N. A. Güzel, H. Sayan, and D. Erabas, "Effects of moderate altitude on exhaled nitric oxide, erythrocytes lipid peroxidation and superoxide dismutase levels," *The Japanese journal of physiology*, vol. 50, no. 2, pp. 187–190, 2000.
- [33] A. Wozniak, G. Drewa, G. Chesy, A. Rakowski, M. Rozwodowska, and D. Olszewska, "Effect of altitude training on the peroxidation and antioxidant enzymes in sportsmen," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 33, no. 7, pp. 1109–1113, 2001.
- [34] C. Lundby, H. Pilegaard, G. van Hall, M. Sander, J. Calbet, S. Loft, and P. Møller, "Oxidative dna damage and repair in skeletal muscle of humans exposed to high-altitude hypoxia," *Toxicology*, vol. 192, no. 2-3, pp. 229–236, 2003.
- [35] G. González, G. Celedón, M. Escobar, C. Sotomayor, V. Ferrer, D. Benítez, and C. Behn, "Red cell membrane lipid changes at 3500 m and on return to sea level," *High altitude medicine & biology*, vol. 6, no. 4, pp. 320–326, 2005.
- [36] J. Magalhaes, A. Ascensao, G. Viscor, J. Soares, J. Oliveira, F. Marques, and J. Duarte, "Oxidative stress in humans during and after 4 hours of hypoxia at a simulated altitude of 5500 m," *Aviation, space, and environmental medicine*, vol. 75, no. 1, pp. 16–22, 2004.
- [37] R. D. Snyder and M. S. Diehl, "Hypoxia-induced micronucleus formation in mice," *Drug and chemical toxicology*, vol. 28, no. 4, pp. 373–378, 2005.
- [38] X. Woorons, P. Mollard, C. Lamberto, M. Letournel, and J.-p. Richalet, "Effect of acute hypoxia on maximal exercise in trained and sedentary women," *Medicine & Science in Sports & Exercise*, vol. 37, no. 1, pp. 147–154, 2005.
- [39] F. Nishihara, H. Shimada, and S. Saito, "Rate pressure product and oxygen saturation in tourists at approximately 3000 m above sea level," *International archives of occupational and environmental health*, vol. 71, no. 8, pp. 520–524, 1998.

# Osteokondral Doku Mühendisliği

## Osteochondral Tissue Engineering

Soner ÇAKMAK \* 

### Özet

Ortopedik cerrahide, osteokondral hasarların tedavisi hala tam olarak gerçekleştirilememektedir. Osteokondral hasarlar, aynı anda hem eklem kıkırdak ı hem de subkondral kemikte hasarın görüldü ğü durumları ifade etmektedir. Bu hasarların tedavisi için kıkırdak, kemik ve kıkırdak-kemik ara yüzeyinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini göz önünde bulunduracak yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Osteokondral hasarların tedavisi için birçok cerrahi yöntemi geliştirilmiş olsa da bu yöntemler geçici bir iyileşme sağlar. Bu nedenle tedavi edici alternatif yöntemler üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. Bu noktada, osteokondral doku mühendisliği, biyomalzeme, hücreler ve çeşitli biyoaktif moleküllerin kullanımıyla, osteokondral hasarların tedavisi için ön plana çıkmaktadır. Bu derlemede, osteokondral doku mühendisliğinin temelleri, osteokondral dokunun yapısı, osteokondral hasarların tedavisinde kullanılan cerrahi yöntemler, bu alanda kullanılan biyomalzemeler ve tek/çok fazlı doku iskelesi tasarımları ve kullanımları, kullanılan büyüme faktörleri ve hücreler örnekleriyle anlatılmış, str.

**Anahtar Kelimeler:** Osteokondral doku mühendisliği, çok fazlı doku iskelesi, büyüme faktörü, kondrosit, kök hücre

**Abstract** Treatment of osteochondral defects can not be completely achieved in orthopaedic surgery. Osteochondral defects reflect damage to both the articular cartilage as well as the underside subchondral bone. The treatment strategies should take into consideration the physical and chemical properties of cartilage, bone and cartilage-bone interface. Although there are several surgical methods developed for the treatment of osteochondral defects, both of them have ensured temporary healing. Therefore, there have been intense efforts on alternative strategies for osteochondral regeneration. At this point, osteochondral tissue engineering have come to the forefront by using the combinations of biomaterials, cells and several bioactive molecules. In this review, fundamentals of osteochondral tissue engineering, osteochondral tissue structure and surgical treatment methods, the biomaterials used and design of single/multiphasic scaffolds, growth factors and cells are comprehensively presented with the current literature examples.

**Keywords:** Osteochondral tissue engineering, multiphasic scaffold, growth factor, chondrocyte, stem cell

<sup>1</sup> Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, ANKARA, TÜRKİYE

\*Sorumlu Yazar:sonercakmak@gmail.com

\* Bu makale yazarın Doktora Tezi'nden derlenmiştir.

Manuscript received date: February 21, 2018

Accept Date: May 8, 2018

Published Date: June 01, 2018.

### Giriş

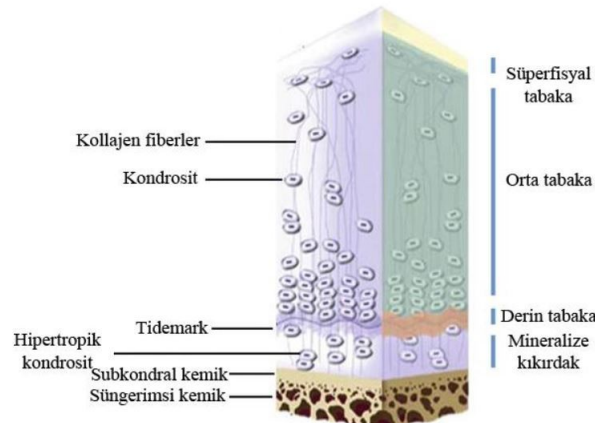
Yaşlanan popülasyonla birlikte kıkırdak dokuda görülen aşınma, osteokondral hasarların ana kaynağı olarak bilinen osteoartrit adlı hastalığa neden olmaktadır. 2008 yılındaki verilere bakılacak olursa, Avrupa Birliği sınırlarında 39 milyon kişi ve 20 milyondan fazla Amerikalı bu hastalıkla ilişkili büyük sıkıntılar yaşamakta ve 2020 yılına kadar hasta sayısının ikiye katlanacağı öngörülmektedir [1]. Osteokondral hasarlar, kemik, kıkırdak ve kemik-kıkırdak ara yüzeyinde görülen bir rahatsızlık veya dejenerasyon olarak tanımlanmakta ve insan vücudundaki herhangi bir eklem bölgesinde görülebilmektedir. Bu tarz bir hasardaki iyileşme, ancak bu farklı bölgelerdeki bileşenler göz önüne alınarak gerçekleştirilebilir. Osteokondral hasarların tamiri veya tedavisi, kemik, kıkırdak ve kemik-kıkırdak ara yüzey rejenerasyonunun aynı anda ve bir bütünlük içerisinde gerçekleşmesiyle mümkün

olmaktadır. Kemik doku ve kıkırdak doku mühendisliği uzun yıllardır üzerinde çalışılan araştırma alanlarındandır. Kemik ve kıkırdak biyolojisi, genel yapısı ve mekanik özelliklerinin daha iyi anlaşılmasıyla, bu iki ayrı bölgenin aynı anda tedavi edilebilmesi için kullanılan mevcut doku mühendisliği malzemelerine göre daha gelişmiş yapılara ihtiyaç duyulmaktadır.

## Osteokondral Dokunun Yapısı Ve Özellikleri

Osteokondral dokunun en üst katmanını kıkırdak tabakası oluşturmaktadır. Kıkırdak, insan vücudunun çeşitli bölgelerinde bulunan esnek ve destek görevi gören bir dokudur. En önemli üç kıkırdak yapısı, fibröz kıkırdak, elastik kıkırdak ve hyalin kıkırdak olarak sıralanabilir. Hyalin kıkırdak, insan vücudunda en çok bulunan ve özellikle eklem bölgelerini oluşturan kıkırdak yapısıdır. Kıkırdak temel olarak su, kollajen, proteoglikanlar, kondrositler ve diğer proteinlerden oluşmaktadır. Her bir bileşenin, kıkırdağın destek işlevinin korunmasında önemli bir rolü bulunur. Kıkırdak hücre dışı matrisinde (ECM) bulunan proteoglikanlara bağlı glikozaminoglikanlar (GAG), yüksek yoğunlukta negatif yüke sahiptir. Bu negatif yükler, su içerisindeki aktif katyonları kendisine çeker. Fazla su daha sonra turgora neden olarak ECM'nin yüksek sıkıştırıcı kuvvetlere karşı koyabilmesini sağlar [2]. Eklem kıkırdaklarındaki ana GAG'lar kondroitin ve keratin sülfatlar iken ana proteoglikan ise agregan'dır. GAG ve proteoglikanlar bir polimer ağ tabaka oluşturarak yapısal kollajenlerle iç içe geçer [3]. Kollajen fiberlerin varlığı, eklem kıkırdağına yapısal ve elastik dayanım sağlar. Eklem kıkırdağında genellikle tip II kollajen bulunur fakat tip V, VI, IX ve XI kollajen de bu kıkırdak yapısında bulunmakta ve bu kollajenlerin moleküller arası etkileşimlerde ve tip II kollajen'in yapısal düzenlenmesinde önemli rol oynadıkları düşünülmektedir [4]. Bunlara ek olarak, bu kıkırdak yapısında bulunan tip X kollajenin kıkırdak ve alt kısmındaki kemik arasındaki mineralizasyona yardım ettiği düşünülmektedir [5].

Osteokondral bölgenin içeriğine bakılacak olursa bu yapının farklı katmanlardan oluştuğu görülür-bunlar; süperfisyel tabaka, orta ve derin tabakadır (Şekil 1). Süperfisyel tabaka eklem yüzeyinde yerleşmişken, derin tabaka mineralize kıkırdak tabakasına bağlanır (subkondral kemik) ve orta tabaka da bu ikisinin arasında kalan bölge olarak tanımlanabilir. Kıkırdağı oluşturan her bir tabaka, hücreler ve ECM bileşenleri açısından kendine özgü karakteristik ve organizasyonel bir yapılanmaya sahiptir. Süperfisyel tabaka, yassılaştırmış kondrositlerin varlığı ve ince kollajen fibrillerin eklem yüzeyine göre paralel bir şekilde düzenlenmesiyle karakterize edilir. Hücre yoğunluğu bu tabakada en fazladır [6]. Orta tabakada, kondrositler küresel şekilde ve kollajen fibriller süperfisyel tabakadakilere göre daha kalın ve daha az düzenli bir şekilde organize olmuştur. Derin tabakada ise kondrositler ve fiberler eklem yüzeyine dik olacak şekilde düzenlenmiştir ve kondrositler dikey bir kolon görüntüsü verir. Bu tabakada, kollajen fibrillerinin kalınlığı maksimum fakat, kollajen içeriği minimum değerdedir. Tüm tabakalar göz önünde bulundurulduğunda, agregan derişimi doku derinliklerine inildikçe, yani kemik bölgesine yaklaştıkça artış gösterir.



Şekil 1. Osteokondral dokunun yapısı [7]

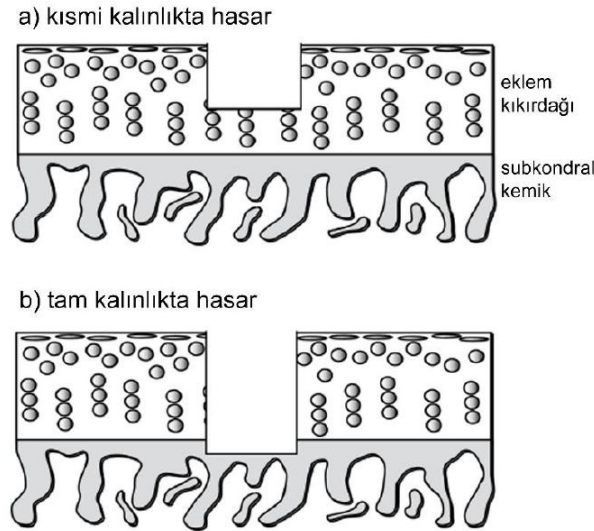
ECM bileşimindeki ve aynı zamanda düzenlenmesindeki farklılıklar osteokondral dokudaki her bir tabakanın mekanik özelliklerini önemli derecede etkilemektedir. Örneğin, süperfisyel tabaka kollajen fibrillerin düzenlendiği yöndeki gerilimlere karşı oldukça dirençlidir ve bu sayede yüzeydeki kayma gerilimlerine karşı dokunun sağlamlığını korur [8]. Dokunun daha da derinliklerine inildikçe, mineralize yapının da başlamasıyla osteokondral dokudaki sıkıştırma kuvveti süperfisyel bölgeye göre birkaç kat fazlalık gösterir [9]. Osteokondral dokuyu oluşturan her bir tabaka, farklı mekanik özelliklere sahiptir ve her bir tabaka arasındaki sıkıştırma modülü büyük farklılıklar gösterir. Süperfisyel, derin tabaka, mineralize kıkırdak ve subkondral kemiğe ait elastik modülleri sırasıyla, 0,079, 2,1, 320 MPa ve 5,7 GPa'dır [10]. Osteokondral ara yüzey, mineralize kıkırdak ve ona bitişik subkondral kemik arasındaki etkileşimi ifade eder. Kollajen fiberler, yapısal olarak derin tabakadan mineralize tabakaya kadar uzanır. Mineralize kıkırdak bölgesindeki endokondral ossifikasyon (doku mineralizasyonu), kıkırdağın hayatı boyunca devam eder [6]. Mineralize kıkırdak, mekanik olarak üst kısmındaki tabakalara göre daha sağlam bir yapıya

sahipken, bu yapının mekanik dayanımı altındaki subkondral kemik tabakadan birkaç kat daha düşüktür [10]. Subkondral kemik, insanlarda 0.2-0.4 mm aralığında bir kalınlığa sahip katı kemik olarak tanımlanır. Subkondral kemik trabekülü çok fazla damarlanmıştır ve hem kendi hem de bitişiğindeki eklem kıkırdığı için gerekli besinlerin taşımını sağlar. Bu bölge, derin tabakada bulunan kollajen fibriller için bir bağlanma bölgesi görevi görür ve en önemli iki görevi eklem bölgesinin şeklini korumak ve dışarıdan gelecek streslerin emilimini sağlamaktır [11]. Kıkırdak, eklemlere bir miktar sıkıştırma mukavemeti kazandırsa da, subkondral kemik, kapladığı alanın büyüklüğü ve düşük elastik modülüyle eklem dayanımının büyük bir kısmını sağlamaktadır [1].

Subkondral kemiğin, osteokondral rahatsızlıkların patolojisinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir [11]. Ayrıca, bu bölgeye uygulanan dış strese bağlı olarak kemiğin yeniden modellenmesine de aktif bir şekilde katıldığı gösterilmiştir [12]. Radin ve diğerleri tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, tavşan dizine belirli miktarlarda yük uygulandığında, eklem kıkırdığında önce subkondral kemikte değişimlerin başladığı gözlemlenmiştir [13]. Dolayısıyla, subkondral kemikteki değişimlerin, osteokondral hasarların erken belirteci olduğu görülmüştür. Aynı zamanda, subkondral kemik miyelin kılıf içermeyen serbest sinir uçlarını yapısında bulundurduğundan, bu bölgenin ağrı üretiminin kaynağı olduğuna inanılmaktadır [14]. Osteokondral hasarlar sonucu eklem kıkırdığının kaybı, alt kısmındaki subkondral kemiği etkiler ve bu bölgeyi ağrıya neden olan birçok dış kuvvete karşı savunmasız bırakmış olur [15].

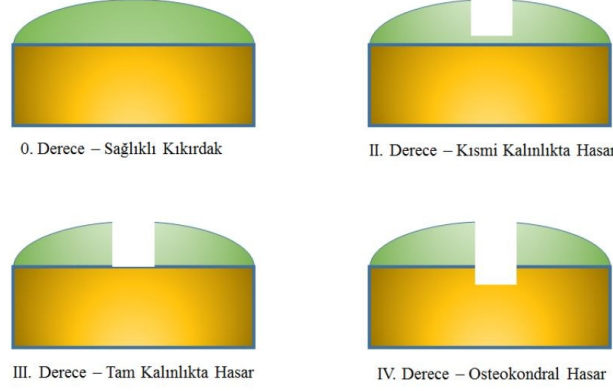
### Osteokondrol Hasarlar

Kıkırdak hasarları, hasarın çapına ve derinliğine bağlı olarak kategorize edilmekle birlikte, bu hasarların en kötüsü ve en maliyetlisi osteokondral hasarlardır. Osteokondral ara yüzey, mineralize kıkırdak tabakası ile subkondral kemik plakası arasında sürekli bir kollajen fiber yerleşimi ve varlığı bulunmadığından dolayı, kıkırdak tabakaları arasındaki en zayıf bölgedir. Yetişkin kıkırdak, olgunlaşmamış kıkırdak yapısıyla karşılaştırıldığında, damar içermeyen, ince ve apoptoz eğilimi yüksek bir yapıdır. Bu nedenle, yaş ilerledikçe bu bölgede hasar oluşma riski de yükselir. Bunlara ek olarak, menapoz, diyabet ve inflamasyonu önleyici tedavilerin kıkırdak yapısını zayıflattığı ve kıkırdığı daha kırılabilir bir hale getirdiği çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir [3].



**Şekil 2.** Eklem kıkırdığında gerçekleşen (a) kısmi kalınlıkta ve (b) subkondral bölgeye kadar penetre etmiş tam kalınlıkta hasarların şematik gösterimi [16].

Çeşitli eklem kıkırdığı hasarları bulunmaktadır. Bunlardan, kıkırdak üzerinde en az zararlı olanı mikrokırıklardır (microfractures). Kıkırdak mikrokırıkları çıplak gözle görülemeyecek boyuttadır fakat karakteristik olarak süperfisyal bölgedeki GAG kaybını etkiler. Kıkırdak mikrokırıkları, eklem kıkırdığının incelmeye ve mineralize kıkırdak tabakasının kalınlaşmasına neden olur [3]. İkinci tür kıkırdak lezyonu ise kondral hasardır. Kondral hasarlar iki kısma ayrılır; kısmi kalınlıkta (partial thickness) ve tam kalınlıkta (full thickness) olanlar (Şekil 2). Kısmi kalınlıktaki kıkırdak hasarları sadece eklem kıkırdığındaki bir problemi belirtirken, tam kalınlıktaki kıkırdak hasarları subkondral bölgeye kadar ilerlemiş kıkırdak problemlerini ifade eder. Eğer hasar subkondral bölgeyi de içeriyorsa bu tür problemlere osteokondral hasar denmektedir.



Şekil 3. Outerbridge Kıkırdak Hasarları Sınıflandırma Sistemi

Kıkırdak lezyonları, bilimsel ve medikal amaçlarla farklı numaralandırma sistemleriyle sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırmalardan en yaygını, Şekil 3'te gösterilen “Outerbridge Sınıflandırma Sistemi”dir. Bu yöntemde, beş farklı numaralandırma bulunmaktadır. Outerbridge sistemine göre 0 Derece, sağlıklı kıkırdığı ifade eder. Birinci (I) Derece lezyonlar kıkırdığın şişmesi ve yumuşaması anlamına gelir. Klinikte en çok görülen II. Derece lezyon, çapı 1.5 cm'den küçük olan kısmi kalınlıkta kondral hasarı belirtir. Çapı 1.5 cm'den büyük tam kalınlıkta osteokondral hasar ise III. Derece olarak sınıflandırılır. Subkondral kemik de hasar gördüğü durumlar ise IV. Derece kıkırdak lezyonları olarak isimlendirilir. Outerbridge Sınıflandırma Sisteminin yanında, Noyes ve Stabler Yöntemi, Histolojik/Histokimyasal Sınıflandırma Sistemi ve aynı zamanda Uluslararası Osteoartrit Araştırma Kurumu ve Kıkırdak Histopatolojisi Değerlendirme Sistemi gibi farklı değerlendirme sistemleri de bulunmaktadır [1].

## Osteokondral Hasarların Tedavisi

Osteokondral hasarlar, klinikte kullanılan geleneksel yöntemler ya da ileri doku mühendisliği stratejileri kullanılarak tedavi edilebilir. Aşağıdaki bölümde, bu yöntemler kısaca açıklanmıştır.

### Klinik yöntemler

Klinik tedavi yöntemleri, osteokondral hasarları tedavi edebilme kapasitelerine göre sınıflandırılmaktadır. Geçici tedavi yöntemleri (palliative treatment methods) genellikle hasarlı kıkırdığın tamamen iyileşmesini sağlamazken, onarıcı tedavi yöntemleri (reparative treatment methods) ise hasarlı bölgeyi bazı biyolojik malzemeler kullanarak iyileştirir. Kıkırdak, kemik ve kıkırdak-kemik ara yüzeyinin kendine özgü yapısından dolayı en ideal yöntem olarak güçlendirici tedavi (restorative treatment) yaklaşımı ön plana çıkmaktadır.

### Geçici tedavi yöntemleri (palliative treatment methods)

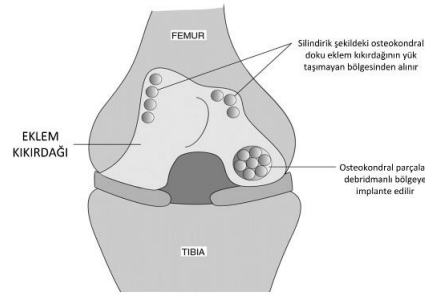
Uppmeier ve diğerlerine göre kıkırdak hasarlarını en az zararlı tedavi edebilen klinik yöntem artroskopik debridman uygulamasıdır [17]. Bu yöntemde, hasarlı kıkırdak ya da kemik bulunduğu bölgeden uzaklaştırılır fakat yöntemin en önemli dezavantajı ise uzaklaştırılan bölgeyi yenisiyle değiştirecek herhangi bir işlemin uygulanmaması olarak söylenebilir. Bu işlem sırasında, hasarlı bölgenin tüm debrisini yıkama ile uzaklaştırılır. Cerrahi olarak çok daha az işlem gerektirse de bu yöntemin büyük çaplı osteokondral hasarların tedavisinde çok faydalı olmadığı görülmüştür [18].

Artroskopik debridmana benzer diğer yöntemler artroplastide ve kondroplastide. Abrezyon artroplastide hasarlı bölgede pürüzlü bir yüzey oluşturulur, bu sayede kan buraya yapışır ve pıhtılaşmaya başlayarak bu bölgede fibröz kıkırdak gelişir. Fakat bu yöntemin dezavantajı ise subkondral bölgeye doğrudan ulaşılabilmesidir. Bu yöntem, debridman yönteminde olduğu gibi femur, tibia veya patella'sında  $0.0127 - 0.0254m^2$ 'den daha küçük çapta hasarları olan hastalara uygulanabilmektedir [1]. Kondroplastide ise kıkırdığın düzensizleşmiş köşelerini lazer veya radyo frekansı bazlı algılayıcı kullanarak tıraşlama ve o bölgeyi pürüzsüzleştirme temeline dayanır. Bu yöntem, III. Derece kıkırdak hasarlarının tedavisinde kullanılmaktadır, fakat işlem sırasında dokunun yüksek sıcaklıklara çıkmasıyla kondrositlerin ölüm riski bulunmaktadır [19].

### Onarıcı tedavi yöntemleri (reparative treatment methods)

Bir üst bölümde anlatılan yöntemlere göre daha fazla cerrahi işlem gerektiren yöntem mikrokırık (microfracture). Mikrokırık, kondral hasarların tedavisinde kullanılan ilk yöntemdir [20]. Mikrokırık veya subkondral delme işlemi esnasında, delme işlemi sayesinde subkondral bölge uyarılarak mezenkimal kök hücrelerin (MSC) hasarlı bölgeye göçü sağlanır [20, 21]. MSC'ler bu bölgedeki iyileşme sürecini başlatır ve fibröz kıkırdak oluşumuna öncülük eder. Mikrokırık yönteminin, operasyon sonrasındaki 18 ve 36 aylık süreçte faydasının azaldığı görülürken, diz bölgesine uygulanan bir diğer mikrokırık çalışmasında, operasyondan

6-7 yıl sonra diz fonksiyonlarında gelişme elde edildiği gösterilmiştir [22, 23]. Mikrokirik operasyonu sonrasında rehabilitasyon sürecine ihtiyaç duyulmaktadır ve genellikle bu yöntemle iyileşme kondroplasti gibi diğer yöntemlere göre çok daha uzun sürede gerçekleşmektedir [24]. Dolayısıyla, bu yöntem daha çok diğer yöntemlerle birleştirilmektedir.

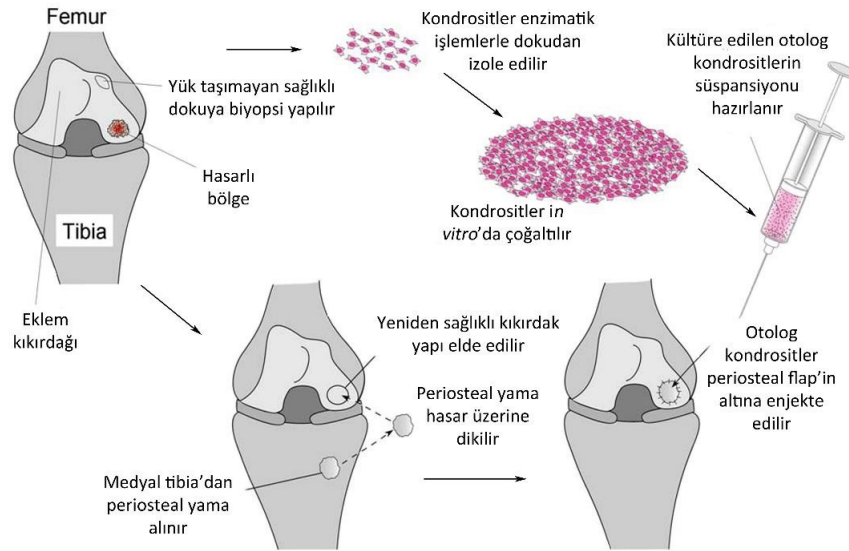


Şekil 4. Mozaikplasti yönteminin şematik gösterimi [16].

Kondral ve osteokondral hasarların tedavisinde kullanılan bir diğer onarıcı yöntem ise mikrokırığa göre daha fazla cerrahi işlem gerektiren allogreft (başka bir bireyden alınan yama malzemesi) ve otogreftlerin (hastanın kendisinden alınan yama malzemesi) kullanımınıdır. Her iki osteokondral greft çeşidi de fokal kıkırdak hasarlarının tedavisinde kullanılan mozaikplasti tekniğine uygulanabilmektedir. Mozaikplasti yöntemi ilk defa L. Hangody tarafından 1990'lar da geliştirilmiştir [25]. Bu yöntemde, daire şeklindeki osteokondral yamalar, ameliyat esnasında vericiden alınarak hasarlı bölgeye implante edilir (Şekil 4). Bu yöntemde, allogreftlerin hastalık yayma, bağışıklık reaksiyonu gibi önemli dezavantajları bulunmaktayken, otogreftler ise birden çok cerrahi işlem gerektirmesi ve yamanın alındığı bölgede kalıcı hasar oluşma gibi sıkıntılar içerir [26].

#### Güçlendirici tedavi yöntemleri (restorative treatment methods)

Şu anda kullanılan tek güçlendirici tedavi yöntemi otolog kondrosit implantasyonudur (ACI). Bu yöntem, ilk kullanılmaya başlandığı 1990'lı yıllardan beri birçok modifikasyon geçirmiştir [27]. Birinci jenerasyon ACI yönteminde, sıvı kondrosit çözeltisinin manipülasyon güçlüğü, periosteal dokunun çıkarılması ve kondrositlerin hasarlı bölgeden sızmasını önleyecek bir bariyer oluşturma zorunluluğu gibi yöntemi karmaşıklaştıran zorluklar bulunmaktaydı [28]. İkinci jenerasyon ACI yönteminde ise bu ilk jenerasyondaki sıkıntılar çözülmüş ve iki aşamalı çok daha kolay bir yöntem geliştirilmiştir. İkinci jenerasyon ACI yönteminin ilk aşamasında, artroskopik değerlendirme ve biyopsi işlemi gerçekleştirilir. Biyopsi malzemesi toplandıktan sonra kondrositler izole edilir, *in vitro*'da çoğaltılır. Kondrositler daha sonra hasarlı bölgeye ekilir ve periosteal flap ile çevrelenir (Şekil 5). Carticel R isimli ve FDA tarafından onaylı bir ticari ACI ürünü şu anda klinikte kullanılmaktadır.



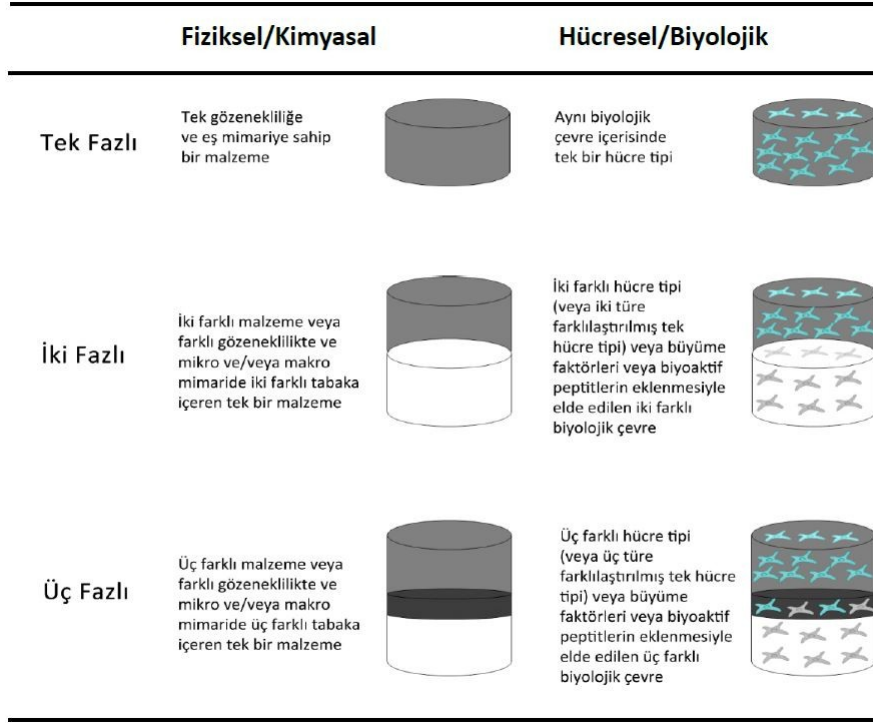
Şekil 5. Otolog kondrosit implantasyonunun (ACI) şematik gösterimi [16].

ACI'nın bir aşama geliştirilmiş formunda ise hastadan izole edilen ve çoğaltılan kondrositler sentetik bir matrisle birleştirilir ve bu yöntem matris-temelli kondrosit implantasyonu (MACI) olarak adlandırılır [29]. Bu yöntemde, biyobozunur matris içerisinde bulunan kondrositler periosteal flap kullanmadan hasarlı bölgeye impante edilir. Hyalograft R ticari adıyla bilinen hiyaluronik asit bazlı kıkırdak yaması klinikte kullanılmaktadır. Genellikle, ACI ve MACI yöntemleri, iki ayrı cerrahi işlem

ihtiyacı, göreceli olarak daha uzun sürede iyileşme ve implante edilen kondrositlerin uzun sürede olgunlaşması gibi kısıtlamaları içermektedir [30].

### Osteokondral doku mühendisliği yöntemleri

Diğer doku mühendisliği uygulamalarında olduğu gibi osteokondral doku mühendisliğinin temel bileşenleri; doku iskelesi, hücreler ve büyüme faktörleridir. Osteokondral doku mühendisliğinde kullanılan çeşitli doku iskeleleri, uygun hücre kaynakları ve büyüme faktörleri aşağıdaki bölümlerde detaylandırılmıştır.



Şekil 6. Çeşitli osteokondral doku iskelesi tasarım yaklaşımları [31](John Wiley & Sons yayınevinden izin alınmıştır).

Doku iskeleleri, mühendislik ürünü dokunun gelişimini ve yapısını etkileyebilmektedir. Dolayısıyla osteokondral doku mühendisliği prensibinde, sağlıklı bir doku iyileşmesini sağlayabilmek için doğal dokunun içerisinde bulunduğu *in vivo* kompleks yapıyı göz önünde bulundurmak gerekir. Osteokondral doku iskelesi tasarımları, yapılan çalışmanın amacına bağlı olarak, tek fazlı, iki fazlı veya çok fazlı olarak kategorize edilir (Şekil 6). Tek fazlı yaklaşımlarda, üretilen iskele tek bir malzemeden ya da bileşimi ya da yapısında herhangi bir değişim bulunmayan tek tür bir kompozitten oluşur. Hüresel veya biyolojik açıdan bakıldığında ise tek fazlı doku iskeleleri yapısında birden fazla farklı hücre bulundurmaz ve biyoaktif moleküllerin dağılımı yapı boyunca bir değişiklik göstermez. Diğer yandan, iki fazlı veya çok fazlı doku iskeleleri, çok tabakalı yapı elde etmek için iki veya daha fazla farklı malzemeden, kompozitten veya mimariden oluşur. Bu iskeleler, fiziksel özelliklerine bağlı olarak yapı içerisinde derinlik boyunca değişimler sağlanabilecek tek tür malzemeden de üretilmektedir. Ayrıca çok fazlı doku iskelelerinin farklı katmanlarına farklı türde hücrelerin ekimi veya farklı biyoaktif moleküllerin eklenmesi de mümkündür. Bazı osteokondral doku iskelesi uygulamalarında hala tek fazlı yaklaşım kullanılmasına rağmen, son yıllardaki çalışmalar çok fazlı tasarımlara kaymıştır. Çok fazlı doku mühendisliği yaklaşımlarının en önemli avantajı, kırık ve kemik gelişimine özgü fiziksel veya kimyasal bileşenler içermesidir.

Kırık ve kemik, birbirlerinden farklı yapı, mekanik ve biyokimyasal mikroçevrelere sahiptir ve osteokondral doku mühendisliğinde uygulanan yaklaşımlarda bu farklılıklar gözletilmediğinde hasarların iyileşmesi sınırlı kalmaktadır. Tüm bu farklı parametrelerin hepsini aynı anda yapısında bulunduracak doku iskelelerin üretimi çok zor olsa da, fonksiyonel osteokondral yapıların daha kısa sürede üretilmesinde doku farklılıklarını ön plana alan sistemlerin kullanımı gelecekte umut vaat etmektedir [31]. Osteokondral doku mühendisliğinde kullanılan farklı doku iskelesi yaklaşımları, büyüme faktörleri, hücreler ve doğru hücre seçimiyle ilgili bilgiler aşağıdaki bölümlerde anlatılmıştır.

#### Tek fazlı doku iskeleleri

Osteokondral hasarların tedavisinde doku mühendisliği yaklaşımı yıllardır kullanılmaktadır ve bu alandaki ilk tedavi yöntemi tek fazlı doku iskeleleriyle gerçekleştirilmiştir. Hidroksiapatit veya polikaprolakton ve poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi

polimerler tek fazlı iskeleler olarak osteokondral hasarların tedavisi için araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır [32, 33, 34]. Bu malzemelerin her biri, uygun bozunma hızı, mukavemet, gözeneklilik gibi özellikleri ayarlanacak şekilde üretilebilmektedir. Bu sayede elde edilen biyomalzeme, doku mikroçevresini taklit edebilmekte ve dokunun yeniden yapılanmasına yardım etmektedir. Tek fazlı doku iskelesi denildiğinde, kullanılan malzemenin bileşimi ve fiziksel ve kimyasal özellikleri doku iskelesi boyunca aynıdır. Ayrıca bu iskeleler, birden fazla malzemenin karışımından oluşabilmekte ve yapıya gözenekler boyunca bir jel fazı eklenebilmektedir [35]. Chu ve diğeri 1995 yılında, ticari olarak satılan poli-L-laktik asit (PLLA) küplerini kullanarak osteokondral bir doku iskelesi üretmişlerdir [33]. Bu doku iskelelerine, Yeni Zelanda beyaz taşınlarından izole edilen perikondrositler ekilmiştir. Bu çalışmada, üretilen doku iskelesinin etkinliği hem *in vitro* hem de *in vivo* deneylerle incelenmiştir. Histolojik boyamalar ve tip I ve II kollajen testleri uygulanarak çeşitli performans analizleri gerçekleştirilmiştir. *In vivo* implantasyon sonrası, hücreler tarafından üretilen kollajenin %81'i tip I ise de bu doku iskelesinin hücre yapışmasını ve perikondriyal hücrelerin yapı içerisindeki canlılıklarını desteklediği görülmüştür.

Malda ve diğeri tarafından yapılan bir diğeri çalışmada, sıkıştırarak kalıplama (compression molding) ve 3-boyutlu fiber birikimi (3D fiber deposition) gibi iki farklı doku iskelesi üretim yöntemi kullanılarak, farklı gözenek yapılarına sahip ve biyobozunur poli(etilen glikol) tereftalat/poli(bütilen tereftalat) (PEGT/PBT) doku iskeleleri üretilmiştir [36]. Sıkıştırarak kalıplama yöntemiyle üretilen doku iskelelerinin ortalama gözenek çapı 182  $\mu\text{m}$  iken 3-boyutlu fiber birikimi yöntemiyle üretilen doku iskelelerinin ortalama gözenek çapı 525  $\mu\text{m}$ 'dir. Bu iki iskele mekanik yönden analiz edilmiş, yapıları kondrosit ekilmiş ve 14 günlük kültür gerçekleştirilmiştir. Üç günlük *in vitro* kültürden sonra, sıkıştırarak kalıplama yöntemiyle üretilmiş doku iskelelerinde, 3-boyutlu fiber birikimi yöntemiyle üretilene göre iskele mg'si başına daha fazla DNA bulunmuş fakat 14 gün sonunda iskeleler arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Aynı zamanda, iskeleler arasında *in vitro* GAG üretimi açısından bir fark gözlenmemiş, fakat deri altı implantasyonu sonrasında 3-boyutlu fiber birikimi yöntemiyle üretilmiş doku iskelelerinde çok daha fazla GAG üretimi tespit edilmiştir. Ayrıca, 3-boyutlu fiber birikimi yöntemiyle üretilen doku iskeleleri mekanik olarak diğeri yöntemle üretilenlere göre daha iyi sonuçlar vermiştir.

Coburn ve diğeri tek fazlı doku iskelesi tasarımına farklı bir yaklaşım getirmişlerdir [37]. Yaptıkları çalışmada, düşük yoğunluğa sahip poli(vinil alkol)-metakrilat ve yapıya biyolojik etkinlik sağlayan kondroitin sülfat-metakrilat elektroçirilmiş nanofiber doku iskeleleri üretmişlerdir. İskelelerin üretimi, polimerlerin etanol banyosuna elektroçirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Üretilen bu doku iskeleleri ile daha sonra keçiden izole edilen mezenkimal kök hücrelerin *in vitro* kondrojenizi üzerine deneyler yapılmıştır. Kültür sonrasında, fiber doku iskelelerinin hiyalin kıvrıdağa benzer tipik özellikler gösterdiği ve mekanik olarak daha esnek yapıda oldukları görülmüştür. Hücrelerin, doku iskelelerinin iç kısımlarına kadar göç ettiği görülmüş ve yapılarında kıvrıdak benzeri doku oluşumu tespit edilmiştir. Pellet kültür ile karşılaştırıldığında, nanofiber doku iskeleleri, artan ECM üretimi ve kıvrıdağa özgü genlerin ifade seviyeleri ile mezenkimal kök hücrelerin kondrojenik farklılaşmasını artırmıştır. Hücre içermeyen nanofiber iskeleler, sıçanda oluşturulan osteokondral hasarın bulunduğu bölgeye implante edildiğinde, hasarlı bölgenin büyük oranda hücre-hücre dışı matris ile kaplandığı ve histolojik boyamalarla bu bölgede yüksek miktarda proteoglikan üretimi görülmüştür. Ayrıca, yapıya kondroitin sülfatın eklenmesiyle kıvrıdağa özgü kollajen olan tip II'nin *in vitro* ve *in vivo* sentezinde önemli oranda artış elde edildiği belirtilmiştir.

Diğeri bir tek fazlı çok tercih edilen doku iskelesi ise doku mühendisliği uygulamalarında sıklıkla kullanılan kollajen yapılarıdır. Zhou ve diğeri, dondurarak kurutma yöntemiyle kollajen (COL) ve kollajen/hidroksiapatitten (COL/HA) oluşan iki farklı doku iskelesi üretmişler ve bu iskelelere insan kökenli mezenkimal kök hücreler ekmişlerdir [38]. Bu hücrelerin her iki iskele üzerinde osteojenik ve kondrojenik farklılaşmaları, hematoksilen-eozin (H& E), Alcian mavisi, Alizarin kırmızısı ve 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür gibi çeşitli histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. Her iki iskele de ortalama 147  $\mu\text{m}$  gözenek çapındadır ve her iki iskele yüzeyinde de yüksek oranda fibroblast benzeri morfolojide hücre bulunduğu görülmüştür. İskeleler, bazal ortamın aksine kondrojenik ortamda kültüre edildiklerinde Alcian mavisi ve tip II kollajen yönünden pozitif boyama göstermiştir. Benzer sonuçlar, osteojenik ortamda Alizarin kırmızısı ve tip I kollajen ile de elde edilmiştir. Karşılaştırılmalı analizler sonucunda, COL doku iskelesinin kondrojenik ortamda ECM oluşumu yönünden daha iyi sonuçlar verdiği görülmüş, osteojenik ortamda ise hidroksiapatitin varlığına bağlı olarak COL/HA doku iskelelerinde daha iyi sonuçlar elde edilmiştir [38]. Yapılan çalışmalarda, tek fazlı doku iskelelerinin kondrosit ve kemik hücrelerinin yapışmasını ve çoğalmasını desteklediği gösterilmiş fakat bu iskelelerin osteokondral doku tedavisinde veya rejenerasyonunda fiziksel yapılarındaki eksikliklerden dolayı yeterli olmadıkları belirtilmiştir.

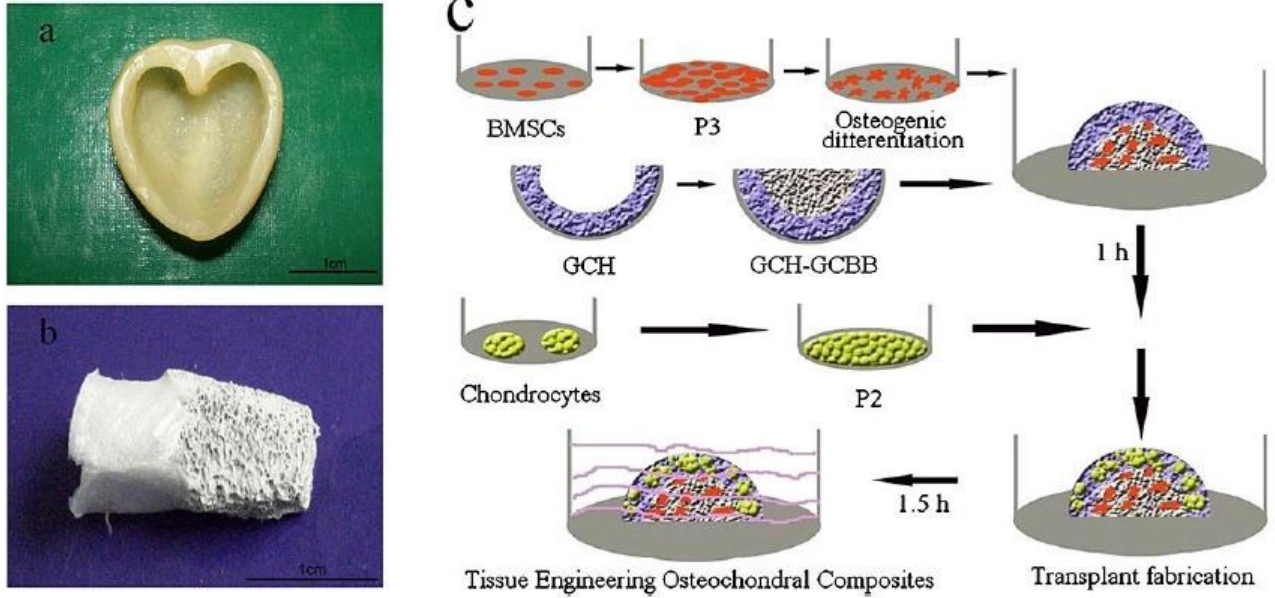
### İki-fazlı ve çok fazlı doku iskeleleri

Osteokondral hasarların yeniden yapılandırılmasında, iki veya çok fazlı doku iskelelerinin daha iyi sonuçlar vereceği düşünölmektedir. Bu yapıların üretiminde, kıvrıdak yapısına ve diğeri subkondral kemik/kemik fazına benzeyen iki farklı malzeme kullanılır. Ayrıca, iki farklı faz arasında geçiş görevi görebilecek bir ara fazın kullanılması da mümkündür [39]. İki farklı fazın birbiriyle bütönlüğü, *in vivo* koşullarda fazların ayrılma olasılığına karşı dikkate alınmalıdır.

Kollajen bu çalışmalarda da doku ECM'sinin en temel protein yapısı olması nedeniyle yoğunlukla kullanılan bir malzeme olarak karşımıza çıkmaktadır. Chen ve diğeri tarafından yapılan çalışmada, üst katmanı kollajen ve alt katmanı PLGA ve



kollajen süngerden oluşan bir osteokondral doku iskelesi üretilmiştir [40]. Çözücü döküm-partikül uzaklaştırma yöntemiyle elde edilen gözenekli PLGA iskele tip I kollajen çözeltisi içerisine daldırılmış ve daha sonra bu yapı üzerine kollajen asidik çözeltisi eklenerek katılaştırılmıştır. Kemik iliği kökenli MSC'ler (BMSC) kollajen-PLGA/kollajen iki-fazlı doku iskelesine ekilmiş, bir hafta *in vitro* kültür yapılmış ve iskeleler deney hayvanlarının femoral eklem bölgesine implante edilmiştir. İmplantasyon bölgesi incelendiğinde, iskele içeren hasarlı bölge yüzeyinin pürüzsüz olduğu ve doku iskelesinin çevresindeki dokuyla iyi bir entegrasyon sağladığı görülmüştür. İmplantasyondan 4 ay sonra yapılan histolojik boyamalar, kırık ve onun altındaki kemik benzeri yapıların oluştuğunu göstermiştir.



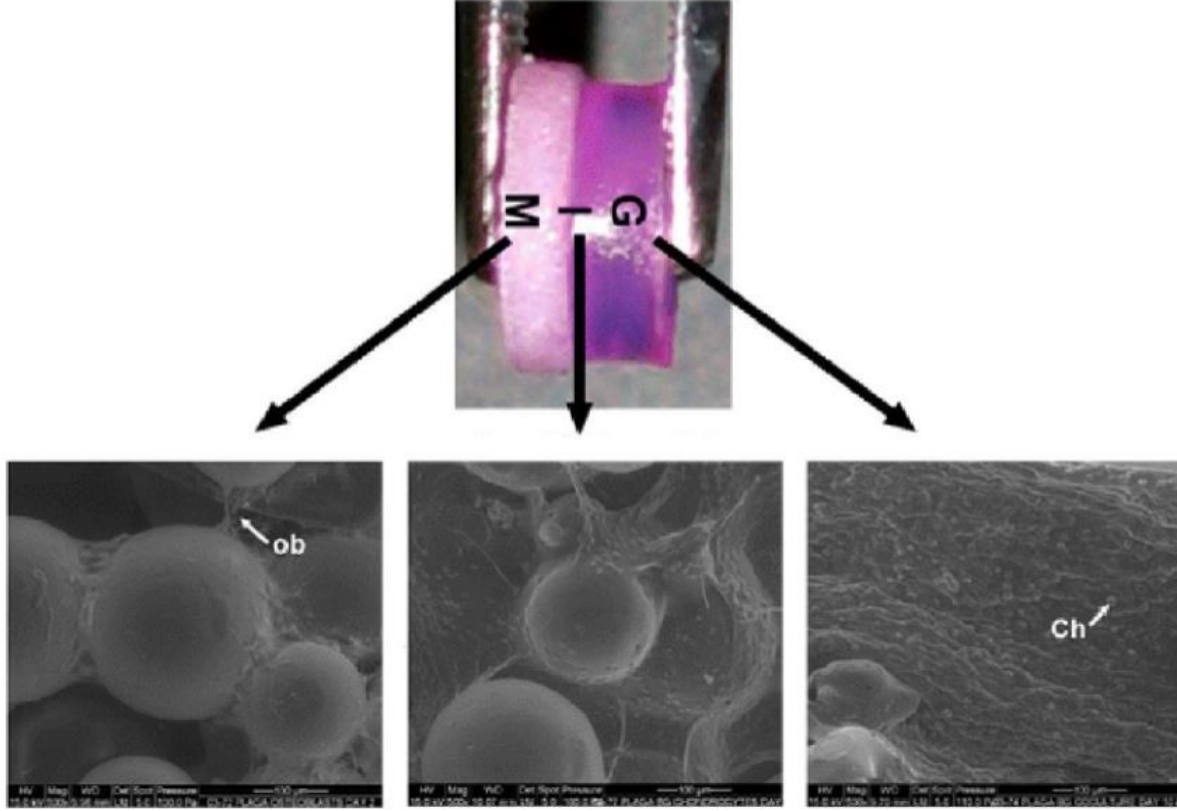
**Şekil 7.** (a) Distal femur hasarıyla aynı boyutta ve çapta polipropilen negatif kalıp, (b) hazırlanan doku iskelesi; sol, GCH tabakası; sağ, GCBB tabakası, (c) deneysel tasarım şeması [41]. P2 ikinci ve P3 ise üçüncü pasajdaki hücreleri ifade etmektedir (John Wiley&Sons yayınevinden izin alınmıştır).

Deng ve diğerleri tarafından bir fazlı jelatin, kondroitin sülfat ve sodyum hiyaluronattan (GCH) diğer fazı ise jelatin ve sıgır kemik seramiğinden (GCBB) oluşan iki fazlı bir doku iskelesi üretilmiştir (Şekil 7) [41]. Çalışmada kullanılan hücrelerden, tavşan kırıktağından izole edilen kondrositler kondrojenik ortamda ve BMSC'ler ise osteojenik ortamda 5 gün kültüre edilmiştir. Hücre içeren ve hücre içermeyen doku iskeleleri sonrasında Yeni Zelanda tavşanlarının sağ distal femur patellasında oluşturulan osteokondral hasarlara implante edilmiştir. H& E boyamalar düzgün bir kırık tabakasının oluştuğunu göstermiştir. İmplantasyon bölgesi incelendiğinde, kırık ve kemik tabakalarının sıkıştırma mukavemetleri sırasıyla  $5.86 \pm 0.77$  MPa ve  $13.44 \pm 0.89$  MPa olarak bulunmuş ve bu değerlerin doğal osteokondral dokunun sıkıştırma mukavemeti olan  $16.05 \pm 1.97$  MPa değerine çok yakın olduğu görülmüştür. Doku iskelesi incelendiğinde, hücre içeren doku iskelesi yüzeylerinde beyaz hiyalin kırık tabakasının ve aynı zamanda kırık ve kemik benzeri yapıların da olduğu belirlenmiştir. Hücre içermeyen doku iskelesinde ise oluşan kemik ve kırık bölgelerinin hücre içerene göre çok daha şeffaf olduğu ve immünohistokimyasal boyamalarda oluşan dokunun hiyalin kırık olmadığı gösterilmiştir.

Çok fazlı doku iskelesinin kullanıldığı bir çalışmada ise kırık bölgesi için çapraz bağlı kollajen-kitosan, kollajen jel ve sıgır kemik büyüme faktörü (bBMP), kemik bölgesi için kollajen ile modifiye edilmiş sıgır süngerimsi kemik ve iki fazlı birbirinden ayıran kollajen bir membran kullanılmıştır [42]. Adipoz kökenli kök hücreler, kollajen jel kullanılarak doku iskelesine ekilmiş ve daha sonra hücre içeren ve içermeyen bu iskeleler Yeni Zelanda beyaz tavşanlarında oluşturulan osteokondral hasarların bulunduğu bölgeye implante edilmiştir. On iki hafta sonunda, histolojik incelemeler, hücre içeren gruplarda osteokondral benzeri dokunun hasarlı bölgeyi tamamen doldurduğunu göstermiştir. Bu bulgular, osteokondral hasarların rejenerasyonunda çok fazlı ve hücre içeren sistemlerin etkinliğini ortaya koymaktadır.

Osteokondral hasarların tedavisinde kullanılmak üzere iki-fazlı doku iskeleler kullanılmakla beraber çok fazlı ve her fazında farklı hücre ve/veya hücre gruplarının ekildiği daha kompleks sistemler de bulunmaktadır. Jiang ve diğerleri agaroz hidrojel, PLGA ve 45S5 biyoaktif camdan (BG) oluşan 3 fazlı doku iskelesi üretmişlerdir (Şekil 8) [39]. Bu fazlar, kırık için kondrosit içeren agaroz hidrojel, kondrosit içeren agaroz hidrojel-PLGA mikroküre ara yüzey ve kemik bölgesi için osteoblast içeren PLGA-BG mikroküre doku iskelesinden oluşmaktadır. Üç fazlı doku iskelesi üzerinde gerçekleştirilen kondrosit-osteoblast ikili kültür (co-culture) sonucunda, kırık bölgesinde bulunan kondrositlerin küresel morfolojide olduğu, ara yüzeyde ise

hem küresel hem de uzamış kondrositlerin bulunduğu ve kemik bölgesindeki hücrelerin ise yayılmış osteoblast-benzeri yapıda oldukları görülmüştür. Her üç bölgedeki hücrelerin de kültür boyunca canlılıklarını korudukları görülmüştür. Her iki bölge için kıkırdak ve kemik yapıya özgü analizler gerçekleştirilmiştir. Kıkırdak tabakasında kültür boyunca kollajen ve GAG üretimi devam etmiştir. Kemik bölgesinde ise mineralizasyonun varlığı Alizarin kırmızısı boyamasıyla gösterilmiştir.

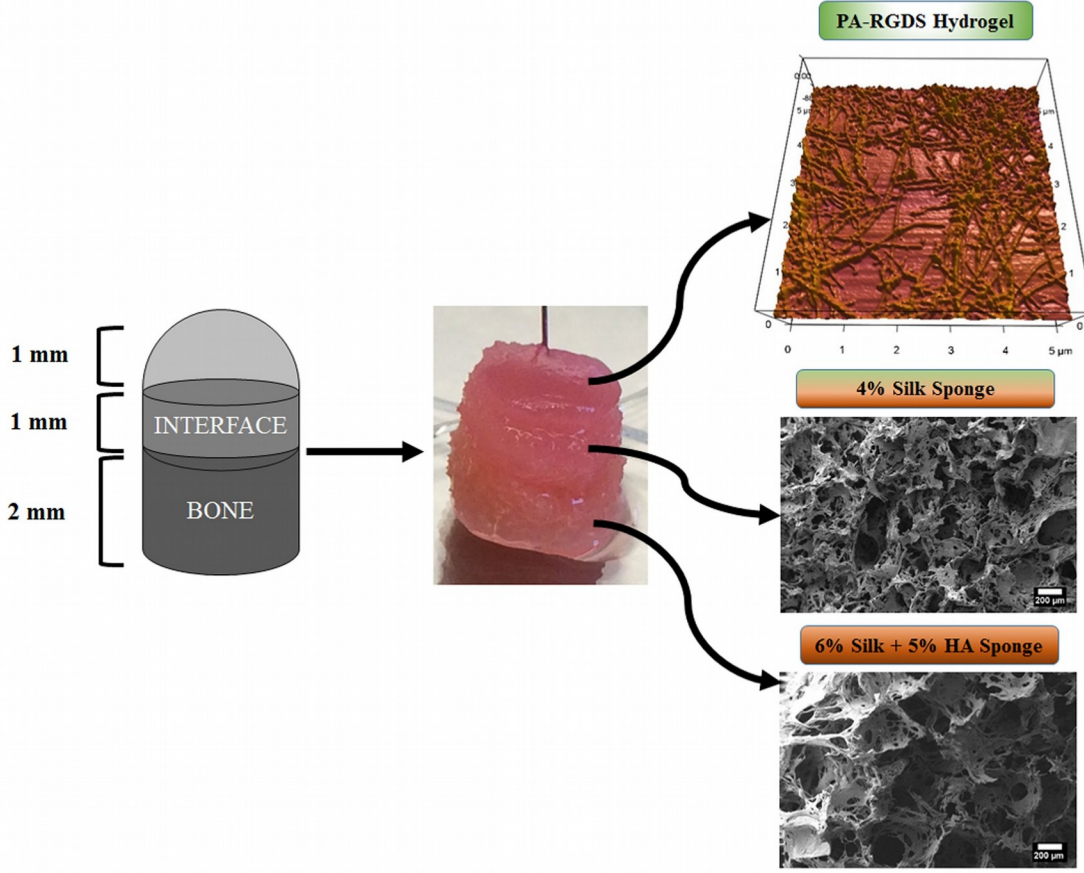


**Şekil 8.** Çok-fazlı doku iskelesinin genel görünümü. (G) hidrojel, (I) hidrojel + mikroküre ara yüzey ve (M) kemik bölgesi [39] (Springer Nature yayınevinden izin alınmıştır).

Çakmak ve diğerleri tarafından geliştirilen çok fazlı bir osteokondral doku iskelesi üzerinde, kondrosit ve hBMSC ikili kültürleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 9). Bu çok katmanlı doku iskelesinde, kemik ve ara yüzey bölgeleri için farklı gözenek çapına ve mekanik özelliklere sahip ipek doku iskelesi, kıkırdak bölgesi için ise yapısında hücre yapısı, strüktür sekans arjinin-glisin-aspartik asit-serin (RGDS) bulunduran peptit amfilif hidrojel kullanılmıştır. Özellikle ikili kültür ortamında kondrositlerin bulunmasının, hBMSC'lerin osteojenik farklılaşmasını anlamlı bir şekilde artırdığı görülmüş ve geliştirilen bu sistemin osteokondral doku mühendisliği çalışmaları için bir model oluşturabileceği gösterilmiştir. Klinik uygulama aşamasında ve/veya ticari olarak kullanılmaya başlanmış çeşitli ürünler bulunmaktadır. Bu ürünler genellikle doku mühendisliği yaklaşımlarıyla üretilmiş ve cerrahi yöntemlerle birleştirilmiştir [44].

### Osteokondral Doku Mühendisliğinde Kullanılan Büyüme Faktörleri

Kemik ve kıkırdak hasarlarının tedavisinde kullanılan doku iskeleleri genellikle tek başlarına yeterli desteği sağlayamayabilir. Çalışmalarda kullanılan hücreler, subkondral kemik bölgesine kadar göç etseler bile bu bölgede beklenen aksine hyalin kıkırdak yerine fibröz kıkırdak oluşumu gözlemlenebilir. Bu iki kıkırdağın birbirlerinden çok farklı olduğu göz önüne alındığında, hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını belirli yönde uyuracak ve hızlandıracak çeşitli büyüme faktörlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Vücut içerisinde bir osteokondral hasar oluştuğunda doğal yollardan büyüme faktörleri salgılanır ancak aynı büyüme faktörlerinin, doku mühendisliği uygulamalarında benzer işlevi sağlaması için çok yüksek derişimlerde kullanılması gerekmektedir (Athanasίου ve diğerleri, 2009). Büyüme faktörleri, *in vitro* ve *in vivo* deneylerde çeşitli yönlerden sıklıkla kullanılmaktadır. İstenilen dokuların rejenerasyonu ve tedavisinde, büyüme faktörleri farklı miktarlarda ve yöntemlerle çeşitli sistemlere eklenmektedir. Ancak istenilen sonuçların elde edilebilmesi için uygun büyüme faktörünün seçimi çok önemlidir.



**Şekil 9.** Osteokondral doku mühendisliği uygulamaları için model olarak geliştirilen çok fazlı doku iskelesi [43] (John Wiley & Sons yayınevinden izin alınmıştır).

Büyüme faktörleri, osteokondral hasarların tedavisinde birçok şekilde kullanılabilir. Angele ve diğerleri tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, hiyaluronan ve jelatinden oluşan kompozit bir doku iskelesi kullanılmıştır [45]. BMSC'ler, transforme edici büyüme faktörü- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) içeren kondrojenik ortam içerisinde süspansiyon edilmiş ve doku iskelelerine ekilmiştir. Çeşitli zamanlarda gerçekleştirilen histoloji sonuçlarına göre, hücre içeren doku iskelelerinde tip II kollajenle gösterilen ECM üretimi görülmüştür. TGF- $\beta 1$  varlığında 14 gün kültüre edilen doku iskeleleri, farelere implante edilmiş ve *in vitro* çalışmadakilere benzer umut vaat edici sonuçlar elde edilmiştir.

Büyüme faktörlerinin doğrudan kültür ortamına eklendiği çalışmaların yanında, bunların etkinliğini artırmak ve hızlı yarılanma ömürleri gibi kısıtlamalarını azaltmak için çeşitli yollarla doku iskelelerine yüklendiği çalışmalar da bulunmaktadır. Wang ve diğerleri kemik büyüme faktörü-2 (BMP-2) içeren PLGA doku iskelesi ve insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) içeren ipek doku iskeleleri kullanarak çeşitli *in vitro* çalışmalar gerçekleştirmişlerdir [46]. Her iki büyüme faktörü de doku iskelesi üretim aşamasında yapılar eklenmiştir. Bu çalışmada, BMP-2 içeren PLGA, IGF-I içeren PLGA, BMP-2 içeren ipek ve IGF-I içeren ipek olmak üzere dört farklı deney grubu oluşturulmuş ve doku iskeleleri üzerinde insan BMSC'lerin (hBMSC) osteojenik ve kondrojenik farklılaşmaları incelenmiştir. IGF-I içeren PLGA doku iskelelerinde kemik siyaloprotein (BSP) gen ifadesi diğerlerine göre 10 kat fazlayken, en iyi osteojenik farklılaşma BMP-2 içeren ipek doku iskelelerinde görülmüştür. Tip II kollajen gen ifadesine bakıldığında ise hBMSC'lerin kondrojenik farklılaşması, hem BMP-2 hem de IGF-I tarafından uyarılmıştır. Tüm bu sonuçlar çeşitli büyüme faktörlerinin, osteokondral hasarların tedavisinde gerekli olduğunu göstermektedir.

Osteokondral doku mühendisliğinde kullanılan diğer büyüme faktörleri ise BMP ailesinin diğer üyeleri (BMP-7 vs.), TGF- $\beta$  ailesinden TGF- $\beta 2$  ve TGF- $\beta 3$  ve trombositçe zengin plazma (PRP) olarak sıralanabilir.

## Osteokondral Doku Mühendisliğinde Kullanılan Hücreler Ve Hücre Seçimi

Osteokondral hasarların tedavisi için uygun hücre seçimi büyük önem taşımaktadır. İskelelere ekilen hücreler, doku iskelesinin çevresindeki doku ile etkileşim yolunu değiştirebilmekte ve bu da iyileşme sürecini etkilemektedir. Osteokondral tedavide genellikle iki tip hücre kullanılmaktadır. Bunlar, progenitör yani öncül hücreler ve dokuya özgü hücreler olarak tanımlanabilir. Kök hücreler olarak bilinen öncül hücreler birçok farklı hücre tipine farklılaşabilme yeteneklerinden dolayı araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Dokuya özgü hücreler ise hasarlı bölge etrafında bulunan, kırıkta yeniden yapılandırılması için kondroblast ve kemik için osteoblast olarak adlandırılan hücrelerdir.

Kırıkta dokuya özgü hücreler olan kondrositler, *in vitro* osteokondral doku mühendisliği çalışmalarında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır [35, 47]. Birçok çalışmada da kondrositlerin kullanımıyla daha fonksiyonel kırıkta dokunun elde edildiği görülmüştür [48, 49]. Ancak, kondrositlerin vücutta sınırlı sayıda bulunması (toplam kırıkta hacminin %5'inden az) nedeniyle bu hücrelerin kullanımı deneysel çalışmalarda sıkıntı yaratabilmektedir. Kondrositlerin izolasyonu, bulunduğu kollajen matrisin kollajenaz enzimiyle parçalanmasını gerektirir. Bu işlem hücrelere çok zarar verir [50]. Ayrıca, bu hücreler kültür ve çoğaltma esnasında fenotiplerini kolay kaybeder [51].

Kondrositlerin dezavantajlarını gidermek amacıyla birçok araştırmacı çözüm arayışına girmiştir. Yonenega ve diğerleri tarafından yürütülen bir çalışmada, kondrosit izolasyonu ve kültürü ile ilgili sıkıntılara çözüm aranmıştır [52]. Kondrositlerin izolasyonunda kullanılan kollajenazın zararlarından dolayı, araştırmacılar öncelikle optimum kollajenaz derişimi ve inkübasyon süresini bulmak için çalışmışlardır. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ve apoptoz fotometrisi analizleri, kollajenaz derişiminin 24 saatlik inkübasyon için %0.15'e, 6 saat için %0.6'ya ve 4 saat için %1.2'ye düşürülebileceğini göstermiştir. Ayrıca, bu derişimlerle izole edilen hücreler, 1 haftalık kültür sonrasında maksimum sayıya ulaşmıştır. Tüm bu sonuçlar, hücre kazanımında 10 katlık artış elde edildiğini göstermiştir [52].

Sheehy ve diğerleri kondrositlerin proliferasyon yönünden, aynı koşullardaki MSC'lerden çok daha üstün özelliklere sahip olduklarını görmüşlerdir [53]. Domuzdan izole edilen kondrositler ve kemik iliği kökenli MSC'ler, kanallar içeren hidrojellere ekilmiş ve aynı koşullarda kültüre edilmiştir. Toplam 6 haftalık kültür sonunda, mekanik analizler, biyokimyasal ve histolojik boyamalar, kondrositleri içeren hidrojellerde MSC'lere göre çok daha fazla matris birikimine işaret etmiştir.

Kondrositlerin eldesi ve kullanımıyla ilgili yukarıda bahsedilen sorunlardan dolayı, çoğu araştırmacı progenitör hücre olan kök hücrelerle çalışmaya başlamıştır. Kök hücreler, vücudun birçok yerinde bulunur fakat çalışmaların çoğu mezenkimal kök hücrelerle gerçekleştirilmektedir. MSC'ler hızlı üremelerinden ve multipotent özelliklerinden dolayı osteokondral hasarların tedavisi için iyi bir hücre kaynağıdır. MSC'ler dokularda düşük yoğunlukta bulunmaktadır ve bu nedenle klinik uygulamalarda kullanılacak sayıya ulaşmak için laboratuvar ortamında çoğaltılmaları gerekir [54]. MSC'ler, osteokondral hasarların tedavisinde uygun fenotipin eldesi için osteojenik, kondrojenik veya osteokondral ikili kültür ortamında kültüre edilebilir. Ancak bu hücrelerin, *in vivo*'da bir hücre tipinden başka bir hücre tipine beklenmeyen farklılaşmaları görülebilmektedir [55]. Hücreler, tip II kollajen ve agregan gibi kırıkta özgü gen ve proteinleri ifade ederken, aynı zamanda hipertropik belirteçler olan tip X kollajen ve alkalın fosfataz gibi gen ve proteinleri de ifade edebilirler [56, 57].

## Kaynaklar

- [1] S. P. Nukavarapu and D. L. Dorcemus, "Osteochondral tissue engineering: current strategies and challenges," *Biotechnology advances*, vol. 31, no. 5, pp. 706–721, 2013.
- [2] B. Alberts, "Molecular biology of the cell: Reference edition. number v. 1 in molecular biology of the cell: Reference edition," 2008.
- [3] K. Athanasiou, C. Zhu, X. Wang, and C. Agrawal, "Effects of aging and dietary restriction on the structural integrity of rat articular cartilage," *Annals of biomedical engineering*, vol. 28, no. 2, pp. 143–149, 2000.
- [4] D. Eyre and J. Wu, "Collagen structure and cartilage matrix integrity." *The Journal of rheumatology. Supplement*, vol. 43, pp. 82–85, 1995.
- [5] T. Aigner, E. Reichenberger, W. Bertling, T. Kirsch, H. Stöss, and K. Von der Mark, "Type x collagen expression in osteoarthritic and rheumatoid articular cartilage," *Virchows Archiv B*, vol. 63, no. 1, p. 205, 1993.
- [6] P. J. Yang and J. S. Temenoff, "Engineering orthopedic tissue interfaces," *Tissue Engineering Part B: Reviews*, vol. 15, no. 2, pp. 127–141, 2009.
- [7] L. Fuentes-Mera, A. Camacho, N. K. Moncada-Saucedo, and V. Peña-Martínez, "Current applications of mesenchymal stem cells for cartilage tissue engineering," in *Mesenchymal Stem Cells-Isolation, Characterization and Applications*. InTech, 2017.

- [8] A. R. Poole, T. Kojima, T. Yasuda, F. Mwale, M. Kobayashi, and S. Laverty, "Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair," *Clinical Orthopaedics and Related Research*, vol. 391, pp. S26–S33, 2001.
- [9] R. M. Schinagl, D. Gurskis, A. C. Chen, and R. L. Sah, "Depth-dependent confined compression modulus of full-thickness bovine articular cartilage," *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 15, no. 4, pp. 499–506, 1997.
- [10] P. Mente and J. Lewis, "Elastic modulus of calcified cartilage is an order of magnitude less than that of subchondral bone," *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 12, no. 5, pp. 637–647, 1994.
- [11] C. E. Kawcak, C. W. McIlwraith, R. Norrdin, R. Park, and S. James, "The role of subchondral bone in joint disease: a review," *Equine veterinary journal*, vol. 33, no. 2, pp. 120–126, 2001.
- [12] R. R. Pool and D. M. Meagher, "Pathologic findings and pathogenesis of racetrack injuries," *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 6, no. 1, pp. 1–30, 1990.
- [13] E. L. Radin, R. B. Martin, D. B. Burr, B. Caterson, R. D. Boyd, and C. Goodwin, "Effects of mechanical loading on the tissues of the rabbit knee," *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 2, no. 3, pp. 221–234, 1984.
- [14] D. B. Burr, "Anatomy and physiology of the mineralized tissues: role in the pathogenesis of osteoarthritis," *Osteoarthritis and cartilage*, vol. 12, pp. 20–30, 2004.
- [15] K. Moisio, F. Eckstein, J. S. Chmiel, A. Guermazi, P. Prasad, O. Almagor, J. Song, D. Dunlop, M. Hudelmaier, A. Kothari *et al.*, "Denuded subchondral bone and knee pain in persons with knee osteoarthritis," *Arthritis & Rheumatology*, vol. 60, no. 12, pp. 3703–3710, 2009.
- [16] S. Redman, S. Oldfield, C. Archer *et al.*, "Current strategies for articular cartilage repair," *Eur Cell Mater*, vol. 9, no. 23-32, pp. 23–32, 2005.
- [17] H. Upmeier, B. Brüggjenjürgen, A. Weiler, C. Flamme, H. Laprell, and S. Willich, "Follow-up costs up to 5 years after conventional treatments in patients with cartilage lesions of the knee," *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, vol. 15, no. 3, pp. 249–257, 2007.
- [18] J. B. Moseley, K. O'malley, N. J. Petersen, T. J. Menke, B. A. Brody, D. H. Kuykendall, J. C. Hollingsworth, C. M. Ashton, and N. P. Wray, "A controlled trial of arthroscopic surgery for osteoarthritis of the knee," *New England Journal of Medicine*, vol. 347, no. 2, pp. 81–88, 2002.
- [19] S. Caffey, E. McPherson, B. Moore, T. Hedman, and C. T. Vangsness, "Effects of radiofrequency energy on human articular cartilage: an analysis of 5 systems," *The American journal of sports medicine*, vol. 33, no. 7, pp. 1035–1039, 2005.
- [20] J. R. Steadman, W. G. Rodkey, and J. J. Rodrigo, "Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects," *Clinical Orthopaedics and Related Research*, vol. 391, pp. S362–S369, 2001.
- [21] F. T. Blevins, J. R. Steadman, J. J. Rodrigo, and J. Silliman, "Treatment of articular cartilage defects in athletes: an analysis of functional outcome and lesion appearance," *Orthopedics*, vol. 21, no. 7, pp. 761–768, 1998.
- [22] J. D. Harris, R. H. Brophy, R. A. Siston, and D. C. Flanigan, "Treatment of chondral defects in the athlete's knee," *Arthroscopy*, vol. 26, no. 6, pp. 841–852, 2010.
- [23] J. R. Steadman, K. K. Briggs, J. J. Rodrigo, M. S. Kocher, T. J. Gill, and W. G. Rodkey, "Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up," *Arthroscopy*, vol. 19, no. 5, pp. 477–484, 2003.
- [24] G. Spahn, E. Kahl, T. Mückley, G. O. Hofmann, and H. M. Klinger, "Arthroscopic knee chondroplasty using a bipolar radiofrequency-based device compared to mechanical shaver: results of a prospective, randomized, controlled study," *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, vol. 16, no. 6, pp. 565–573, 2008.
- [25] L. Hangody and Z. Karpati, "New possibilities in the management of severe circumscribed cartilage damage in the knee," *Magyar traumatologia, ortopedia, kezsebeszet, plasztikai sebeszet*, vol. 37, no. 3, pp. 237–243, 1994.
- [26] R. Haene, E. Qamirani, R. A. Story, E. Pinsker, and T. R. Daniels, "Intermediate outcomes of fresh talar osteochondral allografts for treatment of large osteochondral lesions of the talus," *JBJS*, vol. 94, no. 12, pp. 1105–1110, 2012.
- [27] M. Brittberg, A. Lindahl, A. Nilsson, C. Ohlsson, O. Isaksson, and L. Peterson, "Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation," *New england journal of medicine*, vol. 331, no. 14, pp. 889–895, 1994.
- [28] A. Gobbi, E. Kon, M. Berruto, R. Francisco, G. Filardo, and M. Marcacci, "Patellofemoral full-thickness chondral defects treated with hyalograft-c: a clinical, arthroscopic, and histologic review," *The American journal of sports medicine*, vol. 34, no. 11, pp. 1763–1773, 2006.

- [29] E. Kon, P. Verdonk, V. Condello, M. Delcogliano, A. Dhollander, G. Filardo, E. Pignotti, and M. Marcacci, “Matrix-assisted autologous chondrocyte transplantation for the repair of cartilage defects of the knee: systematic clinical data review and study quality analysis,” *The American journal of sports medicine*, vol. 37, no. 1\_suppl, pp. 156–166, 2009.
- [30] A. G. McNickle, M. T. Provencher, and B. J. Cole, “Overview of existing cartilage repair technology,” *Sports medicine and arthroscopy review*, vol. 16, no. 4, pp. 196–201, 2008.
- [31] J. E. Jeon, C. Vaquette, T. J. Klein, and D. W. Hutmacher, “Perspectives in multiphasic osteochondral tissue engineering,” *The Anatomical Record*, vol. 297, no. 1, pp. 26–35, 2014.
- [32] S. I. Jeong, E. K. Ko, J. Yum, C. H. Jung, Y. M. Lee, and H. Shin, “Nanofibrous poly (lactic acid)/hydroxyapatite composite scaffolds for guided tissue regeneration,” *Macromolecular bioscience*, vol. 8, no. 4, pp. 328–338, 2008.
- [33] C. R. Chu, R. D. Coutts, M. Yoshioka, F. L. Harwood, A. Z. Monosov, and D. Amiel, “Articular cartilage repair using allogeneic perichondrocyteseeded biodegradable porous polylactic acid (pla): A tissue-engineering study,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 29, no. 9, pp. 1147–1154, 1995.
- [34] G.-I. Im and J. H. Lee, “Repair of osteochondral defects with adipose stem cells and a dual growth factor-releasing scaffold in rabbits,” *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 92, no. 2, pp. 552–560, 2010.
- [35] N. T. Khanarian, N. M. Haney, R. A. Burga, and H. H. Lu, “A functional agarose-hydroxyapatite scaffold for osteochondral interface regeneration,” *Biomaterials*, vol. 33, no. 21, pp. 5247–5258, 2012.
- [36] J. Malda, T. Woodfield, F. Van Der Vloodt, C. Wilson, D. Martens, J. Tramper, C. Van Blitterswijk, and J. Riesle, “The effect of pegt/pbt scaffold architecture on the composition of tissue engineered cartilage,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 1, pp. 63–72, 2005.
- [37] J. M. Coburn, M. Gibson, S. Monagle, Z. Patterson, and J. H. Elisseeff, “Bioinspired nanofibers support chondrogenesis for articular cartilage repair,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 109, no. 25, pp. 10 012–10 017, 2012.
- [38] J. Zhou, C. Xu, G. Wu, X. Cao, L. Zhang, Z. Zhai, Z. Zheng, X. Chen, and Y. Wang, “*In vitro* generation of osteochondral differentiation of human marrow mesenchymal stem cells in novel collagen–hydroxyapatite layered scaffolds,” *Acta Biomaterialia*, vol. 7, no. 11, pp. 3999–4006, 2011.
- [39] J. Jiang, A. Tang, G. A. Ateshian, X. E. Guo, C. T. Hung, and H. H. Lu, “Bioactive stratified polymer ceramic-hydrogel scaffold for integrative osteochondral repair,” *Annals of biomedical engineering*, vol. 38, no. 6, pp. 2183–2196, 2010.
- [40] G. Chen, T. Sato, J. Tanaka, and T. Tateishi, “Preparation of a biphasic scaffold for osteochondral tissue engineering,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 26, no. 1, pp. 118–123, 2006.
- [41] T. Deng, J. Lv, J. Pang, B. Liu, and J. Ke, “Construction of tissue-engineered osteochondral composites and repair of large joint defects in rabbit,” *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, vol. 8, no. 7, pp. 546–556, 2014.
- [42] Z. Cao, S. Hou, D. Sun, X. Wang, and J. Tang, “Osteochondral regeneration by a bilayered construct in a cell-free or cell-based approach,” *Biotechnology letters*, vol. 34, no. 6, pp. 1151–1157, 2012.
- [43] S. Çakmak, A. S. Çakmak, D. L. Kaplan, and M. Gümüşderelioğlu, “A silk fibroin and peptide amphiphile-based co-culture model for osteochondral tissue engineering,” *Macromolecular bioscience*, vol. 16, no. 8, pp. 1212–1226, 2016.
- [44] K. Ye, C. Di Bella, D. E. Myers, and P. F. Choong, “The osteochondral dilemma: review of current management and future trends,” *ANZ journal of surgery*, vol. 84, no. 4, pp. 211–217, 2014.
- [45] P. Angele, R. Kujat, M. Nerlich, J. Yoo, V. Goldberg, and B. Johnstone, “Engineering of osteochondral tissue with bone marrow mesenchymal progenitor cells in a derivatized hyaluronan-gelatin composite sponge,” *Tissue Engineering*, vol. 5, no. 6, pp. 545–553, 1999.
- [46] X. Wang, E. Wenk, X. Zhang, L. Meinel, G. Vunjak-Novakovic, and D. L. Kaplan, “Growth factor gradients via microsphere delivery in biopolymer scaffolds for osteochondral tissue engineering,” *Journal of Controlled Release*, vol. 134, no. 2, pp. 81–90, 2009.
- [47] D. M. Yunos, Z. Ahmad, V. Salih, and A. Boccaccini, “Stratified scaffolds for osteochondral tissue engineering applications: electrospun pdlla nanofibre coated bioglass<sup>®</sup>-derived foams,” *Journal of biomaterials applications*, vol. 27, no. 5, pp. 537–551, 2013.
- [48] R. Mauck, X. Yuan, and R. Tuan, “Chondrogenic differentiation and functional maturation of bovine mesenchymal stem cells in long-term agarose culture,” *Osteoarthritis and cartilage*, vol. 14, no. 2, pp. 179–189, 2006.
- [49] T. Vinardell, S. Thorpe, C. Buckley, and D. Kelly, “Chondrogenesis and integration of mesenchymal stem cells within an *in vitro* cartilage defect repair model,” *Annals of biomedical engineering*, vol. 37, no. 12, p. 2556, 2009.

- [50] Y. Asawa, T. Ogasawara, T. Takahashi, H. Yamaoka, S. Nishizawa, K. Matsudaira, Y. Mori, T. Takato, and K. Hoshi, "Aptitude of auricular and nasoseptal chondrocytes cultured under a monolayer or three-dimensional condition for cartilage tissue engineering," *Tissue Engineering Part A*, vol. 15, no. 5, pp. 1109–1118, 2008.
- [51] E. M. Darling and K. A. Athanasiou, "Rapid phenotypic changes in passaged articular chondrocyte subpopulations," *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 23, no. 2, pp. 425–432, 2005.
- [52] K. Yonenaga, S. Nishizawa, Y. Fujihara, Y. Asawa, K. Sanshiro, S. Nagata, T. Takato, and K. Hoshi, "The optimal conditions of chondrocyte isolation and its seeding in the preparation for cartilage tissue engineering," *Tissue Engineering Part C: Methods*, vol. 16, no. 6, pp. 1461–1469, 2010.
- [53] E. J. Sheehy, C. T. Buckley, and D. J. Kelly, "Chondrocytes and bone marrow-derived mesenchymal stem cells undergoing chondrogenesis in agarose hydrogels of solid and channelled architectures respond differentially to dynamic culture conditions," *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, vol. 5, no. 9, pp. 747–758, 2011.
- [54] L. M. Ball, M. E. Bernardo, H. Roelofs, A. Lankester, A. Cometa, R. M. Egeler, F. Locatelli, and W. E. Fibbe, "Cotransplantation of ex vivo-expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haploidentical hematopoietic stem-cell transplantation," *Blood*, vol. 110, no. 7, pp. 2764–2767, 2007.
- [55] C. Csaki, P. Schneider, and M. Shakibaei, "Mesenchymal stem cells as a potential pool for cartilage tissue engineering," *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, vol. 190, no. 5, pp. 395–412, 2008.
- [56] B. Johnstone, T. M. Hering, A. I. Caplan, V. M. Goldberg, and J. U. Yoo, "In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells," *Experimental cell research*, vol. 238, no. 1, pp. 265–272, 1998.
- [57] G. Shen, "The role of type x collagen in facilitating and regulating endochondral ossification of articular cartilage," *Orthodontics & craniofacial research*, vol. 8, no. 1, pp. 11–17, 2005.

# Kanser Tanı ve Tedavisinde Manyetik Nanopartiküller

## Magnetic Nanoparticles In The Diagnosis And Treatment Of Cancer

Ali ERDOĞAN\*

### Özet

Son zamanlarda, geleneksel kanser tanı ve tedavisinin ortaya koyduğu yan etkileri azaltmak ya da ortadan kaldırmak için etkili yaklaşımlar bulmaya yönelik önemli çalışmalar yapılmıştır. Bu nedenle, manyetik nanopartiküller (MNP) benzersiz fiziksel özellikleri, manyetik duyarlılık, biyouyumluluk ve kararlılıklarından dolayı çok ilgi çekmiştir. Özellikle in vivo biyomedikal uygulamalarda kullanılacak manyetik nanomalzemeler; boyut, morfoloji, yüzey kimyası, biyobozunurluk ve isteğe bağlı spesifik hedefleme gibi özel kriterleri karşılamaya ihtiyaç duyar. Biyomedikal uygulamalar için, nanopartiküller en çok hipertermi, ilaç salımı ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) için kontrast ajanları olarak kullanılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Kanser, Manyetik Nanopartikül, Manyetik Rezonans Görüntüleme, Hipertermi, İlaç Salımı

### Abstract

Recently, significant studies have been carried out to find effective approaches to reduce or eliminate the side effects of traditional cancer diagnosis and treatment. In this context, magnetic nanoparticles (MNP) have attracted much attention due to their unique physical properties, magnetic susceptibility, biocompatibility and stability. Magnetic nanoparticles particularly to be used for in vivo biomedical applications need to fulfill special criteria such as size, morphology, surface chemistry, biodegradation, and specific targeting in biomedical applications, the nanoparticles are mostly used as contrast agents for hyperthermia, drug release and Magnetic Resonance Imaging (MRI).

**Keywords:** Cancer, Magnetic Nanoparticle, Magnetic Resonance Imaging, Hyperthermia, Drug Release

<sup>1</sup> İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Malatya, TÜRKİYE

\*Sorumlu Yazar: ali.erdogan@inonu.edu.tr

Manuscript received date: February 19, 2018

Accept Date: May 2, 2018

Published Date: June 01, 2018.

## Giriş

Kanser çağımızda tıbbi araştırmaların karşılaştığı en büyük sorunlardan biridir. Hastalığın mevcut tedavi seçenekleri sınırlıdır ve çoğu durumda, zamanında tanı ve tedavinin yapılamaması nedeniyle tedavisi zor bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Ayrıca cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi kanser tedavisi için kullanılan yöntemlerin zararlı yan etkileri vardır. Bu nedenle, çalışmaların çoğu kanserin tanı ve tedavisi için yeni yaklaşımlar bulmaya yönelmiştir.

MNP'ler, benzersiz fiziksel özellikleri ve hücresel ve moleküler düzeyde biyolojik etkileşim yeteneği nedeniyle, hipertermi tedavisi, ilaçların kontrollü salımı ve kanser hücrelerinin manyetik rezonansla görüntülenmesi gibi biyomedikal alanlarda kullanılacak potansiyele sahip nano boyuttaki malzemelerin önemli bir sınıfıdır. MNP'nin seçimi onların yüksek manyetik duyarlılığı, biyouyumluluk, kararlılık ve çeşitli hazırlama yöntemlerinin kullanılabilirliği ile ilişkilidir. Buna ek olarak MNP'ler bir dış manyetik alan uygulanması ile kolayca kontrol edilebilirler ki bu antikanser maddesinin belirli bir hızda ve belli bir bölgede salıverilmesini sağlar. Böylece geleneksel teşhis ve tedavideki sorunların üstesinden gelinir.

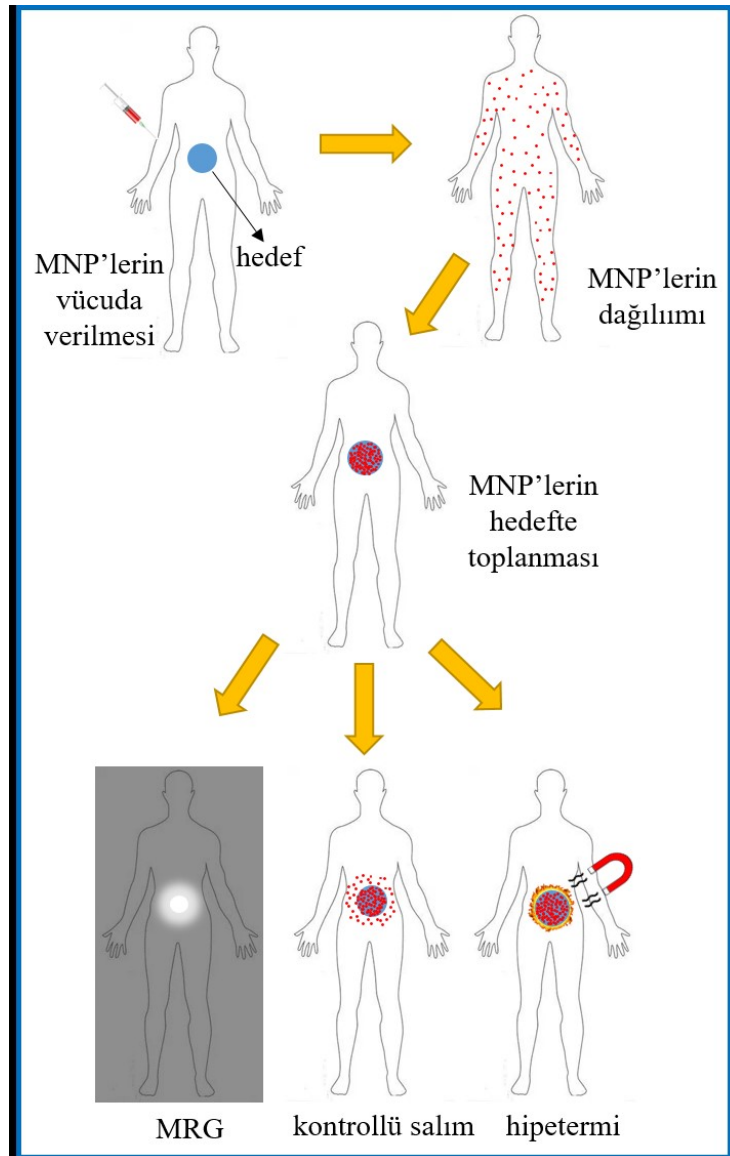


## Magnetic Nanoparticles In The Diagnosis And Treatment Of Cancer — 24/ 45

Bu malzemelerin nanoboyutu ve artan yüzey alanı/hacim oranının bir sonucu olarak araştırmacılar MNP'lerin yapı ve özellikleri arasındaki ilişkiyi çalışmaya odaklanmışlardır. Bileşim, boyut, morfoloji ve yüzey kimyası, hem manyetik özellikleri geliştirmek hem de in vivo olarak nanopartiküllerin istenilen davranışı göstermesi için çeşitli prosesler ile ayarlanabilir. Biyomedikal alanında MNP'lerin başarılı uygulamaları onların manyetik özelliğine yani dış bir manyetik alan uygulanmasıyla kontrollü dağılımına ve agregasyon derecesine özellikle bağlıdır. Bu nedenle, molekülün kararlılığının artırılması amacıyla ya sentez süresince ya da sentez sonrası biyoyumlu bir polimer kullanılarak MNP'lerin kaplanmasıyla yapılan kapsülleme işlemi, biyolojik sisteme maruz kalındığında agregat oluşumunu ve biyodegradasyonu engeller.

Gıda ve İlaç Yönetimi (Food and Drug Administration - FDA) tarafından onaylanan çeşitli polimerler MNP'lerin kaplanmasında kullanılmıştır. Polietilen glikol (PEG), polikaprolakton (PCL), polilaktik asit (PLA), polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA), dekstran ve kitosan bu polimerlere örnek verilebilir [1]. Dekstran ve karbonhidrat türevleriyle kaplanmış MNP'ler başarılı bir şekilde MRG kontrast ajanı olarak da kullanılmıştır. Bunlara klinik uygulamalarda kullanılmak için pazarlanan Ferridex®, Resovist® ve Combidex® örnek verilebilir [2]. Kontrast ajanı olarak MNP'ler tıbbi ve biyolojik teşhiste in vivo görüntüleme için kullanıldığında, görüntüleme tekniklerinin çözünürlüğünü geliştirmeye yardımcı olmaktadır.

Kanser hastalığında MNP'ler ilaç dağılım ve hipertermi gibi tedavi amaçlı da kullanılabilir. Manyetik ilaç dağılım sistemi, antikanser ilaç ile yüklenmiş MNP'leri ve bir dış manyetik alan kullanılarak tümör bölgesine taşınmasını temel alır. Hipertermi tedavisinde ise partiküller kanser hücrelerine hedeflenir, daha sonra uygulanan dış manyetik alanla tümörü ısıtmak mümkündür. Bunun yanında ısıtmaya bağlı olarak ilaç molekülünü salıveren MNP'leri, hipertermi temelli ilaç dağılımı için kullanmakta mümkündür. Şekil 1 kanser tedavisinde MNP'lerin uygulamalarını göstermektedir.



**Şekil 1.** Kanser tedavisinde MNP'lerin uygulamaları: teşhis (MRG) ve tedavi (hipertermi ve kontrollü salımı)

## Kanser Tanısında Manyetik Nanopartiküller

### Manyetik Rezonans Görüntüleme

MRG, vücudunuzun içindeki organ ve dokulara ait ayrıntılı görüntüler oluşturmak için manyetik alan ve radyo dalgaları kullanılarak uygulanan bir yöntemdir. MRG uygulaması genel olarak yaklaşık bir saat sürer. Uygulama sırasında hareketsiz durulmalıdır, aksi takdirde görüntülerin bulanık çıkması söz konusu olabilir. Bazı durumlarda, görüntülenmek istenen damarların, dokuların ve lezyonların görünümünü belirginleştirmek için damarlar içine kontrast ajanlar enjekte edilebilir.

MNP temelli MRG klinik tanı, biyomedikal görüntüleme ve tedavide güçlü bir non-invaziv araçtır. MNP'lerin dolaşım süresinin nasıl uzatılacağı ve organ, doku ve hücresele seviyelerdeki biyolojik bariyerlerin üstesinden nasıl geleceği önemlidir. Klinik olarak onaylanmış MNP'lere yeni hedefleme mekanizmalarının eklenmesi, hücresele ve moleküler seviyelerde hastalıkların erken teşhisini getirecektir.

Tümör ve sağlıklı dokular arasında yeterli görüntüleme kontrastı oluşturmak için yaygın olarak hedefleme mekanizmaları kullanılmaktadır. Tümör dokuları, hasar görmüş ve sızma yapan damarlardan kaynaklanan yüksek geçirgenlik ve alıkonma etkisinden dolayı sağlıklı dokulara göre daha fazla MNP tutabilir. Ayrıca polimer kaplı MNP'ler makroffajlarca zengin karaciğer, dalak, lenf nodülleri ve kemik iliği gibi Retikuloendotelial Sistem (RES) organları tarafından benimsenebilirler [3].

Hedefleme mekanizmaları sayesinde MNP'ler tümörlü dokuları normal dokulardan ayırt edebilirler. 2 tip hedefleme mekanizması mevcuttur. Bunlardan birincisi pasif hedeflemedir. Bu hedefleme tümör ve normal dokular arasındaki anatomik ve fizyolojik farklılıklara bağlı olarak yapılmaktadır. Örneğin, tümör dokuları genellikle düşük pH ortamına sahiptir ve MNP modifikasyonunda bundan faydalanılır. İkinci olarak aktif hedeflemede ise tümör hücresi yüzeyindeki spesifik işaretleri tanıması için MNP yüzeyine ligantlar konjuge edilir. Örneğin MNP yüzeyi tümör anjiyogenez işaretleyicisini (CD105 ve fosfatidil-serin) tanıyan peptit, antikor ve küçük moleküller veya tümör spesifik işaretleyiciler (HER2, EGFR, HSP70, MMP-9, CXCR4, MUC-1) ile modifiye edilebilir [4–8].

MNP'lere dayalı MRG kontrast ajanları genellikle dekstran veya karboksit dekstran kaplıdır. Polimer kaplama malzemeleri MNP'lerin vücutta dolaşım sürelerini ve biyolojik dağılımlarını belirlemede önemli rol oynamaktadır. Herhangi bir yüzey kaplaması olmaksızın, MNP'ler çözeltide kararlı kolloidal yapılar değildirler, aglomerat oluşturmaya ve hatta suda ve fizyolojik ortamda çökelmeye eğilim gösterirler. Hazırlama ve saklama sırasında, MNP'lerin kolloidal formdaki stabilitesi büyük önem taşır. Yüzey modifikasyonu, in vivo biyolojik dağılımını ve kan dolaşımını yarı ömrünü önemli derecede etkileyen kolloidal kararlılığı arttırmak için sıklıkla kullanılır.

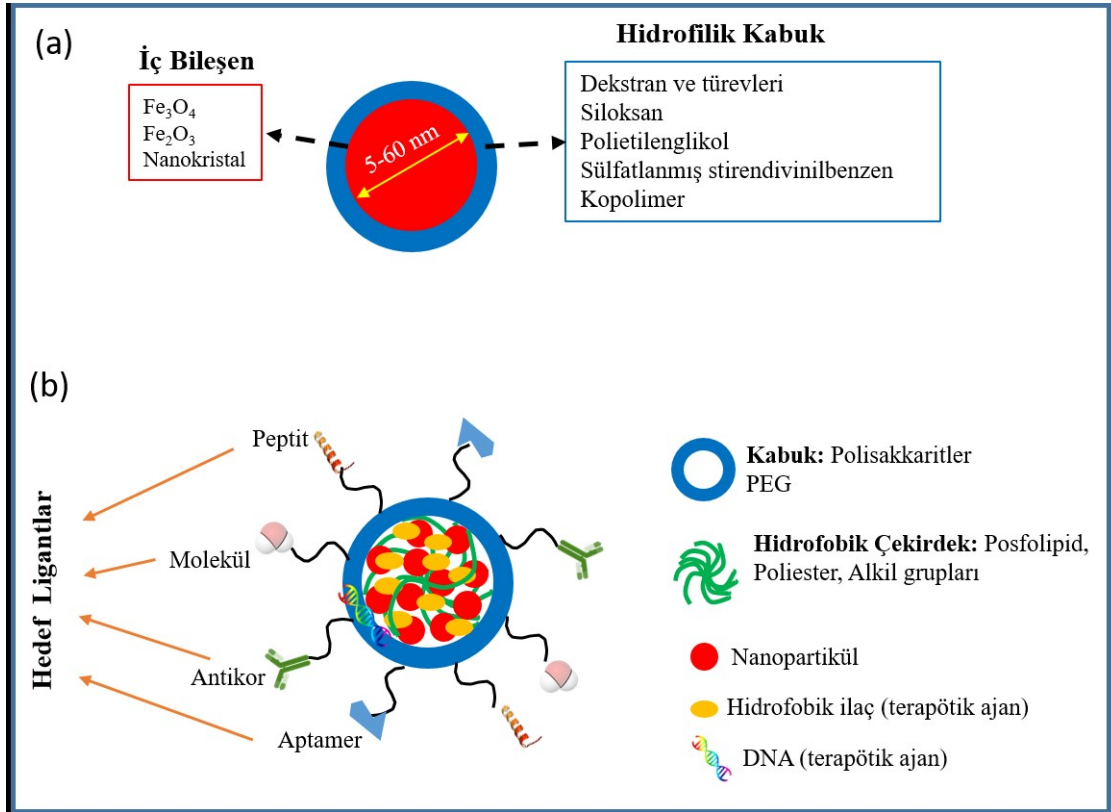
Günümüzde klinik olarak en çok onaylanan MNP'ler, inorganik olarak demir oksit çekirdekleri ve polimer olarak polisakarit (örneğin, dekstran ve türevleri), poli (etilen glikol) (PEG) gibi hidrofilik kaplama malzemelerinden oluşur (Şema 2a).

Görüntüleme ve tedavi uygulamaları için araştırmalarda kullanılan polimer bazlı MNP'ler şu kısımları içerir (Şema 2b):

1. MNP'yi içeren hidrofobik bir çekirdek
2. Hidrofilik polimer tabakası
3. Tedavide kullanılacak ilaç / gen yükü
4. Hedeflenen ligantlar

Uygun bir polimer seçimi esasen hedeflenen uygulamaya bağlıdır, bu polimerler iki kategoriye ayrılabilir: bunlar arasında jelatin, dekstran, kitosan gibi doğal polimerler ve PEG, poli (vinil alkol) (PVA), poli (vinil piroolidon) (PVP), poli (laktik-kolikolik asit) (PLGA), polietilenimin (PEI) gibi sentetik polimerler bulunur.

Kararlılık, biyoyumluluk ve kan yarılanma ömrü, polimer kaplı MNP'lerde aranan üç önemli özelliktir. Çoğu klinik MNP kontrast ajanları, iyi biyoyumlu ve biyobozunurluğa sahip doğal karbonhidrat polimerlerini temel almaktadır. Genellikle polimer kaplı MNP'ler iki sınıf biyolojik bariyeri geçmek zorundadır: biyolojik bariyerler (organ ve doku seviyesinde) ve hücresele engeller. Kan damarı ve endotel hücreleri arasındaki gözenek boşluklarının boyutu ve polimer kaplı MNP'nin boyutu çevredeki dokulara nanoparçacıkların taşınmasını etkiler. Genel bir kural olarak, intravenöz uygulama sonrasında, daha büyük polimer kaplı MNP'ler (> 1000 nm) karaciğer ve dalak tarafından daha çabuk tutulur ve bu da kan dolaşım süresinin kısılmasına neden olur; oysa küçük polimer kaplı MNP'ler (<8 nm) böbrekler yoluyla filtrelenir ve kan dolaşım süreleri uzundur. Klinik olarak onaylanmış polimer kaplı MNP'ler ise genelde RES organlarında (örn., Karaciğer, dalak, lenf nodu) biriken 10 ila 300 nm arasında büyüklüğe sahiptirler [9].



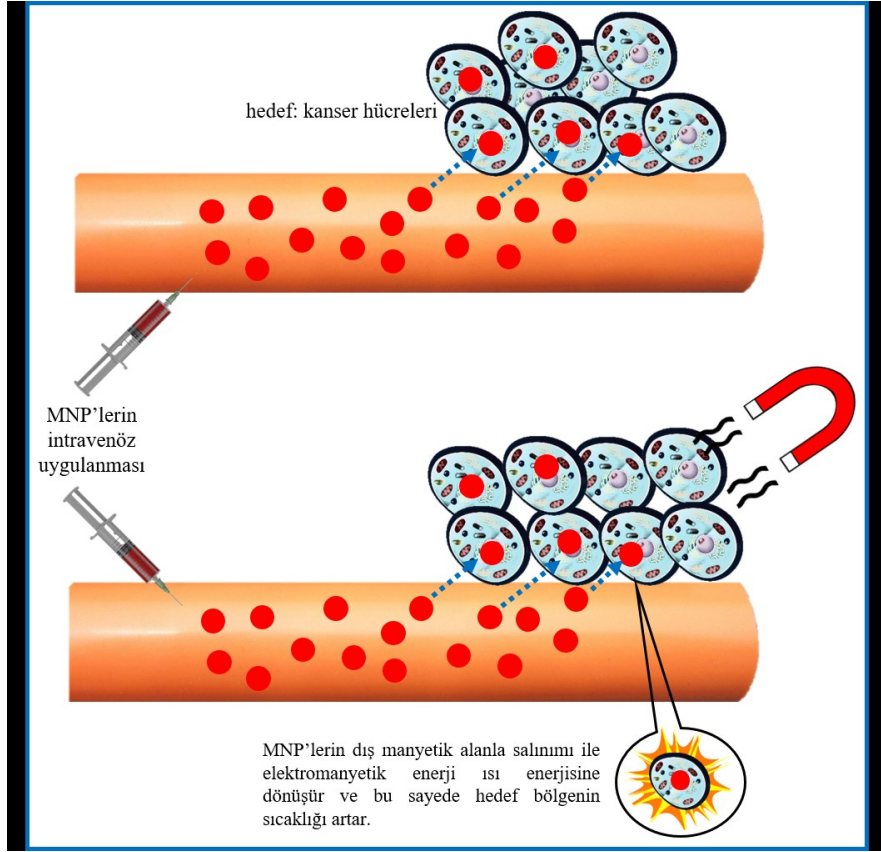
**Şekil 2.** Tıbbi görüntüleme ve tedavide kullanılacak polimer kaplı MNP'lerin şematik gösterimi. **a)** Klinik olarak onaylanmış demir oksit çekirdekleri ve biyouyumlu kaplamalar **b)** Hidrofilik kabuk ve hidrofobik çekirdeğe sahip misel yapısı. Görüntüleme ajanları ( $Fe_3O_4$ ) çekirdeğe hidrofobik olarak paketlenir ve bu çekirdek terapötik ilaç taşıyıcısı olarak kullanılır. Hedefleme ligandları hidrofilik yüzey üzerine bağlanabilir.

## Kanser Tedavisinde Manyetik Nanopartiküller

### Hipertermi

Hiperterminin etimolojik olarak kelime anlamı ısının oluşmasıdır. Bunun anlamı, iyileştirme amacıyla istenilen bir bölgede tedavinin bir parçası olarak ya da enfeksiyon kaynaklı ortaya çıkabilecek anormal yüksek vücut sıcaklığıdır. Kanser tedavisinde, doku, kanser hücrelerine zarar verebilecek ve öldürebilecek yüksek sıcaklıklara (41 – 47 oC aralığında) maruz kalır.

Kanser tedavisinde kullanılan hipertermi kavramı yeni değildir. Isı tedavisinin kanser tedavisindeki yararlı etkileri ilk olarak 19. yy'da gözlenmiştir. O dönemde kanserli hastalara canlı bakteriler verilerek enfeksiyonlar oluşturulmuş ve böylece vücut sıcaklığı artırılmıştır. Bunun sonucunda tümörlerde kısmi gerileme gözlenmiştir. 1970'lerde, kanser hücrelerinin, normal hücrelere kıyasla, hipertermiye (daha düşük apoptoz sıcaklıklarında 42-45 oC'de) daha fazla duyarlılık gösterdiği keşfedilmiştir. Hücre içi sıcaklığın artışıyla beraber kanserli hücrelerde apoptozun uyarılmasıyla elde edilen iyi sonuçlar yanında çevredeki sağlıklı dokularda bazı zararlı yan etkiler gözlenmiştir. Bu nedenle, araştırmacılar bu sıcaklık artışını kontrol eden yeni mekanizmalar bulmaya yönelmiştir. Manyetik sıvı hipertermi ile bu problemin çözümü mümkün olmuştur. MNP'ler, burada lokal uygulamalarda ısı mediatörü olarak kullanılmıştır. MSH, aktif (MNP yüzeyinde, kanser hücrelerinde bulunan yüzey reseptörlerine spesifik ligandların kullanılmasıyla) ya da pasif (MNP'lerin artırılmış geçirgenlik ve tutma etkisi) olarak tümörde biriken MNP'lerin koloidal süspansiyonunun enjeksiyonuna dayanır. Dış bir manyetik alanın etkisiyle, tümör hücrelerinde gezinen MNP'ler, elektromanyetik enerjiyi ısıya dönüştürerek lokal sıcaklığı artırır. Nanopartikülleri kullanmanın avantajı çevredeki sağlıklı dokunun ısınmasını önlemektir. Böylece sağlıklı dokular zarar görmez [10]. Şekil 3'de, manyetik hiperterminin şematik bir gösterimi verilmiştir.



**Şekil 3.** Manyetik hipertermi şematik gösterimi. MNP'ler kanser hücrelerini hedef alır ve tümörlerde birikir. Nanoparçacıklar dış bir manyetik alana maruz bırakıldığında, uygulanan alandan enerji absorblarlar. MNP'lerin titreşimi bu elektromanyetik enerjiyi ısı enerjisine dönüştürerek bu bölgedeki sıcaklığı artırır.

MNP'lerin kullanımı, geleneksel tedavi yöntemlerinden farklı olarak, kanser tedavisi için nispeten toksik olmayan bir yöntem olarak önerilir. Kanseri tedavi etmek için genellikle cerrahi, radyo terapi ve kemoterapi en çok kullanılan yaklaşımlardır. Bu yöntemler metastatik kanser tedavisinde başarılı olmasına rağmen, önemli yan etkileri (sağlıklı organlar ve hücreler de hasar oluşturma) bulunmaktadır.

Bu yan etkileri ortadan kaldıran manyetik hipertermi, yeni bir in vivo kanser tedavisi olarak yükselirken, geleneksel olanlara göre bazı avantajlar sağlar:

- parçacıkların küçük boyutlu olması, biyolojik bariyerden rahat geçmelerine izin verir.
- kapsüllenen MNP'ler üzerinde spesifik ajanların kullanımı ile hedeflenen özeliğe uygun şekilde modüle edilebilir.
- hipertermi tedavisinde kullanılan MNP'ler ayrıca MRG teşhis ajanı olarak kullanılabilir.
- manyetik hipertermi normal hücrelere zarar vermeden, bir ısı difüzyonu ile çok büyük sayıda tümör hücrelerini öldürür.

Mondol ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada hidroksiapatit kaplı demir oksit nanopartiküllerini sentezlemiş ve manyetik hipertermi ile kanser tedavisinde denemişlerdir [11]. Hidroksiapatit kaplı demir oksit nanopartiküllerle yapılan hipertermi çalışması MG-63 osteosarkom hücreleri üzerinde mükemmel hipertermik etki göstermiştir. 45 oC'lik in vitro hipertermi sıcaklığına 3 dakikada ulaşılmış ve 30 dakikalık maruz kalma süresinde hemen hemen tüm deneysel MG-63 osteosarkom hücreleri ölmüştür.

Huang ve Hainfeld tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmada skuamöz hücreli deri kanseri fare modelinde MNP kullanılmışlardır [12]. İyi tolere edilen intravenöz doz 1,9 mg Fe / g tümör olarak belirlenmiştir. Bu doz verildikten sonra harici bir manyetik alan uygulanarak tümörler 2 dakika 60 oC'lik sıcaklığa maruz bırakılmıştır. Tümörlü dokular hassas bir şekilde yok olurken çevredeki sağlıklı dokuların zarar görmediği tespit edilmiştir.

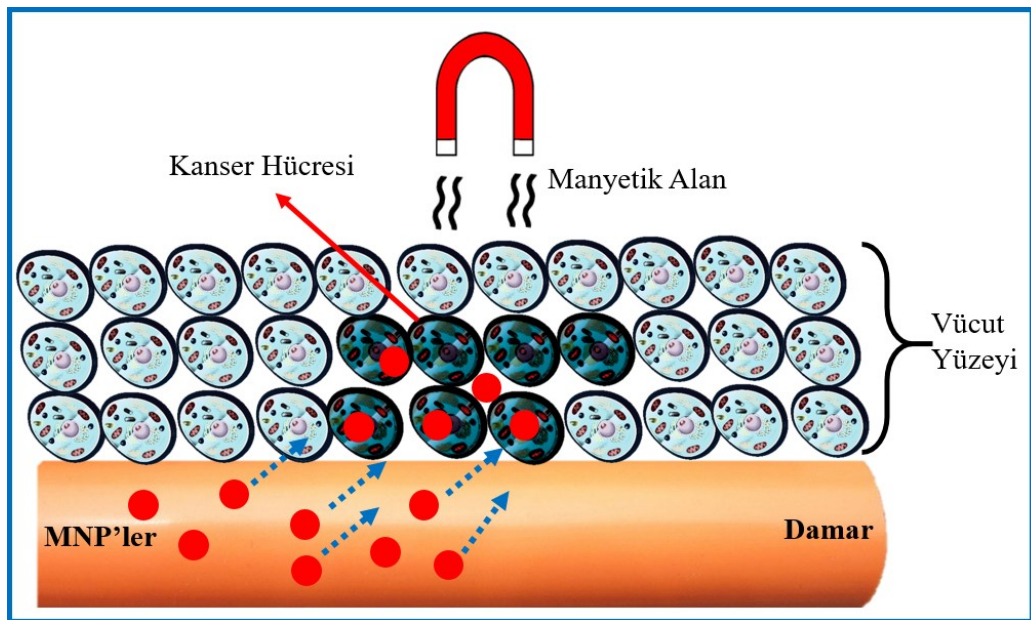
Basel ve arkadaşları 2012 yılında rapor ettikleri çalışmada demir/demir oksit nanoparçacıklarını sentezlemiş ve bunları tümör yerleşme hücreleri olan RAW264.7 hücrelerine (fare monosit/makrofaj benzeri hücreler) yüklemişlerdir. Bu MNP

inraperitoneal olarak enjekte edildiğinde diğer organlara sızmadan sadece pankreas tümörlerine sızmıştır. Enjeksiyondan 3 gün sonra fareler, nanoparçacıkların ısı üretmesi için 20 dakika süreyle dış bir manyetik alana maruz bırakılmışlardır. Elde edilen sonuçlar incelendikten sonra bu sistemin, pankreas ve diğer kanser türlerinde, hedefe yönelik hipertermi tedavisinde MNP kullanım potansiyelini kanıtlamıştır [13].

### İlaç Salınımı

Kontrollü ilaç salım sistemleri, modifiye salım sistemleridir. Kontrollü salım, belirli bir süre içinde önceden belirlenen bir hızda etkin madde salımının gerçekleşmesidir. Etkin madde salımı konvansiyonel dozaj şekillerine göre uzun bir süreçte devam etmektedir. Etkin madde bir depodan kontrollü bir hızda salınmaktadır.

Kemoterapi tedavisinde kullanılan ilaçlar kanserli hücelere spesifik olmadığından, hem kanserli hem de sağlıklı hücelere zarar verir. Bu sorunu aşmak için, MNP'ler terapötik maddeleri istenilen hedef bölgeye iletmede kullanılabilir ve dış bir manyetik alan kullanılarak bu parçacıklar ilaç salımı sırasında bu spesifik bölgede tutulabilir (Şekil 4). Üstelik MNP'lere dayalı kontrollü ilaç salımı sayesinde yan etkiler azalır ve doz aşımı önlenerek tedavi için gereken konsantrasyon aralığında ilaç seviyeleri sağlanmış olur.



Şekil 4. Manyetik ilaç salım sisteminin şematik gösterimi.

Manyetik ilaç salım sistemleri genellikle terapötik maddenin MNP yüzeyine bağlanması veya bir polimer ve MNP'leri içeren nanokompozit karışımı içinde kapsüllemesiyle oluşur. Bu yaklaşım, sitotoksik ilacı terapötik etkisini sağlayacağı kanser hücelere ulaşana kadar korur.

Polimer temelli manyetik ilaç salım taşıyıcıları, kapsüllenen anti-kanser ilacını, taşıyıcı partiküllerin parçalanmasıyla veya ortam şartlarına (sıcaklık veya pH) bağlı olarak serbest bırakabilirler. İlaçların etkisini en üst düzeye çıkarmak için, etken maddenin salınması uzun bir süre boyunca gerçekleşmelidir; böylece ilacın etkinliği artırılır ve hasta uyumluluğu en yükseğe çıkarılır.

İlerlemiş kanserlerde ardışık olarak birden fazla hedefi etkilemek için kullanılan bazı terapötik stratejiler de çalışılmıştır. Kumar ve arkadaşları (2015) meme kanseri hücelere iki sitotoksik ajanın (endokrin -tamoksifen ve kemoterapi-diosgenin kombinasyonu) ardışık salınması için yenilikçi bir kanser terapötik yaklaşımı geliştirmiştir [14].

İlaç iletimi üzerine manyetik nanoparçacıkların uygulanmasına odaklanan bir başka çalışma Shakeri-Zadeh ve arkadaşları (2015) tarafından bildirilmiştir [15]. Bu çalışmada 5-fluorourasil, manyetik polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) nanokapsüllere yüklenmiştir. Elde edilen sonuçlar, sentezlenen nanoparçacıkların kolon kanserine karşı mükemmel anti-tümör aktivitesi gösterdiğini ortaya koymuştur.

Hałupka-Bryl ve arkadaşları (2014) doksorubisin (DOX) içeren PEG'lenmiş demir oksit nanopartiküllerini sentezlemiş ve ilaç dağıtımında olası potansiyel bir ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilir olduğunu göstermişlerdir [16].

## Sonuç

Nanoteknolojideki gelişmelere paralel olarak, biyomedikal uygulamalarda spesifik hedeflemelerde kullanılacak çok fonksiyonlu nanomalzemeler ortaya çıkmıştır. Tıbbi araştırmalar, kanser hastalığına yönelik geleneksel tanı ve tedavi ile ilgili yan etkileri azaltmak için yeni stratejiler geliştirmektedir. MNP'ler fiziksel özellikleri, biyouyumlulukları ve düşük maliyetleri nedeniyle bu alanda büyük ilgi görmektedir. MNP'lerin bu özellikleri onların tanı (MRG) ve tedavide (hipertermi ve ilaç salımı) kullanılmasına olanak sağlar. Bu malzemeler dış bir manyetik alanla kanser bölgesine hedeflenebilmektedir. Bu çalışmada MNP'lerin in vivo uygulamaları özetlenmiştir.

## Kaynaklar

- [1] M. Filippousi, S. A. Papadimitriou, D. N. Bikiaris, E. Pavlidou, M. Angelakeris, D. Zamboulis, H. Tian, and G. Van Tendeloo, "Novel core-shell magnetic nanoparticles for taxol encapsulation in biodegradable and biocompatible block copolymers: Preparation, characterization and release properties," *International journal of pharmaceutics*, vol. 448, no. 1, pp. 221–230, 2013.
- [2] A. Singh and S. K. Sahoo, "Magnetic nanoparticles: a novel platform for cancer theranostics," *Drug discovery today*, vol. 19, no. 4, pp. 474–481, 2014.
- [3] S. Acharya and S. K. Sahoo, "Plga nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by epr effect," *Advanced drug delivery reviews*, vol. 63, no. 3, pp. 170–183, 2011.
- [4] R. Jin, B. Lin, D. Li, and H. Ai, "Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for mr imaging and therapy: design considerations and clinical applications," *Current opinion in pharmacology*, vol. 18, pp. 18–27, 2014.
- [5] D. Ling, W. Park, S.-j. Park, Y. Lu, K. S. Kim, M. J. Hackett, B. H. Kim, H. Yim, Y. S. Jeon, K. Na *et al.*, "Multifunctional tumor ph-sensitive self-assembled nanoparticles for bimodal imaging and treatment of resistant heterogeneous tumors," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 136, no. 15, pp. 5647–5655, 2014.
- [6] M. Muthiah, I.-K. Park, and C.-S. Cho, "Surface modification of iron oxide nanoparticles by biocompatible polymers for tissue imaging and targeting," *Biotechnology advances*, vol. 31, no. 8, pp. 1224–1236, 2013.
- [7] S. Zhang, M. Gong, D. Zhang, H. Yang, F. Gao, and L. Zou, "Thiol-peg-carboxyl-stabilized fe<sub>2</sub>o<sub>3</sub>/au nanoparticles targeted to cd105: Synthesis, characterization and application in mr imaging of tumor angiogenesis," *European journal of radiology*, vol. 83, no. 7, pp. 1190–1198, 2014.
- [8] L. Zhang, H. Zhou, O. Belzile, P. Thorpe, and D. Zhao, "Phosphatidylserine-targeted bimodal liposomal nanoparticles for in vivo imaging of breast cancer in mice," *Journal of Controlled Release*, vol. 183, pp. 114–123, 2014.
- [9] R. Weissleder, M. Nahrendorf, and M. J. Pittet, "Imaging macrophages with nanoparticles," *Nature materials*, vol. 13, no. 2, p. 125, 2014.
- [10] A. Hervault and N. T. K. Thanh, "Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer," *Nanoscale*, vol. 6, no. 20, pp. 11 553–11 573, 2014.
- [11] S. Mondal, P. Manivasagan, S. Bharathiraja, M. Santha Moorthy, V. T. Nguyen, H. H. Kim, S. Y. Nam, K. D. Lee, and J. Oh, "Hydroxyapatite coated iron oxide nanoparticles: A promising nanomaterial for magnetic hyperthermia cancer treatment," *Nanomaterials*, vol. 7, no. 12, p. 426, 2017.
- [12] H. S. Huang and J. F. Hainfeld, "Intravenous magnetic nanoparticle cancer hyperthermia," *International journal of nanomedicine*, vol. 8, p. 2521, 2013.
- [13] M. T. Basel, S. Balivada, H. Wang, T. B. Shrestha, G. M. Seo, M. Pyle, G. Abayaweera, R. Dani, O. B. Koper, M. Tamura *et al.*, "Cell-delivered magnetic nanoparticles caused hyperthermia-mediated increased survival in a murine pancreatic cancer model," *International journal of nanomedicine*, vol. 7, p. 297, 2012.
- [14] B. P. Kumar, N. Puvvada, S. Rajput, S. Sarkar, S. K. Das, L. Emdad, D. Sarkar, P. Venkatesan, I. Pal, G. Dey *et al.*, "Sequential release of drugs from hollow manganese ferrite nanocarriers for breast cancer therapy," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, no. 1, pp. 90–101, 2015.
- [15] A. Shakeri-Zadeh, S. Khoee, M.-B. Shiran, A. M. Sharifi, and S. Khoei, "Synergistic effects of magnetic drug targeting using a newly developed nanocapsule and tumor irradiation by ultrasound on ct26 tumors in balb/c mice," *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, no. 9, pp. 1879–1887, 2015.

Magnetic Nanoparticles In The Diagnosis And Treatment Of Cancer — 30/ 45

- [16] M. Hałupka-Bryl, K. Asai, S. Thangavel, M. Bednarowicz, R. Krzyminiewski, and Y. Nagasaki, “Synthesis and in vitro and in vivo evaluations of poly (ethylene glycol)-block-poly (4-vinylbenzylphosphonate) magnetic nanoparticles containing doxorubicin as a potential targeted drug delivery system,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 118, pp. 140–147, 2014.

# Betonarme Binalarda Deprem Derz Mesafesinin İncelenmesi

## Investigation of Earthquake Joint Pavement in Reinforced Concrete Buildings

Muhammet KARABULUT<sup>1</sup> , Murat Emre KARTAL<sup>2</sup> , Elif ÖZİL<sup>3</sup> , Rukiye ÜNLÜ<sup>4</sup> 

### Özet

Dünyamızda ve ülkemizde artan nüfus nedeni ile yeni yaşam alanları üretmeye ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle nüfusun devasa rakamlara ulaştığı şehirlerde yeni yapılar için çok fazla boş arsa kalmadığından yapılar yan yana veya bitişik nizam olarak inşa edilmektedir. Ancak yapıların birbirlerine çok yakın inşa edilmesinin tehlikeli yanları bulunmaktadır. Bitişik nizam yapıların yetersiz derz mesafelerinde deprem etkisi ile birbirlerine zarar verebilme durumu bu çalışmada incelenmiştir. Bitişik nizam yapılarda çekiçleme etkisini ortadan kaldırmak için derz mesafelerindeki değişimin binalarda ki yerdeğiştirme de dikkate alınarak bu çalışmada sunulmaktadır. Çalışmada dört ve altı katlı olmak üzere SAP2000 programı ile modellenen, iki tane betonarme bina için nümerik analizler lineer olarak yapılmıştır. Bu çalışmada İzmit depremi ivme verileri kullanılmıştır. Derz mesafelerine göre yapıların deprem altında salınımları irdelenerek zamanla meydana gelen yerdeğiştirmeler elde edilmiştir. Bu yerdeğiştirme sonuçları dikkate alınarak betonarme binalar için bırakılması gereken derz mesafeleri üzerine Türkiye Deprem Yönetmeliği de [1] dikkate alınarak önerilerde bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Deprem, Derz, Betonarme Bina, Bitişik nizam yapılar

### Abstract

Human being needs new living space because of increasing human population in our Country and also World. There are a lot of attached buildings, Especially, in big cities having huge population because of land shortage. But, if buildings are constructed very closely each other, this cause many hazardous effects. In this study, the damage effect of the attached buildings is examined because of the lack of construction joint under ground motion effects. We present the effect of the distance between the attached buildings because avoid from hammering and pounding effects considering structural deformations. Numerical linear analyses are carried out for two reinforced concrete (RC) buildings with four and six storeys by SAP2000 program. In the scope of this study, we used 1999 Izmit earthquake accelerograms. The horizontal deformations are obtained considering construction joint between two buildings under earthquake. According to this study, the size of construction joint is tried to determine considering Specification for Buildings to be Built in Seismic Zones [1] with obtained deformations.

**Keywords:** Earthquake, Construction joint, Reinforced concrete building, Attached buildings

<sup>1</sup>Bülent Ecevit Üniversitesi, İnşaat Mühendisliği Bölümü, Merkez, Zonguldak, TÜRKİYE

<sup>2</sup>İzmir Demokrasi Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Karabağlar, İzmir, TÜRKİYE

<sup>3</sup>DSİ 11. Bölge Müdürlüğü, Merkez, Edirne, TÜRKİYE

<sup>4</sup>Saraçoğlu Mimarlık-Mühendislik, Çatalca, İstanbul, TÜRKİYE

\*Sorumlu Yazar: karabulut@beun.edu.tr

Manuscript received date: January 04, 2018

Accept Date: May 11, 2018

Published Date: June 01, 2018.



## Giriş

Betonarme, Fransız çiftçi Joseph Louis LAMBOT'un beton ve donatıyı ilk kez birlikte kullanarak kano yapması ile kullanıma başlanmıştır. 1850'lili yıllarda kullanılmaya başlanan bu malzeme ile çeliğin ve betonun zayıf yönleri ortadan kaldırılarak daha kullanışlı bir malzeme üretilmiştir. Özellikle çeliğin yangına, rutubete dayanıksız olması kolay şekil verilememesi ve pahalı olması kullanım aşamasında dezavantajlar olarak düşünülürken betonarme ile bu zayıf yönler giderilmektedir. Aynı durum beton içinde söz konusu olup betonun zayıf yönleri de (çekmeye dayanıksız olması gibi) donatı ile birlikte kullanımı sayesinde ortadan kalkmaktadır. İlk beton şartnamesi Almanya'da 1904 yılında hazırlanmıştır [2]. Yaklaşık iki asırdır kullanılan betonarme tüm dünyada en yaygın ve en çok tercih edilen inşaat malzemesi olmuş ve şehirlerin şekillenmesinde ilk sırada gelmektedir. Türkiye de ki ilk betonarme yapı 1920 yılında inşa edilmiştir. Avrupa'da 1920-1940 yılları arasında beton şartnamelerinin iyileştirildiği ve geliştiği görülmektedir. Değişen ve gelişen yapı tasarım kuralları da bu süreç içerisinde bilim adamlarının ve mühendislerin çalışmaları ve deneyimleri sonucunda şartnamelere yönetmeliklere dönüşmüştür.

Bitişik nizam inşa edilecek betonarme yapılar için veya büyük bir alana inşa edilecek çok bloklu bir yapının tasarımı sırasında dikkate alınması gereken hususlardan biriside derz mesafesidir. Derz mesafesi, yapının blokları arasında veya bitişik nizam iki farklı betonarme yapının özellikle sismik hareketler sonucunda yapacakları salınımlardan birbirlerine hasar vermemeleri konusunda büyük öneme sahiptir. Bitişik nizam yapılarda ki bir diğer sorun ise kat döşemelerinin birbirinden farklı kotlarda olmasıdır. Bir binanın döşeme hizası diğer binada kolon boyunda bir yere denk gelmesidir. Özellikle deprem esnasında derz mesafesi yetersiz ise komşu binanın döşemesi yanıl hareket sonucunda diğer binanın kolonunu kırabilir. Ayrıca köşe bölgelerde yer alan binalarda risk daha fazladır çünkü salınım esnasında alacağı darbeler sonucunda binayı boş olan bölgede tutacak bir şey olmadığından köşe başı binaların yıkılma riski daha fazladır. Bu tür hasarların önenebilmesi için her bina tüm yönlerde rahatça hareket edebilmelidir. Binalar arasında bırakılan boşluklar deprem derzi olarak isimlendirilir. Genel olarak düşünürsek yan yana iki binanın deplasmanları ayrı ayrı hesaplanıp toplanırsa bize bırakılması gereken derz mesafesini verir. Bu derz mesafesi yapılan daha spesifik çalışmalar sonucunda yönetmelikte bize verilmektedir.

Betonarme yapılar için gereken derzler şöyle sıralanmaktadır:

- Genleşme (dilatasyon) derzleri: Rötne, sünme, sıcaklık değişmesi yüzünden oluşan boy değişimleri için bloklar arasına konan derzlerdir.
- Oturma derzleri: Temel zemini özelliklerinin veya yapı yüklerinin bütün alanda düzgün olmayışı yüzünden meydana gelecek farklı oturmaların ve dönmelerin engellenmesi için yapılan derzlerdir.
- Konstrüktif derzler: Statik hareketli yükler ve dinamik kuvvetlerden dolayı meydana gelecek deformasyonların bölgesel kalması için yapılan derzlerdir.
- Deprem derzleri: Yapıyı deprem etkisiyle kendi içinde az zararlı titreşim yapabilecek bölümlere ayıran derzlerdir.

### Bitişik Nizam Yapılarda Bırakılması Gereken Deprem Derzleri

Deprem Bölgelerinde Yapılacak Binalar Hakkında Yönetmelik'de [1] bu konuda ayrıca dikkat edilmesi gerekli olan hususlar vurgulanmıştır. Farklı zemin oturmalarına bağlı temel öteleme ve dönmeleri ile sıcaklık değişimlerinin etkisi dışında, bina blokları veya mevcut eski binalarla yeni yapılacak binalar arasında, sadece deprem etkisi için bırakılacak derz boşluklarına ilişkin koşullar aşağıda belirtilmiştir.

Etkin görelî kat ötelenmelerinin hesaplamasından ve ikinci mertebe etkilerden daha elverişsiz bir sonuç elde edilmedikçe derz boşlukları, her bir kat için komşu blok veya binalarda elde edilen yerdeğiştirmelerin karelerinin toplamının karekökü ile aşağıda tanımlanan  $\alpha$  katsayısının çarpımı sonucunda bulunan değerden az olmayacaktır. Göz önüne alınacak kat yerdeğiştirmeleri, kolon veya perdelerin bağlandığı düğüm noktalarında hesaplanan azaltılmış di yerdeğiştirmelerinin kat içindeki ortalamaları olacaktır. Mevcut eski bina için hesap yapılmasının mümkün olmaması durumunda eski binanın yerdeğiştirmeleri yeni bina için aynı katlarda hesaplanan değerlerden daha küçük alınmayacaktır.

1. Komşu binaların veya bina bloklarının kat döşemelerinin bütün katlarda aynı seviyede olmaları durumunda  $\alpha = R/4$  alınacaktır.
2. Komşu binaların veya bina bloklarının kat döşemelerinin, bazı katlarda olsa bile, farklı seviyelerde olmaları durumunda, tüm bina için  $\alpha = R/2$  alınacaktır.

Bırakılacak minimum derz boşluğu, 6m yüksekliğine kadar en az 30 mm olacak ve bu de gere 6m'den sonraki her 3m'lik yükseklik için en az 10 mm eklenecektir.

Bina blokları arasındaki derzler, depremde blokların bütün doğrultularda birbirinden bağımsız olarak çalışmasına olanak verecek şekilde düzenlenecektir [1].

Investigation of Earthquake Joint Pavement in Reinforced Concrete Buildings — 41/ 45

Teorik olarak; Şekil 1’de gösterildiği gibi bloklar arasındaki derz genişliği, her iki yapının en büyük yatay yerdeğiştirmelerinin toplamından büyük olmalıdır:

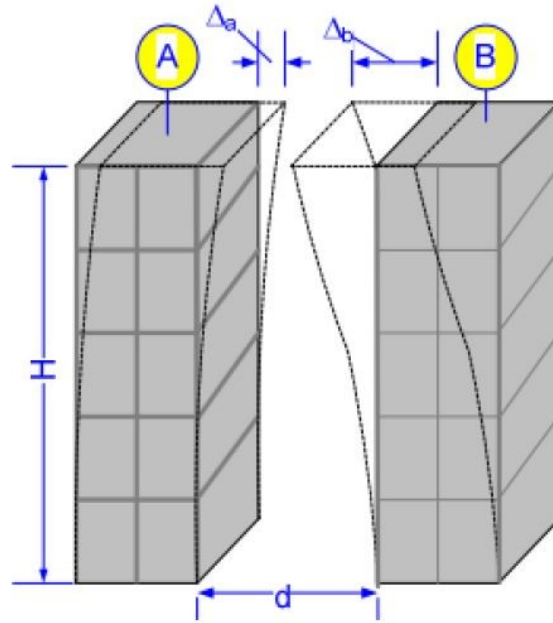
$$d > 4_a + 4_b \quad (1)$$

Yapılardan biri eski ise bu durumda genellikle yerdeğiştirmesi bilinemez. Bu durumda derz genişliği en az

$$d \geq 0.02 \times H(cm)/3 \quad (2)$$

alınması önerilir. Özellikle günümüzde yapılan yapılar çok katlı olduğundan 6m’den daha yüksek yapılar binalar inşa edilmektedir. Bu binalarda 6m’den sonraki her 3m’lik yükseklik için yönetmelikte geçen minimum derz mesafesinin konulması yapı emniyeti açısından çok büyük öneme sahiptir.

Tasarımı yapan mühendis unutmamalıdır ki en fazla yatay yerdeğiştirme en üst katta meydana geleceği için bu durumu göz ardı etmemelidir. (1) numaralı formülde verilen  $4_a$  ve  $4_b$  değerleri dikkatlice hesaplanmalıdır. Bu iki yatay yerdeğiştirmeleri temsilen Şekil 1 aşağıda verilmektedir.



Şekil 1. Derz genişliği bulunan iki binanın deplasmanlarının gösterilmesi.

Bitişik nizam yapılarıdaki bir diğer durumda çekişme etkisidir. Çekişme etkisini, aralarında yeterli derz aralığı bırakılmamış bitişik nizam binalardan, devrilmeye karşı daha rijit olanının deprem etkisi altında, kendisinden daha az rijit olan komşu binaya salınım boyunca vura vura hasar vermesidir diyebiliriz.

Çekişme durumunun sebepleri arasında, binada bodrum kat bulunmaması veya yeterli rijitlik de bodrum kat olmaması diyebiliriz. Kat sayısı fazla olan binalarda bodrum kat yapılarak toprağın altına inmek gerekir. Deprem kuvveti binamıza etki ettiğinde, zeminin içinde yer alan rijit bölüm zemine tutulup devrilmeyi önleyecektir. Zemine yüzeysel olarak yapılan bina deprem kuvvetinden dolayı tutunacak yer bulamayacak ve dolayısıyla komşu binası deprem boyunca vurdukları devrilme ihtimali artmaktadır.

Çekişme sebepleri arasında bir diğeri ise binanın küçük cepheli ve yüksek katlı olması gösterilebilir. Küçük cepheli yüksek binalarda perde uygulamasına veya üretimine dikkat edilmemesi, yüksek katlı binaların iki veya üç katlı binaymış gibi tasarlanması çekişme etkisine sebep olmaktadır. Çekişme etkisi genel olarak komşu binalardan birisinin diğerinden daha yüksek katlı olduğu durumlarda gözlemlenmiştir. Şekil 2’de tek ve çift yönlü çekişme hasarına uğramış yapılar verilmiştir.

### Sonlu Eleman Modeli

SAP2000 ile çözüm yaptığımız betonarme binalarının modellenmesinde kullanılan parametreler aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir.

- Malzeme: C30-S420



(a) İki yönlü darbeye maruz kalmış bina [3].

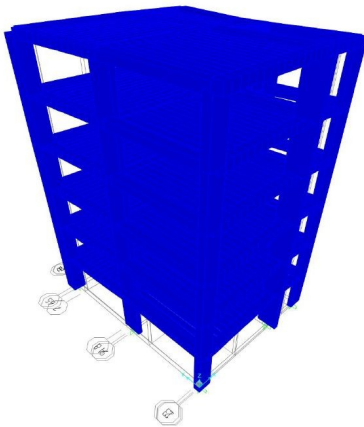


(b) Tek yönlü darbeye maruz kalmış bina [4].

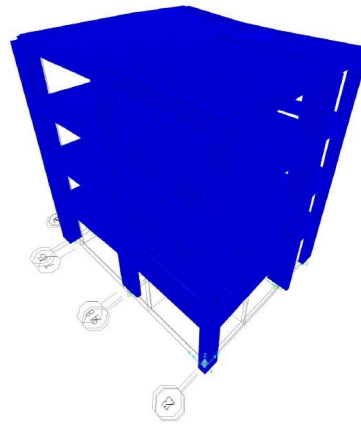
Şekil 2. Bitişik nizam düzeninde yapılmış binaların depremden sonraki hali

- Betonun poisson oranı: 0.2
- Betonun özgül ağırlığı:  $25 \text{ kN/m}^3$
- Kat yüksekliği: 2.70 m
- Betonun elastisite modülü: 32 GPa
- 2 derece deprem bölgesi
- Sıva ( $20 \text{ kN/m}^2$ )
- Hareketli yükler ( $1.5-3.5-5 \text{ kN/m}^2$ )

Yukarıda bulunan bilgiler SAP2000 programına girilerek oluşturulan 6 ve 4 katlı bina modelleri Şekil 3'te gösterilmiştir.

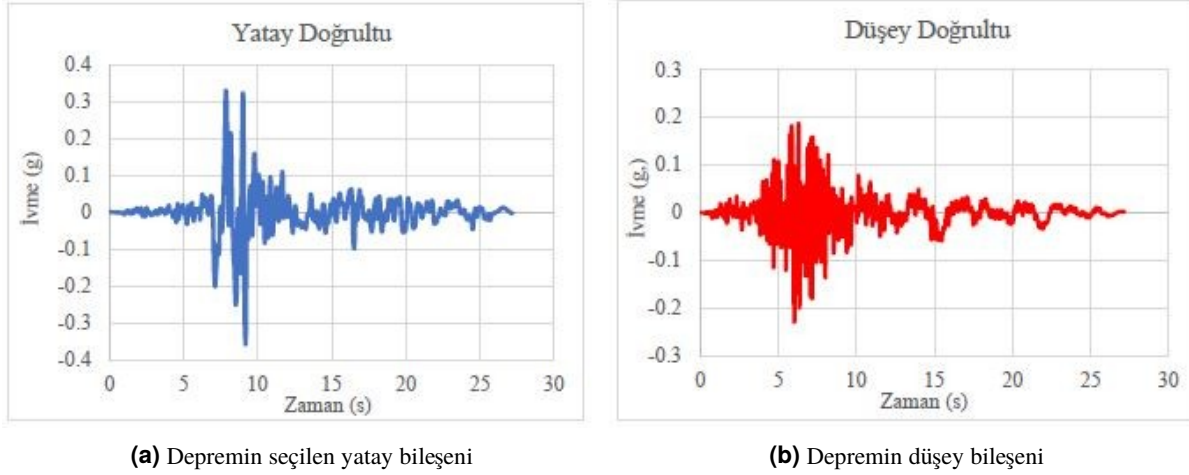


(a) 6 katlı bina



(b) 4 katlı bina

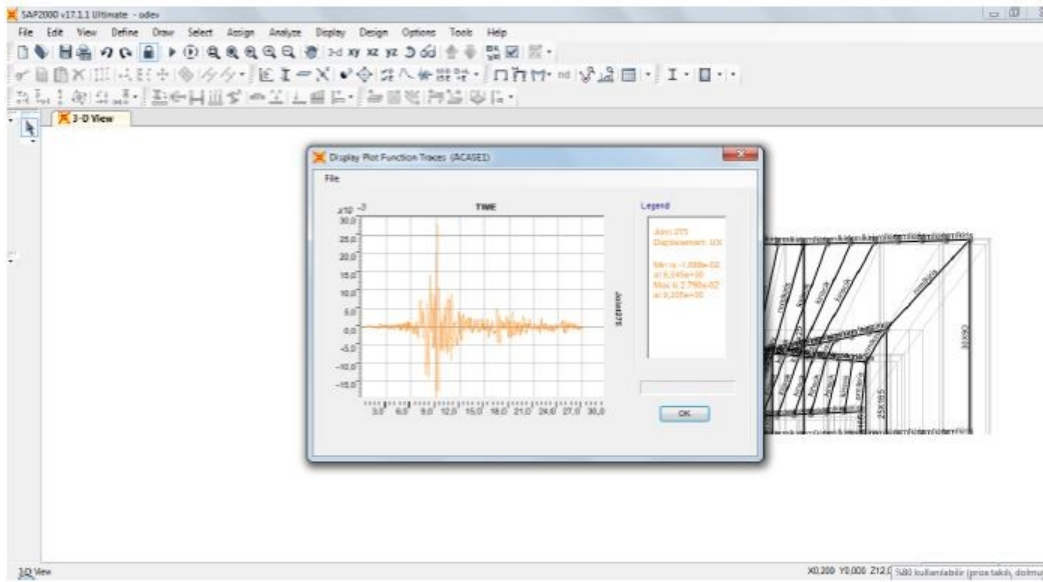
Şekil 3. 4 ve 6 katlı binalara ait sonlu eleman modelleri.



Şekil 4. 1999 Kocaeli depremi ivme kayıtları

## Deprem Kaydı

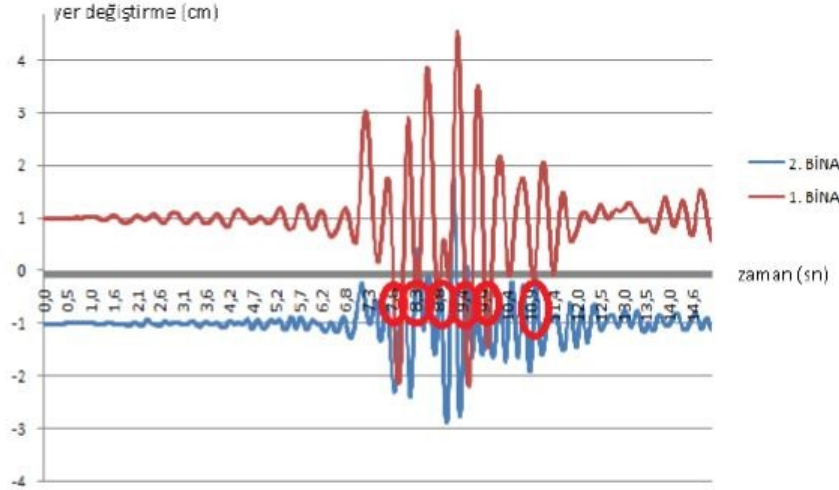
Bu çalışmada Kocaeli Depremi ivme verileri kullanılmıştır. Analiz tipi linear olarak seçildi ve seçilen ivme kayıtları tek serbestlik dereceli %5 sönüme sahip doğrusal bir sistemin spektrumu olacak şekilde belirlendi. 1999 Kocaeli Depreminin Düzce İstasyonuna ait veri değerlendirilmiştir. Deprem süresi 27.185 s olarak dikkate alınmıştır [5]. Analizlerde zaman aralığı 0.005 saniye seçilmiştir. Yatay ve düşey doğrultuda ki Düzce depremi ivme-zaman kayıtları Şekil 4 de verilmektedir. Seçilen binaların bahsi geçen deprem kayıtları dikkate alınarak yapılan sonlu eleman analizlerinden sonra zamana bağlı maksimum deformasyonlar belirlenmiştir (Şekil 5). Burada, bir binanın diğer bina ile bitişik olduğu bir nokta ve ona karşılık gelen bir nokta seçilerek deformasyon miktarları incelenmiştir.



Şekil 5. Seçili bir noktanın zamana bağlı deformasyon değişimi.

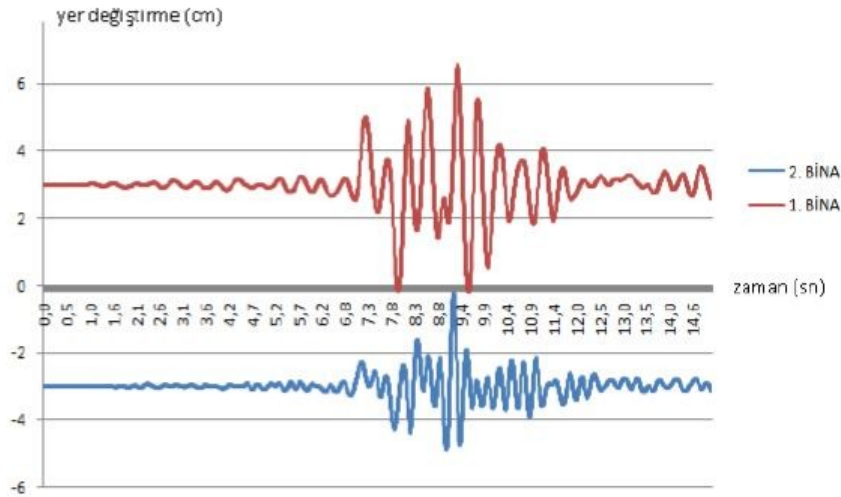
Tasarlanan iki binanın karşılıklı noktalarına gelen deformasyon miktarlarına bakıldı. SAP2000’inden aldığımız deformasyon miktarlarını gösteren veriler kıyaslanmıştır. İki binanın yerdeğiştirme-zaman grafikleri tek tek incelendikten sonra ortak bir grafik oluşturulmuştur. Aralarında 2 cm derz boşluğu olduğu düşünülerek oluşturulan grafik, Şekil 6’da gösterilmektedir. İki binanın çarpıştığı anlar Şekil 6’de kırmızı daire içerisinde gösterilmiştir. Sırasıyla derz mesafesi 2 cm ve derz mesafesi 6 cm (Şekil 7) olacak şekilde modellenen iki binanın deprem süresi boyunca seçili olan noktaların yaptığı salınımlar aşağıdaki grafiklerde sunulmuştur.

Investigation of Earthquake Joint Pavement in Reinforced Concrete Buildings — 44/ 45



Şekil 6. Derz aralığı 2 cm olarak alınan iki binanın zamana bağlı deformasyon sonuçları.

Şekil 6'da verilen zamana bağlı deformasyon değişimleri incelendiğinde 2 cm olarak bırakılan derz boşluğunun yeterli olmadığı gözlenmiştir. Burada 7.8-11.44 saniye aralığında binaların birçok kez çarpışıp çekiçleme kuvveti oluşturabileceği belirlenmiştir. Bu nedenle derz boşluğunun artırılmasının oluşacak hasarların önüne geçilmesi adına gerekli olduğuna karar verilmiştir.

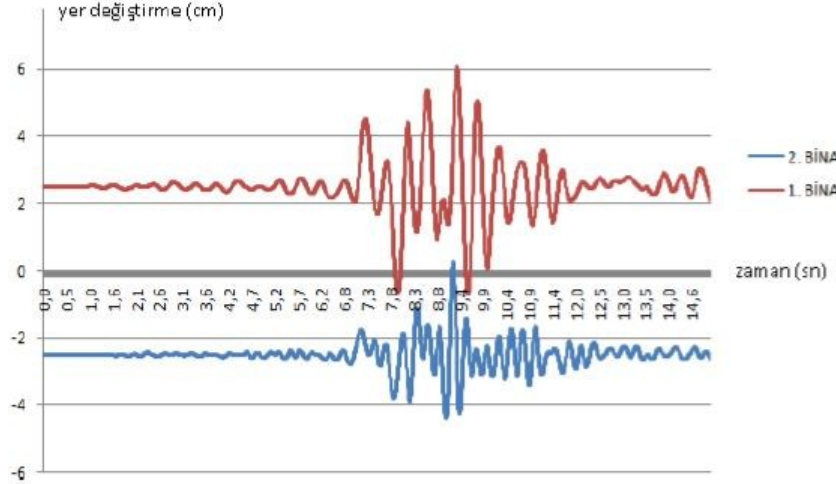


Şekil 7. Derz aralığı 6 cm olarak alınan iki binanın zamana bağlı deformasyon sonuçları.

Derz boşluğunun artırılması sonucunda yeniden grafik çizilmiş olup, 6 cm bırakılan derz boşluğunun uygun olduğu belirlenmiştir. Buna karar verilirken yerdeğiştirmelerin maksimum olduğu zaman adımlarında dahi bina modellerinin ilgili kat seviyelerinde çarpışma riskinin olmayacağı tespit edilmiştir.

Yönetmelik gereği bırakılacak minimum derz boşluğunun, 6 m yüksekliğe kadar en az 30 mm olacağı ve bu değerden sonraki her 3m'lik yükseklik için en az 10 mm ekleneceği belirtilmektedir [1]. Bu durumda 5 cm derz boşluğu olması halinde durumu kontrol etmek amacıyla 5 cm derz aralığı ile yeniden grafik çizilmiştir (Şekil 8).

Investigation of Earthquake Joint Pavement in Reinforced Concrete Buildings — 45/ 45



Şekil 8. Derz aralığı 5 cm olarak alınan iki binanın zamana bağlı deformasyon sonuçları.

5cm derz boşluğu için iki binanın çarpışması bu deprem için mümkün olmamakla birlikte böyle bir riskin olduğu da açık bir şekilde görülmüştür. Bu nedenle konu ile ilgili çalışmaların yönetmelik harici oluşması muhtemel depremler de dikkate alınarak daha detaylı olarak incelenmesinde fayda görülmektedir.

## Sonuçlar

Bu çalışmada, deprem bölgelerinde bulunan bitişik nizam yapılarda gerekli olan derzlerin incelenmesi hedeflenmiştir. Bunun için önceden inşa edilmiş bitişik nizam betonarme yapılarının ölçüleri kullanıldı. Analiz kısmında derz aralığını 2 cm olarak ele aldığımızda binaların çekiçleme etkisine maruz kaldığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle derz aralığı 6 cm yapılarak deplasman sonuçları grafiğe aktarılıp tekrar incelenmiştir. Derz aralığını 6 cm olarak ele aldığımızda olası bir deprem tehditlerine karşı binamızın çekiçlemeye maruz kalmayacağı ve bu sebeple zarar görmeyeceği sonucuna varılmıştır. Yönetmelikte minimum alınması gereken değer 5 cm olarak hesaplandığından bu değer de kontrol amaçlı incelenmiş ve bu değer de aranılan emniyetli sonuçlara ulaşmamızı sağlamıştır.

Özellikle deprem bölgelerinde yapılacak bitişik nizam yapılar veya çok bloklu yapılarda bu derz mesafelerine dikkat edilmesi gerektiği bilinmektedir. Olası bir depremden minimum hasarla kurtulmak için tasarım yaparken, derz mesafelerinin gereken büyüklükte olup olmadığını göz önünde bulundurmanız gerekmektedir.

## Kaynaklar

- [1] TDY2007. Deprem bölgelerinde yapılacak binalar hakkında yönetmelik, 2007.
- [2] URL-1. Betonarme 1756-2014, 2018. URL [http://mmf2.ogu.edu.tr/atopcu/index\\_dosyalar/Tarih/BeTarihi.pdf](http://mmf2.ogu.edu.tr/atopcu/index_dosyalar/Tarih/BeTarihi.pdf).
- [3] URL-2. Kapalı Çıkmalar ve proje hataları, 2018. URL <https://megainsaatvemimarlik.wordpress.com/category/01-insaat-muhendisligi/depremden-binalarin-hasar-gorme-nedenleri/>.
- [4] URL-3. Bedirhan yapı, 2018. URL <http://www.bedirhaniyapi.com/depremhasar.aspx>.
- [5] PEER. Pacific earthquake engineering research centre,, 2015. URL [http://peer.berkeley.edu/peer\\_ground\\_motion\\_database](http://peer.berkeley.edu/peer_ground_motion_database).

# Elektroeğirme Yöntemi ile Fibröz Doku İskelelerinin Üretimi

## Fabrication of Two- and Three- Dimensional Fibrous Mats by Electrospinning Method

Murat ŞİMŞEK\* 

### Özet

Polimer çözeltilerinden veya eriyiklerinden nano/mikro ölçekteki fiberlerin (lif) üretilmesine olanak sağlayan bir teknik olan elektroeğirme tekniği Tıp'tan mühendisliğe kadar çok sayıda uygulamaya sahip birbiriyle iç içe geçmiş nanofiber örgülerin elde edilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Nanofiber üretiminde kullanılan çekme, kalıp (template) sentezi, faz ayrımı ve kendi kendine düzenlenme gibi yöntemlere nazaran, sürekli fiber üretime uygun, kullanımı kolay, çok yönlü ve düşük maliyetli bir yöntemdir. Elektroeğirme tekniği ile üretilen nanofiberlerin olağanüstü yüzey alanı/hacim oranına, kontrol edilebilir gözenek yapısına, yüksek gözenekliliğe, esnek yüzey özelliklerine, yüksek işlevselliklere ve üstün mekanik özelliklere sahip olması gibi birçok avantajı vardır. Bu teknik ile çeşitli formlarda (gelişigüzel ya da doğrusal düzende) örülmemiş fiberlerin elde edilebilmesi mümkündür. Elektroeğirme yöntemi ile fibröz formda iki ve üç boyutlu doku iskelelerinin üretilmesi sağladığı avantajlar nedeni ile son dönemlerde oldukça ilgi çekici hale gelmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Elektroeğirme, nanofiber, doku iskelesi, doku mühendisliği

### Abstract

Electrospinning technique, which is a technique that allows the production of nano/micro nanofibers (fibers) from polymer solutions or melts, is often used to obtain interconnected nanofiber mats with many applications ranging from medicine to engineering. It is an easy to use, versatile and cost-effective method suitable for continuous fiber production compared to methods such as drawing, template synthesis, phase separation and self-assembly. Nanofibers produced by electrospinning have many advantages such as exceptional surface area / volume ratio, controllable pore structure, high porosity, flexible surface properties, high functionality and superior mechanical properties. With this technique it is possible to obtain nonwoven fibers in various forms (random or aligned). Recently, it has become very attractive due to the advantages of producing two- and three-dimensional tissue scaffolds in fibrous form by electrospinning method.

**Keywords:** Electrospinning, nanofiber, fibrous mat, tissue scaffold, tissue engineering

<sup>1</sup> İnönü Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Malatya, TÜRKİYE

\*Sorumlu Yazar: murat.simsek@inonu.edu.tr

Manuscript received date: January 11, 2018

Accept Date: May 8, 2018

Published Date: June 01, 2018.

## Giriş

Sentetik ve/veya doğal polimerlerden biyobozunur ve biyoyumlu polimerik fiberlerin elektroeğirilmesi son dönemlerin en çok araştırılan alanlarından biri olmuştur [1–8]. Bu yöntemle doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilecek hem doğal hem de sentetik polimerler ve bunların diğer malzemeler ile oluşturdukları kompozit yapıların, birkaç nanometreden birkaç mikrometreye kadar üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Elde edilen nanofiber yapıların fiziksel olarak doğal hücre dışı matris

yapısına benzer özellikler göstermesi, fiberlerin hücre etkileşimi için geniş yüzey alanı sağlaması ve besin maddeleri gibi sıvıların transferine olanak sağlayan gözeneklere sahip olmaları elektroçğirme yönteminin getirdiği en önemli avantajlardır [6]. Elektroçğirme yöntemi, iskele yapısal özelliklerinin kontrol edilebilmesi ve değişkenlerin yönlendirilmesi ile istenilen özellikte (örneğin hasarlı bir bölgeye özgü) iskelelerin üretimine izin vermesi açısından kullanışlı ve esnek bir yöntemdir. Sentetik polimerin kullanılması ile polimerlerin mekanik özelliklerinin ayarlanabilmesi ve yüzeyin biyoaktif ajanlarla (proteinler ve biyosinyal moleküller) modifiye edilerek işlevsel hale getirilmesi yönünden avantajlar sunmaktadır [9].

Doku mühendisliği uygulamalarında elektroçğirme ile üretilmiş çeşitli polimerik fibröz örgüler, farklı hücre türleri kullanılarak hücre davranışlarının incelemesi amacıyla kullanılmıştır [10]. Bu çalışmalarda fibröz örgü üzerine kültüre edilmiş hücreler kaçınılmaz şekilde fiber yapılarla etkileşmiş ve sonuç olarak hücre hizalanması, yapışması, farklılaşması veya çoğalması etkilenmiştir.

## Fibröz yapıların üretimi

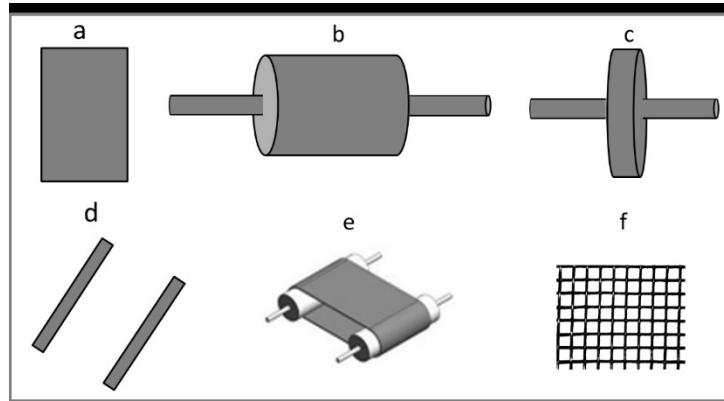
### İki boyutlu (2-b) ve sürekli fiber örgülerin üretimi

Temel bir elektroçğirme düzeneğinde üretilen fiber örgüler 2-b olmaktan öteye geçemez. Bu sistemde şırıngadan pompalanan polimer çözeltisi fiber formda sabit veya hareketli bir toplayıcı üzerinde toplanır. Kullanılacak toplayıcının fiziksel özelliklerine göre (Şekil 1) farklı fiziksel şekillerde (gelişigüzel veya hizalanmış formda) fiberler elde edilebilir (Şekil 2).

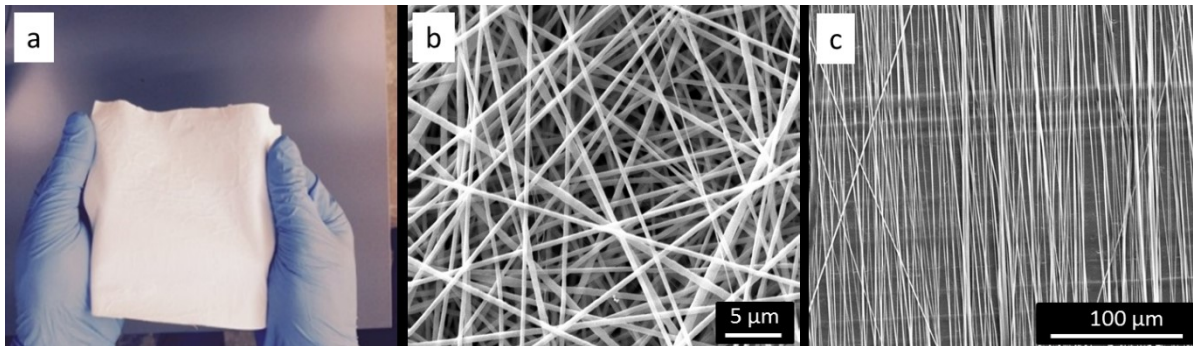
Pek çok araştırmacı üretim kapasitesini arttırmaya yönelik olarak temel elektroçğirme sistemini modifiye etmişlerdir [11–14].

Bunun için temel prensip jet sayısını arttırmaktan geçiyor. Bu yöntemleri:

- Tek bir uçtan veya iğneden çoklu jetlerin oluşturulması
- Çoklu uçlardan veya iğnelere çoklu jetlerin oluşturulması
- Uçtan bağımsız sistemlerle çoklu jetlerin oluşturulması olarak özetleyebiliriz [15].



**Şekil 1.** Elektroçğirme işleminde kullanılan bazı toplayıcı türleri: a) sabit plaka, b) döner silindir, c) döner disk, d) paralel çubuklar, e) döner bant ve f) tel ızgara.



**Şekil 2.** (a, b) Gelişigüzel düzende polikaprolakton ve (c) hizalanmış düzende üretilen polietilentereftalat nanofiberlere ait görüntüler (b ve c SEM görüntüleridir).

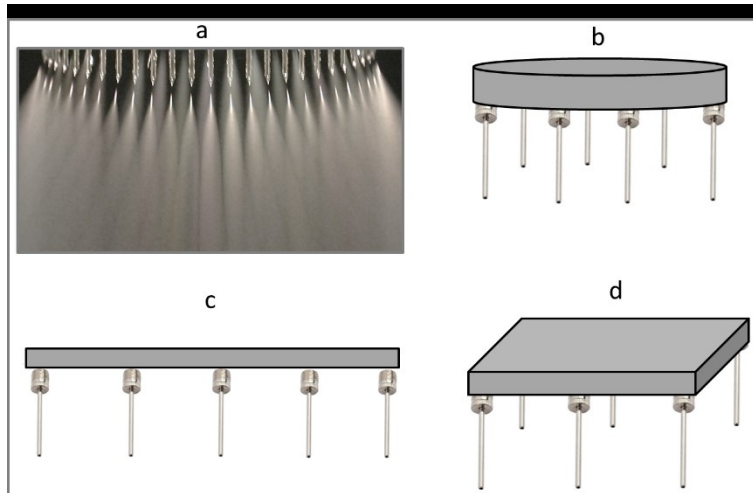


### Tek bir uçtan veya iğneden çoklu jetlerin oluşturulması

Geleneksel sistemlerde fiber üretimi, tek bir şırınga iğnesinden enjekte edilen polimer çözeltisinin maruz kaldığı elektrik alan yoluyla iğne ucunda oluşan Taylor konisinden tek bir jet halinde toplayıcıda toplanmasına dayanmaktadır. Çoklu jetler tek bir şırınga iğnesinden polimer jetin iki ayrı jete ayrılması yoluyla elde edilebilir. Ana jetten ikinci bir jetin oluşumu polimer jetin büyük eksenli elektrik alanla etkileştiği belirli koşullar altında gerçekleşebilir. Çoklu jetlerin oluşumu ilk olarak Yamashita ve ark. [16] tarafından gözlenmiştir. Böyle bir temel sistemde çoklu jetlerin oluşumu iki olası mekanizmaya dayandırılmaktadır: elektrik alanın dağılımındaki önemli derecede farklılıklar ve iğne ucundaki çözeltinin bir ölçüde tutuklanması (bloklanması). Bununla beraber tüm mekanizma henüz ortaya çıkarılmamıştır.

### Çoklu uçlardan veya iğnelerden çoklu jetlerin oluşturulması

Fiber üretim miktarını arttırmamanın diğer bir yolu ise çoklu şırınga ve uç sisteminin kullanılmasından geçmektedir (Şekil 3). Burada, sisteme adapte edilecek çoklu uçlar belirli geometrik düzende (doğrusal, eliptik, dairesel, kare, üçgen vb.) yerleştirilebilir (Şekil 3). Bu sistemlerde uç sayısı bir kaç tane olabileceği gibi, özellikle endüstriyel cihazlarda onlarca da olabilir. Bu sistemlerde genellikle büyük çalışma alanına ihtiyaç duyulur. Ayrıca sistem tasarımı yaparken jetler arasındaki güçlü yük itmelerini engellemek amacı ile uçlar arasındaki mesafenin dikkatli hesaplanması gerekir.

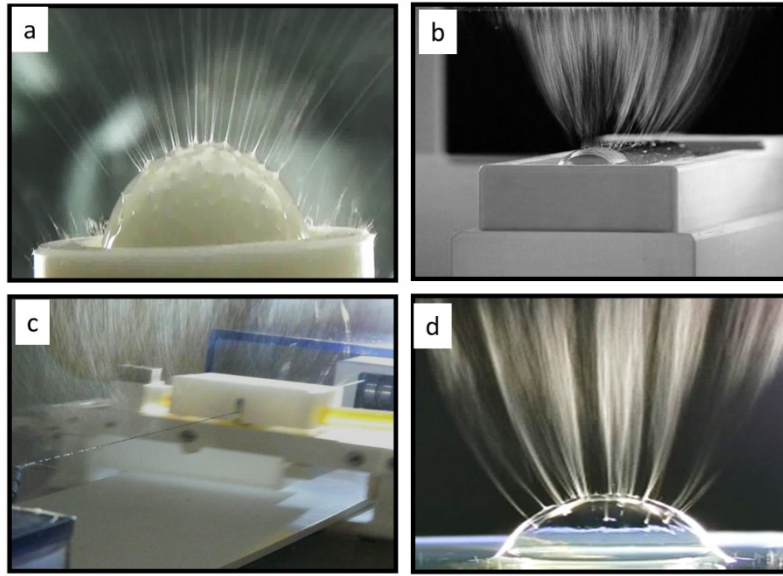


Şekil 3. Çoklu uç sistemleri. (a, b) Dairesel c) Doğrusal ve (d) Dikdörtgen.

### Uçtan bağımsız sistemlerle çoklu jetlerin oluşturulması

Fiber üretimi için bir uca veya bir iğneye bağımlı olmayan sistemler, diğer adıyla serbest sıvı yüzeyde elektroçğirme, gittikçe daha öne çıkmaya başlamıştır. Bu sistemlerde çoklu jet elde etmenin temeli elektrik alan yoğunluğu belli bir kritik değerin üzerine çıktığında elektriksel olarak yüklenen çözeltinin mezoskopik (mikro ile makro ölçek arası) ölçekte kendi kendine organize olmasıyla çok sayıda jetin oluşumuna dayanmaktadır. Bu sistemlerde, küresel veya silindirik bir yüzey bir hazne içerisindeki polimer çözeltisine, bir bölümü çözelti içerisinde kalacak şekilde, daldırılır (Şekil 4 a ve b). Daha sonra bir kol veya ilave bir donanım ile bu yüzeyler kendi eksenli etrafında dönecek şekilde hareket ettirilir. Hareket boyunca tüm yüzeyler sürekli bir şekilde polimer çözeltisi ile kaplanmış olur. Elektriksel alanın devreye alınmasıyla bu yüzeyler üzerinde çok sayıda jet oluşumu gerçekleşir. Çoklu jet sistemleriyle ilgili diğer bir uygulama ise Elmarco (Çek Cumhuriyeti) firması tarafından ticarileştirilen bir sistemdir (Şekil 4 c). Bu sistemde polimer çözeltisi içeren hareketli bir hazne sistem içerisine yerleştirilmiş gergin bir tel üzerine bir miktar çözelti bırakarak telin çözelti ile kaplanmasını sağlar. Yine bu aşamadan itibaren elektrik alanının devreye alınmasıyla tel üzerinde çoklu jet akışı başlamış olur. Fiber üretim süresince, belirli zaman aralıkları ile tel üzerinde hareket eden hazne sürekli bir şekilde telin polimer çözeltisi ile kaplanmasını sağlar.

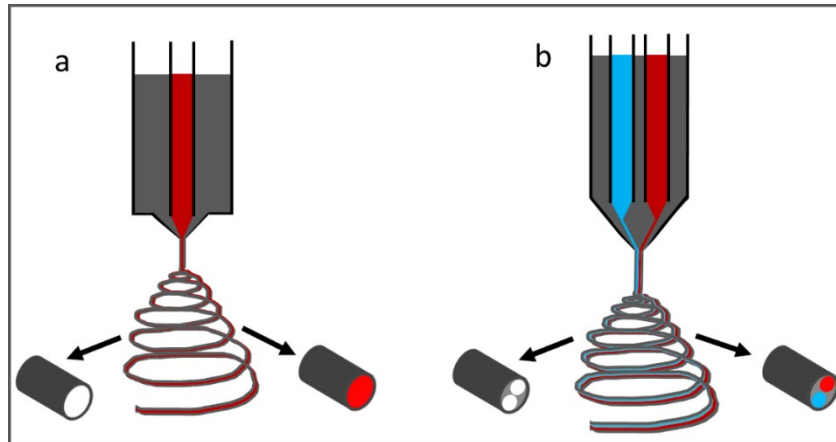
Bu sistemlerden farklı olarak ortaya çıkan bir yaklaşımda, polimer çözeltisi içeren bir haznenin altından hava veya gaz



Şekil 4. Uçtan bağımsız elektroegirme sistemleri.

### Eş eksenli elektroegirme

Elektroegirme sisteminde uygun bir modifikasyon ile çoklu yapıda veya çok bileşenli nanofiberlerin üretimi mümkün olabilir [17]. Eş eksenli elektroegirme adı verilen sistemle, çekirdek kabuk (core-shell) adı verilen ve tek bir fiber yapısı içerisinde iç içe geçmiş bileşenleri veya kanalları (boşlukları) içeren nanofiberler üretilebilmektedir. Örneğin iki bileşenli sistemde, biri fiberin iç kısmını (çekirdek) oluşturacak polimer çözeltisini (içi boş fiber üretiminde havayı) diğeri ise fiberin dış kısmını (kabuk) oluşturacak polimer çözeltisini içeren iki kanallı şırınga sistemi kullanılır (Şekil 5 a). Daha fazla kanal içeren şırınga sisteminin kullanılması daha fazla bileşene sahip fiber üretimi gerçekleştirilebilir (Şekil 5 b). Bu teknik ile hem normal bir düzenle eğrilemeyen polimerlerin fiber formuna dönüşmesi sağlanabilmekte hem de biyomoleküller ve antibakteriyel ajanlar gibi fonksiyonel ajanlar fiber yapısı içerisinde tutulabilmektedir.

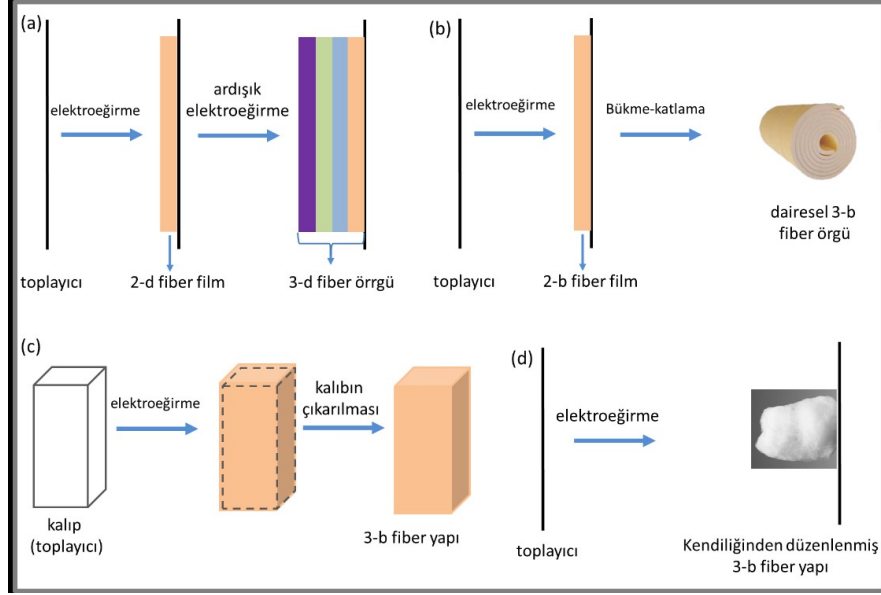


Şekil 5. Eş eksenli elektroegirmede kullanılan uçlar. a) iki bileşenli ve b) üç bileşenli fiberlerin üretimi.

### Üç boyutlu (3-b) doku iskelelerinin üretimi

Özellikle doku mühendisliği uygulamaları için 3-b doku iskelelerinin üretimi son derece önemlidir. Bu sebeple pek çok araştırmada 3-b fibröz makroyapıların geliştirilmesi için çeşitli yaklaşımlar ortaya çıkmıştır [18].

### Ardışık elektroegirme veya çok tabakalı elektroegirme



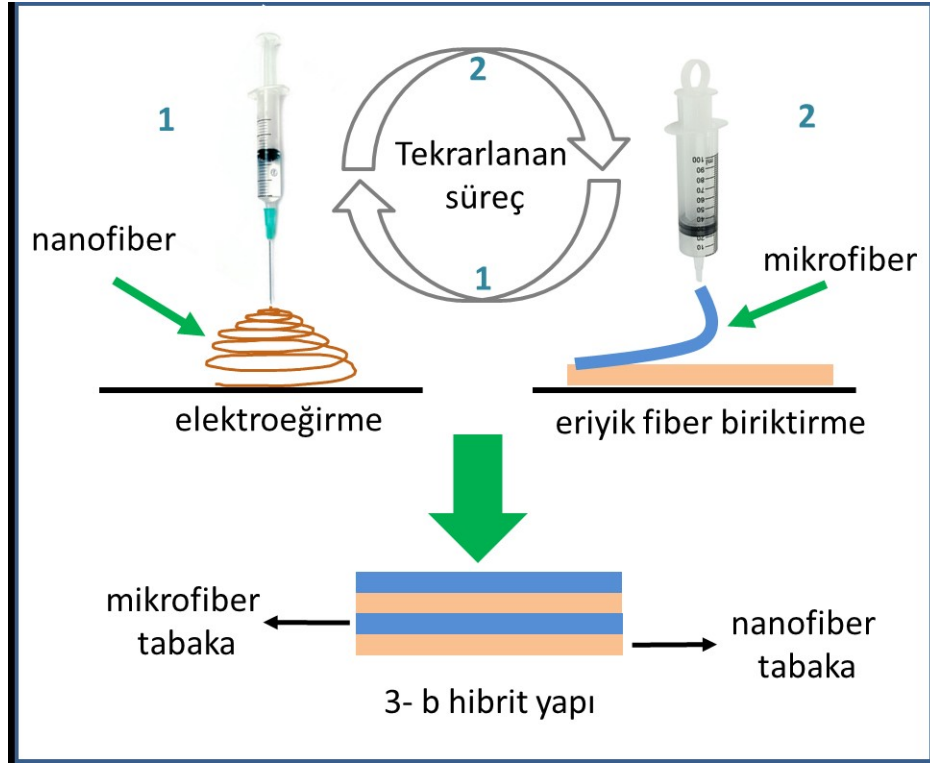
**Şekil 6.** Farklı yaklaşımlarla 3-b fibröz matrislerin üretimi. a) Ardışık elektroçirime veya çok tabakalı elektroçirime, b) Elektroçirime sonrası işleme (bükerek katlama), c) Kalıp destekli elektroçirime ve d) Kendi kendine düzenlenme.

### Elektroçirime sonrası işleme

Bu yöntem elektroçirime işleminden sonra elde edilen fiber örgülerin fiziksel olarak işlenmesine dayanmaktadır (Şekil 6 b). Bu yöntemde toplayıcı plakadaki fiber membran toplayıcıdan sıyrılır ve bükülerek/katlanarak boru veya kalın mat benzeri 3-b fibröz örgüler elde edilir. Bu yöntemde eğrilmiş örgüler istenilen şekillere sokulabilir. Bununla birlikte komşu fibröz yüzeyler arasında uzun mesafelerin/boşlukların olması bir dezavantajdır.

### Kalıp destekli elektroçirime

2-b toplayıcılar yerine toplayıcı olarak 3-b kalıpların kullanılması yoluyla da başarılı bir 3-b üretim gerçekleştirilebilir (Şekil 6 c). Burada toplayıcı olarak istenilen fiziksel biçime sahip bir mekanik toplayıcı (örneğin tüp şeklinde) kullanılabilir. Ayrıca kalıp olarak diğer tekniklerle (örneğin prototipleme, polimer/fiber biriktirme veya eriyik elektroçirime) üretilen 3-b matrisler kullanılarak 3-b fibröz makro yapılar elde etmek mümkündür (Şekil 7). Elektroçirime ile ilave yöntemlerin kullanıldığı bu hibrit yöntemde kullanılacak matrisler ya önceden üretilerek elektroçirime kullanılır veya elektroçirime işlemi sırasında üretilerek 3-b fibröz örgüler elde edilebilir. Bu yöntemle farklı şekillerde, büyüklüklerde, yapılarda ve desenlerde 3-b yapıların kullanılması ile bunlara benzer 3-b fibröz iskeleler üretilir. İlave sistem gerektirmesi bu teknikte bir dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır.



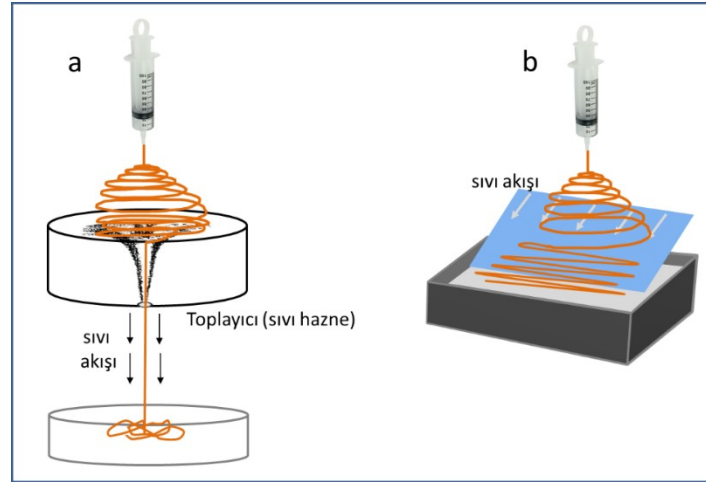
Şekil 7. Elektroeğirme ve erişik biriktirme yöntemi ile 3-b iskele üretimi.

### Kendi kendine düzenlenme

Yukarıda belirtilen yaklaşımlardan farklı olarak, bazı elektroeğirme parametrelerinin (çözelti derişimi/viskozitesi, elektrik alan, ortam nemi gibi) kontrol edilmesi ile kendi kendine düzenlenen 3-b fibröz makroyapıların (pamuk veya bal peteği benzeri) üretimi ilave bir destek olmadan mümkün olabilmektedir (Şekil 6 d). Bununla birlikte, bu yöntemde fiber morfolojisini ve kararlılığını kontrol etmek zordur.

### Sıvı destekli elektroeğirme

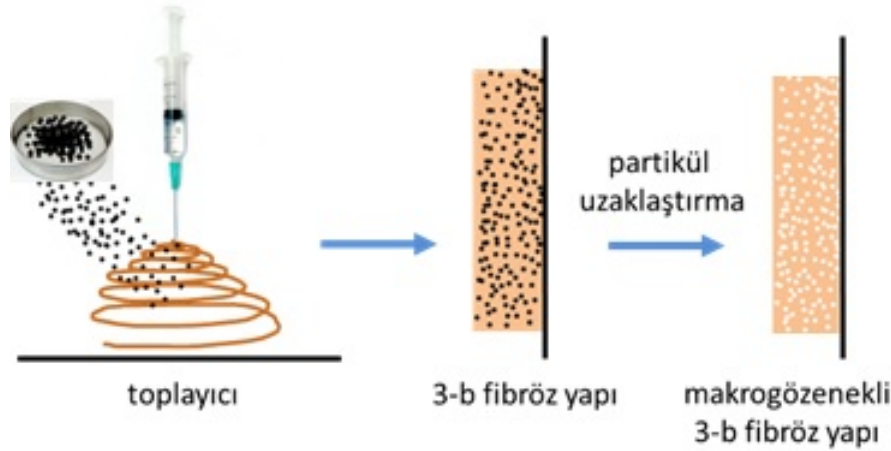
3-b fibröz makroyapıların elde edilmesinde kullanılan diğer bir yöntem de sıvı destekli elektroeğirme tekniğidir. Bu teknik temelde fiberlerin sıvı (genellikle su) bir hazne içerisinde toplanmasına dayanmaktadır. Bu yöntemi içeren yaklaşımların birinde, toplayıcı hazne olarak kullanılan sistemdeki sıvı üzerinde fiberler toplanmaya başlar (Şekil 8 a). Devamında haznenin altında önceden açılmış bir delik vasıtasıyla sıvının aşağıya boşalması sağlanır. Bu sırada sıvı haznede bir girdap oluşur ve yüzeyde üretilen fiberler bu girdap yoluyla kabın altında bulunan delikten akış yoluyla hazne dışına çıkar. Elektroeğirme ile üretilen fiberler bu girdap yoluyla aşağı çekilirken birbiri üzerine kümelenerek çok daha kalın bir iplik formuna dönüşür. Alta konulan ikinci bir hazne yardımıyla elde edilen örgü toplanır. Buna benzer bir yaklaşımda, sıvı girdap bir manyetik karıştırıcı yoluyla sağlanarak 3-b fibröz örgüler elde edilebilir. Diğer bir yaklaşımda ise (Şekil 8 b), hazne içerisine belirli bir açıyla yerleştirilen düz bir plakanın üzerinden belli bir hızda sıvı akışı sağlanır. Fiber üretimi bu akışa doğru yapılarak akışla beraber fiberlerin hazneye birikmesi sağlanır. Her üç yaklaşımda da üretim sonrası bir kurutma programı (oda sıcaklığında veya dondurarak)



Şekil 8. Sıvı destekli elektroçirme yaklaşımları.

### Porojen ekleme

3-b fibröz örgülerin üretilmesindeki diğer bir yaklaşım da porojen olarak buz kristallerinin, tuz parçacıklarının ve bazı polimerlerin (polietilen oksit) gibi elektroçirme sırasında fiber yapıya ilave edilmesidir (Şekil 9). Bu yaklaşımda makro gözeneklere sahip fiber örgüler elde etmek mümkün olurken, porojenlerin sonradan yapıdan uzaklaştırılması gereklidir.



Şekil 9. Elektroçirme sırasında porojen ekleme.

### Kaynaklar

- [1] D. Li and Y. Xia, "Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?" *Advanced materials*, vol. 16, no. 14, pp. 1151–1170, 2004.
- [2] Z.-M. Huang, Y.-Z. Zhang, M. Kotaki, and S. Ramakrishna, "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites," *Composites science and technology*, vol. 63, no. 15, pp. 2223–2253, 2003.
- [3] L. S. Nair, S. Bhattacharyya, and C. T. Laurencin, "Development of novel tissue engineering scaffolds via electrospinning," *Expert opinion on biological therapy*, vol. 4, no. 5, pp. 659–668, 2004.

- [6] T. J. Sill and H. A. von Recum, “Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 29, no. 13, pp. 1989–2006, 2008.
- [7] B. Mavis, T. T. Demirtaş, M. Gümüşderelioğlu, G. Gündüz, and Ü. Çolak, “Synthesis, characterization and osteoblastic activity of polycaprolactone nanofibers coated with biomimetic calcium phosphate,” *Acta biomaterialia*, vol. 5, no. 8, pp. 3098–3111, 2009.
- [8] M. Şimşek, M. Capkın, A. Karakeçili, and M. Gümüşderelioğlu, “Chitosan and polycaprolactone membranes patterned via electrospinning: effect of underlying chemistry and pattern characteristics on epithelial/fibroblastic cell behavior.” *Journal of biomedical materials research. Part A*, vol. 100, no. 12, pp. 3332–3343, 2012.
- [9] S. H. Lim and H.-Q. Mao, “Electrospun scaffolds for stem cell engineering,” *Advanced drug delivery reviews*, vol. 61, no. 12, pp. 1084–1096, 2009.
- [10] M. Şimşek, “Nanofiber-desenli polimerik membranlar: Yüzey kimyası, topografisi ve hücrel etkileşimler,” 2014.
- [11] A. Vaseashta, “Controlled formation of multiple taylor cones in electrospinning process,” *Applied Physics Letters*, vol. 90, no. 9, p. 093115, 2007.
- [12] S. Paruchuri and M. P. Brenner, “Splitting of a liquid jet,” *Physical review letters*, vol. 98, no. 13, p. 134502, 2007.
- [13] W. Tomaszewski and M. Szadkowski, “Investigation of electrospinning with the use of a multi-jet electrospinning head,” *Fibres and Textiles in Eastern Europe*, vol. 13, no. 4, p. 22, 2005.
- [14] R. Bocanegra, D. Galán, M. Márquez, I. Loscertales, and A. Barrero, “Multiple electrosprays emitted from an array of holes,” *Journal of Aerosol Science*, vol. 36, no. 12, pp. 1387–1399, 2005.
- [15] R. Nayak, R. Padhye, I. L. Kyratzis, Y. B. Truong, and L. Arnold, “Recent advances in nanofibre fabrication techniques,” *Textile Research Journal*, vol. 82, no. 2, pp. 129–147, 2012.
- [16] Y. YAMASHITA, F. Ko, A. TANAKA, and H. MIYAKE, “Characteristics of elastomeric nanofiber membranes produced by electrospinning,” *Journal of Textile Engineering*, vol. 53, no. 4, pp. 137–142, 2007.
- [17] F. Li, Y. Zhao, and Y. Song, “Core-shell nanofibers: nano channel and capsule by coaxial electrospinning,” in *Nanofibers*. InTech, 2010.