

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



**PVP/*Ganoderma lucidum* KOMPOZİTLERİNİN HAZIRLANMASI,  
KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İREM AKINCI**

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

**Doç. Dr. Yasemin TURHAN**

**Dr. Öğr. Üy. Dudu DEMİR**

**BALIKESİR, NİSAN - 2018**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**İrem AKINCI** tarafından hazırlanan “**PVP/GANODERMA LUCIDUM KOMPOZİTLERİNİN HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 19.04.2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği 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  
Doç. Dr. Yasemin TURHAN

Üye  
Dr. Öğr.Üy. Dudu DEMİR

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

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

## ÖZET

### PVP/GANODERMA LUCIDUM KOMPOZİTLERİNİN HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE BAZI BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İREM AKINCI

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SERAP DOĞAN)

BALIKESİR, MART - 2018

Bu çalışmada, polivinilpirolidon (PVP) polimerinin matriks ve *Ganoderma lucidum* mantarının dolgu maddesi olarak kullanıldığı biyokompozit filmler sentezlenmiştir. Kompozitlerin eldesi çözücü ortamında etkileştirme yöntemi kullanılarak sağlanmıştır. Sentezlenen kompozitlerin içerdiği dolgu maddesi oranları %1, 2.5, 5 ve 10 olarak belirlenmiştir. Kompozit filmlerinin karakterizasyonu XRD, FTIR-ATR, SEM, Optik Temas Açısı cihazları ile yapılmıştır. XRD desenleri, Optik Temas Açısı ve SEM görüntülerine göre mantarın PVP matriksi içerisinde homojen bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. FTIR-ATR spektrumlarındaki kompozitlere ait değişimler dolgu maddesi ve matriksin etkileşime girdiğini göstermektedir. Ayrıca, sağlıklı bireylerin kanları ve bu kanlardan izole edilen lenfosit hücreleri kullanılarak sentezlenen kompozitlerin hemouyumluluk ve sitotoksosite analizleri *in vitro* olarak yapılmıştır. PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin hemoliz oranlarına göre hemouyumlu olduğu gözlenmiştir. Polimer ve kompozitlerin lenfosit hücreleri üzerindeki sitotoksosite tayini MTS ve tripan mavisi testi kullanılarak JuLI hücre görüntüleyicisi ile belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan kompozitlerin hiçbirinin sitotoksik etki göstermediği elde edilen deneysel veriler ile saptanmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Kompozitler, polivinilpirolidon, *Ganoderma lucidum*, hemouyumluluk, sitotoksosite.

## ABSTRACT

### PREPERATION, CHARACTERIZATION AND DETERMINATION OF SOME BIOLOGICAL PROPERTIES OF PVP/*GANODERMA LUCIDUM* COMPOSITES

MSC THESIS

İREM AKINCI

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE  
MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

(SUPERVISOR: PROF. DR. SERAP DOĞAN )

BALIKESİR, MARCH 2018

In this study, polyvinylpyrrolidone (PVP) was used as a matrix and *Ganoderma lucidum* was used as a filling material to synthesize biocomposite films. The synthesis of the composites was performed by the method of activation in solvent medium. The composites were prepared with 1, 2.5, 5 and 10 % of filler materials. Characterization of the composite films were performed by XRD, FTIR-ATR, SEM and Optical Contact Angle devices. According to XRD patterns, Optical Contact Angle results and SEM images, it was observed that mushroom was homogeneously dispersed in PVP matrix. The changes in FTIR-ATR spectra of the composites showed that there is an interaction between the matrix and filler material. In addition, hemocompatibility and cytotoxicity of the synthesized composites were analyzed using *in vitro* healthy human blood and isolated lymphocytes. Hemolysis % of the PVP/*Ganoderma lucidum* composites showed that all of the synthesized composites are hemocompatible. Cytotoxicity analysis of pure polymers and composites on lymphocyte cells was performed by MTS Assay, tryphan blue test and live cell imaging system (JuLI). In conclusion, it was determined that none of the composites used in this study showed a cytotoxic effect.

**KEYWORDS:** Composites, polyvinylpyrrolidone, *Ganoderma lucidum*, hemocompatibility, cytotoxicity.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
SEMBOL LİSTESİ.....	viii
ÖNSÖZ.....	ix
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Biyomalzemeler.....	1
1.1.1 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması.....	2
1.1.1.1 Seramik Biyomalzemeler.....	2
1.1.1.2 Metalik Biyomalzemeler.....	3
1.1.1.3 Polimerik Biyomalzemeler.....	4
1.1.1.4 Kompozit Biyomalzemeler.....	4
1.1.1.4.1 Kompozit Malzemelerin Bileşenleri.....	5
1.1.1.4.1.1 Matriks.....	5
1.1.1.4.1.1.1 Polivinil pirolidon (PVP).....	5
1.1.1.4.1.2 Dolgu Maddesi.....	6
1.1.1.4.1.2.1 Ganoderma lucidum.....	6
1.1.1.4.2 Kompozit Malzemelerin Hazırlanması.....	8
1.1.1.4.2.1 Polimerizasyon Yöntemi.....	8
1.1.1.4.2.2 Eritme Yöntemi.....	9
1.1.1.4.2.3 Çözelti Ortamında Etkileştirme Yöntemi.....	9
1.2 Polimerik Kompozit Malzemelerin Karakterizasyonu.....	9
1.3 Biyoyumluluk.....	10
1.3.1 Hücre Kültürü ve Sitotoksisite.....	11
1.3.1.1 MTS Testi.....	12
1.3.1.2 Tripan Mavis ve JuLI.....	12
1.3.2 Hemoyumluluk.....	13
1.3.3 Antibakteriyel Aktivite.....	13
1.4 Literatür Özeti.....	14
1.5 Amaç ve Kapsam.....	15
<b>2. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>17</b>
2.1 Materyal.....	17
2.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	17
2.1.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	18
2.2 Metot.....	19
2.2.1 Kompozitlerin Sentezi.....	19
2.2.2 Kompozitlerin Karakterizasyonu.....	20
2.2.2.1 XRD Analizleri.....	20
2.2.2.2 FTIR-ATR Analizleri.....	20
2.2.2.3 SEM Analizleri.....	20
2.2.2.4 Optik Temas Açısı Analizleri.....	21

2.2.3 Hemouyumluluk.....	21
2.2.4 Hücre Kültürü Aşamaları.....	22
2.2.4.1 Malzemelerin Sterilizasyonu.....	22
2.2.4.2 Kullanılan Besiyerinin Hazırlanması.....	22
2.2.4.3 Kandan Lenfosit Hücrelerinin Eldesi.....	22
2.2.5 Sitotoksisite Testleri.....	23
2.2.5.1 MTS Testi.....	23
2.2.5.2 JuLI – Hücre Yaşamlılığı Testi.....	24
2.2.6 Antibakteriyel Aktivite.....	24
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>25</b>
3.1 Kompozitlerin Karakterizasyon Sonuçları.....	25
3.1.1 XRD Analiz Sonuçları.....	25
3.1.2 FTIR-ATR Analiz Sonuçları.....	26
3.1.3 SEM Analiz Sonuçları.....	27
3.1.4 Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları.....	30
3.2 Sitotoksisite Test Sonuçları.....	32
3.2.1 MTS Testi Sonuçları.....	32
3.2.1.1 Ganoderma lucidum Konsantrasyonuna Göre MTS Testi Sonuçları.....	32
3.2.2 JuLI Hücre Görüntüleyici Sonuçları.....	34
3.3 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	35
<b>4. SONUÇ VE TARTIŞMA.....</b>	<b>36</b>
4.1 Kompozitlerin Karakterizasyon Sonuçları.....	36
4.1.1 PVP/ <i>Ganoderma lucidum</i> Kompozitlerinin XRD Sonuçları.....	36
4.1.2 PVP/ <i>Ganoderma lucidum</i> Kompozitlerinin FTIR-ATR Sonuçları...	37
4.1.3 PVP/ <i>Ganoderma lucidum</i> Kompozitlerinin SEM, Analiz Sonuçları..	38
4.1.4 PVP/ <i>Ganoderma lucidum</i> Kompozitlerinin Optik Temas Açısı Sonuçları.....	38
4.2 Kompozitlerin Sitotoksisite Sonuçları.....	39
4.3 Kompozitlerin Hemouyumluluk Testi Sonuçları.....	41
4.4 Kompozitlerin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	42
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>43</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>44</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1: Polivinil pirolidon (PVP)'un kimyasal yapısı.....	6
Şekil 1.2: <i>Genoderma lucidum</i> .....	8
Şekil 1.3: Polimerizasyon yöntemi ile kompozit sentezi. ....	8
Şekil 1.4: Eritme yöntemi ile kompozit sentezi. ....	9
Şekil 1.5: Çözelti ortamında etkileştirme yöntemi ile kompozit sentezi.....	9
Şekil 1.6: MTS tetrazolyum ve formazan ürünü. ....	12
Şekil 3.1: PVP ile hazırlanmış kompozitlerin XRD deseni.....	25
Şekil 3.2: <i>Genoderma lucidum</i> 'un FTR-ATR spektrumu. ....	26
Şekil 3.3: PVP matris ve PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumu.....	27
Şekil 3.4: <i>Genoderma lucidum</i> 'un SEM görüntüsü. ....	28
Şekil 3.5: PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> (%1) kompozitinin SEM görüntüsü. ....	28
Şekil 3.6: PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> (%2.5) kompozitinin SEM görüntüsü.....	29
Şekil 3.7: PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> (%5) kompozitinin SEM görüntüsü.....	29
Şekil 3.8: PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> (%10) kompozitinin SEM görüntüsü.....	30
Şekil 3.9: PVP'ye ait temas açısı görüntüsü.....	31
Şekil 3.10: PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> (%1) (a), PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> (%2,5) (b), PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> (%5) (c) ve PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> (%10) (d) kompozitlerine ait temas açısı fotoğrafları.....	31
Şekil 3.11: Kompozitlerin 24 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilen absorbanans verileri. ....	32
Şekil 3.12: Kompozitlerin 48 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilen absorbanans verileri. ....	33
Şekil 3.13: Kompozitlerin 72 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilen absorbanans verileri. ....	33
Şekil 3.14: Kompozitlerin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonu sonucunda JuLI cihazıyla elde edilen % canlılık oranları. ....	34

**Şekil 3.15:** PVP/*Ganoderma lucidum* (%1, 2.5, 5 ve 10) kompozitlerinin  
*Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı  
antibakteriyel aktiviteleri.....35



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 1.1:</b> Doku ve organlarda meydana gelen hasarlar için üretilen biyomalzemeler.....	2
<b>Tablo 2.1:</b> PVP/ <i>Genoderma lucidum</i> kompozitlerinin oranları.....	35
<b>Tablo 3.1:</b> PVP ve kompozitlerin optik temas açısı ölçüm verileri.....	39
<b>Tablo 3.2:</b> Kompozit örneklerinin hesaplanan % hemoliz değerleri.....	43

## SEMBOL LİSTESİ

<b>PVP</b>	: Polivinilpirolidon
<b>XRD</b>	: X Işıını Kırınım Difraksiyonu
<b>FTIR-ATR</b>	: Fourier Transform Infrared Attenuated Total Reflectance
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskopu
<b>FBS</b>	: Fetal Bovine Serum
<b>NaOH</b>	: Sodyum Hidroksit
<b>NaCl</b>	: Sodyum Klorür

## ÖNSÖZ

Bilimsel çalışmalara olan inancı, öğrenmek ve çalışmak isteyen öğrencilerine karşı verdiği destek ve tükenmeyen azmi ile lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince bana kapılarını açarak, her türlü yardımı esirgemediği, hep ileriye bakmamı sağladığı ve bana güvendiği için çok sevgi ve saygı duyduğum Sayın danışman hocam Prof. Dr. Serap DOĞAN'a hayatım boyunca teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bilgi, deneyim ve yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mehmet DOĞAN'a çok teşekkür ederim.

Eş danışmanlığımı yaparak yüksek lisans eğitimimde ve tez çalışmam sürecinde çok büyük emekleri olan, değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve her zaman anlayışla yaklaşan çok kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Yasemin TURHAN'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca her yardıma ihtiyaç duyduğumda rahatlıkla danışabilme sıcaklığını vererek yardımda bulunan Uzm. Dr. Mehmet Emin Diken, Araş. Gör. Begümhan YILMAZ ve Uzm. Berna KIZILDUMAN'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca, her türlü zorluğun birlikte üstesinden geldiğimiz ve başarılarımızı paylaştığımız çok sevgili laboratuvar arkadaşlarım Pakize ÖZKAYA, Şeyman KIRMIZI, Nurdan AKICI, Ulaş KUMRAL ve Ahmet Cenkay ORBAY'a çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında fedakârlığını, emeğini, inancını, sevgisini üzerimde hissettiğim, maddi manevi her ne olursa olsun arkamda olan benim başarıyı kendi başarıları, hüznümü kendi hüznüleri bilen canım annem Azize AKINCI, canım babam Hasan AKINCI ve birtanelerim Gülşah AKINCI ve Berra AKINCI'ya sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez aileme ithafımdır...

İREM AKINCI

# 1. GİRİŞ

Günümüzde Biyomühendislik, Malzeme Bilimi, İmmünoloji, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Kimya, Biyoloji ve Tıp bilim alanlarını kapsayan pek çok malzeme üretilmektedir. Malzeme bilimindeki hızlı gelişmeler ile özellikle insanın yaşamsal unsurlarına bağlı yapısal çözümler giderek artmaktadır. Bu yapısal çözümlerde de insan yapısına uyumlulukları nedeni ile en çok kullanılan malzeme grubu biyomalzemelerdir. Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliğidir. Biyomalzemeler başta sağlık alanı olmak üzere veterinerlik uygulamalarında, sanayi uygulamalarında, özellikle polimer teknoloji uygulamalarında yer bulmaktadır [1].

## 1.1 Biyomalzemeler

Biyomalzemeler, canlı sistemlerdeki dokuların işlevlerini yerine getirebilmesi ve desteklenebilmesi amacıyla kullanılan doğal veya sentetik malzemelerdir. Bilimsel açıdan yeni bir çalışma sahası gibi görünse de aslında uygulamada biyomalzemelerin kullanımı tarihin çok eski zamanlarına kadar dayanmaktadır. 19. yüzyılın ikinci yarısına kadar olan süreçte tahta, fildişi gibi metal olmayan malzemeler ile altın, gümüş ve bakır gibi yaygın olarak bulunan metaller malzeme olarak kullanılmıştır. Günümüz uygulamalarında da geniş bir yer tutan iskelet sistemi uygulaması başarılı olan ilk biyomalzeme uygulamasıdır. Yaklaşık 30 yıldır malzemelerin canlı sistemler ile etkileşimlerinin anlaşılması için yeni malzemelerin geliştirilmesinde hatırı sayılır bir ilerleme kaydedilmiştir [2]. Yüzyıllar boyunca cerrahi teknikler, sterilizasyon yöntemleri ve sentetik malzemelerdeki gelişmeler pek çok yönden biyomalzemelerin kullanılmasını tetiklemiştir. Günümüzde pek çok biyomalzeme kalp yetmezliği, işitme kayıpları, implantlar ve tıbbi cihazlar işlevini kaybetmiş ya da dejenerasyona uğramış doku veya organlarda biyomalzeme olarak kullanılmakta ve böylece yaşam kalitelerini yükseltmektedir. En önemli özellikleri biyolojik ortamlarda özellikleri bozulmadan devamlılığını sürdürebilmeleridir. Biyomalzemeler, vücut sıvıları ile temas ederler ve mekanik etkilere maruz kalırlar

[3]. Bu sebeple, tasarlandığı ve uygulandığı alana göre uygun kayganlık ve elastikliğin yanında kimyasal ve ısı dayanıma sahip olmalıdır ve temasta olduğu doku ve vücut sıvılarına zarar vermemelidir. Bir biyomalzeme uygun tasarlanmadığında uygulandığı bölgede beklenmedik hasarlara sebep olabilir. Önemli diğer özellikleri de yorulma dayanımı, ideal yoğunluk ve dizayn, steril edilebilirlik, uzun süreli dayanıklılık ve işlenebilirliktir [4].

**Tablo 1.1:** Doku ve organlarda meydana gelen hasarlar için üretilen biyomalzemeler.

Organ / Doku	Örnekler
Kalp	Kalp pili, yapay valf, yapay kalp
Göz	Kontakt lens, intraoküler lens
Kulak	Yapay üzengi kemiği, koklea implantı
Kemik	Kemik plakaları, eklem protezleri, kemik çimentosu
Böbrek	Diyaliz makineleri
Mesane	Katater ve stent
Kas	Diş iplikleri, kas uyarıcılar
Kan Dolaşımı	Yapay kan damarları
Deri	Yanık sargıları, yapay deri
Endokrin	Enkapsüle edilmiş pankreatik adacık hücreleri

### 1.1.1 Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

Biyomalzemeler 4 farklı sınıf altında toplanmaktadır;

- ✦ Seramik Biyomalzemeler
- ✦ Metalik Biyomalzemeler
- ✦ Polimerik Biyomalzemeler
- ✦ Kompozit Biyomalzemeler

#### 1.1.1.1 Seramik Biyomalzemeler

Vücudun zarar gören veya işlevini yitiren organlarının onarılması, yeniden yapılandırılması veya yerini alması amacıyla özel olarak tasarlanan seramiklere biyoseramikler denir. Seramikler sert, kırılman ve gözenekli bir yapıya sahiptirler.

Genellikle sert iskelet dokularını onarmak ve dokuların yerini almak amacıyla biyomedikal alanlarda kullanılmaktadırlar. Seramik biyomalzemeler biyoaktif, biyoinert ve emilebilir olmaları ile 3 temel gruba ayrılabilirler. Vücut dokuları ile çok iyi uyum göstermeleri biyoseramikleri cazip kılar ancak kırılabilir, işlenmesi zor, düşük mekanik dayanıma sahip, esnek olmayan ve yüksek yoğunluğa sahip yapıda olmaları nedeniyle dezavantaj da göstermektedirler. Biyoseramikler arasında Alümina ( $Al_2O_3$ ), Piroolitik karbon, Zirkonya ( $ZrO_2$ ), Cam seramikler, Kalsiyum fosfatlar en yaygın kullanılan malzemelerdir [2].

### 1.1.1.2 Metalik Biyomalzemeler

Metalik biyomalzemeler, kristal kafes yapılarının ve atomlar arası sağlam metalik bağlarının olması sayesinde üstün mekanik özelliklere sahiptirler. Mekanik ve elektriksel özellikleri ve termal iletkenliklerinden dolayı biyomalzeme olarak kullanılmaktadırlar. Bunun yanında kolay sterilize edilmeleri, belirli sınırlarda, ağır, uzun süreli, değişken ve ani yüklemelere karşı özelliklerini kaybetmeden dayanabilmeleri nedeniyle de biyomateryal olarak tercih edilmektedirler [5, 6]. Metalik biyomalzemelerin korozyon dayanımı oldukça iyidir ve kalça-diz eklemlerinde, omurga ve dişte kırık bölge vida ile birleştirilerek iyileşme sürecine katkıda bulunurlar. Kas ve iskelet sistemimizin koşullarına en iyi uyumu da metalik biyomalzemeler göstermektedir. Bu sebeplerle kalça, diz gibi yük taşıyan bölgelerde ve diş implantlarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar. Paslanmaz çelikler, titanyum ve titanyum alaşımları, Co-Cr alaşımlar, altın ve gümüş metalik biyomalzemeler içerisinde en fazla tercih edilenleridir. Gümüş bazlı metalik biyomalzemeler, anti mikrobiyal özellikleri sayesinde mikrobiyal enfeksiyon riskinin yüksek olduğu bölgelerde kullanılmaktadırlar. Metalik biyomalzemeler, canlı doku ve organlarda biyomalzeme olarak kullanıldıkları için vücut sıvılarıyla sürekli temas halindedirler ve bazı nedenlerle istenmeyen korozyon ürünlerinin oluştuğu durumlar meydana gelebilir. Farklı metaller birbirleri ile temas ettiklerinde vücut sıvısı içerisinde galvanik pil oluşturarak galvanik korozyon meydana getirirler [7]. Dolayısıyla da biyoyumluluk açısından uyumsuzluk gözlenebilir. Bu gibi durumlarda metalik biyomalzemenin vücut içerisinde çıkarılması gerekmektedir ve

bu nedenlerle yapılan çalışmalar bu malzemelerin biyouyumluluğunun geliştirilmesi üzerinedir.

### **1.1.1.3 Polimerik Biyomalzemeler**

Polimerler küçük, tekrarlanabilen birimlerden oluşan uzun zincirli moleküllerdir. Polimerler elde edildikleri yere göre çeşitlilik gösterirler; kendiliğinden doğada var olanlar doğal polimerler, yapay olarak sentezlenenler ise sentetik polimerler olarak isimlendirilmektedir. Polimerlerin özellikleri yapı taşları olan monomerlerine göre büyük farklılık göstermektedir. Bu sebeple, uygulama alanına yönelik uygun biyomalzeme seçimi dikkatlice yapılmalıdır. Polimerik biyomalzemeler sentezlenirken katkı maddeleri eklenmektedir ve bu maddelerin polimerik yapıdan salgılandıklarında ortamdaki hücreler üzerinde toksik bir etki yaratmaması beklenmektedir [8]. Polimerik biyomalzemeler kolay işlenebilirlik, farklı şekillerde üretilebilme, modifiye edilebilme, istenilen mekanik ve fiziksel özelliklerin kazandırılabilmesi gibi özellikleri sayesinde malzeme alanında kullanılmaktadır. Medikal uygulamalarda biyouyumluluk, biyobozunurluk, hücre etkileşimi özelliklerine dikkat edilerek uygun malzeme seçimi yapılmaktadır. Polimerler biyomalzeme olarak günümüzde ilaç salınım sistemlerinde, kontak ve göz içi lenslerinde, göğüs protezlerinde, diyaliz sistemlerinde, kalp damarları ve yapay organ parçalarında kullanılmaktadır [9].

### **1.1.1.4 Kompozit Biyomalzemeler**

Kompozit malzemeler, fiziksel ve kimyasal olarak birbirinden farklı en az iki maddenin belirli bir amaca yönelik bir araya getirilmesiyle oluşan malzemelerdir. Malzemenin üstün özelliklerinden yararlanılmak üzere bir araya gelerek ihtiva ettiği malzemelerden daha üstün özelliklere sahip yeni malzemeyi oluşturmaları kompozit malzemelerin esas özelliklerindedir [10]. Biyomalzeme alanı için tasarlanan kompozitlerde de bileşenleri biyolojik ve mekaniksel açıdan üstün kılan özelliklerden yararlanmak esastır [11]. Biyoaktif seramikler ve bozunabilir polimerleri birleştiren kompozit stratejisi, sert doku rejeneratif malzemelerin tasarımı ve devamlılığı için

umut verici bir yaklaşımdır. Kompozit malzemeler, matriks (reçine) ve takviye bileşenlerinden oluşur. Bu bileşenler birbirleri içinde çözünmezler ya da birbirlerine karışmazlar. Kompozit malzeme, 'matriks' içerisine çeşitli güçlendirici malzemelerin eklenmesiyle hazırlanmaktadır. Güçlendirici olarak genellikle cam, karbon ya da polimer lifler, mika ve çeşitli toz seramikler kullanılmaktadır. Matriks olarak da çeşitli polimerler tercih edilmektedir. Bir biyokompozit malzeme vücut içerisinde veya temas halinde olan biyomedikal uygulamalarda kullanılır. Kompozitler yüksek dayanıklılığa ve düşük elastik özelliğe sahip olduklarından özellikle ortopedik uygulamalarda tercih edilmektedir. Ortopedik cerrahide biyomalzemelerin kullanılmasıyla ilgili bazı problemlerle karşılaşmaktadır. Bu problemlerin en başında kullanılan implantların sertlik derecelerinin uyumsuzluğu gelmektedir. Implantların vücut içerisinde temasta olduğu doku ve organlarla sertlik derecelerinin aynı olması gerekir ve aksi bir durumda deformasyonlara sebep olur. Her geçen gün geliştirilen biyomalzeme çalışmaları ile ve kompozitlerde polimerlerin kullanılmasıyla bu olumsuzlukların giderilmesi amaçlanmaktadır [11].

#### **1.1.1.4.1 Kompozit Malzemelerin Bileşenleri**

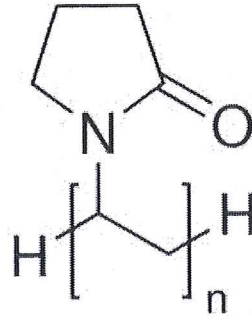
##### **1.1.1.4.1.1 Matriks**

###### **1.1.1.4.1.1.1 Polivinil pirolidon (PVP)**

Polivinilpirolidon, PVP, poli (N-vinil-2-pirolidon), Polividon, Povidon, Albigen, Isoplasma gibi isimlerle bilinen sentetik bir polimerdir ve lineer 1-vinil-2-pirolidon gruplarından oluşur. Polivinilpirolidon (PVP), suda çözünme özelliğine sahip kullanım alanı geniş ve kullanılması FDA tarafından onaylı olan bir polimerdir ve su dışında bir çok organik çözücüde de (etanol, metanol, kloroform) çözünür [12]. Yapısı proteinlere benzediğinden dolayı PVP, biyolojik açıdan büyük bir öneme sahiptir ve bilimsel çalışmalarda basit bir model teşkil etmektedir. Şekil 1.1'de PVP'nin açık yapısı gösterilmiştir. Kristal bir yapıya sahip, beyaz veya krem renkli, kokusuz bir tozdur ve cilde temas ettiğinde herhangi bir irritasyona sebep olmaz. Oldukça biyoyumlu, toksik olmayan, kimyasal açıdan inert, pH'a ve ısıya karşı dayanıklı, iyonik olmayan bir polimerdir. PVP, ilk olarak Almanya'da İkinci Dünya Savaşı sırasında geliştirilmiştir. Periston olarak adlandırılan %2.5'lük tuz çözeltisi,



kan yokluğunda kan yerine verilebildiğinden; Almanya’da savaş esnasında kanın % 50’si yerine bu çözelti uygulanmıştır. PVP, biyomedikal uygulamalarda kullanılan bir polimerdir ve farmasötik ilaçlarda, yara örtüsü için hidrojellerde ve kan plazmasının yerini tutmakta bağlayıcı olarak kullanılmaktadır [13]. Sentetik bir hammadde olan PVP, gıda sanayinde kıvam artırıcı olarak, dolgu maddesi, stabilizatör olarak kullanılır ve ayrıca kozmetik, ilaç sanayinde ve endüstriyel ürünlerde de kullanılmaktadır. Yapıştırıcıda dolgu maddesi olarak, bitki koruma ve tohum kaplama gibi uygulamalarda kaplayıcı olarak, diş beyazlatma jellerinde koyulaştırma ajanı olarak kullanılmaktadır. Şurup gibi bazı ilaçlarda çözünürlüğü artırıcı madde olarak uygulanırken, kapsül ilaçların yumuşak jelatin kısmını da oluşturmaktadır. Bunun yanında 1950’lerden sonra, travma kurbanlarına kan plazma hacmi genişletici olarak kullanılmaya başlanmıştır [14, 15].



Şekil 1.1: Polivinil piroolidon (PVP)’un kimyasal yapısı.

#### 1.1.1.4.1.2 Dolgu Maddesi

##### 1.1.1.4.1.2.1 *Ganoderma lucidum*

*Ganoderma lucidum*, Hymenomyces sınıfının, Aphyllophorales takımının, Polyporaceae familyasına dahil bir Basidiomycetes mantar türüdür. Çin, Japonya ve diğer Asya ülkelerinde sağlık ve ömrü arttırmaya yönelik çok uzun bir geçmişi vardır. Yüksek derecede değerli ve nadir bulunan bir mantardır. Fiziksel olarak parlak dış görünüşe ve odunsu bir dokuya sahip, geniş, oldukça dayanıklı ve koyu renklidir. Ormanlık alanda canlı ağaçlar üzerinde ve çok nemli, içerisine az ışık geçiren yoğun bir şekilde ağaçlı ormanların içinde bulunan çürümeye yüz tutmuş meşe, kestane, kayın, erik gibi ağaç kütükleri üzerinde yetişir. Çin’de ‘lingzhi

mantarı' olarak bilinirken, Japonya'da familya adı 'reishi'dir [16]. *Ganoderma lucidum*'un uzun ve sağlıklı bir yaşamın sırrını barındırdığı iddia edilmektedir. Bu mantarın suyunu, asırlar önce Çin'de ve Japonya'da sadece hanedan üyelerinin ve çocuklarının içebildiği, halktan birisinin mantarı bir ağaç altında bulduğunda bile saraya götürüp teslim ettiği söylenmektedir. Teslim etmeyenlerin cezalandırıldığını belirten yüzlerce resmi kayda rastlanmaktadır. Böbrek şeklinde, şapkalı bir mantar olan *Ganoderma lucidum* (Şekil 1.2), doğada altı farklı renkte bulunur, fakat kırmızı çeşidi Güney Amerika, Çin, Tayvan, Japonya ve Kore'de en yaygın biçimde kullanımları ve ticari olarak yetiştirilenidir. Çin Seddini yaptıran SHIH-HUANG (M.Ö.259-210) bu mantarı kullanan ilk imparator olarak bilinmektedir. *Ganoderma lucidum*, koroner kalp hastalığı, arteriyoskleroz, hepatit, artrit, nefrit, bronşit, hipertansiyon, kanser ve mide ülseri tedavisinde geleneksel Asya tıbbında kullanılan bir mantardır [15]. *Ganoderma*'nın analjezik, anti-alerjik, bronşit önleyici, antibakteriyel, anti-oksidant, antitümör, kan basıncını düşürücü etkileri de içine alan çok sayıda farmakolojik etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple özellikle migren ve baş ağrısı, yüksek tansiyon, bronşit, astım, iştahsızlık, gastrit, hemoroit, yüksek kolesterol, nefrit, kabızlık, deri veremi, kalp damar problemleri ve lösemi dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bunun yanında bu etkiler için *in vitro* değerlendirmeler halen sürmektedir. Çalışmaların en yoğun devam ettiği alan ise anti-kanser ve anti-mikrobiyal çalışmalardır [15, 17]. Hücrenin çekirdeğinde DNA sentezini artırarak hücre bölünmesini teşvik ettiği ve indirekt olarak bu yolla da yaşlanmayı yavaşlatmış olduğu vurgulanmaktadır. *Ganoderma lucidum*'da 800-2000 ppm düzeyinde organik germanyum bulunmaktadır. Germanyum çok güçlü bir antioksidandır. Germanyum, organizmanın bağışıklık sistemini güçlendirdiği gibi vücudun toksinlerden arınmasını sağlamakta, yaşlanmayı geciktirmekte, adaptojen özelliğiyle kandaki pH, potasyum, kalsiyum, trigliserit, bilirubin ve ürik asit seviyesini normalleştirmekte, tiroit bezinin düzgün çalışmasını ayarlamakta ve damarların tıkanmasını engellemektedir.



**Şekil 1.2:** *Ganoderma lucidum*.

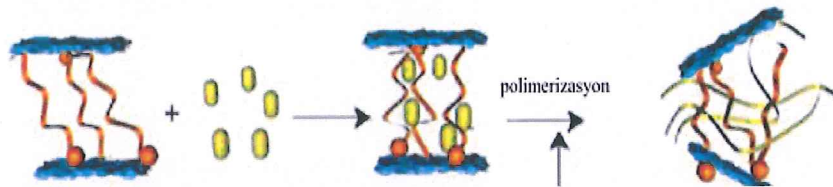
### 1.1.1.4.2 Kompozit Malzemelerin Hazırlanması

Polimer kompozitlerini hazırlamak için en çok bu 3 yöntem kullanılmaktadır [18];

- 1) Polimerizasyon yöntemi
- 2) Eritme yöntemi
- 3) Çözelti ortamında etkileştirme yöntemi.

#### 1.1.1.4.2.1 Polimerizasyon Yöntemi

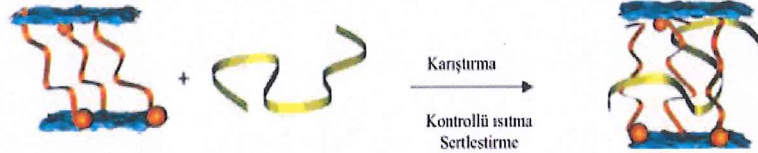
Polimerizasyon yönteminde, polimerizasyon ısı veya uygun bir başlatıcı ile başlatılır. Dolgu maddeleri arasında monomer difüzyonu sağlanır. Böylelikle zincir büyüme reaksiyonlarıyla elde edilen polimer içerisinde dolgu maddesinin tamamen disperse olması sonucunda kompozit oluşur. Şekil 1.3’de polimerizasyon yöntemi ile kompozit sentezi şematik olarak gösterilmiştir [19].



**Şekil 1.3:** Polimerizasyon yöntemi ile kompozit sentezi.

#### 1.1.1.4.2.2 Eritme Yöntemi

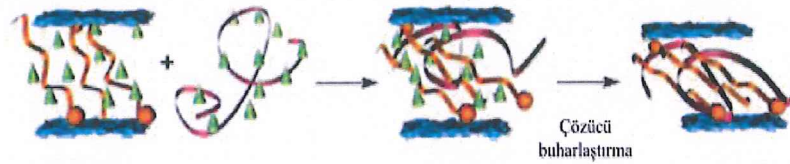
Eritme yönteminde, dolgu maddesi doğrudan erimiş polimer ile karıştırılmaktadır. Hazırlanan karışım, polimerin camsı geçiş sıcaklığı üzerindeki bir sıcaklıkta ısıtılıp soğutulularak sertleştirilir ve böylece kompozit elde edilir. Şekil 1.4’de eritme yöntemi ile kompozit sentezlenmesi şematik olarak gösterilmiştir [19].



Şekil 1.4: Eritme yöntemi ile kompozit sentezi.

#### 1.1.1.4.2.3 Çözelti Ortamında Etkileştirme Yöntemi

Bu yöntemde, çözücü veya çözücü karışımı dolgu maddesi disperse etmek ve polimer matriksini çözmek için kullanılır. Çözücü ortamında etkileştirmenin ilk adımı çözücü ortamında dolgu maddesini tamamen disperse etmektir. Uygunluğu bilinen bir çözücü ile çözünen polimer süspansiyona eklenerek polimer zincirlerinin dolgu maddesi arasında dağılması sağlanır. Daha sonra da çözücü uzaklaştırılarak kompozit oluşumu gerçekleştirilir. Şekil 1.5’de çözelti ortamında etkileştirme yöntemi ile kompozit sentezi şematik olarak gösterilmiştir [19].



Şekil 1.5: Çözelti ortamında etkileştirme yöntemi ile kompozit sentezi.

## 1.2 Polimerik Kompozit Malzemelerin Karakterizasyonu

PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin yapısını karakterize etmek için kullanılan başlıca teknikler X-ışınları difraksiyonu ve elektron mikroskobu (TEM)’dir. XRD’de polimer ve dolgu maddesi arasındaki etkileşim en iyi şekilde

incelenebilmekte ve kompozitler hakkında yorum yapılabilmesine imkan tanımaktadır. TEM ise taneciklerin dispersiyonu hakkında kesin bilgiler verir [20].

### 1.3 Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin doku veya fizyolojik sistem üzerindeki yan etkilerini, aynı zamanda fizyolojik çevrenin de biyomalzeme üzerindeki etkilerini birlikte incelenmesidir. Biyouyumluluk konusundaki geleneksel yaklaşım, biyomalzemeyi çevreleyen biyolojik ortamla uyumlu bir etkileşim sergileyecek yapıda ki materyallerin seçilmesi veya üretilmesidir [21, 7]. Biyomalzemeler tasarlanırken dikkat edilmesi gereken hususların başında fiziksel, kimyasal ve biyolojik açıdan uyumlu olması ve uzun yaşam süresine uygun olması kriterleri gelmektedir. Dokuya uyumlu biyomalzemelerin bağışıklık sisteminde tepkiye, mutasyona, kansere ve toksik reaksiyonlara sebep olmaması gerekmektedir. Kan ile uyum gösteren materyallerin ise kanda pıhtılaşmaya, hücre tahribine, plazma proteini ve enzimlerinde değişime sebep olmaması istenilen bir etkidir [22]. İstenen biyolojik özellikleri taşımayan biyomateryalin başarısından söz etmek imkansızdır. Bir biyomateryal veya implantın başarısı büyük oranda implantın özelliği ve biyouyumluluğuna, kullanıcının durumuna ve uygulamayı yapan kişinin becerisine bağlıdır. Polimerlerin canlı doku ve organlara uygulanışı doku-polimer etkileşmesini de beraberinde getirmektedir. Bu konuda bir çok araştırma yapılmış ve çalışmaların odak noktası da istenmeyen doku etkileşimlerinin nasıl ortadan kaldırılıp en aza indirilebileceği olmuştur. Bu sebeplerle, kimyasal ve fiziksel yönden inert ve de biyouyumlu polimerlerin tasarlanması önemlidir. Biyouyumluluk; polimer varlığında doku etrafında hiç bir şekilde bir reaksiyon oluşmaması demektir ve dinamik, devam eden bir durumdur. Vücut, hastalık veya yaşlanmanın etkisiyle, materyalde korozyon, yorulma ve dış kuvvetlerinin etkisiyle sürekli değişmektedir. Bu değişim, vücut ve materyal arasındaki cevaba da farklılaşma kazandırmaktadır. Yukarıdaki şartların değişmesiyle başlangıçta biyouyumlu olan bir materyal, zamanla uyumsuz hale gelebilmektedir. Materyal, vücut ve fonksiyon arasındaki etkileşim sürekli olduğundan materyale karşı oluşan cevap da süreklilik göstermektedir [23].

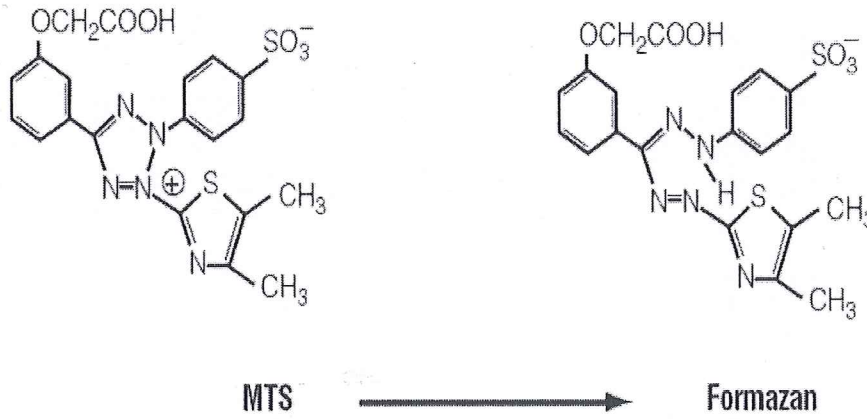
### 1.3.1 Hücre Kültürü ve Sitotoksosite

Hücre kültürü, dokudan direk izole edilen ya da mekanik ve enzimatik yollarla ayrıştırılan hücrelerin, uygun *in vitro* koşullar oluşturularak yaşamasının ve üremesinin sağlanması olarak adlandırılır. Hücre kültürü kısaca hücrelerin kontrol altında olmak kaydı ile çoğaltılması demektir ve bu yöntemle hücrelerin çok daha hızlı bir şekilde yetiştirilmesi sağlanmaktadır. Dünyada tıbbi araştırmalar kapsamında en fazla yer edinen çalışmalardan birtanesi de hücre kültürüdür. İnsanlarda oluşan hastalıkların nedenlerini bulmak amaçlı yapılan hücre kültürleri sayesinde kişide bulunan hastalığın işlevleri hakkında bilgiler elde edilmektedir. Bu durum tıpta oldukça olumlu etkiler meydana getirerek günümüz tıbbının daha da gelişmesini sağlamaktadır. Çok uzun yıllardan beri günümüze gelmiş hayvan hücreleri üzerinde yapılan hücre kültürü artık gelişen tıp ile birlikte neredeyse insan hücreleri üzerinde bile uygulanabilmektedir. En uygun ayrıştırma koşullarını belirleyebilmek için mümkün olduğu kadar çok kontrollü deneylerin yapılması gerekmektedir. Hücre kültürü aynı zamanda tüm hücreler için ortak olan olaylar veya özelleşmiş hücre fonksiyonlarının toksisite tayini için kullanabilmektedir. Karaciğer kanseri hücreleri, HeLa hücreleri ve fibroblastlar gibi bir çok hücre tipi için; test edilecek olan maddenin biyolojik aktivitesinin belirlenmesini sağlayan toksisite testleri uygulanabilmektedir [24].

*In vitro* sitotoksosite testleri, moleküler olaylar sonucunda esas olarak çeşitli makromoleküllerin sentezlenmesinin engellenmesini ve dolayısıyla da hücre fonksiyonlarında ve yapısında görünen hasarlar meydana gelmesinin incelenmesini temel almaktadır. Bu testler araştırma kapsamında genel olarak, hücre canlılığı ve ölümü, hücre membranı ve organelleri, protein veya DNA sentezi ve hücre bölünmesi ile ilgili detaylı bilgiler edinme imkanı vermektedir [25]. Test edilecek olan malzemenin morfolojik özelliği ve hücreler ile bağlantı yöntemi oldukça önemli olmakla birlikte hücre ile malzemenin bağlantısı ekstrapolasyon yolu, direkt ya da indirekt olarak gerçekleştirilebilmektedir. Sitotoksosite testleri ile aynı anda çok sayıda örnek, kısa zamanda test edilebilmektedir ve deneyler sonucunda kantitatif sonuçlara ulaşılmaktadır [26].

### 1.3.1.1 MTS Testi

MTS, canlı hücrelerin hassas bir şekilde ölçülmesi için gerçekleştirilen kalorimetrik bir yöntemdir. Yöntem, MTS tetrazolyum bileşiğinin [3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)2H-terazolyum, MTS], hücre kültürü ortamında çözünebilen renkli bir bileşik olan formazan bileşiğine, canlı hücreler tarafından indirgenmesine dayanmaktadır. MTS, tetrazolyum bileşiğinin metabolik olarak aktif olan hücrelerin, dehidrogenaz enzimlerinin ürettiği indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) veya indirgenmiş nikotinamid adenine dinükleotit fosfat (NADPH) tarafından indirgendiği düşünülmektedir [27].



Şekil 1.6: MTS tetrazolyum ve formazan ürünü [28].

### 1.3.1.2 Tripan Mavisi ve JuLI

Tripan mavisi testi, tripan mavisi gibi ölü hücrelerin boyanmasını sağlayan boyalar aracılığıyla belirli bir süspansiyon içerisindeki canlı ve ölü hücreleri belirleyerek canlı hücre sayısını saptamak amacıyla yapılan bir testtir. Hücre canlılığı, bu boyaların % 0,9'luk tuzlu suda hazırlanmış solüsyonlarının hücre süspansiyonuna eklenmesi sonucunda çok küçük hacimdeki hücre süspansiyonunun içerdiği canlı hücrelerin toma lamı gibi bir hemositometre aracılığıyla mikroskop yardımıyla sayılması ile belirlenir. Eğer hücre süspansiyonundaki serum miktarı % 1'den fazla ise bu metodun doğruluğu azalabilir [29]. Bu test kapsamında ölü hücrelerin hücre zarlarında bozulma meydana geldiği için boyayı içine alarak mavi renkte canlı hücrelerin ise şeffaf olarak görüldüğü belirtilmektedir. JuLI ise standart

tripan mavisi testini ve yarı otomatik odaklanma teknolojisini kullanabilen, hücre sayımı için tasarlanan bir cihazdır [30].

### 1.3.2 Hemouyumluluk

Kanla etkileşim deneyleri, kan veya kanın herhangi bir bileşeni ile materyal arasında meydana gelen ve kan, doku veya organları etkileyen etkileşimleri incelemek maksadıyla yapılmaktadır. Bununla birlikte nano partiküller, tedavi edici ve görüntüleme maddesi olarak kullanılır ve doğrudan damarlar ile etkileşim halindedir [31]. Bu deneyler kapsamındaki hemouyumluluk testi, hemolitik maddenin kanla temasının eritrosit kaybı / hasarı yapması sonucu serbest plazma hemoglobin seviyesinde meydana getirdiği artışın tespit edilmesidir. Bu amaçla, hemoglobin düzeyleri spektrofotometrik olarak karşılaştırılır [32].

### 1.3.3 Antibakteriyel Aktivite

Günümüzde insan vücudunda kullanabileceğimiz, aynı zamanda günlük hayatta etkileşim içinde bulunabileceğimiz en çok istenilen özelliklerden bir tanesi malzemenin antibakteriyel özellik taşıyıp taşıymasıdır. Antibakteriyel, bakterilerin yaşamasının durdurulması veya üremesinin önlenmesi anlamına gelmektedir ve bunun için çeşitli aktivite yöntemleri bulunmaktadır. Antibakteriyeller, birçok malzemeye kalite ve güven kazandırmaları sebebiyle akademik ve endüstriyel araştırmaların ilgisini çekmektedir. Eğer bir malzeme vücut içerisinde kullanılacaksa herhangi bir iltihaplanmaya sebep olup olmayacağı antibakteriyel aktivite tayini ile öngörülebilir. Mükemmel antibakteriyel aktiviteyi başarabilmek için implant yüzeyi modifiye edilebilen antibakteriyel malzemelerin geliştirilmesi önemli görülmektedir. Bu kapsamda yapılan polimerlerin geliştirilmesine ilişkin çalışmalar, gerek akademik gerekse endüstriyel uygulamalar yönünden büyük öneme sahiptir [33].



#### 1.4 Literatür Özeti

Bu çalışma kapsamında PVP ve *Ganoderma lucidum*'un kullanılmasıyla elde edilen herhangi bir kompozit çalışmasına literatürde rastlanılmamıştır. Aşağıda konu ile alakalı olduğu düşünülen çalışmaların kısa bir özeti verilmektedir.

Schlichting ve arkadaşları, biyouyumlu implantlar ile ilgili bir çalışma yayınlamışlardır. Karışım implantlardaki biyouyumluluğun artırılması ile ilgili araştırmalarında seramik parçacıkların kullanımı üzerine yapılan deneysel çalışmalar anlatılmıştır [34]. Punke ve arkadaşları çok gözenekli yeni bir hidroksilapatite (HA) seramiğinin geniş açık mastoid çukurlarını yok etmede kullanılabilirliği üzerine klinik çalışmalar yapmışlar ve nanokemiğin hastaların açık mastoid oyuklarını yok etmede kullanılacak yeterlilikte bir materyal olup olmadığını araştırmışlardır [35]. Sionkowska ve arkadaşları yapay karaciğer uygulamaları ile ilgili alanda kollajen-kitosan matrikslerini geliştirdikleri bir çalışma yapmışlar ve sonuç olarak orta mekanik dayanıklılık, yüksek biyouyumluluk ve hepatosit uyumu gösterdiklerini belirlemişlerdir [36]. Gong J. ve arkadaşları, adsorban olarak kullandıkları polistiren reçinelerini divinilbenzeni çapraz bağlayıcı olarak kullanarak süspanسیون polimerizasyonu tekniği ile hazırlamışlardır. Reçinenin polarlığını polimerizasyon sistemine metil metakrilat ya da metakrilat monomerleri ekleyerek ayarlamışlardır. Sentezlenen reçinenin gözenek boyutunun ve yüzey alanının adsorpsiyon prosesi üzerinde fazlasıyla etkili olduğunu belirtmişlerdir [37]. Kazarian ve arkadaşları, ibuprofen ilaç hammaddesi, PVP K30 polimeri ile scCO<sub>2</sub> ortamında işlenerek film tabakası halinde ürün elde etmişlerdir. Impregnasyon işlemi sırasında IR bandlarındaki değişim in-stu yöntemi ile anlık olarak gözlenmiştir. Çalışmada PVP'ye ait C=O gruplarıyla etkileşen ibuprofenin polimer matriks içerisinde dağıldığı gözlenmiştir. Raman ve IR spektroskopisinde elde edilen bulguların birbirini desteklediği belirtilmiştir [38]. Liu X ve arkadaşları, PVP, poli (etilen glikol) ile karşılaştırılabilen umut verici bir zehirli boya yüzey değiştiricisi olarak görülmektedir. Bu derlemede, PVP ile modifiye edilmiş yüzeyler tasarlanmış ve hazırlanmıştır. PVP ile modifiye edilmiş malzemelerin potansiyel biyomedikal uygunluğu belirtilmiştir [39]. Jin X ve arkadaşları, kanser teşhisi konulan hastalarda *Ganoderma lucidum* mantarının etkisini araştırmışlardır. Çalışma lökosit hücreleri ile gerçekleştirilmiştir. Meta-analiz sonuçları, *G. lucidum* ile birlikte kemoterapi ve

radıoterapi verilen hastaların tek başına kemoterapi / radıoterapi ile karşılaştırıldığında daha olumlu yanıt verdiğini göstermektedir [40]. Bao ve arkadaşları, *Ganoderma lucidum*'un sporlarından kompleks bir glukana ait yapısal özellikleri tanımlamaya ve fareler üzerinde yaptıkları çalışmalarla da bu glukana ait bağışıklık düzenleyici aktiviteyi tespit etmeye çalışmışlardır. Sonuçta parçalanmış polisakkaritin mono-, di- ve trisakkarit içerdiği sonucuna varmışlardır [41]. Hsieh ve arkadaşları, *Ganoderma lucidum*'un polisakkaritlerinin farklı ortamlardaki oluşumunu ve hücre büyümesini anlamaya çalışmışlardır. Bu çalışmada, üç farklı derişimde karbon, azot, fosfat, magnezyum kaynağı ve çözünmüş oksijen kullanılmıştır. Bu çalışmada fermantasyondaki glukoz iyon değiştirici kolona sahip RI dedektörlü bir HPLC sistemi ile belirlenmiştir [42]. Wang ve arkadaşları, *Ganoderma lucidum*'daki altı triterpenoidin, ganoderik asit C<sub>2</sub>, B, AM<sub>1</sub>, K, H ve D ve ilgili türlerinin, kantitatif belirlemesi için ters-faz sıvı kromatografisini geliştirmişlerdir. Çalışma metodu, *Ganoderma lucidum* ve ilgili türlerinin 36 farklı örneğinde triterpenoit bileşenlerinin kantitatif olarak belirlenmesi için uygulanmıştır. Sonuçlar, geliştirilmiş metodun kalite kontrol metodu olarak kullanılabilirliğini göstermiştir [43].

### 1.5 Amaç ve Kapsam

Biyomateryaller, insan vücudunda doku ve organların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan malzemelerdir ve doğal veya sentetik formda bulunabilirler. Her malzemenin kendine özgü uygulama alanı mevcuttur. Biyomalzemeler genellikle vücut içerisinde kullanıldığından ve sürekli temas halinde bulunduğundan biyoyumluluklarının oldukça yüksek olması beklenir. Biyomalzemeler ile temas eden hücrelerin tepkileri çok farklı olabilmektedir. Hücreler bazen biyomalzemeye karşı inflamator olarak karşılık verirken bazen de kendi dokusu gibi yanıt verebilmektedir. Biyoyumluluk seviyesi iyi olan PVP de malzeme alanında sıklıkla kullanılan polimerlerden bir tanesidir. Bütün geleneksel çözücülerde çözünebilmesi, hidrofobik ve hidrofilik yüzeylere eğilimli olması, film oluşturma kapasitesine sahip olması, yapıştırıcı ve bağlayıcı özelliklerinin bulunması bakımından PVP uygulamada avantaj sağlar. Taşıyıcı polimer yapı için endüstride de yaygın olarak kullanılmaktadır. PVP, kimyasal yapısından dolayı farmasötik aktif

maddeler de dahil birçok madde ile kompleks oluşturabilmektedir. Damardan uygulandığında vücut polimeri tamamen metabolize edemeyip yüksek molekül ağırlığına sahip polimerik kısımlar vücutta kalabilmektedir ve bu problem ağız yoluyla yapılan uygulamalarla ortadan kaldırılmaktadır. Polivinilpirolidon higroskopik özellikte olan polimerdir. Bu özelliği uygulamaya göre fayda veya zarar sağlamaktadır. Higroskopik özelliğinin çözelti ya da süspansiyon halindeki diğer uygulamaları üzerine herhangi bir etkisi bulunmamaktadır [16]. *Ganoderma lucidum* ise tedavi ve beslenme için yüksek değere sahiptir. İlk Çin endüstriyel ilaç üretimi çalışmalarında acı bir tadının olduğu fakat vücudu yapılandırıcı, hastalıkların önlenmesinde organların fonksiyonlarını geliştirici ve yaşamı uzatmak da güçlendirici rol oynadığı gözlenmiştir. *Ganoderma lucidum* mantarı yapısında başlıca steroidleri, laktonları, alkaloidleri, polisakkaritleri ve triterpenleri bulundurmaktadır. Yetiştirme evresine ve çevresine bağlı olarak bir çok farklı tedavi edici özelliklere sahiptir [44].

Bu çalışmada farklı moleküler ağırlıktaki PVP polimerleri ile farklı oranlardaki *Ganoderma lucidum* kullanılarak sentezlenen kompozitlerin sağlıklı insanların lenfosit hücrelerinde herhangi bir sitotoksik etkisinin bulunup bulunmaması ve antibakteriyel özelliğinin olup olmaması *in vitro* olarak farklı testler uygulanarak araştırılmıştır. Ayrıca kompozitlerin kanda hemolize neden olup olmadığı belirlenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

- *Ganoderma lucidum*
- Polivinilpirolidon (PVP)
- RPMI 1640 Besiyeri
- Fetal Bovin Serum
- Penisilin / Streptomisin
- Ficoll-Paque PLUS
- Tripan Mavisi
- MTS reaktifi
- Etil Alkol
- NaOH
- NaCl
- *S. aureus* ATCC-6538
- *E. coli* ATCC-8739

### 2.1.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Magnetik karıştırıcı : Heidolph
- Analitik terazi : Denver Instrument
- Saf su cihazı : Human Power I
- pH metre : Hanna Instruments
- Soğutmalı santrifüj : Hettich Rotina 380R
- Biyogüvenlik kabini : Labconco
- Etüv : Memmert
- CO<sub>2</sub>'li inkübatör : Nuaire
- Su banyosu : Elma Sonic
- Otoklav : Hirayama
- Faz kontrast mikroskobu : Olympus
- Mikropipet seti : Eppendorf
- Mikroplaka okuyucu : Thermo Scientific
- spektrofotometre
- Canlı hücre görüntüleyicisi : Nano Entek  
(JuLI)
- Çift vidalı mikro ekstruder : DSM Explore
- Spektrofotometre : PerkinElmer Spektrum 100
- X-ray diffraktometre cihazı : Analytical Philips X'Pert-Pro
- Buzdolabı (+4° C) : Regal
- Buzdolabı (-20° C) : Altus

## 2.2 Metot

### 2.2.1 Kompozitlerin Sentezi

Bu çalışmada, düşük erime noktasına sahip olan PVP tercih edildiği için çözücü ortamında etkileştirme yöntemi kullanılarak kompozitlerin sentezi yapılmıştır.

Bu yöntem ile kompozit sentezlemenin esasında uygun bir çözücü seçimi yer almaktadır. Çalışma kapsamında çözücü olarak saf su kullanılmıştır. Tercih edilen çözücü ile polimer çözülmüştür ve yine aynı çözücü ile dolgu maddesi (mantar) (%1, 2.5, 5 ve 10) disperse edilmiştir. Tablo 1’de kompozitlerin oranları verilmiştir. Farklı erlenlerde oluşturulan polimer ve mantar solüsyonları magnetik karıştırıcılarda belirli bir sürede karıştırılmıştır. Mantar solüsyonu ultrasonik banyoda ve homojenizatörde tutulmuştur ve tekrar magnetik karıştırıcıya alınmıştır. Polimer çözüldükten ve mantar disperse olduktan sonra polimer çözeltisi mantar içerisine aktarılacak en az 24 saat süresince magnetik karıştırıcıda bekletilmiştir. Ardından çözelti uygun petri kabına alınmış ve çözücü tamamen uzaklaşınca kadar ilk önce vakumlu etüvde daha sonra da etüvde bekletilmiştir. Çözücü tamamen uzaklaştıktan sonra film şeklindeki kompozitler elde edilmiştir.

**Tablo 2.1:** PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin oranları.

	<b>Mantar</b>	<b>PVP</b>	
<b>%1</b>	0.001 g	0.999 g	1 g
<b>%2.5</b>	0.025 g	0.975 g	1 g
<b>%5</b>	0.05 g	0.95 g	1 g
<b>%10</b>	0.1 g	0.9 g	1 g

## 2.2.2 Kompozitlerin Karakterizasyonu

Sentezlenmiş olan film şeklindeki biyoyumlu kompozitlerin karakterizasyonları XRD, FTIR-ATR, SEM, Optik Temas Açısı cihazları ile yapılmıştır.

### 2.2.2.1 XRD Analizleri

Kompozitlerin yapıları, XRD deseninin yoğunluğundan, pozisyonundan ve şeklinden yola çıkılarak belirlenebilmektedir [45]. XRD analizleri, oda sıcaklığında Analytical Philips X'Pert-Pro X-ray difraktometre cihazı ile  $\lambda=1.54$  nm dalga boyunda bakır elektrot kullanılarak yapılmıştır.

### 2.2.2.2 FTIR-ATR Analizleri

FTIR-ATR, kimyasal yapıların karakterizasyonu için kullanılan yöntemlerden biridir. Kompozitlerin FTIR-ATR analizleri, Perkin Elmer Spektrum 100 model Fourier transform infrared spektroskopisi ile  $4000-650$   $\text{cm}^{-1}$  dalga boyları arasında alınmıştır.

### 2.2.2.3 SEM Analizleri

Sentezlenen biyokompozit örneklerinin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile belirlenmiştir. SEM analizleri için örnekler, karbon bant üzerine yapıştırılmış kompozit malzemelerin  $15$  mA akım altında  $15$  sn süresince tutularak, Au-Pd kaplanması ile hazırlanmıştır.

#### 2.2.2.4 Optik Temas Açısı Analizleri

Biyokompozit filmlerinin, polimerin ve mantarın temas açısı ölçümleri oda sıcaklığında Attension Theta Lite cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçüm alınırken saf su kullanılmıştır.

#### 2.2.3 Hemouyumluluk

Bu araştırmanın temel amaçlarından birisi de kan hücrelerinin polimer ve kompozitler ile etkileşime uğradıklarında hemoliz olup olmadıklarının tespit edilmesidir. Motlag ve arkadaşlarının yöntemi modifiye edilerek hemouyumluluk testi gerçekleştirilmiştir [46]. Kompozit örnekleri eşit boyutlarda olacak şekilde hazırlanmıştır. %0.9'luk 20 mL NaCl çözeltisi içerisinde 400 µL antikogülanlı kan seyreltilmiştir. 2 mL'lik eppendorf tüpleri içerisine UV ışık altında steril edilmiş kompozit örnekleri konulmuş ve üzerlerine 1 mL seyreltilen kandan ilave edilmiştir. 200 µL antikogülanlı kan 10 mL steril ultra saf su içerisinde seyreltilerek içerisinden 1 mL alınıp ve boş bir tüpe eklenerek pozitif kontrol olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol olarak belirlenen tüpe ise NaCl çözeltisi içerisinde seyreltilmiş olan kandan 1 mL eklenmiştir ve içerisine kompozit konulmamıştır. Hazırlanan tüm tüpler 37 °C'de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Süre bitiminde inkübatörden alınan örnekler 1000 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Supernant kısmı alınarak 96 kuyucuklu plakanın her bir kuyucuğuna 200 µL olacak şekilde eklenmiştir. 545 nm'de mikroplaka okuyuculu spektrofotometrede absorbens ölçümü yapılmıştır.

Aşağıdaki formül kullanılarak % hemoliz oranı hesaplanmıştır;

$$\%Hemoliz = \frac{[Absorbans(test\ polimeri) - Absorbans(negatif\ kontrol)]}{[Absorbans(pozitif\ kontrol)]} \times 100$$



## **2.2.4 Hücre Kültürü Aşamaları**

### **2.2.4.1 Malzemelerin Sterilizasyonu**

Hücre kültürü laboratuvarı, deneye başlamadan önce ve deney süresince her kullanımdan önce UV lamba ile sterilize edilmiştir. Biyogüvenlik kabini, çalışmaya başlamadan önce çalıştırılarak kültür ortamının sterilizasyonu sağlanmıştır. Deney süresince kullanılan santrifüj tüpleri ve pipet uçları, 121 °C'de 20 dk (1.02 atm basınçta) otoklavda steril edilmiştir. Çalışma kabini, çalışmaya başlamadan önce ve sonra çamaşır suyu ve % 70'lik etil alkol ile temizlenmiştir. Dışardan kabin içerisine alınan steril durumdaki tüm materyaller % 70'lik etil alkol ile temizlenerek kullanılmıştır.

### **2.2.4.2 Kullanılan Besiyerinin Hazırlanması**

Deneyde kullanılacak olan besiyerinin hazırlanmasından önce -20 °C'de muhafaza edilen fetal bovine serum (FBS) ve penisilin/streptomisin'in 37 °C'ye ayarlanan ultrasonik banyoda çözünmesi sağlanmıştır. Besiyeri hazırlanmasında 392.5 mL RPMI 1640 mediumun içerisine lenfositler için büyüme faktörü bulunduran 100 mL FBS ilave edilmiştir. Bakteriyel kontaminasyonlara karşı 2.5 mL Penisilin/Streptomisin ve hücre bölünmesini teşvik edecek olan 5 mL Phtohemaglutinin besi ortamına eklenmiştir. Hazırlanan besiyeri +4 °C'de saklanmıştır.

### **2.2.4.3 Kandan Lenfosit Hücrelerinin Eldesi**

Önceden hazırlanmış olan besiyeri 15 mL'lik falkonlara bölünmüştür. Kültür ortamı içerisine gönüllü ve sağlıklı bireylerden alınan kan 0.5 mL olacak şekilde eklenmiştir. Üzerlerine bir gece öncesinden UV ışık altında bekletilerek sterilize edilen eşit boyutlardaki film kompozitler ilave edilmiştir ve etiketlenerek CO<sub>2</sub>'li inkübatöre kaldırılmıştır. 24 saat sonunda kültürler 10 mL steril serum fizyolojik çözeltisi ile sulandırılmıştır. Daha sonra yeni etiketlenen temiz tüplerin içerisine 2.5

mL Ficoll-Paque konularak üzerlerine serum fizyolojik ile sulandırılmış olan kandan eklenmiştir. Bu işlem, Ficoll-Paque ile kan karışmayacak şekilde yavaşça uygulanmıştır. Örnekler 15 dk 1500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda orta fazda bulunan lenfositler dikkatli bir şekilde pipetlenerek yeni temiz tüplere alınmıştır. Temiz tüpe alınan lenfositler tekrar serum fizyolojik solüsyonu ile yıkandıktan sonra 10 dk 1500 rpm'de oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucunda supernatant kısmı atılmıştır ve pellet besiyeri ile çözülmüştür. Gerekli sayıda hücre thoma lamı kullanılarak sayılmıştır.

Hücre sayımı için hücre süspansiyonundan ve tripan mavisinden 10'ar µL alınarak bir eppendorf içerisinde iyice karışması sağlanmıştır. Thoma lamı distile su ve % 70'lik etil alkol ile temizlenmiştir. Eppendorf içerisindeki karışımdan 10 µL alınarak thoma lamına koyulmuştur ve mikroskopta dört alanda hücre sayımı yapılmıştır. Belirlenen sayı sulandırma kat sayısı ile çarpılarak, 1 mL besiyerinde ne kadar hücre bulunduğu hesaplanmıştır.

Hesaplama aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

$$\text{Toplam canlı hücre sayısı / mL} = \frac{\text{Thoma sayma sonucu}}{4} \times 2 \times 10^4$$

## 2.2.5 Sitotoksite Testleri

### 2.2.5.1 MTS Testi

Bu test (MTS Assay) tetrazolium maddesinin hücre içinde renkli farmazon 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 tetazolyum oranı ile canlı hücre oranı kıyaslanmaktadır.

Eşit boyutlardaki kompozitler petri kapları içerisinde bir gece UV ışık altında bekletilerek sterilize edilmiştir. Taze olarak izole edilen lenfositler her bir kompozit üzerine  $1 \times 10^4$  hücre/mL olacak şekilde thoma lamı ile sayılarak eklenmiştir. Negatif kontrol olarak kullanılan lenfosit çözeltilisine hiçbir kompozit ilave edilmemiştir. Tüm örnekler ve kontrol grupları 37 °C’de % 5’lik CO<sub>2</sub> ortamında 3 gün inkübe edilmiştir. 24., 48. ve 72. saatlerin sonunda lenfosit hücreleri 96 well plate içerisine her kuyucuğa 100 µL olacak şekilde eklenmiştir. Üzerlerine 20 µL MTS reaktifi eklenmiştir ve 4 saat inkübasyon süresinden sonra mikroplaka okuyuculu spektrofotometre ile 490 nm’de ölçüm alınmıştır.

#### **2.2.5.2 JuLI – Hücre Yaşamlılığı Testi**

Tripan mavisi metodunu temel alan ‘JuLI – Hücre Görüntüleyicisi’, hücre yaşamlılığının tespiti için gerçekleştirilmiştir. 24., 48. ve 72. saatlerin sonunda kompozitler ile inkübe edilen lenfositlerden ve kontrol gruplarından 10’ar µL alınarak bir eppendorf içerisine aktarılmıştır. Üzerlerine % 0.4 tripan mavisi eklenerek iyice karışması sağlanmıştır. Daha sonra cihazın kendisine ait özel hücre sayma aparatına hazırlanan karışım eklenmiştir ve cihazın hücre sayma modu ayarlanmıştır. Böylece her bir örneğin % canlılık oranı ve hücrelerin görüntüleri belirlenmiştir.

#### **2.2.6 Antibakteriyel Aktivite**

Aktivite tayini, disk difüzyon metodu kullanılarak yapılmıştır. Antibakteriyel aktivite analizini gerçekleştirebilmek için gram-negatif *Escherichia coli* ve gram-pozitif *Staphylococcus aureus* bakterileri kullanılmıştır. Stok kültürler besiyerine ekilerek üremeleri sağlanmıştır. 37 °C’de 24 saat inkübasyon süresinden sonra bakteri kolonileri belirlenerek hesaplanmıştır.

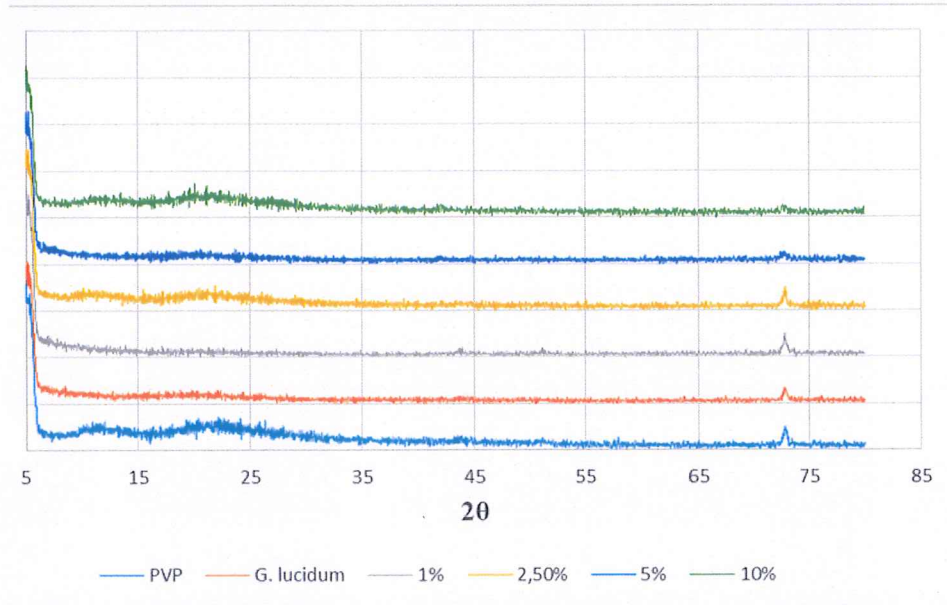
### 3. BULGULAR

#### 3.1 Kompozitlerin Karakterizasyon Sonuçları

PVP polimeri ve farklı oranlardaki *Ganoderma lucidum* dolgu maddesi kullanılarak PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitleri sentezlenmiştir. Sentezlenen kompozitler XRD, FTIR-ATR, SEM, Optik Temas Açısı ile karakterize edilmiştir. Bu bölümde karakterizasyon analizlerinden elde edilen sonuçlar yer almaktadır.

##### 3.1.1 XRD Analiz Sonuçları

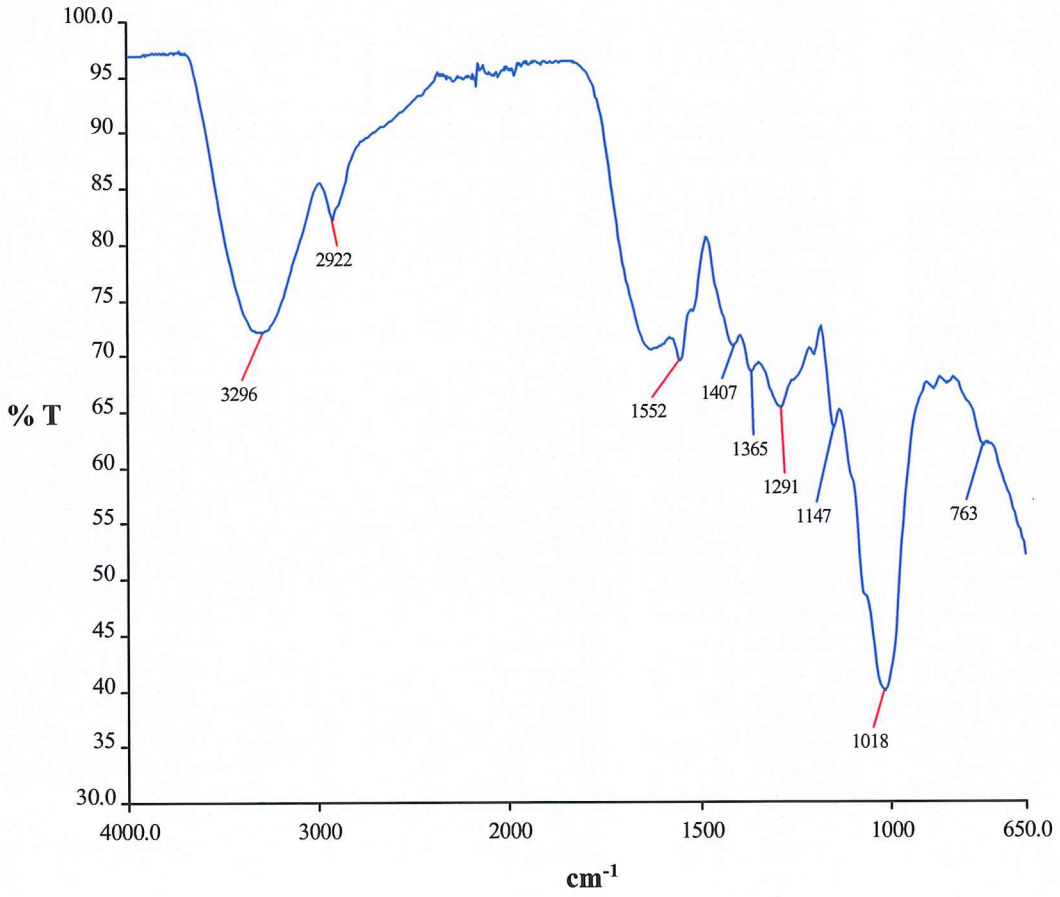
PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin ve kullanılan saf PVP polimerinin XRD desenleri de Şekil 3.1'de verilmiştir. Polimer ve dolgu maddesi etkileştirildiğinde, matriks içerisinde dolgu maddesi tamamen disperse olmuş ise XRD verilerinde dolgu maddesine ait karakteristik piklerin görülmesi beklenir ve bu pikler göz önünde bulundurularak kompozitlerin oluşumu tartışılacaktır.



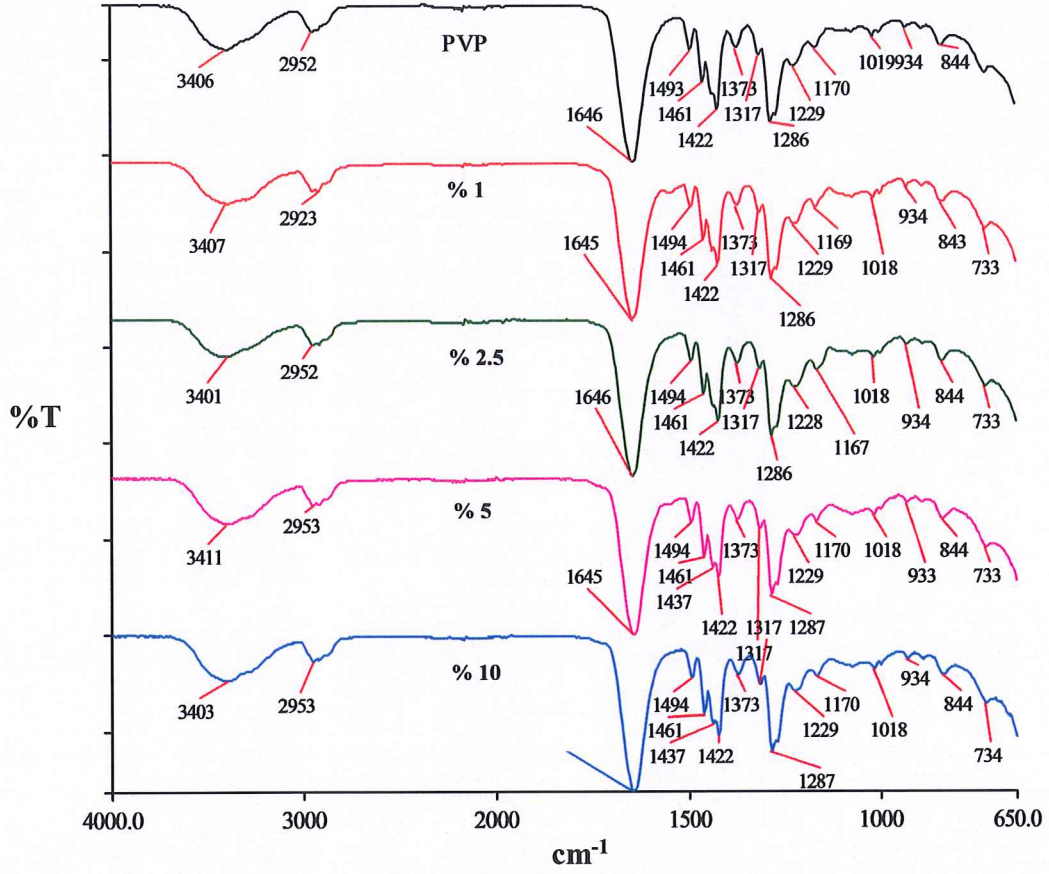
Şekil 3.1: PVP ile hazırlanmış kompozitlerin XRD deseni.

### 3.1.2 FTIR-ATR Analiz Sonuçları

*Ganoderma lucidum* ve sentezlenen kompozitlere ait FTIR-ATR spektrumları sırası ile Şekil 3.2 ve 3.3'de verilmiştir. Kompozitlerin FTIR-ATR analizleri değerlendirilirken kullanılan polimerin spektrumu baz alınır. Örneklere ait karakteristik pikler spektrumlar üzerinde belirtilmiştir.



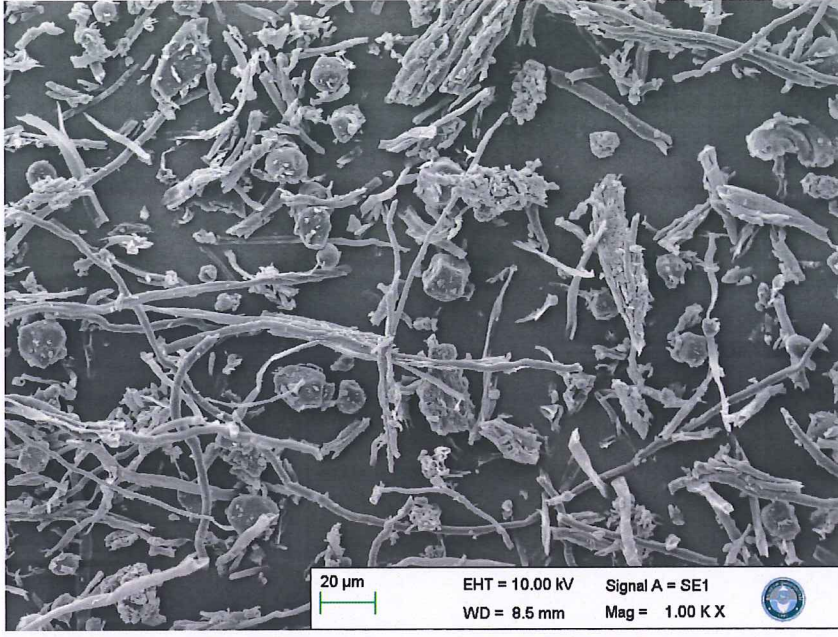
Şekil 3.2: *Ganoderma lucidum* 'un FTR-ATR spektrumu.



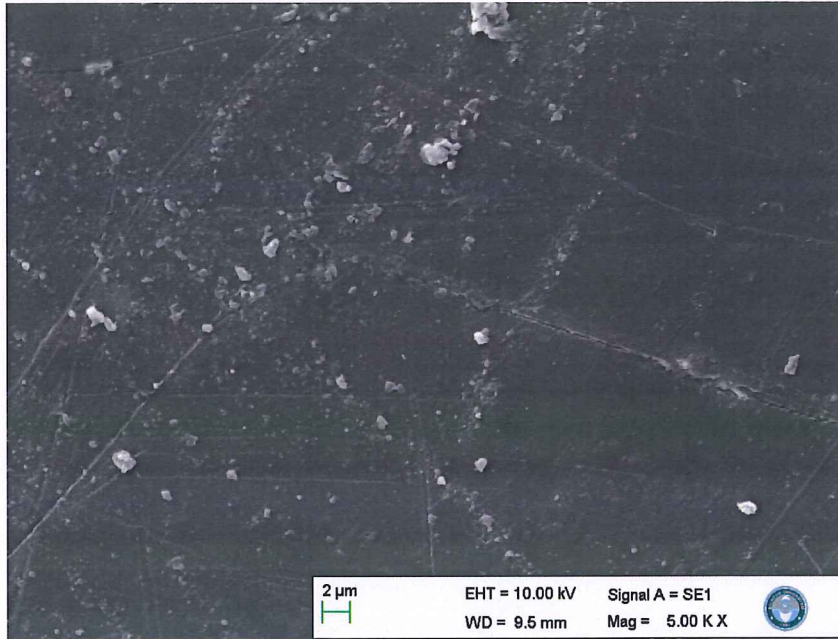
Şekil 3.3: PVP matris ve PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin FTIR-ATR spektrumu.

### 3.1.3 SEM Analiz Sonuçları

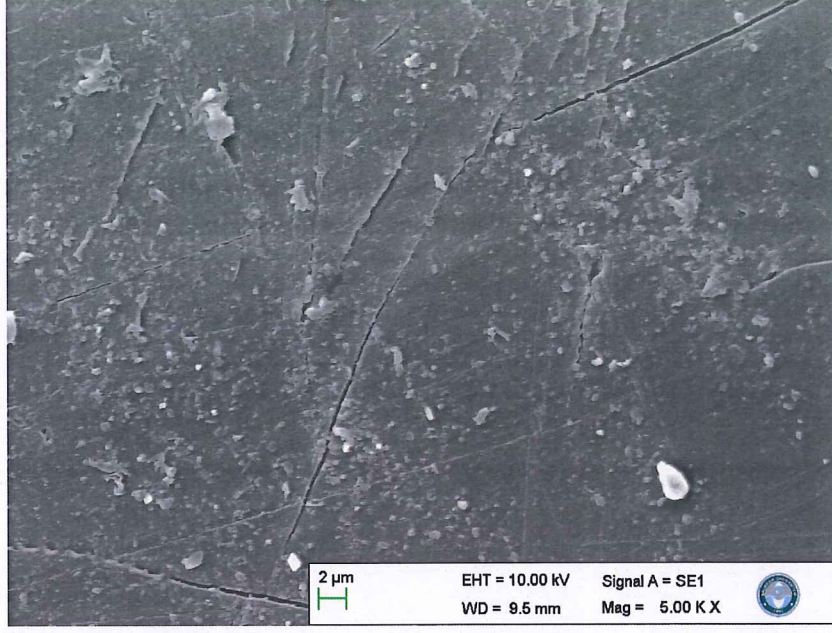
Şekil 3.4'de *Ganoderma lucidum*'a ait, Şekil 3.5-3.8'de ise sentezlenmiş olan kompozitlere ait SEM görüntüleri verilmektedir.



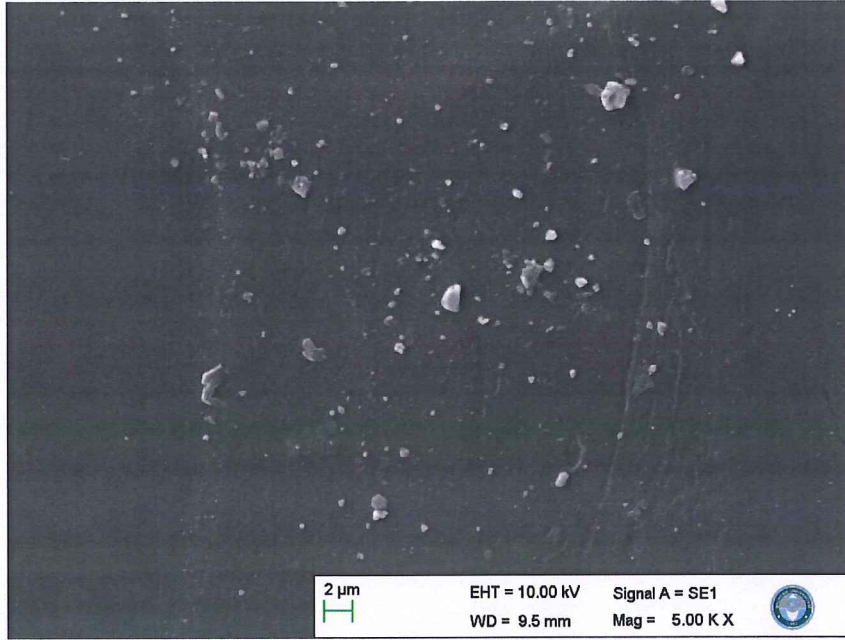
Şekil 3.4: *Genoderma lucidum* 'un SEM görüntüsü.



Şekil 3.5: PVP/*Genoderma lucidum* (%1) kompozitinin SEM görüntüsü.

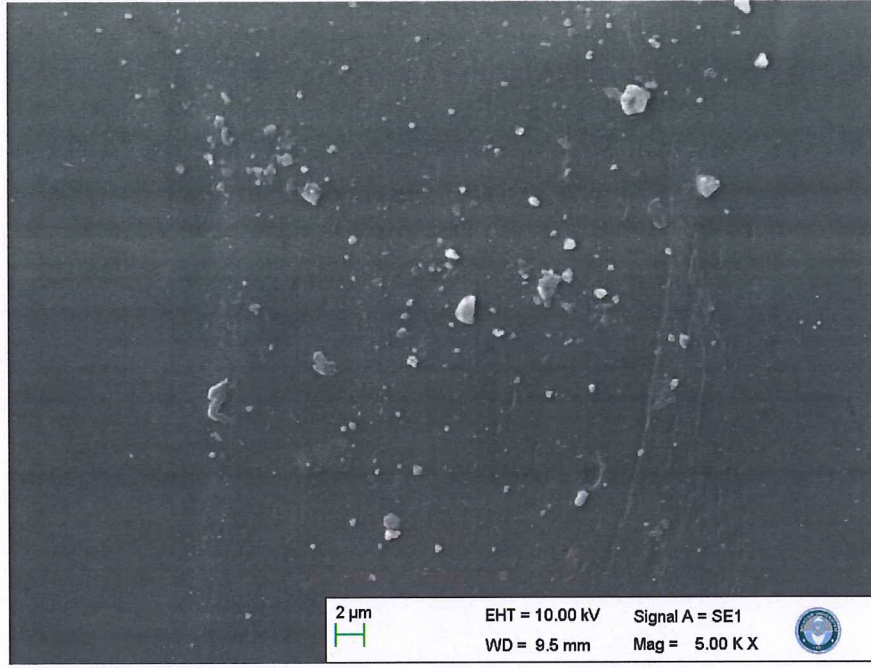


Şekil 3.6: PVP/*Ganoderma lucidum* (%2.5) kompozitinin SEM görüntüsü.



Şekil 3.7: PVP/*Ganoderma lucidum* (%5) kompozitinin SEM görüntüsü.





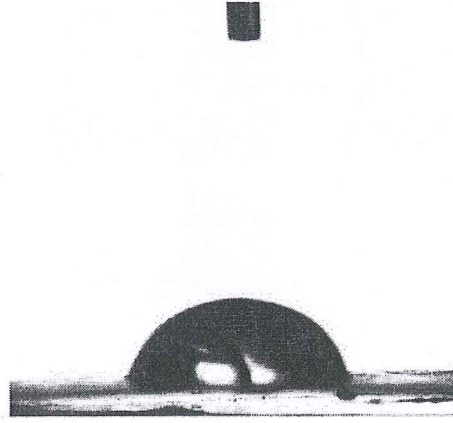
**Şekil 3.8:** PVP/*Ganoderma lucidum* (%10) kompozitinin SEM görüntüsü.

### 3.1.4 Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları

Polimer ile PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin ( % 1, 2.5, 5 ve 10) temas açısı ölçüm sonuçları Tablo 3.1’de verilmektedir. Şekil 3.9’da PVP’nin temas açısı ölçüm fotoğrafı Şekil 3.10’da da kompozitlerin görüntüleri sunulmuştur. Saf PVP ve kompozitler bulundukları yüzey gruplarına göre farklı temas açıları göstermiştir.

**Tablo 3.1:** PVP ve kompozitlerin optik temas açısı ölçüm verileri.

Örnekler	Temas Açısı(°)
PVP	73.87
PVP/ <i>Ganoderma lucidum</i> (%1)	72.44
PVP/ <i>Ganoderma lucidum</i> (%2.5)	78.41
PVP/ <i>Ganoderma lucidum</i> (%5)	83.79
PVP/ <i>Ganoderma lucidum</i> (%10)	94.07

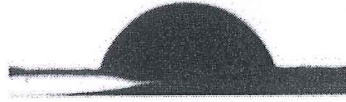


Şekil 3.9: PVP'ye ait temas açısı görüntüsü.

(a)



(b)



(c)



(d)



Şekil 3.10: PVP/*Ganoderma lucidum* (%1) (a), PVP/*Ganoderma lucidum* (%2,5) (b), PVP/*Ganoderma lucidum* (%5) (c) ve PVP/*Ganoderma lucidum* (%10) (d) kompozitlerine ait temas açısı fotoğrafları.

### 3.2 Sitotoksosite Test Sonuçları

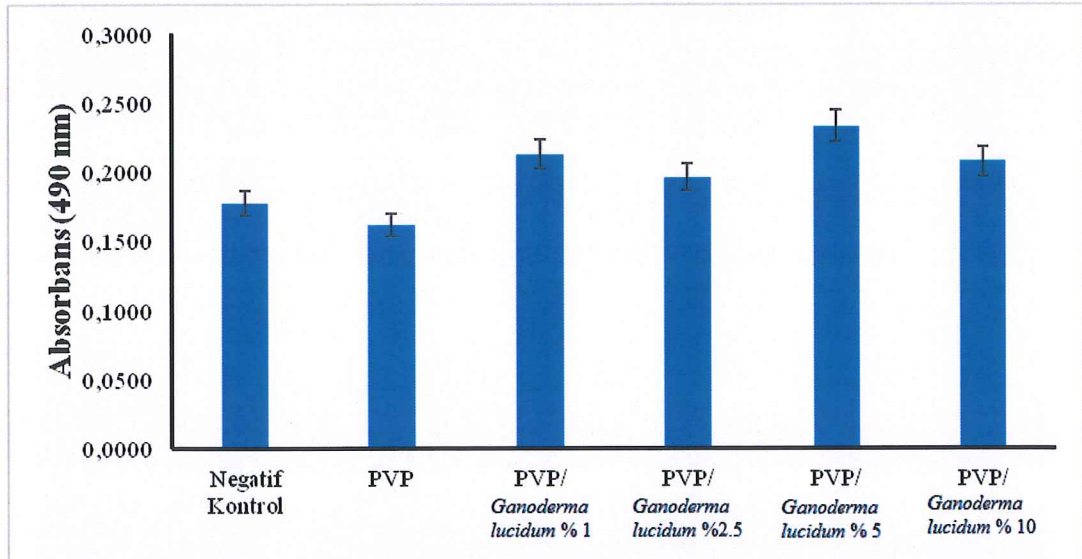
Bu çalışma kapsamında sentezlenen PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin hücrelerde toksik etki oluşturup oluşturmadığı MTS testi ve JuLI cihazı ile gerçekleştirilen analizler ile araştırılmıştır.

#### 3.2.1 MTS Testi Sonuçları

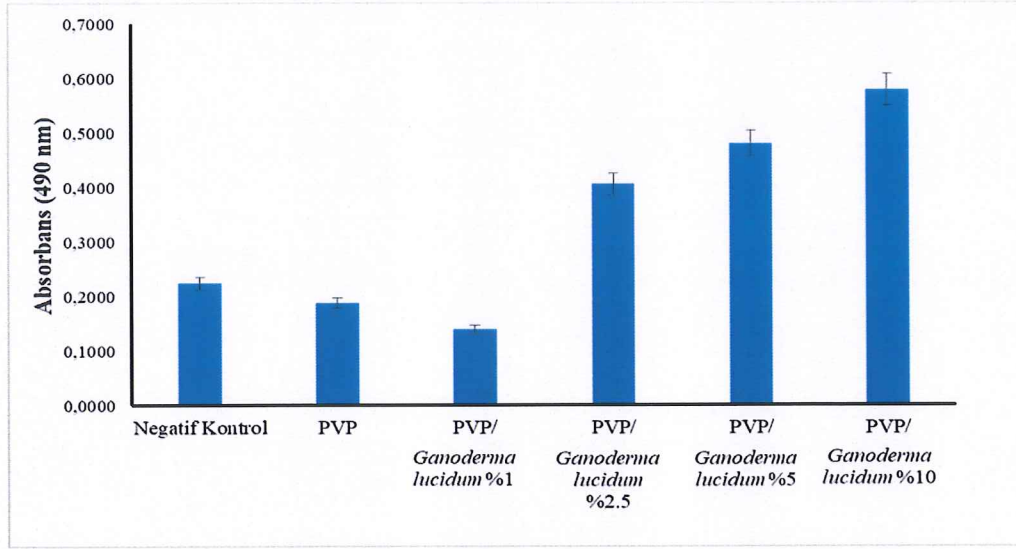
Sentezlenen kompozitler ile inkübe edilen lenfosit hücrelerinin belirli bir inkübasyon süresinden sonra gerçekleştirilen MTS testinin sonucunda 490 nm’de verdikleri absorbans değerleri belirlenmiştir.

##### 3.2.1.1 *Ganoderma lucidum* Konsantrasyonuna Göre MTS Testi Sonuçları

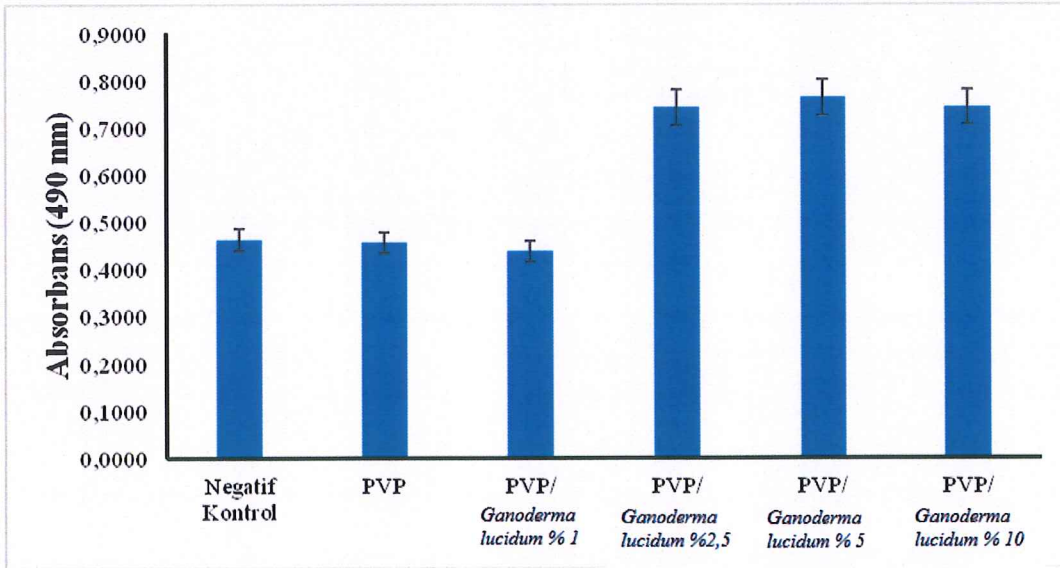
Farklı konsantrasyonlardaki *Ganoderma Lucidum* dolgu maddelerinin MTS testi sonucuna olan etkileri şekil 3.11, 3.12 ve 3.13’de verilmiştir.



Şekil 3.11: Kompozitlerin 24 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilen absorbans verileri.



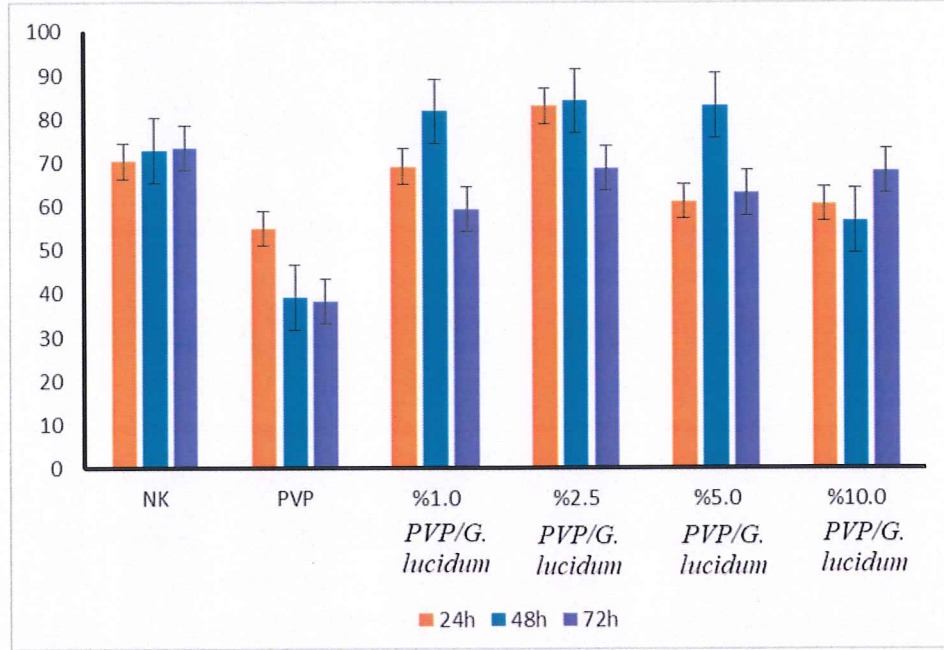
Şekil 3.12: Kompozitlerin 48 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilen absorbans verileri.



Şekil 3.13: Kompozitlerin 72 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilen absorbans verileri.

### 3.2.2 JuLI Hücre Görüntüleyici Sonuçları

Sentezlenmiş olan kompozitler ile inkübe edilmiş lenfosit hücrelerinin % canlılık oranları JuLI analizi sonucunda elde edilen veriler ile belirlenmiştir. Kompozitlerin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon periyotlarının JuLI analizi verileri Şekil 3.14’de verilmiştir.



Şekil 3.14: Kompozitlerin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonu sonucunda JuLI cihazıyla elde edilen % canlılık oranları.

### 3.3 Hemouyumluluk Analizi Sonuçları

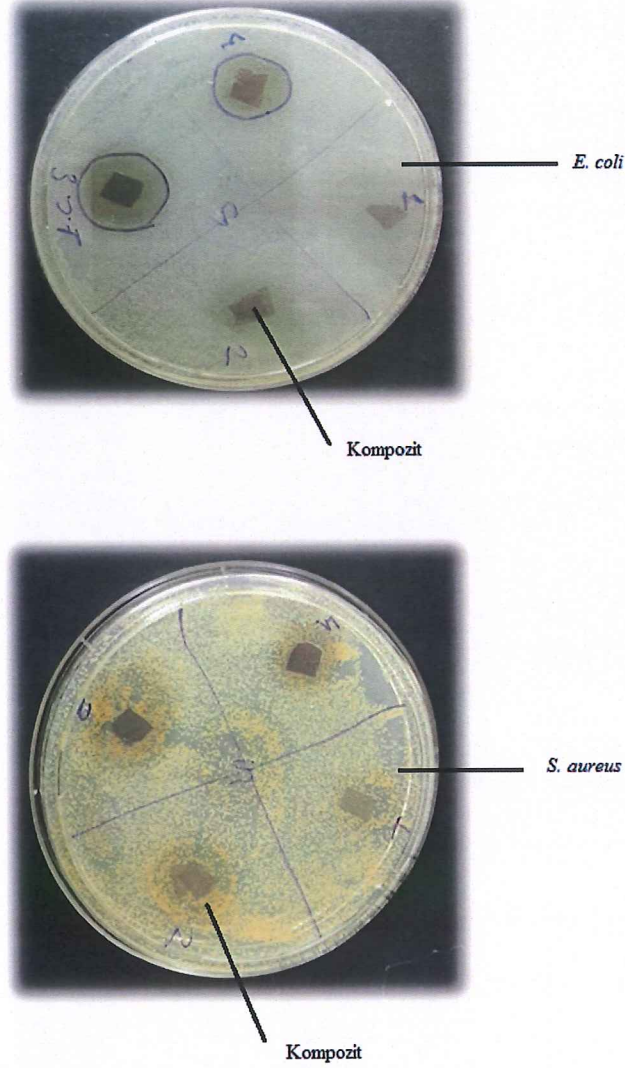
Kompozitlere ve polimere ait hemouyumluluk değerleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2: Kompozit örneklerinin hesaplanan % hemoliz değerleri.

	PVP	PVP/ Ganoderma lucidum (%1)	PVP/ Ganoderma lucidum (%2,5)	PVP/ Ganoderma lucidum (%5)	PVP/ Ganoderma lucidum (%10)
% Hemoliz	0.38	0.45	0.25	0.70	0.69

### 3.3 Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Kompozitlerin gram-negatif *Escherichia coli* ve gram-pozitif *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri Şekil 3.15’de fotoğraflar ile gösterilmiştir. Kompozitlerin bu bakterilere karşı antibakteriyel özellik gösterdikleri kolonilerin durumundan anlaşılmaktadır.



**Şekil 3.15:** PVP/*Ganoderma lucidum* (%1, 2.5, 5 ve 10) kompozitlerinin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri.

## 4. SONUÇ VE TARTIŞMA

### 4.1 Kompozitlerin Karakterizasyon Sonuçları

#### 4.1.1 PVP/*Ganoderma lucidum* Kompozitlerinin XRD Sonuçları

X-Işını Kırınım yöntemi (XRD), her bir kristalin fazın kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak, X-ışınlarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanan bir yöntemdir. Bu metot, analiz sırasında numuneyi tahrip etmez ve çok az miktardaki numunelerin dahi analizlerinin yapılmasına olanak verir. Işın kırınım cihazı ile kayaçların, kristalin malzemelerin, ince filmlerin ve polimerlerin nitel ve nicel incelemeleri yapılabilir. Kompozit oluşumunu XRD desenleriyle açıklamak için matriks ve dolgu maddesinin XRD deseninden elde edilen karakteristik piklerin değerlendirilmesi gerekmektedir. Kompozitlere ait XRD desenlerinde hem polimer hem de dolgu maddesine ait karakteristik piklerin yanında farklı yeni piklerin gözlenmesi de olasıdır. Şekil 3.1'de XRD deseni ve elde edilen veriler gösterilmektedir. Sentezlenen kompozitlerin PVP ve mantar partiküllerinden farklı yapılar olduğu gözlenmektedir. Malzemelerde meydana gelen farklılaşmanın sebebi de mantarın PVP'nin aralarına girmesidir. Turhan, Y.'de yaptığı bir çalışmada aralanmış yapıdaki nanokompozitlerin XRD deseninde yeni bazal yansımalar ile piklerin oluştuğunu belirtmiştir [47]. Bu çalışmadaki XRD desenlerinin kompozit oluşumunu desteklediğini söyleyebiliriz. Kompozitlerin XRD desenlerinin, polimerlerin XRD desenine benzemesi, eklenen dolgu maddesinin polimer matriks içerisinde aglomera olmadan dağıldığını gösterir. Bu desenlerde de benzer durum söz konusudur. (PVP) matriksi içerisinde, (*Ganoderma lucidum*) dolgu maddesinin homojen bir şekilde dağılmasından dolayı desende farklı pikler görülmemektedir.

#### 4.1.2 PVP/*Ganoderma lucidum* Kompozitlerinin FTIR-ATR Sonuçları

FTIR-ATR spektrumu, sıvı veya katı maddelerin içerdiği kimyasal bağların analizi amacıyla kullanılan bir karakterizasyon yöntemidir.  $650\text{ cm}^{-1}$  ile  $4000\text{ cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında ölçüm yapan cihaz ile hızlı ve yüksek çözünürlükte spektrumlar elde edilebilmektedir. FTIR-ATR spektrumu ile kimyasal bağ analizi ve sıvı veya katı malzemelerdeki fonksiyonel grupların belirlenmesi işlemleri gerçekleştirilmektedir. Polimerler, malzeme bilimleri, kimya ve seramik sektörlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Şekil 3.2’de verilen *Ganoderma lucidum* örneğine ait FTIR-ATR spektrumuna göre; literatür incelendiğinde,  $3296\text{ cm}^{-1}$  de çıkan band N-H fonksiyonel gruplarına ve triterpenlerdeki -OH gruplarına,  $2922\text{ cm}^{-1}$  de çıkan bandlar  $\text{CH}_3$  ve  $\text{CH}_2$ ’nin asimetric ve simetric gerilmelerine,  $1630\text{ cm}^{-1}$  de çıkan band C=O amit karboniline ve  $1147\text{ cm}^{-1}$  de çıkan band protein ve karbohidratlardaki -C-O fonksiyonlarının gerilmelerine ait olduğu görülmüştür.

Kompozit oluşumunun FTIR ile belirlenmesinde matriksin (polimer) IR spektrumundaki küçük değişiklikler, titreşimlerdeki birkaç  $\text{cm}^{-1}$  lik kaymalar kanıt olarak kabul edilmektedir. Bunun nedeni de matriksin ortamdaki miktarının çok fazla olması ve dolgu malzemesinin (mantar) çok az olmasıdır. Lineer polivinilpirolidon numunesinin FTIR spektrum sonuçları ile mantar numunesinin spektrum sonuçlarının aynı olduğu, farklı pik gözlenmediği bilinmektedir [16]. Şekil 3.3’de verilen FTIR-ATR spektrumuna göre; PVP polimerine ait spektrum incelendiğinde  $3406\text{ cm}^{-1}$ ’de çıkan bandın -OH gerilmesine (nemden kaynaklanan) ait olduğu gözlenmektedir. PVP numunelerinin nem çekici özelliğinin olduğu bilinmektedir [16]. Ayrıca,  $2952\text{ cm}^{-1}$   $\text{CH}_3$  ve  $\text{CH}_2$  gerilme titreşimlerine (alifatik CH),  $1646\text{ cm}^{-1}$  C=O amit karboniline (prolidon halkası),  $1460\text{ cm}^{-1}$   $\text{CH}_3$  ve  $\text{CH}_2$  eğilme titreşimlerine ve  $1286\text{ cm}^{-1}$  de çıkan band C-N fonksiyonel gruplarının gerilme titreşimlerine aittir. Kompozit oluşumu ile bu bandlardaki kaymalar açıkça görülmektedir.



#### 4.1.3 PVP/*Ganoderma lucidum* Kompozitlerinin SEM Analiz Sonuçları

Elektron mikroskopları temelinde, bir elektron kaynağından salınan elektronların numune ile etkileşimleri sonucunda elde edilen verilerin algılayıcılar tarafından işlenerek görüntü oluşumunu sağlar. Günümüzde de SEM bir çok alanda görüntü ve numune analizi yapmak üzere kullanılmaya devam etmektedir [48]. Yüksek çözünürlükte ve çeşitli büyütmelerde görüntü alır. Bu çalışmada 10 kV potansiyelde, çeşitli büyütme değerlerinde *Ganoderma lucidum* ve kompozitlerin morfolojileri araştırılmıştır.

Şekil 3.4'de, yaklaşık 6000 büyütme oranlarında elde edilen mantar örneklerine ait SEM fotoğrafı görülmektedir. Görüntüler mantarın küresel yapısını doğrulamaktadır.

SEM görüntüleri, matriks içerisinde dolgu maddelerinin dağılımı hakkında kesin sonuçlar vermektedir. PVP/*Ganoderma lucidum* (%1, 2.5, 5 ve 10) kompozitlerine ait SEM görüntüleri Şekil 3.5-3.8'de verilmektedir. Fotoğraflardan görüldüğü gibi, mantar PVP matriksinde homojen bir şekilde dağılmaktadır. Görüntüdeki aydınlık küreler mantarı, koyu bölgeler polimeri göstermektedir. Sonuç olarak PVP ve *Ganoderma lucidum* ile hazırlanan kompozitlerin SEM görüntülerinden dolgu maddesinin polimer içinde homojen bir şekilde dağıldığı görülmektedir.

#### 4.1.4 PVP/*Ganoderma lucidum* Kompozitlerinin Optik Temas Açısı Sonuçları

Çözücünün katı pellet üzerindeki davranışı sonucu temas açısı ölçülerek hesaplanan bir yöntemdir. Sıvının katı pellet ile temas derecesi  $\Theta < 90^\circ$  ise hidrofilik özellikte,  $\Theta > 90^\circ$  ise hidrofobik özellikte bir örnek olduğu tespit edilir. PVP'ye ait optik temas açısı görüntüsü Şekil 3.9'da, sentezlenen kompozitlerin yüzey özelliklerinin belirlenmesi için gerçekleştirilen optik temas açılarının görüntüleri Şekil 3.10'da ve örneklerin temas açlarına ait veriler Tablo 3.1'de verilmiştir. Bu veriler incelendiğinde ölçümlerin  $73,87^\circ$  ile  $94,07^\circ$  arasında değişiklik gösterdiği gözlenmiştir. Kompozitlere eklenen mantar oranı arttığında temas

açılarının da arttığı görülmüştür. Buna dayanarak da kompozitlerin saf PVP'ye göre hidrofobikliğinin arttığı gözlenmiştir. Hidrofobiklik, sentezlenen malzeme suda hemen çözünmeyip kolay dağılmayacağı için yara örtü malzemesi olarak kullanıldığında istenilen bir özelliktir.

#### 4.2 Kompozitlerin Sitotoksosite Sonuçları

Bu çalışmada, sentezlenen kompozitler gönüllü ve sağlıklı bireylerden temin edilen kandan izole edilerek elde edilen lenfosit hücreleri ile belirlenen bir süre aralığında muamele edilmiştir. Böylece hücre canlılığı belirlenerek hücrelerin yaşam periyodunda herhangi bir değişime uğrayıp uğramadığı araştırılmıştır.

Şekil 3.11, 3.12 ve 3.13'de sentezlenen kompozitlerin lenfosit hücreleri ile olan inkübasyon periyotları sonrasında gerçekleştirilen MTS testi sonucunda elde edilen absorbans verileri görülmektedir. PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitleri ile muamele edilen hücrelerde, tüm kompozitlerin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon periyodu sonucunda *Ganoderma lucidum* yüzde oranının (%1, 2.5, 5 ve 10) artması ile doğru orantılı olarak yaşamlılığın arttığı gözlenmiştir. Özellikle %2.5 ve %5 *Ganoderma lucidum* katkılı kompozitlerin etkisi ile hücrelerde canlılığın önemli oranda devam ettiği görülmüştür. Örnekler negatif kontrol ile karşılaştırıldığında, absorbans verilerinde önemli bir artış görülmektedir. PVP'nin negatif kontrol ile hemen hemen aynı olan grafik değerine bakılarak göstermiş olduğu az da olsa toksisitesinin mantar takviyesi ile giderildiği kompozitlerin durumundan anlaşılmaktadır. JuLI hücre görüntüleyicisi ile yapılan % canlılık verileri için de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Şekil 3.14'de sentezlenen kompozitlerin inkübasyon süresinin devamında JuLI hücre görüntüleyicisi ile yapılan test sonuçları verilmiştir. Elde edilen verilere göre %1, %2.5, %5 ve %10 mantar katkılı kompozitlerin hücre canlılığında anlamlı bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar, kompozitlerin hücrelere sitotoksik etkisinin olmadığını göstermiştir. Ayrıca, PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin biyomedikal uygulamalarda kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Bu çalışmada ulaşılan sonuçlar literatürde yer alan çalışmalar ile uygunluk göstermektedir. Örneğin, Bojana D. ve arkadaşları ilaç salınımı ve biyomalzeme üzerine yaptıkları çalışmalarında fibroblast hücrelerini kullanarak sitotoksosite deneyleri

gerçekleştirmişlerdir. Kontrollü ilaç salınımı alanında kullanılmak üzere PVP katkıli hidrojel sentezlemişlerdir. Araştırma sonucunda PVP katkıli hidrojel numunelerinin fibroblast hücrelerinde hücre yaşamlılığını arttırdığını ve hücrelerin büyümesini teşvik ettiğini öne sürmüşlerdir [49]. Priyadarshini ve Fawzy de gümüş nanopartiküllerinin, antibakteriyel etkisini güçlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında PVP kaplaması ile mezenşimal kök hücrelerinde MTS deneyleri gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar şekil, yüzey yükü, partikül boyutu gibi çeşitli faktörlerin gümüş nanopartiküllerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Çalışmalar, gerçekleştirilen MTS testine göre, PVP takviyesi ile mezenşimal kök hücrelerinde 1.5 saatlik tedaviden 48 saat sonra >% 70 canlılık ile sonuçlandığını göstermiştir. Nano-gümüş birleşimli PVP kaplamalı antibiyotiklerin daha etkili olup yakın gelecekte önemli terapötik etkilere sahip olabileceğini öne sürmüşlerdir [50]. Yi-Zhen Xie ve arkadaşları, *Ganoderma lucidum*'un, kanser hücre çoğalmasını ve hücre ölümünü etkileyip etkilemediğini analiz etmek amacıyla insan göğüs karsinoma hücrelerini kullanarak sitotoksosite deneyleri gerçekleştirmiştir. *Ganoderma lucidum* sporlarının önceden hazırlanmış olan farklı ilaç formları, kanser hücrelerine 1 mg/mL konsantrasyonlarda ilave edilerek kültürler iki gün inkübe edilmiştir. Mantar ile gerçekleştirilen tedavi sonucuna göre, tümör hücrelerinin doku kültürü plakalarından ayrılarak ölümle sonuçlandığı ve yapışık hücrelerin de çoğalmasının engellendiği belirtilmiştir. Deneyler, *Ganoderma lucidum*'un kanser hücrelerinde büyümeyi önleyici etkilerine, enzimatik ve fiziksel yöntemlerle kırılan mantar sporlarının sebebiyet verdiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, tripan mavisi ve MTT tahlili ile teyit edilmiştir [51]. YT Chen ve arkadaşları'nın çalışmalarında, *Omphalia lapidescens*'den saflaştırılan protein ve polivinilpirolidon (PVP) kullanılarak jel filtrasyon kromatografisi ile pPeOp sentezlenmiştir. pPeOp'un insan gastrik tümör hücrelerinde (MC-4 ve SGC-7901) ve normal hücrelerde (MC-1) *in vitro* antitümör aktivitesini değerlendirmek için MTT testi ve FCM testi kullanılarak hücrelerdeki morfolojik değişiklikler, hücre canlılığı, hücre ölüm hızı ve hücre apoptoz oranları tahmin edilmiştir. Deney sonuçları, PVP katkısıyla hazırlanan materyalin tümör hücrelerinin hücre yaşayabilirliğini konsantrasyona bağlı bir şekilde önemli ölçüde azaltabileceğini göstermiş ve FCM tahlillerinde, pPeOp'un apoptosise neden olan etkilerini belirten, tümör hücrelerinin hücre ölüm hızında ve hücre apoptoz hızında belirgin bir artış gözlenmiştir. Benzer sonuçlar morfolojik gözlemlerde de tespit edilmiştir. Ayrıca sonuçlar, pPeOp'un her MC-1 hücreleri

üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını, buna dayanarak da pPeOp'un normal hücreler üzerinde toksik etkisinin olmadığını göstermiştir. Araştırmacılar, kanser özellikle de mide kanseri için tedavide temel oluşturabileceğini öne sürmüşlerdir [52]. Maykel González-Torres ve arkadaşları da yaptıkları çalışmalarında radyasyona bağlı kollajen-polivinilpirolidon-PEG hidrojellerinin biyolojik aktivitesini araştırmışlardır. Gama radyasyonuna bağlı bir Collagen-PVP-PEG hidrojellerini sentezlemişler ve fibroblast hücrelerinin yapısını, morfolojisini ve hücre yaşayabilirliğini değerlendirmişlerdir. Hidrojellerin *in vitro* değerlendirmesi, C-PVP haricinde tüm örnekler için kollajen varlığının hücre yaşayabilirliğini azalttığını göstermiş ve kollajene PEG ve PVP eklendiğinde, hücre canlılığının kollajen örneğine göre arttığı belirtilmiştir [53].

#### 4.3 Kompozitlerin Hemouyumluluk Testi Sonuçları

Kompozit örneklerinin hemoliz testi sonucunda 545 nm'de elde edilen absorpsiyon verileri ile hesaplanan % Hemoliz oranları Tablo 3.2'de verilmiştir. Shanthini G. ve arkadaşları, malzemelerin neden oldukları hemoliz oranlarını % 5'ten küçük ise oldukça hemouyumlu, % 10'a kadar hemouyumlu ve % 20'den fazla ise hemouyumlu olmayanlar olarak nitelendirmişlerdir [54]. Tablo 3.2'de ki verilere bakıldığında tüm PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin % hemoliz değerleri % 5'ten küçük olduğu için hemouyumlu malzemeler sınıfına dahil edilebilirler. Elde edilen sonuçlar literatür incelendiğinde daha önce ki çalışmalar ile uyum içerisindedir. Çünkü PVP, biyomedikal uygulamalarda kullanılan ve toksik olmayan bir polimerdir ve farmasötik ilaçlarda, yara örtüsü için hidrojellerde ve kan plazmasının yerini tutmakta bağlayıcı olarak kullanıldığı bilinmektedir [55]. Ortama mantar eklenmesinin polimerin bu özelliklerine herhangi bir zarar vermediği, hemoliz değerlerine bakıldığında da polimer gibi kompozitlerin de hemouyumlu olduğu görülmektedir. Bu durum sentezlenen kompozitlerin vücut içerisinde kullanılabilirliğini göstermektedir. Yılmaz B. ve arkadaşları çalışmalarında farklı moleküler ağırlığındaki PMMA polimerleri ile %1, 2.5 ve 5 oranlarındaki hidroksiapatit nanopartiküllerini kullanarak PMMA/Nanohidroksiapatit nanokompozit filmleri sentezlenmiştir. İnsan kanı lenfosit hücreleri ile sitotoksikite ve hemouyumluluk testleri yapmıştır. Biyoyumculuk ve hemouyumculuk

analizlerini mikrop laka okuyuculu spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma bitiminde, polimerlerin moleköl ağırlıklarının hemouyumluluğu etkilemediği ve sentezlenen tüm PMMA/Nanohidroksiapatit nanokompozitlerinin oldukça hemouyumlu olduğu sonucuna ulaşılmıştır [56].

#### 4.4 Kompozitlerin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Kompozitlerin bakterisit etkileri *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı test edilmiştir. Her iki bakteri tőrüne karşı % 1 % 2.5, % 5 ve % 10 oranlarındaki kompozitlerin antibakteriyel aktivite tayinleri Şekil 3.15’de gösterilmiştir. Farklı oranlardaki kompozitlerin iki bakteri tőrünün gelişimini engellediği gözlenmiştir. Kompozitlerin antibakteriyel aktivitesi artan *Ganoderma lucidum* oranı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Özellikle *E. coli* bakterilerine karşı % 5 ve % 10 oranlarındaki kompozitlerin çok daha etkili zon oluşturdukları gözlenmiştir. Jennifer Quirós ve arkadaşları, öncöl maddeler olarak gümüş, bakır nitratlar ve çinko asetat ile polivinilpirolidon (PVP) nanofiberlerini kullanarak antimikrobiyal elektrospun hazırlanması üzerine çalışma yapmışlardır. Gümüş nanoparçacıklar ve çözünmeyen bakır ve çinko formları, PVP kullanılarak kapak ajan olarak dağıtılmıştır. PVP’nin, dar çaplı dağılım gösteren düzgün lifler oluşturduğu gözlenmiştir. Mor ötesi ışınlama ile çapraz bağlama tekniği kullanılarak çözünmeyen bir ađa dönüştürölmüştür. *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı etkinliği, koloni oluşturan birimlerin inhibisyonunu ölçmek, metabolik canlılık ve zararlı membranlar için floresan problemlerle işaretleyerek farklı metal yüklemeleri için test edilmiştir. Çalışma sonucunda, gümüş yüklü fiberler için mikroorganizmalar üzerinde güçlü bir inhibisyona işaret ettiği belirtilmiştir. Bakır ve çinko yüklü malzemelerin daha az etkinlik göstermesine rağmen metabolik aktiviteyi ve hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir [57].

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. XRD desenleri, Temas Açısı ve SEM görüntüleri, *Ganoderma lucidum* partiküllerinin PVP polimeri içerisinde homojen bir şekilde disperse olduğunu ve kompozit oluşumunun meydana geldiğini göstermektedir.

2. FTIR-ATR cihazından elde edilen kompozitlere ait spektrumlar *Ganoderma lucidum* ' un IR spektrumu ile kıyaslandığında matriks ile dolgu maddesi arasında bir etkileşme olduğu yeni piklerin oluşumu ve bazı bantlardaki kaymalardan gözlenmiştir.

3. PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin % hemoliz değerleri % 5'ten küçüktür. Buna bağlı olarak bu çalışmada sentezlenen tüm kompozitler oldukça hemouyumlu materyaller sınıfına dahil edilebilirler.

4. *In vitro* olarak değerlendirdiğimiz bu çalışmada PVP polimerinin kullanıldığı PVP/*Ganoderma lucidum* kompozitlerinin biyoyumlu olduğu ve kültür ortamındaki hücrelerde hiçbir toksik etkisinin bulunmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

5. Antibakteriyel aktive sonucuna göre kompozitlerin bakteriler üzerindeki etkileri oluşturdukları zonlar ile belirlenmiştir. *E. coli* bakterisi üzerinde daha etkili olduğu gözlenmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] Jiang, B., Akar, B., Waller, T. M., Larson, J. C., Appel, A. A. and Brey, E. M., "Design of a composite biomaterial system for tissue engineering applications", *Acta Biomater.*, 10, 1177–1186, (2013).
- [2] Patel, N. R., and Gohil, P. P., "A Review on Biomaterials: Scope, Applications & Human Anatomy Significance", *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, 2, 4, 91-101, (2012).
- [3] Gümüşderelioğlu, M., "Yeni Ufuklara: Biyomalzemeler", *TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi Eki*, (2002).
- [4] Wong, J. Y., Bronzino J. D., Peterson, D. R., "Biomaterials Principles and Practices", *CRC Press, Taylor&Francis Group*, (2007).
- [5] Güven Ş. Y., Delikanlı K., "Metalik Biyomalzemelerde Son Gelişmeler", *TİMAK-Tasarım İmalat Analiz Kongresi*, 26-28 Nisan (2006).
- [6] Gür, A. K., "Şekil Hafıza Özelliğine Sahip Ni-Ti Alaşımının Biyouyumluluğu", Yüksek Lisans Semineri, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, (2003).
- [7] Güven, Ş.Y., "Biyouyumluluk ve Biyomalzemelerin Seçimi", *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 2(3), 303-311, (2014).
- [8] Ratner B. D., Hoffman A.S., Schoen F. J and Lemons J. E., "Biomaterials Science: A multidisciplinary Endeavor, Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine", *Elsevier Academic Press*, Second Edition,2.
- [9] Tüylek, Z. "İnönü Üniversitesi Elektronik ve Otomasyon Bölümü Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Biyomateryaller ve Sağlıkta Kullanımı", *Bozok Tıp Derg.*, 85-86, 80-9, (2017).
- [10] Kainer K. U., "Metal Matrix Composites, Custom-made Materials for Automotive and Aerospace Engineering", *Wiley-vch Verlag GmbH & Co. KGaA*, chapter 1, (2003).
- [11] Migliaresi, C., and Salernitano, E., "Composite materials for biomedical applications: a review", *J Appl Biomat & Biomech*, 1, 3-18, (2003).
- [12] Gökçek, E. "Ortopedik İmplant Ve Protez Tasarımı İçin Biyomalzemelerin

- Mekanik Özelliklerinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, Türkiye, (2006).
- [13] Inactive Ingredients in FDA Approved Drugs. FDA/Center for Drug Evaluation and Research, Office of Generic Drugs, Division of Labeling and Program Support. Database Last Updated: January 13, (2010).
- [14] Oudadesse H, Mostafa a, Bui X V, et al. “Preparation of PVA/Bioactive Glass nanocomposite scaffolds *In vitro* studies for applications as biomaterials”, *Association with active molecules. J Biol.* 5(3), 103-110, (2011).
- [15] Chen, Tianming “Dental bleach”, U.S. Patent 6,730,316, Priority date January 27, (2001).
- [16] Bühler, V., “Polyvinylpyrrolidone Excipients for Pharmaceuticals: Povidone, Crospovidone and Copovidone”, *Heidelberg New York: Springer*, pp. Berlin, 1–254 (2005).
- [17] Benzie IFF, Wachtel-Galor S, Chapter 9 *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi), CRC Press/Taylor & Francis; (2011).
- [18] Jin X, Beguerie J, Sze M, Chan G, *Cochrane Database Syst Rev.* 13(6), 1-39, (2012).
- [19] Turhan, Y., “Kil/Polivinil türevleri nanokompozitlerinin sentezi ve karakterizasyonu”, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir (2010).
- [20] Yakupoğlu G., Pekşen A., “Çay Atığından Hazırlanan Farklı Kompost ve Partikül Büyüklüğünün *Ganoderma lucidum* Mantarının Verimi ve Bazı Morfolojik Özellikleri Üzerine Etkisi”, *Ekoloji* 20, 78, 41-47 (2011).
- [21] Piner, R. D., Xu T. T., Fisher, F. T. Qiao, Y. and Ruoff, R. S., “Atomic force microscopy study of clay nanoplatelets and their impurities, *Langmuir*”, 19, 7995-8001, (2003).
- [22] Kornmann, X., “Synthesis and Characterisation of Thermoset-Clay Nanocomposites”, Introduction, Lulea Tekniska Universite, 1-29, (1999).
- [23] Uzun İ. H., Bayındır F., “Testing Procedures For Biocompatibility of Dental Materials”, *GÜ Diş Hek. Fak. Derg.* 28(2), 115-22, (2011).
- [24] Ekwall, B., Silano, V. and Zucco, F., “Toxicity tests with mammalian cell cultures”, *Short-term Toxicity Tests for Non-genotoxic Effects*, Bordeau, P. Ed., 75–98, (1990).



- [25] Yılmaz, B., "PMMA/Nanohidroksiapatit Nanokompozitlerinin Sitotoksik Etkilerinin ve Hemouyumluluğunun Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, (2015).
- [26] Antoni, D., Burckel, H., Josset, E. and Noel, G., "Three-dimensional cell culture: A breakthrough in vivo", *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 5517–5527, (2015).
- [27] Kümbüloğlu Ö., "Biyomateryaller", *EÜ Dişhek Fak Derg*; 34 (1), 27-33 (2013).
- [28] K. Pereira, M. A. Wahab, "Fretting fatigue crack propagation lifetime prediction in cylindrical contact using an extended MTS criterion for nonproportional loading", *Tribology International*, 115, 525-534, (2017).
- [29] Nicholson, "A Century of Theological and Religious Studies in Britain", 258-266, (1902-2002).
- [30] Strober, W., "Trypan blue exclusion test of cell viability", *Curr. Protoc. Immunol.*, Appendix 3, Appendix 3B, (2001).
- [31] Karagul, A., "Dental Restoratif Malzemelerin Sitotoksitesine Işık Kaynağının Ve Hidroksiapatit İlavesinin Etkilerinin İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (2008).
- [32] Cai, X., Yuan, J., Chen, S., Li, P., Li, L. and Shen, J., "Hemocompatibility improvement of poly(ethylene terephthalate) via self-polymerization of dopamine and covalent graft of zwitterions", *Mater. Sci. Eng. C*, 36, 42–48, (2014).
- [33] Gürtürk S., "Viroloji", Ankara Üniversitesi Basımevi, 64-73, Ankara (1977).
- [34] Koziara, J. M., J. J., Akers, W. S., Ferraris, S. P., and Mumper, R., "Blood compatibility of cetyl alcohol/polysorbate-based nanoparticles", 22,11,1821-1828, (2005).
- [35] Kenawy el-R., Worley S.D., Broughton R. "The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review", *Biomacromolecules*, 8(5),1359-84, (2007).
- [36] Schlichting Karin, Dahne Michael, M.D. and Weiler Andreas M.D., *Sports Med.Arthrosc. Rev. Dergisi Cilt 14, Sayı 3- Eylül* (2006).
- [37] Punke Christoph, Zehlicke Thorsten, Boltze Carsten and Pau Hans Wilhelm *Otology&Neurotology Dergisi 29. Sayı, Sayfa 807- 811*, (2008).
- [38] Sionkowska, A. Wisniewski, M. Skopinska, J. Kennedy, C. J. and Wess, T. J.

- “Molecular interactions in collagen and chitosan blends. *Biomaterials*”, 25, 795-801, (2004).
- [39] Gong, J., Chen, M., Ni, Z., Jiang, J., Liu, X., “Study on preparation and adsorbing properties of polystyrene resins with multi porous structures”, *Journal of Jiangnan University*, (2008).
- [40] Kazarian, S.G. ve Martirosyan, G.G., “Spectroscopy Of Polymer/Drug Formulations Processed with Supercritical Fluids: In situ ATR–IR and Raman Study of Impregnation of Ibuprofen into PVP”, *International Journal of Pharmaceutics*, 232, 81-90, (2002).
- [41] Liu X, Xu Y, Wu Z, Chen H, *Macromol Biosci.* 13(2), 147-154, (2013).
- [42] Jin X., Ruiz Becuerie J., Sze DM., Chan GC., “*Ganoderma lucidum* (Reishi mushroom) for cancer treatment”, *Cochrane Database Syst. Rev.* 13,(6), (2012).
- [43] Bao, X. F., Fang, J. LI, X., “Structural characterization and immunomodulating activity of a complex glucan from spores of *Ganoderma lucidum*”, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 65 (11), 2384-2391, (2001).
- [44] Hsieh, C., Tseng, M. H., Liu, C. J., “Production of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (CCRC 36041) under limitations of nutrients”, *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 109-117, (2006).
- [45] Wang, X. M., Yang, M., Guan, S. H., Liu, R. X. Xia, J. M., BI, K. S., Guo, D. A., “Quantitative determination of six major triterpenoids in *Ganoderma lucidum* and related species by high performance liquid chromatography”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 838-844, (2006).
- [46] Jong, S. C. and Birmingham, J. M., “Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*”, *Advances in Applied Microbiology*, 37, 101-134, (1992).
- [47] Koçer, B., “Al-Montmorillonit/pol (metil metakrilat) nanokompozitlerinin sentezi ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2013).
- [48] Motlagh, D., Allen, J., Hoshi, R., Yang, J., Lui, K. and Ameer, G., “Hemocompatibility evaluation of poly(diols citrate) in vitro for vascular tissue engineering”, *J. Biomed. Mater. Res. A*, 82 (4), 907–916, (2007).

- [49] Erdin, N. "Tarama Elektron Mikroskopunun Temel Prensipleri ve Numune Hazırlama", *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, B-36-2 (1987).
- [50] Krezović B. D., Miljković M. G., Stojanović S. T., Najman S. J., Filipović J. M. and Tomić S. Lj., "Structural, thermal, mechanical, swelling, drug release, antibacterial and cytotoxic properties of P(HEA/IA)/PVP semi-IPN hydrogels", *Chemical Engineering Research & Design*, 121, 368-380, (2017).
- [51] Priyadarshini B. M. and Fawzy A. S., "Potentiating the antibacterial effect of silver nanospheres by surface-capping with chlorhexidine gluconate", *Journal of Nanoparticle Research*, 19,147, (2017).
- [52] Yi-ZhenXie, Sen-zhu Li, Albert Yee, "Ganoderma lucidum inhibits tumour cell proliferation and induces tumour cell death", *Enzyme and Microbial Technology*, Pages 177-185, (2006).
- [53] Yi-Tao Chen, Qun-Ying LU, Mei-AI Lin, "A PVP-extract fungal protein of *Omphalia lapideacens* and its antitumor activity on human gastric tumors and normal cells", *Oncology Reports*, 26,1519-1526, (2011).
- [54] Shanthini, G. M., Ann, C., Sakthivel, N., Chandra, S., Elayaraja, K., Lakshmi, B. S., Asokan, K., Kanjilal, D. and Kalkura, S. N., "Physical and biological properties of the ion beam irradiated PMMA-based composite films", *Appl. Surf. Sci.*, 329, 116–126, (2015).
- [55] Maykel, G. T., Gerardo, L. G., Rivera, M., "Biological activity of radiation-induced collagen–polyvinylpyrrolidone–PEG hydrogels", *Materials Letters*, Pages 224-227, (2018).
- [56] Yilmaz B., Doğan S. ve Kasimoğullari Çeliker S. "Hemocompatibility, cytotoxicity, and genotoxicity of poly(methylmethacrylate)/nanohydroxyapatite nanocomposites synthesized by melt blending method", *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 67:6, 351-360, (2018).
- [57] Jennifer, Q., Joao, P. B., Karina, B., "Antimicrobial electrospun silver-, copper- and zinc-doped polyvinylpyrrolidone nanofibers", *Journal of Hazardous Materials*, Pages 298-305, (2015).