

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**



**PEG /*Ganoderma lucidum* KOMPOZİTLERİNİN
ANTİBAKTERİYEL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AHMET CENKAY ORBAY

BALIKESİR, MART-2018

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI



**PEG /*Ganoderma lucidum* KOMPOZİTLERİNİN
ANTİBAKTERİYEL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AHMET CENKAY ORBAY

Jüri Üyeleri :Prof. Dr. Serap DOĞAN (Tez Danışmanı)

Prof. Dr. Ümit ÇAKIR

Doç. Dr. Reyhan İRKİN

BALIKESİR, MART-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

Ahmet Cenkay ORBAY tarafından hazırlanan “PEG/*Ganoderma lucidum* KOMPOZİTLERİNİN ANTİBAKTERİYEL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 15.03.2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Prof. Dr. SERAP DOĞAN

Üye

Prof. Dr. Ümit ÇAKIR

Üye

Doç. Dr. Reyhan İRKİN

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

**Bu tez çalışması Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2017/031
nolu proje ile desteklenmiştir.**

ÖZET

PEG /*Ganoderma lucidum* KOMPOZİTLERİNİN ANTİBAKTERİYEL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
AHMET CENKAY ORBAY
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF.DR. SERAP DOĞAN)
BALIKESİR, MART 2018

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (%1, %2.5, %5 w/w) dolgu materyali olarak *Ganoderma lucidum* (Reishi), kalıp olarak da farklı molekül ağırlıklarında (M_A : 1400, 2250, 8400 g/mol) poli(etilen glikol) (PEG) kullanılarak elde edilen kompozitlerin hazırlanışı, karakterizasyonunu ve bazı biyolojik özellikleri araştırılmıştır. PEG /*Ganoderma lucidum* kompozitleri, 25 mikrometre ölçeğinde elenmiş *Ganoderma lucidum* içeren, çözelti ortamında etkinleştirme metodu ile hazırlanmıştır. Kompozitlerin karakterizasyonu XRD, FTIR-ATR ve SEM ve ile yapılmıştır. Ayrıca bu çalışmada kompozitlerin sitotoksik aktiviteleri, hemouyumlulukları ve antibakteriyel aktivite özellikleri incelenmiştir. Farklı derişimlerde *Ganoderma lucidum* içeren PEG /*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin XRD, FTIR-ATR ve SEM, sonuçlarına bakıldığında *Ganoderma lucidum*'un PEG polimer zincirleri ile etkileşerek hazırlanan kompozitler içerisinde homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür. Bu çalışmada, PEG /*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin hemouyumluluklarının oldukça yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca hazırlanan kompozitlerin insan lenfositlerine karşı sitotoksik etki göstermediği ve *E. coli* ATTC-8739 ve *S. aureus* ATCC-653'e karşı antibakteriyel etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, hazırlanan PEG /*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin pek çok biyomedikal uygulamada biyomateryal olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Poli(etilen glikol) (PEG), *Ganoderma lucidum*, biyomalzeme, kompozit, sitotoksik, antibakteriyel, hemouyumluluk.

ABSTRACT

DETERMINATION OF CYTOTOXIC AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES PEG /*Ganoderma lucidum* COMPOSITES

MSC THESIS

AHMET CENKAY ORBAY

BALIKESIR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

(SUPERVISOR: PROF. DR. SERAP DOĞAN)

BALIKESİR, MART-2018

In this study, the preparation and characterisation and some biological properties of biocomposites of different molecular weight of poly(ethylene glycol) (PEG) (MW: 1400, 2250, 8400 g/mol) as a matrix with *Ganoderma lucidum* (Reishi), as a filling material at different loading (%1, %2.5, %5 wt) have been investigated. The composites have been prepared by solution intercalation method using ground and sieved *Ganoderma lucidum* at 25 micron scale. The characterization of composites was made by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared attenuated total reflectance (FTIR-ATR) and scanning electron microscopy (SEM). Also in this study the cytotoxic, hemocompatibility and antibacterial properties of composites were investigated. When XRD and FTIR-ATR results discussed, all of the composites using the different loading amount of *Ganoderma lucidum* (%1, %2.5 and %5 wt) were shown a homogenous distribution in the matrix (PEG) via interact with PEG polymer chains. The SEM photos have confirmed these results. In this study, PEG /*Ganoderma lucidum* composites were determined that hemocompatibility of composites were high. Furthermore, it was determined that the composites did not show cytotoxic effect against human lymphocytes and composites were shown antibacterial effect against *E. coli* ATTC-8739 ve *S. aureus* ATCC-6538. These results showed that the prepared PEG/ *Ganoderma lucidum* composites can be used as biomaterials in many biomedical applications.

KEYWORDS: Poly(ethylene glycol), *Ganoderma lucidum*, biomaterials, composite, cytotoxicity, antibacterial, hemocompatibility.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vii
SEMBOL LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Biyomalzemeler.....	1
1.1.1 Biyomalzemelerin Özellikleri.....	2
1.1.2 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması.....	3
1.1.3 Kompozit Malzemelerin Hazırlanması.....	8
1.2 Tıbbi Mantarlar.....	10
1.2.1 <i>Ganoderma lucidum</i>	11
1.3 Biyoyumluluk.....	14
1.3.1 Biyoyumluluk Testlerinin Seçilmesi.....	15
1.4 X-ışını kırınımı (XRD).....	15
1.5 FTIR-ATR.....	16
1.6 SEM (Scanning Electron Microscope).....	16
1.7 JuLI ve Tripan Mavis Testi.....	16
1.8 MTS Testi.....	17
1.9 Hemoyumluluk.....	18
1.10 Literatür Özeti.....	18
2. MATERYAL VE METOT	21
2.1 Materyal.....	21
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	21
2.1.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	22
2.2 Metot.....	23
2.2.1 PEG / <i>GANODERMA</i> Kompozitlerinin Hazırlanması.....	23
2.2.2 PEG / <i>GANODERMA</i> Kompozitlerin Karakterizasyonu.....	23
2.2.3 Hücre Kültürü İşlemleri.....	24
2.2.4 Sitotoksosite Testleri.....	25
2.2.5 Hemoyumluluk Testi.....	26
2.2.6 Antibakteriyel Aktivite.....	27
3. BULGULAR	28
3.1 PEG / <i>GANODERMA</i> Kompozitlerinin Karakterizasyonu.....	28
3.1.1 XRD Analizleri.....	28
3.1.2 FTIR-ATR Analizleri.....	30
3.1.3 SEM Analizleri.....	34
3.2 Sitotoksosite Testleri.....	38
3.2.1 MTS testi.....	38
3.2.2 JuLI Görüntüleme Cihazı.....	40
3.3 Hemoyumluluk Testi.....	41
3.4 Antibakteriyel Testi.....	42
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	44

4.1 PEG /GANODERMA Kompozitlerin Karakterizasyon Sonuçları.....	44
4.2 Sitotoksisite Testinin Sonuçları	46
4.3 JuLI Görüntüleme Cihazı Sonuçları	47
4.4 Hemouyumluluk Test Sonuçları	48
4.5 Antibakteriyal Aktivite	48
5. KAYNAKLAR.....	50
6. EKLER.....	64
EK A JuLI Grafikleri	64



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: PEG'ün molekül yapısı.....	7
Şekil 1.2: MTS ve formazan'ın molekül yapısı.....	17
Şekil 3.1: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin XRD deseni.....	29
Şekil 3.2: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin XRD deseni.....	29
Şekil 3.3: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin XRD deseni	30
Şekil 3.4: <i>Ganoderma lucidum</i> 'a ait FTIR-ATR spekturumu	31
Şekil 3.5: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG'in FTIR-ATR spekturumu.....	31
Şekil 3.6: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG'in FTIR-ATR spekturumu.....	32
Şekil 3.7: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG'in FTIR-ATR spekturumu.....	32
Şekil 3.8: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin FTIR-ATR spekturumu	33
Şekil 3.9: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin FTIR-ATR spekturumu	33
Şekil 3.10: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin FTIR-ATR spekturumu.....	34
Şekil 3.11: 1400 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.....	35
Şekil 3.12: 1400 molekül ağırlığına sahip %2.5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.....	35
Şekil 3.13: 1400 molekül ağırlığına sahip %5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.....	35
Şekil 3.14: 2250 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.....	36
Şekil 3.15: 2250 molekül ağırlığına sahip %2.5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.....	36
Şekil 3.16: 2250 molekül ağırlığına sahip %5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü	36
Şekil 3.17: 8400 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.....	37
Şekil 3.18: 8400 molekül ağırlığına sahip %2.5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.....	37
Şekil 3.19: 8400 molekül ağırlığına sahip %5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.....	37
Şekil 3.20: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin MTS değerleri.....	38
Şekil 3.21: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin MTS değerleri	39
Şekil 3.22: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin MTS değerleri	39
Şekil 3.23: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin JuLI değerleri.....	40

Şekil 3.24: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG / <i>GANODERMA</i> kompozitlerinin JuLI değerleri.....	40
Şekil 3.25: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG / <i>GANODERMA</i> kompozitlerinin JuLI değerleri.....	41
Şekil 3.26: PEG / <i>GANODERMA</i> kompozitlerinin hemouyumluluk değerleri.....	41
Şekil 3.27: PEG / <i>GANODERMA</i> kompozitlerinin <i>E.coli</i> 'ye karşı antibakteriyel aktiviteleri.....	42
Şekil 3.28: PEG / <i>GANODERMA</i> kompozitlerinin <i>S.aureus</i> 'a karşı antibakteriyel aktiviteleri.....	43



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: Çalışmada kullanılan cihazlar.....	22
Tablo 3.1: PEG /GANODERMA kompozitlerinin % hemoliz değerleri.....	42



SEMBOL LİSTESİ

PEG	: Poli(etilen glikol)
GANODERMA	: <i>Ganoderma lucidum</i>
XRD	: X Işını Kırınım Difraksiyonu
FTIR-ATR	: Fourier Transform Infrared Attenuated Total Reflectance
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopi
M_A	: Moleküler Ağırlık
FBS	: Fetal Bovine Serum



ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca her zaman bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, manevi desteğini ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Serap DOĞAN'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını ve değerli bilgilerini esirgemeyen saygı değer hocalarım Prof. Dr. Mehmet DOĞAN ve Doç. Dr. Yasemin TURHAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında desteklerini ve yardımları için Uzman Dr. Mehmet Emin DİKEN, Ar. Gör. Begümhan YILMAZ, Şeyman KIRMIZI, Nurdan AKICI, Pakize ÖZKAYA, İrem AKINCI ve Ulaş KUMRAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her şarttan sevgilerini benden esirgemeyen her zaman destekçim olan sevgili ailem, annem Serpil ORBAY, babam Adnan ORBAY, abim Berkay ORBAY ve kardeşim Koray ORBAY, ayrıca her zaman desteğini hissettiğim arkamdaki gizli güçlerden biri olduğuna inandığım nişanlım Asena Zişan PEKER'e sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Teknolojinin gelişmesi ile birlikte insan sağlığı için yararlı olduğu düşünülen biyomalzemelere yönelim artmıştır. Biyomalzemeler birçok alanda etkin bir şekilde kullanılmaktadır ve hayatı kolaylaştırıcı bu ürünler ile birçok başarılı çalışma yapılmıştır. Örneğin kalça ve diz protezlerinde titanyum, paslanmaz çelik ve polietilen kullanılması, kemik dolgu maddesi olarak poli(metil metakrilat) kullanılması, kemik kırıklarını onarımında hidroksilapatit kullanılması, kan damar implantı olarak poliüretan kullanılması, kalp kapakçığı yapımında karbon ve paslanmaz çelik kullanılması, kateter yapımında silikon kauçuk ve poliüretan kullanılması, yapay kalp oluşturmada poliüretan kullanılması, yapay böbrekte selüloz ve poliakrilonitril kullanılması, kontakt lens yapımında silikon akrilat ve hidrojeller kullanılması, diş implantlarında titanyum, paslanmaz çelik, polietilen vb. malzemelerin kullanılması başarılı çalışmalar arasında gösterilmektedir [1].

1.1 Biyomalzemeler

Biyomalzemeler Ulusal Sağlık Enstitüsüne göre; 'İşlevini kaybetmiş doku veya organları onaran, işlevini arttırmaya yarayan ya da işlevini kaybetmiş organın yerini tutmaya yarayan sentetik veya doğal maddelerin karışımından meydana gelen malzemelerdir.' olarak tanımlamaktadır [2].

Biyomalzemeler, bilimsel olarak çok yeni olmasına rağmen kullanımları çok eski tarihlere kadar uzanmaktadır. Bunun en güzel örneklerinden biri de eski Mısır mumyalarında bulunan yapay burun, göz ve dişlerdir [3]. 200 yıldan daha uzun bir süre önce Romalılar, Çinliler ve Azteklerin diş hekimliğinde altını kullandıkları [4], milattan önceki zamanlarda kemik protezlerinde bakır ve bronzların kullanıldığı bilinmektedir. Bakır iyonunun toksik etkisi bilinmesine rağmen 19. yy. kadar kullanımına devam edilmiştir. 19. yy. sonlarına doğru implant malzemelerin kullanımına oldukça önem verilmeye başlanılmıştır [5]. İnsan vücudunda kullanılan ilk implant plak olan malzeme W. D. Sherman tarafından 1912 yılında geliştirilen

vanadyum çeliğidir. Bu çelik materyal kırıkların tedavisinde kullanılmakla beraber vücuda yerleştirildikten belirli bir zaman sonra korozyona uğrayarak ciddi tehlikeler oluşturmuştur [5,6]. Biyomateryallerdeki en büyük gelişme 1947 yılında J. Cotton tarafından titanyum alaşımlı biyomalzemelerin geliştirilmesi ile sağlanmıştır. Biyomalzemeler ve cerrahi yöntemlerin gelişmesi ile birlikte kalp kapakçığı ve kan damarı operasyonları başarılı bir şekilde gerçekleştirilmeye başlanmıştır [6].

Son yıllarda ise biyomalzemelere olan ilginin artması ile birlikte dokularla olan etkileşimleri üzerine birçok araştırma yapılmış ve yeni biyomalzemeler geliştirilmiştir. Geliştirilen biyomalzemelerin insan vücudunda toksik ve kanserojen olmamasına, malzemenin deforme olmamasına, korozyona uğramamasına ve aynı zamanda mekanik dayanıklılıklarının yüksek olmasına dikkat edilmiştir [7].

1.1.1 Biyomalzemelerin Özellikleri

Birçok alanda yaygın olarak kullanılan biyomalzemeler, biyomedikal alanda implant olarak kullanılabilmesi için uygun parametrelere sahip olması gerekmektedir. Bir biyomalzeme vücuda yerleştirildiği zaman uzun ömürlü olması ve vücudun reddetmemesi gibi bazı önemli özelliklere sahip olmalıdır. Biyomalzemelerin seçiminde biyoyumuluk, biyoışlevsellik, yanıt, toksisite, uygun tasarım, korozyon direnci, yüksek aşınma direnci ve dayanıklılık gibi dikkat edilmesi gereken bazı parametreler vardır ve bunlar aşağıda maddeler halinde açıklanmıştır;

- **Yanıt:** İmplant edilen biyomalzemeye karşı vücudun vermiş olduğu cevaptır [8].
- **Biyoyumluluk:** Biyoyumluluk, biyomalzemenin biyolojik performansı olarak tanımlanmaktadır [9]. Biyoyumlu malzemeler vücuda herhangi bir zarar vermeden dokularla temas halinde uzun süre dayanabilmelidir [10]. Bunun yanı sıra bir biyomalzemenin biyoyumlu olabilmesi için; kanserojenik, toksik, alerjenik, gibi bir etkiye sebep olmamalı, iltihap oluşturmamalı ve aynı zamanda kan uyumluluğu yüksek olmalıdır.
- **Biyoişlevsellik:** Bir biyomalzemenin istenilen fiziksel ve mekanik özelliğe sahip olması gerekmektedir. Biyomalzeme biyoışlevsel olarak genellikle kullanım yerine göre; yük iletimi ve hareketi mümkün kılma, kan ve sıvı akışını

kontrol edebilme, elektrik uyarıları, ses iletimi, ışık iletimi gibi bazı özelliklere sahip olmalıdırlar [11].

- **Toksisite:** Bir biyomalzeme eğer özel olarak toksik amaçlı üretilmediyse herhangi bir toksik özellik göstermemelidir. Biyomalzemelerde toksisite kütle kaybetmesi olarak tanımlanır ki bu durum spesifik olarak tasarlanmadığı sürece istenmeyen bir etkidir [12].
- **Uygun Tasarım:** Biyomalzeme işlenebilir ve kalıplanabilir özelliğe sahip olmalıdır [9].
- **Korozyon Direnci:** Korozyon biyomalzemelerin seçiminde önemli bir sorundur. Çünkü özellikle metalik kompozitlerde korozyon olma ihtimali daha yüksektir. Bu durum biyolojik ortamda istenmeyen metal iyonlarının serbest kalmasına neden olur [13].
- **Yüksek Aşınma Direnci:** Yüksek sürtünme katsayısı ya da düşük aşınma direnci biyomalzemelerin aşınmasına neden olur [14]. Bu da biyomalzemelerin uzun süreli kullanımına engel teşkil eder.
- **Dayanıklılık:** Biyomalzeme mekanik olarak dayanıklı olmalıdır. Yeterli mukavemete sahip olmamaları durumunda biyomalzemede kırılma meydana gelebilir [10].

1.1.2 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

Biyomalzemelere olan ilginin artmasıyla birlikte birçok maddeden biyomalzeme ürünü elde edilmiştir.

Biyomalzemeler genel olarak 4 sınıfa ayrılırlar;

1. Seramik biyomalzemeler,
2. Metalik biyomalzemeler,
3. Kompozit biyomalzemeler,
4. Polimerik biyomalzemeler.

1.1.2.1 Seramik Biyomalzemeler

Seramik biyomalzemeler yüksek dirençlilik ve inert yapıya sahip olmaları nedeniyle tıbbi uygulamalarda sıklıkla tercih edilen inorganik malzemeledir [15]. Bu biyomalzemelerin tercih edilmesinin en önemli nedenleri alerjik olmamaları, toksik olmamaları, kansorejen etki göstermemeleri, biyoyumlu olmaları ve biyomalzeme olarak implante edildiği zaman uzunca süre istenilen etkiyi göstermesidir [16]. Fakat genellikle aşırı derecede sert olmaları ve zayıf mekanik özellikleri seramik biyomalzemelerin kullanımını sınırlamaktadır [15].

İmplant biyoseramik malzemelerin seçimi mekanik ve biyolojik özelliğine bağlıdır. Özellikle biyoseramik materyal olarak sıklıkla kullanılan alümina ve zirkonya, ortopedi alanında düşük sürtünme ve yıpranmama özelliği, aynı zamanda mekanik direnci ve dayanıklılığı sayesinde çoğunlukla kemik implantasyonunda tercih edilmektedir [17]. Bununla birlikte hidroksiapatit’de düşük toksisitesinden dolayı yeni kemik dokusu oluşumunu teşvik ettiği için kullanılmaktadır [18,19]. Bunların yanı sıra en fazla kullanılan biyoseramik örnekler silikatlar, karbürler, sülfürler, selenetler ve elmas gibi karbonlu bileşiklerdir [16].

1.1.2.2 Polimerik Biyomalzemeler

Polimerler, birbirlerine ortak bir omurga oluşturmak üzere bağlanmış, monomer olarak adlandırılan kovalent bağlı birimlerden oluşan büyük molekülü zincirlerdir [15]. Biyomalzemelerin en geniş sınıfı olan polimerler; implantlarda, protez materyallerinde, tek kullanımlık medikal malzemelerde, dişçilik malzemelerinde, doku mühendisliğinde vb. birçok alanda yaygınca kullanıma sahiptirler [16]. Metal ve seramik biyomalzemeler ile karşılaştırıldığında polimerik biyomalzemelerin lateks, film tabaka vb. şekillerde üretilmesinin kolaylığı, fiyatlarının uygun olması, istenilen mekanik ve fiziksel özelliğe sahip olması onların büyük avantajı olarak sayılmaktadır [20].

Sentetik biyomalzemeler arasında polivinil klorür, polietilen, polistiren, polimetilmetakrilat, poliesterler, poliamitler olarak sayılabilir. Doğal polimerler ise kollojen, heparin, DNA ve hiyalünorik asit’tir [21]. Polimerik biyomalzemeler

seçilirken diğer biyomalzemelerin seçiminde göz önünde bulundurduğumuz biyoyoumluluk, sterilizasyon, mekanik ve fiziksel yeterlilik gibi özelliklere de dikkat edilmelidir [16].

1.1.2.3 Metalik Biyomalzemeler

Benzersiz atomik yapıları ve bağlanma özellikleri olan metaller; malzemenin elektriksel, mekanik ve termal özelliklerin arttırmasına neden olan üstün özellikli inorganik malzemelerdir [21]. Metalik biyomalzemeler diş implantlarında, eklem protezlerinde, çene cerrahisinde, kalp damar cerrahisinde ve kemik yenileme malzemesi yapımında yaygın bir kullanıma sahiptirler. Metalik biyomalzemeler, ağırlık direncinin fazla olması, uzun süreli veya ani yük değişimine dayanıklı olması ve özelliklerini kaybetmemeleri nedeniyle sıkça tercih edilmektedir [22].

Bazı metallerin fizyolojik ortamlarda oksidasyona sebep olabilecekleri düşünülmektedir [23]. Platin, gümüş ve altın gibi metaller bu oksidasyona neden olmazlarken titanyum ve krom gibi metaller oksidasyona neden olan metaller arasında sayılabilirler [15]. Saf metaller oldukça biyoyoumlu olmalarına rağmen korozyona uğrama nedeni ile biyomateryal yapımında çok tercih edilmemektedir. Bu saf mateller arasında magnezyum, tantal, platinyum, iridyum vb. metaller bulunur. Örneğin magnezyum mekanik özelliği bakımından avantajlı olmasına rağmen korozyon direnci düşüktür veya tantal gibi bazı metallerin korozyona karşı dirençli olmalarına rağmen mekanik özellikleri oldukça düşüktür. Sonuç olarak bu saf metallerin biyomalzemelerde eser miktarda kullanımı tercih edilmelidir [24].

Biyomalzeme yapımında iki ya da daha fazla maddenin homojen olarak karıştırılması ile elde edilen metal alaşımlar kullanılmaktadır ki bunun ilk örneği aynı zamanda insanlara implante edilen ilk biyomalzeme olan vanadyum çeliğidir. Vücutta korozyona uğradığı için günümüzde kullanılsa da paslanmaz çelik, titanyum, kobalt krom içeren alaşım metaller yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [23].

1.1.2.4 Kompozit Biyomalzemeler

Kompozit biyomalzemeler, makroskopik ölçekte spesifik olarak mekanik, kimyasal ve fiziksel özellikler üretmek için yapılan, morfolojisi ve genellikle fiziksel özellikleri farklı olan iki ya da daha fazla materyalin homojen bir şekilde karıştırılması ile elde edilen ürünlerdir. Farklı elementlerin bu kombinasyonu spesifik özellikleri maksimize eden yeni bir materyal ortaya çıkarmaktadır. Bunun sonucu olarak kompozit materyaller bileşenlerinin en iyi özelliklerini gösterdiği ve genellikle bir maddenin tek başına gösteremediği bazı özellikleri sergilemektedir. Kompozit malzemeler istediğimiz özelliğe sahip olabilecek esnek bir tasarıma izin verir, çünkü kompozit materyallerin yapıları ve özellikleri optimize edilebilir ve spesifik alanlarda çok rahat kullanılabilir [25].

Kompozit biyomalzemelerde katı maddeler genel olarak karbon, seramik, metal ve polimer olmak üzere sınıflandırılabilir. Ayrıca kompozitler matris için kullanılan malzemelere göre; polimer matris kompozitler (PMC'ler), metal matris kompozitler (MMC'ler), karbon/karbon kompozitler (CCC'ler) ve seramik matris kompozitler (CMC'ler) olarak sınıflandırılabilirler. Son zamanlarda biyomedikal uygulamaların ihtiyacına göre en çok tercih edilen kompozit PMC'lerdir [26].

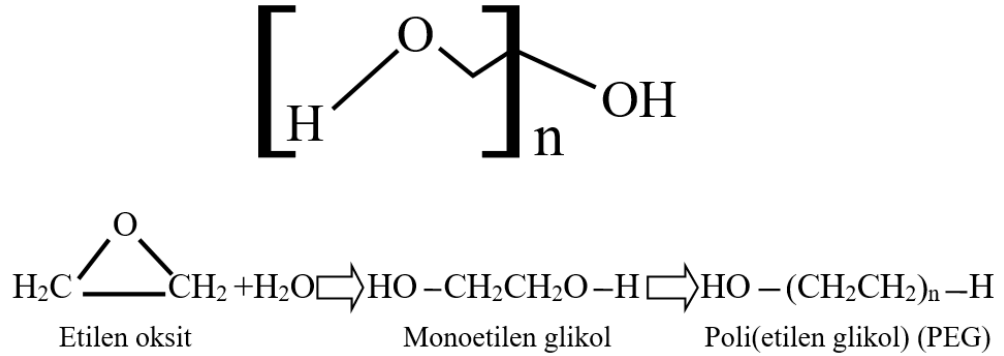
Çevre dostu olarak bilinen ve biyolojik olarak bozunabilen biyomalzemeler, doku mühendisliğinde, ilaç ve gen sunumlarında [9], diş ve ortopedik implantların tasarlanmasında oldukça yaygın kullanılmaktadırlar [27].

1.1.2.4.1 Poli(etilen glikol)

Poli(etilen glikol) (PEG), toksik olmayan, hidrofilik ve oldukça biyoyumlu bir polimerdir [28,29]. Biyolojik PEG, geniş uygulama alanlarında kullanılan bir molekül sınıfıdır [30,31]. Örneğin endüstriyel, tıbbi, kozmetik ve gıda ürünlerinde yaygın olarak tercih edilmektedir. Bunun yanı sıra yara bandajları, ilaçlar, hidrojeller, araç yağlama ürünleri, tabletler ve diş iplerinin yapımında kullanılmaktadır [32].

PEG ($H(OCH_2CH_2)_nOH$) etilen oksitin polimerizasyonu yolu ile sentezlenir. Elde edilen PEG polimerleri molekül ağırlığına (M_w) ve zincir uzunluğuna göre

değişir. Farklı molekül ağırlığına sahip PEGler tipik olarak yüksüzdürler ve doğrusal ya da dallanmış olabilirler [33].



Şekil 1.1: PEG'ün molekül yapısı [34].

Ticari olarak satılan PEG polimerlerinin molekül ağırlıkları 200 ila 35000 g/mol olarak değişmektedir [33]. Molekül ağırlığı 400 g/mol'den düşük olan PEGler şeffaf, vizkoz sıvılar iken, molekül ağırlığı 1000 g/mol'den daha büyük olan PEGler toz veya opak katıdır. PEG'ün molekül ağırlığı arttıkça toksisitesi ve fizyolojik absorpsiyonu azalmaktadır [33].

Poli(etilen glikol) düşük toksisiteye sahiptir ve çeşitli ürünlerin yapımında kullanılmaktadır [35]. İlaç sanayisinde glikoller yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir [36]. Tablet hapların yüzeylerini kaplamada, ultrason jölelerinde, merhem bazlarında, fitillerde ve organ koruyucu maddeler içerisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Su absorblama özelliğinden dolayı PEG yara bandajları, ortapedi, nörocerrahi ve hidrojeller gibi tıbbi malzemelerde bulunmaktadır. Son yıllarda polimer bazlı ilaç dağılımında PEG kullanımı yaygınlaşmıştır. Molekül ağırlığı arttırarak kullanılan PEG'in vücuttaki dolaşım süresin uzar ve ilaçların opsonizasyonunu engelleyerek bağışıklık sistemini korumak için sistemik ilaçlara kovalent olarak bağlanabilir. PEG ile kaplanmış ilaçlar kanser ve gut gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [37]. Bunun yanı sıra PEG kozmetik ve parfüm endüstrisinde kremler, şampuanlar, saç jöleleri, saç boyaları, rujlar, losyonlar ve traş kremlerinde de kullanılmaktadır [38]. PEG gıda katkı maddesi olarak da kullanıldığı bilinmektedir ve tekstil, deri, seramik, plastik, metal, kimya endüstrisinde de kullanımı yaygındır [32].

1.1.3 Kompozit Malzemelerin Hazırlanması

Bir kompozit biyomalzemenin yapımında polimer (matris) ve dolgu maddesinin seçiminden sonraki en önemli aşama istenilen kompoziti yapmak için uygun bir hazırlama yönteminin seçilmesidir. Literatürde kullanılan çeşitli yöntemler aşağıda açıklanmaktadır.

1.1.3.1 Eritme Yöntemi

Eritme yöntemi polimer kompozitlerin hazırlanmasında kullanılan yöntemlerden biri olup endüstriyel kullanım kolaylığı nedeniyle sıkça tercih edilmektedir [39]. Temel olarak erimiş durumdaki polimer matrisi ile dolgu maddesinin karıştırılmasına dayanır. Tek veya çift vidalı ekstrüzyon, dahili karıştırıcılar ve manuel karıştırma gibi çeşitli işlemlerden geçirilir. Bu işlemlerin silikatın polimer içerisinde daha iyi dağılmasına yardımcı olduğu bilinmektedir [40].

Dolgu malzemelerinin yüzey modifikasyonu, işleme koşulları ve dolgu polimer matrisinin uyumluluğunun bilinmesi oldukça önemlidir [41] Alig ve arkadaşları nanotüpler ile PMC'ler için [42] polimer dağılım sürecini 4 basamak altında toplamışlardır;

- 1) Başlangıç agromerlerin polimer tarafından ıslatılması,
- 2) Polimer zincirlerinin başlangıç yığılmalarına süzülerek zayıflatılması,
- 3) Yığınların kopma yolu ile dağılması ve erozyonu,
- 4) Özelleştirilmiş nanotüplerin matris içerisine dağıtılması.

Eritme yönteminde, organik çözücünün bulunmamasından dolayı çevre dostu olarak nitelendirilmektedir. Aynı zamanda diğer yöntemlerdeki polimerizasyona uymayan polimerler için daha uygundur [40,43,44].

1.1.3.2 Çözelti Ortamında Etkinleştirme Yöntemi

Bu yöntem polimerin veya ön polimerin çözünebildiği ve dolgu maddelerin şişebildiği bir çözücü sistemin bulunduğu yöntemdir. Polimerin çözünebilmesi için bir çözücünden yararlanır. Dolgu maddeleri su, toluen, kloroform gibi çeşitli çözücüler içerisinde şişirilir [44]. Polimer ve dolgu maddeleri çözeltileri karıştırıldığında, polimer zincirleri dolgu maddeleri ile etkileşmektedir. Sonuç olarak çözücü uzaklaştırıldığı zaman homojen bir polimer ve dolgu maddesinin karışımına ait kompozitler oluşmaktadır [43].

Çözelti ortamında etkinleştirme yöntemi, eritme yöntemi ile karşılaştırıldığında daha iyi bir dispersiyonun elde edildiği gözlenmektedir. Bunun nedeni ise polimerler zincirinin çözücü ile açılmasıdır. Bu durum ise yapılan kompozitlerin oldukça yüksek mekanik özelliğe sahip olmasına neden olmuştur [45].

Genel olarak bu yöntemin ticari bakımdan tercih edilmemesinin nedeni kullanılan çözücülerin doğaya zarar verme ihtimalinin yüksek olduğunun düşünülmesidir [44].

1.1.3.3 In Situ Polimerizasyon Yöntemi

Bu yöntem dolgu maddelerinin sıvı bir monomer içerisinde şişirme işlemidir. Ayrıca polimerleşme ve kompozit oluşumu eş zamanlı gerçekleşir [43,44]. İlk olarak monomerler kil galerileri arasına girerler ve ardından polimerizasyon bu tabakalar arasında gerçekleşir. Polimer matris içerisinde dolgu maddelerinin daha iyi dağılabilmesi için farklı teknikler kullanılmaktadır. Bunlar ısı, radyasyon, uygun bir çözeltilerin difüzyonu, radikal, anyonik ve katyonik vb. işlemlerdir [40,43].

Polimerizasyon sırasında kullanılacak olan surfaktant seçimini yaparken çok dikkat edilmelidir. Polimerizasyonda kullanılacak olan sülfaktan reaktif olmalıdır. Bu da polimer ile reaksiyona girmesini ve böylece daha düzgün bir şekilde polimere bağlanabilmesini sağlamaktadır. Bir diğer etmen ise yüzey aktif cismin uzun ara zincirlere veya tetrahedral yapılar gibi büyük hacimli gruplara sahip olmasıdır. Bu özellik katmanlar aralığının daha büyük oranda olmasını sağlayacaktır [40].

1.2 Tıbbi Mantarlar

Mantarların geçmişi Silüriyen dönemin Paleozoik çağına kadar uzanmaktadır [46]. Mantarlar çeşitli kültürlerde oldukça ilgi çekici olarak nitelendirilmiş ve kutsal sayılmıştır. Örneğin; Hintliler, İranlılar, İskitler ve Çinliler ritüel etkinliklerde kullanmışlardır [47]. Nahuatl lehçesini konuşan insanlar mantarları Tanrı'nın eti olarak yani 'Teohanotact' olarak ifade etmişlerdir. Meksikalı Hintliler, mantarları Tanrı ile arabulucu olarak görmüşlerdir. Romalılar mantarları Tanrı'dan yiyecek olarak kabul etmişlerdir. Yunanlılar askerleri güçlendirmek için mantarları besin kaynağı olarak kullanmışlardır. Çinliler hayatın iksiri olarak betimlemişlerdir [48] ve bazı mantarların, özellikle *Amanita muscaria* ve *Psilocybe* türlerinin psikoaktif ve halüsinojenik özelliklerini taşımış ve eski dini inanç ve uygulamalara dahil etmiştir.

Dünya üzerinde 15.000 yakın mantar türü bilinmektedir ve bu mantarların 700'den fazla türünün tıbbi özelliği belirlenmiştir. Bunlardan potansiyel tıbbi özelliği sahip olduğu düşünülen 1800 mantar türü olduğu düşünülmektedir [48]. Çeşitli hastalıkların tedavisinde mantarların ve metabolitlerinin kullanımı keşfetmek için birçok çalışma yapılmıştır [49]. Mantarlar, doğal gıdaların sağlığa yararlı olduğu bilinmesinden sonra diyet takviyeleri olarak, aynı zamanda tıbbi yararlarından dolayı da gıda olarak kullanılmaktadır [48]. Son çalışmalarda bilim adamları mantarın ve metabolitlerinin antineoplastik etkileri üzerinde yoğunlaşmışlardır [50].

Son on yılda *in vivo* ve *in vitro* model olarak tıbbi mantarlar üzerinde birçok araştırmalar yapılmıştır. Birçok biyoaktif maddeler bu son yapılan çalışmalarda izole edilmiştir. Bu çalışmalar sonucu tıbbi mantarların polisakkaritler, glikoproteinler (lektinler), triterpenoidler, fungal immün modülatör proteinler, yüksek molekül ağırlıklı polisakkaritler ve düşük molekül ağırlıklı polisakkaritler içerdiği belirlenmiştir [48].

Son çalışmalarda bilim adamları tıbbi mantarların bağışıklık sistemini ve aynı zamanda vücut savunma sistemini geliştirdiği gözlemlemişlerdir. Mantar metabolitleri adaptojenler ve immunostimulanlar olarak kullanılarak en yararlı antitümör ajanları olarak düşünülmüştür [49]. Bunun yanı sıra allerjik astım [51,52], gıda alerjisi [53] [54], atopik dermatit [55], romatizmal artrit [56,57], ateroskleroz [58], hiperglisemi [59], tromboz [60], romatoid artrit [54], immün yetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu

[61,62], listeriyoza [63], tüberküloz [64], septik şok [65] ve kanser [66-76] gibi hastalıkların muhtemel tedavilerinde olası işlevsel özelliklerin keşfedilmesi için birçok bilimsel araştırma yapılmıştır.

1.2.1 *Ganoderma lucidum*

İnsanlar modern zamanın getirmiş olduğu teknoloji ile hastalıkların devasının aranmasında çaresiz kaldığı zaman bitkisel tedaviye yönelmişlerdir. Uzun yıllar boyunca bitkiler tedavi amaçlı kullanılmasına rağmen mantarların kullanımı son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Örneğin, *G. luteum steyaert*, *G. atrum*, *G. tsugae*, *G. applanatum*, *G. capense*, *G. tropicum* [48] ve Çin, Japonya, Tayvan ve diğer Asya ülkelerinde ünlü medikal mantar olan *Ganoderma lucidum* sayılabilir [77,78].

G. lucidum (Curt: Fr.) P. Karst Kore’de Youngzi Çin’de Lingzhi, Reishi, Mannentake ve Japonya’da Sachitake olarak bilinen ve Aphyllophorales sınıfındaki Polyporaceae ailesinin (veya Ganodermataceae’ye ait olan) Basidiomycetes sınıfının bir türüdür [48,78-80]. *Ganoderma* çürüyen kütükler veya ağaç kütüklerinde yetişen bir polipore makrofungi cinsidir [81]. Dünya çapında, 250’den fazla *Ganoderma* türü tanımlanmıştır. Yapılan terapötik uygulamalarda ve literatürdeki atıflarda, Lingzhi (*Ganoderma*) genellikle *G. lucidum* türüne atıfta bulunmaktadır [48].

Ganoderma türlerinin şapka kısımları kalın ve sert olduğu için yenilebilir mantar grupları arasında yer almaz, çünkü bu mantarlar yenilebilir mantarın doku özelliğine sahip değildirler [82]. Bu mantarlar doğrudan yenilirse de tedavi edici tıbbi mantarlar arasında dünya üzerinde oldukça popülerdir [83,84].

2000 yılı aşkın süredir *G. lucidum* tıbbi mantar olarak kullanılmakta ve önemli tedavi edici özellikleri geçmiş kaynaklarda belgelenmektedir [85]. Geleneksel tıpta, çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde yardımcı olarak kullanılan mantarın özellikleri yapılan bilimsel çalışmalar doğrultusunda teyit edilmiştir [86].

G. lucidum uzun yıllar boyunca alternatif tıp olarak uykusuzluk, kronik hepatit, anoreksiya kabızlık, astım, gastrik, migren ve baş dönmesi gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde potansiyel tedavi edici olarak kullanılmıştır [80,87-89].

Bununla birlikte modern teknolojilerin gelişmesi ile birlikte yapılan birçok çalışmada *G. lucidum*'un antialerjik, antifungal, antitümör, antioksidan, antidiyabetik, kardiyovasküler, hipertansif ve hipotansif, bronşit önleme, kan şekerini, kolesterol ve tansiyonu düşürme, vücut direncini artırma (immüno-modülatif), antihidrojenik, antibakteriyel, antiviral ve antiherpesvirüs gibi çeşitli hatalıkların tedavisindeki başarısı araştırmalarla kanıtlanmıştır [90-100].

1.2.1.1 *Ganoderma lucidum* Bileşenleri

Genel olarak mantar türlerinin %90'ı sudan oluşması ile birlikte geriye kalan %10'un içeriği; %10-40 protein, %2-8 yağ, %3-28 karbohidrat, %3-32 lif, %8-10 sodyum karbonat ve bazı vitaminleri, potasyumları, mineralleri, selenyum, çinko, magnezyum, demir, bakır, kalsiyum ve fosfor oluşturmaktadır [101]. *G. lucidum*'un uçucu olmayan bileşenleri olarak %26-28 karbohidrat, %3-5 ham yağ, %1,8 sodyum karbonat, %59 ham lif ve %7-8 saf protein vardır [102]. Bunun yanı sıra steroidler, fenoller, polisakkaritler, nükleotidler ve türevleri, glikoproteinler ve terpenoidler gibi çok çeşitli biyoaktif moleküller içerir. Mantar proteinleri, tüm gerekli amino asitleri içerir. Ayrıca lizin ve lösin bakımından oldukça zengindir. Özellikle doymamış yağ içeriğinin yüksek olması insan sağlığı açısından oldukça önemlidir [91,94]. *G. lucidum*'da bulunan triterpenler, polisakkaritler ve peptidoglikanlar en önemli bileşenleridir [85].

G. lucidum'un mevcut kimyasal bileşenleri arasındaki sterol esterleri ergosterol (% 0.3-0.4) ve ergosterol peroksit, beta-sitosterol, 24-metilkolesta-7, 22-dien-3-b-ol ve türevleri, asit proteaz, laktaz, selüloz, amilaz vb. enzimler. Suda çözünen protein, polipeptitler; amino asitler; trehaloz ve diğer şeker türevleri; manitol; betain; adenosin; alkanlar tetrakozan ve hentriacontan ve tetrakazanoik, stearik, palmitik vb. yağ asitleri mevcuttur [103].

G. lucidum'da bulunan ganoderyum asitleri A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z, DM, LM2, SP1, beta, gamma, delta, epsilon, zeta, eta, teta ve diğerleri [104], lusidenik asit A, B, C, D, E, F, G, O, P, Q ve [105], ganolusidik asit A, B, C, D ve E [106], ganoderiyol A, B, C, D, E, F, G, H ve I [107],

lusidones A, B ve C [106] ve diğerleridir. Suda çözünen polisakkarit arabinoksiloglukan bulunmaktadır [108].

Mevcut uçucu yağı olan hidrodistilatın ana bileşenleri; trans-anetol, R-(-)-linalol, S-(+)-karvon, ve alfa-bisabolol'dür. Ayrıca Ca, Zn, Mg, Cu, Na, Mn, Fe ve Ge gibi inorganik elementler bulunmaktadır [109].

1.2.1.2 *Ganoderma lucidum* Bileşenlerinin Farmasötik Etkileri

G. lucidum'da bulunan triterpenler ve polisakkaritler nörolojik fayda sağladığı düşünülmektedir. Eski kaynaklarda belirtildiğine göre eski çağlardan beri analjenik ve kas gevşetici özellikleri için kullanılmaktadır [110]. *G. lucidum*'un su ile özütü (yani suda çözünen polisakkaritler) üzerinde araştırma yapan Matsuzaki ve ark., *G. lucidum*'un antidepresan benzeri sakinleştirici bir etkisi olduğunu sıçanlar üzerinde göstermişlerdir. Fakat bu özelliğin insan üzerindeki etkisi henüz belirlenmemiştir [111].

G. lucidum triterpenleri antikanser ajanı olarak görev yapmaktadır. Bu anti kanser ajanları *G. lucidum*'un misel ve şapka özütlerinden elde edilmektedir. *In vitro* çalışmalarda misellerden alından ganoderik asit T, V, W, X, Y ve Z hepatoma hücreleri üzerinde sitotoksik aktiviteler göstermiştir. Bunun yanı sıra mantarda bulunan bazı lanostanoidlerinde tümör hücreleri üzerinde güçlü bir inhibisyon etki gösterdiği bilinmektedir [48].

G. lucidum polisakkaritlerinin hem insan hem de hayvan üzerinde yapılan çalışmalarında bağışıklık sistemini geliştirdiği aynı zamanda bağışıklık fonksiyonunu düzenlediği gösterilmiştir [112]. Makrofaj ve lenfosit hücreleriyle ilişkili olan immün hücrelerine *G. lucidum* özütlerinin uygulanmasıyla hücre aktivitelerini ve yaşam sürelerinin uzamasını sağlayan bağışıklık hücrelerinden sitokinlerin salınımının artmasını sağladığı görülmüştür [113]. Ayrıca bu polisakkaritler sitotoksik T-lenfosit ve doğal öldürücü hücrelerin aktivitesini arttırarak tümöre karşı bağışıklık sistemini güçlendirdiği bilinmektedir [114]. Bunun yanı sıra mantardan elde edilen polisakkaritlerin, viral ve kanser bağışıklık sistemini gelişmesini sağlayan melanoma hücre disizindeki büyük histokompatibilite kompleksinin ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir [115].

G. lucidum'da bulunan ganodermik asit F'nin güçlü bir tansiyon düşürme etkisinin olmasının yanı sıra ganoderik asit B, D, H ve Y gibi diğer terpenoidlerin etkisinin daha düşük olduğu rapor edilmiştir [116].

G. lucidum üzerinde yapılan araştırmalar gram pozitif ve/veya negatif bakterileri inhibe eden antibakteriyel bileşenleri içerdiğini belirtmektedir [117]. Antibakteriyel özellik meyve kısımlarında bulunan polisakkaritlerden elde edildiği bilinmektedir [118]. *G. lucidumun* polisakkaritlerinin kaynar su ile özünün çıkarıldığı bir çalışmada *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* ve *Rhizopus nigricans* gibi mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. Polisakkarit özütünü *B. subtilis* ve *B. cereus* üzerinde güçlü, *E. coli* ve *A. niger* üzerinde ise zayıf bir antibakteriyel etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada polisakkarit özütü *R. nigricans* üzerinde hiçbir antifungal etki göstermemiştir [81].

1.3 Biyouyumluluk

İmplant biyomalzemelerin doku ile reaksiyonunun incelenmesi dair çalışmalar 1940'lar da ortaya çıkmıştır. İlk kez 1970 yılında R. J. Hegyeli, C. A. Homsy ve arkadaşları tarafından 'Biyouyumluluk' terimi kullanılmıştır, bunu takiben birçok bilim adamı tarafından kullanılmaya başlanmış ve farklı tanımlar ortaya konmuştur. Bunların arasında en yaygın bilinen tanımı 'Biyouyumluluk biyomalzemenin istenilen amaca uygun, konakçı canlıda istenmeyen lokal veya sistemik etki yaratmayan ve en etkili hücresel veya doku yanıtını üretme kabiliyetine sahip olmasıdır' ifadesidir. [119].

Biyouyumluluk değerlendirilirken genellikle 2 kategori göz önüne alınır. Bunlardan ilki biyomateryalin canlı hücre veya organizma üzerindeki etkisi ve ikincisi biyomalzemenin canlı organizmaya implantasyonun değerlendirilmesidir [120].

1.3.1 Biyouyumluluk Testlerinin Seçilmesi

Biyoyumluluk testleri, biyomalzemenin değerlendirilmesi ve vücut ile temas ettiğinde kaynaklanabilecek toksisitesinin belirlenmesi amacıyla yapılır. Biyomalzemenin istenilen biyolojik etkiyi göstermesinin yanı sıra herhangi bir lokal veya sistemik bir etki oluşturmaması, kanserojen, toksik, immünojenik, tahriş edici olmaması veya istenmeyen bir yan etki göstermemesi aranan özelliktir [121].

Biyoyumluluk testlerinde, bir biyomalzemenin *in vitro* çalışmalarında biyomalzeme ile temas eden farklı hücre tiplerinin yaşama kabiliyeti ölçülmektedir. Bu amaçla MTS testi, hücre proliferasyonu, DNA sentezi ya da membran bütünlüğünü inceleyen testler uygulanır [122]. Doku hasarı veya hücre ölümleri dikkate alınarak toksisite mekanizmalarının da incelenmesi gerekebilir [123]. Bunun yanı sıra biyomalzemenin hücre ile olan teması ve parçalanma sonucu oluşabilecek ürünlerin etkinliğini de test etmek önemlidir [124]. *In vivo* çalışmalar ise biyomalzemenin biyoyumluluklarının anlaşılması için esastır [125].

Biyoyumlu malzemelerin etkinliği biyomalzeme ile implante edilen canlılar arasında farklılık gösterebilir. Yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite, genel sağlık ve yaşam tarzı biyoyumluluğun değişmesine etkindir. Ayrıca mikroorganizmaların ve endotoksinlerin varlığı da biyoyumluluk üzerinde önemli rol oynamaktadır [121]. Bununla birlikte bir biyomalzemenin boyutu, şekli, fiziksel ve kimyasal özelliği örnek olarak bir yaranın iyileşmesinde ve iltihaplanma sürecinde önemli rol oynar [126].

1.4 X-ışını kırınımı (XRD)

X-ışını kırınımı (XRD), kristalin malzemelerin karakterizasyonu için güçlü ve tahribatsız bir tekniktir. Bir malzemenin yapısını, fazlarını, tercih edilen kristal yönelimlerini (doku), ortalama tanecik boyutlarını, kristalliklerini, gerinimlerini ve kristal kusurları gibi diğer yapısal parametreleri hakkında bilgi sağlar. X-ışını kırınım tepeleri, bir numunedeki kafes düzlemlerinin her kümesinden belirli açılarla saçılmış monokromatik bir X-ışını demetinin yapıcı etkileşimi ile üretilir. Zirve yoğunlukları kafes içindeki atom dağılımı ile belirlenir. Sonuç olarak, X-ışını kırınım modeli, belirli bir materyaldeki periyodik atom düzeninin parmak izidir [127].

1.5 FTIR-ATR

FTIR-ATR spektroskopisi, organik veya inorganik bileşiklerin karakterizasyonlarını belirlemede kullanılan bir araçtır [128]. Atomlar arasındaki bağların titreşimi ile oluşan frekanslara karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile örneğin parmak izi belirlenmektedir [129]. Her maddenin kendine özgü bir spektrumu vardır. Organik bileşiklerin spektrumlarının 2000 cm^{-1} sonra bulunan kısmı daha ayrıntılıdır. Bu kısım parmak izi bölgesi olarak tanımlanmıştır. Böylece maddenin özelliği hakkında ayrıntılı bilgi elde edilmektedir [130].

1.6 SEM (Scanning Electron Microscope)

Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope 'SEM') yüksek ayırım gücü olan ve görüntü ile numune analizini birleştirme gibi özelliğine sahip olması nedeniyle araştırmalarda çok sık şekilde kullanılmaktadır [131]. SEM, örneklerin içerisindeki elektrik yüklerinin hareketliliği hakkında bilgi sağlamaya yarayan bir cihazdır [132]. SEM, tıp, anatomi, biyokimya gibi bir çok alandaki numuneleri 100.000 kez büyütürken maddelerin yüzey yapılarının gözlemlenmesini sağlar [133].

1.7 JuLI ve Tripan Mavisi Testi

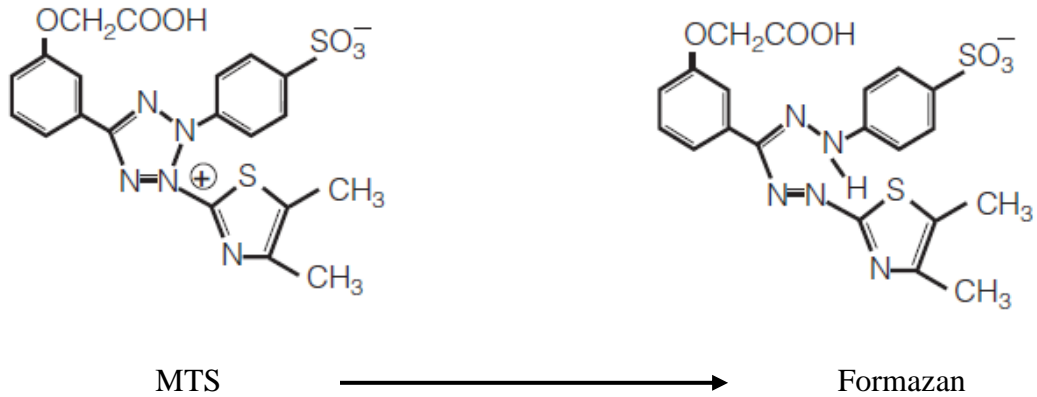
JuLI tam otomatik hücre fonksiyonlarını eş zamanlı olarak gösteren ve kaydeden görüntüleme cihazıdır. JuLI'nin çeşitli canlı hücre deneylerini optimize etmek için çok kanallı floresan renkleri, çoklu objektif lensleri ve hassas filtre tabanlı optikleri bulunur. JuLI otomatik olarak alınan görüntüleri film dosyalarına (.avi) dönüştürülebilen ardışık zaman atlamalı parlak görüntüler yakalayabilir. Genel olarak JuLI'nin, canlı hücre görüntüleme (zaman atlamalı), hücre büyümesini izleme, hücre kültürü kalitesini kontrol etme, kök hücre gelişimi, hücre çoğalması ve hücre sitotoksitesisi gibi uygulama alanları vardır.

Tripan mavisi testinde kullanılan, tripan mavisi bütünlüğü bozulmuş yani ölü hücrelerin sitoplazmasını boyar ve mavi renk meydana getirirken, canlı hücrelerin

sitoplazması boyanmaz. Tripan mavisi ve hücreler karıştırıldıktan sonra görüntüleme slaytına yüklenir ve JuLI cihazına yerleştirilir. Böylelikle canlı ve ölü hücrelerin sayısını aynı zamanda yüzdelik oranını eş zamanlı görmeyi ve kaydetmeyi sağlar. [134,135].

1.8 MTS Testi

MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3carboxymethoxyphenyl)2(4sulfophenyl)-2H-tetrazolyum), sitotoksite testlerinde canlı hücrelerin oranını belirlemekte kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. MTS tetrazolyum bileşiği doku kültürü ortamında hücreler tarafından çözünerek renkli bir formazan ürününe dönüşür. 490 nm'de alınan ölçümdeki formazan ürün miktarı ile kültürdeki canlı hücre sayısı doğru orantılı olarak değişmektedir.



Şekil 1.2:MTS ve formazan'ın molekül yapısı [136].

Metabolik olarak aktif olan hücrelerde dehidrogenaz enzimler tarafından üretilen NADH ve NADPH'lar tarafından formazan ürününe dönüşmesi gerçekleştirilir. Soluk sarı renkli MTS boyası, tetrazolyum halkasının parçalanması sonucu mavi-mor formazan ürününe dönüşür.

1.9 Hemouyumluluk

Biyouyumluluk testinin önemli bir parçası olan hemouyumluluk testi, yabancı bir materyalin konak canlıının kan ve kanda bulunan komponentler ile etkileşime girmesi sonucu kaynaklanabilecek olumsuz etkilerin araştırılması için yapılan deneylerdir [137]. Bu olumsuz etkileşimin en önemli nedeni kan bileşenlerini farklı bir şekilde etkilemesidir [138]. Kanla temas eden materyallerin biyouyumluluk özelliği, esasen materyallerin yol açtığı eritrositlerin hücre zarının parçalanması sonucu hemoglobinin molekülünün dışarı çıkıp çıkmaması ile ilgilidir. Hemouyumlu cihazların veya materyallerin üretilmesinin amacı, hemoliz reaksiyonlarını en aza indirmek veya önlemektir [139].

1.10 Literatür Özeti

Chin-San Wu çalışmasında biyouyumlu olan *Ganoderma lucidum* lifleri (GLF) ile poli(hidroksialkanoat)(PHA) ve akrilik asit ile aşılınmış PHA(PHA-g-AA)'dan yapılmış kompozit malzemelerin karakterizasyonunu incelemiştir. GLF yoğunlaşma reaksiyonu yardımıyla PHA(PHA-g-AA) matrisi içerisinde homojen olarak dağıtılmıştır. Daha sonra PHA(PHA-g-AA)/GLF kompozitleri ile PHA/GLF kompozitlerini kıyaslanmıştır. Karşılaştırma sonucunda GLF/PHA(PHA-g-AA) kompozitlerinin PHA/ GLF kompozitlerine göre mekanik karakterizasyonunun arttığı görülmüştür. Ayrıca PHA(PHA-g-AA)/GLF kompozitlerinin suya dayanıklılığı artmıştır. Biyolojik uyumluluk çalışmaları insan foreskin fibroblast (FB) üzerinde gerçekleştirmiş ve bunun sonucunda PHA/GLF kompozitlerinde büyüyen hücre sayısının, PHA-g-AA/GLF kompoziti üzerinde büyüyen hücre sayısından daha fazla olduğunu gözlemlenmiştir[140].

Chin-San Wu tarafından yapılan bir diğer araştırma da ise polilaktik asit (PLA) ve *Ganoderma lucidum* lifinin (GLF) oluşturduğu kompozit materyallerinin, mekanik, termal ve biyouyumluluk özellikleri araştırılmıştır. PLA/GLF kompozitlerinin mekanik özelliklerini geliştirmek için maleik anhidrat ile aşılınmış PLA(PLA-g-MA) kullanılmıştır. PLA-g-MA/GLF kompozitleri, PLA/GLF kompozitlerine kıyasla daha üstün bir mekanik etki göstermiştir. PLA-g-MA/GLF kompozitlerinin daha düşük sıcakta erimesi nedeniyle PLA/GLF'den daha kolay işlenmesini sağlamıştır. Ayrıca

insan foreskin fibroblastları (FB) üzerinde yapılan biyoyumluluk deneylerinde PLA/GLF kompozitleri PLA/g-MA/GLF kompozitlerine göre daha uyumlu olduğunu belirtmiştir [141].

C. P. Dhanalakshmi ve arkadaşları farklı ağırlık yüzdelere sahip poli(etilen glikol) (PEG) ve hidroksiapatit (Hap) nanaokompozitlerini oluşturmuşlardır. Kompozitlerin analizlerini X-ışını kırımı (XRD), fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopi (FITR) testleri ile yapmışlardır. Biyoyumluluk testlerinden antimikrobiyal aktivite analizi gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak HAp nanopartaküllerinin boyutunun ve kristallerinin, bileşik içerisindeki PEG konsantrasyonun artışı ile azaldığını gözlemlemişlerdir. Farklı ağırlık oranlarında değişen kompozitlerin PEG-60/Hap'ın *E.coli*'e karşı en iyi aktivite gösterdiğini ve PEG-20'nin *S. aureus*'a karşı en iyi aktivite gösterdiklerini belirtmişlerdir [142].

Sadaf Quereshi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada farklı ekstratlarla hazırlanan *Ganoderma lucidum* özütlerinin antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Yapmış oldukları çalışmada asetonla hazırlanan ekstratın *K. pneumoniae* üzerinde en fazla etkisi olduğunu gözlemişlerdir. Aynı özütün *E. coli*, *B. subtilis* ve *S. typhi* üzerinde etkisininin eşit miktarda olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerinde etkisinin oldukça az olduğunu gözlemlemişlerdir. *Ganoderma lucidum*'un metanol ile hazırlanan özütünde, tüm bakteri soyları üzerinde aynı oranda antibakteriyel etkinin devam ettiğini belirtmişlerdir. Etanol ve su ile hazırlanan tüm şuşlarda antibakteriyel etkinin fazla olmadığını gözlemlemişlerdir [143].

T. Akızawa ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada modifiye edilmiş membranın (NMC) diyalik etkinliği ve biyoyumlulukları incelemişlerdir. NMC, selüloz membran (OC) yüzeylerine poli(etilen glikol) (PEG) aşılması ile elde edilmiştir. Çalışmalarında PEG zincirlerinin rastgele hareketi ile kan hücreleri ve büyük plazma proteinlerinin membran yüzeyine temas etmesini engellemeye çalışmışlardır. Araştırmacılar NMC'nin, OC ye göre biyoyumluluğunun ve antitrombojenik etkisinin arttırdığını rapor etmişlerdir [144].

Zhijiang Cai ve Jaehwan Kim yapmış oldukları çalışmada bakteri selüloz (BC)/Poli(etilen glikol) (PEG) kompozitini ıslak BC zarını sulu PEG solüsyonuna daldırma ve bunu takiben dondurarak kurutma yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir.

BC/PEG kompozitlerinin morfolojisini taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile incelemişlerdir. SEM görüntüleri, PEG molekülünün BC fibril yüzeyi üzerinde kaplanmış olmasının yanı sıra, BC fibril ağlarına da nüfuz ettiğini gözlemlemişlerdir. Kompozitin biyouyumluluğunu 3T3 fibroblast hücreleri kullanılarak değerlendirmişlerdir. BC/PEG kompozitlerinde 48 saat inkübe edilen hücrelerin, saf BC'den daha biyouyumlu olduğunu belirtmişlerdir [145].

Rodman T. H. Chan ve arkadaşları polihidroksibutirat (PHB) polimerini farklı molekül ağırlığına sahip poli(etilen glikol) (PEG) ile karıştırarak kompozit elde etmişlerdir. Yalnızca polihidroksibutirat (PHB) kullanımı materyalde kırılabilirliği arttırdığını belirtmişlerdir. Farklı oranda PEG ve PHB karışımı sonucu doğal-sentetik kompozit filmler üretmişlerdir. PEG/PHB kompozitlerinde, PHB'e filmlerine oranla esnekliğinin arttığı rapor etmişlerdir. Hücre büyüme hızının, PHB filmlerine oranla arttığını, mitokondriyal aktivite ile test yapıldığında biyouyumluluk düzeyinin arttığını gözlemlemişlerdir [146].

2. MATERİYAL VE METOT

2.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar Sigma şirketinden temin edilmiştir. *E. coli* ATTC-8739 ve *S. aureus* ATCC-6538, Microbiologics firmasından ve *Ganoderma lucidum* ticari olarak toz halinde satın alınmıştır. Çalışmada kullanılan kan örnekleri ise sigara içmeyen sağlıklı donörlerden çalışma öncesi taze olarak EDTA'lı tüplere alınmıştır.

2.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

- Poli(etilen glikol) M_A: 8400 g/mol
- Poli(etilen glikol) M_A: 2250 g/mol
- Poli(etilen glikol) M_A: 1400 g/mol
- *Ganoderma lucidum*
- Fetal Bovine Serum
- Penisilin / Streptomisin
- Ficoll-Paque Plus
- RPMI 1640 Besiyeri
- Phytohemagglutinin
- Tripan Mavisi
- Etil Alkol

2.1.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Tablo 2.1: Çalışmada kullanılan cihazlar.

Analitik terazi	:	Denver Instrument
Ultrasonik su banyosu	:	Elma Sonic
Manyetik karıştırıcı	:	Heidolph
Homojenizatör	:	IKA T-25 Ultra-Turrax
Etüv	:	Memmert
X-ray difraktometre cihazı	:	Analytical Philips X'Pert-Pro
Spektrofotometre	:	Perkin Elmer Spektrum 100
Saf su cihazı	:	Human Power I
Biyogüvenlik kabini	:	Labconco
CO ₂ 'li inkübatör	:	Nuaire
Faz kontrast mikroskobu	:	Olympus
Mikropipet seti	:	Eppendorf
Buzdolabı (+4)	:	Regal
Otoklav	:	Hirayama
Well plate	:	Hirayama
Canlı hücre görüntüleyicisi (JuLI)	:	Nano Entek
Soğutmalı santrifüj	:	Hettich Rotina 380R
Sem cihazı	:	Zeiss EVO LS 10
Mikroplaka okuyuculu spektrofotometre	:	Thermo Scientific
Eleme cihazı	:	Retsh AS200

2.2 Metot

PEG /*GANODERMA* kompozitleri çeşitli konsantrasyonlarda, çözücü ortamında etkileştirme yöntemi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan kompozitlerin karakterizasyonu FTIR-ATR, XRD ve SEM cihazları ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.1 PEG /*GANODERMA* Kompozitlerinin Hazırlanması

Çalışmada farklı molekül ağırlıklarına sahip PEG polimerleri ile %1, %2.5 ve %5 oranında *Ganoderma lucidum* içerecek şekilde çözücü ortamında etkileştirme yöntemiyle hazırlanmıştır. Ticari olarak elde edilen toz halindeki *Ganoderma lucidum* Retsh AS200 marka eleme cihazında, 25 mikronluk elekte elenmiştir. *Ganoderma lucidum*'un, çözelti içerisinde ultrasonik banyo ve homejenizatör cihazı ile dispersiyonu sağlandıktan sonra 24 saat boyunca homejenizasyon için manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. PEG ise çözücü içerisinde homojen bir şekilde çözünmesi için 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çözünme işlemi tamamlanmış olan PEG ve homojen bir şekilde disperse olan *Ganoderma lucidum* tek bir erlende birleştirilerek 24 saat boyunca aralarında etkileşim gerçekleşmesi amacı ile manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Süre sonunda teflon kaplara dökülmüş ve 37 °C'lik etüvde bütün çözücü uzaklaşana kadar bekletilmiştir. Bu işlemler bütün kompozitler için tekrarlanmıştır.

2.2.2 PEG /*GANODERMA* Kompozitlerin Karakterizasyonu

Saf PEG, *Ganoderma lucidum* ve hazırlanan kompozitlerin karakterizasyonu FTIR-ATR, XRD ve SEM cihazları ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.1 XRD Analizleri

Analytical Philips X-Pert-Pro X-ray diffraktometre cihazı ile XRD sonuçları alınmıştır. Başlangıç pozisyonu [2θ .] 5^0 ve bitiş pozisyonu [2θ .] 80^0 aralığında

olacak şekilde, adım boyu [$^{\circ}$ Th.] 0.02° , tarama süresi 0.5s ve 25° C sıcaklıkta bakır elektrotu kullanılarak $\lambda=1.54$ nm 30 mA ve 40 kV de tarama gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.2 FTIR-ATR Analizleri

FTIR-ATR, kimyasal yapıları karakterize etmek için tercih edilen bir yoldur. Özellikle kompozitlerin konformasyonunun ve kristalizasyonunun araştırılmasında kullanılır. Örneklerin FTIR-ATR spektrumları Perkin Elmer Spektrum 100 model Fourier Transform İnfrared spektroskopisi kullanılarak $650-4000$ cm^{-1} dalga boyları arasında analizi yapılmıştır.

2.2.2.3 SEM Analizi

Zeiss EVO LS 10 taramalı elektron mikroskobu (SEM) cihazı kullanılarak kompozitlerin analizleri yapılmıştır. Plaka örnekler 2×2 mm^2 boyutlarında toz örnekler ise kaplama olarak karbon bant üzerine yapıştırılmış ve görüntü alınmıştır.

2.2.3 Hücre Kültürü İşlemleri

2.2.3.1 Kültürde Kullanılacak Besiyerinin Hazırlanması

Deneyde kullanılacak olan besiyerini hazırlamadan önce -20° C'de muhafaza ettiğimiz FBS ve Penisilin/Streptomisin 37° C ultrasonik banyoda eritilmiştir. Besiyeri hazırlanmasında 392.5 mL RPMI 1640 mediumun içerisine lenfositler için büyüme faktörü bulunduran 100 mL FBS ilave edilmiştir. Kontaminasyonlara karşın 2.5 mL Penisilin/Streptomisin ve bölünmeyi teşvik edecek olan 5 mL pthohemaglutinin besi ortamına eklenmiştir. Elde edilen çözelti 50 mL'lik steril falkonlara bölünerek -20° C de kullanılmak üzere kaldırılmıştır.

2.2.4 Sitotoksisite Testleri

Sağlıklı bireyden alınan kandan izole edilen lenfosit hücreleri üzerine kompozitlerin sitotoksisiteleri etkileri MTS testi ve canlı hücre görüntüleme sistemi (JuLI) ile belirlenmiştir.

2.2.4.1 MTS

MTS, tetrazolium maddesinin hücre içinde renkli formazan ürününe indirgenmesini temel alır. Bu değişimin, metabolik olarak aktif olan hücrelerdeki mitokondriyal bir enzim olan dehidrogenaz enzimleri tarafından üretilen NADPH veya NADH sayesinde gerçekleştiği bilinmektedir. Tetrazolyum halkasının canlı hücrelerde parçalanması sonucunda sarı bir rengi olan MTS, mavi-mor bir renge dönüşmektedir. 490 nm’de alınan ölçüm sonucunda tetrazolyum oranı ile canlı hücre oranı kıyaslanmaktadır.

Hücre kültüründe kullanılan tüm malzemeler, 120 °C’de, 20 dakika (1.02 atm basınçta) boyunca otoklavda steril edilmiştir. Hücre kültürü laboratuvarı ve biyogüvenlik kabini ile çalışmaya başlanmadan önce ve çalışma bittikten sonra dezenfektanlar ve UV lamba ile sterilize edilmiştir.

Önceden hazırlanan besiyerlerini ultrasonik banyoda 37°C’de erittikten sonra 15 mL steril falkonlara 5 mL olacak şekilde bölünerek kültür ortamları oluşturulmuştur. 15 mL steril falkonlara bölünen kültür ortamına 0.5 mL olacak şekilde sağlıklı bireylerden alınan kan eklenmiş falkonların içerisine 2x2 cm² boyutlarında film kompozitler ilave edilmiş ve CO₂’li inkübatöre kaldırılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda kültürler 10 mL steril serum fizyolojik solüsyonu (% 0.9 NaCl) ile sulandırılmıştır. Daha sonra steril falkonlara 2.5 mL Ficoll-Paque eklenmiştir ve üzerine serum fizyolojik ile sulandırılmış olan kanlı örnekleri Ficoll-paque ile karışmayacak şekilde çok yavaş eklenmiştir ve 15 dakika boyunca 1500 rpm’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda orta fazda toplanmış olan lenfositler dikkatlice başka bir steril falkon tüpe alınmıştır. Lenfositler tekrar serum fizyolojik solüsyon ile karıştırıldıktan sonra 10 dakika boyunca 1500 rpm’de santrifüj edilmiştir.

Santrifüj sonunda süpernatant atıldıktan sonra dipte toplanan lenfositler RPMI'lı besiyeri ile sulandırılmıştır. 96'lık well plate 3 tekrarlı olacak şekilde her bir kuyucuğa 100 µL eklenmiştir (2 x 10⁶ hücre/mL). Üzerlerine 20 µL MTS reaktifi eklenerek 4 saat inkübasyondan sonra 490 nm de ölçüm alınmıştır. Bu işlem her bir örnek için 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonunda tekrarlanmıştır.

2.2.4.2 JuLI- Hücre Yaşamlılığı Testi

JuLI, canlı hücre analiz ve görüntüleme cihazı kullanılarak hücre yaşamlılığı testi gerçekleştirilmiştir. Lenfositlerden 10 µL alınarak ependorf tüplere konulmuştur. Üzerine %0.4 tripan mavisi eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Hücre sayım aparatına 10 µL lenfosit tripan mavisi içeren karışımdan eklenmiştir. Cihaza yerleştirilen hücre sayım aparatı 10 µL hücredeki % canlılık oranı belirlenmiş ve hücrelerin görüntüleri elde edilmiştir.

2.2.5 Hemouyumluluk Testi

Hemouyumluluk testi Motlag ve arkadaşlarının (2006) yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır [147]. 20 mL'lik falkon tüpe %0.9 NaCl izotonik çözelti konulmuş ve üzerine 400 µL kan eklenmiştir. İsimlendirilen her bir ependorf tüpe 24 saat boyunca UV ışık altında steril ettiğimiz 0.5 cm² olacak şekilde kesilen kompozitler ilave edilmiş ve içerisine 1 mL %0.09 NaCl izotonik ile seyreltiğimiz kandan eklenmiştir. Negatif kontrol olarak isimlendirdiğimiz boş ependorf tüp ise 1 mL %0.9 NaCl tuzlu kan karışımı eklenmiş ve kompozit konulmamıştır. Başka bir falkon tüpe 10 mL distile su ve üzerine 200 µL kan eklenmiş bundan 1 mL alıp boş ependorf tüpe konularak pozitif kontrol olarak isimlendirilmiştir. Ependorf tüplerin hepsi 2 saat boyunca 37 °C'de inkübatörde bekletilmiştir. 2 saatlik süre sonunda ependorf tüpler 1000g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonunda üstte kalan süpernatant kısımdan her bir kuyucuğa 200 µL olacak şekilde ve 3 tekrar halinde 96'lık well plate kuyucuklarına eklenmiştir. Spektrofotometrede 545 nm de absorbans ölçümü alınmıştır.

% Hemoliz oranı denklem (2.1)'de verilen formül ile hesaplanmıştır;

$$\%Hemoliz = \frac{Absorbans_{Test\ Polimeri} - Absorbans_{Negatif\ Kontrol}}{Absorbans_{Pozitif\ Kontrol}} \times 100 \quad (2.1)$$

2.2.6 Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel çalışma için disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite analizleri biri gram negatif bakterisi olan *Escherichia coli* ve diğeri gram pozitif bakterisi olan *Staphylococcus aureus* olmak üzere iki bakteri türü uygulanarak yapılmıştır. Ekim için hazırlanan bakteriler 10^{-5} CFU/mL olarak hazırlanmıştır. Bakteri kolonileri aerobik ortamda 37°C 'de 24 saat inkübasyona tabi tutulduktan sonra hesaplanmıştır. Saf polimerlerin ve her bir kompozitin antibakteriyel etkileri triptik soy agar besiyerinde her bakteri türüne ait kolonilerin bloklanması sonucu belirlenmiştir.

3. BULGULAR

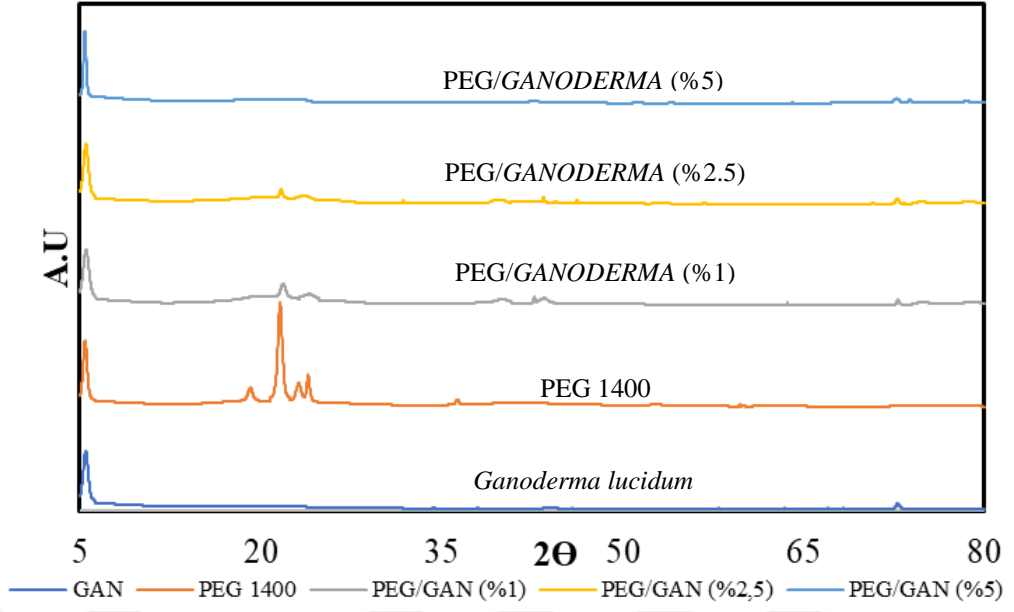
3.1 PEG /GANODERMA Kompozitlerinin Karakterizasyonu

PEG /GANODERMA kompozitleri farklı moleköl ağırlıklarına sahip PEG polimeri ve farklı konsantrasyondaki *Ganoderma lucidum* dolgu maddesi çözelti ortamında etkileştirme metodu kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan PEG /GANODERMA kompozitlerinin karakterizasyonu XRD, FTIR-ATR ve SEM analizleri yapılarak gerçekleştirilmiştir.

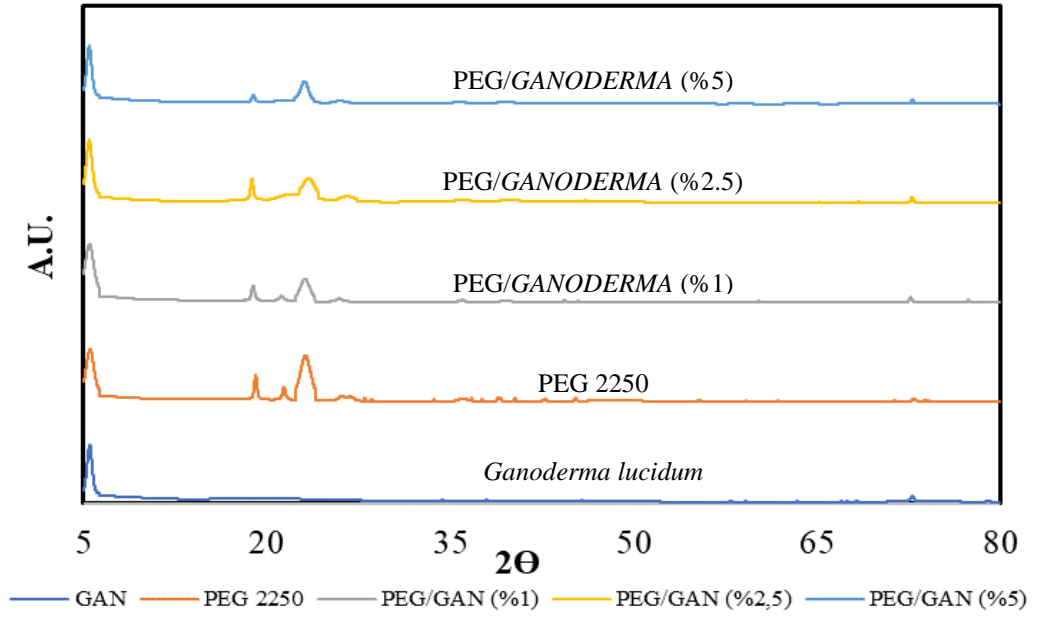
3.1.1 XRD Analizleri

Hazırlanan PEG /GANODERMA kompozitlerinin XRD karakterizasyonu Analytical Philips X-Pert-Pro X-ray difraktometre cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

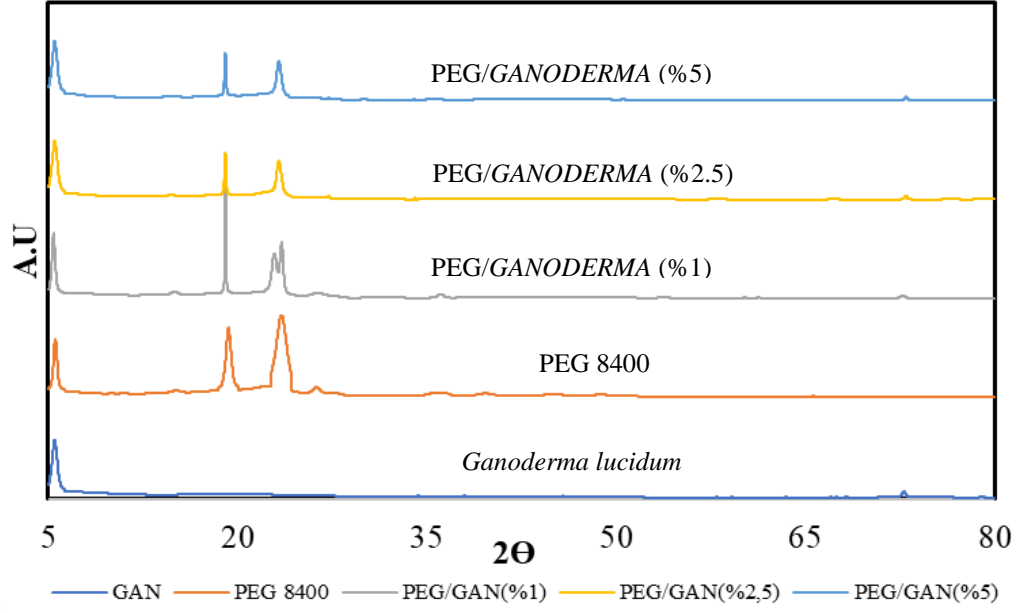
Şekil 3.1'de 1400 moleköl ağırlığına sahip %1, %2.5 ve %5'lik PEG /GANODERMA kompozitlerinin ve saf *Ganoderma lucidum*'un XRD desenleri, Şekil 3.2'de 2250 moleköl ağırlığına sahip %1, %2.5 ve %5'lik PEG /GANODERMA kompozitlerinin ve saf *Ganoderma lucidum*'un XRD desenleri, Şekil 3.3'de 8400 moleköl ağırlığına sahip %1, %2.5 ve %5'lik PEG /GANODERMA kompozitlerinin ve saf *Ganoderma lucidum* XRD desenleri verilmiştir. Kompozitlerin karakterizasyonu yapılırken karakteristik pikler göz önüne alınmıştır.



Şekil 3.1: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG/GANODERMA kompozitlerinin XRD desenleri.



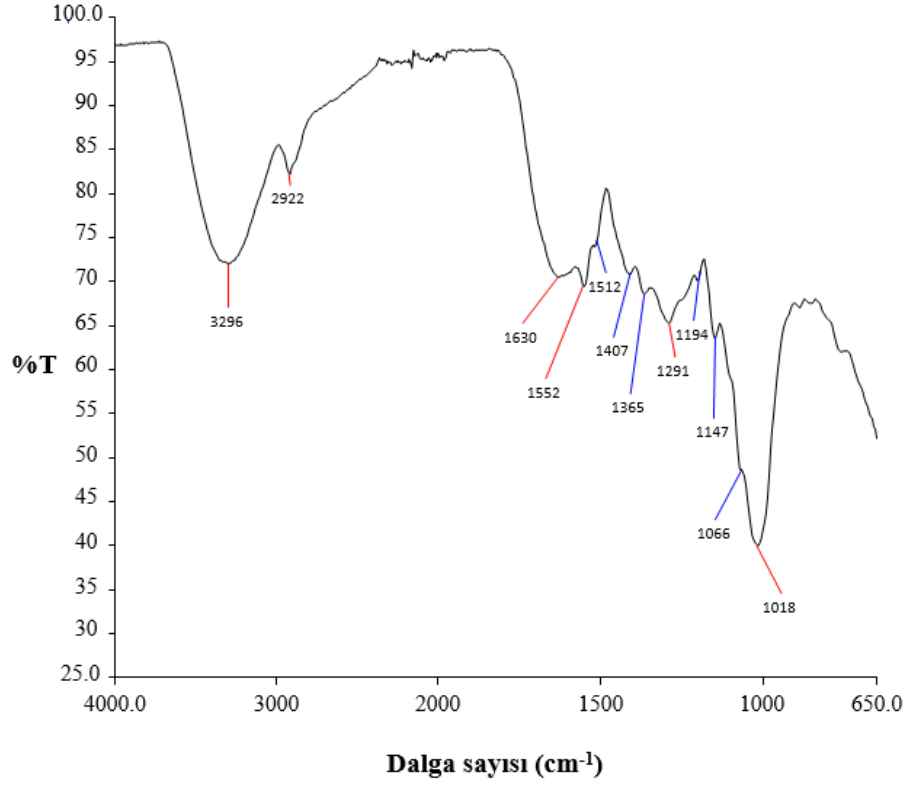
Şekil 3.2: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG/GANODERMA kompozitlerinin XRD desenleri.



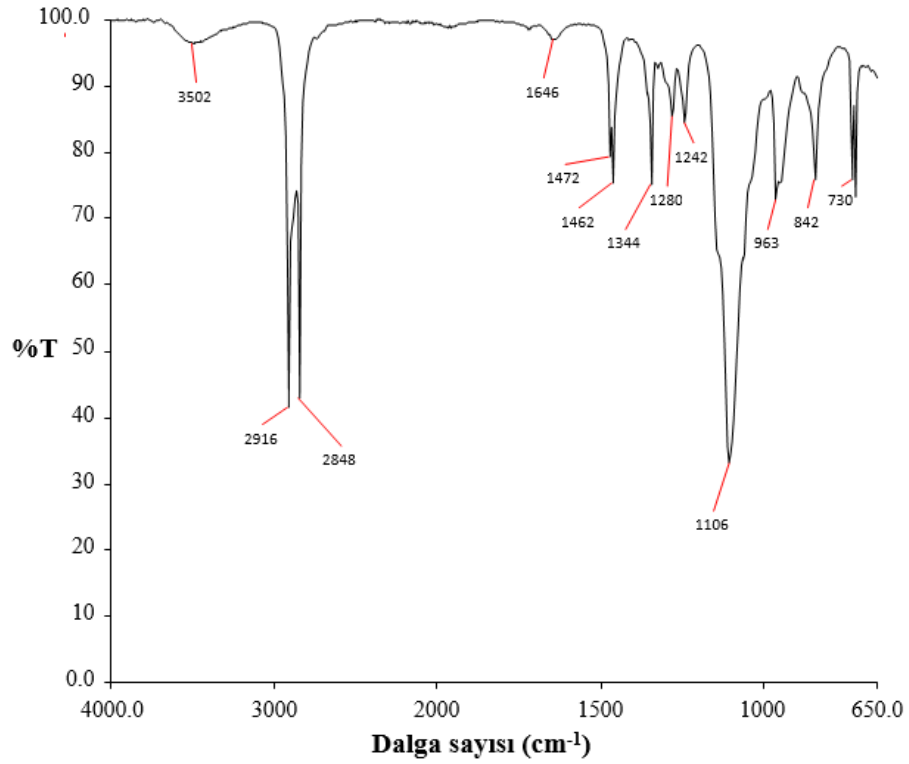
Şekil 3.3: 8400 molekül ağırlığı sahip PEG/*GANODERMA* kompozitlerinin XRD desenleri.

3.1.2 FTIR-ATR Analizleri

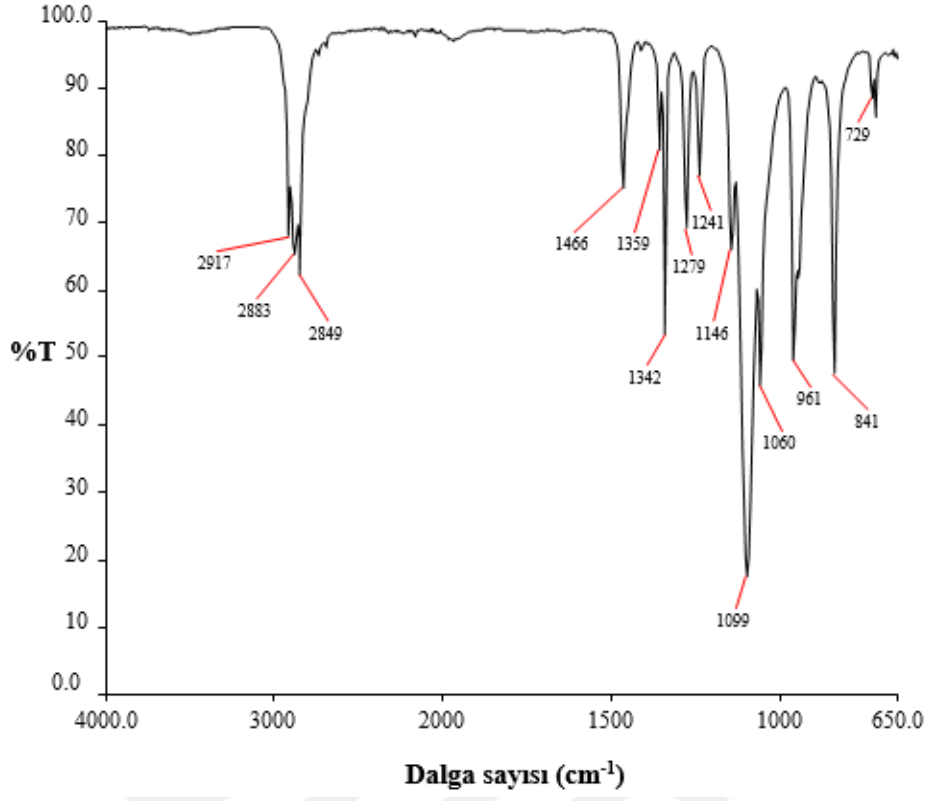
PEG /*GANODERMA* kompozitlerinin ve saf PEG'lerin FTIR-ATR spektrumları, Perkin Elmer Spektrum 100 modeli kullanılarak $650-4000 \text{ cm}^{-1}$ dalga boyları arasında analizi yapılmıştır. Şekil 3.4'de *Ganoderma lucidum*'a, Şekil 3.5-3.7'de Saf PEG'lere ait FTIR-ATR spektrumları verilmiştir. PEG /*GANODERMA* kompozitlerinin FTIR-ATR pikleri ise Şekil 3.8-3.10'da verilmiştir.



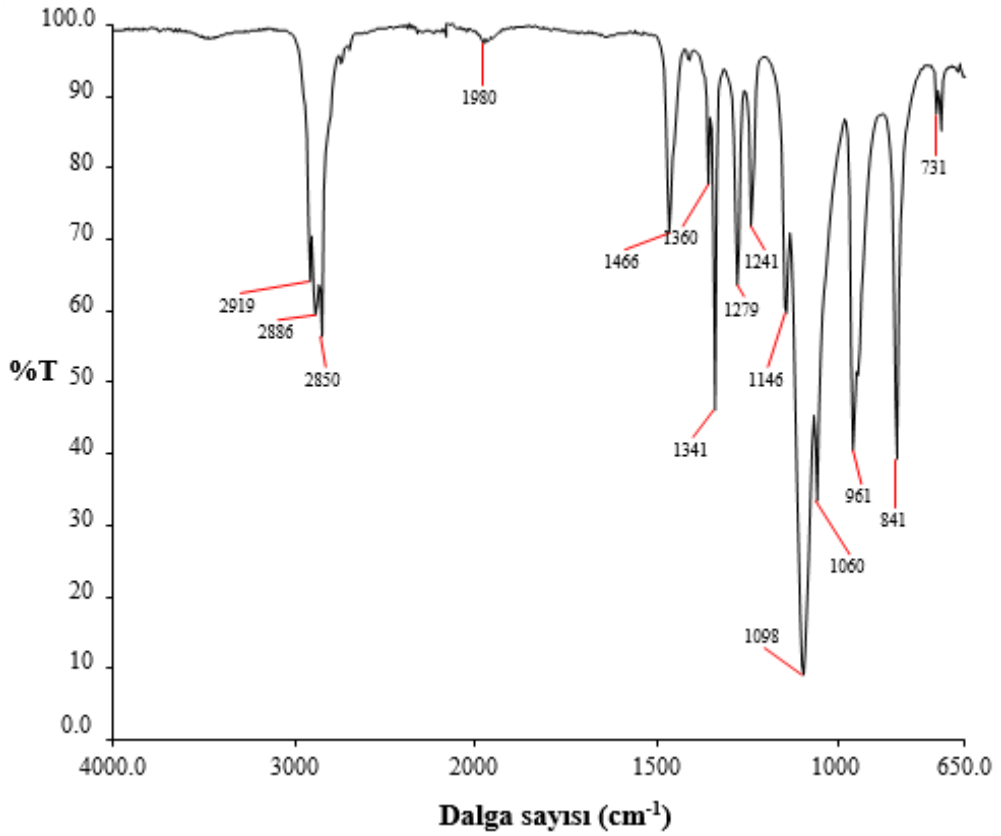
Şekil 3.4: *Ganoderma lucidum*'a ait FTIR-ATR spektrumu.



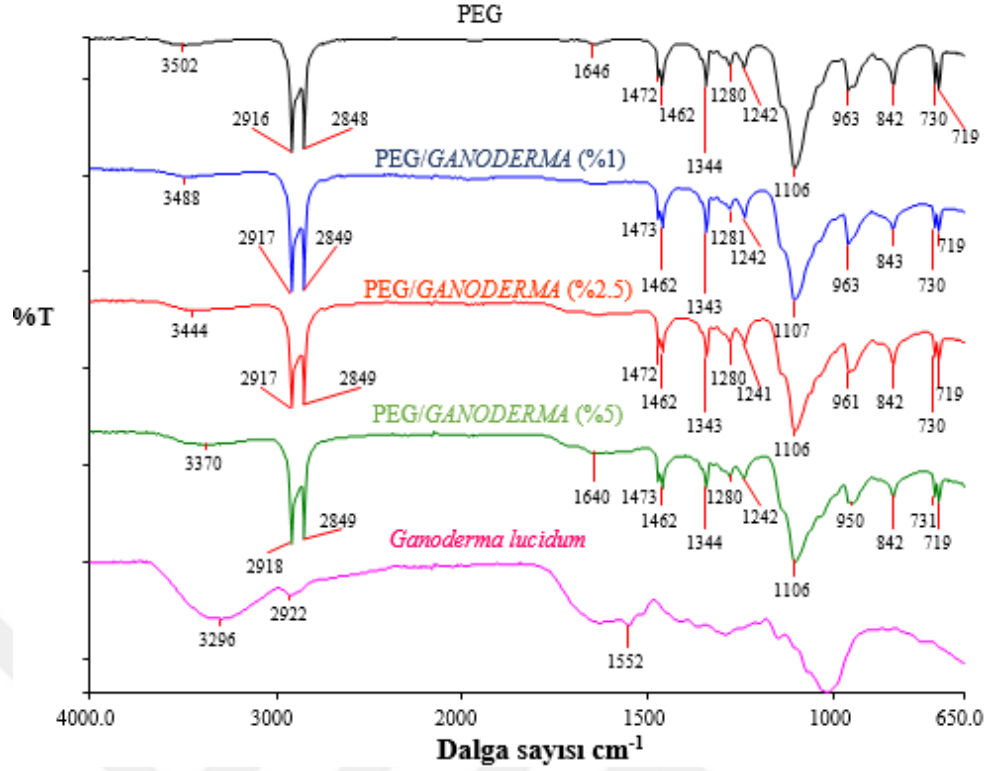
Şekil 3.5: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG'in FTIR-ATR spektrumu.



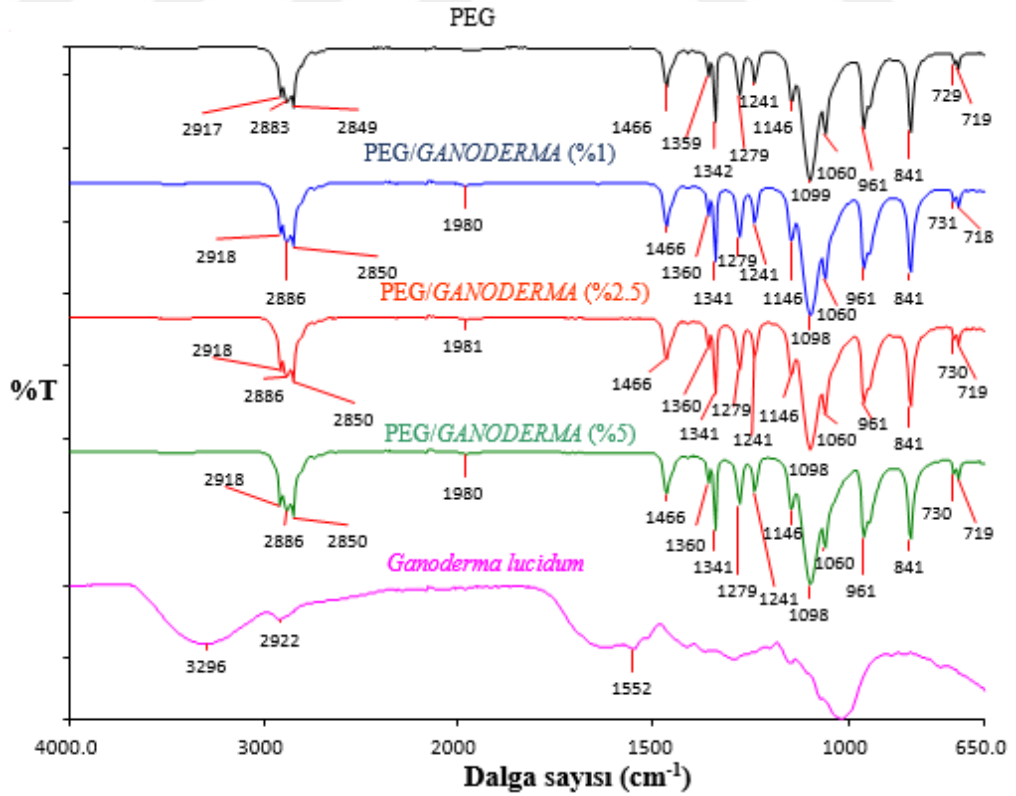
Şekil 3.6: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG'in FTIR-ATR spektrumu.



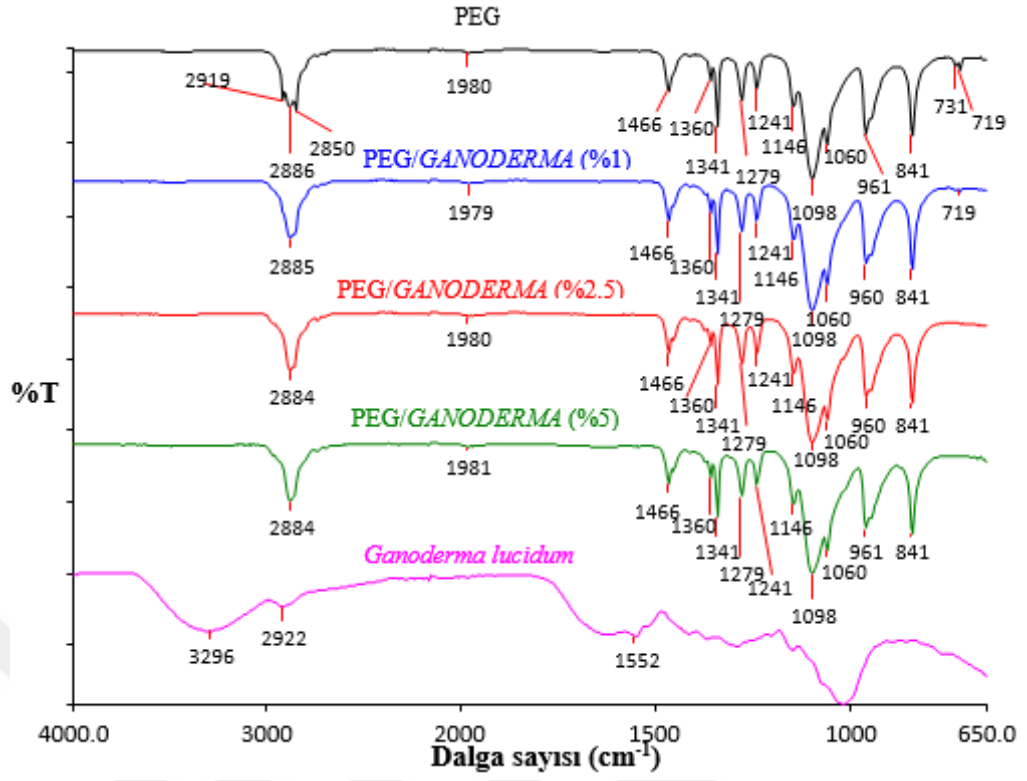
Şekil 3.7: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG'in FTIR-ATR spektrumu



Şekil 3.8: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumu.



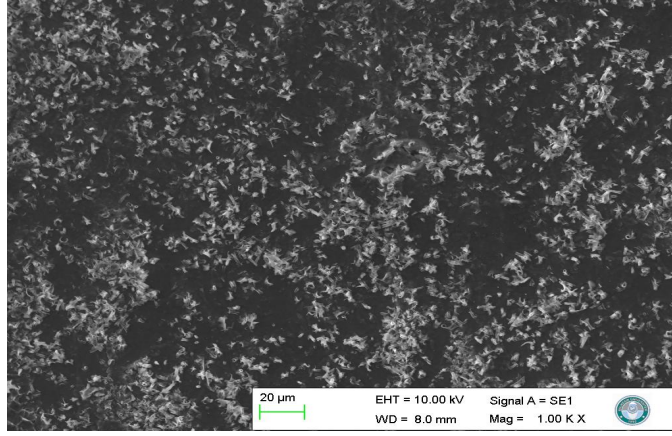
Şekil 3.9: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumu.



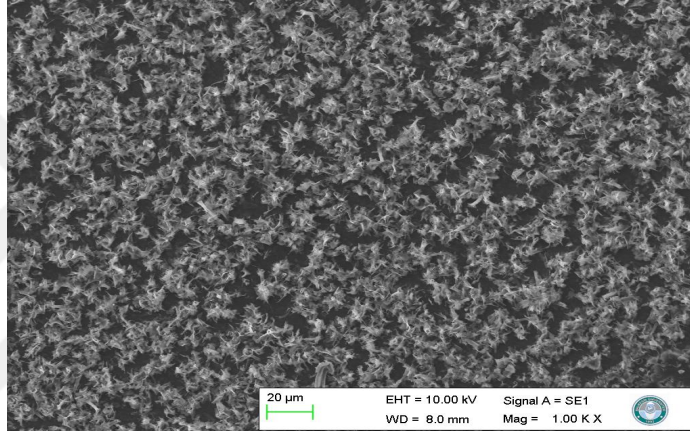
Şekil 3.10: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumu.

3.1.3 SEM Analizleri

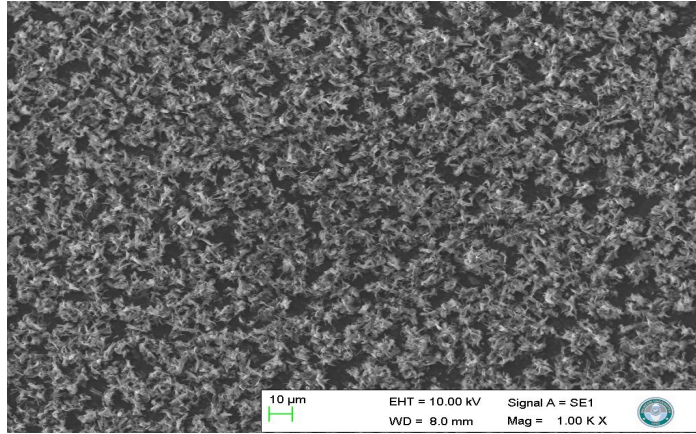
PEG /GANODERMA kompozitlerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri Şekil 3.11-3.19’da gösterilmiştir.



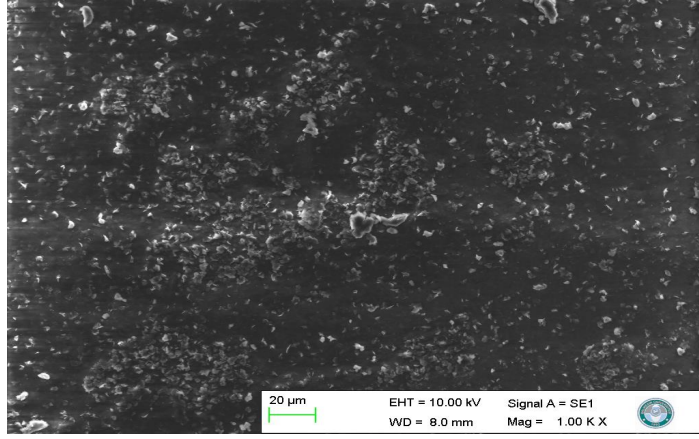
Şekil 3.11: 1400 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.



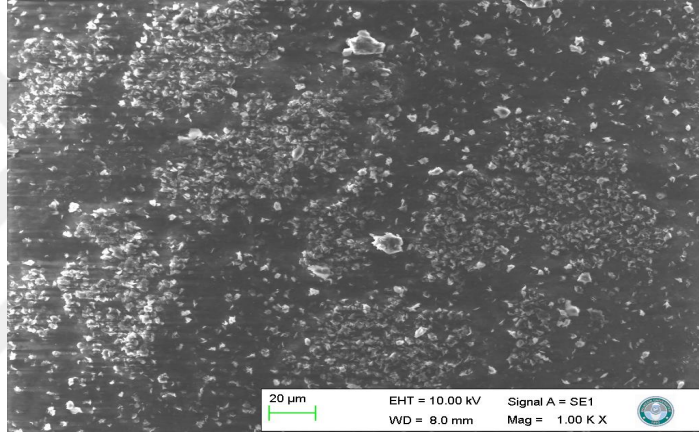
Şekil 3.12: 1400 molekül ağırlığına sahip %2.5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.



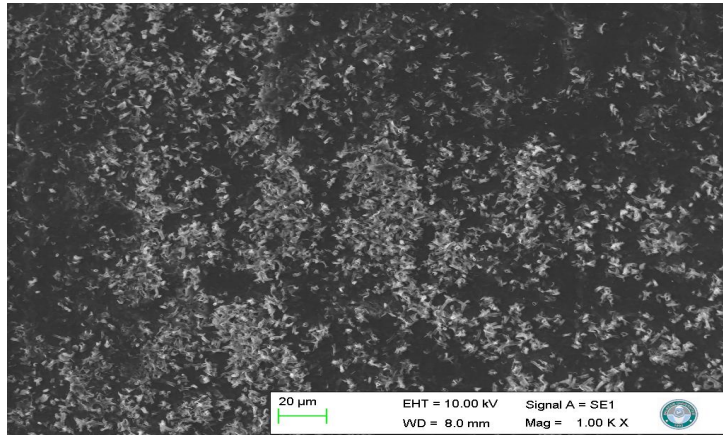
Şekil 3.13: 1400 molekül ağırlığına sahip %2.5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.



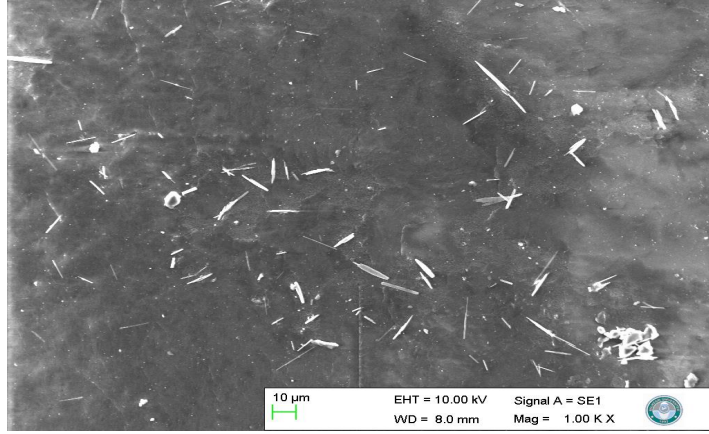
Şekil 3.14: 2250 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.



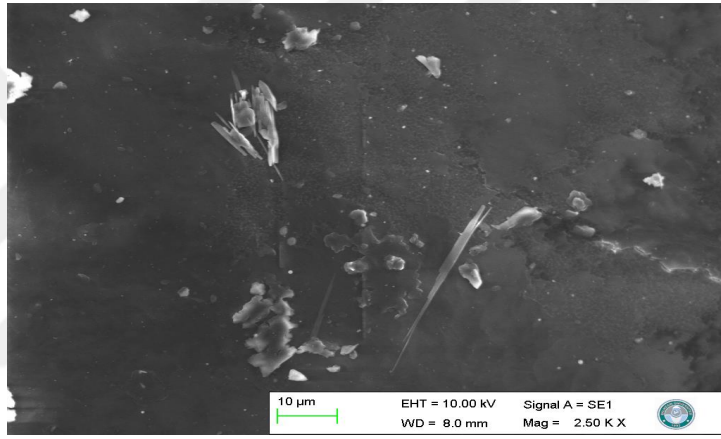
Şekil 3.15: 2250 molekül ağırlığına sahip %2.5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.



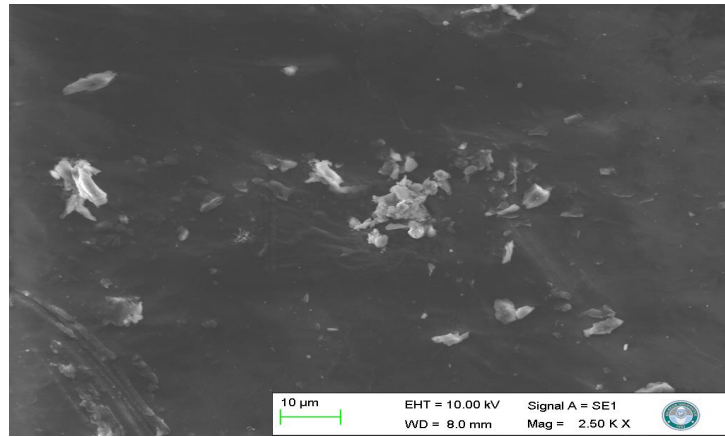
Şekil 3.16: 2250 molekül ağırlığına sahip %5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.



Şekil 3.17: 8400 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.



Şekil 3.18: 8400 molekül ağırlığına sahip %2.5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.



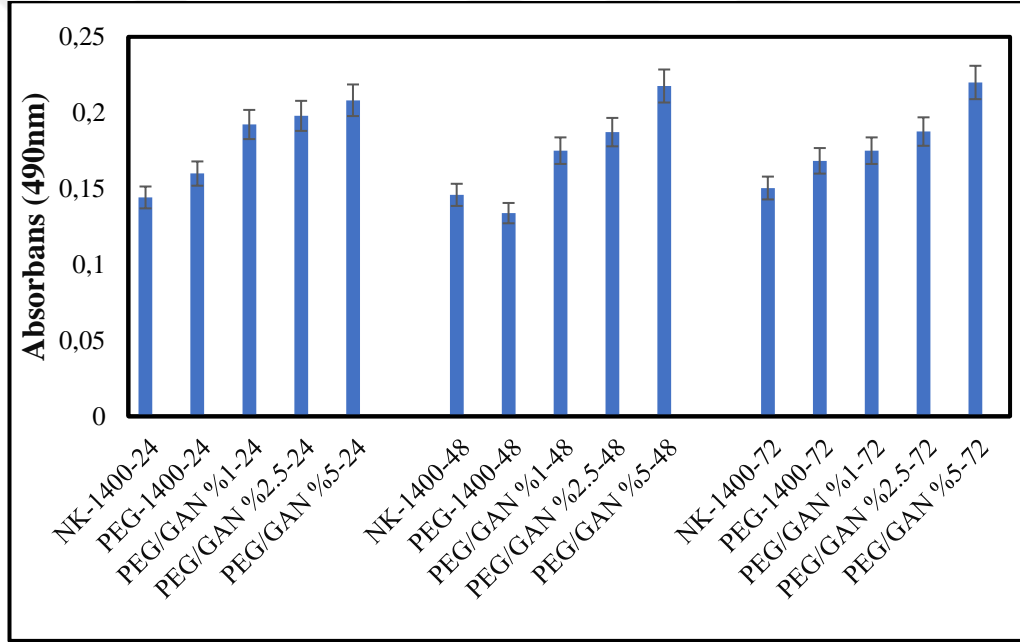
Şekil 3.19: 8400 molekül ağırlığına sahip %5'lik PEG /GANODERMA kompozitinin SEM görüntüsü.

3.2 Sitotoksite Testleri

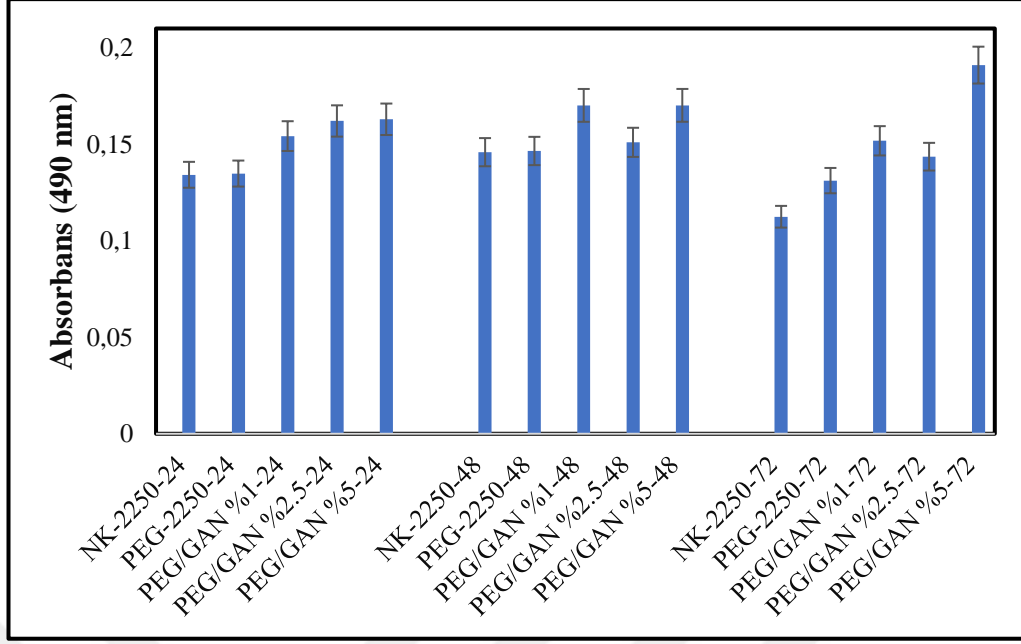
PEG /*GANODERMA* kompozitlerinin lenfosit hücreleri üzerine olan etkilerinin belirlenmesi için MTS testi uygulanmış ve hücre canlılık oranları JuLI ve thoma lamında sayılarak belirlenmiştir.

3.2.1 MTS testi

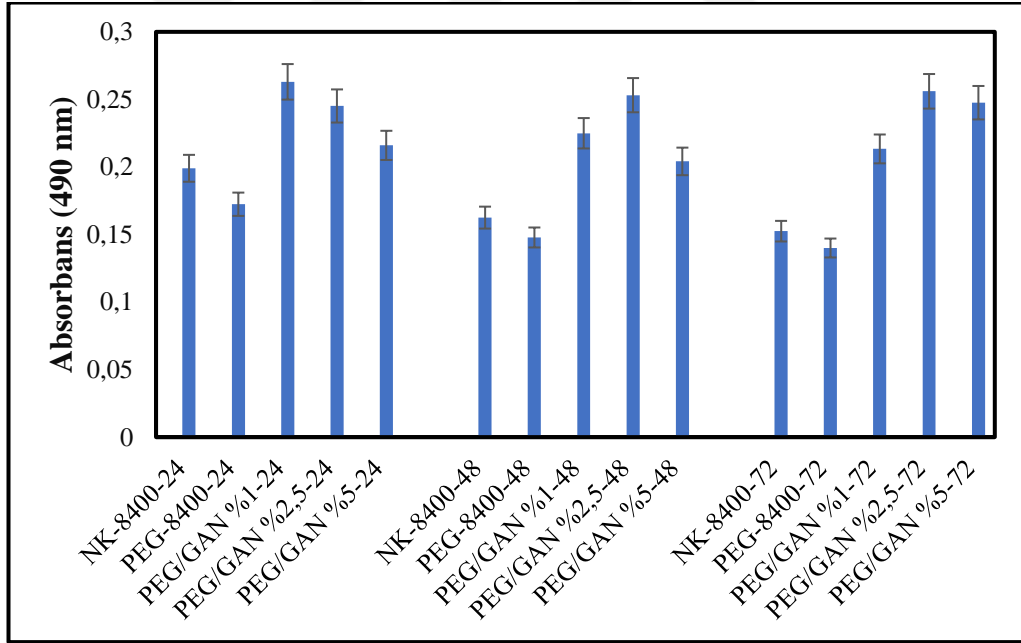
Lenfosit hücrelerinde gerçekleştirilen bu test % 1, % 2.5 ve % 5 oranlarındaki PEG /*GANODERMA* kompozitlerinin lenfosit hücreleri ile 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonu sonucu MTS değerleri Şekil 3.20-3.22’de verilmiştir.



Şekil 3.20: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG /*GANODERMA* kompozitlerinin MTS değerleri.



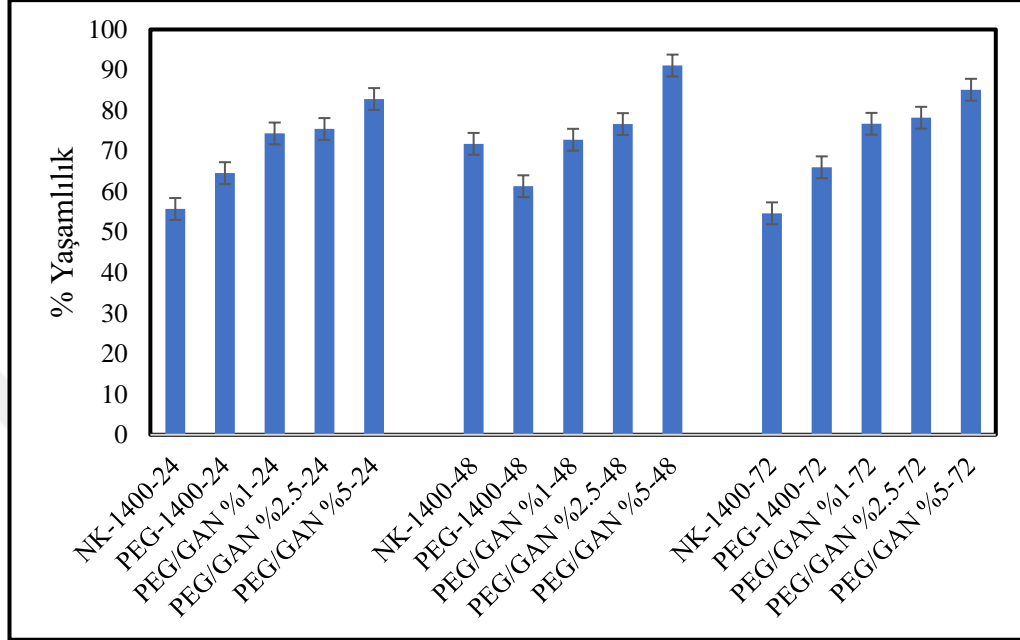
Şekil 3.21: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin MTS değerleri.



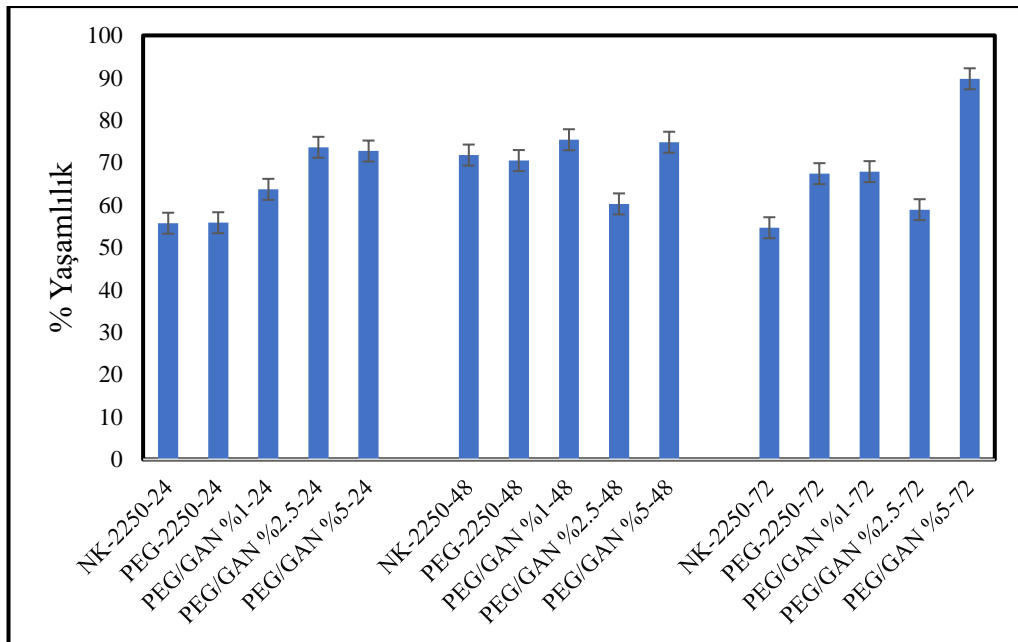
Şekil 3.22: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin MTS değerleri.

3.2.2 JuLI Görüntüleme Cihazı

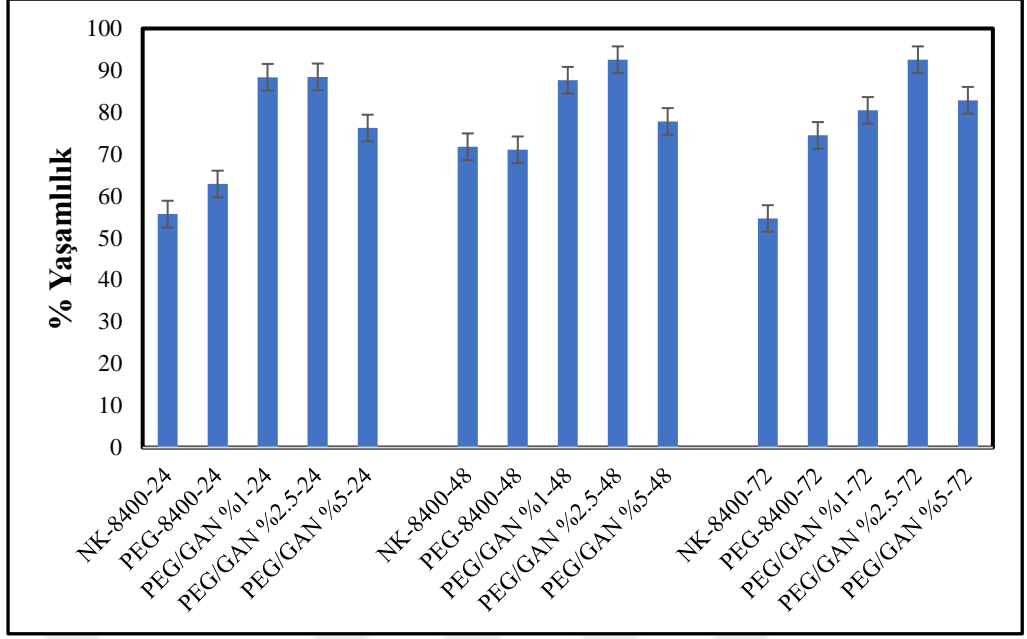
JuLI görüntüleme cihazında belirlenen canlı ve ölü hücre oranları Şekil 3.23-3.25'de verilmiştir;



Şekil 3.23: 1400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin JuLI değerleri.



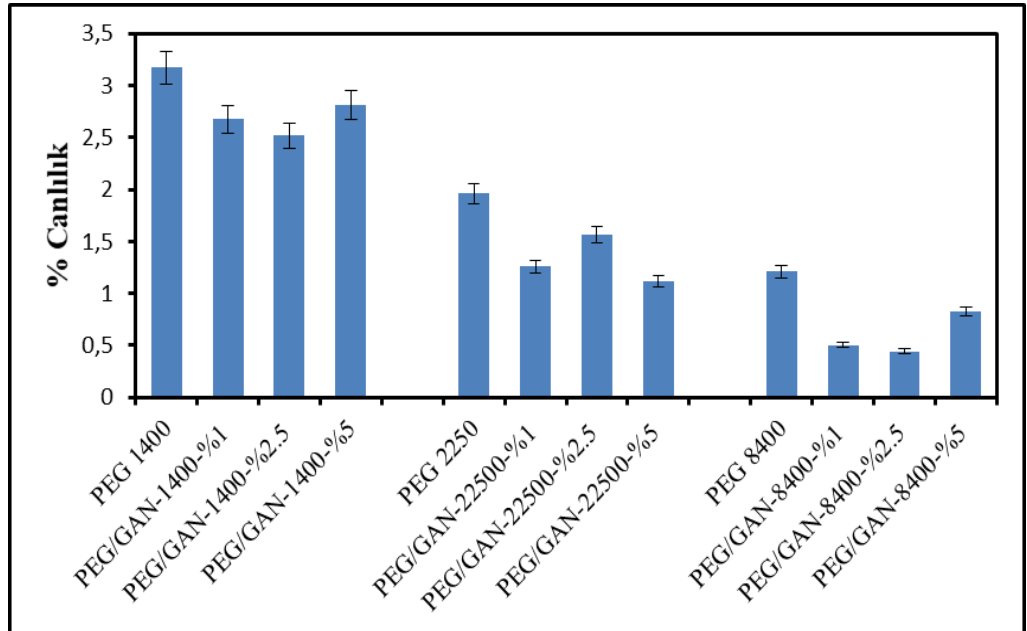
Şekil 3.24: 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin JuLI değerleri.



Şekil 3.25: 8400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin JuLI değerleri.

3.3 Hemouyumluluk Testi

PEG/ *Ganoderma lucidum* üzerinde yapılan hemouyumluluk testi sonuçları Şekil 3.26' da verilmiştir.



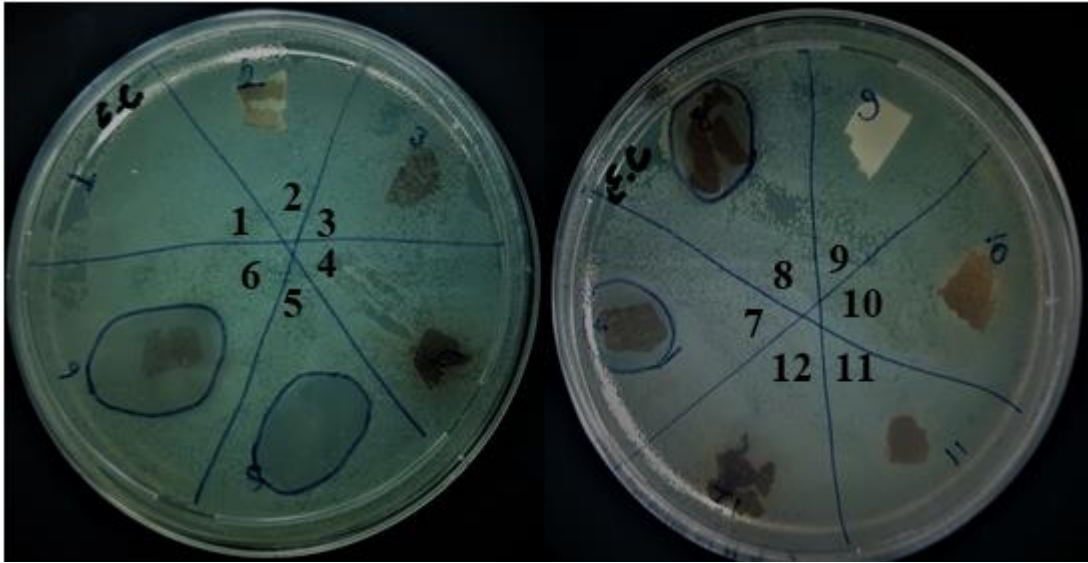
Şekil 3.26: PEG /GANODERMA kompozitlerinin hemouyumluluk değerleri.

Tablo 3.1: PEG /GANODERMA kompozitlerinin % hemoliz değerleri.

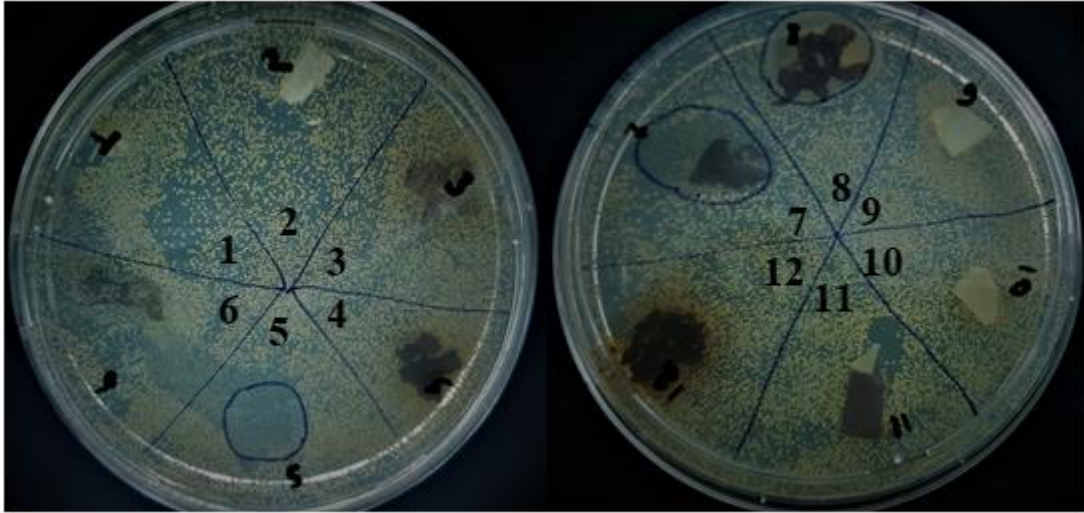
PEG/GANODERMA Kompozitleri	:	Hemoliz Oranı
PEG 1400	:	3.17
PEG /GANODERMA – 1400 - % 1	:	2.68
PEG /GANODERMA – 1400 - % 2.5	:	2.52
PEG /GANODERMA – 1400 - % 5	:	2.81
PEG 2250	:	1.96
PEG /GANODERMA – 22500 - % 1	:	1.26
PEG /GANODERMA – 22500 - % 2.5	:	1.57
PEG /GANODERMA – 22500 - % 5	:	1.12
PEG 8400	:	1.21
PEG /GANODERMA – 8400 - % 1	:	0.50
PEG /GANODERMA – 8400 - % 2.5	:	0.44
PEG /GANODERMA – 8400 - % 5	:	0.83

3.4 Antibakteriyel Testi

Kompozitlerin *E. coli* ATCC-8739 ve *S. aureus* ATCC-6538 bakterileri üzerindeki etkisinin sonuçları Şekil 3.27 ve 3.28’de görölmektedir.



Şekil 3.27: PEG /GANODERMA kompozitlerinin *E. Coli*'ye karşı antibakteriyel aktiviteleri.



Şekil 3.28: PEG/*GANODERMA* kompozitlerinin *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteleri.

Şekil 3.27'de ki fotoğrafta gösterilen 1. bölge 1400 molekül ağırlığına sahip saf PEG, 2. bölge 1400 %1'lik PEG /*GANODERMA*, 3. bölge 1400 %2.5'luk PEG /*GANODERMA*, 4. bölge 1400 %5'lik PEG /*GANODERMA*, 5. bölge 2250 molekül ağırlığına sahip saf PEG, 6. bölge 2250 %1 PEG /*GANODERMA*, 7. bölge 2250 %2.5'luk PEG /*GANODERMA*, 8. bölge 2250 %5'lik PEG /*GANODERMA*, 9. bölge 8400 molekül ağırlığına sahip saf PEG, 10. bölge 8400 %1'lik PEG /*GANODERMA*, 11. bölge 8400 %2.5'luk PEG/*GANODERMA*, 12. bölge 8400 %5'lik PEG/*GANODERMA* kompozitlerinin *E. coli*'ye karşı antibakteriyel aktivite görüntüleridir.

Şekil 3.28'de ki fotoğrafta gösterilen 1. bölge 1400 molekül ağırlığına sahip saf PEG, 2. bölge 1400 %1'lik PEG /*GANODERMA*, 3. bölge 1400 %2.5'luk PEG /*GANODERMA*, 4. bölge 1400 %5'lik PEG /*GANODERMA*, 5. bölge 2250 molekül ağırlığına sahip saf PEG, 6. bölge 2250 %1 PEG /*GANODERMA*, 7. bölge 2250 %2.5'luk PEG /*GANODERMA*, 8. bölge 2250 %5'lik PEG /*GANODERMA*, 9. bölge 8400 molekül ağırlığına sahip saf PEG, 10. bölge 8400 %1'lik PEG /*GANODERMA*, 11. bölge 8400 %2.5'luk PEG/*GANODERMA*, 12. bölge 8400 %5'lik PEG/*GANODERMA* kompozitlerinin *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite görüntüleridir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1 PEG /GANODERMA Kompozitlerin Karakterizasyon Sonuçları

Kompozit oluşumunu, XRD desenleriyle açıklamak için matris ve dolgu maddesinin XRD deseninden elde edilen karakteristik piklerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Aynı polimer farklı molekül ağırlığına sahip olsa da karakteristik pikleri yaklaşık olarak aynıdır. Kompozitlere ait XRD desenlerinde hem polimer hem dolgu maddesine ait karakteristik piklerin yanında farklı yeni piklerin gözlenmesi de olasıdır. Şekil 3’de 1400 molekül ağırlığı sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin XRD desenleri, Şekil 3.2’de 2250 molekül ağırlığı sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin XRD desenleri ve Şekil 3.3’de 8400 mol ağırlığı sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin XRD desenleri verilmiştir. Desenlerden görüldüğü üzere artan dolgu maddesi miktarı ile piklerin şiddetinde de bir azalma meydana gelmiştir ve XRD desenleri kompozit oluşumunu desteklemektedir.

Bu çalışmada farklı molekül ağırlığında PEG matrisinin kullanılma nedeni biyolojik özellikler üzerine molekül ağırlığının etkisinin araştırılmasıdır.

FTIR spektroskopisi, kızılötesi ışınlarla uyarılması ile bağlarda meydana gelen titreşimlerin belirlenmesi yöntemine dayanır. Bağlarda meydana gelecek titreşimler biyolojik malzemeler için ‘parmak izi’ gibi görünen kızıl ötesi absorpsiyon spektrumunu üretir. Bu spektrumlar malzemenin tanımlanmasında kullanılır [148].

Şekil 3.5-3.7’deki PEG’e ait FTIR-ATR spektrumu literatürde elde edilen spektrumla kıyaslandığında benzer bantlar gözlenmiştir. PEG’e ait 3502 cm^{-1} ’de çıkan -OH gerilme titreşimine, 2916 ve 2848 cm^{-1} ’de çıkan $-\text{CH}_3-\text{CH}_2$ gerilme titreşimine, yine 1472 cm^{-1} ’de görülen band $-\text{CH}_2$ eğilme titreşimine atfedilmektedir. 1344 ve 1280 cm^{-1} ’de çıkan bandlar ise C-O gerilmelerine aittir. 963 ve 842 cm^{-1} ’de çıkan gerilme titreşimlerine ait bantlar ise C-C gruplarını atfetmektedir.

Şekil 3.4’deki *Ganoderma lucidum*’a ait FTIR-ATR spektrumu literatürde elde edilen spektrumla kıyaslandığında. 3296 cm^{-1} ’de çıkan band N-H fonksiyonel gruplarına ve triterpenlerdeki -OH gruplarına, 2922 cm^{-1} ’de çıkan bandlar CH_3 ve

CH₂'nin asimetrik ve simetrik gerilmelerine, 1630 cm⁻¹'de çıkan band C=O amit karboniline ve 1147 cm⁻¹'de çıkan band, protein ve karbohidratlardaki –C-O fonksiyonlarının gerilmelerine ait olduğu görülmüştür.

Kompozit oluşumunun FTIR-ATR ile belirlenmesinde matrisin (polimer) IR spektrumundaki küçük değişiklikler, titreşimlerdeki birkaç cm⁻¹'lik kaymalar kanıt olarak kabul edilmektedir. Bunun nedeni matrisin ortamdaki miktarının çok fazla olması ve dolgu malzemesinin (mantar) çok az olmasındandır. Spektrumlar incelendiğinde bu kaymalar açıkça görülmektedir.

SEM, incelenen maddenin atomları ile hızlandırılmış elektronlar arasındaki etkileşim temeline dayanan metottur. Yüksek gerilim altında hızlandırılan elektronlar ile örmeğin tüm yüzeyi taranır ve üç boyutlu yüzeysel yapıları incelenir [149].

SEM yüksek büyütme oranlarına sahip olan morfolojik yapının incelenmesini sağlayan görüntüleme cihazıdır. Çalışmadaki PEG /GANODERMA kompozitlerinin morfolojileri, 10 kV potansiyel altında çeşitli büyütme oranlarında incelenmiştir.

Şekil 3.11-3.13'de 1400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin %1, %2.5 ve %5'lik SEM görüntüleri, 3.14-3.16'da 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin %1, %2.5 ve %5'lik SEM görüntüleri, 3.17-3.19'de 8400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin %1, %2.5 ve %5'lik SEM görüntüleri verilmiştir. Fotoğraflar da görülen parçacıklı yapılar *Ganoderma lucidum*'a, koyu renkli katmanlar halindeki kısım ise PEG polimerlerine aittir.

SEM analizi sonucuna göre, *Ganoderma lucidum* dolgu maddesinin PEG polimer matrisi içerisinde homojen dağılımı görülmüştür. Bu da PEG /GANODERMA kompozitlerinin 1400, 2250 ve 8400 molekül ağırlığına sahip %1, %2.5 ve %5'lik kompozitlerinin çalışmanın amacına uygun olarak oluşturulduğunu göstermiştir.

4.2 Sitotoksosite Testinin Sonuçları

Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (%1, %2.5 ve %5) hazırlanan PEG /GANODERMA kompozitlerinin lenfosit hücrelerinin yaşamlılığine etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

Şekil 3.20-3.22’de farklı molekül ağırlığına sahip PEG’ler ile hazırlanmış kompozitlerin MTS testi sonucunda verdikleri absorbands değerleri gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre;

Şekil 3.20’de molekül ağırlığı 1400 olan PEG’in kullanıldığı PEG /GANODERMA kompozitlerinin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonları sonucunda, artan miktarda eklenen *Ganoderma lucidum* konsantrasyonlarıyla doğru orantılı bir absorbands artışı görülmektedir. Özellikle PEG /GANODERMA %5’lik örnekler ile muamele edilen hücrelerde en yüksek absorbands değeri gözlemlenmiştir. Negatif kontrolle kıyaslandığında saf PEG 1400 molekül ağırlığına sahip polimerin absorbandsında 48 saatlik inkübasyon sonrasında bir düşüş tespit edilmiştir. Ancak bu düşüş *Ganoderma lucidum* eklenmesiyle düzeldiği açıkça görülmektedir.

Şekil 3.21’de molekül ağırlığı 2250 olan PEG’in kullanıldığı kompozitler ile 24, 48 ve 72 saatlik inkübe edilen hücreler için %5’lik PEG/GANODERMA kompozitlerinin en iyi absorbands gösterdikleri gözlemlenmiştir. Tüm inkübasyon periyotları incelendiğinde molekül ağırlığı 2250 olan saf PEG polimerinin absorbandsının negatif kontrole en yakın olduğu gözlemlenmiştir.

Şekil 3.22’de molekül ağırlığı 8400 olan PEG /GANODERMA kompozitlerinin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonu sonunda en yüksek absorbands değerlerin %5’lik PEG /GANODERMA kompozitlerinde olduğu gözlemlenmiştir. Değerler negatif kontrolle kıyaslandığında 8400 g/mol ağırlığına sahip bütün kompozitlerin absorbands değerleri negatif kontrole göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tüm inkübasyon periyotları incelendiğinde *Ganoderma lucidum* eklenerek hazırlanmış kompozitlerin, farklı molekül ağırlıklarındaki saf PEG (1400, 2250, 8400 g/mol) oranla daha yüksek absorbands değerine sahip olduğu görülmektedir.

Şekil 3.20-3.22’de gösterildiği gibi farklı molekül ağırlıklarına göre karşılaştırılma yapıldığında, molekül ağırlığı 1400 ve 8400 olan PEG’in kullanıldığı

kompozitlerin tüm *Ganoderma lucidum* konsantrasyonları için, molekül ağırlığı 2250 olan PEG'in kullanıldığı kompozitlere oranla daha yüksek absorpsiyon değeri verdiği görülmektedir.

Bu sonuçlar, eklenen *Ganoderma lucidum*'un lenfosit hücre canlılığını saf PEG polimerlerine kıyasla daha fazla arttırdığını açıkça ortaya koymaktadır. PEG biyomalzeme olarak birçok alanda sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir. Çalışmada, çeşitli molekül ağırlığındaki polimerlere *G. lucidum* eklendiğinde hücre canlılık oranının arttığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, PEG /GANODERMA kompozitlerinin biyomalzeme olarak tercih edilebileceğini göstermiştir.

Byung-Sun Min ve arkadaşları, *Ganoderma lucidum*'dan izole ettikleri bileşenlerin *in vitro* ortamda murin sarkoma Meth-A ve murin LLC kanser hücre hatlarında sitotoksik etkisi olduğunu belirlemişlerdir [104]. Woo Teak Chung ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada HEP3B tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etkileri olduğunu rapor etmişlerdir [150]. Bunun yanı sıra çeşitli çalışmalarda insan hepatoma PLC/PRF/5 ve KB [151], MCF7 [152], fare hepatoması, sarkom S-180 ve retikülosit sarkom L-II hücreleri [79] gibi kanser hücreleri üzerinde de sitotoksik etkileri olduğu saptanmıştır. Ergün B.'nin fare fibroblast hücre (NIH/3T3) hatlarında yaptığı çalışmada *G. lucidum* ekstratlarının herhangi bir sitotoksik etkiye sahip olmadığını belirlemiştir [153]. Tian-Shung Wu ve arkadaşları *Ganoderma lucidum*'un triterpenleri ile yaptıkları çalışmada, Hep G2, Hep G2 2.15 ve P-388 tümör hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini araştırmışlardır ve triterpenlerin tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir [154].

4.3 JuLI Görüntüleme Cihazı Sonuçları

Şekil 3.23-3.25'de hazırlanan kompozitlerin her bir inkübasyon süresi sonunda JuLI cihazı ile gerçekleştirilmiş olan % canlılık değerleri verilmiştir. MTS test sonuçlarına paralel olarak bu sonuçlarda da farklı oranlarda eklenen *Ganoderma lucidum*'un hücre canlılığında önemli bir artışa sebep olduğu görülmektedir.

4.4 Hemouyumluluk Test Sonuçları

Hemouyumluluk testi sonuçları Shanthini G.[155] ve arkadaşlarının hemoliz uyumluluk oranlarını baz alarak değerlendirilmiştir. Shanthini G. ve arkadaşları hemoliz oranlarını % 20'den fazla ise hemouyumlu olmayan, % 10'a kadar hemouyumlu olanlar ve % 5'ten küçük ise oldukça hemouyumlu, olarak sınıflandırmışlardır [156]. Şekil 3.26'da gösterilen PEG /GANODERMA kompozitlerinin hemoliz oranlarına bakıldığında bütün kompozitlerin %5'in altında olduğu gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda 8400 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin en iyi aktivite gösterdiği görülmüştür. Saf PEG'ler ile PEG /GANODERMA kompozitleri karşılaştırıldığında *Ganoderma* dolgulu kompozitlerin biyoyuyluluğunun daha yüksek olduğunu görülmektedir. Bu da çalışmamızın amacına uygun olarak *Ganoderma* eklendiğinde daha biyoyuylulu olduğunu sonucuna varılmıştır. PEG /GANODERMA kompozitlerinin hemouyumluluğunun yüksek olması beklenen bir sonuçtur çünkü Ren ve arkadaşları Poliüretan filmin yüzeyine aşlamış oldukları PEG ve karboksimetil kitosan'ın hemouyumluluk aktivitelerini belirlediği çalışmalarında gösterdikleri gibi PEG'in hemouyumlu olduğunu göstermişlerdir [157]. Jin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise Poli(etilen-ko-akrilik asit) (PEAA) ve farklı konsantrasyondaki monometoksi poli(etilen glikol) (mPEG) elde ettikleri kompozitlerin hemouyumluluklarında Poli(etilen-ko-akrilik asit) (PEAA) göre Monometoksi poli(etilen glikol) (mPEG) daha biyoyuylulu olduklarını göstermişlerdir [158]. Aynı zamanda *Ganoderma lucidum*'un sağlık açısından oldukça yararlı olduğu bilinmektedir. PEG /GANODERMA kompozitlerinin hemouyumluluk derecesinin yüksek olması biyomalzeme olarak kullanımının uygun olduğu gösterilmiştir.

4.5 Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel aktivite temas ettikleri dokuda toksik etki oluşturmayan, sadece bakterilerin ölmesini veya büyümesini yavaşlatan doğal ya da kimyasal bileşenlerdir. Antibakteriyel ajanlar bulaşıcı hatalıklar ile mücadelede sık kullanılmaktadır. Bu ajanlar tekstil endüstrisi, su dezenfenkiyonları, medikal, gıda paketlenme vb. alanlarda büyük öneme sahiptir [159]. Bakteriler, virüsler ve mantarlar gibi mikrobik

kontaminasyonlara sebep olabilecek organizmalar insan sağlığı üzerinde oldukça önemli tehditler oluşturmaktadır. Bu nedenle etkin, düşük maliyetli ve çevreye zarar vermeme açısından uygun olan antibakteriyel malzemelerin geliştirilmesine önem verilmiştir [160]. *G. lucidum* üzerinde çok az sayıda antimikrobiyal çalışma yapılmıştır. Heleno ve arkadaşları [161] bazı durumlarda *G. lucidum* ekstratlarının güçlü antibakteriyel, antifungal özelliklerinin standart ampisilin ve streptomisinden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir [81].

Şekil 3.27’de gösterilen *E. coli*’ye ait antibakteriyel sonuçlarına göre PEG /GANODERMA kompozitlerinin hepsinin antibakteriyel aktivitesinin olduğu gösterilmiştir. En iyi antibakteriyel aktivite ise 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinde görülmüştür. Şekil 3.28’de ise *S. aureus*’e ait antibakteriyel aktivite sonuçları gösterilmiştir. 2250 molekül ağırlığına sahip PEG /GANODERMA kompozitlerinin en iyi aktivite gösterdiği görülmüştür. 1400, 2250 ve 8400’lük %1, %2.5 ve %5’lik PEG /GANODERMA kompozitlerinin hepsi *E. coli* ve *S. aureus*’a karşı antibakteriyel etkisi olduğu bulunmuştur. Bunun yanı sıra 2250 molekül ağırlığına sahip kompozitlerin antibakteriyel aktivitesi *Ganoderma lucidum* dolgu maddesi ile daha fazla arttığı anlaşılmıştır. Sonuç olarak *Ganoderma lucidum* dolgu maddesi ile oluşturulacak biyomalzeme daha fazla antibakteriyel etkiye sahip olacaktır.

Rabia Javed ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada Copper oxide (CuO) ve poli(etilen glikol) (PEG)’den oluşturdukları CuO-PEG nanoparçacıkların *E. coli* ve *S. aureus* karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada CuO-PEG nanoparçacıkların *E. coli*’e göre *S. aureus* karşı daha fazla antibakteriyel aktiviteye sahip olduklarını gözlemlemişler [162]. S. Jegatheeswaran ve M. Sundrarajan, hidroksiapatit (HAp), poli(etilen glikol) (PEG) ve gümüş partiküllerinden oluşturdukları hidroksiapatit/PEG/Ag nanokompozitleri ile saf gümüş partiküllerini *E. coli*’e karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada hidroksiapatit/PEG/Ag nanokompozitlerinin *E. coli*’e karşı gümüş parçacıklarına göre daha fazla antibakteriyel aktivite gösterdiğini saptamışlardır [163]. Oludemi Taofiq ve arkadaşlarının *G. lucidum* ekstratından yaptıkları çalışmada, *G. lucidum* ekstratının *E. coli*’ye karşı antibakteriyel etkisi olduğunu saptamışlardır [164]. R. Kamble ve arkadaşları, *G. lucidum* misellerinden elde ettikleri ekstratların *S. aureus* ve *E. coli*’ye

karşı antibakteriyel etkilerini belirlemişlerdir. *G. lucidum* ekstratlarının *E. coli*'e karşı antibakteriyel etkisinin *S. aureus*'a olan etkisinden daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir [165]. Shikongo ve arkadaşları *G. lucidum*'dan elde farklı ekstratları gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde antibakteriyel aktiviteyi belirlemek üzere kullanmışlardır. Yapılan çalışmada *G. lucidum* ekstratlarının hem gram pozitif hemde gram negatif bakteriler de antibakteriyel aktivitelerinin varlığını belirlemişlerdir [166]. Sonuç olarak literatürdeki yapılan çalışmalar ile çalışmamız arasında benzerlikler görülmektedir.

Bu çalışma;

1. PEG/ *GANODERMA* kompozitlerinin karakterizasyon sonuçları; XRD, FTIR-ATR ve SEM göz önüne alındığında saf PEG ve *Ganoderma lucidum*'dan oluşan kompozitlerin homojen bir şekilde oluştuğu gözlemlenmiştir.
2. PEG/ *GANODERMA* kompozitleri sitotoksosite testleri sonucunda bütün kompozitlerin biyoyumlu olduğu saptanmıştır. Kompozitler kendi aralarında kıyaslandığında biyoyumluluğu en yüksek olan kompozitin 8400 g/mol ağırlığına sahip olan %5'lik PEG/ *GANODERMA* kompoziti olduğu sonucuna varılmıştır.
3. Farklı molekül ağırlığına sahip (1400, 2250, 8400 g/mol) PEG ve farklı oranda (%1, %2.5, %5) *Ganoderma lucidum*'dan oluşturulan PEG/ *GANODERMA* kompozitleri Shanthini G. ve arkadaşlarının hemoliz uyumluluk oranları baz alınarak kıyaslandığında bütün kompozitlerin % hemoliz oranı % 5'in altında olduğu için yüksek hemouyumluluğa sahip oldukları belirlenmiştir.
4. Kompozitlerin antibakteriyel aktiviteleri değerlendirildiğinde, PEG/ *GANODERMA* kompozitlerinin saf PEG'e göre antibakteriyel aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. En iyi antibakteriyel aktivite, 2550 g/mol ağırlığına sahip PEG/ *GANODERMA* kompozitlerinde gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak farklı molekül ağırlığına sahip PEG (1400, 2250, 8400 g/mol) ile farklı oranlara sahip (%1, %2.5 ve %5) *Ganoderma lucidum*'dan oluşturulan PEG /*GANODERMA* kompozitlerinden oluşacak biyomalzemenin yapılan *in vitro* çalışmalar ile oldukça biyoyumlu bir ürün olacağı kanaatine varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

- [1] Hench, L. L., "Biomaterials: A forecast for the future", *Biomaterials*. (1998)., 19(16), 1419–23
- [2] Ratner, B. D., Bryant, S. J. "Where We Have Been and Where We Are Going". *Annu Rev Biomed Eng.* (2004)., 6(1), 41–75. [Online] http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027?url_ver=Z39.88-2003&rfr_dat=cr_pub=pubmed&rfr_id=ori:rid:crossref.org&journalCode=bioeng
- [3] Gümüşderelioğlu M., "Biyomalzemeler", *Bilim ve Tek.* (2002).
- [4] Refojo, M. F. "Application of Materials in Medicine and Dentistry: Ophthalmologic Applications". *Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine*. (1996)., 328-334 s.
- [5] Parsinli, A. "Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler". (2004)., 4 ,25–34.
- [6] Kümbüloğlu, Ö., Oral, O. "Biyomateryaller". *EÜ Diş.hek Fak Derg.* (2013)., 34(1), 27–33.
- [7] Güven, Ş. Y. "Biyouyumluluk ve Biyomalzemelerin Seçimi". *Suleyman Demirel Univ. Eng. Sci. Des.* (2014)., 2(3), 303–11.
- [8] Boretos, J. W. "Contemporary Biomaterials Material and Host Response, Clinical Applications, New Technology and Legal Aspects"(1984).
- [9] Patel, N. R., Gohil, P. P. "A Review on Biomaterials : Scope, Applications & Human Anatomy Significance". (2012)., 2(4).
- [10] Geetha, M., Singh, A. K., Asokamani, R., Gogia, A. K. "Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review". *Prog Mater Sci Elsevier Ltd* (2009)., 54(3), 397–425. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmatsci.2008.06.004>
- [11] Graz, T. U. "in a linear chainlike structure and Thermoplastic polymers : Basic chains with little or no Thermosetting polymers : Polymers Non-degradable Biodegradable z". 1952, 1–50.
- [12] Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., Lemons, J. "Biomaterials Science : A Multidisciplinary Endeavor". (2004)., 1–20.
- [13] Singh, R., Dahotre, E. N. B. "Corrosion degradation and prevention by surface modification of biometallic materials". (2007)., 725–51.
- [14] Alvarado, J., Maldonado, R., Marxuach, J., Otero, R. "Biomechanics of hip and knee prostheses 1". (2003)., 1–20.
- [15] Binyamin, G., Shafi, B. M., Mery, C. M. "Biomaterials: A primer for surgeons". *Semin Pediatr Surg.* (2006)., 15(4), 276–83.
- [16] Parida, P., Behera, A., Mishra, S. C., Info, A. "Classification of Biomaterials used in Medicine". (2012)., 1(3), 31–5.

- [17] Michael, B., Christian, J., Schantz, J., Gbureck, U., Rackwitz, L., Nöth, U., vd. "How smart do biomaterials need to be A translational science and clinical point of view ". *Adv Drug Deliv Rev . Elsevier B.V.* (2013)., 65(4), 581–603. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.07.009>
- [18] Rivera-Muñoz, E. M. "Ceramic biomaterials: An introductory overview". (2013).
- [19] R. W. Cahn, P. Haasen, E. J. K., "Polymer Liquid Crystals." (1982). [Online] <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780121746803500192>.
- [20] Sawheney, G. ., "Fundamentals of Biomedical Engineering", 4835/24, *Ansari Road, Daryaganj, New Delhi -110002* (2007).
- [21] Suh, H., "Recent Advances in Biomaterials", C. 39, *Yonsei Medical Journal*. (1998).
- [22] Pramanik, S., Agarwal, A. K., Rai, K. N., "Chronology of total hip joint replacement and materials development", *Trends Biomater Artif Organs*. (2005)., 19(1), 15–26.
- [23] Pilliar, R. M., "Metallic biomaterials", *Biomed Mater*. (2009)., 41–81.
- [24] Erne, P., Schier, M., Resink, T. J. "The Road to Bioabsorbable Stents : Reaching Clinical Reality". (2006)., (September 2005), 11–6.
- [25] Salernitano, E., "Composite Materials for Biomedical Applications : A Review Composite materials for biomedical applications : A review", (2014)
- [26] Yoruc, A. B. H., Sener, B. C., "Biomaterials", *A Roadmap Biomed Eng Milestones*. (2012)., 240.
- [27] Nolan, P. J., "Standard Handbook Of Biomedical Engineering And Design Chapter 23 Sterile Medical Device Package Development", *Fed Regist*. (2004)., 1–34.
- [28] Hui, N., Sun, X., Niu, S., Luo, X., "PEGylated polyaniline nanofibers: Antifouling and conducting biomaterial for electrochemical DNA sensing", *ACS Appl Mater Interfaces*. (2017)., 9(3), 2914–23.
- [29] Fan, X., Su, Y., Zhao, X., Li, Y., Zhang, R., Ma, T. "Manipulating the segregation behavior of polyethylene glycol by hydrogen bonding interaction to endow ultra fi ltration membranes with enhanced antifouling performance". *J Memb Sci Elsevier* (2016)., 499, 56–64. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2015.10.026>
- [30] French, A. C., Thompson, A. L., Davis, B. G. "High-purity discrete PEG-oligomer crystals allow structural insight". *Angew Chemie - Int Ed*. (2009)., 48(7), 1248–52.
- [31] Haag, R., Kratz, F. "Medicinal Chemistry Polymer Therapeutics : Concepts and Applications Angewandte". (2006)., 1198–215.
- [32] Fruijtier-p, C. "Safety assessment on polyethylene glycols (PEGs) and their derivatives as used in cosmetic products". (2005)., 214, 1–38.
- [33] Wenande, E., Garvey, L. H. "Immediate-type hypersensitivity to polyethylene

- glycols : Areview Experimental Allergy". (2016)., 907–22.
- [34] Yamasuji, Y., Higashi, Y., Sakanoue, M., Katsue, H., Kawai, K., Arai, N., vd. "A case of anaphylaxis caused by polyethylene glycol analogues". (2013)., 183–5.
- [35] Khan, S. H., Hussain, I., Rasool, G., Mubarak, N. "Physicochemical characterization of solid dispersion of artemether with polyethylene glycol-6000". (2013)., 1(2), 24–32.
- [36] Determination, Q. "Solid Polyethylene Glycols (Carbowax Compounds) Quantitative Determination in Biological Materials". (1944)., 32–4.
- [37] Knop, K., Hoogenboom, R., Fischer, D., Schubert, U.S. "Drug Delivery Poly (ethylene glycol) in Drug Delivery : Pros and Cons as Well as Potential Alternatives Angewandte". (2010)., 6288–308.
- [38] Leader, G., "Carbowax™ Polyethylene Glycols", [Online] http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDOWCOM/dh_0865/0901b8038086527b.pdf?filepath=polyglycols/pdfs/noreg/118-01789.pdf&fromPage=GetDoc.
- [39] Ren, J., Huang, Y., Liu, Y., Tang, X. "Preparation, characterization and properties of poly(vinyl chloride)/compatibilizer/ organophilic-montmorillonite nanocomposites by melt intercalation". (2005)., 24, 316–23.
- [40] Panwar, A., Choudhary, V., Sharma, D. K., "Polystyrene/clay nanocomposites", C. 30, Journal of Reinforced Plastics and Composites. (2011).
- [41] Mittal, V., "Synthesis of Polymer Nanocomposites", *Polymer (Guildf)*. (2015)., 1–26. [Online] http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527334556_c01.pdf.
- [42] Alig, I., Pötschke, P., Lellinger, D., Skipa, T., Pegel, S., Kasaliwal, G.R., vd. "Establishment, morphology and properties of carbon nanotube networks in polymer melts". *Polymer (Guildf). Elsevier Ltd* (2012)., 53(1), 4–28. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2011.10.063>
- [43] Çetintaş, M., "In-Situ Polymerization Of Polystyrene-Clay Nanocomposites." M.Sc. Thesis, *Istanbul Technical University Institute Of Science And Technolog*, Istanbul (2011).
- [44] Deniz, M., "Anilinin Oksidatif Polimerleşmesi ile Çeşitli Takviye Malzemeli Kompozitlerin Sentezi ve Karakterizasyonu", Yüksek Lisans Tezi, *Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Çorum (2012).
- [45] For, N., Making, F. "P. L. Nayak Research Foundation, Manorama Bhavan, Gopabandhu Nagar, Cuttack- 753004". (2011) , (2), 134–44.
- [46] Ren, L., Perera, C., Hemar, Y. "Antitumor activity of mushroom polysaccharides: Areview". *Food Funct.* (2012)., 3(11), 1118.
- [47] Society, M. "Mycological Society of America New Records of Mushroom Stones from Guatemala Author : B. Lowy Published by : Mycological Society of America Stable [Online] URL : <http://www.jstor.org/stable/3757901>". (2016)., 63(5), 983–93.

- [48] Chang ST, M.P. T. nutritional attributes and, Edible, medicinal value of edible mushrooms. I., mushrooms and their cultivation, CRC Press Inc.,F., 27-38,P. "mushroom"(1989).
- [49] Jose, N., Janardhanan, K. K. "Antioxidant and antitumour activity of *Pleurotus florida*". (2000)., 79(7), 941–3.
- [50] Chatterjee, S., Biswas, G., Basu, S. K., Acharya, K. "Antineoplastic effect of mushrooms: A review". *Aust J Crop Sci.* (2011)., 5(7), 904–11.
- [51] Li, X., Huang, C., Zhang, T., Teper, A. A., Srivastava, K., Schofield, B. H., vd. "The Chinese herbal medicine formula MSSM-002 suppresses allergic airway hyperreactivity and modulates T H 1 / T H 2 responses in a murine model of allergic". (1999)., 660–8.
- [52] Hospital-taipei, C. G., Hospital, C. G. "Efficacy of local nasal immunotherapy for Dp2-induced airway inflammation in mice : Using Dp2 peptide and fungal immunomodulatory peptide". 301–10.
- [53] Li, X., Zhang, T., Huang, C., Srivastava, K., Teper, A. A., Zhang, L., vd. "Food Allergy Herbal Formula-1 (FAHF-1) blocks peanut-induced anaphylaxis in a". 1, 639–46.
- [54] Hsieh, K., Hsu, C., Lin, J., Tsai, C., Lin, R. "Oral administration of an edible-mushroom-derived protein inhibits the development of food-allergic reactions in mice". (2003)., 1595–602.
- [55] Kuo, Y., Huang, Y., Chen, C., Lin, Y., Chuang, K. "Cell cycle progression and cytokine gene expression of human peripheral blood mononuclear cells modulated by". 176–87.
- [56] Kim, S., Song, Y., Kim, S., Kim, B., Lim, C., Park, E. "Anti-inflammatory and related pharmacological activities of the n -BuOH subfraction of mushroom *Phellinus linteus*". (2004)., 93, 141–6.
- [57] Jose, N., Ajith, T. A., Janardhanan, K. K. "Methanol Extract of the Oyster Mushroom, *Pleurotus florida*, Inhibits Inflammation and Platelet Aggregation". (2004)., 43–6.
- [58] Bobek, P. "Hypocholesterolemic and antiatherogenic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rabbits". (1999)., 43(5).
- [59] Gray, A.M., Flatt, P. R. "Insulin-releasing and insulin-like activity of *Agaricus campestris* (mushroom)". (1998)., 259–66.
- [60] Yoon, S., Yu, M., Pyun, Y., Hwang, J., Chu, D., Raj, L., vd. "The nontoxic mushroom *Auricularia auricula* contains a polysaccharide with anticoagulant activity mediated by antithrombin". (2003)., 112, 151–8.
- [61] Hiroaki, N., Kodama K.,D. S. 2 and D. T. 2. "Effects of Maitake (*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients". (2000)., 293–5.
- [62] Ngai, P. H. K., Ng, T. B. "Lentin, a novel and potent antifungal protein from shitake mushroom with inhibitory effects on activity of human immunodeficiency virus-1 reverse transcriptase and proliferation of leukemia cells". (2003)., 73, 3363–74.

- [63] Kodama, N., Yamada, M., Nanba, H. "Addition of Maitake D-fraction Reduces the Effective Dosage of Vancomycin for the Treatment of Listeria -Infected Mice". (2001)., 332, 327–32.
- [64] Rincão, V. P., Yamamoto, K. A., Maria, N., Silva, P., Soares, S. A., Doretto, L., vd. "Polysaccharide and extracts from Lentinula edodes : structural features and antiviral activity". (2012)., 1–6.
- [65] Im, G. K., Oh, S. R., Ark, S. P., Hn, S. A., Yang-hyo, O. H. "Alleviation of Experimental Septic Shock in Mice by Acidic Polysaccharide Isolated from the Medicinal Mushroom *Phellinus linteus*". (2003)., 26(10), 1418–23.
- [66] Kidd, P. M. "The Use of Mushroom Glucans and Proteoglycans in Cancer Treatment Mushroom Glucans & Proteoglycans". (2001)., 5(1), 4–27.
- [67] Hno, N. O., Urukawa, M. F., Iura, N. N. M., Dachi, Y. A., Otoi, M. M. "Antitumor b -Glucan from the Cultured Fruit Body of *Agaricus blazei*". (2001)., 24(7), 820–8.
- [68] Ng, T. B., Ngai, P. H. K., Xia, L. "An agglutinin with mitogenic and antiproliferative activities from the mushroom *Flammulina velutipes*". (2006)., 167–71.
- [69] Florida, S. "Effects of Ganopoly (A *Ganoderma lucidum* Polysaccharide Extract) on the Immune Functions in Advanced - Stage Cancer". (2003).
- [70] Gao, Y., Zhou, S. "Cancer Prevention and Treatment by *Ganoderma*, a Mushroom with Medicinal Properties". (2017).
- [71] Lee, Y., Kim, H., Lee, M., Kim, J., Han, J., Hong, E., vd. "Oral Administration of *Agaricus blazei* (H1 Strain) Inhibited Tumor Growth in a Sarcoma 180 Inoculation Model". (2003)., 371–5.
- [72] Lee, I., Nishikawa, A. "Polyozellus multiplex , a Korean wild mushroom, as a potent chemopreventive agent against stomach cancer". (2003)., 73., 3225–34.
- [73] Zhang, L., Peng, Y., Zhang, L., Zeng, F., Xu, Y. "Structure and antitumor activity of extracellular polysaccharides from the mycelium of *Ganoderma tsugae* Structure and antitumor activity of extracellular polysaccharides from mycelium". (2017).
- [74] Shin, K. H., Lim, S. S., Lee, S., Lee, Y. S., Jung, S. H., Cho, S. Y. "Anti-tumour and Immuno-stimulating Activities of The Fruiting Bodies of *Paecilomyces japonica* , a New Type of *Cordyceps* spp .". (2003)., 830–3.
- [75] Hattori, T. S., Komatsu, N., Shichijo, S., Itoh, K. "Protein-bound polysaccharide K induced apoptosis of the human Burkitt lymphoma cell line, Namalwa".(2004)., 58, 226–30.
- [76] Mainz, J. G. "Fungal polysaccharopeptide inhibits tumor angiogenesis and tumor growth in mice Fungal polysaccharopeptide inhibits tumor angiogenesis and tumor growth in mice". (2004).
- [77] Shiao, M. S. "Natural products of the medicinal fungus *Ganoderma lucidum*: Occurrence, biological activities, and pharmacological functions". *Chem Rec.* (2003)., 3(3), 172–80.

- [78] Jonathan, S. G., Awotona, F. E. "Studies on Antimicrobial Potentials of three *Ganoderma* species". (2010).
- [79] Liu, X., Yuan, J., Chung, C., Chen, X. "Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of *Ganoderma lucidum*". (2002)., 182, 155–61.
- [80] Paterson, R. R. M. "*Ganoderma* – A therapeutic fungal biofactory". (2006)., 67, 1985–2001.
- [81] Ferreira, I. C. F. R., Heleno, S. A., Reis, F. S., Stojkovic, D., Queiroz, M. J. R. P., Vasconcelos, M. H., vd. "Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities". *Phytochemistry Elsevier Ltd* (2015)., 114, 38–55. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.10.011>
- [82] Jonathan, S. G., Kigigha, L. T., Ohimain, E. "Evaluation of the Inhibitory Potentials of Eight Higher Nigerian Fungi against Pathogenic Microorganisms". (2008)., 197–202.
- [83] Yoon, S. Y., Eo, S. K., Kim, Y. S., Lee, C. K., Han, S. S. "Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Extract Alone and in Combination with Some Antibiotics". (1994)., (6), 438–42.
- [84] Wasser, S. P. "Medicinal Properties of Substances Occurring in Higher Basidiomycetes Mushrooms : Current Perspectives". (1999)., 1, 47–50.
- [85] Wachtel-galor, S., Yuen, J., Buswell, J. A., Chinese, I. "Chapter 9 *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi)". (2011)., 1–31.
- [86] Trajković, L. M. H., Mijatović, S. A., Maksimović, D.D., Stojanović, I. D., Momčilović, M. B., Tufegđić, S. J., vd. "Anticancer Properties of *Ganoderma Lucidum* Methanol Extracts In Vitro and In Vivo Anticancer Properties of *Ganoderma Lucidum* Methanol Extracts In Vitro and In Vivo". (2009).
- [87] Cheng, C., Li, Y., Xu, P., Feng, R., Yang, M., Guan, S., vd. "Preparative isolation of triterpenoids from *Ganoderma lucidum* by counter-current chromatography combined with pH-zone-refining". *Food Chem Elsevier Ltd* (2012)., 130(4), 1010–6. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.122>
- [88] Pan, D., Wang, L., Chen, C., Teng, B., Wang, C., Xu, Z., vd. "Structure characterization of a novel neutral polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies". *Food Chem [Internet]. Elsevier Ltd* (2012). ,135(3) ,1097–103. [Çevrimiçi] <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.071>
- [89] Peng, X., Liu, J., Han, Z., Yuan, X., Luo, H. "Protective effects of triterpenoids from *Ganoderma resinaceum* on H₂O₂-induced toxicity in HepG2 cells" *Food Chem. Elsevier Ltd* (2013)., 141(2), 920–6. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.071>
- [90] Gao, Y., Zhou, S., Wen, J., Huang, M., Xu, A. "Mechanism of the antiulcerogenic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on indomethacin-induced lesions in the rat". (2002)., 72, 731–45.
- [91] Graviss, R. "*Ganoderma lucidum* : A Potent Pharmacological Macrofungus *Ganoderma lucidum* : A Potent Pharmacological Macrofungus". (2009).

- [92] Wang, Y., Khoo, K., Chen, S., Lin, C., Wong, C., Lin, C. "Studies on the Immuno-Modulating and Antitumor Activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) Polysaccharides : Functional and Proteomic Analyses of a Fucose-Containing Glycoprotein Fraction Responsible for the Activities". (2002)., 10, 1057–62.
- [93] Wang, Y. L. S. "Anti-hepatitis B activities of ganoderic acid from *Ganoderma lucidum*". (2006)., 837–41.
- [94] Chang, S. T., Buswell, J. A. "Mushroom nutraceuticals". (1996).,12, 473–6.
- [95] Hsu, S., Ou, C., Li, J., Chuang, T., Kuo, H. "*Ganoderma tsugae* extracts inhibit colorectal cancer cell growth via G 2 / M cell cycle arrest". (2008)., 120, 394–401.
- [96] Mizuno, "Extraction, Development and Chemistry of Anti-Cancer Compounds From", *Development*. 1992,
- [97] Wagner, R., Alexander, D., Lanzi, G., Angela, M., Almeida, L. De. "Links between morphology and physiology of *Ganoderma lucidum* in submerged culture for the production of exopolysaccharide". (2004)., 114, 153–64.
- [98] Antillana, M. S., Mmirzi, B. I., Risco, R. D. E. P., Icolaus, B. N., Oli, A. P. "Chemical Composition and Biotechnological Properties of a Polysaccharide from the Peels and Antioxidative Content from the Pulp of *Passiflora ligularis* Fruits". (2007)., 7427–33.
- [99] Ang, X. I. Y., Hao, Y. A. N. Z., Ang, Y. I. N. G. Y., Uan, Y. U. N. R. "Isolation and Characterization of Immunostimulatory Polysaccharide from an Herb Tea , *Gynostemma pentaphyllum* Makino". (2008)., 6905–9.
- [100] Oucheng, M. W. U. "Characterization and Free Radical Scavenging Activity of Rapeseed Meal Polysaccharides WPS-1 and APS-2". (2009)., 812–9.
- [101] Borchers, A. T., Keen, C. L., Gershwin, M. E., Ershwin, M. E. R. I. C. G. "Experimental Biology and Medicine". (2008)., 393–406.
- [102] Mau, J., Lin, H., Chen, C. "Non-volatile components of several medicinal mushrooms". (2001)., 34, 521–6.
- [103] Hajjaj, H., Mace, C., Roberts, M., Niederberger, P., Fay, L. B. "Effect of 26-Oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and Their Activity as Cholesterol Synthesis Inhibitors". (2005)., 71(7), 3653–8.
- [104] Akamura, N. N., Attori, M. H. "Triterpenes from the Spores of *Ganoderma lucidum* and Their Cytotoxicity against Meth-A and LLC Tumor Cells". (2000)., 48(7), 1026–33.
- [105] Kikuchi, T., "Contituents of the gungus *Ganoderma lucidum* Karrst. 1. structures of gannoderic acid C3, E, I and K, lucidenic acid F and related compounds", (1986).
- [106] Nishitoba, T. "New Terpenoids, Ganoderic Acid J and Ganolucidic Acid C , from the Fungus *Ganoderma lucidum* Methyl ganolucidate C (3a) was crystallized of methyl ganolucidate C was determined". (1985)., 49(12), 3637–8.
- [107] Oda, K., August, R. "Novel Triterpenoids from the Fungus *Ganoderma lucidum*

oxidized lanostane triterpenoids , some of them taste (la), which gave a molecular ion peak at by HR-EI-MS. The IR spectrum of la showed of a hydroxyl group at C-7 was". (1988)., 52(2), 367–72.

- [108] Shimizu, A., "Isolation of an Inhibitor of Platelet aggregation from a fungus, *Ganoderma Lucidum*", (1984)., 33.
- [109] Sneddon, J., "Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics, 2nd ed.", *Microchem J.* (1997)., 55(1), 129. [Online] <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X96913880>
- [110] Zhang, X., Ip, F. C. F., Zhang, D., Chen, L., Zhang, W., Li, Y., vd. "Triterpenoids with neurotrophic activity from *Ganoderma lucidum*". (2011).
- [111] Matsuzaki, H., Shimizu, Y., Iwata, N., Kamiuchi, S., Suzuki, F., Iizuka, H., vd., "Antidepressant-like effects of a water-soluble extract from the culture medium of *Ganoderma lucidum* mycelia in rats", *BMC Complement Altern Med.* (2013)., 13.
- [112] Gao, Y., D, S. Z. P., Jiang, W., Huang, M., Dai, X., "Effects of Ganopoly (A *Ganoderma lucidum* Polysaccharide Extract) on the Immune Functions in Advanced - Stage Cancer Patients Effects of Ganopoly (A *Ganoderma lucidum*", (2009).
- [113] Bach, J., Deuster, O., Balzer-geldsetzer, M., Meyer, B. "The Role of Macrophage Inhibitory Factor in Tumorigenesis and Central Nervous System Tumors". (2009).
- [114] Pan, K., Jiang, Q., Liu, G., Miao, X., Zhong, D. "International Journal of Biological Macromolecules Optimization extraction of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its immunity and antioxidant activities". *Int J Biol Macromol. Elsevier B.V.* (2013)., 55, 301–6. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.01.022>
- [115] Sun, L., Lin, Z., Li, X., Li, M., Lu, J., Duan, X., vd. "Promoting Effects of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides on B16F10 Cells to Activate Lymphocytes". (2010)., 149–54.
- [116] Morigiwa, A., Kitabatake, K., Fujimoto, Y., Ikekawa, N., "Angiotensin converting enzyme-inhibitory triterpenes from *Ganoderma lucidum*", *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. (1986)., 34(7), 3025–8.
- [117] Suay, I., Arenal, F., Asensio, F. J., Basilio, A., Cabello, M.A., Teresa, M. D., vd. "Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities". (2000)., (Anke 1989), 129–39.
- [118] Skalicka-woźniak, K., Szykowski, J., Los, R., Siwulski, M., Sobieralski, K., Malm, A. "Acta Societatis Botanicorum Poloniae". (2012)., 81(1), 17–21.
- [119] Porter, J. A., Fraunhofer, E. J. A. Von. "Success or failure of dental implants A literature review with treatment considerations".
- [120] Ratner, B. D. "The Biocompatibility Manifesto: Biocompatibility for the Twenty-first Century". (2011)., 523–7.
- [121] Williams, D. F. "Biomaterials On the mechanisms of biocompatibility q".

(2008)., 29, 2941–53.

- [122] Hudson, S. P., Langer, R., Fink, G. R., Kohane, D. S. "Biomaterials Injectable in situ cross-linking hydrogels for local antifungal therapy". *Biomaterials Elsevier Ltd* (2010)., 31(6), 1444–52. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.016>
- [123] Haining, W. N., Anderson, D. G., Little, S. R., Berwelt-baildon, M. S. Von., Cardoso, A. A., Kosmatopoulos, K., vd. "pH-Triggered Microparticles for Peptide Vaccination". (2017).
- [124] Kohane, D.S., Langer, R. "Biocompatibility and drug delivery systems". *Chem Sci.* (2010)., 1(4) ,441.
- [125] Yeo, Y., Burdick, J. A., Highley, C. B., Marini, R., Langer, R., Kohane, D. S. "Peritoneal application of chitosan and UV-cross-linkable chitosan". (2006).
- [126] Anderson, J. M., Shive, M. S. "Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres". *Adv Drug Deliv Rev Elsevier B.V.* (2012). ,64 ,72–82. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.004>
- [127] Bunaciu, A. A., Udristoiu, E. G., Aboul-Enein, H. Y. "X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications". *Crit Rev Anal Chem* (2015). ,45(4) ,289–99. [Online] <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408347.2014.949616>
- [128] Ono, D., Bamba, T., Oku, Y., Yonetani, T., Fukusaki, E. "Application of Fourier transform near-infrared spectroscopy to optimization of green tea steaming process conditions". *JBIOSC. The Society for Biotechnology, Japan* (2011). ,112(3) ,247–51. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.05.002>
- [129] Lin, S., Wang, S. "Advances in simultaneous DSC – FTIR microspectroscopy for rapid solid-state chemical stability studies: Some dipeptide drugs as examples". *Adv Drug Deliv Rev Elsevier B.V.* (2012)., 64(5), 461–78. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.01.009>
- [130] Kulea, H. "Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Gıda Analizlerinde Kullanımı Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy and Utilization in Food." (2014)., 39, 235–41.
- [131] Erdin, D. N., "Tarama Elektron Mikroskopunun Temel Prensipleri ve Numune Hazırlama" (2011)., 2(36). [Online] <http://dergipark.gov.tr/download/article-file/175127>.
- [132] Ge, C., Wang, B., Fancey, K. S. "An evaluation of the scanning electron microscope mirror effect to study viscoelastically prestressed polymeric matrix composites". (2017)., 79–87.
- [133] Asena, K., Kapak, T. "Scanning- Elektron Mikroskobu". (2006)., 17(9), 55–8.
- [134] Fruijtier-Pölloth, C., "Safety assessment on polyethylene glycols (PEGs) and their derivatives as used in cosmetic products", *Toxicology.* (2005)., 214(1–2), 1–38. .
- [135] Eyelink, "JuLI™ Stage User Manual", SpringerReference. (2006). [Online] http://www.springerreference.com/index/doi/10.1007/SpringerReference_28001

- [136] Bulletin, T. "One Solution Cell Proliferation Assay CellTiter 96 AQ ueous One Solution Cell Proliferation Assay".
- [137] Szebeni, J. "Hemocompatibility testing for nanomedicines and biologicals : predictive assays for complement mediated infusion reactions". (2012)., 1(1), 33–53.
- [138] Sanak, M., Jakiela, B., Węgrzyn, W. "Assessment of hemocompatibility of materials with arterial blood flow by platelet functional tests". (2010)., 58(2), 317–22.
- [139] B, V., Petrache, I., Popa, M. I., Butnaru, M., Vere, L. "Hemocompatible Biofunctionalized Magnetic Composites for Blood Detoxification Techniques". (2011)., (Tween 20), 24–7.
- [140] Wu, C. "Preparation and characterisation of poly (hydroxyalkanoate)/ Ganoderma lucidum fibre composites : mechanical and biological properties". (2015)., 821–37.
- [141] Wu, C. S. "Preparation, characterisation, and biocompatibility of Ganoderma lucidum fibre-based composites with polylactic acid". *Compos Sci Technol Elsevier Ltd* (2014)., 102, 1–9. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.compscitech.2014.07.012>
- [142] C. P. Dhanalakshmi. "Synthesis and preliminary characterization of polyethylene glycol (PEG)/hydroxyapatite (HAp) nanocomposite for biomedical applications". *Int J Phys Sci.* (2012)., 7(13), 2093–101.
- [143] Quereshi, S., Pandey, A. K., Sandhu, S. S. "Evaluation of antibacterial activity of different Ganoderma lucidum extracts". *People's J Sci Res.* (2010)., 3(1), 9–14.
- [144] Akızawa, T., "Efficiency and Biocompatibility of a Polyethylene.", (1989).
- [145] Cai ,Z., Kim, J. "Bacterial cellulose/poly(ethylene glycol) composite: Characterization and first evaluation of biocompatibility". *Cellulose.* (2010)., 17(1), 83–91.
- [146] Chan, R. T. H., Marçal, H., Russell, R. A., Holden, P. J., Foster, L. J. R. "Application of polyethylene glycol to promote cellular biocompatibility of polyhydroxybutyrate films". *Int J Polym Sci.* (2011)., 2011.
- [147] Motlagh, D., Allen, J., Hoshi, R., Yang, J., Lui, K., Ameer, G. "Hemocompatibility evaluation of poly (diol citrate) in vitro for vascular tissue engineering". (2007).
- [148] Taha, M., Hassan, M., Essa, S., Tartor, Y. "Use of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectroscopy for rapid and accurate identification of Yeasts. Use of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectroscopy for rapid and accurate identification of Yeasts isolated from hum". *Int J Vet Sci Med. Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University* (2014)., 1(1), 15–20. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.03.001>
- [149] Dan, T. K., Bardak, B. "Bazi sentetik zeolitlerde adsorbe edilen nitrofenol izomerlerinin titreşim spektroskopisi ve taramali elektron mikroskopisi ile incelenmesi". (2011).

- [150] Chung, W. O. O. T., Lee, H. O., Kim, D. A. I., Park, Y. S. I. K., Hwang, B., Lee, S. Y., vd. "Effect of Mycelial Culture Broth of *Ganoderma lucidum* on the Growth Characteristics of Human Cell Lines". (2001)., 92(6), 550–5.
- [151] Lin., N. C. "Novel Cytotoxic Principles Of Formosan". (1991)., 1(4), 998–1002.
- [152] Hongbo, H. U., Hn, N. A., Ang, X. Y., Ee, Y. L., Ang, K. K. "Ganoderma lucidum Extract Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis In MCF-7 Humun Breast Cancer". (2002)., 253(September), 250–3.
- [153] Ergun, B., "Evaluation of *in vitro* antimicrobial, cytotoxic and genotoxic activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi Mushroom)", (2016)., 6(7).
- [154] Wu, T., Shi,L., Kuo, S. "Cytotoxicity of *Ganoderma lucidum* Triterpenes". (2001)., 1121–2.
- [155] Shanthini, G. M., Ann, C., Sakthivel, N., Chandra, S., Elayaraja, K., Lakshmi, B. S., vd. "Applied Surface Science Physical and biological properties of the ion beam irradiated PMMA-based composite films". *Appl Surf Sci Elsevier B.V.* (2015)., 329, 116–26. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.12.129>
- [156] Veerla, S. C. "Physical and biological properties of the ion beam irradiated PMMA-based composite films". *Appl Surf Sci. Elsevier B.V.* (2015)., 329(February), 116–26. [Online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.12.129>
- [157] Ren, Z., Chen, G., Wei, Z., Sang, L., Qi, M. "Hemocompatibility Evaluation of Polyurethane Film with Surface-Grafted Poly (ethylene glycol) and Carboxymethyl-Chitosan". (2013)., 308–15.
- [158] Jin, J., Jiang, W., Yin, J., Ji, X., Stagnaro, P. "Plasma Proteins Adsorption Mechanism on Polyethylene-Grafted Poly (ethylene glycol) Surface by Quartz Crystal Microbalance with Dissipation". (2013).
- [159] Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., Aberasturi, D. J. De., Larramendi,I.R. De., Rojo,T. "Antibacterial properties of nanoparticles". (2012)., 30(10).
- [160] Kong, H., Kong, H. "Highly effective antibacterial activity and synergistic effect of Ag-MgO nanocomposite against *Escherichia coli*". (2016).
- [161] Glamoclija, J. M. "Antimicrobial and demelanizing activity of *Ganoderma lucidum* extract, p-hydroxybenzoic and cinnamic acids and". (2017).
- [162] Javed, R., Ahmed, M., Nisa, S., Zia, M. "PVP and PEG doped CuO nanoparticles are more biologically active: Antibacterial, antioxidant, antidiabetic and cytotoxic perspective". (2017)., 79 , 108–15.
- [163] Jegatheeswaran, S., Sundrarajan, M. "PEGylation of novel hydroxyapatite / PEG / Ag nanocomposite particles to improve its antibacterial efficacy". (2015)., 51, 174–81.
- [164] Barros, L., Gonz, A. M. "The potential of *Ganoderma lucidum* extracts as bioactive ingredients in topical formulations , beyond its nutritional benefits". (2017)., 108.

- [165] Kamble, R. "Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Mycelia". (2011),
- [166] Shikongo, L. T., Chimwamurombe, P. M., Lotfy, H. R. "Antimicrobial screening of crude extracts from the indigenous *Ganoderma lucidum* mushrooms in Namibia". (2013), 7(40), 4812–6.

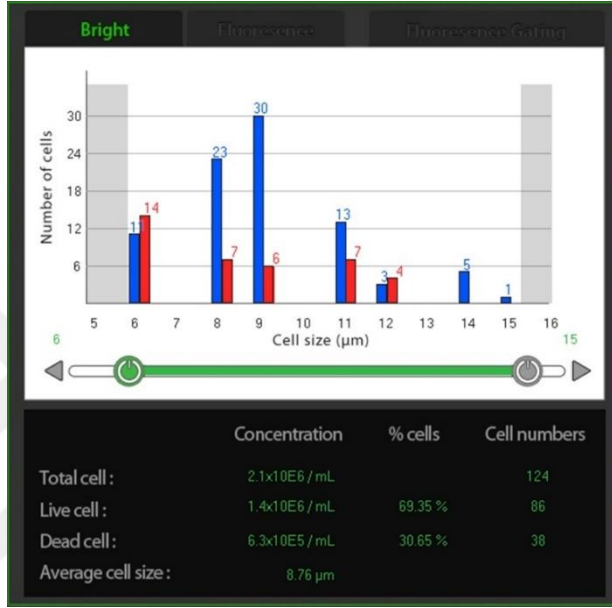




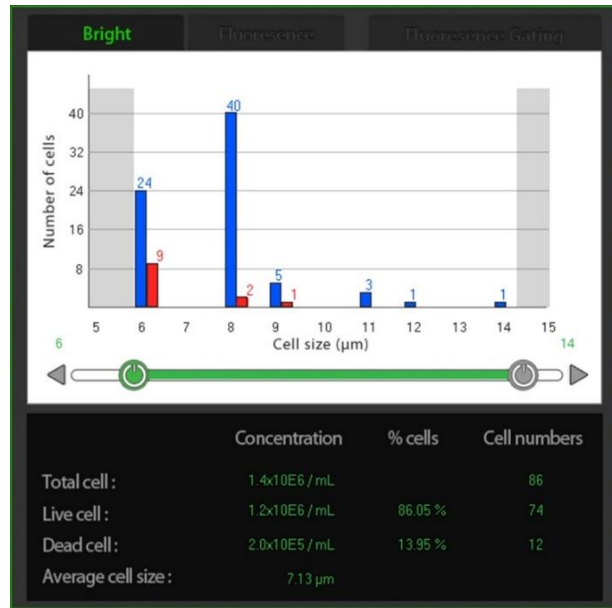
EKLER

6. EKLER

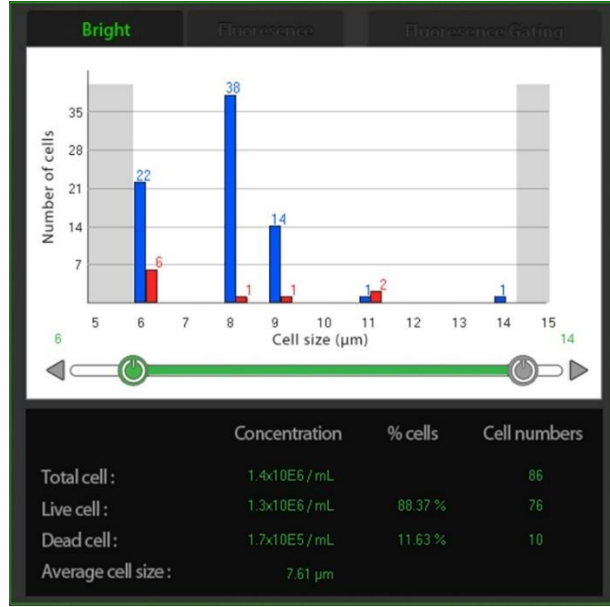
EK A JuLI Grafikleri



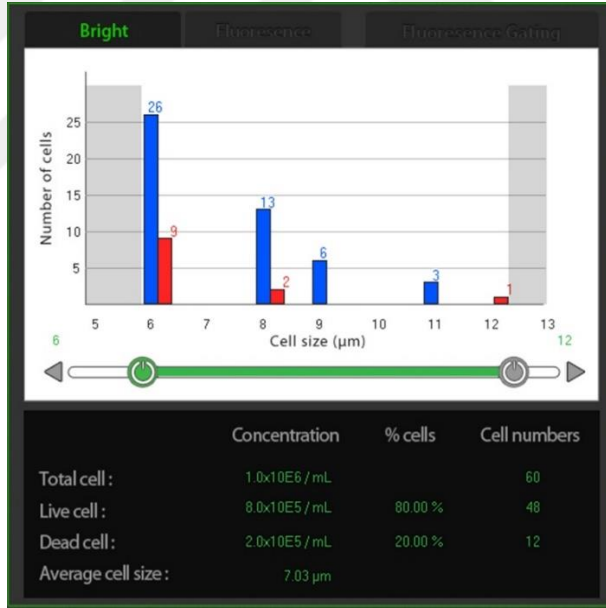
Şekil A.1: 1400 molekül ağırlığına sahip saf PEG kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



Şekil A.2: 1400 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG/GANODERMA kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



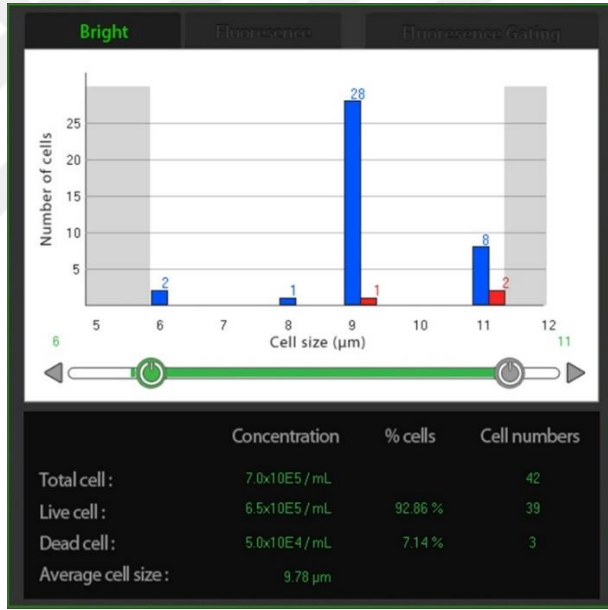
Şekil A.3: 1400 molekül ağırlığına sahip %2,5'lik PEG/GANODERMA kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



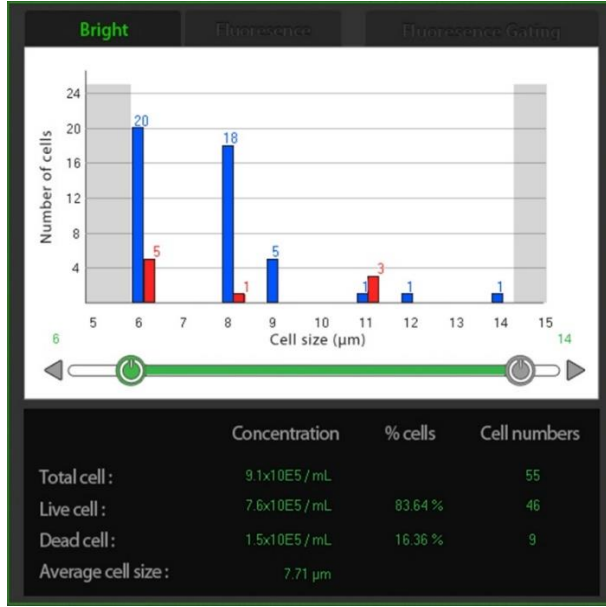
Şekil A.4: 1400 molekül ağırlığına sahip %5'lik PEG/GANODERMA kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



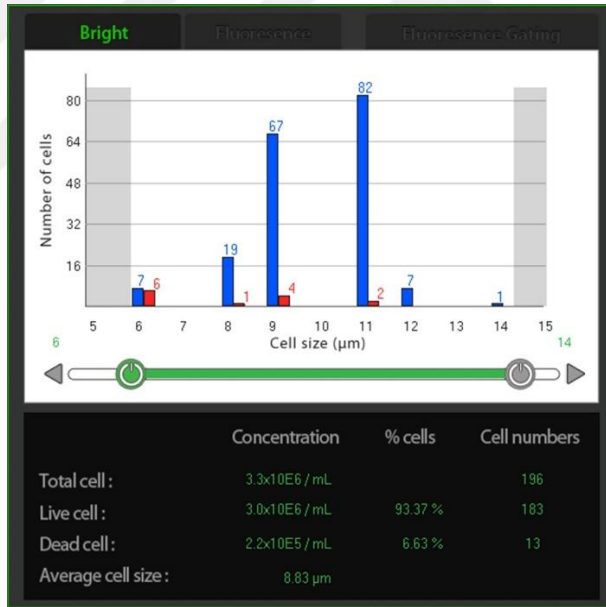
Şekil A.5: 2250 molekül ağırlığına sahip saf PEG kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



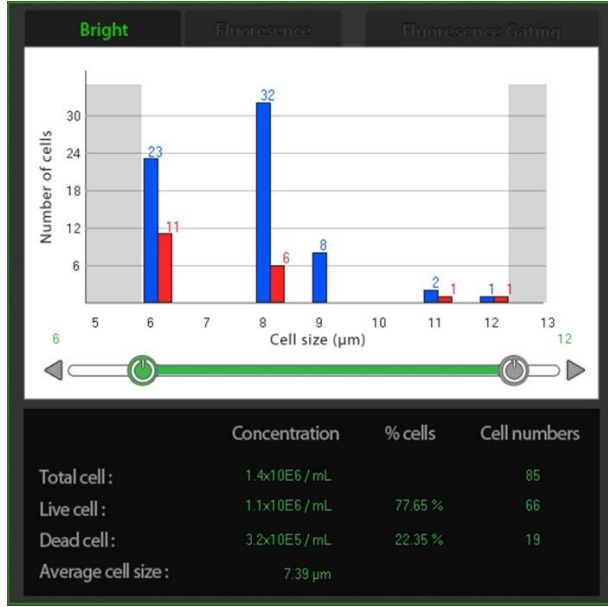
Şekil A.6: 2250 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG/GANODERMA kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



Şekil A.7: 2250 molekül ağırlığına sahip %2,5'lik PEG/GANODERMA kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



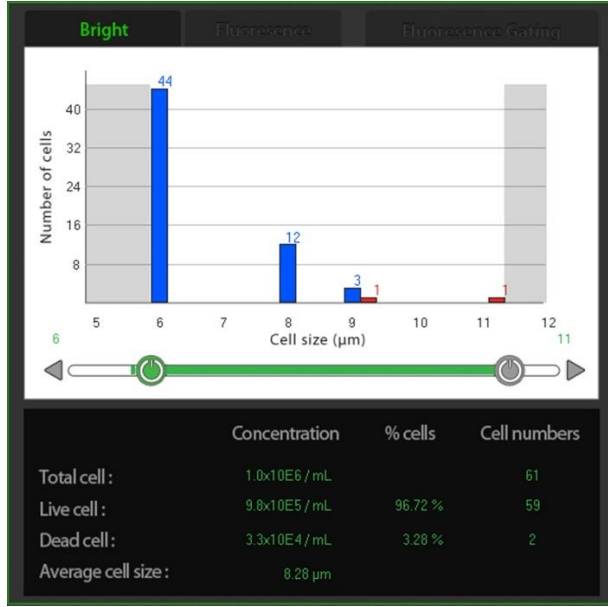
Şekil A.8: 2250 molekül ağırlığına sahip %5'lik PEG/GANODERMA kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



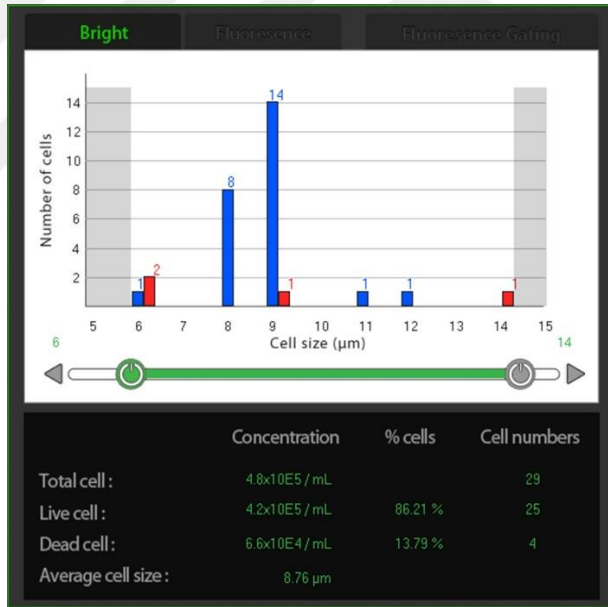
Şekil A.9: 8400 molekül ağırlığına sahip saf PEG kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



Şekil A.10: 8400 molekül ağırlığına sahip %1'lik PEG/GANODERMA kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



Şekil A.11: 8400 molekül ağırlığına sahip %2,5'lik PEG/*GANODERMA* kompozitinin % canlılık analiz sonucu.



Şekil A.12: 8400 molekül ağırlığına sahip %5'lik PEG/*GANODERMA* kompozitinin % canlılık analiz sonucu.