



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Ti ve Ti-500 İmplant Materyallerinde, İmplantasyon Sonrası Oluşan TH1/TH2
Sitokin Yanıtlarının Karşılaştırmalı Analizi**

Kaan CENGİZ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Sibel AKYOL**

**Anabilim Dalı Adı
Fizyoloji**

**Program Adı
Fizyoloji Tezli Yüksek Lisans**

Mayıs, 2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Kaan CENGİZ

(İmza)

Her zaman yanımda olan sevgili abim Mert Cengiz'e ve biricik yeğenim Hira Cengiz'e ithaf ediyorum,

BÜTÇE DESTEKLERİ

Ti ve Ti-500 İmplant Materyallerinin, İmplantasyon Sonrası Oluşan TH1/TH2 Sitokin Yanıtlarının Karşılaştırmalı Analizi

Bu tez çalışması, University of Technology Sydney, Translational Biomaterials and Medicine‘dan bütçe desteği almıştır.

TEŞEKKÜR

Bilimsel hayatıma yaptığı katkılar ile öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, perspektifi ve duruşu ile akademik anlamda vizyonumu genişleten ve üzerimde emeği sonsuz olan İÜC Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sevgili danışmanım Sayın, **Prof. Dr. Sibel AKYOL**'a;

Bilimsel ve akademik hayatıma etkisi sayesinde, tutkumun asla sönmesine izin vermeyen, beni sürekli kendimi geliştirmeye ve daha iyi halime getirmeye çalışan, İstanbul Üniversitesi – Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sevgili **Doç. Dr. Nurcan ORHAN**'a;

Tez sürecinde kullandığım, çok değerli materyallerimin üretimini gerçekleştirerek, Türkiye'ye gönderen, University of Technology Sydney Öğretim Üyesi Sayın, **Prof. Dr. Besim BEN-NISSAN**'a;

Akademik hayatımda desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili dostlarım **Ömer Faruk TAN**, **Hüseyin Ege BALTA** ve **Ecem SEMERCİ**'ye;

Beni bu günlere getiren ve her zaman yanımda olan canım annem **Türkan Cengiz**'e, biricik babam **Hüseyin Cengiz**'e ve sevgili abim **Mert Cengiz**'e;

Teşekkürlerimle...

İçindekiler

<u>TEZ KABUL VE ONAYI</u>	ii
<u>BEYAN</u>	iii
<u>BÜTÇE DESTEKLERİ</u>	v
<u>TEŞEKKÜR</u>	vi
<u>İÇİNDEKİLER</u>	vii
<u>SEKİL LİSTESİ</u>	viii
<u>TABLO LİSTESİ</u>	ix
<u>SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ</u>	x
<u>ÖZET</u>	xi
<u>ABSTRACT</u>	xii
<u>1. GİRİŞ</u>	3
<u>2.KAVRAMSAL ÇERÇEVE</u>	4
<u>1.1. Biyomateryaller</u>	4
<u>1.1.1. Biyomateryallerin Tarihçesi</u>	4
<u>1.1.2. Biyomateryallerin Genel Özellikleri</u>	6
<u>1.1.3. Biyomateryallerin Sınıflandırılması</u>	6
<u>1.1.4. Biyomateryaller ve Sitokin İlişkisi</u>	8
<u>1.1.5. Biyoyumluluk</u>	9
<u>1.1.6. Biyoyumluluk ve İmmün Sistem</u>	9
<u>1.1.7. Ti Alışımı</u>	10
<u>1.1.8. Ti-500 Genel Özellikleri</u>	11
<u>1.1.9. Ti ve Ti-500 Arasındaki Farklar</u>	12
<u>1.1.10. Ti ve İmmün Sistem ilişkisi</u>	13
<u>1.1.11. Osseointegrasyon</u>	14
<u>1.2. İnflamatuvar Süreçler</u>	15
<u>1.2.1. Kronik inflamasyon</u>	16
<u>1.2.2. İnflamasyonun sistemik etkileri</u>	16
<u>1.2.3. İnflamatuvar yanıtın başlaması ve İnflamazom</u>	16

1.2.4. Pro-İnflamatuar Süreçler	17
1.2.5. Pro-inflamatuar sitokinler	18
1.2.6. Doku tamiri ve inflamasyonun gerilemesi	19
1.2.7. Anti-inflamatuar Sitokinler	21
1.2.8. TH1 Hücreleri	21
1.2.9. TH1 Yanıt Mekanizması	22
1.2.10. TH2 Hücreleri	23
1.2.11. TH2 Etki Mekanizması	24
1.2.12. TH1/TH2 İlişkili Yanıt Mekanizması	25
1.2.13. Ti ve TH1/TH2 İlişkisi	26
1.2.14. IL-1B	26
1.2.15. TNF-α	27
1.2.16. IL-4	27
1.2.17. IL-10	28
1.2.18. TGF-B	29
1.2.19. IL-6	29
2. YÖNTEM	31
2.1. Luminex Test Analizleri	32
2.2. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	33
2.3. Reaktif Hazırlanışı	34
2.4. Analiz Prosedürü	37
2.5. Sonuçların Hesaplanması	38
3. BULGULAR	39
3.1. TNF-α Analiz Sonuçları	39
3.2. IL-4 Analiz Sonuçları	40
3.3. IL-6 Analiz Sonuçları	41
3.4. IL-10 Analiz Sonuçları	42
3.5. IL-1β Analiz Sonuçları	43
3.6. TGF- β Analiz Sonuçları	44
4. TARTIŞMA	45
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	54

<u>6. KAYNAKLAR</u>	55
<u>7. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI</u>	64
<u>8. ETİK KURUL İZİN YAZISI</u>	65
<u>9. KURUM İZNİ YAZILARI</u>	66



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 4.2: Yıkama Tamponları ve Standartların Hazırlanışı

Şekil 4.3: Luminex Dilüsyon Çözelti Hazırlama Prosedürü



TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Resim 2.2.1: Biyomateryallerin Tarihçesi

Resim 2.4.1: Biyomateryallerin Sınıflandırılması

Resim.2.4.2: Biyomateryallerin Kullanım ve Uygulama Alanları

Resim.2.8.1: Titanyumun Uygulama Bölgeleri

Resim 4.1: Luminex Analiz Cihazı

Grafik 5.1: TNF- α Düzeyleri

Grafik 5.2: IL-4 Düzeyleri

Grafik 5.3: IL-6 Düzeyleri

Grafik 5.4: IL-10 Düzeyleri

Grafik 5.5: IL-1 β Düzeyleri

Grafik 5.6: TGF-B Düzeyleri

KISALTMA LİSTESİ

Ag: Antijen

APC: Antijen Sunan Hücreler

BMP-2: Kemik Morfogenetik Protein 2

GM-CSF: Granülosit Monosit Koloni Uyarıcı Faktör

IFN- γ : İnterferon-gama

Ig: İmmunoglobulin

IL: İnterlökin

IL-1RA: IL-1 Reseptör Antagonisti

JAK: Janus Kinaz

MAPK: Mitojen-Aktive Protein Kinaz

NF- κ B: Nükleer Faktör Kappa-Beta

NLR: NOD benzeri reseptör

NOMID: Neonatal İnflamatuvar Çoklu Sistem Hastalığı

RAR: Retinoik Asit Reseptörü

Stat3: Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon 3 Aktivatörü

TGF- β : Transforming Büyüme Faktörü- β

Th1: T Helper 1

Th2: T Helper 2

Ti-500: Titanyum- 500

Ti: Titanyum

TiO₂: Titanyum Dioksit

TLR: Toll-Benzeri Reseptör

TNF-A: Tümör Nekroz Faktörü-Alfa

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

α : Alfa

β : Beta

γ : Gama

μ : mikro



ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

Ti ve Ti-500 İmplant Materyallerinin, İmplantasyon Sonrası Oluşan TH1/TH2 Sitokin Yanıtlarının Karşılaştırmalı Analizi

[Kaan CENGİZ]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Fizyoloji Anabilim Dalı

Fizyoloji, Tezli Yüksek Lisans Programı

[Danışman: Prof. Dr. Sibel AKYOL]

[Titanyum (Ti), klinik olarak birçok avantaja (biyouyumluluk, yüksek mukavemet, dayanıklılık) sahip olması nedeniyle implantasyon operasyonları için önemli bir yere sahiptir.

Çalışmamızda Ti ve Titanyum-500 (Ti-500) biyomateriyallerin spinal implantasyon sonrası akut dönemde, pro ve anti-inflamatuar sitokin mekanizmalarını nasıl etkilediğini, bununla birlikte bu iki biyomateriyalin klinik olarak avantaj ve dezavantajlarını göstermeyi planladık.

Araştırmamızda, erkek Wistar-albino soyundan sıçanlar üzerinde spinal bölgeye Ti ve Ti-500 implantlar yerleştirdik. Toplamda 21 adet erkek sıçan kullanıldı. Kontrol (K) (n=7), Ti (Ti) (n=7) ve Ti-500 (Ti 500) (n=7) gruplarına ayrıldı.

Biyomateriyaller, sıçanların L4 ve L5 arasına (10 mm çapında, 3 mm kalınlığında) implante edildi. 3., 7. ve 14. günlerde periferik kan örnekleri alındı ve IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α ve TGF- β sitokinleri Multi Analiz yöntemleri (Luminex) kullanılarak analiz edildi. İmmün sistemin inflamasyona yanıtını değerlendirmek için implantasyon sonrası IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α ve TGF- β sitokin seviyelerini karşılaştırmalı olarak analiz ettik.

3.günde K ile kıyaslandığında, IL-4 Ti grubunda, TGF- β ise Ti500 gruplarında ise K grubuna kıyasla Ti500 gruplarında çok anlamlı bir düzeyde artış ($p < 0.001$) göstermiştir.

7.günde K ile kıyaslandığında IL-4- ve TGF- β hem Ti hem Ti500 grubunda çok anlamlı bir artış ($p < 0.001$): IL-10 ise Ti500’de çok anlamlı ($p < 0.001$) bir düşüş göstermiştir.

14.günde IL-4 Ti500 grubunda çok anlamlı artış ($p < 0.001$) gösterirken, IL-10 ve TGF- β çok anlamlı düşüş ($p < 0.001$) göstermiştir.

Sonuçları değerlendirdiğimizde Ti500 grubunun implantasyon sonrası anti-inflamatuar sitokin uyarısını arttırarak inflamasyonu regüle ettiği ve pro-inflamatuar sitokinleri suprese ettiği bulunmuştur. İnflamasyon sürecinin kontrol altına alınması, komplikasyonların engellenebilmesi, iyileşme sürecinin Ti’ye göre daha hızlı olabilmesi açısından Ti500 implant materyalinin daha avantajlı olduğu akut dönem çalışmamızda net olarak ortaya konmuştur. | Mayıs 2023 .

Anahtar kelimeler: [Pro,inflamasyon, Anti-İnflamasyon, Titanyum, Titanyum-500, İmplantasyon, Pro-İnflamatuar Sitokinler, Anti-İnflamatuar Sitokinler]

ABSTRACT**[M.Sc. THESIS]****[Comparative Analysis of TH1/TH2 Cytokine Responses After Implantation of Titanium and Titanium-500 Implant Materials]****[Kaan CENGİZ]****İstanbul University-Cerrahpaşa****Institute of Graduate Studies****Department of Physiology****Physiology M.Sc.****[Supervisor : Prof. Dr. Sibel AKYOL]**

[Titanium (Ti) has an important place for implantation operations because it has many clinical advantages (biocompatibility, high strength, durability). In our study, we planned to show how Ti and Ti500 biomaterials affect pro- and anti-inflammatory cytokine mechanisms in the acute period after spinal implantation, as well as the clinical advantages and disadvantages of these two biomaterials.

In our research, we placed Ti and Titanium-500 (Ti-500) implants in the spinal region on male Wistar-albino rats. A total of 21 male Wistar-albino rats were used. They were divided into control (K) (n=7), Titanium (Ti) (n=7) and Titanium-500 (Ti 500) (n=7) groups.

Biomaterials were implanted between L4 and L5 (10 mm in diameter, 3 mm in thickness) of rats. Peripheral blood samples were taken on the 3rd, 7th and 14th days and the cytokines IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α and TGF- β were analyzed using Multi Analysis methods (Luminex). To evaluate the immune system's response to inflammation, we comparatively analyzed the cytokine levels of IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α and TGF- β after implantation.

When compared with K on the 3rd day, IL-4 in Ti group and TGF- β in Ti500 groups showed a very significant increase ($p < 0.001$) in Ti500 groups compared to K group. Compared with K at day 7, IL-4- and TGF- β showed a very significant increase ($p < 0.001$) in both Ti and Ti500 groups: IL-10 showed a very significant ($p < 0.001$) decrease in Ti500. On day 14, IL-4 showed a very significant increase ($p < 0.001$) in the Ti500 group, while IL-10 and TGF- β showed a very significant decrease ($p < 0.001$).

When we evaluated the results, it was found that the Ti500 group regulated inflammation and suppressed pro-inflammatory cytokines by increasing the anti-inflammatory cytokine stimulation after implantation. In our acute period study, it has been clearly demonstrated that the Ti500 implant material is more advantageous in terms of controlling the inflammation process, preventing complications, and speeding up the healing process compared to Ti. |

May 2023,

Keywords: | Pro-Inflammation, Anti-Inflammation, Titanium, Titanium-500, Implantation, Pro-Inflammatory Cytokines, Anti-Inflammatory Cytokines |

1. GİRİŞ

Ti implantasyonu, modern tıbbın önemli bir gelişmesidir ve birçok klinik avantaja sahiptir. En önemli avantajlarından biri, yüksek biyouyumluluk özelliğidir. Ayrıca, Ti implantlar, yüksek mukavemet ve dayanıklılık özelliklerine sahiptir. Bu özellikler, implantın uzun ömürlü olmasını sağlar ve çeşitli fiziksel zorlamalara karşı dayanıklı olmasını sağlar. Böylece, hastalar uzun vadeli başarı ve işlevsellik elde edebilirler. Ancak, avantajlarıyla birlikte dezavantajları da göz önünde bulundurulmalıdır.

Örneğin, implantların yerleştirildiği bölgedeki kemik miktarının yetersiz olduğu durumlarda ciddi sorunlar yaşanabilir ve implantların başarısızlığına neden olabilir. Ayrıca enfeksiyon riski de bulunmaktadır; bu durumda implantın çıkartılması gerekebilir.

Başka bir konu ise ekonomik problemdir. Ti implantasyon işlemi oldukça pahalıdır ve sigortalar genellikle bu tür tedaviler için ödemeler yapmayabilirler. Tüm bu dezavantajlara rağmen Ti implantı yöntemi günümüzde hala en popüler yöntemlerden biri olarak kullanılır.

Araştırmamızın amacı Ti alaşımlarının klinik anlamdaki bu dezavantajlı durumlarının önüne geçmek, implantasyon sürecini hastalar ve hekimler için daha rahat bir hale getirmektir. Bu noktada Ti-500 (Ti-500) isimli Ti alaşımı, araştırmamızın odak noktasını oluşturmaktadır. Ti-500 alaşımı, klinik olarak son yıllarda kendinden söz ettiren bir biyomateryaldir. Titanyuma göre biyouyumluluk açısından daha verimlidir. Hala süreçleri net bir şekilde ortaya konulmamıştır. Bu yüzden amaçlarımızdan bir diğeri Ti-500'ün bu avantajları sayesinde implantasyon süreçlerinde kendine daha fazla yer bulmasıdır.

Çalışmamızda Ti-500 implantasyonunun immün sistem için kritik rol oynayan bazı sitokinler üzerindeki (IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , TGF- β) etkisini ve implantasyon sonrası immün sistemin yanıtını karşılaştırmalı analiz yaparak inceledik. Sonuçlarımızla birlikte, özellikle Ti-500 implantasyonu sayesinde hastaların iyileşme süresinde yaşadığı komplikasyonları azaltmak ve olası problemlerin önüne geçmek için önemli bir perspektif sunacağımızı düşünüyoruz.

2.KAVRAMSAL ÇERÇEVE

1.1. Biyomateriyaller

Biyomateriyaller, biyolojik sistemlerle etkileşime girebilen ve belirli bir tıbbi amaç için tasarlanmış malzemelerdir. Bu malzemeler, insan vücuduyla uyumlu ve güvenli olmalıdır. Biyomateriyallerin tarihi, insan vücudu için kullanılan malzemelerin tarihi kadar eski olmasa da tıbbi uygulamalarda kullanılan malzemelerin gelişimiyle yakından ilişkilidir (1).

Bu malzemeler, doğal veya sentetik kaynaklardan elde edilebilir ve biyolojik uyumluluk, dayanıklılık, işlevsellik ve biyouyumluluk gibi özelliklere sahip olmalıdır.

Biyomateriyallerin temel amacı, vücutla uyumlu olmaları ve biyolojik tepkilerin kontrol edilmesiyle, hastalıkların tedavisinde, doku mühendisliğinde, implantlarda ve diğer tıbbi uygulamalarda kullanılmaktır (2).

1.1.1. Biyomateriyallerin Tarihçesi

Biyomateriyallerin tarihi, tıbbi uygulamaların kökenlerine kadar uzanmaktadır. Antik Mısırlılar, yaraların iyileşmesini hızlandırmak için bal, çam sakızı ve reçine gibi doğal materyaller kullanırdı. Benzer şekilde, antik Yunanlılar, yaraları kaplamak için farklı bitki özleri ve hayvan derileri kullanmışlardır (3).

Modern biyomateriyallerin gelişimi, 20. yüzyılın başlarına kadar uzanır. İlk olarak 1890'larda, Frank Burr tarafından geliştirilen "Biomimik" materyaller, biyolojik materyallerin taklit edilmesi için kullanılmaya başlandı. İkinci Dünya Savaşı sırasında, savaş yaralanmalarını tedavi etmek için birçok farklı materyal kullanılmaya başlandı. Bu materyaller arasında penisilin, kan nakli, insan derisi ve vücut dışı dolaşım cihazları bulunuyordu (4).

1950'lerde, biyomalzemelerin modern kullanımı için ilk adımlar atıldı. O dönemde, polietilen, polivinilklorür, poliüretan ve diğer sentetik polimerler gibi malzemeler, medikal cihazlar ve implantlar için kullanılmaya başlandı. Bu materyallerin kullanımı, insanların uzuvlarını ve diğer organlarını değiştirmelerine, hayatta kalmalarına ve daha iyi bir yaşam kalitesi sağlamalarına olanak tanıdı (3, 4).

1950 yıllarının devamında ilk kez yapay kalp valfleri yapılmaya başlandı. Bu valfler, insan vücuduyla uyumlu malzemelerden yapılmıştı ve başarılı bir şekilde kullanıldılar. Ancak, bu valflerle ilgili sorunlar ortaya çıktı ve uzun vadede başarısız oldular. Bu sorunların üstesinden gelmek için daha fazla araştırma yapılması gerekiyordu.

1960'larda, polimerlerin ve metallerin biyomateryaller olarak kullanılması başladı. Bu malzemeler, insan vücuduyla uyumlu ve güvenliydi. Bu nedenle, tıbbi cihazlar için kullanılmaya başlandılar. Bugün, biyomateryaller birçok farklı uygulamada kullanılmaktadır. Bu uygulamalar arasında yapay kalp valfleri, diş implantları, kemik protezleri, kalça protezleri ve diğer tıbbi cihazlar yer almaktadır.

Bugün, biyomateryaller, çok sayıda uygulama için kullanılmaktadır. Bu uygulamalar arasında doku mühendisliği, ilaç teslimatı, protezler ve implantlar yer almaktadır. Bu uygulamalar, biyomateryallerin geliştirilmesi, karakterizasyonu, uygulanması ve klinik kullanımları hakkında bilgiler sağlayarak, biyomateryal araştırmalarına önemli bir katkı sağlamıştır (5).

Biyomateryallerin Tarihçesi



Resim 2.2.1. Biyomateryallerin Tarihçesi

1.1.2. Biyomateryallerin Genel Özellikleri

Biyomateryaller işlevselliğini kaybetmiş veya hasar almış vücut bölümlerinin onarılması veya tekrardan işlevsel hale getirilmesi için, bütün veya kısmi vücut bölümleri içerisinde veya vücut dışında kullanılması amacıyla üretilen sentetik veya doğal malzemeler grubudur. Normal bir insan yaşamı boyunca hücre veya doku grupları, birçok değişime veya farklılığa maruz kalmaktadır ve bu değişime önyak olan ortam şartlarına göre birbirinden farklı özellikler ortaya çıkarabilirler. Biyomateryaller ise biyolojik ortamdaki bu koşullara uygun üretilip, kullanılması amaçlanmaktadır (1).

Biyomateryaller, özel hastalıklara sahip bireylerin tedavi süreçlerine uyarlanabilirlik ve işlenebilirlik özelliklerine sahip malzemelerdir. Bu süreçler, teknolojik ilerlemelerle birlikte hızla gelişmektedir. Bilimsel çalışmalar, biyomateryallerin özelliklerinin sürekli olarak geliştirildiğini ve daha uyarlanabilir hale geldiğini göstermektedir (4). Özellikle hücre ve doku yenilenmesi ve yeniden oluşumu için yüksek biyoyumuşaklık gösteren materyaller üzerinde yoğun çalışmalar yürütülmektedir. Bugünün odak noktasında, polimerik biyomateryaller, biyokompozitler ve biyoseramikler gibi yüksek biyoyumumluluğa sahip materyaller yer almaktadır. Biyomateryal gelişimi, multidisipliner süreçlere dayalı olarak ilerlemektedir. Özellikle nanoteknoloji gibi yeni teknolojiler, biyoyumlu malzeme üretimi konusunda önemli katkılar sağlamaktadır.

Biyomateryaller, çeşitli alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmakta olup, sağlık sektöründeki kullanımları çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler temelde canlı sistemdeki uyumluluğu hedefler. Özellikle materyalin canlı sistemdeki katabolik aktiviteye olan direnci, toksik olmaması, sinyal iletimlerine engel olabilecek bir yapıda olmaması ve mekanik olarak en uyumlu yapıda olması gibi değişkenler içerir. Tüm bunlarla birlikte oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olan bu materyal grubu yaygın olarak yapay deri ve organ, cerrahi malzemeler ve implantların üretimi gibi süreçlerde önemli rol oynamaktadır.

1.1.3. Biyomateryallerin Sınıflandırılması

Biyomateryaller, farklı özelliklere göre farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Ancak genel olarak, biyomateryaller aşağıdaki kategorilere ayrılabilir:



Resim 2.1.1. Biyomateriyallerin Sınıflandırılması

Biyomateriyallerin sınıflandırılması, malzeme özelliklerine ve kullanım alanlarına göre değişebilir ve yukarıdaki kategoriler sadece genel bir bakış sunmaktadır (4,6).

Biyomateriyaller sadece implant veya cerrahi malzeme olarak kullanılmamak ile biyolojik ortamın dışında ama içeriyle etkileşimde olan biyoteknolojik cihazlarda da oldukça sık kullanılmaktadır. Fiziksel özelliklerin uyumluluğu biyomateriyaller için yüksek oranda öneme sahiptir. Özellikle işlenebilirlik, steril edilebilirlik, nontoksik, nonkarsinojenik, elastisite gibi önemli değişkenlerin yanı sıra üretiminin kolay ve düşük maliyetli olması da önem arz etmektedir. Aşağıda bulunan Tablo.1’de bazı biyomateriyal gruplarının kullanım alanlarına ait örnekler yer verilmiştir (7).

Kullanılan Alan	Uygulanan Alan
Kozmetik	Silikon, dolgu ve diş telleri
Fonksiyonunu kaybetmiş organların ya da uzuvların yerine	Protez, Diyaliz ve İmplant
Hastalık teşhisleri	Endoskopi ve kolonoskopi
Cerrahi	Ameliyat iplikleri, cerrahi tel ve vidalar
Hasarlı organlar için	Kalp pili, işitme cihazları

Resim.2.1.2. Biyomateriyallerin Kullanım ve Uygulama Alanları

1.1.4. Biyomateriyaller ve Sitokin İlişkisi

Biyomateriyaller ve sitokinler arasındaki ilişki moleküler düzeyde oldukça karmaşıktır. Biyomateriyaller, vücuttaki hücrelerin ve dokuların onarımı veya yenilenmesi için kullanılan yapay materyallerdir. Bu materyaller, sitokinlerin salınımını tetikleyebilir ve sitokinlerin aktivitesini değiştirebilir (8).

Sitokinler, hücreler arasında iletişim sağlayan proteinlerdir ve çeşitli fonksiyonları vardır. İnflamatuar sitokinler, inflamasyon ve immün yanıtın aktivasyonu için gereklidir. Bu sitokinler, hücrelerin yaralanma, enfeksiyon veya diğer stres faktörlerine karşı savunmasını sağlar. Öte yandan, anti-inflamatuar sitokinler, inflammatuar sürecin sonlandırılmasına ve vücudun normal fonksiyonlarının yeniden kurulmasına yardımcı olur (9).

Biyomateriyaller, immün yanıtı da etkileyebilir ve sitokinlerin salınımını modüle edebilir. Bu etki, biyomateriyalin özelliklerine ve uygulama şekline bağlı olarak değişebilir. Örneğin, bazı biyomateriyaller inflammatuar sitokinlerin salınımını artırabilirken, diğerleri anti-inflamatuar sitokinlerin salınımını artırabilir. Bazı biyomateriyaller ise sitokin salınımını önlemek veya inhibe etmek için kullanılabilir.

Sitokinler ve biyomateriyaller arasındaki ilişki, hücrelerin ve dokuların onarımı ve yenilenmesi için kullanılan yapay materyallerin geliştirilmesi ve uygulanması açısından önemlidir. Bu ilişki, vücuttaki immün yanıtı kontrol etmek için kullanılabilecek yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir (9,10).

Bu konuda yapılmış birçok çalışma vardır. Yapılan çalışmalarda, biyomateryallerin sitokinlerin salınımını nasıl etkilediği ve sitokin aktivitesini nasıl modüle ettiği araştırılmıştır (11).

1.1.5. Biyouyumluluk

Biyoyumluluk, bir malzemenin veya implantın, canlı bir organizma ile etkileşimde bulunduğunda uygun ve istenmeyen yan etkiler oluşturmada tolere edilebilme yeteneğidir (4). Biyoyumluluk, malzeme ve organizma arasındaki etkileşimi, implantın vücutta kalıcılığını ve fonksiyonunu etkileyebilecek faktörleri içerir.

İmplantasyon perspektifinden bakıldığında, biyoyumluluk, bir implantın vücutta uzun süreli kalıcılığını, çevresel dokularla uyum içinde çalışmasını ve herhangi bir yan etkiye neden olmamasını sağlama amacını taşır. Bu, implantın biyolojik uyumluluğunu, fiziksel uyumluluğunu ve kimyasal uyumluluğunu içerir.

Biyolojik uyumluluk, implantın organizma ile etkileşimde bulunurken canlı dokulara zarar vermemesi ve inflamasyon veya immün yanıt gibi istenmeyen reaksiyonlara yol açmaması anlamına gelir. Fiziksel uyumluluk, implantın boyutu, şekli ve mekanik özellikleri ile çevresel dokuların uyumu arasındaki ilişkiyi ifade eder. Kimyasal uyumluluk ise, implantın malzemesinin, vücut sıvıları veya doku bileşenleriyle uyumlu olması ve kimyasal olarak kararlı kalması anlamına gelir (3,4).

Biyoyumluluk değerlendirmeleri, implant malzemesinin hücrelere, doku ve organlara etkilerini inceleyen laboratuvar testleri, hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar yoluyla gerçekleştirilir. Bu değerlendirmeler, implantın güvenliği, performansı ve etkinliği hakkında bilgi sağlar ve implantın pazarlanmadan önce gerekli onayları alması için gereklidir.

1.1.6. Biyoyumluluk ve İmmün Sistem

Biyoyumluluğun sağlanmasında sitokinler önemli bir rol oynar. Sitokinler, hücreler arasındaki iletişimde görev alan proteinlerdir ve hücresel cevapların düzenlenmesinde önemli bir rol oynarlar. Biyomateryallerin vücutta biyoyumlu olarak kalması ve istenmeyen inflamatuvar tepkilerin önlenmesi için, sitokinlerin biyoyumluluğa katkısı önemlidir. Sitokinler, biyomateryalin yüzey özelliklerinin, yüzey kimyasının ve topografisinin hücresel cevaplar üzerindeki etkisini de düzenleyebilirler (12).

Örneğin, bir biyomateryalin yüzeyindeki kimyasal gruplar, hücrelerin adhezyonunu ve proliferasyonunu etkiler. Sitokinler, bu hücrel etkileri düzenleyerek biyomateryalin vücut tarafından kabul edilebilirliğini artırabilirler (11). Ayrıca, sitokinlerin inflamatuvar yanıtı azaltıcı etkileri de vardır. Bu nedenle, sitokinlerin biyoyumluluk üzerindeki etkileri, biyomateryallerin vücutta uzun süreli kalıcılığını sağlamak için önemlidir.

Sitokinlerin biyoyumluluk üzerindeki etkileri, biyomateryal ve vücut arasındaki etkileşimin karmaşıklığını yansıtmaktadır. Bu nedenle, biyomateryal tasarımı sürecinde sitokinlerin biyoyumluluğa olan etkilerinin dikkate alınması büyük önem taşımaktadır. Ek olarak, sitokinlerin biyomateryal ve vücut arasındaki etkileşimleri, biyomateryallerin vücutta uzun süreli bir şekilde kalıcılığını sağlamak için gerekli olan mekanizmaların anlaşılmasına da katkıda bulunabilir.

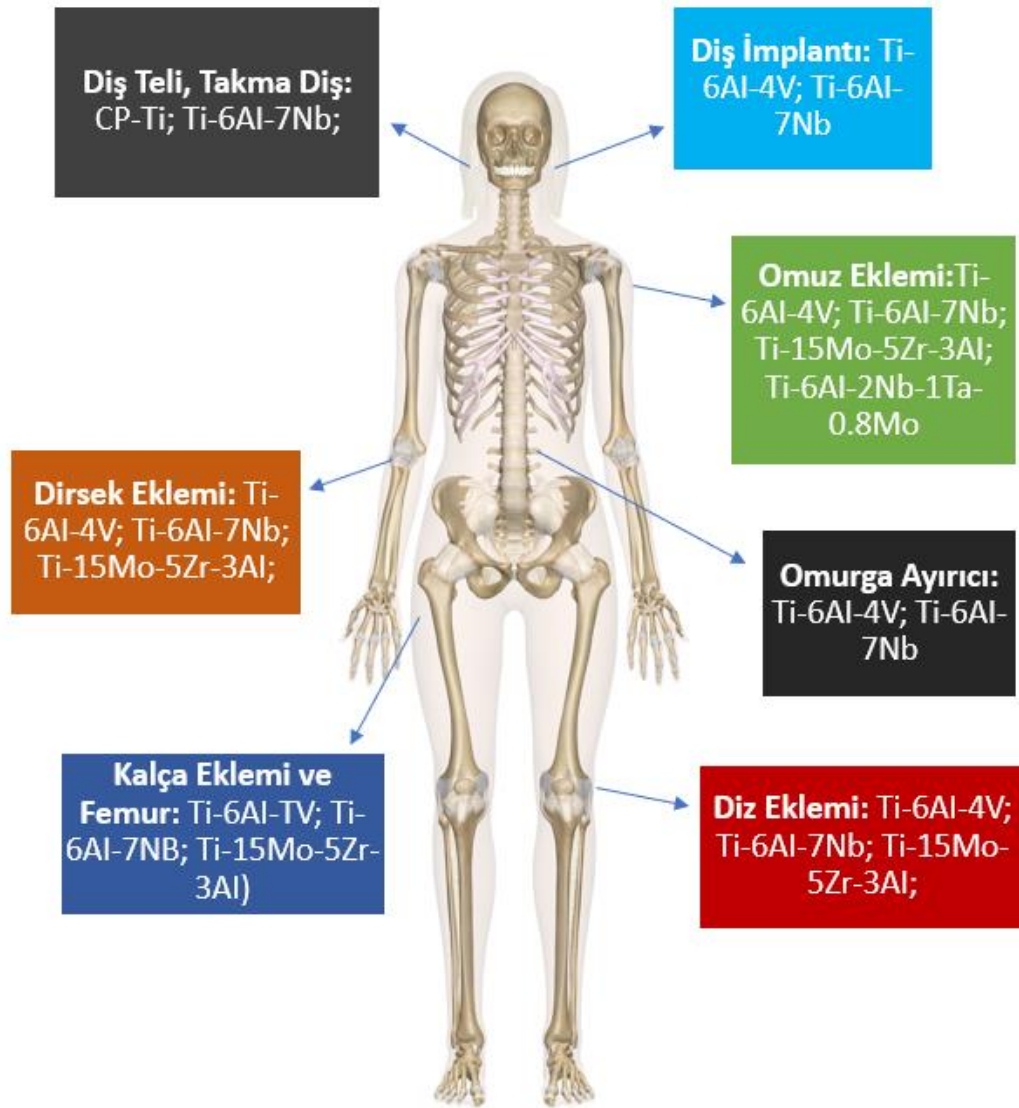
1.1.7. Titanyum Alaşımı

Titanyum, biyoyumluluğu, korozyon direnci, mekanik özellikleri ve uygun biyolojik davranışı nedeniyle biyomedikal uygulamalar için ideal bir malzemedir. Yüksek mukavemeti ve hafifliği nedeniyle çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır (13,14). Ayrıca, titanyumun yüksek biyoyumluluğu, kemik dokusu ile mükemmel bir uyum sağlaması ve kemik dokusu rejenerasyonunu kolaylaştırması nedeniyle ortopedik implantlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (15).

Titanyumun biyoyumluluğu, yüzeyindeki oksit filminin varlığından kaynaklanmaktadır. Oksit filmi, Ti yüzeyinde doğal olarak oluşan bir koruyucu tabakadır ve aynı zamanda bir biyoaktif materyaldir. Bu film, titanyumun yüzeyindeki korozyon direncini artırır ve implantın kemik dokusu ile birleşme sürecini hızlandırır (16).

Ayrıca, titanyumun düşük termal iletkenliği, manyetik olmayışı ve X-ışınlarına gösterdiği düşük absorbanı da önemli özelliklerdir. Bu nedenlerle, Ti implantlarının radyografik görüntüleme diğer malzemelere göre daha avantajlı olduğu düşünülmektedir (17).

Sonuç olarak, Ti biyomateryalleri, uygun mekanik ve biyolojik özellikleri, yüksek biyoyumluluğu ve korozyon direnci ile biyomedikal uygulamalar için ideal bir malzeme olarak kabul edilmektedir.



Resim.2.8.1. Titanyumun Uygulama Bölgeleri

1.1.8. Ti-500 Genel Özellikleri

Ti-500, Ti ve alüminyumun bir alaşımıdır ve biyolojik implantlar için birçok avantaja sahiptir. Biyolojik uyumluluk açısından, Ti-500 yüksek bir biyoyumluluk profiline sahiptir. Vücut dokularıyla uyumlu bir şekilde etkileşime girer ve biyolojik sistemlerle minimum düzeyde toksik veya zararlı reaksiyonlara neden olmaz. Bu özelliği, implantın başarılı bir şekilde entegrasyonunu ve doku iyileşmesini destekler (19).

Mekanik özellikler açısından, Ti-500 mükemmel dayanıklılık ve mukavemet özelliklerine sahiptir. Bu malzeme, implantların uzun süreli kullanımı için gereken mekanik

gereksinimleri karşılamak için uygundur. Ayrıca, Ti-500'ün düşük yoğunluğu, implantların ağırlığını azaltır ve hasta konforunu artırır (20,21).

Yüzey özellikleri de Ti-500'ün biyouyumluluğunu etkileyen önemli faktörlerden biridir. Ti-500 yüzeyi, hücrelerin tutunmasını ve kemik dokusuyla entegrasyonunu teşvik eden mikroyapısal özelliklere sahiptir. Bu, implantın stabilitesini artırır ve uzun vadeli başarı oranlarını iyileştirir. Ayrıca, yüzey modifikasyon teknikleri kullanılarak Ti-500'ün biyolojik performansı daha da optimize edilebilir (22).

Ti-500, biyomedikal uygulamalarda potansiyeli yüksek bir biyomateriyaldir ancak malzemenin performansını daha da geliştirmek ve iyileştirmek için sürekli araştırma ve geliştirme çalışmaları yapılmalıdır. Özellikle, implant-biyoloji arayüzünde daha fazla verim elde etmek ve implantların uzun vadeli başarı oranlarını arttırmak için daha fazla çalışma gerekmektedir. Bu şekilde, Ti-500 ve benzeri biyomateriyallerin biyouyumluluk, dayanıklılık ve doku entegrasyonu açısından daha etkin ve güvenilir olması sağlanabilir (23).

1.1.9. Titanyum ve Ti-500 Arasındaki Farklar

Ti ve Ti-500, biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılan iki önemli materyaldir. Her ikisi de Ti alaşımlarından oluşurken, bazı temel farklılıklar da sergilerler.

Kimyasal bileşim açısından, Ti saf elementin alaşımları içerisinde bulunan ana bileşendir, genellikle alüminyum ve vanadyum gibi diğer elementlerle birleştirilir. Öte yandan, Ti-500, daha yüksek saflıkta Ti içerir ve özel alaşım bileşenlerine sahip olabilir. Bu bileşim farklılıkları, malzemenin mekanik ve fiziksel özelliklerini etkileyebilir (17).

Mekanik özellikler açısından, Ti ve Ti-500 farklı mukavemet ve dayanıklılık seviyelerine sahiptir. Ti, yüksek mukavemet özellikleri ile bilinir. Bu, Ti implantlarının dayanıklı ve uzun ömürlü olmalarını sağlar. Diğer yandan, Ti-500 daha yüksek dayanıklılık seviyelerine sahip olup, yorulma direnci ve yüksek sıcaklık performansı gibi özellikleriyle dikkat çeker (24).

Korozyon direnci açısından, Ti ve Ti-500 genellikle korozyona karşı dirençlidir. Ancak, Ti-500, daha yüksek saf Ti içeriği nedeniyle daha yüksek bir korozyon direnci sergileyebilir (25). Bu özellik, uzun vadeli implant stabilitesini ve dayanıklılığını artırır.

Son olarak, işlenebilirlik ve implant tasarımı açısından, Ti ve Ti-500 farklı özelliklere sahiptir. Ti, mükemmel şekillendirilebilirlik özelliğine sahip olup, karmaşık implant

tasarımlarının üretimini kolaylaştırır. Öte yandan, Ti-500 daha yüksek sertlik ve yüksek sıcaklık performansı nedeniyle işleme zorluklarına neden olabilir, bu nedenle bazı durumlarda özel üretim teknikleri gerektirebilir.

1.1.10. Titanyum ve İmmün Sistem ilişkisi

Ti biyomateryaller, kemik, diş implantları ve kalça protezleri gibi birçok ortopedik ve dental uygulamada kullanılan biyouyumlu malzemelerdir. Sitokinler, bu biyomateryallerin hücrel etkileşimlerinde önemli bir rol oynarlar.

Ti biyomateryallerin hücrel etkileşimleri, yüzey özelliklerine bağlıdır. Ti yüzeyi, doğal olarak oksitlenen bir tabaka olan Ti dioksit (TiO_2) ile kaplanır. Bu oksitlenmiş yüzey, hücrelerin yüzeye bağlanmasına ve çoğalmasına izin verir. Ayrıca, sitokinlerin yüzeyle etkileşimlerine de izin verir (26).

Sitokinlerin Ti yüzeyi ile etkileşimi, hücrelerin biyomateryale yapışmasına ve çoğalmasına izin verir. Sitokinler, yüzey kaplamasına bağlı olarak, örneğin fibronektin, vitronektin, kolajen gibi proteinlerin adsorpsiyonunu arttırabilirler. Bu proteinler hücrelerin yüzeye bağlanmasını kolaylaştırır ve hücre çoğalmasını arttırır (26).

Ti biyomateryallerin sitokinlerle etkileşimi, inflamasyon ve hücrel cevap mekanizmalarını da etkileyebilir. Sitokinlerin yüzeyle etkileşimi, hücrelerdeki çeşitli sinyal yollarını aktive eder. Bu sinyal yolları aracılığıyla, inflamasyon ve immün yanıt mekanizmaları aktive olabilir. Aynı zamanda, sitokinlerin yüzeyle etkileşimi, hücre farklılaşması ve kemik yenilenmesi gibi biyolojik işlevlerin uyarılmasını da sağlayabilir (27).

Bu nedenle, sitokinlerin Ti ile etkileşimi, biyouyumlu malzemelerin hücrel etkileşimleri ve biyolojik performansları açısından önemlidir. Ancak, sitokinlerin etkileşimleri, yüzey özellikleri, sitokin türleri ve konsantrasyonları gibi birçok faktöre bağlıdır ve bu faktörlerin birbiriyle olan kompleks etkileşimleri, biyomateryallerin biyolojik performansını etkileyebilir (28).

Ti biyomateryallerin hücrel cevap mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda oldukça artmıştır. Ti yüzeylerindeki kimyasal ve fiziksel özellikler, hücrelerin adhezyonu, proliferasyonu, farklılaşması ve sitokin üretimi gibi süreçleri etkileyebilir (29).

Ti yüzeylerindeki mikro ve nano topografik özelliklerin hücre davranışını nasıl etkilediği üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, nano topografik Ti yüzeylerindeki farklılıkların

hücre adhezyonu, proliferasyonu ve farklılaşması üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmalar, nano topografik Ti yüzeylerinin hücre adhezyonunu artırdığını ve osteoblastların kemik oluşumu için gerekli sitokinlerin (örneğin, BMP-2, VEGF) üretimini artırdığını göstermiştir (13).

Ayrıca, Ti yüzeylerindeki adsorbe edilmiş proteinlerin hücre davranışını nasıl etkilediği de araştırılmıştır. Bu proteinler, hücrelerin yüzeye yapışmasına ve farklılaşmasına yardımcı olan peptitler ve sitokinleri içerebilir. Örneğin, Ti yüzeylerinde adsorbe edilmiş fibronektin ve vitronektin gibi proteinlerin, hücre adhezyonu ve osteoblastların kemik oluşumu için gerekli sitokinlerin (örneğin, BMP-2) üretimini artırdığı gösterilmiştir (21).

Sonuç olarak, Ti biyomateriyallerinin hücresel cevap mekanizmaları oldukça karmaşıktır ve farklı kimyasal ve fiziksel özelliklerin hücre davranışını nasıl etkilediği hala tam olarak anlaşılamamıştır. Ancak, yüzey özellikleri ve adsorbe edilmiş proteinlerin, hücre adhezyonu, farklılaşması ve kemik oluşumu için gerekli sitokinlerin üretimi üzerine önemli etkileri olduğu gösterilmiştir.

Diğer bir çalışmada, Ti yüzeylerindeki kimyasal özelliklerin hücre davranışını nasıl etkilediği incelenmiştir. Bu çalışma, Ti yüzeylerindeki hidroksiapatit kaplamalarının, osteoblastların kemik oluşumu için gerekli sitokinlerin (BMP-2, TGF- β) üretimini artırdığını göstermiştir (29).

1.1.11. Osseointegrasyon

Osseointegrasyon, dental veya ortopedik implantasyon gibi cerrahi bir prosedürle vücuda yerleştirilen Ti implantların kemik ile sağlam bir şekilde bütünleşmesini ifade eden bir terimdir. Osseointegrasyon, implantın yüzeyine doğal kemik dokusunun kontrollü bir şekilde büyümesi ve implant ile kemik arasında bir bağlantı oluşturması sürecini tanımlar (31).

İmplant, cerrahi olarak uygun bir bölgeye yerleştirildikten sonra, ilk aşamada yara iyileşmesi ve inflamasyon süreci başlar. İmplant yüzeyindeki mikro ve nano ölçekteki özellikler, kemik hücrelerinin migrasyonunu ve tutunmasını teşvik eder (32).

Osseointegrasyon süreci, implant yüzeyinde oluşan fibrin pıhtısının, kemik hücreleri, osteoblastlar ve osteoklastlar tarafından yerine konmasıyla başlar. İmplant yüzeyi, hücrelerin adezyonunu ve yayılmasını artırmak için tasarlanmış mikro-oluklar, mikro-pürüzler veya

nano-yüzey özellikleri içerebilir. Bu yüzey özellikleri, kemik hücrelerinin implant yüzeyine tutunmasını ve çoğalmasını kolaylaştırır (32,33).

Kemik hücreleri implant yüzeyine tutunduktan sonra, osteoblastlar yeni kemik doku sentezlemeye başlar. Osteoblastlar, implant yüzeyinde bulunan Ti oksit tabakasının üzerine bir kolajen matrisi üretir. Bu matris, kemik hücrelerinin büyümesini ve kemik dokusunun oluşumunu teşvik eder. Osteoklastlar ise implant yüzeyindeki fazla kemik dokusunu parçalar ve remodelasyon sürecini başlatır.

Osseointegrasyon süreci, zamanla ilerleyerek implant ile çevreleyen kemik dokusu arasında sağlam ve stabil bir bağlantı oluşturur. Bu bağlantı, implantın doku tarafından kabul edilmesini ve mekanik yüklerin kemik üzerine etkili bir şekilde aktarılmasını sağlar (34).

1.2. İnflamatuvar Süreçler

İnflamasyon; mikrop ve toksinlerin hücrelere zarar vermesini önlemek veya nekrotik veya ölü dokuyu yaralanmadan uzaklaştırmak için organizmanın devamlılığı için tasarlanmış koruyucu bir yanıttır. Bu süreç kan damarları ve lökositlerin önemli rol oynadığı kompleks bir olgudur. Vasküler ve hücrel inflamatuvar yanıtlar, çeşitli hücreler tarafından üretilen veya spesifik plazma proteinlerinden türetilen araçlar tarafından tetiklenir (35).

Mikroorganizmalar, toksinler, nekrotik hücreler, mekanik ve kimyasal faktörler ve hatta hipoksi, inflamatuvar mediatörlerin salınmasını ve inflamasyonun başlamasını tetikleyebilir. Normal koşullar altında, sıkı bir şekilde kontrol edilen tepki, daha fazla hasarı önler ve hasarlı dokuyu ortadan kaldırırken, hastalık durumlarında patolojik İnflamasyon, hücre dışı matrisin bozulmasına ve organ işlev bozukluğuna neden olur (36).

İnflamasyon; uyarının tipine, ilk uyarı ortadan kaldırmak için verilen yanıtın yeterliliğine ve meydana gelen doku hasarına bağlı olarak akut veya kronik olabilir. Akut inflamasyon hızla başlar, kısa sürer (saatler ile günler) ve lökosit zengin ödem ve doku infiltrasyonu ile karakterizedir (35).

1.2.1. Kronik inflamasyon

Kronik inflamasyon, uzun bir süre boyunca doku hasarı ve onarım sürecinin birbiriyle bağlantılı olduğu bir durumdur. Bu inflamasyon genellikle akut inflamasyonun ardından ortaya çıkar veya sessizce başlayabilir. Kronik inflamasyonun çeşitli nedenleri vardır, bunlar

arasında persistan enfeksiyonlar (mikobakteri, bazı virüsler ve parazitler), immünolojik inflamatuvar hastalıklar ve potansiyel toksik ajanlara (örneğin silika gibi) sürekli maruziyet yer alabilir. Kronik inflamasyonda, damar değişiklikleri, ödem ve nötrofil infiltrasyonunun aksine, mononükleer hücrelerin (makrofaj, lenfosit ve plazma hücreleri) zengin olduğu bir infiltrasyon gözlenir. Ayrıca, dokuda yıkım ve bunun sonucunda bağ dokusunun rejenerasyonu ve onarımı da belirgin bir şekilde meydana gelir (37,38).

1.2.2. İnflamasyonun sistemik etkileri

Sitokinlerin artış gösterdiği inflamatuvar uyarılara yanıt olarak özellikle akut inflamasyonda sistemik belirtiler ortaya çıkabilir. Bu akut faz yanıtı, ateş, akut faz proteinleri (CRP, fibrinojen) ve lökositoz gibi klinik ve patolojik değişiklikleri içerebilir (35).

1.2.3. İnflamatuvar yanıtın başlaması ve İnflamazom

Normal dokular patojenlerle temas ettiğinde, yerleşik hücrelerde bulunan örüntü tanıma reseptörleri aktive olur ve bu da doğuştan gelen immün tepkiyi tetikler. Doğuştan gelen immün sistemi, konak savunmasının erken aşamalarını düzenlemenin yanı sıra dendritik hücreler aracılığıyla adaptif immün sistemini de aktive eder. Hücre sitoplazması, tehlike sinyallerini ve potansiyel patojenleri tanıyan reseptörler içerir (39).

İnflamasyon, en iyi tanımlanan sistemlerden biri olup, insanlarda 22 NOD benzeri reseptör (NLR) ailesi üyesinden oluşur. Aktive olan NLR proteinleri, diğer proteinleri bu bölgeye çeker ve kaspaz-1 ve apoptosis ile ilişkili benek benzeri adaptör molekül (ASC) ile bir kompleks oluşturur. Kaspaz-1'in aktivasyonu, İnflamasyonun en önemli işlevlerinden biri olup IL-1, IL-18 ve IL-33'in bölünüp aktive edilmesine neden olur. İnflamasyonun bozulması oto inflamatuvar hastalıklara yol açabilir (39). Örneğin, NLR genindeki mutasyonlara bağlı olarak ailesel soğuk oto inflamatuvar hastalık, Mucklewell hastalığı ve neonatal inflamatuvar çoklu sistem hastalığı (NOMID) gibi durumlar görülebilir. Bu nadir hastalıklar, İnflamasyonun anormal aktivasyonu ve beklenmedik IL-1 β salınımı ile ilişkilidir.

Doğuştan gelen immün sistemini aktive etmek, inflamatuvar hücrelerin hızla bu bölgeye göç etmesini sağlar. Vasküler endotel hücreleri, mast hücreleri, dendritik hücreler ve stromal fibroblastlar gibi yerleşik hücreler, eikosanoidler ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımıyla bu sürece yanıt verir (36,40). Bu araçlar, beyaz kan hücrelerinin bölgeye daha fazla göç etmesini sağlayarak inflamatuvar yanıtı artırır. Uyarılan hücreler ve göç, toksik reaktif

nitrojen ve oksijen ara ürünlerinin yanı sıra matris metalloproteinazlar (MMP'ler), serin ve sistein proteazlar gibi çeşitli proteazların salınımını tetikler. Bu moleküller enfeksiyöz ajanları yok eder ve hasarlı dokuyu temizlemek ve onarmak için hasarlı dokudan kurtulmayı sağlar. Ancak, akut inflamatuvar mekanizmaların uzun süreli uyarılması ciddi doku hasarına yol açabilir. Normal bir fizyolojik tepki, yara iyileşmesi için gerekli destek dokunun oluşmasını ve ekstraselüler matriksin (ECM) proteolitik enzimler tarafından yeniden şekillenmesini sağlar (40).

1.2.4. Pro-İnflamatuvar Süreçler

Proinflamatuvar süreçler, birçok hücrel sinyal yolu aracılığıyla kontrol edilen karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, immün sistemi hücreleri tarafından enfeksiyon veya hasar gibi uyarılara yanıt olarak başlatılır ve proinflamatuvar sitokinlerin salınmasıyla sonuçlanır.

Proinflamatuvar sitokinler arasında en iyi bilinenleri tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-1 (IL-1), IL-6 ve IL-12'dir. Bu sitokinler, özellikle makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücreler tarafından salınır ve bir dizi hücrel yanıtı tetikler. Örneğin, TNF- α ve IL-1, kan damarlarının geçirgenliğini artırarak lökositlerin enfeksiyon bölgesine göç etmesini sağlar. IL-6, antikor üretimini uyarır ve ateş gibi genel yanıtlara neden olabilir (41).

Bu süreçler, ayrıca proinflamatuvar sitokinlerin hücre içi sinyal yolları aracılığıyla üretilmesi ve salınmasını kontrol eden birçok faktör tarafından da düzenlenir. Örneğin, nükleer faktör Kappa B (NF- κ B), TNF- α ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu indükleyen bir sinyal yoludur. Bunun yanı sıra, JAK-STAT yolu, IL-6 ve IL-12 gibi diğer sitokinlerin sinyal iletiminde rol oynar (42).

Bu süreçler sırasında, proinflamatuvar sitokinler arasında en önemlileri Tümör Nekrozis Faktörü-alfa (TNF- α), İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6), İnterferon-gama (IFN- γ) ve İnterlökin-12 (IL-12) gibi moleküllerdir. Bu moleküller, hücreler arası iletişim için özel reseptörlere bağlanarak hücre fonksiyonlarını düzenler (42,43). Örneğin, TNF- α ve IL-1, makrofajlar ve diğer immün hücrelerin aktivasyonunu arttırarak bakteri ve virüslere karşı daha etkili bir yanıt verilmesine yardımcı olur. IL-6, hasarlı dokuların onarımına katkıda bulunan hücrelerin üretimini arttırırken, IFN- γ ise enfekte hücreleri öldürerek enfeksiyonun yayılmasını önler (43,44).

Proinflamatuvar süreçlerin aşırı veya yanlış yönlendirilmiş bir yanıtı, inflamasyonun kronikleşmesine ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu hastalıklar

arasında romatoid artrit, ülseratif kolit, astım, ateroskleroz, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları yer alır (45,46,47).

Proinflamatuvar süreçler, birçok hücresel sinyal yolu aracılığıyla kontrol edilen karmaşık bir süreçtir. Bu süreçler, enfeksiyon veya hasar gibi uyarılara yanıt olarak proinflamatuvar sitokinlerin salınmasıyla tetiklenir ve çeşitli hücresel yanıtlara neden olur. Bu süreçlerin daha detaylı bir anlayışı, immün sistemi hastalıklarının geliştirilmesi ve tedavisinde faydalı olabilir.

1.2.5. Pro-inflamatuvar sitokinler

Makrofajlardan ve fibroblastlardan kaynaklanan proinflamatuvar sitokinler, immün sisteminin aktivasyonunu sağlayan araçlardır. IL-1 ailesinin proinflamatuvar üyeleri (IL- α , IL-1 β , IL-18 ve IL-33) ve TNF'nin farklı etkileri bulunmaktadır (41). Bu sitokinler adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır, hücre proliferasyonunu uyarır ve endotel hücre antijen sunumunu tetikler. Ayrıca, IL-1 ve TNF, matris bozulmasında rol oynayan kolajenaz ve stromelizin gibi enzimlerin ekspresyonunu artırır ve fibroblastlardan prostaglandin E2 (PGE2) gibi diğer inflamatuvar mediatörlerin sentezini uyarır (41).

TNF inhibitörleri sedef hastalığı, romatoid artrit ve inflamatuvar barsak hastalığı gibi inflamatuvar hastalıkların etkili tedavileri olarak kullanılmaktadır. Aynı şekilde, IL-1 inhibitörleri ailesel soğuk oto inflamatuvar hastalık ve Mucklewell sendromu gibi genetik hastalıkların tedavisinde etkili olabilmektedir. IL-1 ve TNF, akut sitokin yanıtının sadece bir kısmını oluştururlar. Diğer faktörler arasında IL-6 ve ilgili sitokinler (IL-11, osteopontin) gibi akut faz reaktanlarını indükleyen ve immün tepkilerini TH1 veya TH2'ye farklılaştıran faktörler de bulunmaktadır (48).

GM-CSF, dendritik hücre olgunlaşmasını düzenler ve bu hücrelerde HLA-DR ekspresyonunu ve antijen sunumunu artırır. TH1 lenfokini IFN- γ , kolajen üretimini baskılar ve HLA-DR ile endotelial hücre adezyon molekülü ekspresyonunu artırır (49). IL-1, IL-6, IL-23 gibi sitokinler ise IL-17 ailesine ait ürünlerin (IL-17A-F) üretimini düzenleyerek inflamasyon ve otoimmünite bağlamında Th17 farklılaşmasını etkiler. Bu süreçte IL-17A ve muhtemelen IL-17F'nin IL-1 ve TNF ile sinerjistik etkileri önemli bir rol oynar. Büyüme faktörü TGF- β , diğer T hücrelerinin antijene özgü tepkilerini baskılayan bir T hücresi düzenleyici fenotipe yol açarak hücrelerin farklılaşmasını sağlar. Sitokinler, birçok inflamatuvar hastalığın başlangıcında ve seyri boyunca önemli bir rol oynar. Özellikle sedef

hastalığındaki sitokin ağı oldukça karmaşıktır ve INF- γ , TNF- α , çeşitli interlökinler ve kemokinler bu hastalığın gelişimine katkıda bulunur (49,50).

1.2.6. Doku tamiri ve inflamasyonun gerilemesi

İnflamasyon normal bir fizyolojik tepkidir, ancak devam ederse ciddi doku hasarına neden olabilir. Bu nedenle, bir inflamatuvar yanıt harekete geçtiğinde, dengeyi korumak için ek mekanizmalar devreye girer. Aracı ve efektör hücreleri uzaklaştırarak veya etkisiz hale getirerek akut inflamasyonu baskılamak, konakçının uygun büyüme faktörleri ve sitokinleri serbest bırakarak hasarlı dokuyu onarmasına izin verir (51). İnflamatuvar yanıtın erken başlangıcındaki parçalayıcı bileşenler, hücresel yanıtlardan (apoptoz ve nekroz), çözünür araçlardan (anti inflamatuvar sitokinler ve antioksidanlar gibi) ve doğrudan efektörlerden (proteaz inhibitörleri gibi) oluşur (51,52).

İnflamatuvar bölgelerdeki hücreler çeşitli mekanizmalarla temizlenir. Kemoatraktan (kemotaktik) üretimi ve vasküler adezyon molekülü ekspresyonunun inhibisyonu ile hücre akışı azalır. Hücreler, özellikle lenfositler, dokuyu terk eder ve lenfatik damarlarda dolaşır (53).

Stres altındaki hücre grupları, komponentlerini lokal ortama salarak nekroz sürecine geçerler. Diğer bir mekanizma ise Apoptoz sürecidir. Apoptoz, hücreleri inflamasyon bölgesinden uzaklaştıran en önemli mekanizmalardan biridir (54).

Apoptoz, ökaryotik hücrelerde hücre ölümüne neden olan ve fagositler tarafından hızlı bir şekilde çıkarılması için yüzey zarlarını işaretleyen oldukça düzenli bir süreçtir. Nekrotik hücre ölümünün aksine, bu temizleme işlemi bir inflamatuvar yanıtı tetiklemez. PMN fagositik hücrelerinin dokular içindeki ömürleri çok kısadır ve öldükten sonra bu bölgede kalmaları veya içeriklerini mikro ortama salmaları zararlı olabilir. Lökositoklastik vaskülit gibi birçok patolojik durumda, histopatolojik incelemede bol miktarda nötrofil apoptozu kolayca görülebilir ve tanı için gerekli patolojik kriterlerden biridir. T lenfositleri gibi diğer hücreler, konakçıya zarar vermemek için aktivasyondan sonra apoptoz geçirir (54,55).

Hücresel apoptoz, hücre mikroçevresinde, FasL/Fas, TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand (TRAIL) ve ROI dahil olmak üzere çoklu ölüm reseptörü yollarıyla başlatılabilir. İnflamatuvar süreçte yaygın olarak üretilen bir ara ürün olan ROI, DNA'ya zarar verebilir. DNA hasarı çok büyük olduğunda, sıkı bir şekilde düzenlenmiş onarım mekanizmaları onarımı durdurur ve programlanmış hücre ölümü başlar. Kronik inflamasyonda, ROI veya

RNI kaynaklı mutasyon yükü zamanla birikir ve sonuçta anahtar düzenleyici proteinlerde amino asit değişikliklerine ve ülseratif kolitte görülen neoplastik hastalığa yol açar. Apoptotik hücrelerin veya hücre artıklarının ortamdan uzaklaştırılması çok hızlı gerçekleşir. Bu uzaklaştırma süreci ise makrofajlar, epitelyal ve endotelyal hücreler, fibroblastlar ve dendritik hücreler ile sağlanır (54,56).

Apoptotik hücreleri tanımak ve çevrelemek için kullanılan yüzey reseptörleri arasında integrinler (av β 3 gibi), lektinler, çöpçü reseptörler, adenozin trifosfat (ATP) bağlayıcı kaset taşıyıcı 1, LPS reseptörü, CD14 ve tamamlayıcı reseptörler CR3 ve CR423-25'i içerir. Bununla birlikte, bu zar moleküllerinden bazıları hem proinflamatuvar hem de apoptotik sinyal yollarında kullanılabilir. Bu ayrımı çeşitli ligandlar ve yardımcı moleküller sağlar (54,56).

Apoptotik hücreler, fagositik hücreler üzerindeki reseptörlerle etkileşime giren, membranla ilişkili farklı moleküler modeller sergiler. Apoptotik ve çöpçü hücreler arasındaki etkileşimlerin detayları sadece kısmen anlaşılmıştır. Apoptotik hücrelerin ortak bir özelliği, fosfatidilserin'in harici sunumuna bağlı olarak fosfolipit asimetrisinin kaybıdır. Dışsallaştırılmış fosfatidilserin fagositozu indüklemek için yeterli olabilse de diğer apoptotik hücre yüzey yapıları da mevcuttur (56,57).

İyileşme sürecinde bazı hücre grupları ortamda azalırken, diğerleri ise çoğalmaya devam eder. Mezenkimal hücreler, özellikle fibroblastlar çoğalabilir ve fibrotik skarlar oluşturabilir. Ayrıca, dokularda bulunan veya periferik kandan dokulara giren pluripotent mezenkimal kök hücreler, adipositler, kondrositler, osteositler veya diğer farklılaşmış stromal hücreler gibi organa özgü hücrelere farklılaşabilir.

1.2.7. Anti-inflamatuvar Sitokinler

Anti-inflamatuvar sitokinler inflamasyon bölgesine ulaşır veya inflamasyon bölgesinde halihazırda bulunan hücreler tarafından salınır. Örneğin, TGF- β ve IL-10, makrofajlar, stromal fibroblastlar veya T hücreleri tarafından üretilir. IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi bazı T hücresi sitokinleri, IL-1 veya TNF ile uyarılan hücrelerden MMP ekspresyonunu baskılar. Fibroblast proliferasyonuna ek olarak, TGF- β kollajenaz üretimini baskılar, kolajen depolanmasını artırır ve doku inhibitör metaloproteinaz (TIMP) üretimini uyararak MMP aktivitesini azaltır. Fibrozisin anahtar bulgu olduğu hastalıklarda ise onarım fazı anormal olarak kabul edilir (58,59).

Çöpçü sitokinler olarak adlandırılan reseptörler de inflamatuvar yanıtı azaltır. Reseptörler ayrıca sitokinleri, proteolitik bölünmeden sonra hücre yüzeyinden salarak alabilirler ve sitokinlerin fonksiyonel hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını önlerler. Bu sitokin inhibitörleri, septik şokta TNF ve IL-1'in yoğun ilk üretiminden sonra endotoksin çözülebilir reseptörlerin üretimini indüklediğinden, kontrolsüz İnflamasyonu önlemek için koordinasyon sağlamak üzere salınır. IL-18'i bağlayan ve Ig süper ailesiyle ilişkili bir reseptör olan IL-18-bağlayıcı protein (IL-18BP) gibi diğer sitokin bağlayıcı proteinler de düzenleyici mekanizmalar olarak görev yapar (58,59).

Proinflamatuvar sitokin IL-1'in sıkı regülasyonu iki farklı mekanizmaya sahiptir. Tip II IL-1R olarak bilinen bir form, plazma zarına ve IL-1 aktivitesini nötralize eden çözünür formlara sahiptir. Ek olarak, doğal bir IL-1 antagonisti olan IL-1Ra, fonksiyonel IL-1 reseptörlerine bağlanır ve IL-1a veya IL-1 β ile rekabet eder. Ancak IL-1Ra, IL-1'in kültürdeki biyolojik işlevini bloke eder ve hücrelere sinyal göndermez. IL-1 ve IL-1Ra üretiminin dengesi birkaç faktöre bağlıdır. Örneğin, monositler daha fazla IL-1 üretirken, olgun makrofajlar IL-1Ra üretir (60).

1.2.8. TH1 Hücreleri

Th1 hücreleri, immün sistemindeki ana hücre tiplerinden biridir ve immün yanıtının hücreli (cell-mediated) bileşeninde önemli bir rol oynarlar. Th1 hücreleri, yabancı maddelere (antijen) karşı savunma yanıtını başlatan hücrelerdir ve antijenle uyaran hücrelerden gelen sinyaller sonucunda aktive olurlar. Aktive olan Th1 hücreleri, sitokinler olarak bilinen biyolojik moleküller salgırlar. Th1 hücreleri, çeşitli enfeksiyonların yanı sıra bazı tümörlere ve otoimmün hastalıklara karşı da etkilidirler (61).

Th1 hücrelerinin sitokin yanıtı, başta interferon-gama (IFN-gama) olmak üzere, birçok sitokin içerir. IFN-gama, mikroorganizmaları öldürmek için makrofajların aktivitesini artırır. Ayrıca, sitokinler aracılığıyla Th1 hücreleri, antijen sunan hücrelerin sayısını artırır ve böylece immün yanıtının güçlendirilmesine yardımcı olur. Ancak, aşırı Th1 sitokin yanıtı, otoimmün hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir (61,62).

Th1 hücrelerinin sitokin yanıt mekanizması, hücrelerarası etkileşimlerin yanı sıra birçok farklı genin ifadesinin kontrolüne dayanmaktadır. Bu mekanizmanın ayrıntılı açıklamaları için çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

1.2.9. TH1 Yanıt Mekanizması

Th1 hücrelerinin sitokin yanıtı, başta interferon-gama (IFN-gama) olmak üzere, birçok sitokin içerir. IFN-gama, mikroorganizmaları öldürmek için makrofajların aktivitesini artırır. (62).

TH1 hücrelerinin aktivasyonu, birkaç adımdan oluşan bir süreçtir. İlk olarak, antijen sunan hücreler (APC'ler), uygun antijenleri sunarak CD4⁺ T hücrelerinin aktivasyonunu başlatırlar. Aktive edilmiş CD4⁺ T hücreleri, interleukin-12 (IL-12) ve IFN- γ gibi sitokinleri salgılayarak TH1 hücrelerinin aktivasyonunu tetiklerler. TH1 hücreleri daha sonra IL-2, IL-12 ve IFN- γ üretirler ve bu sitokinlerin etkisi altında diğer immün hücreleri (örneğin makrofajlar) aktivasyon ve proliferasyona uğrarlar (63).

TH1 hücrelerinin sitokin yanıtı, hücrel ve humoral immün yanıtlarının çoğunda kritik bir rol oynar. TH1 hücreleri, virüs enfeksiyonları, tüberküloz ve diğer intraselüler patojenlerle mücadelede önemli bir mekanizma sağlarlar. Ancak, aşırı TH1 yanıtı, otoimmün hastalıklar gibi durumlarla da ilişkilendirilebilir (63,64).

TH1 hücreleri, T hücresi reseptörüne (TCR) uygun antijen sunumu sonrasında aktivasyon ve proliferere olurlar. Bu süreçte, IL-12 sitokini gibi TH1 sitokinleri, TH1 hücrelerinin farklılaşmasını ve gelişmesini desteklemektedir. Aktive olan TH1 hücreleri, IFN- γ , TNF- α ve IL-2 gibi sitokinleri salgırlar ve bu sitokinler, enfekte olan hücrelerin öldürülmesini ve makrofajların fagositozunu artırarak enfeksiyonla mücadelede önemli bir rol oynarlar (61).

IFN- γ , özellikle makrofaj aktivasyonu ve antijen sunumu yoluyla enfeksiyöz ajanlara karşı immün yanıtı artırır. TH1 hücrelerinin sitokinlerinin aktivasyonu, antijen sunan hücrelerin ve doğrudan enfekte hücrelerin antijen sunumunu da artırır. Bu mekanizmalar, immün sistemini enfeksiyöz ajanlara karşı savunmada kritik bir faktördür (63,65).

TH1 hücreleri, T hücresi reseptörüne (TCR) uygun antijen sunumu sonrasında aktivasyon ve proliferere olurlar. Bu süreçte, antijen sunan hücreler tarafından üretilen IL-12 sitokini gibi TH1 sitokinleri, TH1 hücrelerinin farklılaşmasını ve gelişmesini desteklemektedir. IL-12 sitokini, antijen sunan hücrelerin ve makrofajların salgıladığı bir sitokindir. IL-12 sitokininin etkisi, TH1 hücrelerinin yüzeyindeki IL-12 reseptörlerine bağlanarak aktive olan sinyal transdüksiyon yollarını uyararak ortaya çıkar (64,65).

IFN- γ 'nın makrofajlar üzerindeki etkisi, antijen sunan hücreler ve doğrudan enfekte hücreler tarafından üretilen IL-12 ve IFN- γ gibi sitokinlerin salınmasını uyararak gerçekleşir (64).

TNF- α , enfeksiyöz ajanların ortadan kaldırılmasında önemli bir sitokin olup, enfekte olan hücrelerin apoptozuna neden olur. IL-2 ise, T hücrelerinin büyümesini, proliferasyonunu ve aktivasyonunu uyaran bir sitokindir (61).

TH1 sitokin yanıt mekanizması, aynı zamanda antikor bağımlı hücrel sitotoksiste (ADCC) adı verilen başka bir mekanizmayı da tetikleyebilir. Bu mekanizma, antijen sunan hücreler ve doğrudan enfekte olan hücrelerin yüzeyindeki antijenlere bağlanan antikorlarla gerçekleşir. Bu antikorlar, antijenleri tanıyan doğal öldürücü hücreler (NK hücreleri) tarafından tanınarak hedef hücrelerin öldürülmesine neden olur (61,66).

1.2.10. TH2 Hücreleri

TH2 hücreleri, immün sisteminin adaptif yanıtında önemli bir rol oynayan CD4+ T lenfositleridir. TH2 hücrelerinin ana görevi, alerjik yanıtlar, parazit enfeksiyonları ve dokuların yeniden yapılanması gibi immün sistemi yanıtlarının düzenlenmesidir. TH2 hücreleri, çevresel koşullara yanıt olarak çeşitli sitokinler üretirler ve aynı zamanda bu sitokinlere yanıt olarak farklı hücre tiplerinin aktivasyonunu uyarırlar (61).

TH2 hücrelerinin aktivasyonu, antijen sunan hücreler (APC'ler) tarafından MHC sınıf II molekülleri aracılığıyla sunulan antijenlerin tanınmasıyla başlar. TH2 hücreleri daha sonra IL-4 ve IL-2 sitokinleri tarafından aktive edilirler. Bu sitokinler, TH2 hücrelerinin çoğalmasını ve daha fazla sitokin üretmesini sağlar (61).

TH2 hücreleri, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13 gibi bir dizi sitokin üretirler. Bu sitokinlerin çoğu, B hücrelerinin aktivasyonunu uyarır ve antikor üretimine yol açar. Ayrıca, bazofillerin ve eozinofillerin aktivasyonunu da uyarırlar ve bu hücrelerin enfeksiyon ve alerjik yanıtlara katılımını artırır (67,68).

TH2 hücreleri, Th1 hücreleri gibi çoğunlukla hücrel immün yanıtına karşıt bir yanıt verirler. Bunun yerine, TH2 hücreleri, humoral immün yanıtı yönlendirirler. Bu, antikorlar ve diğer immünoglobulinlerin üretimini içerir ve patojenlerin nötralize edilmesine ve yok edilmesine yardımcı olur (68,69).

Sonuç olarak, TH2 hücreleri, immün sisteminin adaptif yanıtındaki önemli bir aktör olarak kabul edilir. Alerjik yanıtlar, parazit enfeksiyonları ve doku yeniden yapılanması gibi birçok farklı immün sistemi yanıtında görev alırlar. TH2 hücrelerinin aktivasyonu ve sitokin üretimi, çeşitli hücre tiplerinin aktivasyonunu ve immün sistemi yanıtının düzenlenmesini sağlar.

1.2.11. TH2 Etki Mekanizması

Th2 hücrelerinin yanıt mekanizması, Th1 hücrelerinin yanıt mekanizmasına benzer bir şekilde, farklı transkripsiyon faktörlerinin etkileşimi ve sitokinlerin sinyal yolu yoluyla gerçekleşir. Th2 hücrelerinin gelişimi, GATA-3 transkripsiyon faktörünün Th2 hücrelerindeki ekspresyonu tarafından düzenlenir ve IL-4 sitokini, GATA-3 ekspresyonunu tetikler. IL-4 ve IL-13 sitokinleri ayrıca, mukus üreten hücrelerin artmasına ve IgE sentezinin uyarılmasına neden olan B hücrelerinin aktivasyonunu uyarır (66,68).

Th2 hücrelerinin polarizasyonu, bir dizi antijen sunucu hücre tipinin etkileşimi tarafından etkilenir. Örneğin, dendritik hücrelerin IL-4'e yanıt olarak ürettiği IL-12 inhibitör etkisi gösterir ve bu da Th2 polarizasyonunu teşvik eder. Ayrıca, makrofajların ürettiği IL-10 ve TGF- β , Th2 hücrelerinin gelişimini ve sitokin üretimini sınırlayabilir (66,68).

Th2 hücrelerinin yanıt mekanizması, Th1 hücrelerinin yanıt mekanizmasına kıyasla daha az iyi anlaşılmıştır. Ancak, Th2 hücrelerinin polarizasyonunu ve sitokin profillerini yöneten faktörlerin daha iyi anlaşılması, bu hücrelerin rolü hakkındaki anlayışımızı geliştirebilir ve bu bilgi, alerjik hastalıklar ve parazit enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıkların tedavisi için potansiyel yeni hedeflerin keşfedilmesine yardımcı olabilir.

TH2 hücrelerinin aktivasyonu, T hücre reseptörü (TCR) aracılığıyla yapılan antijen sunumunu takiben gerçekleşir (70). Aktive olan T hücresi, IL-2 reseptörünü totipotent kök hücre faktörü (GATA3) ve retinoik asit reseptörü (RAR) transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu aracılığıyla düzenler. Bu transkripsiyon faktörleri, IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi tipik TH2 sitokinlerinin üretimini tetikler. Bu sitokinler, özellikle IL-4, CD4⁺ T hücrelerinin TH2 fenotipine doğru farklılaşmasında ve fonksiyonlarında kritik bir rol oynar. Örneğin, IL-4, hücre farklılaşması, immünoglobulin sınıf değişimi ve eozinofil fonksiyonu gibi çeşitli hücresel işlevleri modüle eden anahtar bir TH2 sitokinidir. IL-5, eozinofilik fagositleri ve B hücre farklılaşmasını uyarırken, IL-9, mukozal mast hücre farklılaşmasını ve fonksiyonunu artırır. IL-13, hava yolu inflamasyonu, mukus üretimi ve hava yolu hiper reaktivitesi gibi astım semptomlarının çoğuna katkıda bulunur (70,71).

TH2 hücreleri, patojenlere yanıt verme, immün yanıtın uygun şekilde düzenlenmesi ve vücudun homeostazını korumada önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, aşırı TH2 hücre aktivasyonu ve sitokin salınımı, alerjik ve otoimmün hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir.

1.2.12. TH1/TH2 İlişkili Yanıt Mekanizması

TH1 ve TH2 hücreleri arasındaki dengeli ilişki, immün sistemi sağlığı için önemlidir. Dengeli bir immün yanıtı, immün sistemi tarafından tanınan patojenlere uygun şekilde tepki verilmesini sağlar ve aynı zamanda otoimmün yanıtların önlenmesine yardımcı olur (69).

TH1 ve TH2 yanıt mekanizmaları, vücudun patojenlere karşı verdiği immün tepkisinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu iki mekanizma birlikte çalışarak immün sistemimizin hastalıklara karşı verdiği yanıtı şekillendirirler.

Başlangıçta, antijen sunan hücrelerin (APC'ler) patojenleri tanınması ve bunların proteinleri ile antijenleri (Ag) sunması sonucu, T hücreleri etkinleşir ve farklılaşır. TH1 hücreleri, enfekte olmuş hücreleri yok etmek için T hücresi bağımlı immün yanıtın tipik olarak T hücrelerinin yıkımını içeren kısmını yönlendirir. Bu işlevi, CD4+ T hücreleri tarafından salınan IFN- γ , TNF- α ve IL-2 gibi sitokinler aracılığıyla gerçekleştirirler (68,69).

TH2 hücreleri ise farklı sitokinler (IL-4, IL-5, IL-13) ve transkripsiyon faktörleri (GATA3) tarafından yönlendirilirler ve humoral immünite, eozinofillerin aktivasyonu ve alternatif makrofaj aktivasyonu gibi immün yanıtların diğer yönlerine odaklanırlar.

TH1 ve TH2 hücreleri arasındaki dengenin sağlanması, Th1 ve Th2 yanıtlarını kontrol eden sitokinlerin etkileşimlerinden kaynaklanır. İki yanıtın birlikte etkileşimi, bir tür immün yanıtı olan TH17 yanıtını da ortaya çıkarabilir (71).

Bununla birlikte, TH1 ve TH2 yanıtlarının dengelenmesi, birçok durumda çok önemlidir. Örneğin, aşırı TH1 yanıtı otoimmün hastalıklar ve transplantasyon reddi ile ilişkilendirilirken, aşırı TH2 yanıtı alerjiler ve astım gibi durumlarda görülür.

Sonuç olarak, TH1 ve TH2 yanıt mekanizmaları immün sisteminin patojenlere karşı verdiği yanıtın iki temel yönünü oluşturur. Bu iki mekanizmanın birbirleri ile etkileşimi ve dengesi, vücudun farklı enfeksiyonlara karşı etkili bir şekilde yanıt vermesine yardımcı olur.

1.2.13. Ti ve TH1/TH2 İlişkisi

Ti, bir biyomateryal olarak vücutta kullanılabilen bir biyomateryaldir ve hücreyel yanıt mekanizmaları üzerinde etkisi vardır. TH1 ve TH2 hücreleri de bu mekanizmalarda önemli rol oynarlar. Titanyumun hücreyel yanıt mekanizmaları üzerindeki etkisi, hücrelerin aktivasyonunu ve sitokin üretimini etkileyerek gerçekleşir. Örneğin, titanyumun TH1 hücreleri üzerindeki etkisi, IL-12 üretimini artırarak, immün sisteminin hücreyel

savunmasını artırabilir. Ayrıca, titanyumun TH2 hücreleri üzerindeki etkisi, IL-4 ve IL-5 üretimini artırarak, immün sisteminin humoral savunmasını artırabilir (72,73,74).

Titanyumun sitokinlerle olan etkileşimi, implantın çevresindeki hücresel yanıtın modülasyonu yoluyla gerçekleşir. Sitokinler, hücreler arasında sinyal iletiminde önemli rol oynayan küçük moleküllerdir. İmplantasyon sırasında, Ti yüzeyi çevresindeki hücrelerle temas eder ve hücrelerden sitokinler salınır. Bu sitokinler, diğer hücrelerdeki gen ekspresyonunu modüle eder ve hücresel yanıtı yönlendirir (72,74).

Ti materyalinin sitokinlerle etkileşimi, farklı sitokinlerin farklı hücresel yanıtlara neden olduğu kompleks bir ağdır. İnflamasyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan sitokinler arasında TGF- β , IL-6, IL-8, IL-10, ve TNF- α sayılabilir. Bu sitokinlerin varlığı, inflamatuvar yanıtın başlamasını ve yara iyileşmesinin başlamasını sağlar. Bununla birlikte, aşırı inflamasyonun veya yanıtın kalıcı hale gelmesi, implantın reddedilmesine neden olabilir (73).

1.2.14. IL-1 β :

IL-1 β , makrofajlar ve monositler tarafından sentezlenir. İnflamasyon, enfeksiyon veya yaralanma gibi uyarıcılar, IL-1 β 'nin artışına sebep olur. Bu uyarıcı mekanizma önce, IL-1 β geninin aktive edilmesine yol açar. Aktivasyon sonucunda, pro-IL-1 β adı verilen bir ön molekül oluşur (75,76).

Pro-IL-1 β , inflamazom adı verilen bir protein kompleksi tarafından kaspaz-1 enzimiyle kesilerek aktive edilir. Aktive edilen kaspaz-1, olgun IL-1 β molekülünü serbest bırakır. Serbest bırakılan IL-1 β , IL-1 reseptörleri olarak bilinen hedef hücrelerde bulunan spesifik reseptörlere bağlanır (75,76).

IL-1 reseptörlerinin aktivasyonu, çeşitli sinyal yollarını başlatır. Bu sinyal yolları, hücre içinde çeşitli enzimlerin aktivasyonunu ve gen ekspresyonunun değişmesini tetikler. IL-1 β , diğer sitokinlerle etkileşime girerek inflamasyon ve immün yanıtlarını düzenler (75,76).

Örneğin, IL-1 β , TNF- α (Tümör Nekrozis Faktörü alfa) ile sinerjistik etkileşim gösterir ve inflamatuvar süreçlerin sürdürülmesinde rol oynar. IL-1 β ayrıca IL-6, IL-8 gibi diğer sitokinlerin salınımını artırabilir. IL-1 β 'nin etkisi, immün sistem hücrelerinin aktivasyonu ve immün yanıtlarının modülasyonu yoluyla gerçekleşir (76).

1.2.15. TNF- α :

TNF- α , başlıca makrofajlar, T hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücreleri gibi immün sistemi hücreleri tarafından üretilir. Enfeksiyonlar, yaralanmalar, inflamasyon veya diğer uyaranlar, bu hücrelerde TNF- α geninin aktive edilmesine neden olur. Aktivasyon sonucunda TNF- α prekürsör formu olan pro-TNF- α oluşur (77).

Pro-TNF- α , bir enzim olan TNF dönüştürücü enzim (TACE) veya diğer adıyla ADAM17 tarafından aktive edilir. Aktive edilen TACE, pro-TNF- α molekülünü keserek olgun TNF- α molekülünü serbest bırakır. Serbest bırakılan TNF- α , hücreden salınır ve TNF reseptörleri adı verilen spesifik reseptörlere bağlanır (77).

TNF reseptörleri, TNF- α 'nın hedef hücrelerde çeşitli biyolojik etkilerini başlatır. Özellikle TNFR1 (TNF reseptörü 1), hücre içinde apoptozis (programlanmış hücre ölümü) sinyal yollarını etkinleştirir. TNF- α 'nın apoptotik etkisi, hedef hücrelerin ölümü ve inflamasyonun düzenlenmesi gibi biyolojik süreçlerde önemli bir rol oynar (77,78).

TNF- α , diğer sitokinlerle de etkileşime girer. Örneğin, TNF- α , IL-1 β ile sinerjistik etkileşim gösterir ve inflamasyon süreçlerini artırır. Ayrıca, TNF- α , IL-6, IL-8, IL-12 gibi diğer sitokinlerin salınımını uyarabilir. Bu etkileşimler, immün yanıtlarının düzenlenmesi ve inflamasyon süreçlerinin sürdürülmesi için önemlidir (79,80).

1.2.16. IL-4:

İnterlökin-4 (IL-4), Th2 hücreleri, mast hücreleri ve bazofil hücreleri gibi hücre tipleri tarafından sentezlenir (81). IL-4, IL-4 reseptörleri adı verilen hedef hücrelerde bulunan spesifik reseptörlere bağlanır. Bu reseptörler, IL-4 sinyallerini hücre içine ileterek çeşitli biyolojik etkileri başlatır. IL-4 reseptörü kompleksi, IL-4 sinyalinin iletilmesi için ortak bir alt ünite olan γ c (gamma zincir) içerir (81).

IL-4 reseptör kompleksi, Janus kinaz (JAK) adı verilen enzimleri aktive eder. Aktive olan JAK enzimleri, reseptörün iç kısmında bulunan intraselüler bölümlere fosforilasyon adı verilen bir kimyasal değişiklik yapar. Bu fosforilasyon olayı, reseptörün bir sonraki adım olan sinyal transdüksiyonunu başlatır (81).

Fosforile olmuş reseptör, sinyal transdüksiyonu için adaptör moleküllerine bağlanır. Özellikle, IL-4 reseptör kompleksi, IL-4 sinyalinin etkilerini büyük ölçüde düzenleyen bir adaptör molekül olan IRS-1'e (İnsülin Reseptör Substratı-1) bağlanır (81).

Bağlanan IRS-1, bir dizi sinyal yollarını aktive eder. Bu sinyal yolları, mitojen-aktive protein kinaz (MAPK) yolları ve fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) /Akt yolları gibi önemli sinyal yollarını içerir. Bu sinyal yolları, çeşitli biyolojik etkileri tetikler (81,82).

IL-4, diğer sitokinler ile de etkileşime girer. Örneğin, IL-4, IL-13 ile yakından ilişkilidir ve birlikte Th2 hücre yanıtını güçlendirir. IL-4, IL-10, IL-5, IL-6 gibi diğer sitokinlerin salınımını da düzenleyebilir (82).

1.2.17. IL-10:

İnterlökin-10 (IL-10), immün sistemi tarafından üretilen bir sitokindir. T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi çeşitli hücre tipleri tarafından sentezlenir (83,84).

IL-10, hedef hücrelerde bulunan spesifik reseptörlere bağlanır. Bu reseptörler, IL-10 sinyallerini hücre içine ileterek çeşitli biyolojik etkileri başlatır. IL-10 reseptörü kompleksi, IL-10'un etkilerini iletmek için ortak bir alt ünite olan IL-10R β 'yi içerir (83).

IL-10 reseptör kompleksi, JAK enzimlerini aktive eder. Aktive olan JAK enzimleri, reseptörün iç kısmında bulunan intraselüler bölümlere fosforilasyon adı verilen bir kimyasal değişiklik yapar. Bu fosforilasyon olayı, reseptörün bir sonraki adım olan sinyal transdüksiyonunu başlatır (83).

Fosforile olmuş reseptör, sinyal transdüksiyonu için Stat3 (Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon 3 Aktivatörü) adlı bir transkripsiyon faktörüne bağlanır. Stat3, hedef genlerin ifadesini düzenleyerek çeşitli biyolojik etkileri tetikler (83).

IL-10, diğer sitokinlerle de etkileşime girer. Örneğin, IL-10, inflamasyon ve immün yanıtların düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan IL-12 ve TNF- α 'nın üretimini inhibe edebilir. IL-10, ayrıca inflamatuvar sitokinlerin (örneğin IL-1 β , IL-6) ve kemokinlerin (örneğin IL-8, MCP-1) salınımını da azaltabilir (83,85).

IL-10'un diğer sitokinlerle etkileşimi, immün sisteminin homeostazını ve dengeyi sağlamak için önemlidir. IL-10, aşırı inflamasyonu ve immün yanıtı düzenleyerek dokuların korunmasına yardımcı olur. Aynı zamanda, IL-10, immün toleransın gelişmesinde ve immün sistemi tarafından kendi hücrelerine karşı reaktivitenin önlenmesinde önemli bir rol oynar (86).

1.2.18. TGF- β :

TGF- β , immün sistemi ve doku onarımı gibi birçok biyolojik süreçte rol oynayan bir sitokin ailesidir. TGF- β , hedef hücrelerde bulunan TGF- β reseptörleri ile etkileşime girer. TGF- β reseptörleri, tip I ve tip II reseptörlerden oluşan bir komplekstir (87). TGF- β , tip II reseptörlere bağlandığında, tip I reseptörlerin fosforilasyonunu tetikler ve aktive eder (88).

Aktive olan tip I reseptörleri, SMAD adı verilen bir protein ailesini fosforile eder. Fosforile olan SMAD, hücre içinde çekirdeğe doğru hareket eder ve hedef genlerin transkripsiyonunu düzenler. Bu süreç, TGF- β 'nin biyolojik etkilerini aktive etmek için önemli bir adımdır (88).

TGF- β , diğer sitokinlerle de etkileşime girer. Örneğin, TGF- β , IL-1, TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini azaltabilir. Aynı zamanda, TGF- β , IL-2, IL-12, IL-17 gibi pro-inflamatuar sitokinlerin etkilerini inhibe edebilir. TGF- β , bu şekilde immün yanıtların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve aşırı immün yanıtı baskılar (88,89).

TGF- β , doku onarımı ve rejenerasyonunda da önemli bir rol oynar. TGF- β , fibroblastların, kollajen üretiminin artmasını ve ekstraselüler matriksin yeniden yapılandırılmasını tetikleyerek yara iyileşmesini destekler. Ayrıca, TGF- β , hücreler arasında bağlantıyı sağlayan hücre matriks bileşenlerinin sentezini uyarır (90).

1.2.19. IL-6:

 nterl kin-6 (IL-6), immün sistemi tarafından üretilen bir sitokin olup, çeşitli hücre tipleri tarafından sentezlenir, özellikle T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar ve endotelial hücreler. IL-6, IL-6 reseptörü adı verilen spesifik hedef hücrelerde bulunan reseptörlere bağlanır (91,92). IL-6 reseptörü, hücre zarının dış yüzeyinde bulunan IL-6 bağlayıcı alfa (IL-6R α) zinciri ve intrasellüler sinyal ileten gp130 zincirinden oluşan bir komplekstir (91,93).

IL-6, IL-6R α zinciri ile bağlandığında, gp130 zinciri de aktive olur ve IL-6/IL-6R α /gp130 kompleksi oluşur. Bu kompleksin oluşumu, hücre içinde sinyal transdüksiyonunu başlatır. Aktive olan gp130, Janus kinaz (JAK) adı verilen enzimleri aktive eder. Aktive olan JAK enzimleri, hücre içindeki intrasellüler bölümlere fosforilasyon adı verilen bir kimyasal değişiklik yapar. Bu fosforilasyon olayı, sinyal transdüksiyonu için önemli olan bir dizi hücresel sinyal yolunu aktive eder (93).

IL-6 sinyal yollarından en önemlisi, STAT3 yolaklarıdır. Fosforile olmuş JAK enzimleri, STAT3'  fosforile eder ve aktive eder. Aktive olan STAT3, hedef genlerin transkripsiyonunu düzenler ve çeşitli biyolojik etkileri başlatır (93).

IL-6, diğ er sitokinlerle de etkileşime girer. Örneğ in, IL-6, TNF- α ve IL-1 gibi pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini artırabilir. Aynı zamanda, IL-6, T hücrelerinin Th17 alt kümesinin gelişimini teşvik eder ve IL-17 gibi diğ er sitokinlerin üretimini artırır (93,94).



2. YÖNTEM

Çalışmamızın Hayvan Deneyleri ayağı İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı “Sitokin ve Reseptörleri Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul başvurusu 2017/218 no’lu kararla onaylanmıştır.

Çalışmamız, “Titanyum (Ti) ve Titanyum 500 (Ti 500) İmplantasyonunun Sıçan Makrofaj Subgrupları Aktivasyonuna Etkisi” isimli projenin bir bölümüdür. Takibi yapılan sıçanların kanları Bezmialem Vakıf Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarı’nda alındı. Hayvan deneyleri 11.09.2018 – 25.11.2018 tarihleri arasında yürütüldü. Sıçanlardan alınan kanlar aliquadlanıp, ependorf tüpler içerisinde -86 derecede korunmuştur.

Ti ve Ti 500 biyomateriyalleri University of Technology, Sydney (AU), Translational Biomaterials and Medicine departmanında üretilmiştir. Biyomateriyallerin yüzey şekillendirmesi David W. Green tarafından, Université de Toulouse, Toulouse, Fransa’da yapılmıştır.

Çalışmamızın hayvan deneyleri kolunda ortalama ağırlıkları 250 - 300 gr. Olan 10 haftalık a\la Wistar albino soyu 21 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Denek sayısı Power Analiz programına göre belirlenmiştir.

Sıçanlar $21\pm1^{\circ}\text{C}$ ’de (oda sıcaklığı), 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık foto periyodunda, polikarbon yapılı sıçan kafesinde tutuldu, pelet sıçan yemi ve su ile ad-libitum olarak beslendiler. Her kafeste 1 hayvan olmak üzere 21 kafes kullanıldı. Sıçanlar rastgele numaralandırıldı. Her grupta 7 adet olmak üzere toplam 3 deney grubu,

Grup I (n: 7, Sham grubu) (K),

Grup II (n: 7, Ti alloy) (Ti),

Grup III (n: 7, Ti 500) (Ti 500) olarak oluşturuldu.

Ti ve Ti 500 (Ti-6Al-4V) biyomateriyalleri cerrahi işlem öncesi Ultraviyole UV-C; 200- 286 nanometre dalga boyunda sterilize edildi.

Hayvanlara anestezi ajanı Ketamin (50 mg/kg) ve Ksilazin (10 mg/kg) kokteyli intraperitoneal (IP) olarak cerrahi işlemden 10 dakika önce uygulandı.

Anestezi sonrası sıçanlar spinal implantasyonun yapılabilmesi için prone pozisyonda ameliyat masasına yatırılarak, insizyon yapılacak olan lomber bölge tıraşlanarak, povidon iyot ile cilt temizlendi. Lomber omurga bölgesinde orta hatta cilt-cilt altı insizyonu sonrasında (yaklaşık 4 cm) künt diseksiyon ile lamina-faset bileşkesine kadar olan paravertebral alan ortaya konuldu.

Grup I'e (Sham grubu) (K) sadece cerrahi stres oluşturmak amacıyla batin bölgesi açılıp kapatıldı.

Türk Standardı TS EN ISO 10993-6 şartlarına uygun olarak 1,987 gr. ağırlığında, 3 mm. kalınlığında, 10 mm. çapında, Ti ve Ti 500 biyomateriyalleri Grup II (Ti) ve Grup III (Ti 500)'te transvers ve spinöz prosesler arasına vertebral kemik ve kaslara temas edecek şekilde L4 ve L5 arasına yerleştirildi.

Materyalleri pürüzlü yüzey kemiğe temas ettirilecek şekilde yerleştirildi.

Fasya ve cilt insizyonu 3/0 non-absorbe sütür ile kapatıldı. İşlem gören tüm sıçanların ameliyat bölgeleri povidon iyot ile temizlenerek, sıçanlar kafeslerine yerleştirildi.

Deney gruplarının hazırlanmasından itibaren (implantasyon aşamasını takiben) 3., 7. ve 14. günlerde saat 15.00'te (operasyon sonrası ilk gün kan alımı bu saatte gerçekleştirildiği için) tüm sıçanlardan 1 mL periferik kan örneği alındı.

Alınan kan örnekleri oda sıcaklığında iki saat boyunca pıhtılaşmaya bırakıldı. Serum separatör tüpündeki örnekler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Serumlar ependorf tüplerinde -86° C'de saklandı. Serumda IL-4, IL-10, IL-6, IL-1B, TGF- β ve TNF- α parametreleri çoklu analit platformu (XMAP, Luminex) yöntemi ile analiz edildi.

14. günde periferik kan alımından sonra hayvanlar etik kurallara bağlı olarak kurban edildi. Bir sonraki proje adımında kullanılmak üzere beyin, femur, timüs, karaciğer, dalak ve lenf nodları çıkartıldı ve dokular -86°C'de saklandı.

2.1. Luminex Test Analizleri

Çalışmamızda parametrelerin analizi sırasında kullanacağımız dilüsyon çözeltileri, parametrelere özel olarak aşağıdaki şekilde hazırlandı (Tablo 3.2.1).,



Resim 4.1: Luminex Cihazı

2.2. Örneklerin Saklanması ve Hazırlanması

Örneklerin Saklanması

Serum örnekleri santrifüj işlemi öncesinde 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 1000g de 15 dakika serum ayırıcı tüpler ile santrifüj işlemi uygulanmıştır ve örnekler -20 °C de saklanmıştır.

Örneklerin Hazırlanması

Çalışmaya başlanılmadan önce örneklere 1600g de 4 dakika santrifüj işlemi uygulanmaktadır. Santrifüj edilen örnekler 2x (75 µL örnek + 75 µL Kalibratör Seyreltici RD6-52) olacak şekilde seyreltilmiştir. Yüksek yoğunluklu biyobelirteçler için 50, 200, 4000 ya da 40000x olacak şekilde seyreltme işlemi uygulanmıştır. 50x seyreltme işlemi için 10 µL örnek solüsyonu içerisine 490 µL Kalibratör Seyreltici RD6-52 eklenmiştir. 200x seyreltme işleminde 50x seyreltilmiş örnekten 10µL ve 190 µL Kalibratör Seyreltici RD6-52

kullanılmıştır. 10 μ L 200x seyreltilmiş örnekten alınıp 190 μ L Kalibratör Seyreltici RD6-52 kullanılarak 4000x seyreltilmiş örnek hazırlanmıştır. 40000x seyreltme işlemi için, 4000x seyreltilmiş örnekten 10 μ L alınıp, 180 μ L Kalibratör Seyreltici RD6-52 eklenmiştir.

2.3. Reaktif Hazırlanışı

Yıkama Tamponları ve Standartların Hazırlanışı

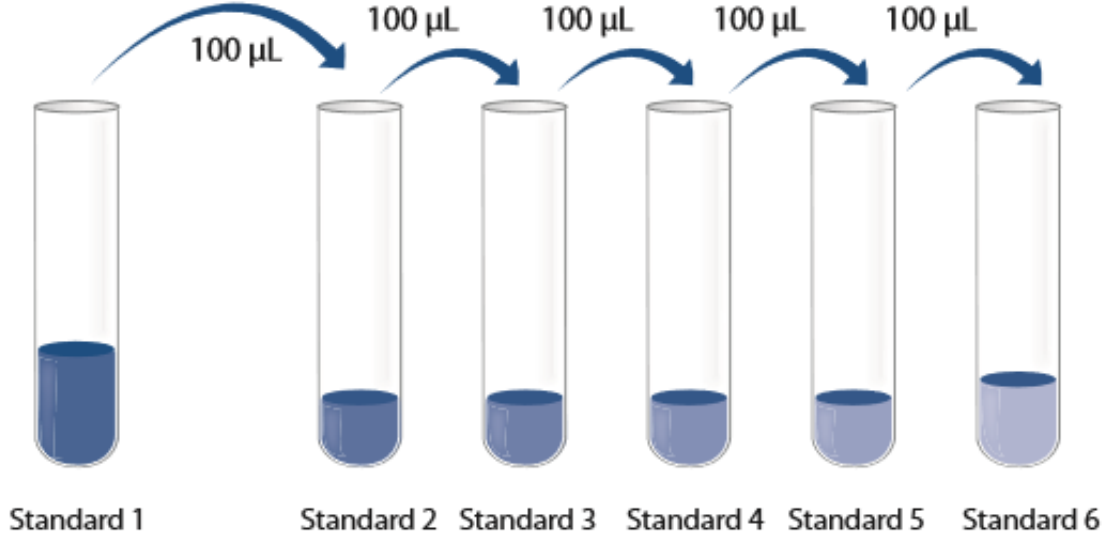
Reaktifler kullanılmadan önce oda ısısına getirilmiştir. Eğer kristallenme yoğun formda gözleniyorsa oda ısısında ısıtılıp kristaller çözünene kadar hafifçe karıştırılmıştır. Wash Buffer solüsyonundan 20 ml alınarak, 480 ml deiyonize ya da distile suya eklenmiştir. Standart kokteylleri seyreltme işleminden önce 15 dakika hafifçe çalkalanmıştır. Su ile seyreltme işleminden sonra her Standart Kokteyl 10x konsantrasyona ulaşmaktadır. Polipropilen tüpler kullanılarak, toplam hacmi 1000 μ L olacak şekilde, her bir Standart Kokteylinde 100 μ L alınarak Kalibratör Seyreltici RD6-52 ile birleştirilmiştir ve Standart 1 oluşturulmuştur. Aşağıdaki tabloda birleştirilen Standart Kokteyllerinin orantısına göre ne kadar kalibratör seyreltici kullanılacağı gösterilmiştir.



Şekil 4.2: Yıkama Tamponları ve Standartların Hazırlanışı

2'den 6'ya etiketlenen 5 tüpün her birine, 200 μ L Kalibratör Seyreltici RD6-52 eklenmiştir. 3 kat dilüsyon serileri üretmek için, Standard-1 kullanılmıştır. Her transferden önce pipetaj

yapılmış olup, yüksek Standard olarak Standard 1, Blanka ise Kalibratör Seyreltici RD6-52 kullanılmıştır.



Şekil 4.3: Luminex Dilüsyon Çözelti Hazırlama Prosedürü

Seyreltilmiş Mikro Parçacıklı Karışım Hazırlanışı

Çalışmaya başlanmadan önce 1000g ve 30 saniye santrifüj işlemi yapılarak, örnek tüpünün kapağındaki sıvı aşağı indirilmiştir. Mikro parçalar tüpün etrafına çok fazla dağılmaması için hafifçe vortexlenerek resüspanse edilmiştir. Aşağıdaki tabloda mikro partikül kokteylinin Seyreltici RD2-1 ile dilüsyon oranları well kullanım sayısına göre verilmiştir.

Well Sayısı	Mikro partikül Kokteyl	Seyreltici RD2-1
96	500 µL	5 ml
72	375 µL	3.75 ml
48	250 µL	2.50 ml
24	125 µL	1.25 ml

Seyreltilen mikro partiküller saklanmamış ve karanlık ortamda, ışıktan uzak tutularak çalışılmıştır.

Seyreltilmiş Biyotin Antikor Kokteyl Hazırlanışı

Biyotin Antikor Kokteyl tüpü 1000g devirde 30 saniye santrifüjleme yapılmıştır. Süspanse edilme işlemi, mikro parçaların tüpün yüzeyine dağılmaması için düşük kuvvetle vortexlenmiştir. RD2-1 ile aşağıdaki tabloda bulunan oranlar üzerinden seyreltme işlemi uygulanmıştır.

Well Sayısı	Biyotin Antikor Kokteyl	Seyreltici RD2-1
96	500 µL	5 ml
72	375 µL	3.75 ml
48	250 µL	2.50 ml
24	125 µL	1.25 ml

Streptavidin-PE Hazırlanışı

Çalışmaya başlanılmadan önce Streptavidin-PE polipropilen test şişesi ya da polipropilen tüp kullanılarak 1000g devirde 30 saniye santrifüj edilmiştir. Mikro parçaların tüpün yüzeyine dağılmaması için hafif kuvvette vortexlenerek süspanse işlemi yapılmıştır. Yıkama tamponu (WashBuffer) kullanılarak aşağıdaki tabloda bulunan oranlara göre seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çalışma boyunca Streptavidin-PE şişeleri ya da tüpleri alüminyum folyo ile sarılmış olup, ışıktan korunarak çalışma yapılmıştır.

Well Sayısı	Mikro partikül Kokteyl	Seyreltici RD2-1
96	220 µL	5.35 ml
72	165 µL	4 ml
48	110 µL	2.65 ml
24	55 µL	1.35ml

Cihaz Ayarları

Çalışmaya başlamadan önce plate delinme olasılığına önlem olarak analiz cihazlarındaki prob yüksekliği ayarlanmıştır ve süper paramanyetik mikro partiküller için uygun ajanlar kullanılmıştır.

Luminex® MAGPIX® Analiz Cihazı

Örnek hacimleri:

1 – 25 Analit = 50 µL

> 25 Analit = 35 µL

Ölçüm yapılan her analit için mikro partikül bölgeleri tayin edilmiştir. 50 count/region ve “Collect Median Fluorescence Intensity (MFI)” seçilmiştir.

Luminex® 100/200TM, Luminex® FLEXMAP 3D® and Bio-Rad Bio-Plex analyzers

Tüm akış bazlı analizörler için, cihazın akış hızının 60 µL/dakika olması sağlanmıştır. Örnek hacmi 50 µL, BeadType olarak “Luminex® 100/200TM and FLEXMAP 3D® selectMagPlex” ve “Bio-Rad Bio-Plex Manager useBio-PlexMagPlexBeads (Magnetic)” kullanılmıştır. Doublet Discriminator gates olarak “Luminex® 100/200TM and FLEXMAP 3D® set at 8000 and 16,500” ve “Bio-Rad Bio-Plex Manager set at 8000 and 23,000” kullanılmıştır. Reporter Gain Setting olarak “Luminex® 100/200TM useDefaultsetting”, “Luminex® FLEXMAP 3D® use Standard PMT setting” ve “Bio-Rad Bio-Plex Manager use the low RP1 target value for the CAL2 setting” kullanılmıştır. Ölçüm yapılan her analit için mikro partikül bölgeleri tayin edilmiştir. 50 count/region ve “Collect MFI” seçilmiştir.

2.4. Analiz Prosedürü

Çalışma öncesinde tüm reagent ve örnekler oda ısısına getirilmiştir. Tüm standart ve reagentler reaktif hazırlanış prosedürlerine göre hazırlandıktan sonra, her kuyucuğa 50 µL standart veya örnek eklenmiştir. Standart ve örneklerin kaydedilmesi için palet düzeni sağlanmıştır. Tersiyüz edilerek veya vorteksleyerek seyreltilmiş Mikro partikül Kokteyli süspanse edilmiştir.

Her bir mikroplate kuyucuğuna 50 µL Mikro partikül kokteyli eklenmiş olup, Foilplatesealer ile dikkatlice kapatılmıştır. 800 ± 50 rpm' e ayarlanmış Horizontal orbital Microplateshaker' da (0.12" orbit) 2 saat oda ısısında inkübe edilmiştir.

“Yıkama işlemi” için; örnekler mikroplate ile manyetik cihaza yerleştirilmiştir.

1 dakika manyetik cihazda bekledikten sonra içerisindeki sıvı çıkarılmıştır ve her kuyuya 100 µL yıkama tamponu (Wash Buffer) eklenmiştir.

1 dakika daha manyetik cihaz üzerinde bekletildikten sonra plate sıvıdan tamamıyla arındırılmıştır. Bu işlem üç kere uygulandıktan sonra her kuyucuğa 50 µL seyreltilmiş Biotin Antikor Kokteyli eklenerek Foilplatesealer ile dikkatlice kapatılmıştır. 800 ± 50 rpm' e ayarlanmış shaker' da (0.12" orbit) 1 saat oda ısısında inkübasyon sonrasında tekrardan manyetik cihaz üzerinde üç kere yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama işlemi sonrasında kuyucuklardaki sıvının çekilmesinden sonra her kuyucuğa 50 µL Streptavidin-PE eklenmiştir. Foilplatesealer ile kapatıldıktan sonra 800 ± 50 rpm' e ayarlanmış shaker' da (0.12" orbit) 1 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrasında tekrardan yıkama işlemi yapıldıktan sonra bütün kuyulardaki sıvı arındırılmıştır. Kuyuların üzerinde 100 µL Yıkama Tamponu (WashBuffer) eklenerek mikro partiküller 800 ± 50 rpm' e ayarlanmış shaker' da (0.12" orbit) 2 dakika çalkalanarak süspanse edilmiştir. Süspanse edilen mikro partiküller. Luminex® orBio-Radanalyzer kullanılarak 90 dakika içerisinde okuma yapılmıştır.

2.5. Sonuçların Hesaplanması

Analiz sertifikasındaki standart konsantrasyonlar kullanılarak kalan seviyeler için 3 kat dilüsyonlar hesaplanmıştır.

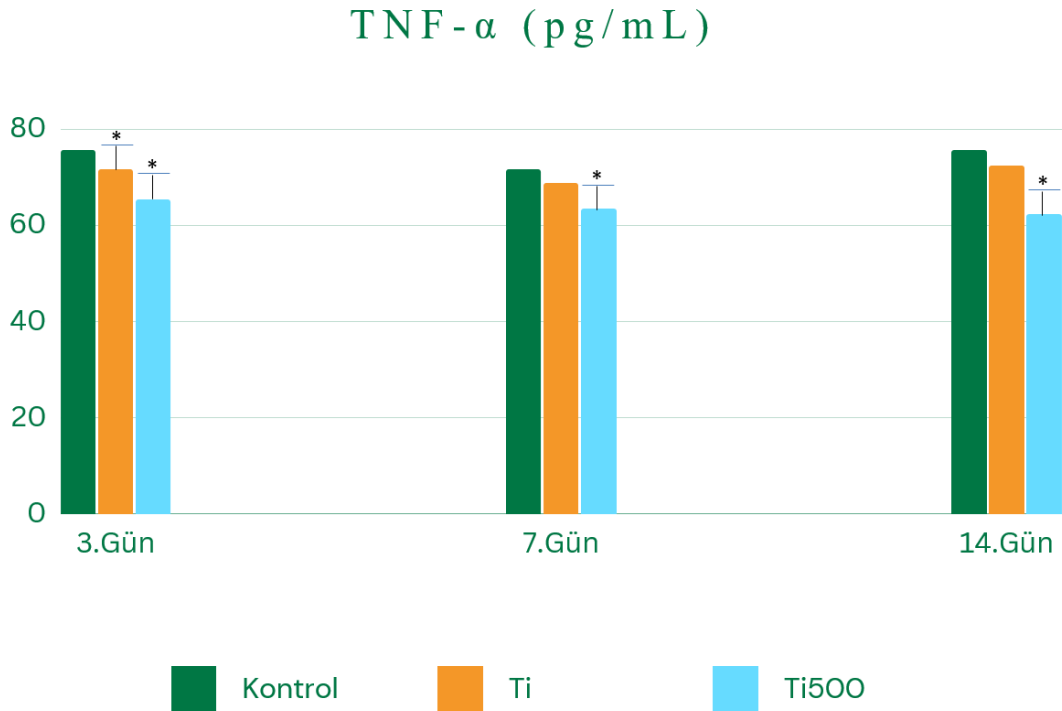
Her bir standart ve örneğin yinelenen okumalarının ortalaması alınır ve ortalama blank Median Fluorescence Intesity (MFI) çıkarılmıştır. Beş parametrelili bir lojistik (5-PL) eğri uyumu oluşturabilecek bir bilgisayar yazılımı kullanılarak her bir analit için standart eğri oluşturulmuştur.

Eğer 5-PL eğri uyumu mevcut olmadığı durumlarda 4 parametrelili lojistik(4-PL) eğri uyumu kullanılabilir. Seyreltilmiş numuneler için standart eğrisinde okunan konsantrasyonlar ile seyreltme faktörü çarpılmaktadır.

3. BULGULAR

3.1. TNF- α Analiz Sonuçları

Grafik 5.1: TNF- α Düzeyleri



*: Kontrol grubu ile Ti karşılaştırılması,

*: Kontrol grubu ile Ti 500 karşılaştırılması

$p < 0.05^*$, $p < 0.01^{**}$, $p < 0.001^{***}$

TNF- değerlerinde,

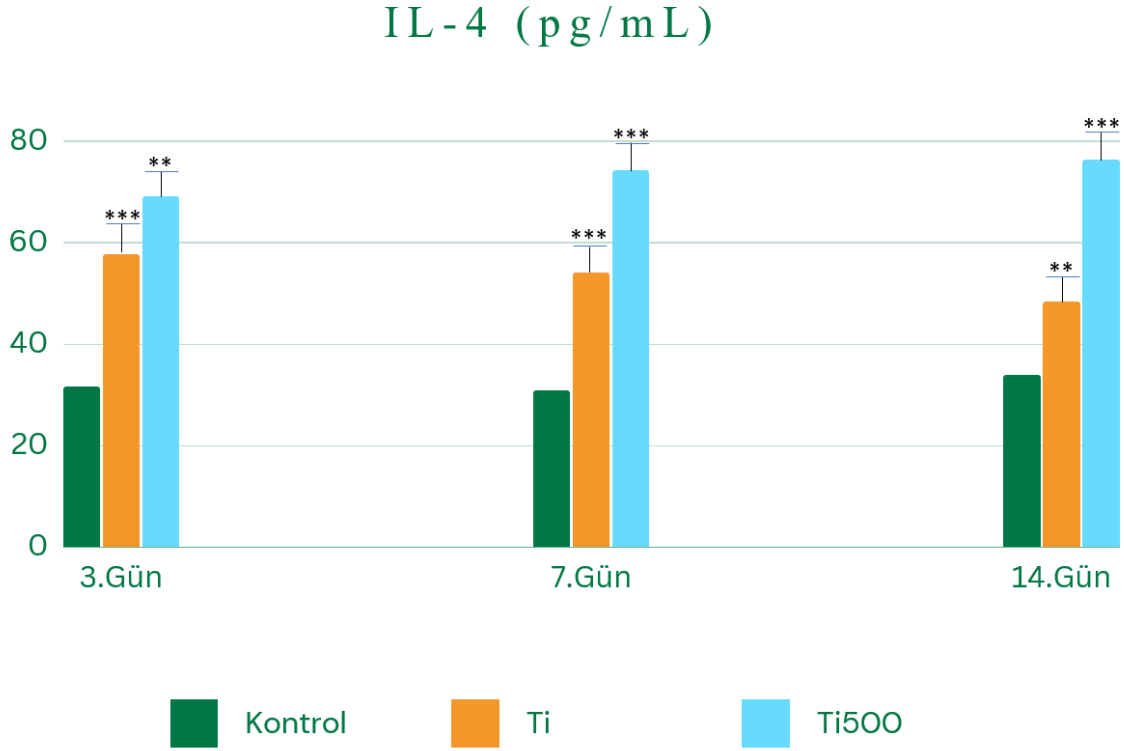
3.günde kontrol (K) grubuna kıyasla Ti ve Ti500 gruplarında anlamlı bir seviyede azalma olduğu ($p < 0.05$) *,

7.günde K grubuna kıyasla Ti grubunda anlamlı bir değişiklik bulunmadığı, Ti500 grubunda ise anlamlı bir düşüş olduğu ($p < 0.05$) *,

14. günde ise K grubu kıyaslandığında, Ti grubunda anlamlı bir değişiklik gerçekleşmediği, Ti500 grubunda ise anlamlı düşüşün ($p < 0.05$) * devam ettiği gözlemlenmiştir.

3.2. IL-4 Analiz Sonuçları

Grafik 5.2: IL-4 Düzeyleri



*: Kontrol grubu ile Ti karşılaştırılması,

*: Kontrol grubu ile Ti 500 karşılaştırılması

p < 0.05*, p < 0.01**, p < 0.001***

IL-4 değerleri için,

3.günde K grubuna kıyasla Ti grubunda çok anlamlı artış (p < 0.001) olduğu ve Ti500

gruplarında ise anlamlı artış gerçekleştiği (p < 0.01) **,

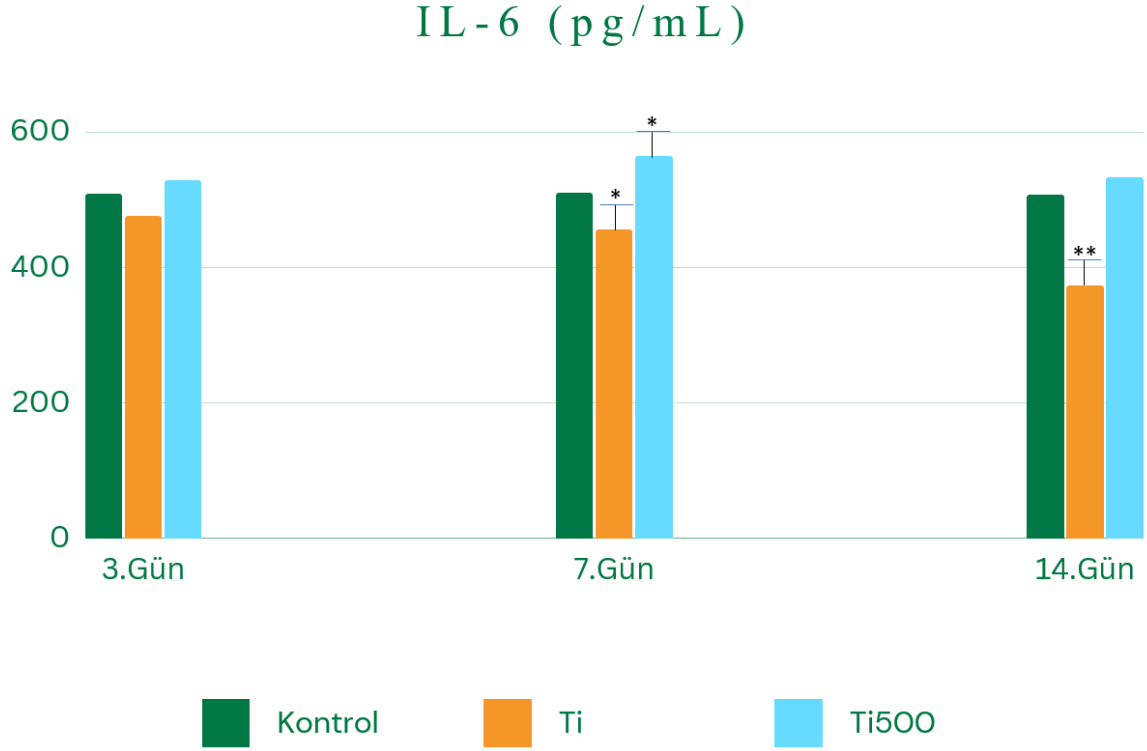
7.günde K grubuna kıyasla Ti ve Ti500 gruplarında çok anlamlı bir artış olduğu (p < 0.001)

***,

14. günde ise K grubu kıyaslandığında, Ti grubunda anlamlı artış olduğu (p < 0.01) *, Ti500 grubunda ise çok anlamlı bir artış (p < 0.001) *** gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

3.3. IL-6 Analiz Sonuçları

Grafik 5.3: IL-6 Düzeyleri



*: Kontrol grubu ile Ti karşılaştırılması,

*: Kontrol grubu ile Ti 500 karşılaştırılması

$p < 0.05^*$, $p < 0.01^{**}$, $p < 0.001^{***}$

IL-6 değerlerinde,

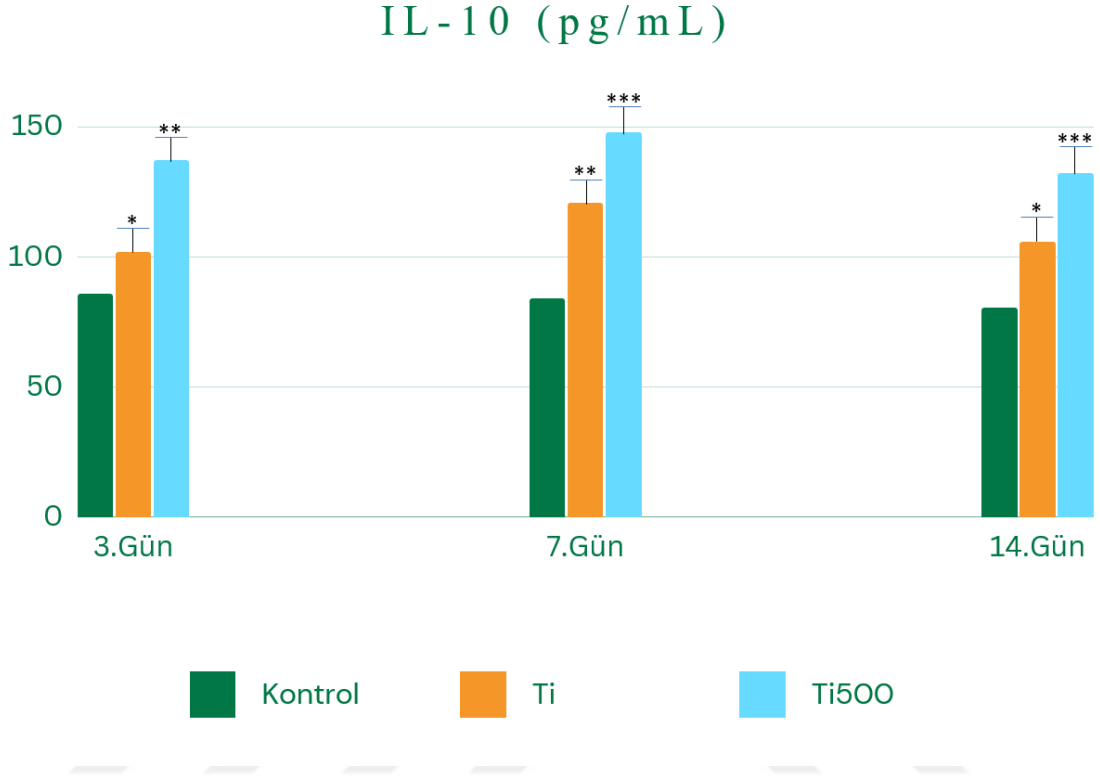
3.günde K grubuna kıyasla Ti ve Ti500 gruplarında anlamlı bir değişiklik olmadığı,

7.günde Ti grubunda anlamlı bir azalma ($p < 0.05$) * ve Ti500 grubunda ise anlamlı bir artış gerçekleştiği ($p < 0.05$) *,

14. günde Ti grubunda anlamlı bir azalma ($p < 0.01$) ** ve Ti500 grubunda ise anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir.

3.4. IL-10 Analiz Sonuçları

Grafik 5.4: IL-10 Düzeyleri



*: Kontrol grubu ile Ti karşılaştırılması,

*: Kontrol grubu ile Ti 500 karşılaştırılması

p < 0.05*, p < 0.01**, p < 0.001***

IL-10 değerlerinde,

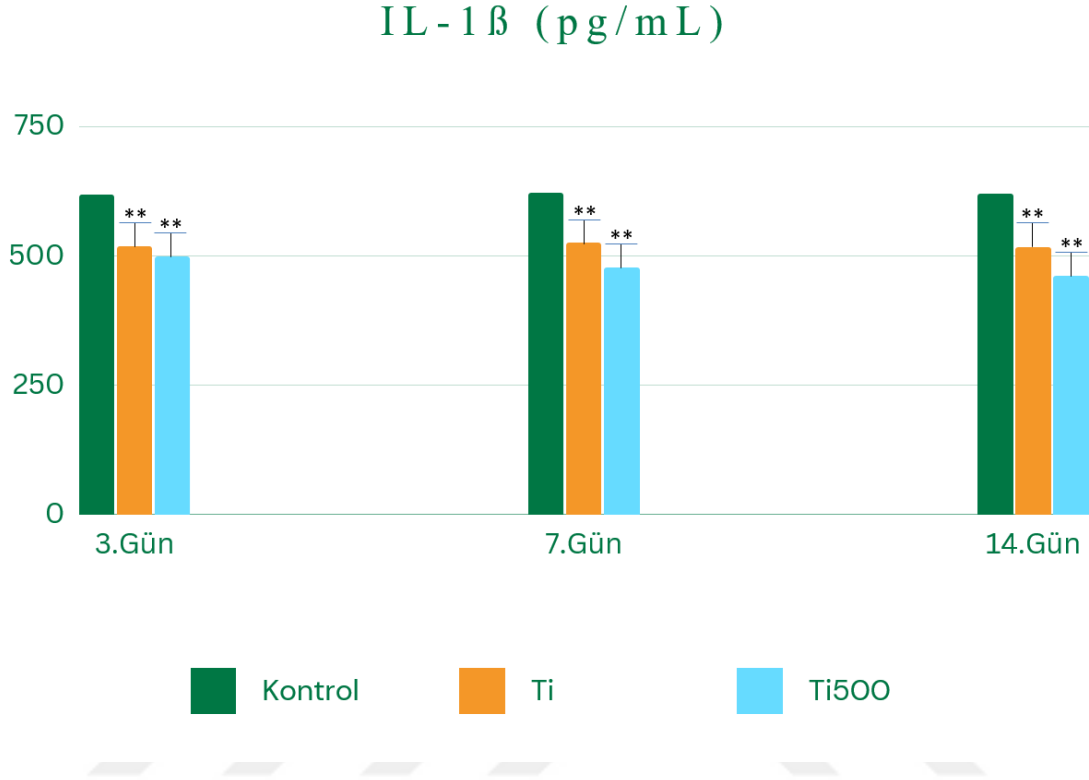
3.günde K grubuna kıyasla Ti grubunda anlamlı artış (p < 0.05) * olduğu ve Ti500 gruplarında ise anlamlı bir artış olduğu (p < 0.01) **,

7.günde Ti grubunda anlamlı artış (p < 0.01) olduğu ve Ti500 gruplarında ise çok anlamlı bir artış olduğu (p < 0.001) ***,

14. günde Ti grubunda anlamlı bir azalma olduğu (p < 0.05) *, Ti500 grubunda ise çok anlamlı bir düşüş (p < 0.001) *** gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

3.5. IL-1 β Analiz Sonuçları

Grafik 5.5: IL-1 β Düzeyleri



***: Kontrol grubu ile Ti karşılaştırılması,**

***: Kontrol grubu ile Ti 500 karşılaştırılması**

p < 0.05*, p < 0.01, p < 0.001*****

IL-1 β değerlerinde,

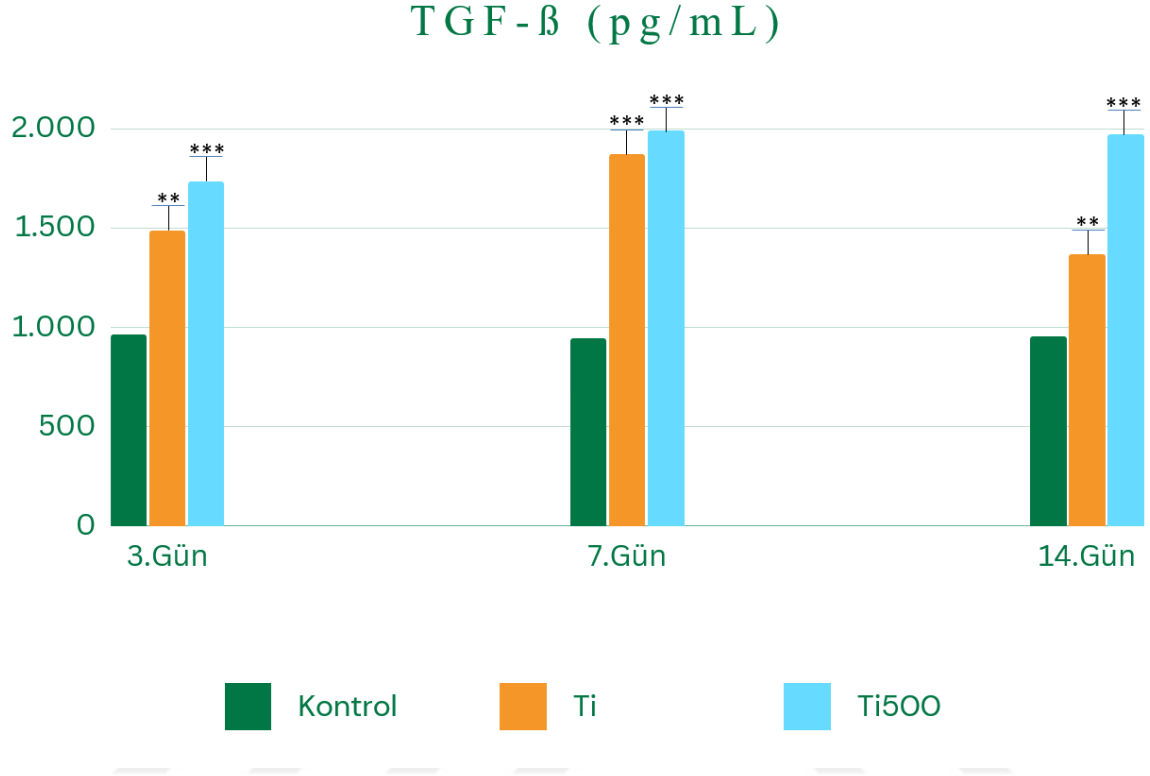
3.günde K grubuna kıyasla Ti grubunda anlamlı artış (p < 0.01) ** olduğu ve Ti500 gruplarında ise anlamlı azalma olduğu (p < 0.01) **,

7.günde Ti grubunda anlamlı artış (p < 0.01) ** olduğu ve Ti500 gruplarında ise anlamlı bir azalma devam ettiği (p < 0.01) **,

14. günde Ti grubunda anlamlı bir azalma olduğu (p < 0.01) **, Ti500 grubunda ise anlamlı bir düşüş (p < 0.01) ** gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

3.6. TGF- β Analiz Sonuçları

Grafik 5.6: TGF- β Düzeyleri



*: Kontrol grubu ile Ti karşılaştırılması,

*: Kontrol grubu ile Ti 500 karşılaştırılması

$p < 0.05$ *, $p < 0.01$ **, $p < 0.001$ ***

TGF- β değerlerinde,

3.günde K grubuna kıyasla Ti grubunda anlamlı artış ($p < 0.01$) ** olduğu ve Ti500 gruplarında ise çok anlamlı bir artış olduğu ($p < 0.001$) ***,

7.günde Ti ve Ti-500 gruplarında çok anlamlı artışın devam ettiği ($p < 0.001$) *** gerçekleştiği ($p < 0.001$) ***,

14. günde ise Ti grubunda anlamlı bir azalma olduğu ($p < 0.01$) **, Ti500 grubunda ise çok anlamlı bir düşüş ($p < 0.001$) *** gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Biyomateryaller, biyolojik sistemlerle etkileşime girebilen ve tıbbi tedaviler için tasarlanmış malzeme grubudur. Son yıllarda implantasyonda polimerler, seramikler ve kompozitler gibi diğer malzemeler de yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen Ti biyomateryalleri biyomedikal uygulamalarda öncelikli tercih edilen biyomateryal malzemesidir.

Çalışmamızı Ti ve Ti500 biyomateryallerin spinal implantasyon sonrası, akut dönemde nonspesifik immün sistemde sitokin mekanizmasını nasıl etkilediğini ve bu iki biyomateryalin immünolojik yanıtlarının kıyaslanması ile klinik olarak avantaj ve dezavantajlarını ortaya koymak amacıyla planladık. Çalışmamızın sonuçlarının, literatüre ve uygulamalı tıp bilimlerine anlamlı katkı sağlayacağına inanıyoruz.

Spinal implantalarda kullanılacak-biyomateryallerin biyotolerabilite, biyoadezyon, biyoaktivite ve işlenebilirlik gibi özellikleri klinik olarak tercih edilmelerinde önemli faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu biyomateryaller, biyofonksiyonel özellikleriyle de implante edildikleri bölgelere göre farklı yanıtlar oluşturabilirler (24). Son yıllarda tercih edilen Ti implantları bu özellikleri taşıyan öncelikli tercih edilen biyomateryallerdir. Çalışmamızda kullandığımız Ti 500 ile ilgili yeterli klinik çalışmalar bulunmadığı gibi deneysel çalışmalara da rastlanmamıştır.

Ti ve Ti500 implant materyalinin yorulma mukavemeti, biyouyumluluk ve korozyon direnci, osseointegrasyonu, Young modülü, paramanyetik ve non-toksik özellikleri, inflamatuvar veya alerjik reaksiyon oluşturmaları açısından farklılıkların bulunması önemli yol ayrımlarına sebep olabilir.

Biyomateryal olarak her iki materyal de kemikle iyi bir uyum gösterebilir ve uzun vadeli implant stabilitesi sağlayabilir. Ancak, Ti-500 materyalinin daha yüksek mukavemeti ve dayanıklılığı, bazı uygulamalarda tercih edilmesine neden olabilir.

İmmünolojik olarak, Ti ve Ti-500 materyalleri arasındaki farklar, bu materyallerin immün sistemle etkileşimi ve olası immün reaksiyonlara olan yanıt açısından önemlidir.

İmmün yanıt, vücudun yabancı maddelere karşı tepkisini içerir. Ti, genellikle iyi bir biyoyumluluk profiline sahip olmasına rağmen, bazı vaka ve durumlarda Titanyuma karşı immün reaksiyonlar meydana gelebilir.

Öte yandan Ti 500, daha yüksek saflıkta bir alaşımdır ve daha düşük immün reaktiviteye sahip olabilir. Bu nedenle, ti-500 materyalinin, immünolojik açıdan daha iyi bir biyoyumluluk profili sunması beklenir.

Çalışmamızın sonuçları da klinik açıdan bu fiziksel özellikleri destekler niteliktedir. Özellikle biyomateryallerin kullanımının yaygınlaşması ile Ti500 gibi uyumlu bir materyalin klinikte kendine daha fazla yer bulmasına neden olacaktır.

Ti ve Ti500 materyallerinin immünolojik perspektiften değerlendirilmesinde, bu materyallerin sitokinlerle etkileşimi ve immünolojik yanıtlara olan etkisi göz önünde bulundurulmalıdır.

Ti ve Ti500 materyalleri, genellikle minimal sitokin salınımı ile ilişkilendirilen iyi bir biyoyumluluk profiline sahip olsalar da immünolojik tepkiler materyalin yüzey özelliklerine, mikro çevresel etkilere ve hücrelerle olan etkileşimine bağlı olarak değişebilir (27). Ayrıca, sitokinlerin kemik hücreleri üzerindeki etkileri de dikkate alınmalıdır. İmplantın kemik ile uyumlu olması ve kemik hücrelerinin olumlu bir yanıt vermesi, implantın uzun vadeli başarısı için önemlidir. Yapılan çalışmalarda, Ti implantların kemik hücrelerinde sitokin salınımını etkileyebileceğini ve kemik remodelasyon süreçlerini yönlendirebileceği öne sürülmüştür (30).

Biyomateryallerin ve sitokinlerin etkileşimi hala tam olarak anlaşılamamış ve optimize edilmemiştir ancak bazı araştırmalar Ti implantların, proinflatuar sitokinlerin (örneğin IL-1 β ve TNF- α) salınımını arttırdığını göstermiştir (8,9). Pek çok çelişkili bilgiler olmasına rağmen, son yıllarda yapılan çalışmalar biyomateryaller ve sitokinler arasındaki etkileşimi aydınlatmaya çalışmıştır (8,9)

Çalışmamızda Ti ve Ti500 implantasyonu sonrası proinflatuar ve anti-inflatuar sitokin salınımındaki farklılıkları karşılaştırmalı olarak ortaya koyduk. Araştırmamızda IL-1 β seviyesinin Ti500 grubunda, K ve Ti grubuna kıyasla çok daha düşük olduğunu bulduk. Elde ettiğimiz verilere göre 3.günde K grubuna kıyasla Ti grubunda anlamlı artış (p <0.01) olduğu ve Ti500 gruplarında ise anlamlı bir (p <0.01) azalma olduğu görülmüştür. İmplantasyon sonrası IL-1 β seviyelerinin yükselmesi, ilk günlerde inflamasyon sürecinin

aktif olduğunu gösterir. Bu inflamasyon, dokuların onarılması, yenilenmesi ve implantın etrafında sağlam bir doku kapsülünün oluşması için önemlidir. İlk günlerdeki IL-1 β seviyelerinin yükselmesi, cerrahi travma, mikro-organizmaların varlığı, hasar ve doku yıkımı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.

7.günde kontrol (K) grubuna kıyasla Ti grubunda anlamlı artış ($p < 0.01$) olduğu ve Ti500 gruplarında ise anlamlı bir ($p < 0.01$) azalma devam ettiği gözlemlenmiştir. İmplantasyon sonrası 7.gün, immün sistemin yavaş yavaş ilk denge noktasına ulaştığı, inflamatuvar yanıtın kontrol altına alındığı ve iyileşme dönemine geçmeye başladığı dönemdir. Bu yüzden Ti-500 grubundaki bu azalma eğilimi bize implantın dokuya daha hızlı uyum sağlayabildiğine dair ipuçları vermektedir.

14. günde K grubu ile kıyaslandığında, Ti ve Ti500 gruplarında anlamlı ($p < 0.01$) bir düşüş gerçekleştiği gözlemlenmiştir (Grafik 4.5). Sonuçlarımıza göre, Ti-500 implantasyonu, Ti grubuna kıyasla, IL-1 β değerlerinde daha hızlı azalma ve daha hızlı dengeye ulaşma gerçekleşmiştir.

Ti500 materyalinin, deney süresi boyunca IL-1 β üzerinde yarattığı bu anlamlı düşüş, çalışmamız adına önemli bir sonucu ortaya koymaktadır. Ti-500 İmplantasyonu sonrası IL-1 β seviyelerinin, Ti gruplarına göre düşük ve daha hızlı azalma eğilimi göstermesi, Ti-500 implantasyonu açısından önemli bir avantajdır. IL-1 β 'nin yüksek seviyeleri; implant çevresindeki dokuların enfekte olduğunu ya da inflamatuvar süreçlerin devam ettiğini göstermektedir. Bununla birlikte bu seviyelerin ne kadar hızlı dengelendiği implantasyon sonrası dönemde önem arz etmektedir.

Yapılan araştırmalar, Ti implantasyonunun, özellikle kemik hücrelerinden IL-1 β üretiminde artışa neden olduğunu göstermiştir. İmplantın büyüklüğü, yüzey özellikleri ve kimyasal işlemi gibi çeşitli faktörler, IL-1 β salınımının düzeyini etkiler (27).

IL-1 β , inflamasyonun sürdürülmesinde önemli bir rol oynayan bir sitokin olarak kabul edilir. Ayrıca, IL-1 β , kemik üzerinde olumsuz etkilere yol açabilecek osteoklastların aktivasyonunu da artırabilir. Bu nedenle, Ti implantasyonunun IL-1 β üzerindeki etkileri, kemik dokusu için uzun vadeli sonuçları hakkında araştırmaların önemli bir bileşenidir.

IL-1 β artışı, lokal bölgedeki İnflamasyonun bir göstergesidir. Bu mekanizma implantasyon sürecinin normal bir yanıtıdır ve dokuların iyileşme sürecini başlatır. IL-1 β , diğer pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarabilir, böylece İnflamasyon yanıtı güçlendirilebilir.

Ancak, aşırı IL-1 β salınımı bazı durumlarda istenmeyen sonuçlara yol açabilir. İşte bunlardan biri peri-implantit adı verilen bir durumdur. Peri-implantit, implant çevresindeki inflamasyon ve kemik kaybı ile karakterize olan bir durumdur. Bu durumda, Ti implantasyonu sonrası IL-1 β seviyeleri yükselebilir.

IL-1 β düşüşü ise implantasyon sonrası iyileşme sürecinin bir göstergesi olabilir. İyi bir doku iyileşmesi ve İnflamasyonun kontrol altına alınması, IL-1 β düzeylerinin azalmasıyla ilişkilendirilebilir. Bu, implantasyon sonrası sağlıklı bir iyileşme sürecinin bir göstergesi olabilir.

Ti implantın yüzeyi, çevre dokularda bulunan fagositlerin aktivasyonuna ve IL-1 β salınımına yol açabilecek mikro çevresel değişikliklere neden olabilir. IL-1 β 'nin artan düzeyleri, inflamatuvar süreçleri tetikleyebilir ve çeşitli hücresel yanıtlara neden olabilir. IL-1 β , diğer sitokinlerin salınımını uyarabilir ve immün hücrelerin çoğalmasını ve migrasyonunu teşvik edebilir (27).

İmplantasyonun immünolojik perspektif içerisinde incelenmesinde en önemli moleküllerin başında TNF- α 'dan söz edebiliriz. TNF- α akut faz reaksiyonlarının düzenlenmesinde ve inflamasyonun kontrolünde kilit bir molekül olarak rol oynar.

Elde ettiğimiz sonuçlarla beraber Ti yüzeyinin, TNF- α 'nın hücre yayılımını ve hücre sinyallemesini etkilediğini göstermiştir. Yaptığımız deneyler TNF- α değerlerinde, K grubu ile Ti grubu kıyaslandığında sadece 3.günde az anlamlı ($p < 0.05$) bir düşüş gerçekleştiği gözlenirken, Ti500 ve K grubu kıyaslandığında 3, 7 ve 14.günlerde devamlı ve az anlamlı ($p < 0.05$) bir düşüş gerçekleştiğini göstermiştir (Grafik 4.1). İlk aşamada yüksek seviyelerde bulunan TNF- α , inflamasyonun progresyonu ile ilişkilidir. Ancak, iyileşme süreci ilerledikçe, TNF- α seviyeleri azalır ve inflamasyonun azaldığı ve doku iyileşmesinin arttığı gözlenir. Bu bulgu, implantasyonun başarıyla sonuçlandığını ve doku uyumunun olumlu bir göstergesi olduğunu düşündürmektedir.

İmplantasyon sonrası TNF- α düşüşü, immünolojik yanıtın regülasyonu ve doku iyileşmesinin tetiklendiği anlamına gelir. Bu durum, implantasyonun neden olduğu inflamasyonun azalması ve immün sistem aktivitesinin normale dönmesiyle ilişkilidir. İyi kontrol edilen bir immün yanıt, doku hasarının onarılmasını sağlarken implantın başarıyla entegre olmasını da destekler.

TNF- α düzeyinin implantasyon sonrası azalma süreci, proinflatuar yanıtların baskılanmaya başladığını gösterir. Bu da implantasyon sonrası komplikasyon riskini azaltır ve başarılı bir implant entegrasyonu için önemlidir.

Grenadyorov ve ark. (2021), yaptıkları çalışmada Ti yüzeyinin TNF- α 'nın hücre adezyonunu, hücre yayılımını ve hücre sinyallemesini etkileyerek inflamasyonu düzenlediğini göstermiştir (95).

Bu sonuçlar, Ti yüzeyinin hücre yanıtlarını ve TNF- α 'nın etkilerini modüle edebildiğini göstermektedir. Aynı zamanda titanyumun biyomateriyal olarak tasarımında ve uygulamalarında inflamasyonu kontrol etmek ve hücre yanıtlarını yönlendirmek için kullanılabilecek stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

TNF- α 'nın implantasyon sonrası immün yanıtını incelerken IL-4 ile olan etkileşimi oldukça önem taşır. IL-4 ve TNF- α , immün yanıtının farklı yönlerini düzenler ve birbirleriyle etkileşime geçer. Örneğin IL-4, TNF- α 'nın salınımını inhibe edebilir ve inflamasyonu baskılayabilir.

IL-4, bazı durumlarda immün yanıtını Th2-yanlı hale getirerek inflamasyonun kontrol altına alınmasına yardımcı olabilir. TNF- α da IL-4'ün bazı etkilerini modüle edebilir. TNF- α , IL-4'ün antikor üretimini artırıcı etkisini zayıflatabilir. Ancak IL-4 ve TNF- α 'nın etkileşimleri oldukça karmaşıktır. Bu ilişki çeşitli faktörlere ve hücre tiplerine bağımlı olarak değişebilir.

Ti implantasyonu sonrasında, IL-4 düzeyindeki değişim, immün yanıtın karmaşık bir yönünü yansıtır. IL-4, T hücrelerinden salınan bir sitokin olup, tip 2 immün yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. İmplantasyon işlemi, vücutta doku hasarı ve yabancı cismin varlığına bağlı olarak immün sistem aktivasyonuna neden olur. İnflamasyon başladığında, IL-4 salınımı da artar (81). Bu sitokin, T hücrelerindeki Th2 alt kümesinde üretilir ve B hücrelerinin antikor üretimini uyarır. Aynı zamanda makrofajların M2 fenotipine yönelmesini ve doku iyileşmesini teşvik eder.

İmplantasyon operasyonları sonrası IL-4 artışı, doku onarım sürecindeki aktivasyonu ve immün yanıtın tip 2 yönlendirilmesini gösterir. Ancak, zamanla IL-4 düzeyi normale döner. İmplantasyon sonrası IL-4 düzeylerindeki bu geçici artış, inflamasyonun inhibisyonu ve doku iyileşmesinin başlangıcıyla bağlantılıdır.

IL-4 seviyesinin Ti implantasyonu sonrası düşmeye başlaması, tip 2 immün yanıtın etkinliğinin azalması ve immün sistemin dengeye ulaşması anlamına gelir.

Yaptığımız deneylerle, IL-4'ün Ti500 grubundaki artışı, K ve Ti grubuna göre daha uzun ve yüksek seviyede gerçekleştiği bulunmuştur. Bu artışın Titanyuma göre yüksek seviyede ve devamlılığı olması inflamasyonun kontrol altına alınması ve iyileşme sürecinin verimi açısından önemli bir avantajdır.

IL-4 değerlerinde, 3.günde kontrol grubuna kıyasla Ti-500 gruplarında anlamlı bir artış ($p < 0.01$) olduğu, ayrıca 7. ve 14.günlerde kontrol grubuna kıyasla çok anlamlı bir artış ($p < 0.001$) devam ettiği gözlemlenmiştir (Grafik.4.2). Ti-500 grubunun IL-4 seviyelerindeki yüksek ve hızlı artış, klinik olarak önemli bir avantaj sunar. IL-4'ün artan düzeyleri; anti-inflamatuvar mekanizmanın aktif olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda immün sistemdeki dengeyi sağlama eğiliminde olduğunu gösterir. İnflamasyonun kontrol altına alınmasıyla birlikte, inflamatuvar yanıtların azalması ve doku iyileşmesini engelleyebilecek komplikasyonların önlenmesi mümkün olabilir. Bu sonuçlar özellikle hastaların operasyon sonrası iyileşme dönemlerindeki verimi yükseltmek adına önemli bir bilgi sağlamıştır.

Kelly ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (2016), Ti implantasyonunun IL-4 düzeyine etkisini incelenmiştir. Sonuçlar, Ti implantasyonunun IL-4 ve IL-10 seviyesini artırdığını göstermiştir (96). IL-4 gibi anti-inflamatuvar sitokinler, IL-10 ile birlikte çalışarak inflamasyonu baskılar. IL-4, IL-10 üretimini uyarabilir ve IL-10 de IL-4'ün etkisini destekleyebilir. Ti implantasyonu sonrası IL-4 ve IL-10 arasındaki ilişki, inflamasyon sürecinde önemli bir denge sağlar.

IL-4, inflamasyonu düzenlerken IL-10 salınımını artırarak anti-inflamatuvar etkisini güçlendirebilir. Bu denge, inflamasyonun kontrol altında tutulmasına ve doku iyileşmesinin sağlanmasına yardımcı olur.

Sonuçlarımızdaki IL-10 seviyelerine ait veriler, Ti500 grubunda, Ti ve K grubuna göre daha yüksek değerlerde olduğunu göstermektedir. Bu da iyileşme sürecinde inflamatuvar yanıtın, Ti implantasyonlarına göre daha düşük seyredebileceğini gösterir. Bu bulgular ile Ti500'ün, klinik olarak Ti implantlarına göre önemli bir avantaj olarak değerlendirilebileceğini düşünüyoruz.

Yaptığımız deneyler sonucunda IL-10 değerlerinde, 3. günde K grubuna kıyasla Ti grubunda az anlamlı artış ($p < 0.05$) ve Ti500 gruplarında ise anlamlı bir artış olduğu ($p < 0.01$),

7.günde Ti grubunda anlamlı artışın ($p < 0.01$) devam ettiği, Ti500 grubunda ise çok anlamlı bir artış olduğu ($p < 0.001$) gözlemlenmiştir. İmplantasyon sonrası ilk haftanın sonunda IL-10 seviyesi tepe noktasına ulaşmıştır ve inflamasyonu kontrol altına almak için gerekli olan anti-inflamatuvar mekanizmaların aktif hale geldiğini göstermektedir.

14. günde ise K grubu kıyaslandığında, Ti grubunda anlamlı bir azalma olduğu ($p < 0.05$), Ti500 grubunda ise çok anlamlı bir düşüş ($p < 0.001$) gerçekleştiğini ortaya koyduk (Grafik 4.4). Bu düşüş inflamasyonun sona ermesi ve doku iyileşmesinin neredeyse tamamlandığını ifade eder.

Yapılan araştırmalar ile Ti implantasyonunun birçok sitokin üzerindeki etkisini oldukça net şekilde ortaya koymayı başarmıştır ancak Ti implantasyonunun IL-10 düzeyleri üzerindeki etkisi hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bazı araştırmalar, Ti implantasyonunun IL-10 düzeylerini artırabileceğini öne sürmüş olsa da diğer çalışmalar bu sonucu desteklememektedir. Bununla birlikte, IL-10'nin bir anti-inflamatuvar sitokin olduğu ve vücuttaki inflamatuvar yanıtlara karşı koruyucu bir rol oynadığı bilinmektedir. Zhu ve arkadaşlarının (2021) yaptığı çalışmada Ti implantasyonunun, kemik hücrelerinde IL-10 üretimini artırabileceğini göstermiştir (97).

Ti implantasyonu sonrası oluşan IL-10 yanıtının klinik önemi tam olarak anlaşılmamıştır ancak IL-10'un peri-implantit durumunun önlenmesinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. IL-10'un peri-implantit durumunu önlemesindeki rolünü araştırmak ve Ti implantasyonuna IL-10 yanıtını artırmak için stratejiler geliştirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Sonuçlar, IL-10'un Ti implantasyonu sonrası anti-inflamatuvar yanıtta önemli bir rol oynadığını göstermektedir. IL-10, diğer proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe edebilir, böylece inflamatuvar yanıtı azaltmaya yardımcı olabilir (84).

Bunlarla birlikte, IL-10 implantasyon sonrası TGF-B ile etkileşime girerek anti-inflamatuvar etkisini artırabilir. TGF-B, IL-10 üretimini uyarak inflamasyonu baskılamaya yardımcı olurken, IL-10 de TGF-B'nin etkisini destekleyerek doku iyileşmesini teşvik eder (85).

TGF-B ve IL-10 arasındaki ilişki, implantasyon sürecinde inflamasyonun düzenlenmesinde önemli bir denge oluşturur. TGF-B, inflamasyonu başlatırken aynı zamanda IL-10 salınımını da artırarak inflamasyonun kontrol altında tutulmasına yardımcı olur. Bu dengeli yanıt, doku

iyileşmesinin sağlanması ve implantın başarılı bir şekilde entegrasyonunun gerçekleştirilmesi için önemlidir.

Ti implantasyonu TGF- β üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. Ti implant yüzeyi, çevre dokularda bulunan hücrelerin reseptörlerini etkileyerek TGF- β sinyal yollarını aktive edebilir. Aktive edilen TGF- β sinyal yolları, çeşitli hücrel yanıtla neden olur.

TGF- β , kemik hücrelerinde ve diğer dokularda önemli bir rol oynayan bir büyüme faktörüdür. İşlevsel olarak inflamasyonu azaltan ve dokuların yenilenmesine yardımcı olan bir sitokindir. Ti implantasyonu TGF- β düzeylerini artırabilir ve bu da kemik rejenerasyonu ve implant entegrasyonu süreçlerinde önemli bir etki yaratabilir. TGF- β , osteoblastların farklılaşmasını ve kemik dokusunun oluşumunu teşvik ederken, osteoklast aktivitesini azaltabilir. Ayrıca, TGF- β , çevre dokularda inflamasyonu kontrol ederek implantın biyoyumluluğunu artırabilir.

İmplantasyon sonrası TGF-B aktivitesi hakkında elde ettiğimiz veriler ışığında, 3. ve 7.günlerde her iki grup içinde K grubuna kıyasla artışa geçerken, 14.günde Ti grubu için anlamlı bir düşüşe ($p < 0.01$) ve Ti500 grubunda çok anlamlı ($p < 0.001$) bir seviyede azaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar Ti500 materyalinin hastalardaki implantasyon sürecinde ve sonrasındaki verimi oldukça yüksek seviyelere çıkarabileceğini göstermektedir. İyileşme süreci ilerledikçe ve doku iyileşmesi tamamlandıkça, TGF- β seviyeleri normale döner veya azalır. Ortaya koyduğumuz bu düşüş, dokunun tamir edilmiş ve yenilenmiş olduğunu gösterir.

Tüm bunlarla birlikte Ti implantasyonunun TGF- β üzerindeki etkisi hakkında yapılan çalışmalar azdır ve sonuçlar tartışmalıdır. Bazı araştırmalar, Ti implantasyonunun TGF- β düzeylerini artırabileceğini öne sürerken, diğer çalışmalar bu sonucu desteklememektedir. TGF- β , kemikte büyümeyi düzenleyen bir protein olduğu için implantasyonun kemik rejenerasyonuna olan etkisi üzerine araştırmalar devam etmektedir (88).

Bazı çalışmalar, düşük yoğunluklu Ti implantların, TGF- β salınımını ve osteoblastik aktiviteyi artırabileceğini gösterirken, diğer çalışmalar daha yüksek yoğunluklu Ti implantların kemik büyümesini artırdığını göstermektedir. Bununla birlikte, TGF-B'nın kemik rejenerasyonuna olan etkisi üzerine henüz çok az çalışma yapılmıştır ve konu hala tam olarak anlaşılamamıştır.

İmplantasyon sonrası Ti parçacıkları sessizce immün sistemi aktivasyonunu tetikler. Bu etki makrofajlarda, T lenfositlerinde ve monositlerde pro-inflamatuar bir yanıt oluşturur.

Aktivasyon sırasında, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), prostaglandin ve TNF- α , IL-1 β , IL-6 gibi inflammatuar sitokinler salınır. Bu sonuçlar ayrıca osteoblastların yerleştirilmiş salınım nedeniyle implant gevşemesinde doğrudan bir rol oynadığını öne sürmektedir (30).

Yaptığımız deneylerle sonucunda IL-6 değerlerinde, Ti ve Ti500 gruplarında anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlenirken. 7.günde K grubuna kıyasla Ti grubunda az anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma ve Ti500 grubunda ise az anlamlı ($p < 0.05$) bir artış gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Ti-500 implantasyonu sonrası IL-6 artışının Ti grubuna göre yüksek olması sonuçlarımız adına önemli sorulardan bir tanesi olmuştur. IL-6 değerleri açısından Ti grubu, Ti-500 grubuna göre implantasyon sonrası daha hızlı azalma eğilimi göstermiştir. 14. günde ise K grubu kıyaslandığında, Ti grubunda anlamlı bir azalma ($p < 0.01$) ve Ti500 grubunda ise anlamlı bir değişiklik olmadığı gözlemlenmiştir (Grafik 4.3). Bu sonuçlar ekseninde sorularımızdan bir tanesi, Ti-500 grubu için IL-6 değerlerinde hangi faktörlerden dolayı Ti grubuna göre daha yüksek değerlerdedir sorusu olmuştur. Bu sorunun cevabını anlamak adına daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

IL-6 düzeyleri, implantasyonun hemen ardından en yüksek seviyede olup, zaman içinde normale dönme eğilimi gösterir. Nadir durumlarda, yüksek IL-6 düzeyleri kronik inflamasyona ve doku hasarına yol açabilir, ancak genellikle bu tür komplikasyonlar her koşulda ortaya çıkmaz. Bu bilgiler, Ti implantasyonu planlanan bireylerin cerrahi prosedür ve implant seçimi konusunda dikkatli olmasını sağlamak için önemli bir temel sağlar.

Hotchkiss ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada (2016), Ti implantasyonlarının IL-6 salınımına neden olabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte, her bireyde aynı etkinin görülmediği ve IL-6 düzeylerinin implant tipine ve cerrahi prosedüre bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir (96).

IL-6, TNF- α ve IL-1 β gibi diğer pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini uyaran bir etkiye sahiptir. Bu sitokinler, inflammatuar yanıtı daha da artırabilir. IL-6 ayrıca osteoklastogenezisi teşvik edebilir, yani kemik yıkımından sorumlu hücrelerin oluşumunu teşvik edebilir. Bu durum, Ti implantlarının yaygın bir komplikasyonu olan peri-implant kemik kaybına yol açabilir.

Özellikle biyomateryallerin, immün mekanizmalar üzerindeki etkisi ve bu mekanizmaların biyomateryaller üzerindeki salınımını kontrol etmek için geliştirilen yöntemler hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Bu araştırmalar, biyomateryallerin biyolojik uyumluluğunu artırmak, doku mühendisliği ve implant tasarımında daha iyileştirilmiş çözümler sunmak için önemli bir adım olacaktır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızın sonuçlarıyla birlikte Ti ve Ti-500 implantasyonu yapılacak hastaların iyileşme döneminde yaşayabileceği komplikasyonları ve olası problemleri azaltabileceğimizi düşünüyoruz.

Çalışmamızın genel sonuçları şu şekildedir:

1. Yaptığımız deneyler sonucunda, Ti-500 materyalinin implantasyon operasyonu sonrası dönemde, pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) seviyelerinde artış gerçekleştirdiği ve ardından hızlı ve anlamlı bir şekilde düştüğünü gözlemledik.
2. Ti-500 implantasyonunun Ti'ye göre anti-inflamatuar sitokin (IL-10, TGF- β , IL-4) seviyelerinde yüksek artış gerçekleştirdiği ve iyileşme sürecinde sitokin seviyelerini hızlı bir şekilde denge seviyesine ulaştırdığını ortaya koyduk.
3. Ti-500'ün yüksek biyouyumluluğu sayesinde, Ti ve diğer implant materyallerine göre klinik olarak daha avantajlı konumda olduğunu gözlemledik.
4. Ti-500 biyomateryalinin implantasyon sonrası iyileşme döneminin Titanyuma göre daha hızlı ve etkili olması osseointegrasyon sürecini de kolaylaştırır. Bu sürecin daha verimli olması implantın stabilitesini artırır ve hastaya fonksiyonel bir rehabilitasyon sağlar.

Elde ettiğimiz bulgular, Ti-500 materyalinin klinik kullanımının ilerlemesi için önemli bir yol açabilecek yeni projeler için umut verici perspektifler sunmaktadır. Ayrıca, implantasyon sonrası sitokin profillerinin zaman içinde nasıl değiştiğini daha detaylı bir şekilde araştırmak ve sitokin seviyelerini etkileyen faktörlerin ve mekanizmaların daha iyi anlaşılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma, Ti ve Ti-500 implantasyonu sonrası sitokin seviyelerinin belirlenmesi konusunda önemli bilgiler sağlamaktadır. Elde edilen sonuçlar, implantasyon sonrası immün yanıtları anlamak ve gelecekteki implant tasarımı ve uygulamaları için değerli bir rehberlik sunmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- 1- Enderle, J. D., & Bronzino, J. D. (2012). *Introduction to biomedical engineering*. Elsevier.
- 2- Access to the Minds of Medicine, Section 1 of 11. Gümüşderelioğlu, M., 2002, Tıbbın geleceği biyomalzemeler, Bilim ve Teknik Dergisi, 2-4.
- 3- Kümbüloglu, Ö., & Oral, O. (n.d.). 2013 *Biyomateriyaller*. JournalAgent.
- 4- Marin, E., Boschetto, F., & Pezzotti, G. (2020). Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 108(8), 1617–1633.
- 5- Whitaker, R., Hernaez-Estrada, B., Hernandez, R. M., Santos-Vizcaino, E., & Spiller, K. L. (2021). Immunomodulatory Biomaterials for Tissue Repair. *Chemical reviews*, 121(18), 11305–11335.
- 6- Zadpoor A. A., (2019). Meta-biomaterials. *Biomaterials science*, 8(1), 18–38.
- 7- Abdulghani, S., & Mitchell, G. R. (2019). Biomaterials for In Situ Tissue Regeneration: A Review. *Biomolecules*, 9(11), 750.
- 8- Liu, Z., Zhu, J., Li, Z., Liu, H., & Fu, C. (2023). Biomaterial scaffolds regulate macrophage activity to accelerate bone regeneration. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 11, 1140393.
- 9- Monavarian, M., Kader, S., Moeinzadeh, S., & Jabbari, E. (2019). Regenerative Scar-Free Skin Wound Healing. *Tissue engineering. Part B, Reviews*, 25(4), 294–311.
- 10- Agarwal, R., & García, A. J. (2015). Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair. *Advanced drug delivery reviews*, 94, 53–62.
- 11- Lee, J., Byun, H., Madhurakkat Perikamana, S. K., Lee, S., & Shin, H. (2019). Current Advances in Immunomodulatory Biomaterials for Bone Regeneration. *Advanced healthcare materials*, 8(4), e1801106.
- 12- Anderson, J. M., Rodriguez, A., & Chang, D. T. (2008). Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars in immunology*, 20(2), 86–100.
- 13- Stepanovska, J., Matejka, R., Rosina, J., Bacakova, L., & Kolarova, H. (2020). Treatments for enhancing the biocompatibility of titanium implants. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, 164(1), 23–33.

- 14- Kim, I. I., Surovtseva, M. A., Poveshchenko, O. V., Bondarenko, N. A., Chepeleva, E. V., & Zhuravleva, I. Y. (2022). Biocompatibility of Titanium Oxynitride Coatings Deposited by Reactive Magnetron Sputtering. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 173(6), 779–782.
- 15- Xie Y, Li S, Zhang T, Wang C, Cai X. Titanium mesh for bone augmentation in oral implantology: current application and progress. *Int J Oral Sci*. 2020 Dec 30;12(1):37. PMID: 33380722; PMCID: PMC7773733.
- 16- Kaur, M., & Singh, K. (2019). Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 102, 844–862.
- 17- Chen, X., Fu, Q., Jin, Y., Li, M., Yang, R., Cui, X., & Gong, M. (2017). In vitro studying corrosion behavior of porous titanium coating in dynamic electrolyte. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 70(Pt 2), 1071–1075.
- 18- Kopova, I., Stráský, J., Harcuba, P., Landa, M., Janeček, M., & Bačáková, L. (2016). Newly developed Ti-Nb-Zr-Ta-Si-Fe biomedical beta titanium alloys with increased strength and enhanced biocompatibility. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 60, 230–238.
- 19- Golasik, M., Herman, M., & Piekoszewski, W. (2016). Toxicological aspects of soluble titanium - a review of in vitro and in vivo studies. *Metallomics: integrated biometal science*, 8(12), 1227–1242.
- 20- Yamada, M., Miyauchi, T., Yamamoto, A., Iwasa, F., Takeuchi, M., Anpo, M., Sakurai, K., Baba, K., & Ogawa, T. (2010). Enhancement of adhesion strength and cellular stiffness of osteoblasts on mirror-polished titanium surface by UV-photofunctionalization. *Acta biomaterialia*, 6(12), 4578–4588.
- 21- Fragou, S., & Eliades, T. (2010). Effect of topical fluoride application on titanium alloys: a review of effects and clinical implications. *Pediatric dentistry*, 32(2), 99–105.
- 22- Lampé, I., Beke, D., Biri, S., Csarnovics, I., Csik, A., Dombrádi, Z., Hajdu, P., Hegedűs, V., Rácz, R., Varga, I., & Hegedűs, C. (2019). Investigation of silver nanoparticles on titanium surface created by ion implantation technology. *International journal of nanomedicine*, 14, 4709–4721.
- 23- Chouirfa, H., Bouloussa, H., Migonney, V., & Falentin-Daudré, C. (2019). Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. *Acta biomaterialia*, 83, 37–54.

- 24- Deshmukh, P. S., Katiyar, A., Sahu, A., Sathiaraj, D., Palani, I., & Sonawane, A. (2023). Wire arc additive manufacturing of commercially pure titanium bio-medical alloy. *Materials Today: Proceedings*.
- 25- Zhu, W. Q., Shao, S. Y., Xu, L. N., Chen, W. Q., Yu, X. Y., Tang, K. M., Tang, Z. H., Zhang, F. M., & Qiu, J. (2019). Enhanced corrosion resistance of zinc-containing nanowires-modified titanium surface under exposure to oxidizing microenvironment. *Journal of nanobiotechnology*, 17(1), 55.
- 26- Abaricia, J. O., Shah, A. H., Chaubal, M., Hotchkiss, K. M., & Olivares-Navarrete, R. (2020). Wnt signaling modulates macrophage polarization and is regulated by biomaterial surface properties. *Biomaterials*, 243, 119920.
- 27- Pitchai, M. S., Ipe, D. S., & Hamlet, S. (2023). The Effect of Titanium Surface Topography on Adherent Macrophage Integrin and Cytokine Expression. *Journal of functional biomaterials*, 14(4), 211.
- 28- Nishimura, T., Ogino, Y., Ayukawa, Y., & Koyano, K. (2018). Influence of the wettability of different titanium surface topographies on inititanyumal cellular behavior. *Dental materials journal*, 37(4), 650–658.
- 29- Jiang, Q. H., Liu, L., Peel, S., Yang, G. L., Zhao, S. F., & He, F. M. (2013). Bone response to the multilayer BMP-2 gene coated porous titanium implant surface. *Clinical oral implants research*, 24(8), 853–861.
- 30- Guglielmotti, M. B., Olmedo, D. G., & Cabrini, R. L. (2019). Research on implants and osseointegration. *Periodontology 2000*, 79(1), 178–189.
- 31- Bosshardt, D. D., Chappuis, V., & Buser, D. (2017). Osseointegration of titanium, titanium alloy and zirconia dental implants: current knowledge and open questions. *Periodontology 2000*, 73(1), 22–40.
- 32- Elgali, I., Omar, O., Dahlin, C., & Thomsen, P. (2017). Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *European journal of oral sciences*, 125(5), 315–337.
- 33- Liu, J., & Kerns, D. G. (2014). Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *The open dentistry journal*, 8, 56–65.
- 34- 22- Pili, D., & Tranquilli Leali, P. (2011). Biomaterials and bone. *Aging clinical and experimental research*, 23(2 Suppl), 74–75.
- 35- Sattler S. (2017). The Role of the Immune System Beyond the Fight Against Infection. *Advances in experimental medicine and biology*, 1003, 3–14.

- 36- Brodin, P., & Davis, M. M. (2017). Human immune system variation. *Nature reviews. Immunology*, 17(1), 21–29.
- 37- Medzhitov R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435.
- 38- Singh, N., Baby, D., Rajguru, J. P., Patil, P. B., Thakkannavar, S. S., & Pujari, V. B. (2019). Inflammation and cancer. *Annals of African medicine*, 18(3), 121–126.
- 39- Yeung, Y. T., Aziz, F., Guerrero-Castilla, A., & Arguelles, S. (2018). Signaling Pathways in Inflammation and Anti-inflammatory Therapies. *Current pharmaceutical design*, 24(14), 1449–1484.
- 40- Germolec, D. R., Shipkowski, K. A., Frawley, R. P., & Evans, E. (2018). Markers of Inflammation. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1803, 57–79.
- 41- Roe K. (2021). An inflammation classification system using cytokine parameters. *Scandinavian journal of immunology*, 93(2), e12970.
- 42- Zhou, M., Li, S., & Pathak, J. L. (2019). Pro-inflammatory Cytokines and Osteocytes. *Current osteoporosis reports*, 17(3), 97–104.
- 43- Domingo, I. K., Latif, A., & Bhavsar, A. P. (2022). Pro-Inflammatory Signalling PRRopels Cisplatin-Induced Toxicity. *International journal of molecular sciences*, 23(13), 7227.
- 44- Hanna, A., & Frangogiannis, N. G. (2020). Inflammatory Cytokines and Chemokines as Therapeutic Targets in Heart Failure. *Cardiovascular drugs and therapy*, 34(6), 849–863.
- 45- Na, K. S., Jung, H. Y., & Kim, Y. K. (2014). The role of pro-inflammatory cytokines in the neuroinflammation and neurogenesis of schizophrenia. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 48, 277–286.
- 46- Rodríguez-Gómez, J. A., Kavanagh, E., Engskog-Vlachos, P., Engskog, M. K. R., Herrera, A. J., Espinosa-Oliva, A. M., Joseph, B., Hajji, N., Venero, J. L., & Burguillos, M. A. (2020). Microglia: Agents of the CNS Pro-Inflammatory Response. *Cells*, 9(7), 1717.
- 47- Smith, J. A., Das, A., Ray, S. K., & Banik, N. L. (2012). Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in neurodegenerative diseases. *Brain research bulletin*, 87(1), 10–20.
- 48- Wang, T., & He, C. (2018). Pro-inflammatory cytokines: The link between obesity and osteoarthritis. *Cytokine & growth factor reviews*, 44, 38–50.
- 49- Shapouri-Moghaddam, A., Mohammadian, S., Vazini, H., Taghadosi, M., Esmaeili, S. A., Mardani, F., Seifi, B., Mohammadi, A., Afshari, J. T., & Sahebkar, A. (2018). Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *Journal of cellular physiology*, 233(9), 6425–6440.

- 50- Brenner, C., Galluzzi, L., Kepp, O., & Kroemer, G. (2013). Decoding cell death signals in liver inflammation. *Journal of hepatology*, 59(3), 583–594.
- 51- Wynn, T. A., & Vannella, K. M. (2016). Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*, 44(3), 450–462.
- 52- Gruber R. (2019). Osteoimmunology: Inflammatory osteolysis and regeneration of the alveolar bone. *Journal of clinical periodontology*, 46 Suppl 21, 52–69.
- 53- Reinke, J. M., & Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration. *European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales europeennes*, 49(1), 35–43.
- 54- D'Arcy M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international*, 43(6), 582–592.
- 55- Xu, X., Lai, Y., & Hua, Z. C. (2019). Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentitanyumals. *Bioscience reports*, 39(1), BSR20180992.
- 56- Nagata, S., & Tanaka, M. (2017). Programmed cell death and the immune system. *Nature reviews. Immunology*, 17(5), 333–340.
- 57- Kaczanowski S. (2016). Apoptosis: its origin, history, maintenance and the medical implications for cancer and aging. *Physical biology*, 13(3), 031001.
- 58- Dinarello C. A. (2010). Anti-inflammatory Agents: Present and Future. *Cell*, 140(6), 935–950.
- 59- Azab, A., Nassar, A., & Azab, A. N. (2016). Anti-Inflammatory Activity of Natural Products. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(10), 1321.
- 60- Kany, S., Vollrath, J. T., & Relja, B. (2019). Cytokines in Inflammatory Disease. *International journal of molecular sciences*, 20(23), 6008.
- 61- Romagnani S. (1999). Th1/Th2 cells. *Inflammatory bowel diseases*, 5(4), 285–294.
- 62- Kamali, A. N., Noorbakhsh, S. M., Hamedifar, H., Jadidi-Niaragh, F., Yazdani, R., Bautista, J. M., & Azizi, G. (2019). A role for Th1-like Th17 cells in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune disorders. *Molecular immunology*, 105, 107–115.
- 63- Zhang, Y., Zhang, Y., Gu, W., & Sun, B. (2014). TH1/TH2 cell differentitanyumation and molecular signals. *Advances in experimental medicine and biology*, 841, 15–44.
- 64- Dong, C., & Flavell, R. A. (2001). Th1 and Th2 cells. *Current opinion in hematology*, 8(1), 47–51.
- 65- Lyadova, I. V., & Panteleev, A. V. (2015). Th1 and Th17 Cells in Tuberculosis: Protection, Pathology, and Biomarkers. *Mediators of inflammation*, 2015, 854507.

- 66- Damsker, J. M., Hansen, A. M., & Caspi, R. R. (2010). Th1 and Th17 cells: adversaries and collaborators. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1183, 211–221.
- 67- Kokubo, K., Onodera, A., Kiuchi, M., Tsuji, K., Hirahara, K., & Nakayama, T. (2022). Conventional and pathogenic Th2 cells in inflammation, tissue repair, and fibrosis. *Frontiers in immunology*, 13, 945063.
- 68- Stark, J. M., Tibbitt, C. A., & Coquet, J. M. (2019). The Metabolic Requirements of Th2 Cell Differentiation. *Frontiers in immunology*, 10, 2318.
- 69- Kidd P. (2003). Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic*, 8(3), 223–246.
- 70- Gordon, S., & Martinez, F. O. (2010). Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. *Immunity*, 32(5), 593–604.
- 71- Martynova, E., Rizvanov, A., Urbanowicz, R. A., & Khaiboullina, S. (2022). Inflammasome Contribution to the Activation of Th1, Th2, and Th17 Immune Responses. *Frontiers in microbiology*, 13, 851835.
- 72- Eger, M., Hiram-Bab, S., Liron, T., Sterer, N., Carmi, Y., Kohavi, D., & Gabet, Y. (2018). Mechanism and Prevention of Titanium Particle-Induced Inflammation and Osteolysis. *Frontiers in immunology*, 9, 2963.
- 73- Kheder, W., Al Kawas, S., Khalaf, K., & Samsudin, A. R. (2021). Impact of tribocorrosion and titanium particles release on dental implant complications - A narrative review. *The Japanese dental science review*, 57, 182–189.
- 74- Lechner, J., Noubissi, S., & von Baehr, V. (2018). Titanium implants and silent inflammation in jawbone-a critical interplay of dissolved titanium particles and cytokines TNF- α and RANTES/CCL5 on overall health?. *The EPMA journal*, 9(3), 331–343.
- 75- Lopez-Castejon, G., & Brough, D. (2011). Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine & growth factor reviews*, 22(4), 189–195.
- 76- Weber, A., Wasiliew, P., & Kracht, M. (2010). Interleukin-1 β (IL-1 β) processing pathway. *Science signaling*, 3(105), cm2.
- 77- Idriss, H. T., & Naismith, J. H. (2000). TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). *Microscopy research and technique*, 50(3), 184–195.
- 78- Wajant, H., & Siegmund, D. (2019). TNFR1 and TNFR2 in the Control of the Life and Death Balance of Macrophages. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 91.
- 79- Balkwill F. (2006). TNF-alpha in promotion and progression of cancer. *Cancer metastasis reviews*, 25(3), 409–416.

- 80- Zelová, H., & Hošek, J. (2013). TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]*, 62(7), 641–651.
- 81- Junttila I. S. (2018). Tuning the Cytokine Responses: An Update on Interleukin (IL)-4 and IL-13 Receptor Complexes. *Frontiers in immunology*, 9, 888.
- 82- Dubin, C., Del Duca, E., & Guttman-Yassky, E. (2021). The IL-4, IL-13 and IL-31 pathways in atopic dermatitis. *Expert review of clinical immunology*, 17(8), 835–852.
- 83- Saraiva, M., & O'Garra, A. (2010). The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nature reviews. Immunology*, 10(3), 170–181.
- 84- Ouyang, W., & O'Garra, A. (2019). IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. *Immunity*, 50(4), 871–891.
- 85- Ouyang, W., Rutz, S., Crellin, N. K., Valdez, P. A., & Hymowitz, S. G. (2011). Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual review of immunology*, 29, 71–109.
- 86- Mannino, M. H., Zhu, Z., Xiao, H., Bai, Q., Wakefield, M. R., & Fang, Y. (2015). The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer letters*, 367(2), 103–107.
- 87- Vander Ark, A., Cao, J., & Li, X. (2018). TGF- β receptors: In and beyond TGF- β signaling. *Cellular signalling*, 52, 112–120.
- 88- Morikawa, M., Derynck, R., & Miyazono, K. (2016). TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 8(5), a021873.
- 89- Peng, D., Fu, M., Wang, M., Wei, Y., & Wei, X. (2022). Targeting TGF- β signal transduction for fibrosis and cancer therapy. *Molecular cancer*, 21(1), 104.
- 90- Larson, C., Oronsky, B., Carter, C. A., Oronsky, A., Knox, S. J., Sher, D., & Reid, T. R. (2020). TGF-beta: a master immune regulator. *Expert opinion on therapeutic targets*, 24(5), 427–438.
- 91- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 6(10), a016295.
- 92- Kang, S., Narazaki, M., Metwally, H., & Kishimoto, T. (2020). Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. *The Journal of experimental medicine*, 217(5), e20190347.
- 93- Heinrich, P. C., Behrmann, I., Haan, S., Hermanns, H. M., Müller-Newen, G., & Schaper, F. (2003). Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *The Biochemical journal*, 374(Pt 1), 1–20.

- 94- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2018). Interleukin (IL-6) Immunotherapy. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(8), a028456.
- 95- Grenadyorov, A. S., Zhulkov, M. O., Solovyev, A. A., Oskomov, K. V., Semenov, V. A., Chernyavskiy, A. M., Sirota, D. A., Karmadonova, N. A., Malashchenko, V. V., Litvinova, L. S., Khaziakhmatova, O. G., Gazatova, N. D., & Khlusov, I. A. (2021). Surface characterization and biological assessment of corrosion-resistant a-C:H:SiO_x PACVD coating for Ti-6Al-4V alloy. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 123, 112002.
- 96- Hotchkiss, K. M., Reddy, G. B., Hyzy, S. L., Schwartz, Z., Boyan, B. D., & Olivares-Navarrete, R. (2016). Titanium surface characteristics, including topography and wettability, alter macrophage activation. *Acta biomaterialia*, 31, 425–434.
- 97- Zhu, Y., Liang, H., Liu, X., Wu, J., Yang, C., Wong, T. M., Kwan, K. Y. H., Cheung, K. M. C., Wu, S., & Yeung, K. W. K. (2021). Regulation of macrophage polarization through surface topography design to facilitate implant-to-bone osteointegration. *Science advances*, 7(14), eabf6654.

7. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Ti ve Ti-500 İmplant Materyallerinde, İmplantasyon Sonrası Oluşan TH1/TH2 Sitokin Yanıtlarının Karşılaştırmalı Analizi

ORJİNALLİK RAPORU

% 15	% 14	% 7	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 7
2	"Kütanöz inflamasyon", 'Galenos Yayınevi' İnternet Kaynağı	% 3
3	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	resources.rndsystems.com İnternet Kaynağı	% 1
5	search.bvsalud.org İnternet Kaynağı	<% 1
6	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	<% 1
7	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1
8	www.utsakcongress.com İnternet Kaynağı	<% 1

dergipark.org.tr

8. ETİK KURUL İZİN YAZISI

Uyarı: Canlı denekler üzerinde yapılan tüm araştırmalar için Etik Kurul Belgesi alınması zorunludur.

- ☒ Etik Kurul izni gerekmektedir.
- ☐ Etik Kurul izni gerekmemektedir.

Kaan CENGİZ
(İmza)



9. KURUM İZNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- ☐ Kurum izni gerekmektedir.
- ☒ Kurum izni gerekmemektedir.

Kaan CENGİZ
(İmza)

