

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OSTEOKONDRAL KEMİK DEFEKTLERİNİN
TEDAVİSİNDE ÇOK KATLI (PLLA / SELÜLOZ /
CHİTİN) YAPI İSKELELERİNİN
GELİŞTİRİLMESİ**

DİLER ERDEMLİ

**BİYOMEKANİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

İZMİR – 2011

TEZ KODU: DEU.HSILMSc-2009970013

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OSTEOKONDRAL KEMİK DEFEKTLERİNİN
TEDAVİSİNDE ÇOK KATLI (PLLA / SELÜLOZ /
CHİTİN) YAPI İSKELELERİNİN
GELİŞTİRİLMESİ**

**BİYOMEKANİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DİLER ERDEMLİ

Danışman Öğretim Üyesi : Prof. Dr. Hasan HAVİTÇIOĞLU

TEZ KODU: DEU.HSILMSc-2009970013

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyomekanik Anabilim Dalı, Biyomekanik Yüksek Lisans programı öğrencisi Diler ERDEMLİ **‘OSTEOKONDRAL KEMİK DEFEKTLERİNİN TEDAVİSİNDE ÇOK KATLI (PLLA/ SELÜLOZ/ CHİTİN) YAPI İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ’** konulu Yüksek Lisans tezini tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.

BAŞKAN

Prof. Dr. Hasan HAVİTÇIOĞLU

ÜYE

Prof. Dr. İzge GÜNAL

ÜYE

Prof. Dr. Halil RESMİ

ÜYE

Prof. Dr. Ramazan KARAKUZU

ÜYE

Prof. Dr. Ömer AKÇALI

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER.....	i
TABLO DİZİNİ.....	ii
ŞEKİL DİZİNİ.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
 1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	 1
 2. GENEL BİLGİLER	
2.1 Kemik ve Yapısı	6
2.1.1 Osteoprogenitor Hücreler (Öncü Hücreler).....	8
2.1.2 Osteoblastlar.....	8
2.1.3 Osteoklastlar.....	9
2.1.4 Osteositler.....	9
2.2 Yapı İskeleti.....	10
 3.GEREÇ ve YÖNTEM	
3.1 Araştırmanın Tipi.....	13
3.2 Araştırmanın Yeri ve Zamanı	13
3.3 Araştırmanın Evreni ve Örnekleme.....	13
3.4 Çalışma Materyali.....	13
3.5 Araştırmanın Değişkenleri.....	13
3.6 Veri Toplama Araçları.....	13
3.7 Araştırma Planı.....	14
3.8 Verilerin Değerlendirilmesi.....	14
3.9 Araştırmanın Sınırlılıkları.....	14
3.10 Etik Kurul Onayı.....	15
3.11 Osteokondral Defektler ve Yapı İskeleleri.....	15
 4. BULGULAR	 22
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	32
7.KAYNAKLAR.....	33

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1 Doku Mühendisliğinde Kullanılan Yapı İskelelerine Biyomalzemeleri işlemek İçin Uygulanan Yöntemler.....	16
Tablo-2 Poly (α -hydroxyester) ailesi için biyoseramikler ve doğal polimerlerden oluşan hibrit yapı iskelelerinin listesi.....	17
Tablo-3 Biyoseramikler için polimerlerden oluşan hibrit yapı iskelelerinin listesi.....	17
Tablo-4 Doğal polimerler için diğer biyomateryallerden oluşan hibrit yapı iskelelerinin Listesi.....	18
Tablo-5 Tip I Ve Tip II Kollajen İçeren Skafoldların Farklı Kombinasyonlarının İstatistiksel Analizi.....	18
Tablo-6 Yaygın Olarak Kullanılan Yapı İskeleleri ve Biyolojik Performansları.....	20
Tablo-7 Farklı hücre tipleri için tercih edilen yapı iskelelerinin por boyutları.....	22
Tablo-8 Kemik kıkırdak zonlarındaki farklı por miktarlarının gösterimi.....	22
Tablo-9 PLLA'nın Yapısal ve Mekanik Özellikleri.....	23
Tablo-10 İnsan Kemığının Mekanik Özellikleri.....	23

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil-1 Doku mühendisliğinin genel prosesi.....	1
Şekil-2 PLGA/kollajen hibrid yapı iskelesi dizaynının 3 şematik çizimi.....	4
Şekil-3 3 Farklı Yapıdaki PLGA/Kollajen Hibrid Yapı İskelelerinin Brüt Görünümü.....	5
Şekil-4 3 Farklı Yapıdaki PLGA/Kollajen Hibrid Yapı İskelelerinin SEM Görüntüleri.....	5
Şekil-5 Süngerimsi ve kortikal kemik.....	7
Şekil-6a Havers ve Volkman kanalları	7
Şekil-6b Kemğin içyapısı.....	8
Şekil-7 Kemik hücreleri.....	9
Şekil-8 Kemik hücreleri ve öncü hücreler.....	10
Şekil-9 Biyobozunabilen gözenekli yapı iskeletinin kemik rejenerasyonundaki işlemi.....	12
Şekil-10 Kompozit osteokodral greft yapımının prosedürlerinin şematik gösterimi.....	19
Şekil-11 PLLA yapı iskelesinin SEM görüntüsü.....	23
Şekil-12 İmplantasyondan 4 hafta sonra osteokodral hasarın ışık mikroskopunda görüntüsü.....	24
Şekil-13 İmplantasyondan 12 hafta sonra osteokodral hasarın ışık mikroskopunda görüntüsü.....	24
Şekil-14 İmplantasyondan 20 hafta sonra osteokodral hasarın ışık mikroskopunda görüntüsü.....	24
Şekil-15 Histomorfometrik analiz.....	25
Şekil-16 Kitin yapı iskelesinin yüzey morfolojisinin SEM görüntüleri.....	26
Şekil-17 0.1wt Kollajen kaplanmış kitin yapı iskelesinin yüzey morfolojisinin SEM görüntüleri.....	26
Şekil-18 Kültüre edilditen 3 gün sonra h&e ile boyanmış fibroblast hücreleri ekili yapı iskelelerinin histolojik görüntüleri.....	27
Şekil-19 İki katmanlı yapı iskelesi üretim metodu.....	28
Şekil-20 İki katmanlı yapı iskelesi kesitinin SEM görüntüsü.....	28

ÖZET:

OSTEOKONDRAL KEMİK DEFEKTLERİNİN TEDAVİSİNDE ÇOK KATLI (PLLA/SELÜLOZ/ CHİTİN) YAPI İSKELELERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Diler ERDEMLİ

Dokuz Eylül Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyomekanik Anabilim Dalı

35340 Inciraltı/İzmir

Son yıllarda, dünyada doku kayıpları ve organların iflas etmesi gibi sağlık sorunları artmaktadır. Bu gibi sağlık sorunları olan hastalar, organ transplantasyonu, cerrahi yöntemler veya medikal cihazlarla tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Son gelişmeler araştırmacıları hücre bazında, biyoloji ve mühendisliğin birleştiği, in vitro koşullarda yaptıkları çalışmalarla, doku fonksiyonlarını onarmak, korumak ve geliştirmeyi amaçlayan bir alan olan ‘doku mühendisliği’ ne yöneltmiştir.

Bu hücresele tedavi yaklaşımı, izole edilmiş hücrelerin (genellikle kök hücrelerin) ex vivo şartlarda üç boyutlu hücre dışı matriks molekülleriyle benzerlik taşıyan yapı iskeleleri (scaffold) üzerinde özel düzenleyici şartlar altında yeniden farklılaştırılarak çoğaltılmaları ve organoid adı verilen yeni doku benzeri hibrit oluşumların hastaya geri nakledilmesi prensibine dayanmaktadır. Bu özelliklere sahip yapı iskelelerinin (scaffoldların) kullanımıyla, deri, kıkırdak, bağ ve tendon, kemik, küçük çaplı vasküler greftler, mesane ve cerrahi yamalar gibi çeşitli dokuların geliştirilmesine yönelik uygulamalar ve kapsamlı denemeler yapılmaktadır. Yapı iskelesi mimarisinde yeni hibrit modellemelerinin geliştirilmesiyle özellikle ortopedi alanında ihtiyaç duyulan doku modelleri oluşturulmuştur.

Ortopedi alanında travma ve eklem hasarları, subkondral kemikte ve kıkırdak eklem yüzeyinde sık sık yapısal hasarlara yol açmaktadır. Bu bölgede oluşan doku hasarlarının tamiri için de, bu geçiş safhasını taklit edebilen yapı iskeleleri oluşturulmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Osteokondral Defekt, Sandviç Yapı İskelesi, Kemik - Kıkırdak Hücresi

ABSTRACT:**IMPROVEMENT OF MULTI-LAYER SCAFFOLDS (PLLA/CELLULOSE/CHITIN)
FOR TREATMENT OF OSTEOCHONDRAL BONE DEFECTS**

Diler ERDEMLİ

Dokuz Eylul University

Institute of Health Sciences

Department of Biomechanics

35340 İnciraltı/İzmir

In recent years, loss of tissue and bankruptcy of the organs are increasing health problems in the world. Patients which have these health problems have been tried to treat by organ transplantation, surgical procedures and medical devices. Recent developments led the researchers to the tissue engineering which is study about the functions of tissue repair, tissue protect and cell based tissue develop.

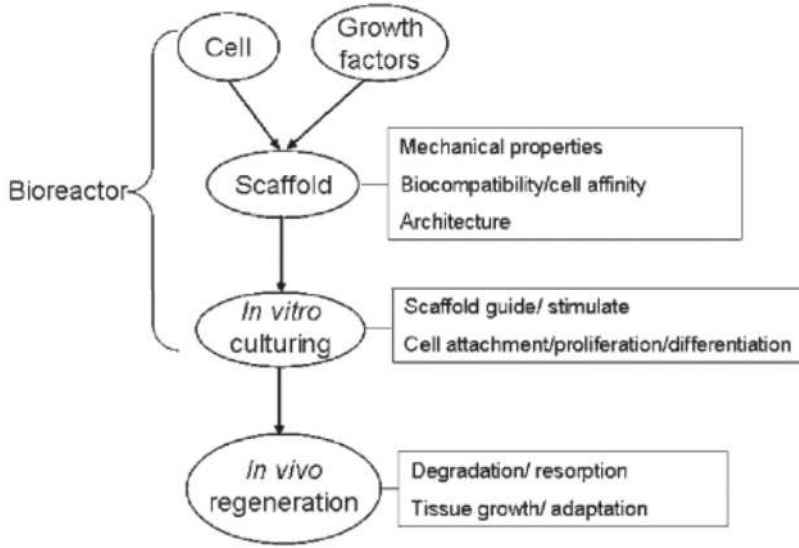
This cellular treatment approach, based on placing the cells onto the scaffolds under the special regulatory conditions and when the cells re-differentiated and proliferated, tissue-like structure transported back to the patient again. Using the scaffolds which have these features, applications and experiments for the development of several tissues such as skin, cartilage, ligaments and tendons, bone, small vascular grefts and surgical patches ,carried out. With developing new hybrid scaffolds in scaffold architecture, new tissue models created for orthopedia.

Orthopedic trauma and joint damage often leads to structural damage on articular surface of the subchondral bone and cartilage. For the repair of tissue damage in this region, scaffolds should be establish which can mimic the transition phase.

Keywords: Osteochondral Defects, Sandwich Scaffold, Bone and Cartilage Cells

1. GİRİŞ ve AMAC:

Travma ve eklem hasarları, subkondral kemikte ve kıkırdak eklem yüzeyinde sık sık yapısal hasarlara yol açmaktadır. Kemik dokusunun epifiz plağından diyafiz plağına geçişte, kıkırdak dokudan kemik dokusuna doğru bir geçiş safhası gözlenmektedir. Bu bölgede oluşan doku hasarlarının tamiri için de, bu geçiş safhasını taklit edebilen yapı iskeleleri (*scaffold*) oluşturulmaktadır. Bu yapı iskeleleri farklı fakat entegre tabakaların kombinasyonu ile kemiğin ve kıkırdağın yerini tutabilmekte ve geliştirilen kompozit materyal, kıkırdak ve kemik dokusunun formasyonunu farklı tabakalarda destekleyebilmektedir. Bu dizaynlar, osteokondral defeklerde kıkırdak ve kemik rejenerasyonunda ki farklı gereksinimlerin teşhis edilmesi esasına dayanır. Bu sandviç yapı iskelesi modelleri ile, yapı iskelesi üzerine hibrit tabakalar oluşturulması kemik defektlerinin tedavisine alternatif olmaktadır.



Şekil-1 Doku mühendisliğinin genel prosesi. Yapı iskelesindeki hücreleri, *in vitro* ortamdaki kültürü ve *in vivo* daki gelişimi göstermektedir. (Liu ve ark., 2007, p. 1052.)

Üç boyutlu biyomalzeme yapı iskeleleri, hücreler için bağlanma substratı olarak hizmet etmektedirler. Skafoldların mimari yapısıyla, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin, hücre canlılığının korunmasında, morfogenezinde ve hücresel işlevlerin temin edilmesinde önemi büyüktür.

Bu yapılar, vücudun belirli bir bölgesine hücrelerin naklinde bir aktarım aracı olarak tasarlanmakta, ayrıca inşa edilen yeni doku organoidinin, yeterli düzeyde mekanik bütünlüğe ulaşana kadar geçecek süre içerisinde in vivo mekanik etkilere dayanmasını sağlamaktadırlar. Geçici hücre dışı matriks olarak hizmet veren bu yapıların bileşimi, hücre adezyon peptidleri, büyüme faktörleri gibi işlevsel moleküllerle zenginleştirilebilmektedir.

Kıkırdak doku mühendisliği alanında günümüzde, çoğunlukla diz eklem kıkırdağı rejenerasyonuna yönelik olarak geliştirilmiş çeşitli doku mühendisliği ürünleri bulunmaktadır. Temel olarak işlem, sağlıklı kıkırdak dokudan alınan biyopsinin, enzimatik olarak ayrıştırılması sonucu elde edilen az sayıdaki otolog kondrositin, kolajen veya biyobozunur sentetik polimer yapı iskeleleri içerisinde, in vitro kültür şartlarında, sayılarının artırılarak üç boyutlu artiküler kıkırdak benzeri bir dokuya dönüştürülmesi ve hastaya geri nakledilmesi prensibine dayanmaktadır.

Kemik rejenerasyonu alanındaki ilk klinik denemeler, mezenkimal kök hücrelerin biyoseramik veya kompozit skafoldlar üzerinde çoğaltılması ile, çene kemiği doku mühendisliğinde uygulanmıştır. Bu yaklaşım daha sonra, osteoblastların yeterince çoğalmalarını engelleyen, kemiklerin bükülmesi ve kolayca kırılması ile sonuçlanan genetik hastalık “osteogenesis imperfecta”da denenmiş; bu amaçla ultraporoz beta-trikalsiyum fosfat skafoldları kullanılmıştır. Kemik tümör dokuları için de değerlendirilen bu işlemde, kazınan tümör dokusu ile, üzerinde mezenkimal kök hücrelerin çoğaltıldığı biyoseramik skafoldlar yer değiştirilmiştir.

Kemikte kullanılacak olan skafoldlar için resorbe olma özelliği aranırken, kıkırdak da kullanılacak skafoldlar için resorbe olmayan materyal seçimi söz konusudur.

Skafoldlar için seçilecek ideal madde, hasarlı dokunun tamiri için gerekli olan büyüme faktörü almaçlarıyla seçici olarak etkileşime girebilmelidir. Skafoldlar ,hedef hücrelerin hasarlı bölgeye göç etmesinde öncülük edebilir, hücreleri gelişmeleri ve farklılaşmaları yönünde uyarabilirler.

Doku üretimi, materyal yüzeylerinde gerçekleşeceği için, yapılan çalışmalar, öncelikle yüzeyinde hücrelerin üreyebileceği çeşitli destek malzemelerin geliştirilmesi ve daha sonra bu yüzeylerde hücrelerin üretilerek üç boyutlu doku özelliğinin kazandırılması şeklindedir. Bu konuda önemli diğer bir nokta, çalışmalarda kullanılan polimerik desteğin parçalanma hızıdır. İdeal durum, hücreler ürerken yapının da parçalanmasıdır. Örneğin, poli (laktik asit-glikonik asit) (PLGA) kopolimeridir ve laktik asit/glikonik asit miktarları ayarlanarak istenilen parçalanma hızına ulaşılması mümkün olmaktadır.

Destek biyomateryal, genellikle sentetik ya da doğal kökenli bir polimerik maddedir. Sentetik polimerlerin ucuzlukları, işlenebilme kolaylıkları ve çeşitli özelliklerinin (örneğin mekanik özellik, bozunma hızı, hidrofobite, vb.) iyileştirilebilmesi gibi avantajları vardır. Doğal polimerler ise, biyolojik çevreyle yüksek uyumluluk (biyokompatibilite) göstermeleriyle dikkat çekerler. Son yıllarda yapılan araştırmalarda bu iki polimerik yapının avantajlarından birlikte yararlanmak üzere yeni sentez yöntemlerinin bulunmasına çalışılmaktadır.

Kemiğin yeniden modellenmesi dokuya yanıt süresince uygulanan kuvvete göre incelenebilir (1). Osteoblast formasyonunun artışına paralel olarak kemik formasyonu gerçekleşmektedir. Kortikal kemikte yeniden modellenme işlemi, çoğunlukla, osteoklastların harvens kanallarına açtığı osteoblastlar tarafından doldurulan osteonel tünellerinden meydana gelmektedir (2,5). Bu kanallar 100–200 µm genişliğinde ve 10 mm uzunluğundadır. Konsellous kemikte ise 60–70 µm derinliğinde trabeküler yüzey boyunca aşınma yaratan osteoklastlar tarafından gerçekleşmektedir.

Osteoblastlar tarafından yapılan bu kemik formasyonu özellikle tip-I kollajen ve osteopontin, osteokalsin, osteonektin gibi kollajenöz olmayan proteinlerin serbest kalması ve sentezi gibi işlemleri içerir (3,5).

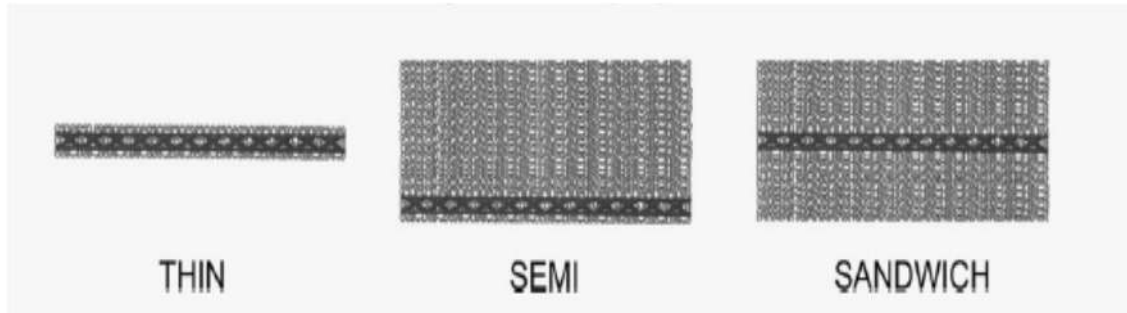
Ortopedi alanında kullanılan biyomateryaller, biyoyumluluk ve biyomekanik kriterleri açısından önemli bir yer tutmaktadır (4).

Yapılan implant malzemelerin biyokarakteristiği kimyasal kompozisyonuna, yüzey dokusuna, porozitesine ve şekline oldukça bağlıdır. Biyolojik sistemlerin birbiriyle olan etkileşimini, hücreler arası tutunmayı ve adhezyonu sağladığı, dolayısıyla da, hücre morfolojisine önemli etkileri olduğu için çeşitli biyomateryaller geliştirilmektedir (5,6). Doku mühendisliğinde metal, biyoaktif seramik ve biyobozulabilen polimer gibi biyolojik ve sentetik tabanlı materyaller kemik-doku yapılanmasında kemik doku yapı iskeleti olarak kullanılmaktadır (5,7,8). Biyomateryallerde yüzey özellikleri; hücre adhezyonu, çoğalmı gibi hücre etkileşimlerinde büyük bir rol oynamaktadır. Birçok sentetik polimerlerin yüzey karakteristiğinin hidrofobik olması biyoyumluluğu ters yönde etkilemektedir. Bu yüzden yapı iskelet üretiminde hücre çoğalmını arttıran por boyutu, porozitesi ve yüzey hidrofilitesi önemli bir rol oynamaktadır (5,8).

Ostekalsin ekspresyonunda ve ALP aktivitesinde osteoblast aktivitesi indikatör olarak görev yapmaktadır. Tip I kollajen gibi ekstraselüler matris molekülleri osteoblast çoğalmında ve farklılaşmasında temel rol oynamaktadır (9). Kemik doku yapı iskelet uygunluğu gözenekli yapı elverişliliğine, hücre ile sentetik materyal arasındaki etkileşimi arttıran yüzey

modifikasyonuna bağımlıdır (5,10,11). Yapılan nano düzeydeki çalışmalar yapı iskeletlerinin kemik doku yapılanmasında tip I kollajenin morfolojik yapısını çok rahat taklit edebileceğini göstermiştir. Ayrıca 3-boyutlu bu nano iskeletlerin hücre çoğalmasını tetiklediği bilinmektedir (12). Liu ve ark. hücre tutulumunun membran karakteristiğine göre değiştiğini, partiküllü membranlarda porozlu ve yoğun membranlara oranla hücre tutunmasının daha fazla olduğunu göstermişlerdir (5,10). Yaptıkları partiküllü PLLA membranın iyi bir substrat görevi de görebildiğini saptamışlardır. Yüzey yapısının değişimi ile polimer kristalizasyonunda farklılık göstermektedir. Çok net olmamakla birlikte, kristalizasyon bozunum oranını azaltmaktadır. Mikro yapının tasarımı biyolojik ve biyomekanik yapının yanı sıra rejenerasyonu da etkilemektedir (5,13).

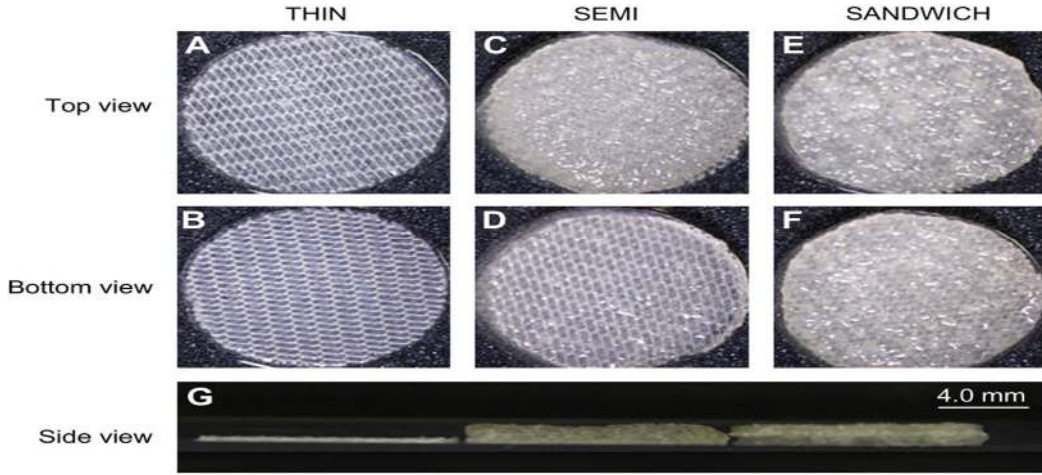
Gözenekli mikro yapının geometrisi, rejenerasyon işlemi sırasında ve sonrasında, biyobozulabilen iskelet yapının mekanik fonksiyonlarının kontrolü için anahtar bir faktördür. Üç boyutlu yapı iskeleti, therapeutic hücreleri serbest bırakmada, hasarlı bölgeleri saptamada ve doku onarımında bir araç olarak kullanılabilir (5,14). Kemik doku mühendisliği, öncü hücrelerin farklılaşmasını optimize ederek ve üç boyutlu yapı iskeleti üzerinde ekstraselüler matris (ECM) fonksiyonunu geliştirerek hücre-materyal yapımını fonksiyonel olarak sağlamaktır. İskelet üzerine ekili hücrelerin ürettiği doğal matrisin, yeni doku yapısı oluşana kadar, ekstraselüler matris görevi görmesi kemik doku yapı iskelet tasarımının başlıca amaçlarından biridir. Hücre popülasyonu ve matris yapı iskeleti, hücre kültürünü desteklemede ve implantasyonun dokuya eşdeğer olmasında, doku mühendisliğindeki önemli yaklaşımlardandır (5,15).



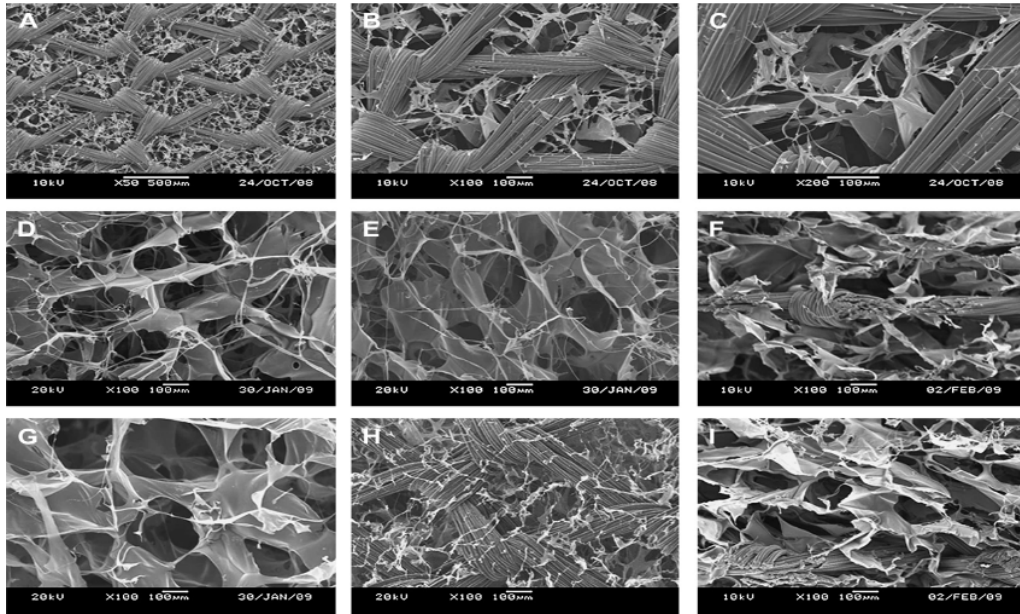
Şekil-2 PLGA/kollajen hibrid yapı iskelesi dizaynının 3 şematik çizimi. Siyah: PLGA örgüsü; Gri: tip I kollajen sünger yapı.(Dai ve ark., 2010, p. 2142.)

İdeal bir kemik doku yapı iskeleti hücre ile uyumlu olmalı, hücreler homojen dağılmalı ve matris sentezine izin vermelidir (16). Osteoblast hücrelerinin farklı substrat kullanımına bağımlı gelişiminde adezyon büyük bir rol oynamaktadır (5,6). MG-63 hücreleri üzerinde

yapılan bir çalışmaya göre yüzey morfolojisinin hücre adhezyonunda ve büyümesinde önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir (10). Kemik doku yapı iskeleti üretiminde de substratın hücre adezyonu, farklılaşması ve çoğalımında önemli olduğu düşünülmektedir. Nicel yaklaşımlar adhezyonun doku-biyomateryal arasındaki ilişkiyi, hücre morfolojisini ve biyomekanik özellikleri etkilediğini göstermiştir (5,6).



Şekil-3 3 Farklı Yapıdaki PLGA/Kollajen Hibrid Yapı İskelelerinin Brüt Görünümü.



Şekil-4 3 Farklı Yapıdaki PLGA/Kollajen Hibrid Yapı İskelelerinin SEM Görüntüleri.

A,B,C:Thin Yapı İskelesinin Üst Görünümü D,G: Semi ve Sandwich Yapı İskelelerinin Üst Görünümü E,H: Semi ve Sandwich Yapı İskelelerinin Alt Görünümü F,I: Semi ve Sandwich Yapı İskelelerinin Kesitsel Görünümü (Dai ve ark., 2010, p. 2143.)

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik ve Yapısı:

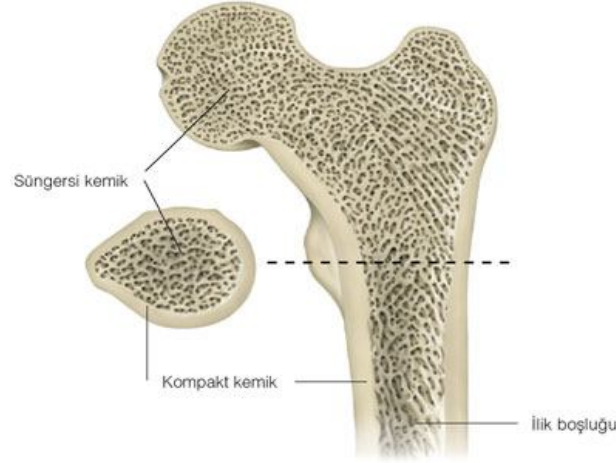
Kemik ekstraselüler matris, lif ile birlikte hücrelerden oluşan bir yapıdır. Bu ekstraselüler matris iki fazdan oluşmaktadır (5,17). Kollajen ve glikosaminglikanlardan oluşan osteoidler yani organik faz, kalsiyum fosfattan oluşan mineral yani inorganik faz. Lif yapı ise kollajenden oluşmaktadır. Çoğunluğu tip I, az miktarda da tip III ve Tip VI den oluşan kollajen, kemiğin ana bileşenini oluşturur. Kemiğin %67'sini inorganik bileşenler (kalsiyum, potasyum, sodyum, magnezyum, karbonat ve fosfat), %33'ünü ise organik bileşenler oluşturmaktadır (18). Farklılaşmamış hücreler olan osteoprogenitor hücreler, kemik biçimlenmesini sağlayan osteoblastlar, kemik yıkımını sağlayan osteoklastlar ve hücre korunumunu sağlayan osteositler kemiği oluşturan hücrelerdir (5,17). Osteoblast ve osteositler fibroblast ve mezanşimal hücrelerin öncüsü, osteoklastlar ise monosit veya fagosit gibi kan hücrelerinin öncüsüdür.

Kemik hücreleri iki tip doku üretirler; düzenli yönlenmiş lameller (sekonder) yapı ve rastgele yönlenmiş primer yapı (18). Primer kemik (olgunlaşmamış kemik); gelişigüzel kollajen ipliklerden oluşmuş olup lameller yapıya oranla az mineral içeriklidir. Birbiriyle ağzlaşan kemik trabeküllerinden oluşmuştur. Trabeküllerin aralarında, içleri kemik iliği ile dolu labirent gibi düzensiz süngerimsi boşluklar vardır.

Sekonder kemik (olgunlaşmış kemik, kortikal kemik); kemik lamellerinden oluşmuş lamelli bir yapıdır (Şekil-5) (5,17). Düzgün biçimde kollajen iplikler komşu lameldekiler ile çapraz yönde ve spiraller biçiminde yerleşmiştir. Sekonder kemikte, kemik lamelleri duran damar kanalları etrafında iç içe yerleşmiş silindirik birimler oluşturmaktadır (18). Bu yapıya havers sistemi veya osteon denir. Kemiklerin yeniden modellenme işlemi havers kanallarının (osteon) oluşumuna bağlıdır. İki adımda gerçekleşen bu şekillenme işleminde ilk adımda kemik yıkımını sağlayan osteoklastlar küçük kanallar açar, ikinci adımda ise kan damarları ve osteoblastlar açılan bu kanallara hücum eder. Sekonder kemikte havers kanalı ve volkman kanalı olmak üzere iki türlü damar kanalı vardır. Havers kanalı, havers sisteminin merkezinde uzunlamasına yer alan birbirleri ile bağlantı kanallardır. Dikey veya eğri yönde seyreden kanallar ise volkman kanallarıdır. Havers kanalları, volkmann kanalları aracılığıyla da sürekli ilişki kurarlar (5). Volkman kanalları kemiğin periosteumdan ve endosteumuna kadar uzanır (Şekil-6a, Şekil-6b).

Sekonder kemikten yapılmış kalın duvarlı boşluğa medüller boşluk (ilik boşluğu) denir (18). İnce bir kompakt kemik tabakasıyla kaplanmış süngerimsi kemik epifizleri, uzun

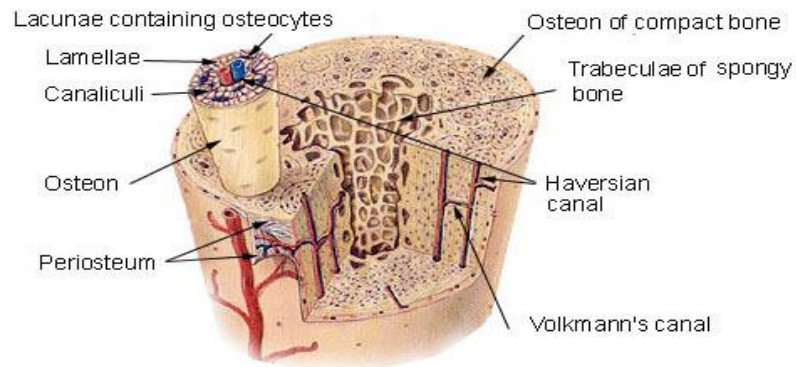
kemiklerin şişkin uç kısımlarını oluşturur. Kemiklere bu uzunluğu veren kısımlara ise diyafiz adı verilir. Kompakt kemikten oluşur, sadece kemik iliğine bakan yüzeylerde çok az süngerimsi kemik bulunur. Kemiğin dış yüzeyini periosteum adı verilen yüzey oluşturur. Birçok lameller kemiğin yığılması ile bu dış yüzeyde ince kortikal tabakayı şekillendirir. Kemiğin iç yüzeyinde ise endosteum yüzey vardır (Şekil-6b). Genelde iki veya üç lameller tabakadan oluşmaktadır. Endosteum, ince spikül formda olup primer osteonlardan oluşan konsellous (spongioz, süngerimsi) kemiği oluşturur (5).



Şekil-5 Süngerimsi ve kortikal kemik

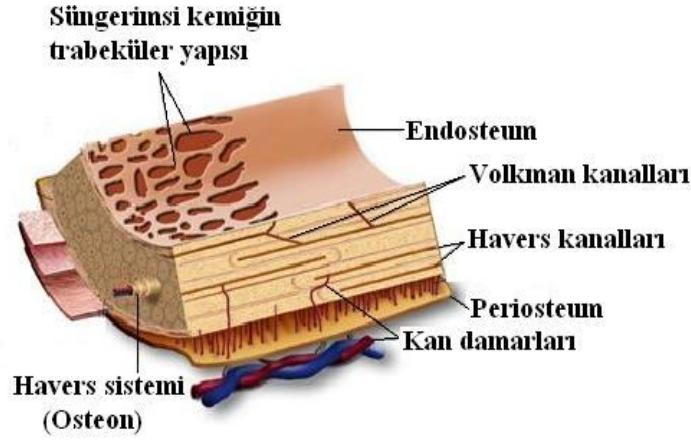
(<http://www.saglikpark.com/>)

Compact Bone & Spongy (Cancellous Bone)



Şekil-6a Havers ve Volkman kanalları

(<http://de.wikipedia.org/w/index>)



Şekil-6b Kemik içyapısı (<http://ocw.mit.edu/OcwWeb/Health-Sciences-and-Technology/HST-523JSpring-2004/CourseHome/index.htm>)

2.1.1 Osteoprogenitor Hücreler (Öncü Hücreler):

Kemik dokuda, doğum sonrasında mitoz bölünme yapabilecek, yapı ve işlev bakımından gelişkin, farklılaşmamış hücre toplulukları vardır (5,18). Bu hücelere osteoprogenitor veya osteojenik hücreler denir. Bunlar kemik hücresi olma yönünde koşullanmış mezenşim hücrelerdir (Şekil-7, Şekil-8). Bu hücreler kemiklerin normal büyümesi sırasında aktiftirler. Kemikte yaralanma ve kırıkların iyileşme bölgelerinde ve kemiğin yeniden düzenlenmesi sırasında aktive edilerek mitozla bölünüp çoğalırlar. Çoğalan bu hücrelerin bir bölümü kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür. Osteogenez (kemik yapımı) durduğunda osteoblastlar da osteoprogenitor hücelere dönüşebilir (5).

2.1.2 Osteoblastlar:

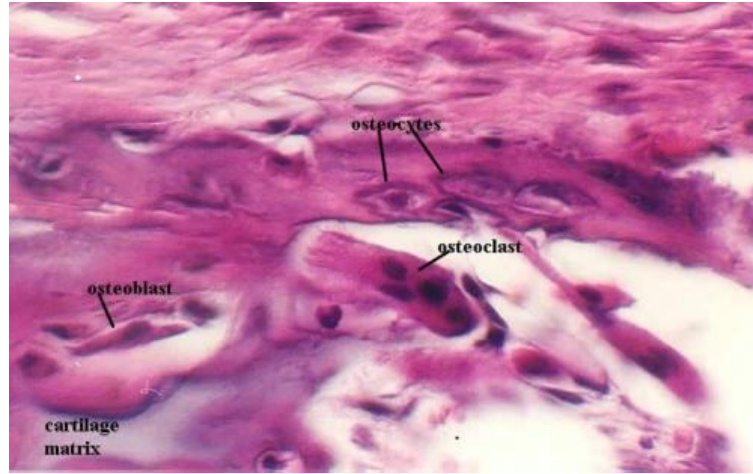
Kemik oluşumundan sorumlu hücrelerdir (Şekil-7, Şekil-8) (5,18). Osteoblastlar genellikle endoplasmik retikulum ile çevrelenmiş çekirdeği olan küboit hücrelerdir (17). Osteoprogenitör hücrelerin farklılaşması sonucu oluşurlar. Kemik matrisini sentezlerler. Yüksek metabolik aktiviteye sahip hücrelerdir. Histokimyasal olarak osteoblastlar alkalın fosfataza duyarlı hücrelerdir. Bu da kemik matrisinde kalsiyum depolanmasını osteoblastların düzenlediğini gösterir. Bu hücreler kemik matrisinin organik kısmını yani kollajen fibrilleri, proteoglikanları, glikozaminoglikan ve glikoproteinleri salgılar. Henüz kireçleşmemiş olan bu tür organik maddeye osteoit denir. Osteoblastlar salgıladıkları osteosit içinde gömülü kalır. Yeni aktif kemik oluşumu durduğunda, osteoblastların aktiviteleri önce yavaşlar sonra durur. Şekilleri yavaş yavaş değişmeye başlar ve iğ şeklinde hücelere dönüşürler. Sonunda da osteosit haline geçerler (5,18).

2.1.3 Osteoklastlar:

Osteoklast hücreleri 100µm çapında, elli çekirdekli, kemik iliği kökenli dev hücrelerdir (Şekil-7, Şekil-8) (17). Histokimyasal olarak yüksek lizozim içeriğinden anlaşılabacağı gibi asit fosfataza duyarlıdır. Kemik rezorbsiyonundan sorumludurlar. Kemikğin yeniden biçimlenme süresince çözünüp çevre dokularca emilmesinden sorumlu bu hücreler, kalsiyumun kemik dokusundan kana salınmasında aktif rol oynar. Bu hücrelerin mekanik olarak yıkıcı ve hatta yüksek derecede fagositoz özelliğı sahip oldukları bilinmektedir (5,18).

2.1.4 Osteositler:

Ana kemik hücresidir ve osteoblasttan gelişirler. Kalsiyum tuzlarının birikmesiyle kireçleşmiş kemik matrisi içinde hapsolan osteoblastlara osteosit denir (Şekil-7, Şekil-8) (18). Dolayısıyla osteositler, tamamen oluşmuş kemikte esas hücrelerdir. Yassı şekilde bir yapıya sahip bu hücreler ince stoplazmik uzantılara sahiptirler. Osteositlerin, kemikğin diğerk hücre tiplerine dönüşebilme özelliğı vardır. Kemik yıkımı sırasında osteoprogenitor hücreler bunlarda osteoblastlara dönüşebilir (5).



Şekil-7 Kemik hücreleri (<http://www.baileybio.com>).



Şekil-8 Kemik hücreleri ve öncü hücreler

(<http://www.roche.com/pages/facets/11/ostedefe.htm>)

2.2 Yapı İskeleti:

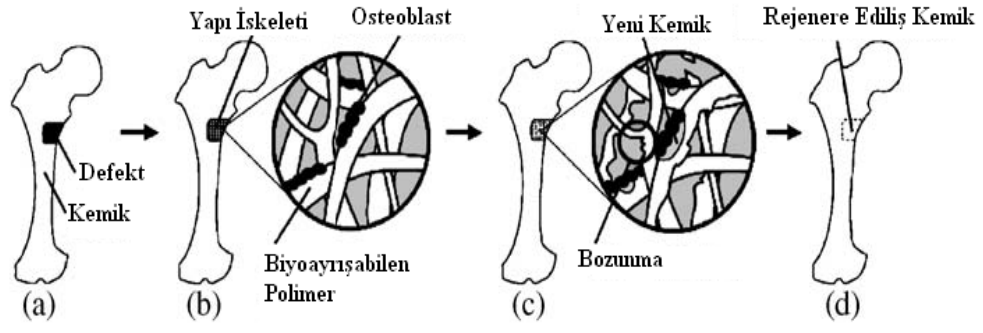
Çalışmaların büyük bir kısmı, biyolojik olarak parçalanabilen kemik doku yapı iskeleti ve hidrojel kullanılarak, kırık doku mühendisliği üzerine yoğunlaşmıştır (19). Bunlar, kollajen, glikozaminoglikan, hyaluronik asit, agros, jelatin ve alginat asitlere dayanan, çok çeşitli tabii jeller ve hidrojelldir (5,15,20,21). Polilaktik, poliglikolit ve bunların kopolimerleri gibi polihidroksiasitler de çeşitli geometrilerde üç boyutlu yapı iskeletleri olarak kullanılmaktadır (15). Bunlara ilave alternatif olarak elastomerik poliüretanlar biyomedikal mühendisliğinde idealdir. Yapı iskeletinde kimyasal kompozisyonların üretimi, mekanik özellikleri, elastikliği, dayanıklılığı belirlemede önemli bir faktördür. Son zamanlarda yapılan araştırmalar (5,22), kalsiyum fosfat kemik doku yapı iskeletlerinin doku mühendisliği için daha faydalı olabileceğini ve polimer-alginat kompozitlerin kırık doku mühendisliklerinin her ikisi için de hibrid jel/kemik doku yapı iskeletleri olarak önerilebileceğine işaret etmektedir.

Genellikle osteoblast kültüründeki PLLA substratları yoğun ve düz yüzey morfolojisine sahiptirler (10). PLLA, toksitesi olmayan ve biyobozulabilen özelliğinden dolayı, kemik rejenerasyonunda ve iyileşiminde, hücre adhezyonunda ve büyümesinde tercih edilebilir özelliğe sahiptir (Şekil-9). Yinede hızlı bozunması, bozunurken asidik özellik göstermesi ve hidrofobik olması zayıf özelliklerindendir (5,23). İki çeşit biyobozulabilen polimer vardır: natürel tabanlı nişasta, aljinat, chitin/chitosan, hyaluronik asit türevleri gibi polisakkaritler ve lignoselulozik gibi takviye elemanlar olan biyofiberler (5,24,25). Hidroksiapatit/kollajen

kompozit kemik doku yapı iskeleti geniş ölçüde çalışma alanına sahiptir. Çünkü hidroksiapatit ve kollajen kemikte bulunan doğal komponentlerdir (23). Fakat mekanik özellikleri normal kemikten daha düşüktür. Ayrıca, kemik doku yapı iskeleti bozunumu süresince kompresif yüklerde hızlı bir düşüş gösterir. Dolayısıyla bu tür kemik doku yapı iskeleti 40 mm üstündeki bozunmaları tamir etmekte oldukça zorlanır (5).

Çalışmalar, üç boyutlu kemik doku yapı iskeleti ile iki boyutlu hücre kültürü araştırmalarının farklı olduğunu göstermiştir. Osteoblast hücre kültürü çalışmaları için üç boyutlu tip I kollajen matrisi iyi bir biyolojik yapı olabilmektedir (17). Çünkü tip I kollajen, kemikteki ekstraselüler matrisin önemli bir organik komponenti olup osteoblast fenotip ekspresyonunda etkin bir rol oynamaktadır. Ayrıca osteogenik farklılaşma ve mineralizasyonunda teşvik edicidir (26,27). Bozunma oranı, patojen iletimi ve mekanik özelliklerin kontrolü açısından, tip I kollajen, doku yapılanmasında kilit bir rol oynamaktadır (5,12).

Kollajen, birçok dokunun, temel ECM bileşenidir ve lifli yapısının hücre bağlanmasındaki önemi uzunca bir süredir bilinmektedir (28,29). Yüzeyi muamele görmüş bir kemik doku yapı iskeletinin elde edilmesi iki adımda gerçekleşir: üretim ve yüzey değiştirme (5,28). Bununla birlikte, mevcut yüzey değiştirme metodlarının büyük bir bölümünün üç-boyutlu kalın yapı iskeletlerine uygulanması oldukça zordur. Bu durum, hem verimde düşme hem de istenmeyen mekanik özellik değişimlerine sebebiyet verebilir. Bu yüzden, tip I kollajenin, kemik doku mühendisliğinde kemik doku yapı iskeleti olarak kullanımı tercih edilmektedir (30). Kemikteki kollajen, bağ dokusundakine benzer. Yaklaşık 500–700 Å çapında ve 670 Å' da bir çizgilenme gösteren fibrillerdir. Diğer dokulardan kolayca ekstrakte edilmeye kullanılan çözücülerde çözünmez; sulu asit çözeltilerinde şişmez. Bu durum, moleküller arası bağlanmanın oldukça kuvvetli olduğunu gösterir. Çok sert olmasına karşın, kemiklerin kolay kırılmasını sağlayan ögeler, bu kollajen fibrillerdir. Kollajen fibriller hidroksiapatit kristallerinin oluşumu için organik bir çerçeve görevi görür. Bu kristaller, kollajen fibriller üzerinde minik tabakalar ve çubukçuklar oluşturacak şekilde birikir. Protein-kristal kombinasyonu kemiğin güçlü, yerine göre esnek ve kırılmaya çok dayanıklı sağlam bir doku olmasına yol açar (5,18).



Şekil-9 Biyobozunabilen gözenekli yapı iskeletinin kemik rejenerasyonundaki işlemi.

(Adachi ve ark., 2006, p. 3965.)

3.GEREC VE YÖNTEM:

3.1 Araştırmanın Tipi

Araştırmanın tipi tanımlayıcı niteliktedir.

3.2 Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Biyomekanik Anabilim Dalı'nda Ekim 2011-Kasım 2011 tarihleri arasında yapılmıştır.

3.3 Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Bu araştırmada ortopedi alanında kemik defektlerinde mevcut olan ve kullanılan yapı iskelelerinin yapısal ve biyomekanik özellikleri karşılaştırılmış ve yeni geliştirilen multi-layer yapı iskelelerinin üstünlükleri araştırılmıştır.

3.4 Çalışma Materyali

Araştırmada kullanılacak olan yapı iskelesinin materyalleri PLLA, Chitin ve Selüloz'dur. Laboratuvarımızda mevcut olan malzemelerdir. Çalışmanın *in vitro* bölümünde kullanılacak olan hücreler MG-63 ve SW-1353 hücre hattı şeklindedir. Laboratuvarımızda mevcuttur.

3.5 Araştırmanın Değişkenleri

Araştırmada bağımsız iki grup olacaktır. Bağımsız gruplardan biri kontrol grubu, diğeri de yapı iskeleti grubudur.

3.6 Veri Toplama Araçları

Projede Kullanılacak Mevcut Makine – Teçhizat Listesi (*)	
Adı/Modeli	Projede Kullanım Amacı
Inkübatör/ Heraus, Heracell 150	Hücrelerin steril ortamda saklanması için kullanılacaktır.
Santrifüj/ Hettich, Universal 32	Hücre süspansiyonlarının ayrıştırılmasında kullanılacaktır.
Laminal flow/ Nüve, MN 120	Hücre kültürü deneylerinin steril ortamda yapılacağı yerdir.
Su banyosu/ Memmert, WB 7	Kültür için gerekli olan kimyasalların çözüleceği ortam.
Inverted mikroskop, Olympus CKX41SF,	Hücrelerin yapısının incelenmesi için kullanılacaktır.

Japonya	
-40°C derin dondurucu/ GLE30	Kültür için gerekli olan kimyasal ve sarf malzemelerin saklanacağı ortam.
+4°C buzdolabı/ Indesit, T5	Kültür medyumların saklanacak.
Transmisyon elektron mikroskobu (TEM)/ Zeiss Libra 120	Hücre içi görüntü elde edilecek.
Taramalı elektron mikroskobu (SEM)/ JEOL, JSM-6060	Yüzeysel hücre morfolojisi görüntülenecek.

3.7 Araştırma Planı



3.8 Verilerin Değerlendirilmesi

Veriler istatistiksel olarak SPSS programında değerlendirilecektir.

3.9 Araştırmanın Sınırlılıkları

MG-63 ve SW-1353 hücrelerinin PLLA/Selüloz/Chitin yapı iskelesine ekimi sonucunda, hücrelerin yapı iskelesine tutunup proliferasyonunun sağlanması ve sandviç şeklinde tabakalı bir yapı oluşması durumunda projemiz tam anlamıyla başarıya ulaşmış sayılacaktır. Kemik dokusunun epifiz plağından diyafiz plağına geçişte oluşan doku hasarlarının tamiri için, bu geçiş safhasını taklit edebilen yapı iskeleleri oluşturulması, söz konusu projenin başarıya ulaştığını ortaya koyan en önemli ölçüt olacaktır.

Projenin önerildiği şekilde yürütülmesini önemli ölçüde aksatacak öngörülmemiş gelişmelerle karşılaşılması durumunda, yapı iskelesi tipinde değişiklik yoluna gidilecektir.

3.10 Etik Kurul Onayı

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 29.09.2011 tarih ve 338-GOA protokol numaralı 2011/ 32-09 karar numarası ile etik kurul onayı verilmiştir.

3.11 Osteokondral Defektler ve Yapı İskeleleri

Eklem kıkırdığı, diartrodial eklemlerin elastik yapıda yük taşıyan materyalleridir (5,31,32). İskelet üzerine gelen sarsıntıları ve darbeleri emerek kemikleri erozyonlardan korurlar ve eklem kayma hareketini sağlarlar (31,33). Normal erişkin eklem kıkırdığı beyaz, düz, parlak ve saydamdır. Kan damarlarından, lenf damarlarından ve sinir ağından yoksundur. Beslenmesi sinovial sıvı ile olur (33). Bu nedenle sinovial bir reaksiyon oluşmadıkça mekanik ya da kimyasal bir eklem yaralanmasından söz edilemez (33,34,35). Kıkırdak ve subkondral kemiğin ikisini birden içeren yaralanmalar, osteokondral defekt olarak isimlendirilmektedir (33,35,36,37). Osteokondral defektler çoğunlukla travma, osteokondritis veya osteonekroz sonucu meydana gelirler (5,31,33,34,37,38,39). Diz eklemindeki kıkırdak yaralanmaları, kıkırdak dokusu ile sınırlı lezyonlara (kondral) neden olabileceği gibi kıkırdak ve subkondral kemiğin (osteokondral) ikisini birden içeren osteoartritlere de yol açabilirler (31,35,37). Osteokondral defektlerin tedavi edilmezlerse lezyonların iyileşmesinde yetersizlik görülür. Eklem yüzeyinin büyük bir kısmını içeren defekt olgularında ise eklemde dejenerasyona kadar varan hasarlar oluşabilir (5,31,34,35,37). Osteokondral defektlerin tedavisinde çok değişik şırıjikal ve biyolojik kaynaklı tedavi yöntemleri mevcuttur. Bunlardan eklem yüzeyini yenileme teknikleri (debritleme ve lavaj, subkondral kemiğin oyulması, mikro kırık ve aşındırma artroplastisi) kıkırdak onarımına yardım etmek için kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler hasarlı bölgelerdeki kıkırdığın tam olarak onarılmasında yetersiz kalırlar. Ayrıca bu teknikler dejeneratif artroplastinin gelişimini önleyemediği gibi hiyalin kıkırdığın onarımını da sağlayamazlar (31,34,35,37). Kallo-osseöz greftler (39), heterolog ve otolog kondrositler (32,35,40), perikondrium, periosteum (41,42,43) otojen kansellöz greftler (38,44) ve farklı polimer içeriklerinden oluşan yapı iskeleleri osteokondral defektler için uygun sağaltım materyalleri olarak görülmektedir (5).

Doku mühendisliğinde temel prensip, hastadan veya baska bir vericiden alınan hücrelerin “biyouyumlu/biyobozunur” polimerik bir yapı iskelesi üzerinde uygun hücre/doku kültür ortamında geliştirilip üç boyutlu dokuların vucuttaki doğal ve en yakın formda üretilmesi, bu dokuların hasarlı dokuları onarmak için kullanılmasıdır. Doku mühendisliği alanında alınan patentler incelendiğinde 1990 yılında dünyada toplam 20 patent alınmış iken bu sayının 2001 yılında 100’u aştığı görülmektedir (45). Bu hızlı artış, bu bilim dalının büyük bir ivme ile endüstriyelendiğini göstermektedir. Günümüz doku mühendisliği klinikte kullanılabilecek çeşitli ürünlerin geliştirilebileceği aşamaya gelmiştir. Kıkırdak, kemik, damar, kalp kapakcığı, gecici karaciğer destek sistemleri ve pankreas konusunda klinik çalışmalar halen devam etmektedir (46).

Table 1. Methods used to process biomaterials into tissue engineering scaffolds.

Fabrication technique	Requirement for materials	Reproducibility	Scaffold architecture	Biomaterials	Problems	Reference
Impregnate sintering	Withstand high temperature	Sensitive to sintering	Pore size: 200 ~ 1000 μm ; porosity: >50% foam dependent	HA, TCP	Brittle	(Lee and Kim, 1996; Liu, 1997; Meenan <i>et al.</i> , 2000; Meenen <i>et al.</i> , 1992; Wells <i>et al.</i> , 1996),
Solvent casting and particulate leaching	Soluble in cell non-toxic solvent	User and materials dependent	Pore size: 50 ~ 1000 μm ; porosity: 30 ~ 90%	PLA, PLGA, collagen and so on	Solvent toxicity Particulate remanet	(Chen <i>et al.</i> , 2001; Miko <i>et al.</i> , 1994)
Phase separation/emulsion in combination with freezing drying/critical point drying	Soluble in cell non-toxic solvent	Emulsion formation sensitive to stirring	Pore size <200 μm ; Porosity: 70 ~ 95%	PLGA, PLA, PLLA and collagen	Solvent toxicity Pore size difficult to control	(Whang <i>et al.</i> , 1995; Zhao <i>et al.</i> , 2002)
Fiber knitting/non-woven/bonding	Fiber	Machine control Solvent sensitive	Interconnected channels, 20 ~ 100 μm in diameter	PVA, PLA, PLGA	Lack of rigidity	(Cooper <i>et al.</i> , 2005; Cooper <i>et al.</i> , 2005 2000; Ouyang <i>et al.</i> , 2003)
Solid free form	Low melting point and thermoplastic	Computer control	Interconnected channels Complex shape and structure >150 μm Customer based	PEG, PLA, PLGA Collagen, starch, HA, TCP	Costly	(Calvert <i>et al.</i> , 1998; Chu <i>et al.</i> , 2002; Das <i>et al.</i> , 2003; Hollister <i>et al.</i> , 2002; Hoque <i>et al.</i> , 2005; Hutmacher <i>et al.</i> , 2004; Khalil <i>et al.</i> , 2005; Lin <i>et al.</i> , 2004; Sachlos and Czernuszka 2003; Taboas <i>et al.</i> , 2003; Woodfield <i>et al.</i> , 2004)

Tablo-1 Doku Mühendisliğinde Kullanılan Yapı İskelelerine Biyomalzemeleri İşlemek İçin Uygulanan Yöntemler (Liu ve ark., 2007, p. 1055.)

Materials	Fabrication methods	Target organ	Pore size (μm)	References
PLGA/collagen/chitosan	Solvent casting/salt-leaching method	Bone	125–500	Wu et al. (2006)
PLA/apatite/collagen composite	Phase-separation techniques	Bone	100–320	Chen et al. (2005)
PCL/fibrin glue	Lay-down pattern (honey comb-like pore)	Osteochondral (cartilage)	380 × 430 × 540 μm ³	Shao et al. (2006)
PLGA/bioactive glass microsphere	Microsphere, heating mold, porous scaffold	Bone	350–500	Yao et al. (2005)
Poly(propylene fumarate)/PLGA-PEG microparticles	Salt leaching	Bone	–	Hedberg et al. (2005)
PLA/β-dicalcium silicate	Particle leaching	Bone	100–500	Cheng et al. (2005)
PLA/calcium metaphosphate	Sintering method	Bone	100–400	Jung et al. (2005)
poly(L-lactic acid) (PLLA)/HA/collagen + chitin fibres	Ultrasonication and lyophilized	Bone	~200	Li et al. (2005)
PLGA/HA	Gas forming/particle leaching	Bone	100–250	Kim et al. (2006)
Lower: PLGA/TCP Upper: 90% porous PLGA/PLA	TheriForm™ 3D-printing process	Osteochondral defect	40–150	Sherwood et al. (2002)
PLGA/collagen	Knitted mesh (PLGA), forming microsponge collagen	Cartilage	–	Chen et al. (2003)
PLGA/collagen hybrid sponge	Solvent casting/salt leaching, immersing in collagen solution	Cartilage	355–425	Sato et al. (2001)
PGA fiber/fibrin	Conventional freeze-drying method	Skin	300	Hokugo et al. (2006)
PLGA mesh/collagen gel	Collagen sponge or gel into the PLGA knitted mesh	Urinary bladder wall	–	Nakanishi et al. (2003)
PLLA braid/collagen coating	Collagen solution containing braids, freeze drying	Ligament	50–100	Ide et al. (2001)
PCL fiber/crosslinked pHEMA gel	Fiber-filled polymerization, etched acetone	Neural tissue engineering	100–400 (channel)	Flynn et al. (2001)
PLGA/chitin	Electrospinning	Keratinocyte/fibroblasts	–	Min et al. (2004)
PGA mesh/bioactive glass	Bioglass particle in distilled water (DW), immersed PGA mesh	Soft tissue	–	Day et al. (2004)
PLGA/Bioglass® tubular foam	Dispersion, freeze drying	Intestine, trachea, and blood vessel	~100	Boccaccini et al. (2005)
PLGA/HA/collagen	Phase separation	Guided tissue regeneration	–	Pan et al. (2005)

Tablo–2 Poly (α-hydroxyester) ailesi için biyoseramikler ve doğal polimerlerden oluşan hibrit yapı iskelelerinin listesi (G. Khang et. al. 2007)

Materials	Fabrication methods	Target organ	Pore size (μm)	References
Calcium phosphate/fibrin	Simple mixing	Bone	–	Nihouannen et al. (2005)
Keratin/HA	Carboxyl-sponge methods	Bone	1–5	Tachibana et al. (2005)
HA/Collagen	Ice crystal growth method	Bone	40.1 × 11 – 110 × 21.8	Yunoki et al. (2006)
HA/chitosan/gelatin + MSCs	3D: solid–liquid phase separation	Bone	70–110	Zhao et al. (2006)
Chitosan/collagen	Gas forming/freeze drying	Bone	~150	Gravel et al. (2006)
βTCP/collagen	Suspension, GA crosslinking/ freeze drying	Bone	~100	Zou et al. (2005)
Gelatin/HA	Co-precipitation of HA within a gelatin sol, freeze drying	Hard tissue	400–500	Kim et al. (2005)
PCL/CAp	Phase-inversion and salt-leaching technique	Bone	–	Taddei et al. (2005)
HA/starch	Composite	Bone	–	Marques et al. (2005)
Calcium phosphate/chitosan	Mannitol salt leaching	Bone	52.2–75.2%	Xu et al. (2005)
Bone-like hydroxycarbonate apatite/PLA	Particle leaching combined with a biomimetic processing	Bone	75%	Maeda et al. (2005)
PLA-PEG/HA + BMP	Polymer solution dropped on the IP-CHA	Bone	Hydrogel 10–40	Kaito et al. (2005)
Collagen/calcium phosphate layer	Laminating	Fibroblast	6–8 (thickness)	Yamauchi et al. (2004)
TCP matrix/HA nanofiber	Gel casting/polymer sponge method	Bone	300–400 (20 nm diameter fiber)	Ramay et al. (2004)
HA/PLLA	Thermally induced phase separation	Bone	50–100	Wei et al. (2004)
PDLLA/bioglass	Simple mixing	Bone/lung	10–100	Verrier et al. (2004)
HA/polyamide	Co-solution/co-precipitation	Bone	~300	Jie et al. (2004)
HA/PCL	Coating	Bone/DDS	150–200	Kim et al. (2004)
Poly(VA–VCI)–HA	Spin coat, photo-patterning	Hard tissue engineering	6–11 (thickness)	Tsutsumi et al. (2003)
PEEK/HA	Selective laser sintering rapid prototyping system	Bone	100–500 (thickness)	Tan et al. (2003)
Calcium phosphate/pHEMA	Mineralization technique	Bone	–	Song et al. (2003)
HA/Chitosan–gelatin	Phase separation	Bone	300–500	Zhao et al. (2002)
βTCP/chitosan	Solid–liquid phase separation	Bone	~100	Zhang et al. (2001)

Tablo–3 Biyoseramikler için polimerlerden oluşan hibrit yapı iskelelerinin listesi (G. Khang et. al. 2007)

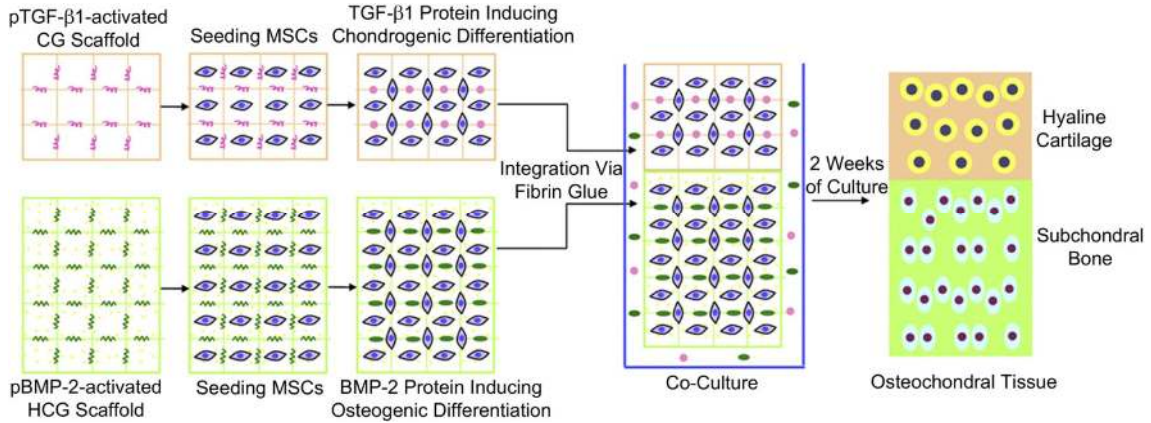
Materials	Fabrication methods	Target organ	Pore size (µm)	References
Chitosan/alginate	Freeze drying, crosslinked by CaCl ₂	Bone	100–200	Li et al. (2005)
HA/alginate	Neutralization technique	Bone	120–250	Tampieri et al. (2005)
Alginate/galactosylated chitosan	Freeze-drying technique	Liver	150–200	Seo et al. (2006)
β-chitin/collagen	Salt leaching/freeze drying	Fibroblast	260–330	Lee et al. (2004)
Collagen–alginate, collagen–hyaluronan	BoneSave®, Ostin®	Vocal fold lamina propria	–	Hahn et al. (2006)
Collagen/elastin/glycosaminoglycan	EDC crosslinking	Soft tissue	20–100	Daamen et al. (2003)
Chitosan/gelatin	Freeze drying/ice microparticle	–	20–102	Mao et al. (2003)
Gelatin/siloxane	Sol–gel/post-gelation soaking/freeze drying	Bone	5–500	Ren et al. (2002)
Collagen/PRP	Collagen scaffold (Lyostypt®)	Bone	–	Sarkar et al. (2006)
Fibroin/collagen	Simple mixing/freeze-drying method	Liver	127–833	Lv et al. (2005)
Collagen–GAG	Suspension, freeze-drying, crosslinking	Skin	95.0–150.5	O'Brien et al. (2005)
Hyaluronic acid/PEG hydrogel	Photopolymerization	Protein delivery	–	Leach et al. (2005)
Collagen/hyaluronic acid	EDC crosslinking-freezing drying	Soft tissue	40–230	Park et al. (2002)
Chitosan/hyaluronic acid	Wet spinning method	Cartilage	–	Yamane et al. (2005)
Gelatin/chondroitin/hyaluronic acid	Powder mixing, crosslinking, freeze drying	Cartilage	–	Chang et al. (2006)
Hyaluronan/gelatin hydrogel	Centrifugal casting	Vascular graft	–	Mironov et al. (2005)

Tablo–4 Doğal polimerler için diğer biyomateryallerden oluşan hibrit yapı iskelelerinin listesi (G. Khang et. al. 2007)

TİP I KOLLAJEN + GAG	13,91%	TİP II KOLLAJEN + GAG	16,97%
TİP I KOLLAJEN + PLLA	6,39%	TİP II KOLLAJEN + PLLA	8,24%
TİP I KOLLAJEN + PLGA	12,05%	TİP II KOLLAJEN + PLGA	10,03%
TİP I KOLLAJEN + TİP II KOLLAJEN	25,10%	TİP II KOLLAJEN + TİP I KOLLAJEN	25,10%
TİP I KOLLAJEN + HA	17,70%	TİP II KOLLAJEN + HA	15,60%
TİP I KOLLAJEN + CHİTOSAN	13,26%	TİP II KOLLAJEN + CHİTOSAN	15,45%
TİP I KOLLAJEN + FİBROİN	3,76%	TİP II KOLLAJEN + FİBROİN	2,29%
TİP I KOLLAJEN + POLİKAPROLAKTON	7,80%	TİP II KOLLAJEN + POLİKAPROLAKTON	6,52%

Tablo–5 Tip I Ve Tip II Kollajen İçeren Skafoldların Farklı Kombinasyonlarının İstatistiksel Analizi

Doku mühendisliği için 4 yaklaşım mevcuttur (47). Birinci yaklaşım yeni dokunun oluşumu için yalnızca biyomalzeme kullanırken, “hucre nakli” olarak adlandırılan ikinci yaklaşım yalnızca hücreleri kullanarak tedaviyi gerçekleştirmeyi amaçlamaktadır. Hücreler, canlı dokulardan yalıtılan kök hücreler olabileceği gibi, genetik olarak işlem görmüş hücreler de (bu durum gen tedavisi olarak adlandırılır) olabilir. Üçüncü yaklaşım hücre olmaksızın, biyomalzeme ile biyosinyal moleküllerini kullanmaktadır. Dördüncü yaklaşımki, bu üzerinde en çok çalışılan ve en çok kabul görmüş yaklaşımdır. Biyomalzeme, hücre ve biyosinyal moleküllerinin üçünü bir arada kullanarak doku oluşturmayı hedefler. Hücre üremesini yeni doku veya organları oluşturacak şekilde yönlendirmek ve gerekli mekanik desteği sağlamak için biyomalzemelerden 3-boyutlu doku iskeleleri üretilir.



Şekil-10 Mezenkimal kök hücreler kullanılarak pTGF-β1-aktif CG yapı iskelesi tabakası ve BMP-2-aktif HCG yapı iskelesi tabakasından oluşan kompozit osteokondral greft yapımının prosedürlerinin şematik gösterimi MSC: mezenkimal kök hücre, CG: kitosan-jelatin;

HCG: hidroksiapatit / kitosan-jelatin. (Chen J. ve ark. , 2011, p.4795)

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vucut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas ederler (48). Bu sebeple tipik bir biyomalzemede aranan özellikler biyoyumlu olması, toksik olmaması, biyobozunur ise biyobozunma ürünlerinin toksik etkiler göstermemesi, gerekli fiziksel özelliklere sahip olmasıdır. (mekanik dayanım, ıslanabilirlik, yoğunluk, vb.). Yapı iskelesi üretiminde kullanılan başlıca biyomalzemeler ‘biyobozunur polimerik malzemeler’dir. Biyobozunur

polimerler doğal ve sentetik olmak üzere iki cesittir. Doğal biyobozunur polimerler doğal malzeme bazlı polimerler olup; polisakkaritler/nisasta, alginat, kitin/kitosan veya proteinler (soya, fibrin, ipek) ve güçlendirici/destekleyici olarak kullanılan doğal fibriller olmak üzere sıralanabilir (49,50). Sentetik biyobozunur polimerler ise, kontrollü şartlarda üretilen ve bu nedenle genel olarak sergileyeceği davranışlar tahmin edilebilen; bozunma hızı, gerilme dayanımı, elastik modul ve bunlar gibi fiziksel ve mekanik özellikleri tekrarlanabilen malzemelerdir. Doymuş alifatik poliestерler doku mühendisliğinde üç-boyutlu yapı iskeleleri için en sık kullanılan biyobozunur sentetik polimerlerdir. Bu grubun içerisinde poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA), ve poli(laktid-ko-glikolit) (PLGA) kopolimerleri bulunur (51,52).

Table 2. Commonly used scaffolds and their biological performance.

Scaffold	Fabrication technique	Pores/porosity	Cells	In vitro/In vivo time (week)	Results	Reference
Poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA)	Fiber knitting	Fibrous	bMSCs	12 weeks in rabbit tendon defects	Defect healed	(Ouyang <i>et al.</i> , 2003)
PLGA	Phase inversion particulate leaching	0.1 ~ 2 mm	Bone marrow cells	6 weeks static <i>in vitro</i>	Macropores facilitate cells penetration	
Poly(lactic acid) (PLA)		0.6 ~ 1.5 mm; 93%	PC	2 weeks dynamic <i>in vitro</i>	Enhances the stability of the in seeded cells	(Giurea <i>et al.</i> , 2003)
Collagen-PLA	Phase separation		Porcine chondrocytes	15 weeks in static bioreactor	Superior in viability	(Wang <i>et al.</i> , 2004)
Poly(hydroxybutyrate valerate) (PHBV)	Particulate leaching + freeze drying	<0.5 mm	Chondrocyte	20 weeks in rabbits patellar groove	PHBV had better healing response than CaP-Gelfix®	(Kose <i>et al.</i> , 2005)
Galactosylated chitosan (GC)	Freeze drying	<200 µm	Hepatocytes	5 days in PS sich	Alginate (ALG)/GC better than ALG alone	(Chung <i>et al.</i> , 2002)
Agar hydrogels	SFF	0.5 mm strand, 39% porosity	Human osteosarcoma cell line and fibroblast	Static 96-well plates	Scaffold was entire covered by cells	(Landers <i>et al.</i> , 2002b)
Hydroxyapatite (HA)	SFF	40%, with channels	Mandibles	9 weeks <i>in vivo</i>	Bone penetrated 1.4 mm	(Chu <i>et al.</i> , 2002)
Tricalcium phosphate (TCP)	Indirect SFF	With channels	bMSCs	6 weeks in nude mice	Bone layer formed	(Wilson <i>et al.</i> , 2004)
PLLA/TCP	LDM	89%, with channels	bBMP	24 weeks <i>in vivo</i>	Goon bone conductivity	(Xiong <i>et al.</i> , 2002)
Collagen-glycosaminoglycan collagen	Freeze drying	110 ~ 200 µm	MC3T3-E1	48 h	96 ~ 150 µm pores are better	(O'Brien <i>et al.</i> , 2005)
	Freeze drying	80 ~ 144 µm	Fibroblasts	2 days in 24 well plate	Cytocompatibility was retained	(Ma <i>et al.</i> , 2004a)
Gelatin/hyaluronate	Impregnation	40 ~ 160 µm		3 weeks, dorsal skin of rat	Enhancement of wound healing	(Choi <i>et al.</i> , 1999)

Tablo-6 Yaygın Olarak Kullanılan Yapı İskeleleri ve Biyolojik Performansları
(Liu ve ark., 2007, p. 1057.)

Kompozit yapı iskelelerinde ise yapı iskelesi özelliklerinin iyileştirilmesi için iki veya daha fazla malzeme birleştirilerek dokunun fizyolojik ve mekanik ihtiyacı sağlanabilir.

Yapı iskeleleri, kendisini çevreleyen dokulardan göçen (migration) veya kendi üzerine ekilmiş hücrelerin gelişimini yönlendiren (doku iletimi), hücrelerin üzerine rahatlıkla tutunabildiği (adhesion), burada üreyebildiği (proliferation) ve farklılaşabildiği (differentiation) geçici taşıyıcı destek malzemeleridir. Bir yapı iskelelerinde olması gereken özellikler şu şekilde sıralanabilir:

- Biyouyumluluk: Kendisi ve bozunma ürünleri inflamatuvar, sitotoksik ve aşırı immunefektör olmamalı.
- Biyobozunurluk: Hidrolitik veya enzimatik olarak vücut içerisinde bozunmalı, bozunma ürünleri zararsız olmalı. Bozunma kademeli olmalı, ideal olarak bozunma hızı ile yeni doku oluşum hızı yakın olmalı.
- Morfoloji: 3-D doku oluşumu, metabolik artıkların ve besin maddelerinin kolay difüzyonu, büyük tutunma alanı sağlaması açısından boşluklu (poröz) olmalı (> %80). Por boyutları geliştirilecek yapıya göre farklılık göstermektedir (1-300 mikron). Yüzeyleri hidrofilik olmalı.
- Mekanik özellikler: Doku oluşumunun tamamlanması sürecince sağlam dokular arasında yük transferini sağlayacak sağlamlıkta olmalı.
- İşlenebilirlik: Kolay, ucuz, tekrarlanabilir, istenilen şekilde olmalı.

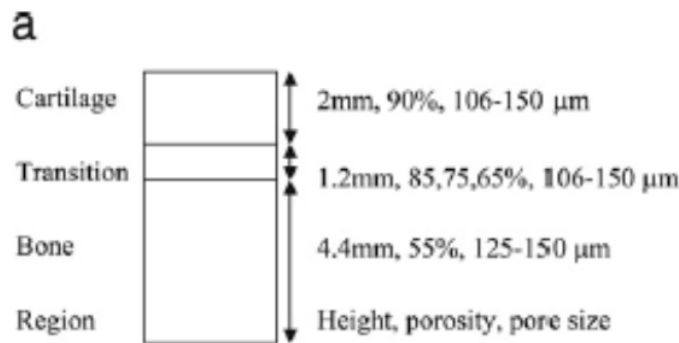
Ortopedik implant ara yüzeyleri gibi multi hücre tipleri ile organize edilmiş kompleks doku ve organ oluşturmak tek boyutlu yapı iskelesi oluşturmanın yanında hücrelerin metabolik ve morfolojik aktivitelerini desteklemekte idealdir (53,54,55). Farklı fiziksel ve kimyasal özellikteki iki veya daha fazla katmanlı yapı iskeleleri, her katmanda farklı hücrelerin gelişimini destekler, bu da farklı dokuların sümültane olarak rejenerasyonunu sağlar (53,56). Kompleks dokulara örnek olarak artiküler kıkırdak ve alt tabakasında yer alan subkondral kemik verilebilir. Bu kıkırdak ve kemik yapılar farklı fizyolojik özelliklere sahiptirler fakat eklem hareket fonksiyonları için birbirleri ile iyi entegrederler (53,57). Biyokimyasal olarak kıkırdak doku sudan kondrositlerden, tip II kollojenden, proteoglikandan ve agrekandan oluşur (53,58). Artiküler osteokondral defektlerde hem kıkırdak yüzeyde hem de alt tabakadaki subkondral kemikte hasar oluşmaktadır (53,59). Son zamanlarda kemik kıkırdak doku mühendisliği üzerine birçok araştırma yapılmaktadır. En yeni çalışmalar kemik ve kıkırdak rejenerasyonu, osteokondral defektlerin onarımını içeren osteokondral doku mühendisliği alanında olmaktadır (53,60,61).

4.BULGULAR

Kemik, kırıldak dokuları gibi çoklu(multiple) doku rejenerasyonları için, birden fazla hücre tipine gereksinim duyulmaktadır. Bu farklı hücre tipleri *in vivo*’ da farklı kültür ortamlarına, farklı yardımcı faktörlere, farklı por çaplarına ve mekanik özelliklere sahip farklı yapı iskelelerine ihtiyaç duymaktadırlar. Bu da doku mühendisliği ile iyi tasarlanmış yapı iskeleleri ile mümkün olmaktadır. Bu yapı iskeleleri por çapları, porozite miktarı, hücrelerin çoğalımı, tutunumu için uygun yüzey özellikleri gibi bir çok fonksiyon baz alınarak tasarlanmaktadır(62). Tablo 3 ‘de farklı hücre tipleri için tercih edilen yapı iskelelerinin por boyutları ve Tablo 4 ‘de çoklu dokularda gözlenen farklı por çapları ve boyutları gösterilmektedir.

Tissue regeneration	Cell size (µm)	Preferred pore diameter (µm)
Vascular	60–200 (Salem et al., 2002)	5 [for neovascularisation] (Tanaka et al., 2007)
Hepatocytes	20–40 (Galarneau et al., 2007)	20 (Yang et al., 2001)
Fibroblast	20–50 (Salem et al., 2002)	90–360 (Wang et al., 2005)
Bone	20–30 (Oota et al., 2006)	100–350 (Yang et al., 2001)

Tablo-7 Farklı hücre tipleri için tercih edilen yapı iskelelerinin por boyutları
(Leong ve ark., 2008, p. 143)



Tablo-8 Kemik kırıldak zonlarındaki farklı por miktarlarının gösterimi
(Sherwood ve ark., 2002)

Yapı iskelesi modelinde kullanılan PLLA'nın por boyutu,porozite yüzdesi,yüzey alanı ve mekanik özellikleri hesaplanmıştır.Tablo 5'de gösterilmektedir.Bununla birlikte insan kemiğinin mekanik özellikleri de karşılaştırma yapılabilmesi açısından Tablo 6'da verilmektedir.

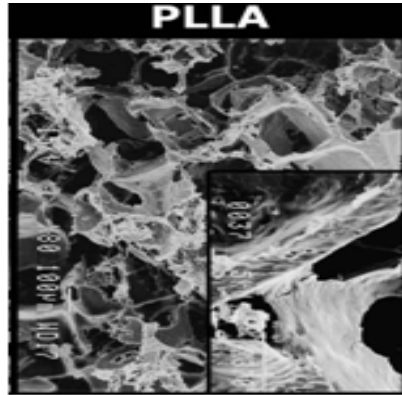
Ortalama por boyutu	92 μm
Porozitesi	%87
Yüzey alanı	0.0371 m ² /cm ³
Young modülü	40.6 kPa

Tablo-9 PLLA'nın Yapısal ve Mekanik Özellikleri (Luis A. Solchaga ve ark. 2005)

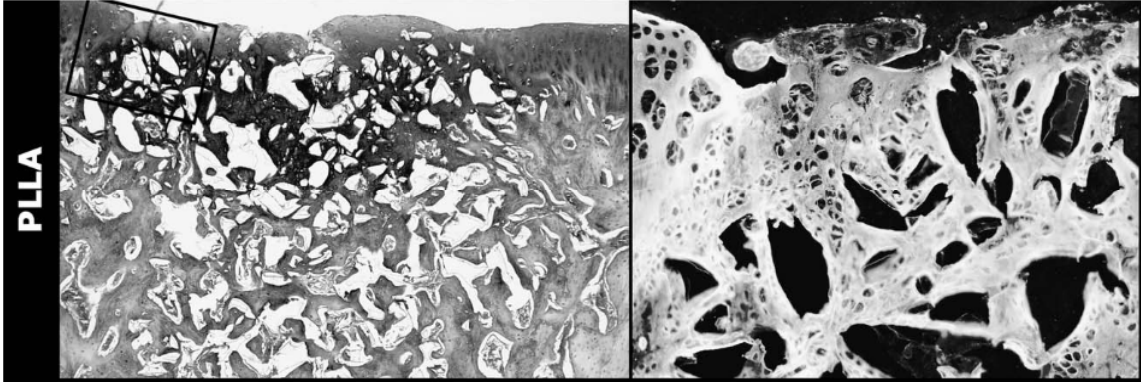
Tissues	Tensile strength (MPa)	Compressive strength (MPa)	Young's modulus (GPa)
Cancellous bone	N/a	4-12	0.02-0.5
Cortical bone	60-100	130-180	3-30

Tablo-10 İnsan Kemiğinin Mekanik Özellikleri (Yang ve ark., 2001)

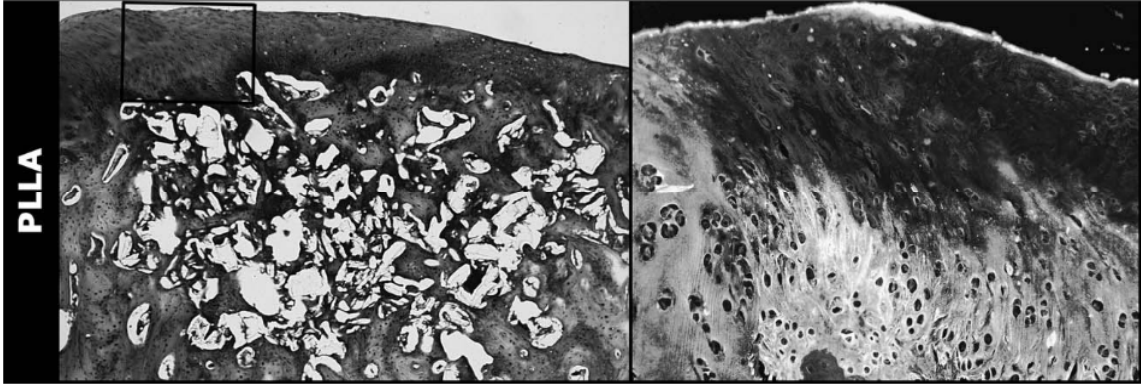
Oluşturulan PLLA yapı iskelesinin SEM analizi yapılmıştır ve osteokondral hasar bölgesine implantasyonundan 4,12,20 hafta sonra ışık mikroskopu görüntüleri çekilmiştir(63). (Şekil 11,12,13,14)



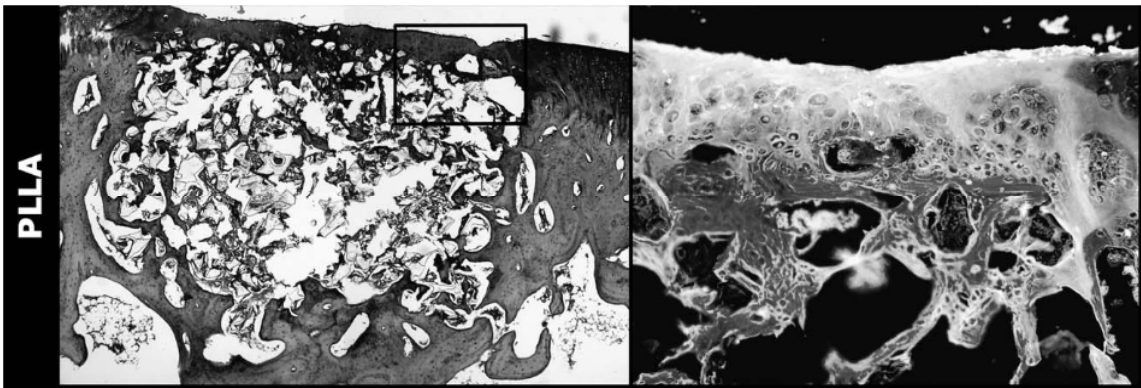
Şekil-11 PLLA yapı iskelesinin SEM görüntüsü(Luis A. Solchaga ve ark. 2005)



Şekil-12 İmplantasyondan 4 hafta sonra osteokodral hasarın ışık mikroskopunda görüntüsü
(Luis A. Solchaga ve ark. 2005)

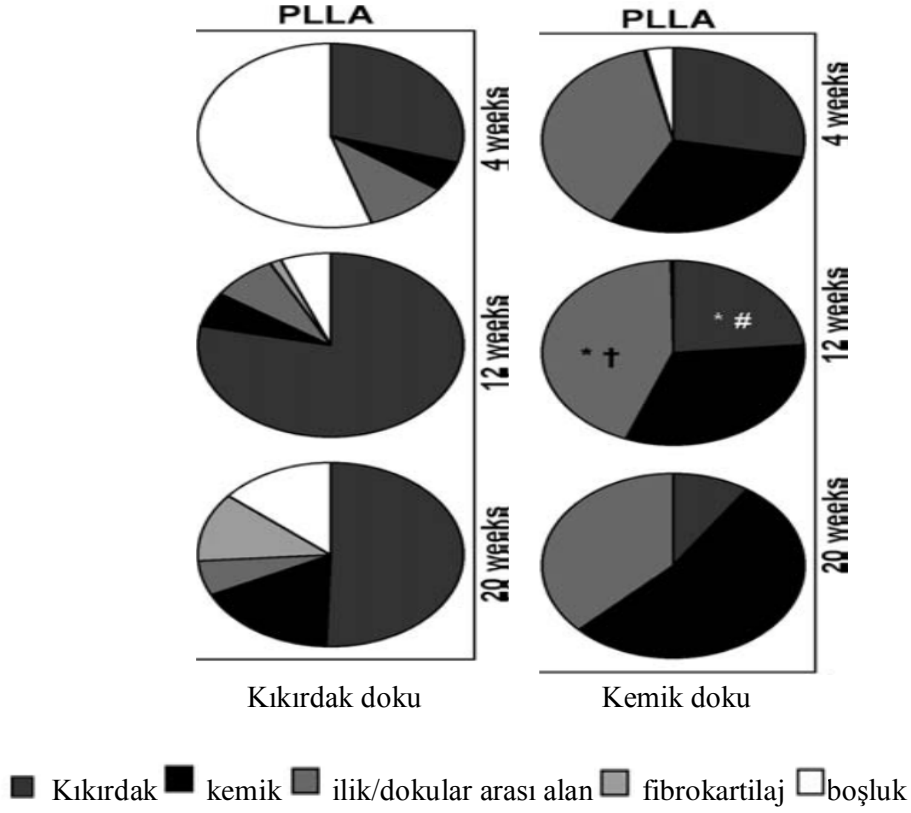


Şekil-13 İmplantasyondan 12 hafta sonra osteokodral hasarın ışık mikroskopunda görüntüsü
(Luis A. Solchaga ve ark. 2005)



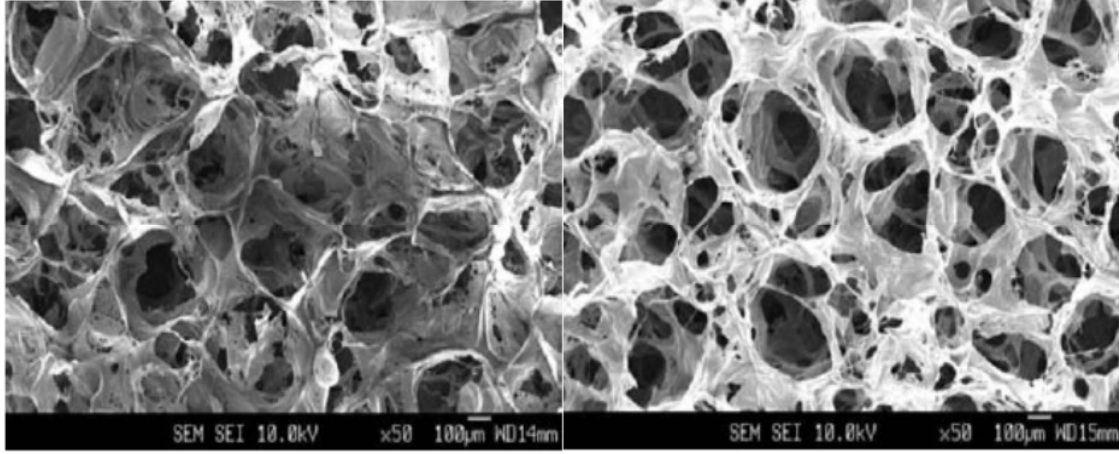
Şekil-14 İmplantasyondan 20 hafta sonra osteokodral hasarın ışık mikroskopunda görüntüsü
(Luis A. Solchaga ve ark. 2005)

PLLA yapı iskelesinin kırıkta ve kemik dokuda oluşan defektlerdeki ,farklı doku bölmelelerinin zamanla gelişiminin histomorfometrik analizleri yapılmıştır. Şekil 15’de gösterilmektedir.

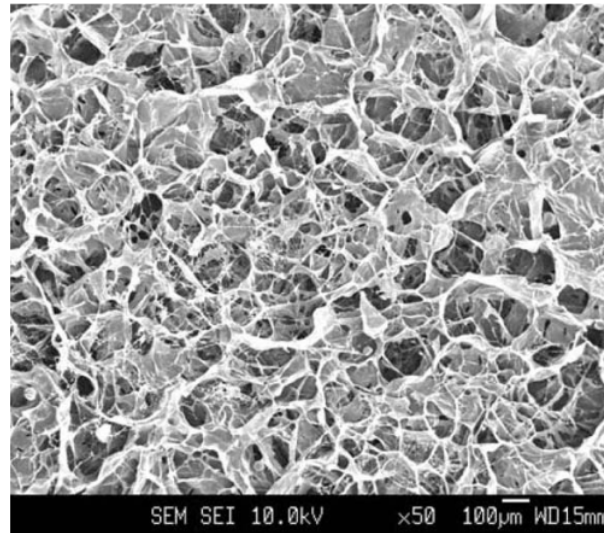


Şekil-15 Histomorfometrik analiz. PLLA yapı iskelesinin kırıkta ve kemik dokuda oluşan defektlerdeki ,farklı doku bölmelelerinin zamanla gelişimi
(Luis A. Solchaga ve ark. 2005)

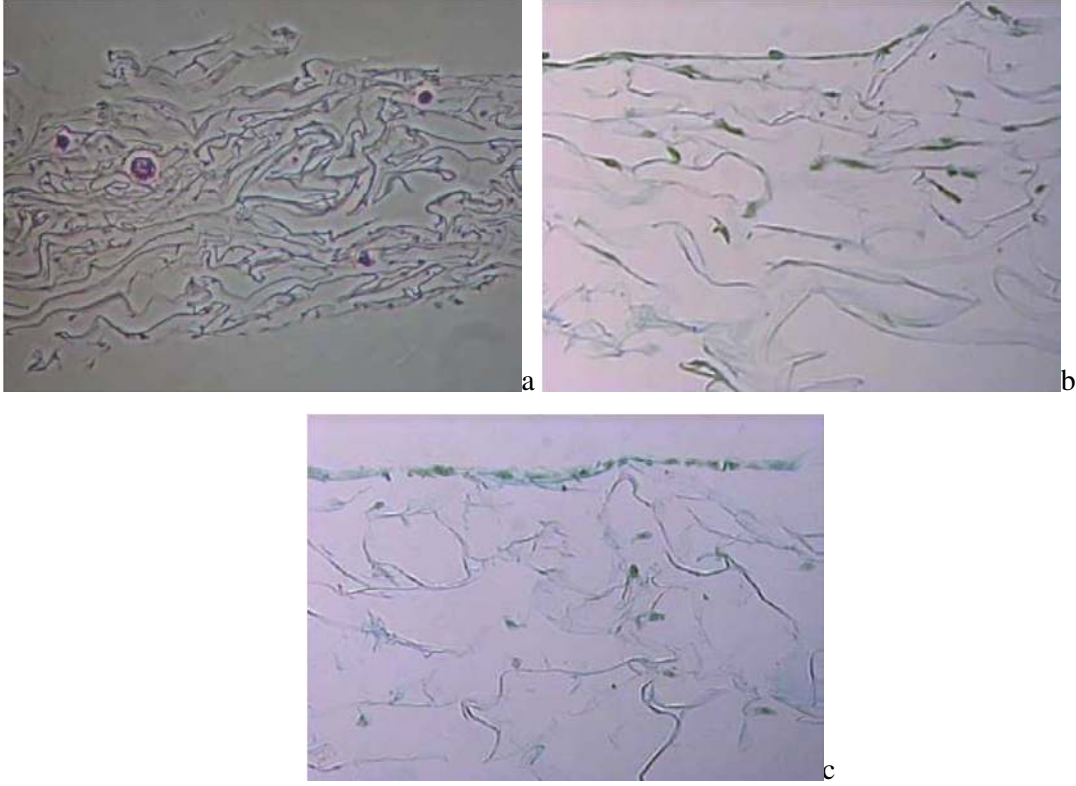
PLLA yapı iskelesi gibi β -kitin yapı iskelesi de oluşturulmuş, yüzey özellikleri ve por çaplarının incelenmesi için SEM görüntüleri alınmıştır. Ayrıca yüzey morfolojisinde ve mekanik özelliklerde oluşan değişiklikleri gözlemlemek amacı ile saf kitin yapı iskelelerine belirli oranlarda kollajen kaplanmıştır(64).



Şekil-16 Kitin yapı iskelesinin yüzey morfolojisinin SEM görüntüleri
(SangBongLee ve ark. 2004)

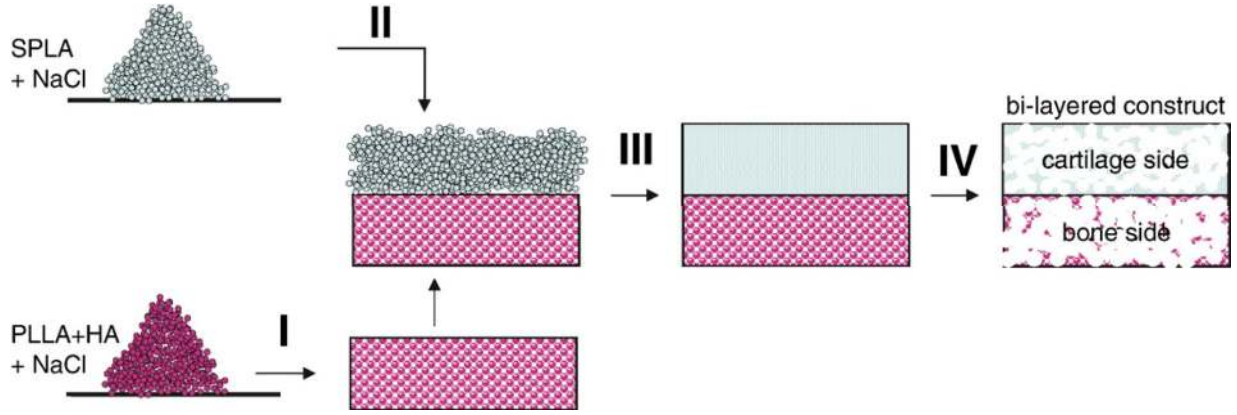


Şekil-17 0.1 wt Kollajen kaplanmış kitin yapı iskelesinin yüzey morfolojisinin SEM görüntüleri (SangBongLee ve ark. 2004)

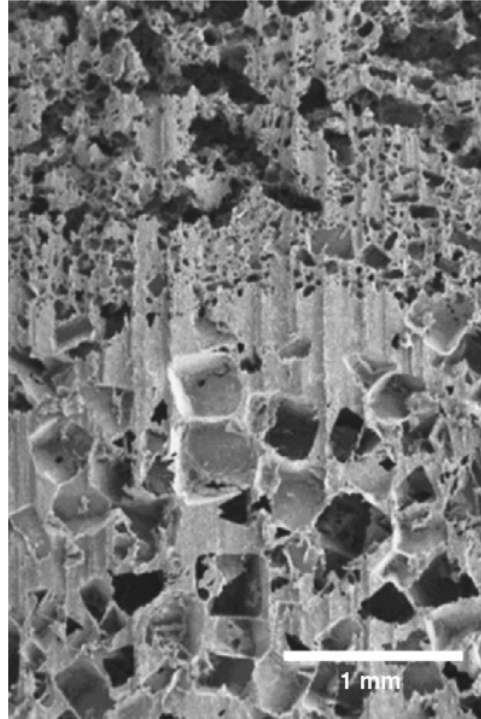


Şekil-18 Kültüre edilditen 3 gün sonra h&e ile boyanmış fibroblast hücreleri ekili yapı iskelelerinin histolojik görüntüleri a)sadece kitin b)0.1 wt Kollajen kaplanmış kitin yapı iskelesi c) 0.5wt Kollajen kaplanmış kitin yapı iskelesi (SangBongLee ve ark. 2004)

Bunların yanı sıra kemik, kıkırdak dokuları gibi çoklu(multiple) doku rejenerasyonları için çok tabakalı yapı iskeleleri geliştirilmiştir. Bu şekilde farklı tip hücrelerin aynı ortamda büyümeleri sağlanmıştır. Örneğin hem kıkırdak hücrelerinin hem de kemik hücrelerinin aynı anda çoğalıp, tutunabilmesi için farklı polimerlerden ve faktörlerden oluşan tek parça fakat entegre iki tabakalı yapı iskeleleri geliştirilmiştir Şekil 19’de iki katmanlı yapı iskelesi üretim metodu şematize edilmiştir. Ayrıca oluşturulan iki katmanlı yapı iskelesi kesiti SEM analizi ile incelenmiştir(Şekil 20). Çekilen SEM görüntüsünde üst kısım kıkırdak dokuyu, alt kısım ise kemik dokuyu taklit etmektedir (65).



Şekil-19 Tüm bileşenler katı toz formuna getirilmiştir(I). Kemik tarafı bileşenleri sıkıştırıldıktan sonra üzerine kıkırdak tarafı bileşenleri ilave edilmiştir(II). Daha sonra bu bileşenler bir kalıp yardımı ile sıkıştırılmıştır(III). Sonuçta da porlu, iki katmanlı yapı iskelesi oluşturulmuştur(IV). (S. Ghosh ve ark. 2008)



Şekil-20 İki katmanlı yapı iskelesi kesitinin SEM görüntüsü (Üst kısım kıkırdak dokuyu, alt kısım kemik dokuyu göstermektedir.) (S. Ghosh ve ark. 2008)

5.TARTISMA:

Özetle, doku mühendisliği bugün en heyecan verici disiplinler arası ve multidisipliner bir araştırma alanıdır ve her geçen gün doku mühendisliğine olan ilgi katlanarak artmaktadır. İskele malzemeleri ve üretim teknolojileri doku mühendisliğinde önemli bir rol oynamaktadır ve hızla gelişen bir araştırma alanıdır. Malzeme ve üretim teknolojileri, üç boyutlu doku oluşumunu destekleyen yapı iskelelerinin dizaynında büyük öneme sahiptir (66). Bu çalışmada da doku mühendisliği kavramı kısaca tanıtılıp, osteokodral defektlerin tedavisine yönelik çok tabakalı doku iskelelerinin üstünlükleri ve eksiklikleri tartışılmıştır. Otojen hücre/doku nakli ile kemik kırıkta üretimini ortopedik cerrahi ve biyomedikal mühendislik için umut verici tekniklerden biridir (67,68). Bu strateji ile yeni doku oluşumuna kılavuzluk edecek, transplante edilen hücrelerin tutunumu için gerekli matriks yapısı görevini sağlayabilecek, biyolojik olarak parçalanabilen, üç boyutlu, gözenekli yapı iskeleleri tasarlanmaktadır (71). Yapı iskelesi veya üç boyutlu yapı hücre proliferasyonu için gerekli desteği sağlar, yeni oluşan kemik ve kırıkta nihai şeklini ve farklılaşmış fonksiyonunu korumasına yardımcı olur (67). Hidroksiapatit (HA), poly (α -hidroksiester) ve chitin-kollajen gibi doğal polimer dahil olmak üzere birçok yapı iskelesi malzemesi kemik- kırıkta doku mühendisliği için incelenmiştir. Doku mühendisliği için tasarlanan yapı iskelelerinin biyoyumlu, biyoayrışabilen ve biyoabsorbe olan polimerlerden ve malzemelerden elde edilmesi gerektiği kanısına varılmıştır (67,69,70). Kırıkta için en ideal yapı iskelesi, iyi bir hücre afinitesine ve destek sağlayabilmek için iyi bir mekanik dayanıma sahip olmalıdır. Kırıkta doku mühendisliği için, doğal yollardan elde edilen polimerlerden ve sentetik polimerlerden yapılmış yapı iskeleleri geliştirilmiştir. Doğal olarak elde edilen kollajen ve hyaluronik asit gibi polimerler hidrofilik yüzeylere ve hücre etkileşimli peptidlere sahiptirler ve bu özellikleri hücre büyümesi için mükemmel bir ortam oluşturur (71). Ancak bu polimerlerin zayıf mekanik özellikleri, bu polimerlerden yapılmış olan yapı iskelelerinin kırıkta hasarı olan yere implante edildikten sonra maruz kalacakları kompresyon kuvvetine dayanmalarını mümkün kılmaz (71,78,79,80,81). Bir diğer yandan PLA, PGA ve bunların kopolimerleri gibi sentetik polimerlerden yapılmış yapı iskeleleri kolay tasarlanabilir, şekil alabilir, yüksek mukavemete sahip olmalarına rağmen, hidrofobik yüzeye sahip olmaları hücre ekimine olanak sağlamamaktadır (71,82,83,84,85). Bununla birlikte kırıkta rejenerasyonu için kullanılacak yapı iskelesinin kalınlığı da doğal kırıkta yapının taklit edebilecek şekilde aynı kalınlıkta olmalıdır (71). Sandviç tipi yapı iskelesi tasarımı farklı katmanlara farklı hücre tiplerini ekmeye olanak sağlar ve böylece daha karmaşık dokuların

yeniden yapılandırılabilmesine ortam oluşturun (71,72,73,74). In vivo kondrosit oluşumunun biyokimyasal ve yapısal gelişim için mekanik ve kimyasal ortamın son derece önemli olduğu bildirilmiştir. Hatta artiküler kartilajın yapısında ve kompozisyonunda meydana gelebilecek çok küçük değişikliklerin, mekanik özellikler yönünden çok derin değişikliklere neden olabileceği rapor edilmiştir (71,75,77). Bağ dokusunun doğal bir bileşeni olan tip I kollajen mükemmel biyouyumluluğu sayesinde doku mühendisliği için en umut verici biyomalzemelerden biri olarak kanıtlanmıştır (71).

Osteoblast hücre kültürü çalışmalarında üç boyutlu tip I kollajen matris çok güçlü bir faktördür. Tip I kollajen kemikte ekstraselüler matrisin majör bir komponenti olup osteoblast fenotipinde önemli bir rol oynamaktadır. Ignatius ve ark. yaptıkları çalışmaya göre in vitro da doku formasyonunda tip I kollajen matris yapı iskeletinde ki osteoblast hücrelerin çoğaldığı gözlemlenmiştir. Yapı iskeleti kemik rejenerasyonun da biyolojik, biyomekanik ve biyomateriyal özellikler olmak üzere üç önemli faktöre sahiptir. I-besinlerin difüzyonu için porozite uygunluğu, II-hücre yapışımı ve hücrelerin normal fenotip açılımı için materyal yüzeyinin biyouyumluluğu, III-rejenerasyon işlemi sırasında yük taşıma gibi mekanik özelliğinin önemi, IV-yeni kemik formasyonu sağlandıktan sonra biyoayrışabilme özelliğinin sağlanımı için bu kompleks fonksiyonlar dengelenmelidir. Yapı iskeletinin mikro yapısının dizaynı kemik rejenerasyonunu etkilemektedir. Rejenerasyon işlemi sırasında, yapı iskeletinin bozunumu ve yeni kemik formasyonunun oluşumu aynı zaman diliminde gerçekleşmektedir. Yinede kemik rejenerasyon işlemi in vivo da uzun bir süreç gerektirir. Biyoayrışabilen yapı iskeletleri kullanılarak rejenerasyon işlemi, mekanik ve biyolojik çevrenin değişiminden etkilenen yeni kemik formasyonu ve yapı iskeletinin bozunumu ile kompleks non-lineer bir yapı oluşturun (5,13).

Bu çalışmada oluşturulan alt yapının ardından bir sonraki aşamada hedeflenen; osteokondral kemik defektlerinin tedavisinde çok katlı (plla/ selüloz/ chitin) yapı iskelelerinin geliştirilmesidir. Geliştireceğimiz PLLA / Cellulose / Chitin sandviç yapı iskelesi modeli ile farklılık yaratıp kemik dokusunun epifiz plağından diyafiz plağına geçişte, kırıldak dokudan kemik dokusuna doğru gözlemlenen yapıyı taklit edebilmesini ve bu yapının hastaya nakledildiğinde hasarlı dokunun yerini uyumlu olarak alabilmesini sağlayarak, kemik defekti tedavisine henüz yeni eklenen bu metod için daha sağlıklı alternatifler üretmek ve literatüre katkıda bulunmak amacı güdülmektedir.

Projede MG-63 Osteosarkom insan hücre hattı ve SW-1353 kondrosarkom insan hücre hattı kullanılması planlanmıştır. İki tip hücre de kendilerine özgü mediumları ile kültüre edilecek ve prolifer olmaları sağlanacaktır. PLLA / Cellulose / Chitin yapı iskelesi üretimi

yapılacaktır. Oluşturulan PLLA / Cellulose / Chitin yapı iskelesinin bir yüzüne osteoblast hücreleri diğer yüzüne kondrosit hücreli ekilecek ve bu yapı multi-layer kültür ortamına alınacaktır. Hücrelerin proliferasyonunu desteklemek için ortama tip I ve tip II kollajen eklenecektir. Hücrelerin PLLA / Cellulose / Chitin yapı iskelesine tutunmalarına yardımcı olmak amacıyla da ara bağlayıcı (fibrin glue) tabakalar arasına eklenecektir.

Sonuçta elde ettiğimiz PLLA / Cellulose / Chitin yapı iskelesinin SEM ve TEM görüntülerine bakılacaktır. PLLA / Cellulose / Chitin yapı iskelesinin hematoksilin - eosin ile histolojik boyamaları yapılacak, ALP ölçümlerine bakılacaktır. MTT hücre canlılık testleri ve PCR analizleri gerçekleştirilecektir. Mekanik testleri (çekme-basma) D.E.Ü. Biyomekanik Anabilim Dalı laboratuvarında ekim yapılmadan önce ve ekim işlemi yapıldıktan sonra 1 mm/dk hız ile SHIMADZU AG-I çekme basma cihazı ile yapılacaktır. Sonuçta tüm analizlerin sonuçları değerlendirilecektir ve tartışılacaktır.

Hücrelerin yapı iskelesine tutunup proliferasyonunun sağlanması ve sandviç şeklinde tabakalı bir yapı oluşması durumunda projemiz tam anlamıyla başarıya ulaşmış sayılacaktır. Osteokondral defekt bölgesindeki geçiş safhasını taklit edebilen yapı iskeleleri (scaffold) oluşturulması, söz konusu projenin başarıya ulaştığını ortaya koyan en önemli ölçüt olacaktır.

Projenin önerildiği şekilde yürütülmesini önemli ölçüde aksatacak öngörülmemiş gelişmelerle karşılaşılması durumunda, hazır hücre hattı alımı yerine kemik iliğinden kök hücre izolasyonu yapılacaktır. Üretilen osteoblast ve kondrosit hücrelerinin yapı iskelesi ile uyum sağlamaması durumunda ise yapı iskelesi tipinde değişiklik yoluna gidilecektir.

6.SONUC VE ÖNERİLER:

Çeşitli nedenlere bağlı kemik doku defektlerin giderilmesinde otograft ve allograft uygulamaların yanında kemik doku mühendislik teknikleri kullanılarak doku defektleri giderilmeye çalışılmaktadır. Otojen hücre/doku nakli ile kemik kırıkta üretimi ortopedik cerrahi ve biyomedikal mühendislik için umut verici tekniklerden biridir. Kırıkta doku mühendisliği için, doğal yollardan elde edilen polimerlerden ve sentetik polimerlerden yapılmış yapı iskeleleri geliştirilmiştir. Doku mühendisliği için tasarlanan yapı iskelelerinin biyouyumlu, biyoayrışabilen ve biyoabsorbe olan polimerlerden ve malzemelerden elde edilmesi gerektiği kanısına varılmıştır. Bu özelliklere sahip yapı iskelelerinin (scaffoldların) kullanımıyla, deri, kırıkta, bağ ve tendon, kemik, küçük çaplı vasküler greftler, mesane ve cerrahi yamalar gibi çeşitli dokuların geliştirilmesine yönelik uygulamalar ve kapsamlı denemeler yapılmaktadır. Yapı iskelesi mimarisinde yeni hibrit modellemelerinin geliştirilmesiyle özellikle ortopedi alanında ihtiyaç duyulan doku modelleri oluşturulmuştur. Yapı iskeleti kemik rejenerasyonun da biyolojik, biyomekanik ve biyomateryal özellikler açısından önemli faktörlere sahiptir.

Metal implantları kemik doku fonksiyonlarına cevap olarak farklı tepkiler gösterebilmektedir. Bu amaçla yönelilen kemik doku mühendisliği dünyada ve ülkemizde yeni bir alandır. Bu alan sayesinde çeşitli yenilikler de yol alınmaktadır. Bunlardan biri de, farklı tabakaların birbirine bağlanması ile üretilen sandviç yapı iskeletleridir.

Bu projenin gerçekleşmesi sonucunda, ortopedi alanında karşılaşılan osteokondral kemik defektleri tedavisinde bu yapı iskelesinden fayda sağlanacaktır. Böylelikle hem cerrahi açıdan kolaylık, hem hastanın iyileşme sürecinde kısılma, hem de yapılan tedavinin başarısında artış sağlanacaktır. Ayrıca bu projenin gerçekleşmesi sonucunda, ulusal ekonomiye katkı, yurtdışına olan bağımlılıkta azalma ve bilimsel birikim sağlanacaktır.

7.KAYNAKLAR:

- 1) Chad Winter L. A device for imposing uniform, cyclic strain to cells growing on implant alloys. Mississippi State Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Yüksek lisans tezi;2002.
- 2) Basso N, Heersche JN. Characteristics of in vitro osteoblastic cell loading models: Review. Bone 2002;30:347–351.
- 3) Nagatomi J, Arulanandam BP, Metzger DW, Meunier A ve ark. Cyclic pressure affects osteoblast functions pertinent to osteogenesis. Annals of Biomedical Engineering 2003;31:917–923.
- 4) Labat B, Chepda T, Frey J, Rieu J. Practice of a testing bench to study the effects of cyclic stretching on osteoblast-orthopaedic ceramic interactions. Biomaterials 2000;21:1275–1281.
- 5) Çeçen B. Osteoblast Hücre Kültürlerinin Ses Dalgaları İle Mekanik Uyarımı, Dokuz Eylül Üniversitesi, Biyomekanik Anabilimdalı, Yüksek Lisans Tezi; 2007.
- 6) Myrdycz A, Callens D, Kot K, Monchau F ve ark. Cells under stress: a non-destructive evaluation of adhesion by ultrasounds. Biomolecular Engineering 2002;19:219–225.
- 7) Rezwan K, Chen QZ, Blaker JJ, Boccaccini AR. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering: Review. Biomaterials 27 2006;27:3413–3431.
- 8) Lu HH, El-Amin SF, Scott KD, Laurencin CT. In vitro evaluation of a poly(lactide-co-glycolide)–collagen composite scaffold for bone regeneration. Biomaterials 2006;27:3466–3472.
- 9) Koike M, Shimokawa H, Kanno Z, Ohya K, Soma K. Effects of mechanical strain on proliferation and differentiation of bone marrow stromal cell line ST2. J Bone Miner Metab 2005;23:219–225.
- 10) Liu HC, Lee IC, Wang JH, Yang SH, Young TH. Preparation of PLLA membranes with different morphologies for culture of MG–63 Cells. Biomaterials 2004;25:4047–4056.
- 11) Liu X, Won Y, Ma PX. Porogen-induced surface modification of nano-fibrous poly(L-lactic acid) scaffolds for tissue engineering. Biomaterials 2006;27:3980–3987.
- 12) Chen VJ, Smith LA, Ma PX. Bone regeneration on computer-designed nano-fibrous scaffolds. Biomaterials 2006;27:3973–3979.

- 13) Adachi T, Osako Y, Tanaka M, Hojo M, Hollister SJ. Framework for optimal design of porous scaffold microstructure by computational simulation of bone regeneration. *Biomaterials* 2006;27:3964–3972.
- 14) Li WJ, Cooper JA Jr, Mauck RL, Tuan RS. Fabrication and characterization of six electrospun poly (alpha-hydroxy ester)-based fibrous scaffolds for tissue engineering applications. *Acta Biomater* 2006;4:377–85.
- 15) Grad S, Kupcsik L, Gorna K, Gogolewski S ve ark. The use of biodegradable polyurethane scaffolds for cartilage tissue engineering: potential and limitations. *Biomaterials* 2003;24:5163–71.
- 16) Muller FA, Muller L, Hofmann I, Greil P ve ark. Cellulose-based scaffold materials for cartilage tissue engineering. *Biomaterials* 2006;27:3955–3963.
- 17) Bouvier M. Bone Mechanics. In: Cowin C.S. editor. *The biology and composition of bone*. Florida: CRC press; 1989. p.2–13.
- 18) Akay M.T. Genel Histoloji. In: Akay M.T. editor. *Kemik dokusu*. 5nd ed. Ankara: Palme yayıncılık; 2001. p.126–149.
- 19) Richardson SM, Curran JM, Chen R, Vaughan-Thomas A ve ark. The differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into chondrocyte-like cells on poly-L-lactic acid (PLLA) scaffolds. *Biomaterials* 2006;27:4069–4078
- 20) Masuoka K, Asazuma T, Ishihara M, Sato M ve ark. Tissue engineering of articular cartilage using an allograft of cultured chondrocytes in a membrane-sealed atelocollagen honeycomb-shaped scaffold (ACHMS scaffold). *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005;75:177–84.
- 21) Ma HL, Hung SC, Lin SY, Chen YL ve ark. Chondrogenesis of human mesenchymal stem cells encapsulated in alginate beads. *J Biomed Mater Res A* 2003;64:273–81.
- 22) Mizuno H, Roy AK, Vacanti CA, Kojima K ve ark. Tissue-engineered composites of anulus fibrosus and nucleus pulposus for intervertebral disc replacement. *Spine* 2004;29:1290–7.
- 23) Li X, Feng Q, Cui F. In vitro degradation of porous nano hydroxyapatite/collagen/PLLA scaffold reinforced by chitin fibres. *Materials Science and Engineering C* 2006;26:716–720.
- 24) Reis RL, Cunha AM, Allan PS, Bevis MJ. Mechanical behavior of injection-molded starch-based polymers. *Polym Adv Technol* 1996;7:784–90.
- 25) Mohanty AK, Misra M, Hinrichsen G. Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: an overview. *Macromol Mater Eng* 2000;276–277:1–24.

- 26) Casser-Bette M, Murray AB, Closs EI, Erfle V, Schmidt J. Bone formation by osteoblast-like cells in a three-dimensional cell culture. *Calcif Tissue Int* 1990;46:46–56.
- 27) Masi L, Franchi A, Santucci M, Danielli D, Arganini L, Giannone V, et al. Adhesion, growth, and matrix production by osteoblasts on collagen substrata. *Calcif Tissue Int* 1992;51: 202–12.
- 28) Liu X, Won Y, Ma PX. Porogen-induced surface modification of nano-fibrous poly(L-lactic acid) scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials* 2006;27:3980-3987.
- 29) Elsdale T, Bard J. Collagen substrata for studies on cell behavior. *J Cell Biol* 1972 ;54:626-37.
- 30) Stock UA, Vacanti JP. Tissue engineering: current state and prospects. *Annu Rev Med* 2001;52:443–51.
- 31) Bilgili H. Otolog kondrosit transplantasyonui ile osteokondral defektlerin sağaltım olanaklarının araştırılması: köpek diz ekleminde klinik çalışma <http://www.ankara.edu.tr/rectorate/kutuphane/proje/hasanbilgili/rapor.pdf> / 10.11.2004
- 32) Yıldız C, Bilgili H, Bahçe M, ve ark. Tavşan omuz ekleminde kırık dokusundan kondrosit hücre kültürü hazırlanması üzerine deneysel çalışmalar. *Veteriner Cerrahi Dergisi* 1999; 5; 20-23.
- 33) Brinker WO, Piermattei DL, Flo GL. Small animal orthopedics and fracture treatment. Philadelphia: WB Saunders Company, 1983
- 34) Geoffrey B. Higgs MD, Arthur L. Boland MD. Cartilage regeneration and repair, where are we? A review of the proceedings of the international cartilage repair society's second symposium. http://www.orthojournalhms.org/volume1/html/cartilage_repair.html / 19.11.2004
- 35) Sally R. Frenkel. Paul E Di Cesare. Degradation and repair of articular cartilage. <http://www.bioscience.org/1999/v4/d/frenkel/list.htm> / 11.12.2004
- 36) Turhan AU, Aynacı O, Turgutalp H, Aydın H. Treatment of osteochondral defects with tendon autografts in a dog knee model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 1999; 7: 64-68.
- 37) Christel P, Versier G, Landreau PH, Dijian P. Osteochondral grafting using the mosaicplasty technique. http://www.maitriseorthop.com/corpusmaitri/orthopaedic/mo7_6_mosaicplasty/indexshtml/ / 17.11.2004
- 38) Van Dyk GE, Dejardin LM, Flo G, Johnson LL. Cancellous bone grafting of large osteochondral defects: an experimental study in dogs. *Arthroscopy* 1998; 14: 311-320.

- 39) Takahashi S, Masanori O, Kotoura Y, Yamamuro T. Autogeneous call-osseous for The repair of osteochondral defects. J Bone Joint Surg Am 1995; 77: 194-204.
- 40) Howard A, Breinan MS, Minas T et al. Effect of cultured autologous chondrocytes on repair of chondral defects in a canine model. J Bone Joint Surg Am 1997; 79: 1439-1451.
- 41) Rubak JM. Reconstruction of articular defects with free periosteal grafts. Acta Orthop Scand 1982; 53: 175-180.
- 42) Saredge H, Kutz JA, Kleinert HE, et al. Perichondrial resurfacing arthroplasty in the hand. Hand Surg 1984; 9: 880-886.
- 43) Tsai C, Lui SF, Perng J, Lin A. Preliminary study of cartilage repair with autologous periosteum and fibrin adhesive system. J Formos Med Assoc 1992; 91: 239-245.
- 44) Farnsworth KD. Evaluation of Two Techniques of Cancellous Bone Grafting of Experimental Subchondral Bone Cysts in the Medial Femoral Condyles of Horses. Master of Science, Blacksburg: Thesis Submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University, 1998.
- 45) http://www.epo.org/topics/innovation-and-economy/emerging-technologies/article_x.html
- 46) <http://www.nsf.gov/pubs/2004/nsf0450/start.htm>
- 47) Gumusderelioğlu M. et. al., Doku Muhendisliğinde Nanoteknoloji, Bilim ve Teknik, Ekim 2007.
- 48) Gumusderelioğlu M, Biyomalzemeler, Bilim ve Teknik, Temmuz 2002.
- 49) Reis RL, Cunha AM, Allan PS, Bevis MJ. Mechanical behavior of injection-molded starch-based polymers. Polym Adv Technol, 1996;7:784–90.
- 50) Mohanty AK, Misra M, Hinrichsen G. Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: an overview. Macromol Mater Eng 2000;276–277:1–24.
- 51) John J, Bioresorbable and bioerodible materials. In: Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, JE L, editors. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. New York: Academic Press; 1996;64– 72.
- 52) Jagur-Grodzinski J. Biomedical application of functional polymers. Reactive Funct Polym 1999;39:99– 138.
- 53) Chen J , Chen H, Li P , Diao H ve ark. Simultaneous regeneration of articular cartilage and subchondral bone in vivo using MSCs induced by a spatially controlled gene delivery system in bilayered integrated scaffolds. Biomaterials science, 2011; 4793-4805

- 54) Sharma B, Elisseeff JH. Engineering structurally organized cartilage and bone tissues. *Ann Biomed Eng* 2004;32:148e59.
- 55) Griffith LG, Naughton G. Tissue engineering current challenges and expanding opportunities. *Science* 2002;295:1009e14.
- 56) Nathan D, Copy B, Michael D. Emerging techniques in stratified designs and continuous gradients for tissue engineering of interfaces. *Ann Biomed Eng* 2010;38:2121e41.
- 57) Shao XX, Hutmacher DW, Ho ST, Goh JC, Lee EH. Evaluation of a hybrid scaffold/cell construct in repair of high-load-bearing osteochondral defects in rabbits. *Biomaterials* 2006;27:1071e80.
- 58) Yang PJ, Temenoff JS. Engineering orthopedic tissue interfaces. *Tissue Eng Part B Rev* 2009;15:127e41.
- 59) Tampieri A, Sandri M, Landi E, Pressato D, Francioli S, Quarto R, et al. Design of graded biomimetic osteochondral composite scaffolds. *Biomaterials* 2008;29:3539e46.
- 60) O'Shea TM, Miao X. Bilayered scaffolds for osteochondral tissue engineering. *Tissue Eng Part B Rev* 2008;14:447e64.
- 61) Lee CH, Cook JL, Mendelson A, Moioli EK, Yao H, Mao JJ. Regeneration of the articular surface of the rabbit synovial joint by cell homing: a proof of concept study. *Lancet* 2010;376:440e8.
- 62) K.F. Leong, C.K. Chua, N. Sudarmadji, W.Y. Yeong Engineering Functionally Graded Tissue Engineering scaffolds *Journal Of The Mechanical Behavior Of Biomedical Materials*;2008;140-152
- 63) Luis A. Solchaga, Johnna S. Temenoff, Jizong Gao M.D, Antonios G. Mikos, Arnold I. Caplan et. al. Repair of osteochondral defects with hyaluronan- and polyester-based scaffolds *OsteoArthritis and Cartilage*.2005;13; 297-309
- 64) SangBongLee, YongHan Kim, Moo SangChong , YoungMoo Lee. Preparation and characteristics of hybrid scaffold composed of β -chitin and collagen *Biomaterials*;2004;25; 2309–2317
- 65) S. Ghosh, J.C. Viana, R.L. Reis, J.F. Mano. Bi-layered constructs based on poly(L-lactic acid) and starch for tissue engineering of osteochondral defects. *Materials Science and Engineering C*;2008;28; 80–86
- 66) Peter X. Ma. Scaffolds for tissue fabrication. *Materials today* 2004; 30-40

- 67) Dietmar W. Hutmacher. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000;21:2529-2543
- 68) Patrick Jr CW, Mikos AG, McIntire. Prospectus of tissue engineering. In: Patrick Jr CW, Mikos AG, McIntire LV, editors. *Frontiers in tissue engineering*. New York, USA: Elsevier Science, 1998. p. 3-14.
- 69) Agrawal C, Niederauer G, Micallef D, Athanasiou K. The use of PLA-PGA polymers in orthopaedics. In: *Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering*. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 2081-115.
- 70) Wong WH, Mooney DJ. Synthesis and properties of biodegradable polymers used as synthetic matrices for tissue engineering. In: Atala A, Mooney DJ, editors. *Synthetic biodegradable polymer scaffolds*. Boston: Birkhauser, 1997. p. 51-82.
- 71) Wenda Dai , Naoki Kawazoe , Xiaoting Lin , Jian Dong , Guoping Chen. The influence of structural design of PLGA/collagen hybrid scaffolds in cartilage tissue engineering. *Biomaterials* 2010;31: 2141–2152
- 72) Sachlos E, Czernuszka JT. Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur Cell Mater* 2003;5:29–40.
- 73) Vaz CM, van Tuijl S, Bouten CV, Baaijens FP. Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique. *Acta Biomater* 2005;1:575–82.
- 74) Kidoaki S, Kwon IK, Matsuda T. Mesoscopic spatial designs of nano- and microfiber scaffolds for tissue-engineering matrix and scaffold based on newly devised multilayering and mixing electrospinning techniques. *Biomaterials* 2005;26:37–46.
- 75) Mouw JK, Case ND, Guldberg RE, Plaas AH, Levenston ME. Variations in matrix composition and GAG fine structure among scaffolds for cartilage tissue engineering. *Osteoarth Cartil* 2005;13:828–36.
- 76) Bueno EM, Bilgen B, Barabino GA. Hydrodynamic parameters modulate biochemical, histological, and mechanical properties of engineered cartilage. *Tissue Eng Part A* 2009;15:773–85.
- 77) Lee CR, Grodzinsky AJ, Hsu HP, Spector M. Effects of a cultured autologous chondrocyte-seeded type II collagen scaffold on the healing of a chondral defect in a canine model. *J Orthop Res* 2003;21:272–81.

- 78) Noth U, Rackwitz L, Heymer A, Weber M, Baumann B, Steinert A, et al. Chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in collagen type I hydrogels. *J Biomed Mater Res A* 2007;83:626–35.
- 79) Glowacki J, Mizuno S. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers* 2008;89:338–44.
- 80) Gotterbarm T, Richter W, Jung M, Berardi Vilei S, Mainil-Varlet P, Yamashita T, et al. An in vivo study of a growth-factor enhanced, cell free, two-layered collagen–tricalcium phosphate in deep osteochondral defects. *Biomaterials* 2006;3387–95.
- 81) Liao E, Yaszemski M, Krebsbach P, Hollister S. Tissue-engineered cartilage constructs using composite hyaluronic acid/collagen I hydrogels and designed poly (propylene fumarate) scaffolds. *Tissue Eng* 2007;13:537–50.
- 82) Kim MS, Ahn HH, Shin YN, Cho MH, Khang G, Lee HB. An in vivo study of the host tissue response to subcutaneous implantation of PLGA- and/or porcine small intestinal submucosa-based scaffolds. *Biomaterials* 2007;28:345137–43.
- 83) Choi YS, Park SN, Suh H. Adipose tissue engineering using mesenchymal stem cells attached to injectable PLGA spheres. *Biomaterials* 2005;26:5855–63.
- 84) Baek CH, Ko YJ. Characteristics of tissue-engineered cartilage on macroporous biodegradable PLGA scaffold. *Laryngoscope* 2006;116:1829–34.
- 85) Uematsu K, Hattori K, Ishimoto Y, Yamauchi J, Habata T, Takakura Y, et al. Cartilage regeneration using mesenchymal stem cells and a three-dimensional poly-lactic-glycolic acid (PLGA) scaffold. *Biomaterials* 2005;26:4273–9.

ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI

Diler ERDEMLİ

TC Kimlik No / Pasaport No:	16523677704
Doğum Yılı:	1984
Yazışma Adresi :	Dokuz Eylül Üniversitesi Biyomekanik Anabilim Dalı Inciraltı- İZMİR 35340 İzmir/Türkiye
Telefon :	232 4123368
Faks :	-
e-posta :	dilerdemli@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Ülke	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Türkiye	Ege Üniversitesi	Fen Fakültesi	Biyoloji	Lisans	2008
Türkiye	Dokuz Eylül Üniversitesi	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Biyomekanik	Yüksek Lisans	2011

AKADEMİK/MESLEKTE DENEYİM

Kurum/Kuruluş	Ülke	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	Görev Dönemi

UZMANLIK ALANLARI

Uzmanlık Alanları

DİĞER AKADEMİK FAALİYETLER

Son Bir Yılda Uluslararası İndekslere Kayıtlı Makale/Derleme İçin Yapılan Danışmanlık Sayısı			
Son Bir Yılda Projeler İçin Yapılan Danışmanlık Sayısı			
Yayınlara Alınan Toplam Atıf Sayısı			
Danışmanlık Yapılan Öğrenci Sayısı		Tamamlanan	Devam Eden
	Yüksek Lisans		
	Doktora		
	Uzmanlık		
Diğer Faaliyetler (Eser/görev/faaliyet/sorumluluk/olay/üyelik vb.)			

ÖDÜLLER

	Ödülün Adı	Alındığı Kuruluş	Yılı
☐			

YAYINLARI**SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler**

The biomechanical effects of adductor hallusis tendon on hallux valgus deformity. Journal of biomechanics; 2011, vol 44, p 2
Biomechanical properties of the collagen, PLLA and HA scaffolds with different temperature and porosity. Journal of biomechanics; 2011, vol 44, p 3

Diğer dergilerde yayınlanan makaleler

Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar

The biomechanical effects of adductor hallusis tendon on hallux valgus deformity. 5.uluslararası katılımlı biyomekanik kongresi bildiri özet kitabı; 2010 , p 26
Biomechanical properties of the collagen, PLLA and HA scaffolds with different temperature and porosity. 5.uluslararası katılımlı biyomekanik kongresi bildiri özet kitabı; 2010, p 44

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

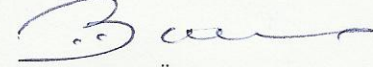
Konu: Karar hk.- 505

03.10.2011

Prof.Dr.Hasan HaVİTÇİOĞLU
Diler ERDEMLİ

Kurulumuz tarafından 29.09.2011 tarih ve 338-GOA protokol numaralı 2011/32-09 karar numarası ile görüşülen “**Osteokondral Kemik Defektlerinin Tedavisinde Çok Katlı (PLLA/Selüloz/Chitin) Yapı İskelelerinin Geliştirilmesi**” konulu araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı ekte sunulmuştur

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.



Prof.Dr.Banu ÖNVURAL
Başkan

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Yerleşkesi İnciraltı 35340 İZMİR-TÜRKİYE
Tel:0 232 4122254 - 0 232 4122258 Faks: 0232 4122243 Elektronik posta:etikkurul@deu.edu.tr

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

ETİK KOMİSYONUN ADI	DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
AÇIK ADRES	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR
TELEFON	0 232 412 22 54-0 232 412 22 58
FAKS	0 232 412 22 43
E-POSTA	etikkurul@deu.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	338-GOA
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐ AKADEMİK AMAÇLI ☐
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Osteokondral Kemik Defektlerinin Tedavisinde Çok Katlı (PLLA/Selüloz/Chitin) Yapı İskelelerinin Geliştirilmesi
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr.Hasan HA VİTÇİ OĞLU Diler ERDEMLİ Ortopedi A.D Biyomekanik B.D
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	-
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	-
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒ ÇOK MERKEZLİ ☐

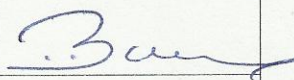
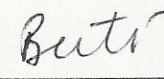
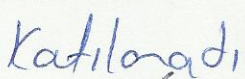
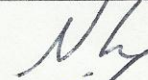
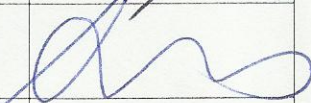
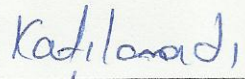
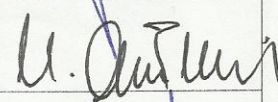
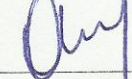
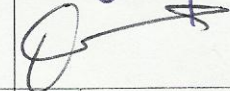
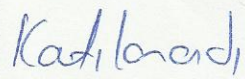
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐	İngilizce ☒	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2011/32-09	Tarih: 29.09.2011
	Prof.Dr.Hasan HAVİTÇİOĞLU'nun sorumlusu Diler ERDEMLİ'nin yürütücüsü olduğu "Osteokondral Kemik Defektlerinin Tedavisinde Çok Katlı (PLLA/Selüloz/Chitin) Yapı İskelelerinin Geliştirilmesi" isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
---------------	--

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	Araştırma ile ilişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Banu ÖNVURAL (Başkan)	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Ph.D.Besti ÜSTÜN (Başkan Yardımcısı)	Ph.D.Yüksek Hemşire	DEU Hemşirelik Yüksekokulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Osman AÇIKGÖZ	Fizyoloji	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Mehtap MALKOÇ	Ph.D.Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksekokulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Ph.D.Zuhal BAHAR	Ph.D. Yüksek Hemşire, Halk Sağlığında doktora	DEU Hemşirelik Fakültesi	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Nejat ŞARİOSMANOĞLU	Kalp Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Adnan MENDERES	Plastik Cerrahi	DEU Tıp Fakültesi Plastik Cerrahi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Ece BÖBER	Pediyatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Hüseyin BASKIN	Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Servet AKAR	İç Hastalıkları (Romatoloji)	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Mukaddes GÜNELİ	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK	Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.İşıl TEKME	Histoloji ve Embriyoloji	DEU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.PhD.Meltem Kutlu GÜRSEL	Hukuk	D.E.Ü Hukuk Fakültesi İdare Hukuku Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
İhsan ÇELİKDEMİR	Sağlık mensubu olmayan üye	75. Yıl Özel İlköğretim Okulu Müdür Yrd.	Erkek	E ☐	H ☒	