

ÖZET

BİYOMİMETİK YAPAY BİR KAN DAMARI VE ÜRETİM YÖNTEMİ

- 5 Bu buluş, insan dolaşım sisteminde bulunan küçük çaplı damarların morfolojik yapısı ve fizyolojik görevlerinden esinlenerek biyobozunur ve biyouyumlu özellikte üç boyutlu biyomimetik yapay bir kan damarı ve bunun elektroğirme tekniği vasıtasıyla üretim yöntemi (100) ile ilgilidir.

İSTEMLER

1. Biyouyumlu olan ve düşük toksisiteye sahip etil selüloz (EC) doğal polimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde etil selüloz çözeltisinin hazırlanması (101),
5 -polikaprolakton (PCL) sentetik polimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması (102),
-etil selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin belirli bir oranda karıştırılması (103),
10 -en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülen kolajenin (Kol.) etil selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışıma belirli bir oranda eklenmesi (104),
-etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren karışımdan homojen çözelti elde etmek için karıştırılması (105),
15 -etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren homojen çözeltinin en azından bir iğneye ve silindirik yapıda ve hareketli toplayıcıya sahip olan en az bir elektroëirme makinesindeki nanofiber çapı ve morfolojisine etki eden voltaj, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe ve akış hızı değerleri ayarlanarak belirli bir süre elektroëirme işlemine tabi tutulması (106),
20 -karışımın elektroëirme işlemine tabi tutulması (106) esnasında statik elektrik alan ile birlikte ilerleyen polimerlerin nanofiber oluşturarak silindirik bir toplayıcıda toplanarak iç kısmı boş silindir yapıda nano-kompozit yapı iskelesinin elde edilmesi (107) ve
25 -elde edilen yapı iskelesinin kurutulmasıyla yapay kan damarının elde edilmesi (108) adımları ile karakterize edilen biyomimetik bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).

2. Çözücü içerisinde ağırlıkça %1 oranında etil selüloz olacak şekilde etil selüloz çözeltisinin hazırlanması (101) adımı ile karakterize edilen İstem 1'deki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 5 3. Etil selüloz doğal polimerinin ağırlıkça 60:40 oranında dimetilasetamit (DMA) ve tetrahidrofuran (THF) içeren çözücüye eklenerek etil selüloz çözeltisinin hazırlanması (101) adımı ile karakterize edilen İstem 1 veya 2'deki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 10 4. Çözücü içerisinde ağırlıkça %10 oranında polikaprolakton polimeri olacak şekilde polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması (102) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 15 5. Polikaprolakton polimerinin ağırlıkça 60:40 oranında dimetilasetamit (DMA) ve tetrahidrofuran (THF) içeren çözücüye eklenerek polikaprolakton çözeltisi hazırlanması (102) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 20 6. Ağırlıkça 50:50 oranında etil selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin karıştırılması (103) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 25 7. Asetik asit içerisinde çözdürülen kolajenin (Kol.) etil selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışıma eklenmesi (104) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 30

- 5 **8.** İçerisinde ağırlıkça %0,1 oranında kolajen olacak şekilde kolajen çözeltisinin etil selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışıma eklenmesi (104) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 10 **9.** Manyetik bir karıştırıcıda 10 dakika süreyle etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren karışımın karıştırılması (105) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 15 **10.** Etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren karışımın şırıngaya alınarak ve elektroëirme makinesinde polimerin ilerlemesini sağlayan pompa kısmına yüklenerek elektroëirme işlemine tabi tutulması (106) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 20 **11.** Etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren karışımın akış hızı 1,75 ml/saat değerinde olacak şekilde elektroëirme işlemine tabi tutulması (106) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 25 **12.** Voltaj değeri 36 kV değerinde olacak şekilde Etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren karışımın elektroëirme işlemine tabi tutulması (106) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 30 **13.** Etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren karışımın 3 ila 5 saatlik süre boyunca elektroëirme işlemine tabi tutulması (106) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).

- 5 **14.** Etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren karışımın 4 saatlik süre boyunca elektroğirme işlemine tabi tutulması (106) adımı ile karakterize edilen İstem 14'teki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 10 **15.** Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminde (100) elektroğirme işleminde kullanılan silindirik yapıda olan toplayıcının çapı 0,5 cm uzunluğunda olan toplayıcı kullanılarak elektroğirme işlemine tabi tutulması (106) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 15 **16.** Nano-kompozit yapı iskelesinin 23 ila 50 °C sıcaklıkta etüv içerisinde kurutulmasıyla yapay kan damarının elde edilmesi (108) adımı ile karakterize edilen yukarıdaki istemlerden herhangi birindeki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 20 **17.** Nano-kompozit yapı iskelesinin 35 °C sıcaklıkta etüv içerisinde kurutulmasıyla yapay kan damarının elde edilmesi (108) adımı ile karakterize edilen İstem 16'daki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 25 **18.** Nano-kompozit yapı iskelesinin etüv içerisinde 3 ila 8 saat bekletilerek kurutulmasıyla yapay kan damarının elde edilmesi (108) adımı ile karakterize edilen İstem 16 veya 17'deki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).
- 30 **19.** Nano-kompozit yapı iskelesinin etüv içerisinde 4 saat bekletilerek kurutulmasıyla yapay kan damarının elde edilmesi (108) adımı ile

karakterize edilen İstem 18'deki gibi bir yapay kan damarı üretim yöntemi (100).

- 5 **20.** İstem 1 ila 19'dan herhangi birindeki gibi bir yöntemle elde edilen etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren biyomemitik bir yapay kan damarı.

TARİFNAME

BİYOMİMETİK YAPAY BİR KAN DAMARI VE ÜRETİM YÖNTEMİ

5 Teknik Alan

Bu buluş, insan dolaşım sisteminde bulunan küçük çaplı damarların morfolojik yapısı ve fizyolojik görevlerinden esinlenerek biyobozunur ve biyouyumlu özellikte üç boyutlu biyomimetik yapay bir kan damarı ve bunun elektroegirme
10 tekniği vasıtasıyla üretim yöntemi ile ilgilidir.

Önceki Teknik

Kardiyovasükler sistem hastalıkları dünya çapında mortalite ve morbidite oranları bakımından incelendiğinde ön plana çıkan sağlık sorunlarından biridir. Bu tip
15 hastalıkların önlenmesi veya ortaya çıkması ardından iyileşmenin sağlanması ve sürdürülebilmesi amacıyla doku mühendisliği alanında yapılan çalışmalar umut verici olmaktadır.

Dolaşım sisteminin önemli unsurlarından olan kan damarları, tıkanıklık ya da farklı sağlık sorunları sebebiyle işlevlerini kaybedebilmekte ve o bölgede kan akış sürekliliğinin sekteye uğramasına neden olarak büyük sağlık problemlerine yol açabilmektedir. Bu tarz problemler için damar içi engellemeye sebep olan etkenlerin mekanik yollar ile temizlenmesi mantığına dayanan, günümüzde
20 sıklıkla kullanılan modern tedaviler hayat kurtarıcı olsalar da tedavi sonrası oluşan restenoz, damar daralması veya çökmesi ve benzeri komplikasyonların oluşma ihtimali bulunmaktadır. Aynı zamanda yüksek tedavi masrafları ile hem birey bazında hem de sağlık sigortalarında dolaşım sistemi hastalıkları tedavisine pay ayırmış devletlerde ekonomik anlamda bir yük oluşturmaktadır.

30

Günümüzde sıkça kullanılan yöntemlerden biri de ufak çaplı kan damarlarının allogenik ve otolog olarak nakil edilmesi yöntemidir. Ancak uygun donör bulma zorluğu ve muhtemel bağışıklık sistemi kaynaklı doku reddi ihtimalleri bu tarz tedavilerin klinik uygulamalarını kısıtlamaktadır. Bu sebepten biyouyumlu malzemeler ile bu ufak çaplı kan damarlarının, kullanım amacına uygun mekanik özelliklere sahip bir şekilde üretiminin sağlanabilmesi mevcut tedavilerin modernize edilebilmesinin yanı sıra hastaların hayatına katabileceği değer açısından umut vericidir. Fakat bu amaçla üretilen malzemelerin ve bu alanda yapılan çalışmaların pıhtılaşmayı önlemek, uygun mekanik özelliklere sahip olmak, uzun süre kullanılabilirlik ve biyouyumluluk gibi bir yapay kan damarında aranan temel özellikleri ve gereklilikleri içermemesi gibi dezavantajlara sahip olduğu bilinmektedir.

Tekniğin bilinen durumunda yer alan WO2013109642 sayılı uluslararası patent dokümanında bir veya daha fazla ilgili kök hücre ile döllenen ve kalp dokusu gibi bir doku yapısını taklit eden baskılı bir konfigürasyona sahip olan bir nanofiber iskelet içeren kompozisyonlardan bahsedilmektedir. Söz konusu dokümanda açıklanan buluşta ayrıca, hasar gören bir kalpteki hasar gören kalp dokusunun tedavi edilmesi için yöntemler sağlanarak hasarlı kalp dokusuna etkili bir miktarda bileşim uygulanması açıklanmaktadır. Söz konusu dokümanda nanofiber doku iskelesi kompozisyonlarının hazırlanması için yöntemler de açıklanmaktadır. Bahsedilen doku iskelesi biyobuzunur polikaprolakton polimeri kullanılarak elektroegirme tekniği vasıtasıyla ve ayrıca bir hücre dışı matris proteininin nanofiber iskele üzerine bağlanmasıyla elde edilmektedir. Söz konusu buluşta hücre dışı matris proteinini olarak kolajen kullanılmaktadır

Tekniğin bilinen durumunda yer alan US2006204539 sayılı Birleşik devletler patent dokümanında en az bir doğal biyolojik materyal ve en az bir sentetik polimer materyali içeren elektroegirilmiş matrislerin hazırlanması için kompozisyonlar ve yöntemlerden bahsedilmektedir. Söz konusu dokümanda açıklanan buluşta doğal bileşen matrisleri oldukça biyouyumlu hale getirirken

polimer bileşenin molekül ağırlığı iskelete ek bir mekanik dayanım kuvveti kazandırdığı ve/veya elektroegirme sırasında çözeltinin viskozite ve egirme özelliklerini artırarak üretim kolaylığı sağladığı açıklanmaktadır. Söz konusu buluşun amacı genel olarak kan damarları, kalp valfleri, vasküler ya da kardiyak yapılar da kullanılan elektroegirilmiş matrisler elde etmektir. Söz konusu dokümanda açıklanan buluşta elektroegirilmiş nanofiberin polikaprolakton, kolajen ya da selüloz türevlerinin içerdüğinden bahsedilmektedir.

Buluşun Kısa Açıklaması

10

Bu buluşun amacı, insan vücudunda kullanılmaya uygun, damar içi pıhtılaşmaya sebebiyet vermeyen, kan basıncı, diğer dış etkenlere ve yaşlanma gibi etkilere karşı yüksek mekanik özelliklere ve elastisiteye sahip nano boyutlu fiber yapı iskelesinden oluşmuş yapay bir kan damarı ve bunların üretim yöntemi gerçekleştirilmektir.

15

Buluşun diğer bir amacı, dış çeperlerinde endotelizasyonu uyarıcı ve destekleyici etkiye sahip yapay bir kan damarı ve bunun elektroegirme tekniği vasıtasıyla üretim yöntemi gerçekleştirilmektir.

20

Buluşun diğer amacı, doğal ve sentetik polimerlerin bir arada kullanılarak oluşturulan yapı sinerjisi ile nano boyutta fiberlerin üst üste gelmesi ile oluşturulan bir nano-kompozit yapı iskeleti ile yapay bir kan damarı ve bunların üretim yöntemi gerçekleştirilmektir.

25

Buluşun Ayrıntılı Açıklaması

Bu buluşun amacına ulaşmak için gerçekleştirilen “Biyomimetik Yapay Bir Kan Damarı ve Üretim Yöntemi (100)” ekli şekillerde gösterilmiş olup, söz konusu şekiller;

30

Şekil-1. Buluş konusu yapay kan damarı yapı iskelesinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleridir:

(a) 5.00KX büyütmede buluş konusu yapay kan damarı yapı iskelesinin görüntüsüdür;

5

(b) 20.00KX büyütmede buluş konusu yapay kan damarı yapı iskelesinin görüntüsüdür.

Şekil-2. Buluş konusu yapay kan damarı yapı iskelesine ait fiber boyutları frekans grafiğidir.

10

Şekil-3. Biyomimetik yapay damarlarının değişen içeriklerine göre sahip oldukları, 24, 48 ve 72 saat için ölçülmüş in-vitro sitotoksite sonuçlarını gösteren sütun grafiğidir.

15

Şekil-4. 6 Hafta boyunca sürdürülen in-vitro testlerinin ardından yapılan patolojik incelemeler sonrası doku yanıtı karşılaştırmalı analizi fotoğraflarıdır.

Kolajen içermeyen örneklerde gözüken;

(a) 20X büyütmede ok en kalın enflamasyon bölgesini göstermektedir.

20

(b) 40X büyütmede üst ok dev hücreyi, alt ok ise lümen içine girebilmiş plazma ve lenfosit hücrelerini işaret etmektedir.

(c) 40X büyütmede ok bağ doku proliferasyonunu işaret etmektedir.

25

Kolajen içeren örneklerde ise;

(d) 20X büyütmede ok en kalın enflamasyon bölgesini göstermektedir.

(e ve f) 40X büyütmede alınmış fotoğraflardır.

30

Şekil-5 Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminin akış diyagramıdır.

Buluş konusu yapay kan damarı, insan vücudunda kullanılmaya uygun, damar içi pıhtılaşmaya sebebiyet vermeyen; kan basıncı, diğer dış etkenler ve yaşlanma gibi etkilere karşı yüksek mekanik özelliklere ve elastisiteye sahip, nanofiber içeren nano-kompozit yapı iskeletlerinden oluşmuş, dış çeperlerinde endotelizasyonu uyarıcı ve destekleyici etkiye sahip, biyouyumlu ve biyobozunur özelliktedir.

Bunun için, buluş konusu biyomimetik yapay kan damarını oluşturan yapı iskeleti, yüksek mekanik özelliklere sahip olan ve elektroğirme tekniğinde kullanıma uygun sentetik bir polimer olan polikaprolakton (PCL), biyouyumlu olan ve düşük toksisiteye sahip doğal bir polimer olan etil selüloz (EC) ve ekstraselüler matriksin temel yapıtaşlarından biri olan ve onu doğal olarak taklit edebilen, yapı iskeletleri üzerinde hücre birikimine olanak sağlayan kolajen içermektedir. Kolajen ayrıca yapı iskelesine esneklik kazandırmakta ve biyouyumluluk ve endotelizasyona katkıda bulunmaktadır.

Buluş konusu biyomimetik yapay kan damarı üretim yöntemi (100),

- biyouyumlu olan ve düşük toksisiteye sahip etil selüloz (EC) doğal polimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde etil selüloz çözeltisinin hazırlanması (101),
- polikaprolakton (PCL) sentetik polimerinin en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülerek belirli bir derişimde polikaprolakton çözeltisinin hazırlanması (102),
- etil selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin belirli bir oranda karıştırılması (103),
- en az bir organik çözücü içerisinde çözdürülen kolajenin (Kol.) etil selüloz çözeltisi ve polikaprolakton çözeltisi içeren karışıma belirli bir oranda eklenmesi (104),
- etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren karışımdan homojen çözelti elde etmek için karıştırılması (105),

- etil selüloz, polikaprolakton ve kolajen içeren homojen çözeltinin en azından bir iğneye ve silindirik yapıda ve hareketli toplayıcıya sahip olan en az bir elektroëğirme makinesindeki nanofiber çapı ve morfolojisine etki eden voltaj, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe ve akış hızı değerleri ayarlanarak belirli bir süre elektroëğirme işlemine tabi tutulması (106),
- karışımın elektroëğirme işlemine tabi tutulması (106) esnasında statik elektrik alan ile birlikte ilerleyen polimerlerin nanofiber oluşturarak silindirik bir toplayıcıda toplanarak iç kısmı boş silindir yapıda nano-kompozit yapı iskelesinin elde edilmesi (107) ve
- elde edilen yapı iskelesinin kurutulmasıyla yapay kan damarının elde edilmesi (108) adımlarını içermektedir.

Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminin (100) tercih edilen bir uygulamasında etil selüloz, çözücü içerisinde ağırlıkça %1 oranında etil selüloz olacak şekilde organik çözücü içerisinde çözdürülmektedir. Bunun için etil selüloz, tercihen ağırlıkça 60:40 oranında dimetilasetamit (DMA) ve tetrahidrofuran (THF) içeren çözücüye eklenerek etil selüloz çözeltisi hazırlanmaktadır (101).

Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminin (100) tercih edilen bir uygulamasında polikaprolakton polimeri ağırlıkça %10 olacak şekilde tercihen ağırlıkça 60:40 oranında dimetilasetamit (DMA) ve tetrahidrofuran (THF) içeren çözücüye eklenerek polikaprolakton çözeltisi hazırlanmaktadır (102).

Etil selüloz çözeltisinin hazırlanmasının (101) ve polikaprolakton çözeltisinin hazırlanmasının (102) ardından her iki çözelti ağırlıkça 50:50 oranında karıştırılmaktadır (103).

Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminde (100) etil selüloz çözeltisinin ve polikaprolakton çözeltisinin karıştırılmasının (103) ardından hazırlanan karşıma içerisinde kolajen çözünmüş tercihen asetik asit çözeltisinin, etil selüloz

ve polikaprolakton içeren karışım içerisinde ağırlıkça %0,1 oranında olacak şekilde eklenmektedir (104). Ardından oluşan son karışım, homojen bir çözelti elde etmek için tercihen manyetik bir karıştırıcıda tercihen 10 dakika süreyle karıştırılmaktadır (105).

5

Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminde (100) homojen bir çözelti elde edilmesinin (105) ardından elde edilen karışım şırıngaya alınarak elektroegirme makinesinde daha önceden belirlenen sürede yine daha önceden belirlenen miktarda polimerin ilerlemesini sağlayan pompa kısmına yüklenmektedir.

10 Elektroegirme makinesine yüklenen karışımın akış hızı tercihen 1,75 ml/saat değerine sahiptir. Ardından nanofiber üretimini sağlamak için uygulanan elektriğin voltajı tercihen yaklaşık 36 kV değerindedir. Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminde (100) 3 ila 5 saatlik elektroegirme işlemi (106) vasıtasıyla elde edilen nanofiberlerin silindirik yapıda olan ve hareketli
15 toplayıcıda toplanması ile iç kısmı boş, silindir yapıda nano- kompozit yapı iskelesinin elde edilmektedir (107). Söz konusu yöntemde (100) elektroegirme işlemi (106) tercihen 4 saat boyunca sürdürülmektedir. Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminde (100) elektroegirme işleminde kullanılan silindirik yapıda olan toplayıcının çapı tercih edilen uygulamada 0,5 cm uzunluğundadır.

20

Buluş konusu yapay kan damarı üretim yönteminde (100) elde edilen nano-kompozit yapı iskelesi 23 ila 50 °C etüv içerisinde 3 ila 8 saat bekletilerek kurutulmakta ve böylece yapay kan damarı elde edilmektedir (108). Buluşun tercih edilen uygulamasında elde edilen nano-kompozit yapı iskelesi 35 °C etüv
25 içerisinde 4 saat bekletilerek kurutulmaktadır. Elde edilen yapay kan damarı belirli uzunlukta kesilerek kullanılabilir.

Buluş konusu yöntemin (100) amacına ulaşmak için gerçekleştirilen deneysel çalışmalar ile elektroegirme tekniği vasıtasıyla polikaprolakton (PCL), etil selüloz
30 (EC) ve kolajenin farklı özelliklerinin tek bir son üründe birleştirilmesi amaçlanmış, bu son ürünün gerek pıhtılaşmaya yatkın olmaması gerek ise birim

alandaki maksimum yüzeye sahip olup hücre tutunmasını maksimum seviyede desteklenmesi amacıyla mümkün olduğunca ince fiber boyutlarına sahip olması hedeflenmiştir.

- 5 Buluş konusu yöntemde (100) çözünün hazırlanması için öncelikle dimetilasetamid (DMA) ve tetrahidrofuran (THF) ağırlıkça (60:40) oranında karıştırılarak çözücü stok çözeltisi hazırlanmaktadır. Ardından bu stok çözelti içinde polikaprolakton (PCL) %10 ağırlık oranı ile çözünmüştür.
- 10 Buluş konusu yöntemin (100) amacına ulaşmak için gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda buluş konusu kan damarının biyouyumluluk değerinin in-vivo testleri ile karşılaştırılması için farklı konsantrasyonlarda 6 farklı örnek hazırlanmıştır.
- Bunun için öncelikle, stok çözelti içerisinde ağırlıkça %0.5, %0.75 ve %1.0 oranında etil selüloz (EC) olacak şekilde farklı konsantrasyonda 3 ayrı çözelti hazırlanmıştır. Ardından her bir etil selüloz (EC) çözeltisi içerisine ağırlıkça (50:50) olacak şekilde daha önceden hazırlanan ağırlıkça %10 oranında polikaprolaktonun (PCL) içeren çözelti eklenmiştir. Bu şekilde elde edilen 3 ayrı örnek de kendi içinde ikiye bölünerek 2 gruba ayrılmıştır. Ardından elde edilen
- 20 ikinci gruba, grup içerisinde yer alan her bir örneğe toplam karışımda ağırlıkça %0.1 oranında kolajen olacak şekilde asetik asit içinde çözünmüş kolajen ilave edilmiştir. Son karışım 10 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda homojen bir çözelti elde etmek amacıyla karıştırılmıştır.
- 25 Bu şekilde elde edilen 6 farklı farklı çözeltinin ağırlıkça oranları Tablo 1’de yer almaktadır.

Tablo 1. Hazırlanan 6 farklı örneğin ağırlıkça içeriklerini göstermektedir.

	Grup I		Grup II		
	PCL	EC	PCL	EC	Kolajen
Örnek I	% 10,0	% 0,5			
Örnek II	% 10,0	% 0,75			
Örnek III	% 10,0	% 1			
Örnek IV			% 10,0	% 0,5	% 0,1
Örnek V			% 10,0	% 0,75	% 0,1
Örnek VI			% 10,0	% 1	% 0,1

5

Ardından her bir örnek 10 ml’lik plastik şırınga vasıtasıyla elektroegirme cihazının hassas dijital pompasına yüklenmiş ve saatte 1,75 ml debi hızı ile elektrik alan içine gönderilmiştir. Elektrik alanın voltajı ise 36,5 kV olarak ayarlanmıştır. Bu parametreler eşliğinde nanofiber yapı iskeleti toplayıcı üzerinde toplanmaya başlanmış ve 4 saat boyunca elektroegirme işlemine devam edilmiştir. Elektroegirme işlemi bittikten sonra oluşan nano-kompozit yapı iskeleti, çözücü kalıntılarından arındırılmak için 4 saat boyunca 35°C sıcaklıktaki etüvde bekletilmiştir. Gerekli karakterizasyon testlerinin ardından, biyoyumluluk değerlendirmeleri için 6 farklı örneğin 24, 48, 72 saat için in-vitro sitotoksosite sonuçları ölçülmüştür (Şekil 2).

15

Şekil 2’de yer alan biyoyumluluk değerlendirmelerine göre Örnek VI in vivo uygulamaları için seçilmiştir. Karşılaştırmalı analiz yapılabilmesi için ise kolajen içermeyen Örnek III in vivo uygulamaları için kullanılmıştır. Bunun için, söz konusu çözeltiler ile elektroegirme tekniği vasıtasıyla elde edilecek olan nanofiberlerin oluşturacağı nano-kompozit yapı iskelesinin morfolojik olarak benzerlik göstermesi için 0,5 cm çapa sahip paslanmaz çelik olan toplayıcı üzerinde birikecek şekilde elektroegirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elektroegirme

20

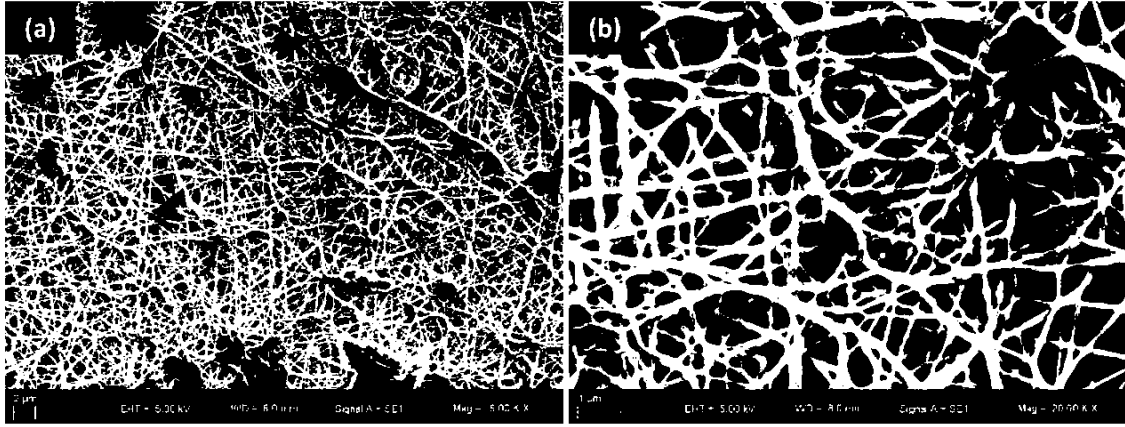
işlemi sonucunda 12 cm uzunluğunda 6g ağırlığında 0,5 cm iç çapa sahip nano-kompozit yapı iskeleleri elde edilmiştir. Elde edilen yapı iskelesinin toplayıcıdan ayrılması ve içi boş kalacak şekilde silindirik yapısı korunarak kesilerek in-vivo testleri için hazırlanmıştır. Örnek III (kolajensiz) ve Örnek VI'ten (kolajenli) elde edilen kan damarları in-vivo çalışmalar için katater vb. kullanımı olmadan hayvan içerisine implante edilmiştir. Ardından son olarak patolojik incelemeler yapılmıştır ve doku yanıtlarına ait karşılaştırılmalı analiz fotoğrafları Şekil 4'te yer almaktadır. Kolajen içermeyen örnekte yapay kan damarına karşı dokunun oluşturduğu tepki olan bağışıklık sistemi cevabı gözlenmektedir. Kolajen içeren 5 10 örnekte ise yapay kan damarının hayvan içinde gösterdiği yüksek biyouyumluluk ile bağ doku proliferasyonu yaşatmadığı, savunma hücreleri tarafından istila edilmediği ve doku cevabı olan enflamasyonun minimum seviyede kaldığı, canlı hücrenin yapay kan damarı etrafında adeta bir koruyucu psödo-kapsül adventisya oluşturduğu gözlenmektedir. Bu da endotelizasyona zemin hazırlamaktadır.

15

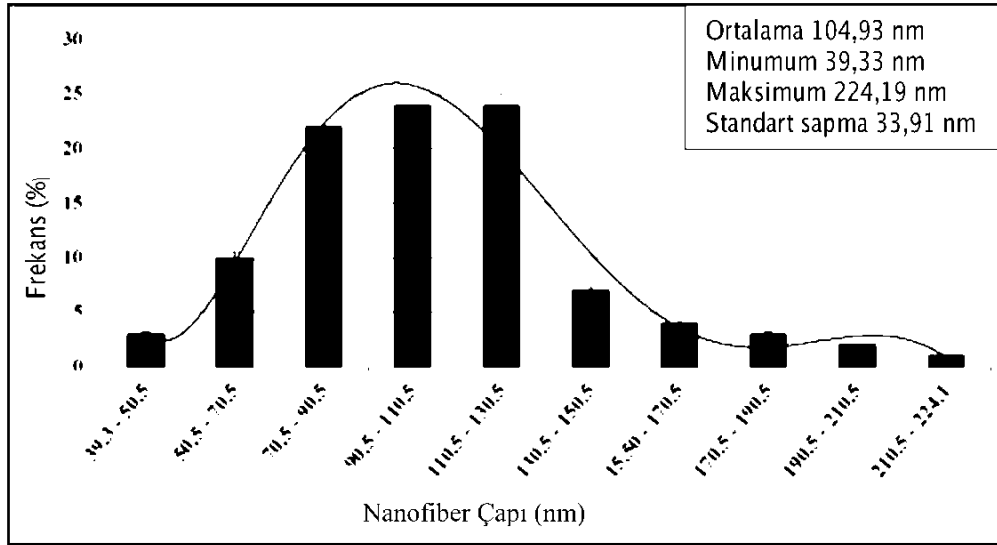
Buluş konusu yöntem (100) ile doğal ve sentetik polimerlerin belirli oranlarda oluşturulan sinerjisi ile nanofiberler üretilmiş ve bu nanofiberlerin üst üste gelmesi ile bir nano-kompozit yapı iskeleti oluşturulmuştur. Söz konusu nano-kompozit yapı iskeleti ile biyouyumluluğu yüksek, morfolojik ve fizyolojik olarak 20 doğal kan damarlarını taklit eden, bilinen yapay kan damarlarına göre ufak çaplı biyomimetik kan damarları üretilmiştir.

Bu temel kavramlar etrafında, buluş konusu “Biyomimetik Yapay Bir Kan Damarı ve Üretim Yöntemi (100)” için çok çeşitli uygulamalarının geliştirilmesi 25 mümkün olup buluş burada açıklanan örneklerle sınırlandırılmaz, esas olarak istemlerde belirtildiği gibidir.

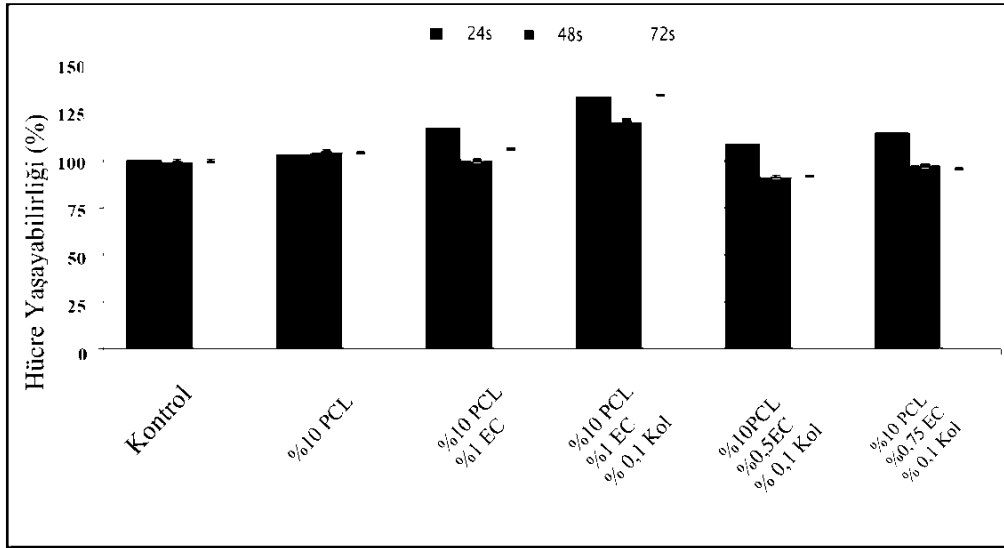
Şekil 1



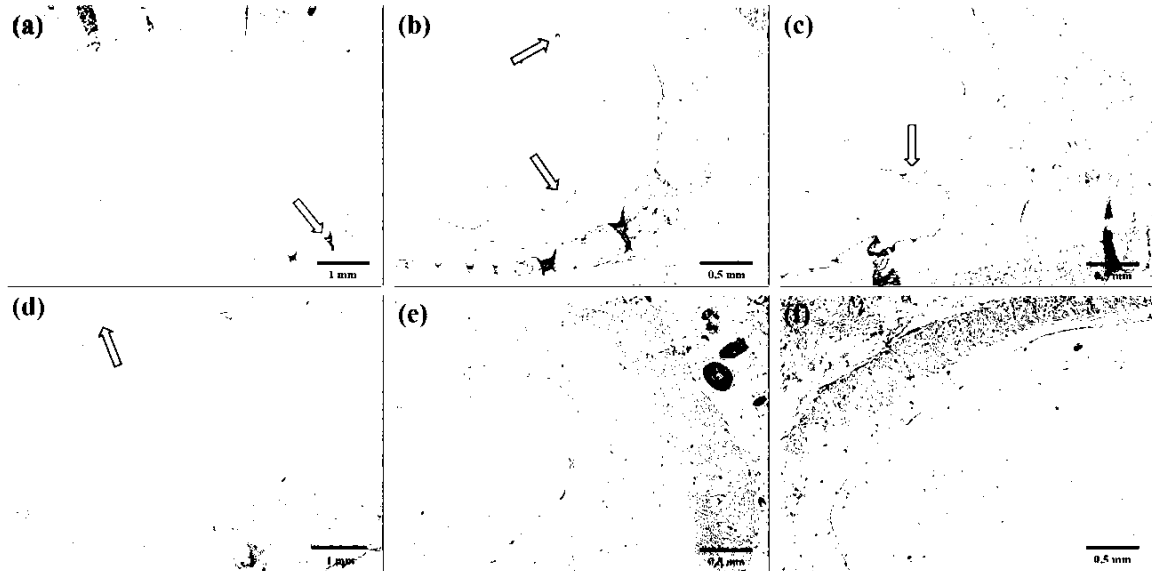
Şekil 2



Şekil 3



Şekil 4



Şekil 5

