

**TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KURBAĞA SİYATİK SINIRINI MİKROFABRİKASYON YÖNTEMLE  
ÜRETİLEN ESNEK ELEKTROT KULLANARAK CANLI ORTAMDA  
ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLE BLOKLAMA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Zafer SOYBAŞ**

**Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Rohat MELİK**

**NİSAN 2017**



Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

.....  
**Prof. Dr. Osman EROĞUL**  
Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığımı onaylarım.

.....  
**Doç. Dr. Tolga GİRİCİ**  
Anabilimdalı Başkanı

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 131211046 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Zafer SOYBAŞ**'ın ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "**KURBAĞA SİYATİK SİNİRİNİ MİKROFABRİKASYON YÖNTEMLE ÜRETİLEN ESNEK ELEKTROT KULLANARAK CANLI ORTAMDA ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLE BLOKLAMA**" başlıklı tezi **6 Nisan 2017** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı :** **Yrd. Doç. Dr. Rohat MELİK** .....  
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :** **Prof. Dr. Hamza KURT (Başkan)** .....  
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

**Yrd. Doç. Dr. Çağlar ELBÜKEN** .....  
Bilkent Üniversitesi



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Zafer Soybaş



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KURBAĞA SİYATİK SINIRINI MİKROFABRİKASYON YÖNTEMLERİ  
ÜRETİLEN ESNEK ELEKTROT KULLANARAK CANLI ORTAMDA  
ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLERİ BLOKLAMA

Zafer SOYBAŞ

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Rohat MELİK

Tarih: Nisan 2017

İstatistiklere göre, mevcut ABD nüfusunun (% 1,9) yani 5,6 milyon kişi felçlidir. Fonksiyonel Elektriksel Uyarım (FEU) sinir sisteminde kayıp fonksiyonları onarmak için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde sinirler kasları hareket ettirmek için elektrotlar tarafından uyarılır. Ancak uyarımın lokalizasyonunu sağlamak zordur. Bundan dolayı komşu sinirlerde de istenmeyen uyarımlar oluşmakta ve bu uyarımlar ağrıya neden olmaktadır. Bu nedenle, istenmeyen uyarımları sonlandırmak için bloklama akımı uygulanmalıdır. Bloklama akımı yüksek değerlerde uygulandığında sinirlere kalıcı hasar verdiğinden bloklama akımının olabildiğince düşük değerlerde olması arzu edilir. Bloklama akımını düşürmek için mikrofabrikasyon teknikleri kullanarak elektrokimyasal yöntem uyguladık. Mikrofabrikasyon kullanılarak üretilen düzlemsel ve esnek elektrotlar kullanarak klasik metoda (kablo ile bloklama) göre bloklama akımını düşürmeyi amaçladık. Buna ek olarak ISM(iyon seçici zar) kullanarak bloklama akımını elektrokimyasal olarak düşürmeyi amaçladık.

Araştırmamızda, gerekli minimum bloklama akımlarını karşılaştırdık. Bloklama akımlarının uygulanması için; Esnek elektrotlar, düzlemsel elektrotlar ve kablolar kullandık. Gerekli deneyleri kurbağa siyatik siniri üzerinde *in-vivo* ve *in-situ* olarak yaptık.

Siyatik sinir daha geniş alana temas ettiğinden, düzlemsel elektrotlar bloklama için kablolardan daha uygundur. Sonuçlara bakıldığında, düzlemsel elektrotlar ile elde edilen bloklama akımında klasik yöntemle elde edilen bloklama akımına göre % 50-70 oranında bir düşüş görülmektedir. Esnek elektrotlardan elde edilen bloklama akımı değerlerini, düzlemsel elektrotlardan ve kablolardan elde edilen bloklama akımı değerleriyle karşılaştırdık. Esnek elektrotlar siniri daha iyi kavradığından diğerlerine kıyasla siyatik sinirle daha fazla temas yüzeyi oluşturmaktadır. Esnek elektrotlardan elde edilen bloklama akımı kablolardan elde edilen bloklama akımıyla kıyaslandığında % 80-95 oranında düşüş gözlemlenmektedir.

Sinir sisteminde iç ve dış ortamdaki iyon konsantrasyonları ve bu iyonların aksiyon potansiyeli oluşumundaki rolleri bilinmektedir. Bu iyonlardan en etkin role sahip olanlardan başlıcaları ise  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$  ve dolaylı olarak da  $Ca^{2+}$  iyonlarıdır. Fakat etkinlik bakımından en etkili olanı  $Ca^{2+}$  iyonu olduğu için  $Ca^{2+}$  iyonu için ISM (iyon seçici zar) kullanarak bloklama akımını düşürdük. ISM kullanarak bloklama akımında yalın elektrota göre % 40-50 arası bir düşüş sağladık.

Sonuç olarak, esnek elektrotların, planar elektrotlara ve klasik yöntemlere kıyasla bloklama akımını azaltmak için daha etkili olduğunu gözlemledik. Ayrıca elektrokimyasal yöntem olarak kullandığımız ISM  $Ca^{2+}$ -ISM (Kalsiyum-iyon seçici membran) sayesinde bloklama akımında yalın elektrotlara göre düşüş elde ettik. Böylece yüksek değerlerde uygulanan DC bloklama akımının sinir üzerinde oluşturacağı kalıcı hasarlardan kurtulmak mümkün olmaktadır. Bunlara ek olarak ileride, geliştirdiğimiz teknoloji daha küçük boyutlarda üretilerek felçli yüz kasları gibi küçük yapıları içeren dokularda kullanılmak üzere implant edilebilir ve daha başka uygulamalarda da kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Fonksiyonel elektriksel uyarı (FEU), İyon-seçici elektrot (ISE), Sinir sistemi, İmplant, Esnek elektronik.



## ABSTRACT

Master of Science

### ELECTROCHEMICAL BLOCKING OF SCIATIC NERVE OF A FROG *IN-VIVO* USING FLEXIBLE ELECTRODE PRODUCED BY MICROFABRICATION

#### METHOD

Zafer SOYBAŞ

TOBB University of Economics and Technology  
Institute of Natural and Applied Sciences  
Electrical and Electronics Engineering Programme

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Rohat MELİK

Date: April 2017

According to the statistics 5,6 million people in the current U.S. population (% 1.9) are suffered from paralysis. Functional Electrical Stimulation (FES) is a known method to restore the lost functions in nervous system. In this method, the nerves are stimulated by the electrodes to awake the muscles. But, it is hard to control the localization of the stimulation. Therefore, it causes non-targeted stimulation in adjacent nerves, causing pain. For this reason, blocking current should be applied to terminate the unwanted stimulations. Since the applied DC blocking current in large quantities damages the nerves permanently, the blocking current is desired to be as low as possible. We used the electrochemical method using microfabrication techniques to reduce the blocking current. We aimed to decrease the blocking current with planar and flexible electrodes, produced by using microfabrication method, compared to classical method (blocking with cables). In addition, we intend to electrochemically reduce the blocking current using ISM (ion selective membrane). In our research, we compared the minimum required blocking currents. For applying the blocking currents; we used flexible electrodes, planar electrodes and cables.

Required experiments were done in *in-situ* and in *in-vivo* along the sciatic nerve of a frog.

Because planar electrodes have larger contact area with sciatic nerve, they are more suitable than cables for blocking. From these results, it can be seen that the blocking current obtained by the planar electrodes is % 50-70 lower compared to the blocking current obtained by the conventional method. Furthermore, we compared the blocking current values obtained from the flexible electrodes with the blocking current values obtained from the planar electrodes and the cables. Since the flexible electrodes surround the nerve better, it has more contact area with the sciatic nerve compared to others. The blocking current obtained from the flexible electrodes is % 80-95 lower than the blocking current obtained from the cables.

In the nervous system, internal and external ion concentrations and their role in the action potential formation are known. The most active ions are  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Cl}^-$  and indirectly  $\text{Ca}^{2+}$  ions. But since the  $\text{Ca}^{2+}$  ion is the most effective one in terms of activity, we lowered the blocking current using ISM (ion selective membrane) for the  $\text{Ca}^{2+}$  ion. We achieved a reduction of % 40-50 in the blocking current compared to the bare electrode using ISM.

In conclusion, we have observed that flexible electrodes are more effective at reducing blocking current compared to the planar electrodes and conventional methods. In addition, by using  $\text{Ca}^{2+}$ -ISM (Calcium-ion selective membrane) for the electrochemical method, we achieved a decrease in blocking current compared to the bare electrodes. Thus, it is possible to get rid of the permanent damage caused by the DC blocking current applied at high values on the nerve. In addition, in the future, the technology we have developed can be produced in smaller sizes and can be implanted and used in other applications for use in tissues with small nerves, such as paralyzed facial muscles.

**Keywords:** Functional electrical stimulation (FES), Ion-selective membrane (ISM), Nervous system, Implant, Flexible electronics.

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca her anlamda sonsuz sabrıyla bana rehberlik eden, maddi manevi desteğini esirgemeyen ve beni her zaman bilime ve geliőime teővik eden hocam Rohat Melik'e çok teşekkür ederim.

Kıymetli tecrübelerinden faydalandığım TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine çok teşekkür ederim.

Birlikteliğimiz boyunca her anlamda en büyük destekçim olan müstakbel eőim Kübra Şimşek'e hayatımdaki varlığından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Çalıőmalarım süresince proje bursiyeri olarak destek aldığım TÜBİTAK ve eğitim bursu aldığım TOBB ETÜ ailesine desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Deneysel çalıőmaları beraber yürüttüğümüz grup arkadaşlarım Sefa Şimşek, Büőra Korkmaz ve Esra Nur Şimşek'e katkılarından ötürü teşekkür ederim.

Çalıőmalarım süresince çeşitli analiz veya fabrikasyon adımlarına katkıları bulunan Çağlar Elbüken hocama ve Merve Marçalı, Hakan Sürel, Abdullah Kafadenk'e değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

|  | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| <b>ÖZET</b> .....  | <b>iv</b>    |
| <b>ABSTRACT</b> .....  | <b>vi</b>    |
| <b>TEŞEKKÜR</b> .....  | <b>xiii</b>  |
| <b>İÇİNDEKİLER</b> .....   | <b>ix</b>    |
| <b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....   | <b>xi</b>    |
| <b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....   | <b>xii</b>   |
| <b>KISALTMALAR</b> .....   | <b>xiii</b>  |
| <b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....  | <b>xiv</b>   |
| <b>RESİM LİSTESİ</b> .....   | <b>xv</b>    |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....  | <b>1</b>     |
| 1.1 Tezin Amacı .....  | 1            |
| 1.2 Literatür Araştırması .....                                      | 1            |
| 1.2.1 Sinir sistemi mekanizmasında uyarım ve bloklama .....          | 2            |
| 1.2.2 Sinirsel rahatsızlıklar .....                                  | 2            |
| 1.2.3 Güncel çalışmalar .....  | 3            |
| 1.2.4 Enerji verimliliği .....                                       | 4            |
| 1.3 Gereç ve Yöntemler .....   | 4            |
| 1.3.1 Aksiyon potansiyeli ve uyarım .....                            | 4            |
| 1.3.2 Bloklama ve bloklama akımının düşürülmesi .....                | 5            |
| 1.3.3 Elektrokimyasal olarak bloklama akımının düşürülmesi .....     | 6            |
| <b>2. METOTLAR</b> .....   | <b>9</b>     |
| 2.1 Elektrotların Üretimi .....                                      | 9            |
| 2.1.1 Düzlemsel elektrot .....                                       | 9            |
| 2.1.2 Mikrokanal üretimi .....                                       | 11           |
| 2.1.3 Esnek elektrot .....   | 12           |
| 2.1.4 ISM kokteyli .....   | 13           |
| 2.2 Deney Hayvanının Deneyler için Hazırlanması .....                | 14           |
| 2.2.1 <i>In-vitro</i> .....  | 15           |
| 2.2.2 <i>In-vivo</i> .....   | 15           |
| 2.3 Deney Düzenegi .....   | 16           |
| 2.3.1 Düzlemsel elektrotla bloklama deneyi gösterimi .....           | 17           |
| <b>3. DENEYSEL SONUÇLAR</b> .....                                    | <b>21</b>    |
| 3.1 Elektriksel Bloklama Deneyleri .....                             | 21           |
| 3.1.1 Tripolar elektrotun polaritesi .....                           | 21           |
| 3.1.2 Bloklama noktasının sinir üzerindeki konumu .....              | 22           |
| 3.1.3 Elektrotun kutup uçları arasındaki mesafesi .....              | 23           |
| 3.1.4 Temas yüzeyi deneyleri .....                                   | 24           |
| 3.2 Elektrokimyasal Bloklama Deneyleri .....                         | 25           |
| 3.2.1 Elle iyon konsantrasyonu değişimi (enjeksiyon) deneyleri ..... | 26           |
| 3.2.2 $Ca^{2+}$ -ISM ile bloklama deneyi .....                       | 27           |
| <b>4. SONUÇ</b> .....  | <b>31</b>    |
| <b>KAYNAKLAR</b> .....   | <b>33</b>    |



## ŞEKİL LİSTESİ

|  | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| Şekil 1.1 : Aksiyon potansiyelinin sinir hücresinde iletimi .....                                      | 5            |
| Şekil 1.2 : Bloklama öncesi ve bloklama sonrası.....   | 6            |
| Şekil 1.3 : Üretilen cihaz modeli.....   | 6            |
| Şekil 2.1 : Düzlemsel elektrotların üretim aşamaları .....   | 10           |
| Şekil 2.2 : PDMS mikrokanal üretimi.....   | 11           |
| Şekil 2.3 : Eski ve yeni elektrot tasarımları .....  | 12           |
| Şekil 2.4 : Esnek elektrot üretimi .....   | 12           |
| Şekil 2.5 : Genel bloklama deney düzeneği .....  | 16           |
| Şekil 2.6 : Deney metodu .....   | 17           |
| Şekil 2.7 : Yalın elektrot (Bare elektrot) bloklama deneyi .....                                       | 18           |
| Şekil 2.8 : ISM bloklama deneyi.....   | 19           |
| Şekil 3.1 : Polarite deney sonuçları.....  | 22           |
| Şekil 3.2 : Dürtü frekansı sonuçları .....   | 23           |
| Şekil 3.3 : Elektrot kutupları arası mesafe deneyi sonuçları .....                                     | 24           |
| Şekil 3.4 : Örnek temas yüzeyi deneyi sonucu .....   | 24           |
| Şekil 3.5 : Temas yüzeyi deney sonuçları .....   | 25           |
| Şekil 3.6 : Na <sup>+</sup> , PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , K <sup>+</sup> iyon enjeksiyonları ..... | 26           |
| Şekil 3.7 : ISM'in Ca <sup>2+</sup> iyonlarını çekmesi .....   | 28           |
| Şekil 3.8 : Yalın ve ISM-kaplı elektrotların bloklama akımları.....                                    | 28           |
| Şekil 3.9 : ISM-PVC ve Bare elektrot ile bloklama karşılaştırması .....                                | 29           |





## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

|   |    |
|---|----|
| Çizelge 2.1 : İyon seçici kokteyl içeriğinin elektriksel iletkenliğe etkisi ..... | 14 |
| Çizelge 3.1 : Hücre içi ve hücre dışı iyon konsantrasyonları.....                 | 26 |





## KISALTMALAR

|             |                                  |
|-------------|----------------------------------|
| <b>ISM</b>  | : İyon Seçici Membran            |
| <b>FEU</b>  | : Fonksiyonel Elektriksel Uyarım |
| <b>A.P.</b> | : Aksiyon Potansiyeli            |
| <b>ES</b>   | : Elektriksel Uyarım             |
| <b>TE</b>   | : Termal Buharlaştırma           |
| <b>PR</b>   | : Fotorezist                     |
| <b>AC</b>   | : Alternatif Akım                |
| <b>DC</b>   | : Doğru Akım                     |
| <b>CHX</b>  | : Siklohekzanon                  |



## SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| Simgeler       | Açıklama                            |
|----------------|-------------------------------------|
| Ca             | Kalsiyum                            |
| Na             | Sodyum                              |
| K              | Potasyum                            |
| Au             | Altın                               |
| Cr             | Krom                                |
| Ti             | Titanyum                            |
| NaTPB          | Sodyum tetrafenilborat              |
| PDMS           | poli(dimetil siloksan)              |
| PVC            | polivinil klorür                    |
| <i>o</i> -NPOE | <i>orto</i> -nitro fenil oktil eter |
| $V_s$          | Uyarım Voltajı                      |
| $t_p$          | Dürtü zamanı                        |
| f              | Frekans                             |
| n              | Deney tekrar sayısı                 |



## RESİM LİSTESİ

|  | <b><u>Sayfa</u></b> |
|--|---------------------|
| Resim 2.1 : Düzlemsel elektrot .....             | 10                  |
| Resim 2.2 : Esnek elektrot .....                 | 13                  |
| Resim 2.3 : Bloklama deneyi deney düzeneği ..... | 17                  |







## 1. GİRİŞ

Çeşitli sebeplerden sinir sisteminde oluşan hasarlardan dolayı insanlar çeşitli fonksiyon kayıpları yaşamaktadır. Bu fonksiyon kayıplarının düzeltmek için FES (Fonksiyonel elektriksel uyarım) bilinen bir tedavi yöntemidir [1, 2]. Fakat FES uygulaması sırasında komşu sinirlerin de uyarılmasından dolayı istenmeyen uyarımlar da oluşabilmektedir. Duyu sinirleri uyarıldığında acı hissedilir ve bu acının engellenmesi için istenmeyen uyarımların bloklanarak kesilmesi gerekir [3]. Buna benzer şekilde epilepsi gibi bazı sinirsel hastalıklar da beyinde ani istenmeyen uyarımlar oluşması sonucu kas hareketlerinde kontrol kaybı yaşanmaktadır. Bunun gibi istenmeyen uyarımlar sonucu oluşan rahatsızlıkların tedavisinde de yine uyarımlar bloklanarak tedavi edilme yöntemine başvurulabilir.

### 1.1 Tezin Amacı

Kasa FES (Fonksiyonel elektriksel uyarım) metoduyla uyarım gönderildiğinde uyarım, komşu sinirleri de uyarmakta yani istenmeyen bölgelerde de uyarım oluşmaktadır [3]. Bu istenmeyen uyarımlar duyu sensörlerini uyardığında acı duyulur. Bu uyarımların bastırılması gerekir. Bunun için DC akımı uygulanıp istenmeyen uyarımların kesilmesi sağlanır ve bu işleme bloklama denir [4]. Bloklama işlemi için uygulanan yüksek değerlerdeki DC akımı sinir dokusuna kalıcı zararlar verir. Bu sebeple bloklama akımının olabildiğince düşük değerlerde olması istenir. Bu yüzden biz bloklama akımını elektrokimyasal yöntem kullanarak olabildiğince düşürmeyi amaçladık.

### 1.2 Literatür Araştırması

Sinir sisteminde bloklama işleminin etkin bir biçimde yapılabilmesi için sinir sisteminin mekanizmasının bilinmesi gerekir. Günümüzde hala sinir sistemi tam olarak açıklanabilmiş durumda değildir. Fakat temel olarak sinir hücresi için model olarak Hodgkin-Huxley modeli kullanılmaktadır [7]. Sinirsel rahatsızlıklar günümüzde çok ciddi boyutlarda insan hayatını etkilemektedir. Tahminen her yıl 7

milyon insan sinirsel hastalıklar sonucu ölmektedir [6]. Bunların tedavisinde Fonksiyonel Elektriksel Uyarım(FEU) metotları kullanılabilir [7]. Fakat FEU ile tedavi metodunda yüksek akım uygulanmaktadır. Bu da sinir dokusuna zarar vermektedir. Bundan dolayı uygulanan akımın düşürülmesi gerekir. Bu yüzden klasik FEU uygulamaları yerine daha düşük değerlerde akım kullanılabilir olan elektrokimyasal metot kullanılmalıdır.

### **1.2.1 Sinir sistemi mekanizmasında uyarım ve bloklama**

Sinir sisteminde bilgi elektrokimyasal olarak iletilir [8]. Bu elektrokimyasal iletimde iyonlar membrane potansiyelini değiştirerek iletimi sağlar [9]. Sinir hücresinde, hücre içi-dışı iyon konsantrasyonları ve hücre zarı potansiyeli birbirini etkileyerek bir elektriksel iletim oluşturur ve bu sinyal Aksiyon Potansiyeli (A.P.) olarak iletilir [7]. Aksiyon potansiyelinin oluşması için membran potansiyelinin threshold (eşik değeri) değerine ulaşması gerekir. Membrane potansiyeli eşik değerine ulaştınca voltaj-kapılı sodyum kanallarının açılması sonucu membran potansiyeli hızlı bir artış göstererek tepe noktasına ulaşır [10]. Bu periyoda depolarizasyon denir. Maksimum noktada voltaj kapılı sodyum kanalları kapanır ve potasyum kanalları açılır ve repolarizasyon evresi başlar. Repolarizasyon evresi tamamlanınca da aksiyon potansiyeli döngüsünü tamamlar [11]. Depolarizasyon evresinde voltaj-kapılı sodyum kanalları uzun süre açık tutulursa voltaj kapılı sodyum kanalları kendini otomatik olarak kapatır ve döngü tamamlanamaz. Bu durumda bloklama yapılmış olur [9]. Bloklama için başka metotlar da kullanılabilir. Kalsiyumun voltaj-kapılı sodyum kanallarını blokladığı bilinmektedir [12]. Lokal anestezikler de voltaj kapılı sodyum kanallarının bloklanması için kullanılabilir [13].

### **1.2.2 Sinirsel rahatsızlıklar**

Sinirsel rahatsızlıklar insan hayatını büyük sekteye uğratabilmektedir. Doğuştan gelen sorunlar olabileceği gibi daha sonraki süreçte dışardan ya da vücudün kendisinden kaynaklı sorunlar da olabilmektedir. Her yıl yaklaşık 7 milyon insan Alzheimer, Parkinson, felç, epilepsi gibi sinirsel rahatsızlıklardan dolayı hayatını kaybetmektedir [6]. Sinir sistemindeki rahatsızlıklar kronik ağrılara sebep olabilmektedir. Bu ağrıların giderilmesi için elektrokimyasal metot kullanılabilir. Epilepsi gibi rahatsızlıklarda beyin yapısındaki değişikliklerden dolayı istemsiz ve

kontrol edilemez uyarımlar oluşmaktadır [14]. İstenmeyen uyarımların kesilmesi için bloklama bir tedavi yöntemi olarak kullanılabilir. Yine aynı şekilde Parkinson rahatsızlığında da istemsiz uyarımlar sonucu kas hareketleri kontrol edilemez olmaktadır [15]. Bu uyarımlara bloklanabilirse kas hareketleri kontrol altına alınabilir.

### 1.2.3 Güncel çalışmalar

Bloklama için yakın zamanda yapılan çalışmalar mevcuttur. Membran potansiyelini değiştiren sistem oluşturularak, uyarımın iletimi engellenerek bloklama yapılabilir. Bloklama, uyarımın DC hali olarak düşünüldüğünde uyarımı kolaylaştıracak etkilerin bloklamayı da kolaylaştıracağı aşıkardır. Membran potansiyelini değiştirmenin elektriksel, manyetik, termal, akustik, mekanik ve kimyasal yöntemleri vardır [16]. Sodyum kanallarının iletiminin artırılmasının threshold değerini düşürdüğü bilinmektedir [17]. Hücre dışı sıvısındaki iyon konsantrasyonlarının ve kalsiyum iyonu konsantrasyonunun hücre uyarımı oluşumundaki etkileri yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [18, 19]. Yine kalsiyumun miyelinli sinir demetindeki etkisi ve kalsiyum oranı değiştikçe thresholddaki değişim gösterilmiştir [20]. Beyindeki dokular arasındaki iyon konsantrasyonlarının değişiminin uyku veya uyanıklığı kontrol ettiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [21, 22]. Beyin sıvısındaki iyon konsantrasyonları değiştirilerek uyku, uyanıklık kontrol edilebilir ve böylece anestezi amaçlı bloklama işlemi yapılabilir. Bu çalışmada sadece kimyasallar kullanılmıştır. Fakat kimyasallar kullanmak vücutta yan etkiler oluşturabilmektedir. Yakın tarihli bir çalışmada elektrokimyasal metotla bloklama *in-vitro* ortamda yapılabildiği [23]. Bu çalışmada iyon konsantrasyonu iyon seçici membran kullanılarak yapılmıştır. Başka bir çalışmada *in-vivo* ortamda sıçan siyatik siniri üzerine DC akım uygulanarak bloklama işlemi yapılmıştır [24]. Fakat bu çalışmada uygulanan DC akımı 0.15-3 mA değerleri arasındadır ve bu oldukça yüksek bir değerdir. Bu değerlerin düşürülmesi gerekir. Biz ürettiğimiz esnek elektrotları kullanarak elektrokimyasal metotla kurbağa siyatik siniri üzerinde canlı ortamda daha düşük değerlerde bloklama işlemi uygulayabiliyoruz. 1-20  $\mu$ A değerleri arasında bloklama yapabilmekteyiz.

#### 1.2.4 Enerji verimliliği

Bu çalışmalarda göz önünde bulundurulması gereken şey bloklama için verilen akımın küçük değerlerde olması gerektiğidir. Çünkü yüksek değerlerde akımın sinir dokusuna zarar verdiği bilinmektedir [3]. Bu sebeple verilen enerjinin düşürülmesi için çalışmalar yapılmalıdır. Bu konuda bir çalışmada devreler kullanılarak iyileştirme çalışması yapılmıştır ve uyarımda % 10'luk bir enerji tasarrufu sağlanabilmiştir [25]. Başka bir çalışmada ISM kullanılarak *in-vitro* ortamda uyarım için kullanılan enerjide % 36'lık bir kazanç elde edilmiştir. Aynı çalışmada bloklama için kullanılan akımda % 25-50 arası bir düşüş kaydedilerek enerjide % 56-75 arası bir kazanç elde edilmiştir [23]. Aynı çalışmada elektrokimyasal metotla bloklama akımı 40  $\mu\text{A}$ 'den 20  $\mu\text{A}$ 'e düşürülmüştür. Bizim çalışmamızda bloklama akımı değerlerini 1-20  $\mu\text{A}$  değerlerine çekebilmekteyiz. Ortalama bloklama değerlerimizi 10  $\mu\text{A}$  olarak alırsak bu çalışmaya göre bloklama akımını yarı yarıya düşürerek yaklaşık % 75'lik bir enerji kazancı elde etmiş bulunmaktayız. Ayrıca bu çalışma *in-vitro* ortamda yapılmışken biz bu çalışmayı *in-vivo* ortama taşıyarak enerji kazancı elde ettik.

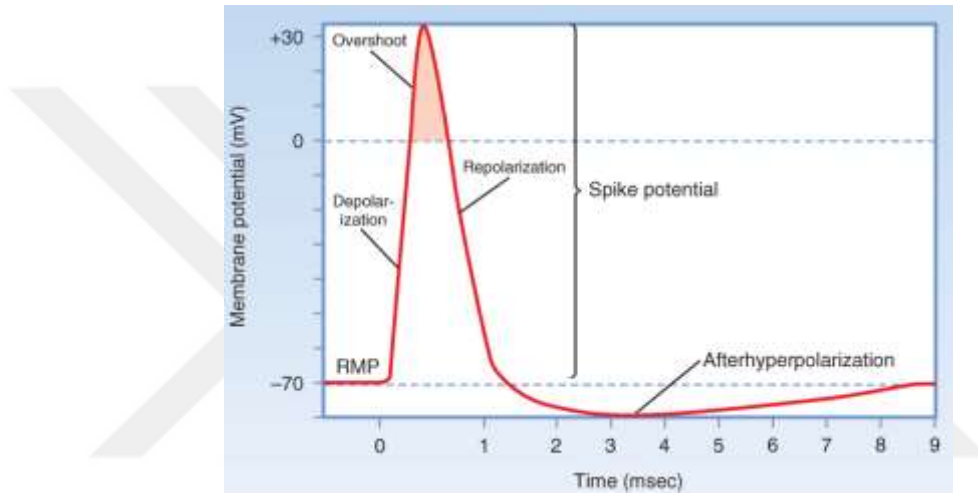
### 1.3 Gereç ve Yöntemler

Ürettiğimiz esnek elektrotlarımız sayesinde düzlemsel elektrotlara göre ve klasik metoda yani kablolarla göre bloklama akımında düşüş kaydettik. Ayrıca elektrokimyasal yöntem kullanarak ISM sayesinde yalın elektrotlara göre bloklama akımında düşüş kaydettik. Bu deneylerimizi *in-situ* ve *in-vivo* olarak kurbağa siyatik siniri üzerinde gerçekleştirdik. Yapılan bloklama deneyleri, kontrol deneyleri ve diğer işlemlerin anlaşılabilmesi için öncelikle aksiyon potansiyelinin, uyarımın ve bloklamanın anlaşılması gerekmektedir.

#### 1.3.1 Aksiyon potansiyeli ve uyarım

Sinir sisteminde genel olarak bilgi iletimi nöronlarda aksiyon potansiyelinin oluşumu sayesinde iletilir. Kas hareketleri de yine aynı şekilde sinirlerde aksiyon potansiyelinin oluşumu ve ilerleyerek kasa ulaşması sonucu oluşur [26]. Sinir hücresinin içi ve dışı arasındaki potansiyel fark threshold değerine ulaştığında aksiyon potansiyeli oluşur ve sinirde ilerleyerek hedef noktasına ulaşır.

Sinir hücresinde aksiyon potansiyeli 4 şekilde oluşur. Dışardan elektrik akımı verilerek, iç ve dış ortamdaki iyon konsantrasyonu değiştirilerek, pH değiştirilerek veya sıcaklık değiştirilerek [9]. Bu dört temel etkenden canlı ortamı bozmadan yapılacak olanlar dışardan elektrik akımı verilmesi veya iyon konsantrasyonu değiştirilmesi. Sinirde aksiyon potansiyeli oluşturarak kasın hareketini sağlamak için elektrik verilmesi işlemine elektriksel uyarım denilmektedir [27]. İyon konsantrasyonu değiştirilerek yapılan işleme ise kimsayasal uyarım denilmektedir [28]. Aşağıdaki Şekil 1.1'de aksiyon potansiyelinin sinir hücresinde iletimi görülmektedir [29].



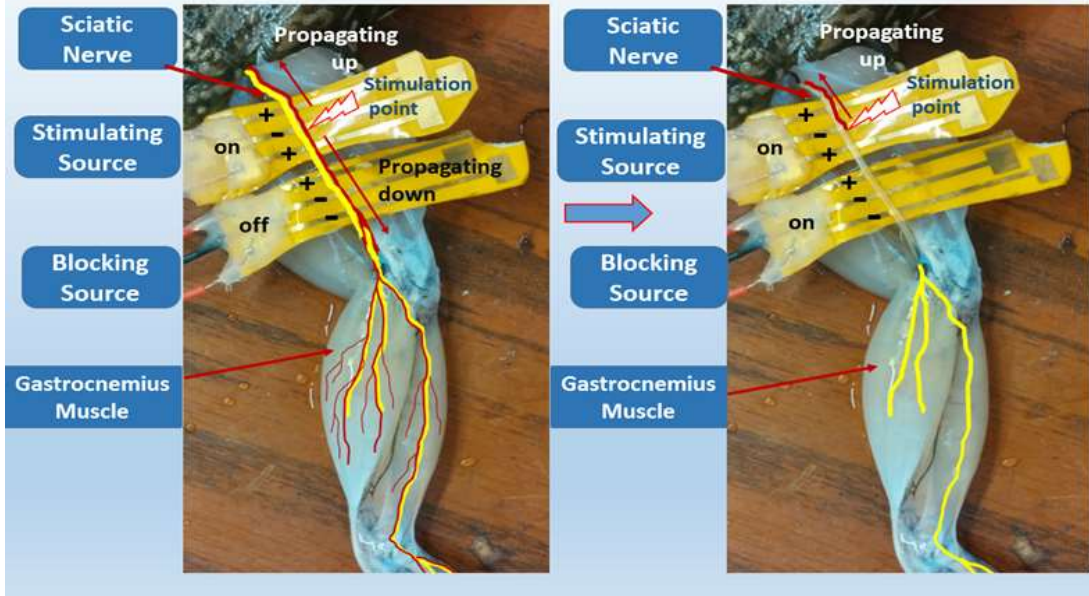
Şekil 1.1 : Aksiyon potansiyelinin sinir hücresinde iletimi

### 1.3.2 Bloklama ve bloklama akımının düşürülmesi

İstenmeyen uyarımları kesmek amacıyla bloklama işlemi uygulanır. Bloklama, Şekil 1.1'de görülmekte olan aksiyon potansiyelinin depolarizasyon kısmında açık olan voltaj kapılı  $\text{Na}^+$  kanallarının uzun süre açık tutularak  $\text{Na}^+$  kanallarının inhibe edilerek kendilerini otomatik olarak kapatıp aksiyon potansiyelinin ilerlemesinin engellenmesiyle yapılır.

Bloklama için DC akım uygulanır. Fakat yüksek değerlerde DC akımı sinir dokusuna kalıcı zararlar verdiği için olabildiğince düşük değerlerde olması istenir. Bloklama akımının düşürülmesi amacıyla elektrokimyasal yöntem olarak ISM (iyon seçici zar) aracılığıyla bloklama akımını düşürebilmekteyiz. Bu metotla uyarımın lokalize olmasını ve acının azalmasını sağlayabilmekteyiz.

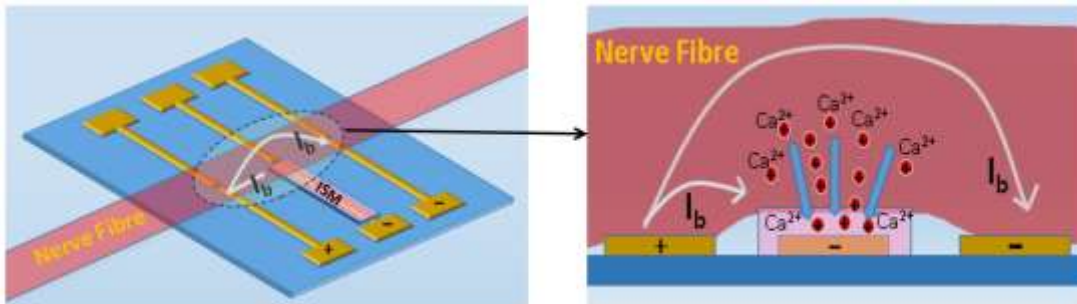
Şekil 1.2’de görüldüğü üzere elektriksel uyarım metoduyla uyarılmış bir kasın aynı zamanda komşu sinirlerin uyarılması sonucu istenmeyen uyarımların DC akımı uygulanarak bloklanması sembolik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1.2 : Bloklama öncesi ve bloklama sonrası

### 1.3.3 Elektrokimyasal olarak bloklama akımının düşürülmesi

Sadece elektriksel uyarı kullanan klasik FEU’dan farklı olarak, biz özgün elektrokimyasal uyarı ve bloklama metodu kullandık. Bu metotla iyon seçici zarları kullanarak sinir etrafındaki  $Ca^{2+}$  iyon miktarını değiştirip ayarlayan elektrotlar yaptık [30-31]. Üretilen elektrotlar, sinirin altında yer almakta ve üzerlerindeki iyon-seçici zarlar vasıtasıyla sinir etrafındaki  $Ca^{2+}$  iyon miktarını değiştirip ayarlamaktadır[31]. Sistemimizin çalışma prensibi Şekil 1.3’te detaylı biçimde gösterilmiştir.



Şekil 1.3 : Üretilen cihaz modeli

Sinirdeki pozitif (+) yüklü  $Ca^{2+}$  iyonlarının (-) yüklü iyon seçici zar tarafından çekilmesi ve sinirdeki  $Ca^{2+}$  iyon tüketimi Şekil 1.3'te de gözlenebilir. Elektrotla bloklama akımı uygulandığında, iyon seçici zar negatif (-) yüklenir ve sinir etrafında iyon tüketim bölgesi oluşur. Negatif (-) yüklü elektrot, pozitif (+) yüklü  $Ca^{2+}$  iyonları bu bölgede çeker ve sinirde  $Ca^{2+}$  iyon tüketimi olur. Normal durumda voltaj kapılı  $Na^+$  kanallarını inhibe eden  $Ca^{2+}$  çekilmesi sonucunda voltaj kapılı  $Na^+$  kanalları açık duruma gelir ve açık durumdaki voltaj kapılı  $Na^+$  kanallarını daha az DC akımıyla bloklamak mümkün olmaktadır [32]. DC akımı uygulandığında,  $Na^+$  kanalları uzun süre açık kaldığından ve uzun süre açık kalan  $Na^+$  kanalları kendini otomatik kapattığından dolayı aksiyon potansiyeli oluşumu engellenir ve böylece bloklama yapılmış olur. Bu sayede elektriksel uyarı yüzünden oluşan acı azalmakta veya istenmeyen/ koordine olmamış sinir impalslarının bastırılması sağlanmaktadır.

Sinirde Kalsiyum( $Ca^{2+}$ ), Sodyum( $Na^+$ ), Potasyum( $K^+$ ) gibi farklı türde iyonlar vardır [8]. Biz ise elde etmek istediğimiz düşük bloklama akımı için sadece  $Ca^{2+}$  iyon miktarını değiştiriyoruz. Bunun nedeni ise  $Ca^{2+}$  iyonu ve voltaj kapılı  $Na^+$  kanalları arasında kapı-kilit ilişkisi olmasıdır [32].  $Ca^{2+}$  iyonu sinirdeki  $Na^+$  ve  $K^+$  iyon kanallarını açan bir kilit vazifesi görür.  $Na^+$  ve  $K^+$  iyonları sinirde çok miktarda bulunurken  $Ca^{2+}$  iyonu az miktarda bulunur. Yani bölgesel olarak  $Na^+$  ve  $K^+$  iyon miktarını değiştirmek sinirin tümünü etkilemez ve ciddi bir değişim yaratmazken, bölgesel olarak  $Ca^{2+}$  iyon miktarını değiştirmek sinirde ciddi değişimlere neden olmaktadır.





## 2. METOTLAR

Kullanılacak elektrotun ileriki aşamalarda canlı vücudu içinde kullanılabilmesi amacıyla düzlemsel elektrot ve klasik metot yani kabloların kullanımının uygun olmadığı anlaşılmaktadır. Bundan dolayı esnek elektrotlar ürettik. Esneklikten dolayı sinir daha iyi kavranabilmekte ve bloklama için daha geniş yüzey alanı sağlanmaktadır. Böylece esneklikten dolayı bloklama akımı düzlemsel elektrotta göre ve kabloyla bloklama işlemine göre daha düşük değerlere düşürülebilmektedir.

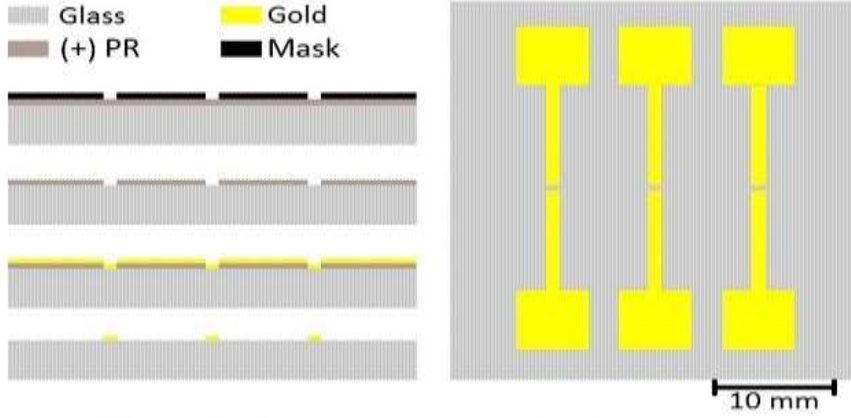
### 2.1 Elektrotların Üretimi

Kurbağa siyatik siniri üzerinde bloklama deneylerinin yapılması için mikrofabrikasyon yöntemleri kullanarak düzlemsel ve esnek elektrotlar ürettik. Elektrot üretim işlemleri Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM)'da gerçekleştirildi. Mikrofabrikasyon elektrot üretimi standart litografi yöntemleri, termal buharlaştırma ve poli(dimetil siloksan) (PDMS) kanal üretimi gibi aşamalardan oluşmaktadır [33-35]. Standart litografi ve termal buharlaştırma düzlemsel ve esnek elektrot üretimi için kullanılmaktadır. İyon Seçici Kokteylin elektrot üzerine kaplanması için ise PDMS kanallar kullandık. Bu aşamalar aşağıda detaylı şekilde ele alınmıştır.

#### 2.1.1 Düzlemsel elektrot

Bloklama deneylerinde kullandığımız düzlemsel elektrotlar termal kaplama kullanılarak cam üzerine krom ve krom üzerine de altın kaplanarak elde edilmiştir. Üretim aşamaları Şekil 2.1'de detaylı şekilde gösterilmiştir. Öncelikle standard litografi yöntemleri kullanılarak cam üzerine fotorezist kaplanır. Daha sonra maske yardımıyla ultraviyole ışık altında istenen topografik yapı elde edilir. Bu aşamadan sonra da cam üzerine termal buharlaştırma (T.E.) yöntemiyle altın kaplanır. Bundan sonra elektrot aseton içinde bekletilerek istenmeyen yapılar çözdürülür ve böylece istenen boyutlarda düzlemsel elektrot elde edilir. Bu işlemler daha detaylı anlatılacak olursa, öncelikle cam ve fotorezistin daha iyi yapışması için cam üzerine HMDS

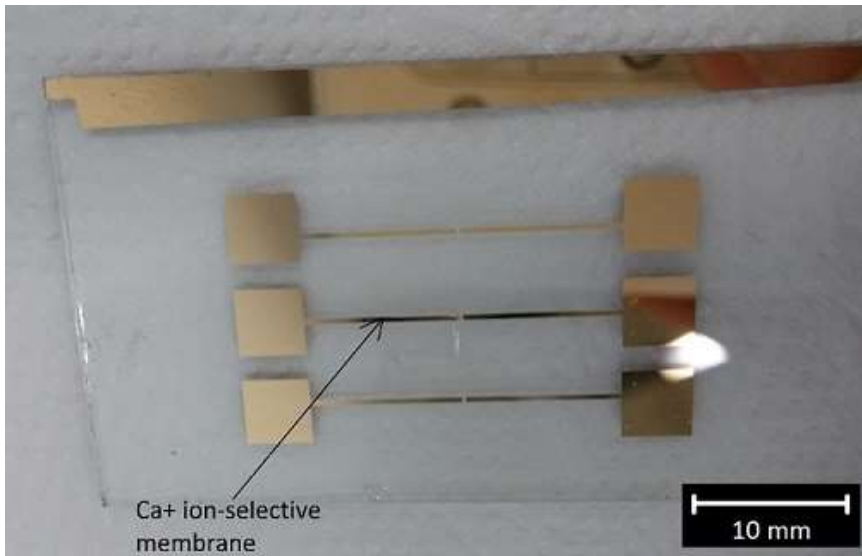
kaplanır ve HMDS üzerine 5 µm kalınlığında AZ5214 pozitif fotorezist (+ PR) kaplanır. Daha sonra maske yardımıyla ultraviyole ışık kullanılarak ışığın ulaştığı bölgelerin AZ400k developer içerisinde çözünebilecek hale gelmesi sağlanır.



Şekil 2.1 : Düzlemsel elektrotların üretim aşamaları

Sonraki aşamada 4 birim su 1 birim AZ400k developer olacak şekilde karışım hazırlanır ve elektrotlar karışımın içinde bekletilerek ultraviyole ışığın ulaştığı bölgelerin çözünmesi sağlanır. Bu aşamadan sonra termal buharlaştırma yöntemi (T.E.) kullanılarak altın kaplanır. Altının (Au) cama daha iyi yapışabilmesi için elektrotlar öncelikle 15 nm kalınlığında krom (Cr) ile kaplanır. Daha sonra cam 200 nm altın ile kaplanır ve aseton içinde bekletilerek fotorezist kaplı olan kısımlar altınla beraber çözünür ve geriye istediğimiz yapıdaki altın kaplı kısım kalır.

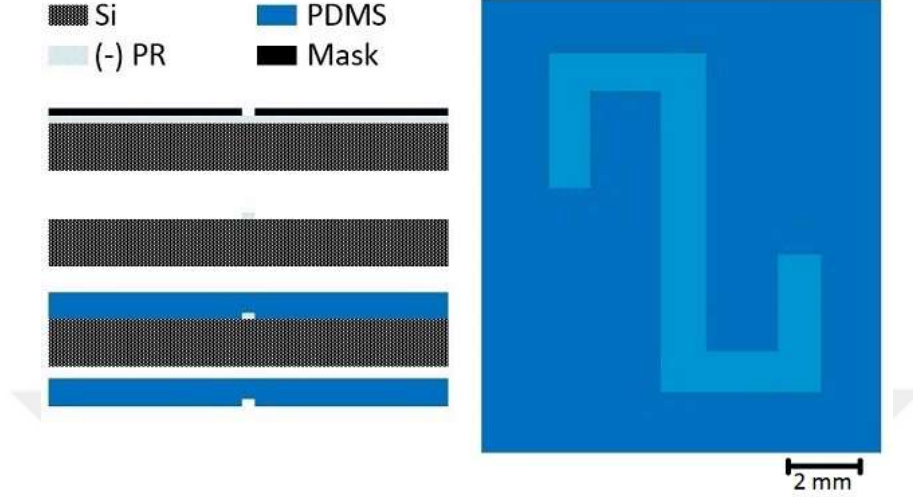
Elde edilen elektrotlar Resim 2.1’de gösterilmiştir.



Resim 2.1 : Düzlemsel elektrot

### 2.1.2 Mikrokanal üretimi

Elektrotun ISM ile kaplanabilmesi için Şekil 2.2’de görüldüğü üzere 100 µm derinliğe, 1 mm kalınlığa ve 9 mm uzunluğa sahip PDMS mikrokanallar kullandık.

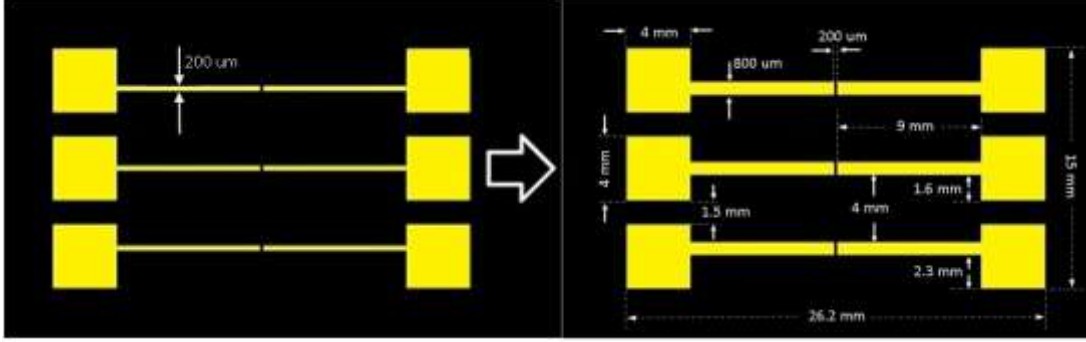


Şekil 2.2 : PDMS mikrokanal üretimi

Detaylı bir şekilde anlatılacak olursa, mikrokanallar için silikon levhalar kullanıldı. 50 µm gibi nispeten kalın sayılabilecek yapılar için negatif fotorezist işlemleri daha uygun olduğu için silikon levha negatif bir fotorezist (-PR) olan SU-8 2050 ile kaplanır. Bu kaplama yaklaşık 50 µm kalınlığındadır. Silikon ile SU-8 2050 fotorezistin yapışkanlığını sağlamak için silikon SU-8 2005 ile kaplanır, daha sonra SU- 2050 fotorezist ile kaplanır. Ardından maske yardımıyla ultraviyole ışık kullanılarak ışığın ulaşamadığı bölgeler aseton içerisinde çözünebilecek hale gelmesi sağlanır. Bu işlemden sonra, silikon aseton içerisinde gerekli süre bekletilip kanal yapısı elde edilir. Sonrasında silikon levha üzerine PDMS dökülür ve yaklaşık bir gece sıcak plakada bekletilir. Bu işlemden sonra katı hale gelmiş olan PDMS sökülüp, levha üzerinden kaldırılır. Böylece PDMS kanallar elde edilir. Bu kanallar mikroskop yardımıyla elektrotun istenen bölgesine oturtulur ve şırınga yardımıyla kanalın içinden elektrotun istenen kutbu ISM ile kaplanır.

İlk üretilen elektrotun boyutlarının *Rana catesbeiana* (North American bullfrogs) cinsi kurbağaların siyatik sinirlerinde kullanımı yeterli sonuçlar verdiği bilinmektedir [36]. Bu cins kurbağaların yurtdışından gelmesi ile ilgili sorunlar yaşandığından dolayı Türkiye’de bulunabilen daha küçük boyutlarda kurbağalar (*Rana Rindibunda*) kullanarak deneyler yaptık. Bu kullanılan kurbağaların siyatik siniri *Rana catesbeiana* cinsi kurbağaların siyatik sinirine göre küçük boyutlarda kaldığından

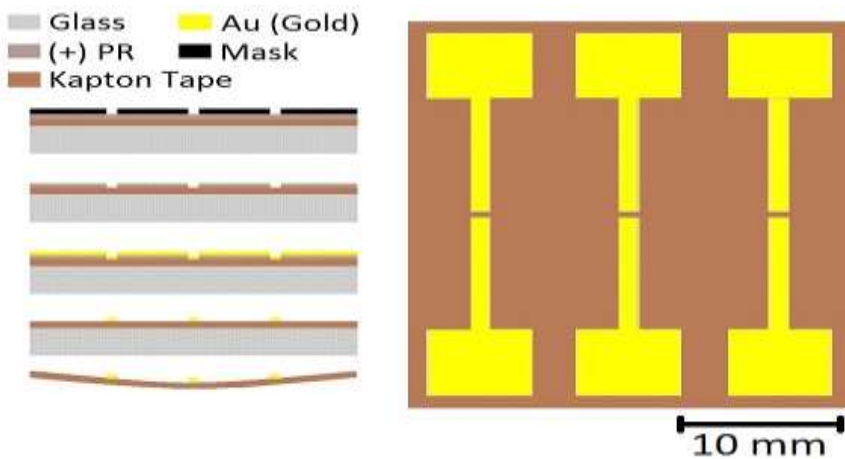
dolayı bloklama uyarım deneylerinin sağlıklı gerçekleşebilmesi için elektrotların boyutlarında iyileştirmeler yapmak zorunda kaldık. Sinir küçüldüğü için doğal olarak temas yüzeyi azalmakta ve uyarım ile bloklama zorlaşmaktadır. Bundan dolayı Şekil 2.3'te görüldüğü üzere deneylerde kullandığımız elektrotlarımızın kalınlığını 200  $\mu\text{m}$ 'den 800  $\mu\text{m}$ 'ye çıkarttık



Şekil 2.3 : Eski ve yeni elektrot tasarımları

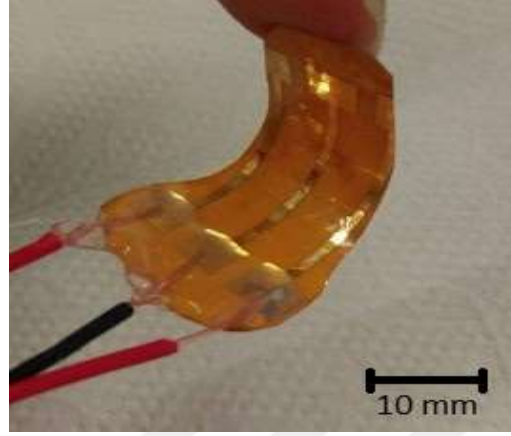
### 2.1.3 Esnek elektrot

Şekil 2.4'te görüldüğü üzere esnek elektrot üretimi aşamaları düzlemsel elektrot üretim aşamalarıyla aynıdır. Esnekliği sağlamak için cam üzerine yüksek ısıya dayanıklı termal bant kapladık. Geri kalan üretim aşamaları cam yüzeyde olduğu gibidir. En son olarak da termal bant cam yüzey üzerinden sökülüp daha sağlam olması için esnek bir yapıya yapıştırıldığında esnek elektrot elde edilmiş olmaktadır [37]. Biz termal bantı yapıştırmak için A-4 kağıdı kullanmaktayız.



Şekil 2.4 : Esnek elektrot üretimi

Bu sayede esnek elektrot elde edilmiş olur. Esnek elektrotumuz Resim 2.2’de gösterildiği gibidir. Esnek elektrotumuzu *in-vivo* ortamda bloklama deneyleri için kullanılmaktayız.



Resim 2.2 : Esnek elektrot

#### 2.1.4 ISM kokteyli

Deneilerimizi İyon Seçici Membranı (ISM), elektrotun (-) kutbu üzerine kaplayarak yapmaktayız. Böylece siyatik sinirin hücre dışı sıvısındaki  $Ca^{2+}$  iyonları çekilerek bloklama akımı düşürülebilmektedir. ISM içeriğine bağlı olarak istediğimiz iyonun konsantrasyonunu değiştirebilmekteyiz Bu yüzden hedeflediğimiz iyonlara bağlı olarak değişik iyon seçici kokteyller hazırladık. İyon seçici kokteyl hazırlama yöntemi oturmuştur fakat uygulama sırasında bazı sorunlarla karşılaştık. ISM elektrot üzerine kaplandıktan kısa bir süre sonra kurumaya başlamaktadır. ISM kuruduktan sonra iletkenlik özelliğini kaybetmekte ve sinirin uyarımı ve bloklanması imkansız hale gelmektedir. Bundan dolayı iyon seçici kokteylin iletkenliğini uzun süre koruması için bazı iyileştirmeler yaptık. Temel unsur olarak iyon seçici kokteyl içerisindeki ionophore, hedeflenen iyonun bağ kurması için gerekli kompleks kimyasal yapıyı oluşturmaktadır. Geri kalan kimyasallar membransı yapıyı oluşturmak için gerekli olan yapılardır. Bundan dolayı içerisinde ionophore bulunmayan kokteylin direncinin olabildiğince düşük değerde olması istenir ki sinirin uyarılmasında ve bloklanmasında eşik değerini etkilemesin. Bu iletkenliği sağlamak için öncelikle kokteylin içerisinde bulunan kimyasalların oranlarını değiştirip I-V testleri yaptık. Elde edilen sonuçlara göre ortalama elektriksel dirençleri hesapladık (Çizelge 2.1). Bu elde edilen verilere göre tuz (NaTPB) oranı artırılarak iletkenlik özelliğinin daha uzun süre sağlanabileceği yeni kokteyl

hazırladık. Mevcut durumda hazırlanan ISM kokteyli içeriği ve miktarları şu şekildedir; 50 mg ionophore, 47.68 mg NaTPB, 35.98 mg PVC, 182 µl *o*-NPOE ve 0.4 ml CHX [38, 39].

Çizelge 2.1 : İyon seçici kokteyl içeriğinin elektriksel iletkenliğe etkisi

| İçerik değişikliği                 | Solüsyon    | Ortalama Direnç (MΩ) |
|------------------------------------|-------------|----------------------|
| 1/2 PVC                            | Solution 1  | 2.31 ± 0.8           |
| Normal [23]                        | Solution 2  | 5.20 ± 1.0           |
| 5 PVC                              | Solution 3  | 1.90 ± 0.7           |
| 1.5 PVC                            | Solution 4  | 6.30 ± 1.4           |
| No ether                           | Solution 5  | 156.00               |
| 1/2 ether                          | Solution 6  | 14.53 ± 9.1          |
| 1.5 ether                          | Solution 7  | 5.30 ± 0.4           |
| No NaTPB                           | Solution 8  | 4166.00              |
| 1/2 NaTPB                          | Solution 9  | 6.97 ± 2.0           |
| 1.5 NaTPB                          | Solution 10 | 3.27 ± 0.3           |
| 1/2 Cyclohex                       | Solution 11 | 6.53 ± 1.4           |
| 1.5 Cyclohex                       | Solution 12 | 8.42 ± 0.7           |
| 1.5 PVC & 1.5 NaTPB                | Solution 13 | 5.37 ± 1.4           |
| 1/2 ether & 1.5 PVC & 1.5 NaTPB    | Solution 14 | 14.77 ± 1.1          |
| 1/2 ether & 2 NaTPB                | Solution 15 | 6.13 ± 1.0           |
| 1.5 Cyclohex & 1.5 PVC & 2.5 NaTPB | Solution 16 | 3.87 ± 0.1           |
| 1.5 Cyclohex & 2.5 PVC & 1.5 NaTPB | Solution 17 | 15.07 ± 1.6          |
| 5 NaTPB                            | Solution 18 | 2.37 ± 0.3           |
| 2 Cyclohex & 5 NaTPB               | Solution 19 | 4.61 ± 0.5           |
| 1/2 PVC & 1.5 NaTPB                | Solution 20 | 3.40 ± 0.9           |
| 1/2 PVC & 5 NaTPB                  | Solution 21 | 1.30 ± 0.1           |
| 1/2 PVC & 10 NaTPB                 | Solution 22 | 0.90 ± 0.1           |
| 10 NaTPB                           | Solution 23 | 1.08 ± 0.1           |

## 2.2 Deney Hayvanının Deneyler için Hazırlanması

Bu çalışmalar için gerekli olan deneyler etik kurul onayı alınarak ve etik kurallar gözetilerek yapılmıştır. Öncelikle bu çalışmalara başlamadan önce grupta yer alan

deneyleri gerçekleştiren araştırmacılar, gerekli eğitimlerden sonra “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” almışlardır. Bu sertifika Ankara Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi tarafından verilmiştir ve yeterli bir eğitim süreci sonunda verilmektedir. 1 aylık teorik ve uygulamalı eğitim içermektedir. Çalışmalar Rana Ridibunda cinsi kurbağa kullanılarak *in-vitro* veya *in-vivo* olarak yapılmıştır [40]. Bu yüzden deney hayvanları uygun şekillerde deneyler için hazırlanmıştır.

### **2.2.1 In-vitro**

*In-vitro* deneylerde yüksek dozda anestezi enjekte edilerek kurbağa uyutulur [41]. Kurbağa işlem için hazır hale gelince siyatik sinir kas dokusundan ayrılır. Etraftaki kas dokusundan ayrılan sinir Gastrocnemius kası ile birlikte vücuttan çıkarılarak deney düzeneğine konulur [42]. Gastrocnemius kası ve siyatik sinir vücuttan uzaklaştırıldığında zamanla dokular ölmeye ve uyarım ile bloklamaya düzgün cevap vermemeye başlar. Bundan dolayı bekleme esnasında canlı ortam sıvısına yakın bir çözeltilde bekletilmelidir. Canlı ortamına benzer iyon konsantrasyonundan dolayı biz çalışmalarımızda gastrocnemius kası ve siyatik sinirini bekletmek için Ringer çözeltili kullandık [43]. Bu sayede *in-vitro* deneylerde dokuları daha uzun süre canlı tutmayı başardık.

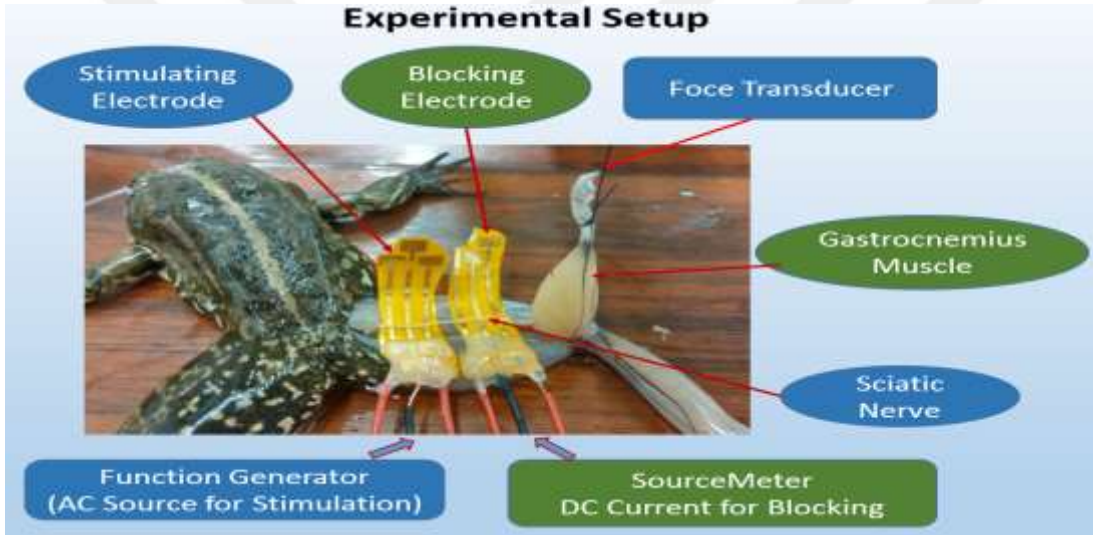
### **2.2.2 In-vivo**

*In-vivo* deneylerde kurbağalar ağırlıklarına göre değişen miktarlarda anestezi ilaç verilerek uyutulmaktadır. Genel olarak kullandığımız kurbağalar 100-150 gr ağırlıklarında olmaktadır. Bunun için Ketalar adlı ilaçtan ağırlıklarına göre (0.3-0.5 ml) ve izotonik solüsyondan (0.4-0.6 ml) alınarak bir çözeltili hazırlanıp bacak kasına ince uçlu 1 ml’lik enjektör yardımıyla enjekte edilir ve 30 ile 60 dk arasında uyuşması beklenir. Uyuştuktan sonra bacak kası kesme işlemlerinde tepki vermeyecek durumda olmaktadır ve hayvan acı duymamaktadır. Daha sonra sadece bacak üzerinde işlemler yapılarak siyatik sinir kas dokusundan ayrılır. Gastrocnemius kası da deri ve diğer kas yapısından ayrılır. Gastrocnemius kası vücuttan tamamen uzaklaştırılmaz. Sadece aşağı tendon kısmından kesilerek ipele force transducera bağlanır. Deneyden sonra kalbi hala atar durumda olmaktadır yani

deney esnasında kurbağa yaşamsal fonksiyonlarını sürdürmektedir. Deney işleminden sonra kafası neşter yardımıyla koparılarak hayatına son verilir.

### 2.3 Deney Düzenegi

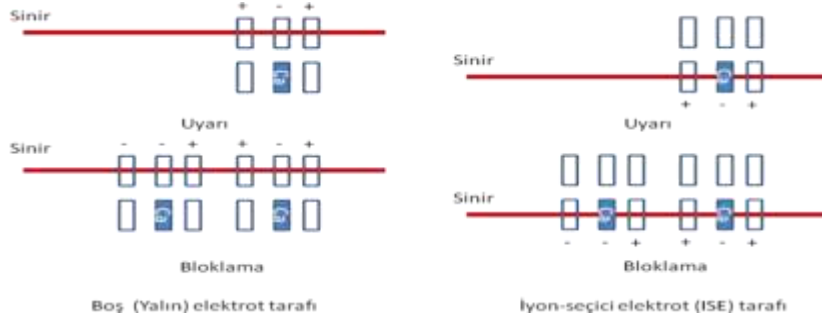
Genel bloklama deneylerinde kullanılan düzenegin bağlantıları Şekil 2.5'te verilmiş olan blok diyagramdaki gibidir. Bloklama yapılması için öncelikle kasın uyarılması gerekir. Kası uyarım için Function Generator'den AC sinyaller (uyarımlar) gönderilmektedir. Source Meter'dan ise bloklama için DC akım gönderilmektedir. Uyarı gönderilen kas hareket eder ve Force Transducer'da gerilme oluşturur. Oluşan gerilmeleri mV değerler olarak Data Recorder sayesinde bilgisayar ekranında okuyabilmekteyiz.



Şekil 2.5 : Genel bloklama deney düzenegi

Bloklama deneyi için öncelikle ürettiğimiz elektrotlarla siniri uyardık. Daha sonra bu uyarılmış siniri bloklamak için uyarı elektrotundan öteye Şekil 2.6'da görüldüğü gibi bir bloklama elektrotu koyduk ve sinirin bloklama akımını ölçtük. Uyarım için AC, bloklama için DC akım kullandık. Siyatik siniri önce yalın elektrot tarafına koyup bloklama akımını ölçtük, sonra iyon seçici zar (ISE) tarafına koyup bloklama akımı ölçtük. Elde edilen sonuçları kıyasladık.

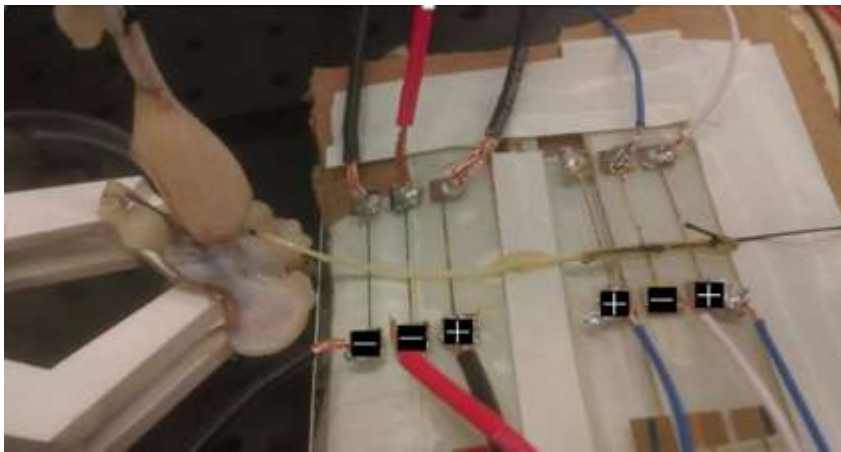




Şekil 2.6 : Deney metodu

### 2.3.1 Düzlemsel elektrotla bloklama deneyi gösterimi

Bu kısımda genel olarak bloklama deneylerinin anlaşılması için bir örnek detaylı olarak anlatılmıştır. Resim 2.3'te genel olarak bloklama deney düzeniği gösterilmiştir. Bu deney düzlemsel elektrotla *in-vitro* olarak yapılmıştır. Aynı elektrot kullanılarak kas hem uyarılmakta hem de bloklanmaktadır. Kasta uzak olan elektrot kası uyarmak için kullanılırken kasa yakın olan elektrot bloklama işlemi için kullanılmaktadır. Kasa uzak elektrot (uyarı elektrotu) (+ - +) şeklinde polarize iken kasa yakın olan bloklama elektrotu (+ - -) şeklinde polarizedir. Deneyde önce uyarı elektrotu ile kas uyarılacak sonra bloklama elektrotuna verilen akıma göre kas parçalı veya tam olarak bloklanacaktır. Siyatik siniri önce bloklama elektrotunda bare elektrot tarafına konacak ve bloklama akımı ölçülecektir. Daha sonra siyatik siniri bloklama elektrotunda ISM tarafına konacak ve bloklama akımı ölçülecektir. Sonuçlar karşılaştırılacaktır.



Resim 2.3 : Bloklama deneyi deney düzeniği

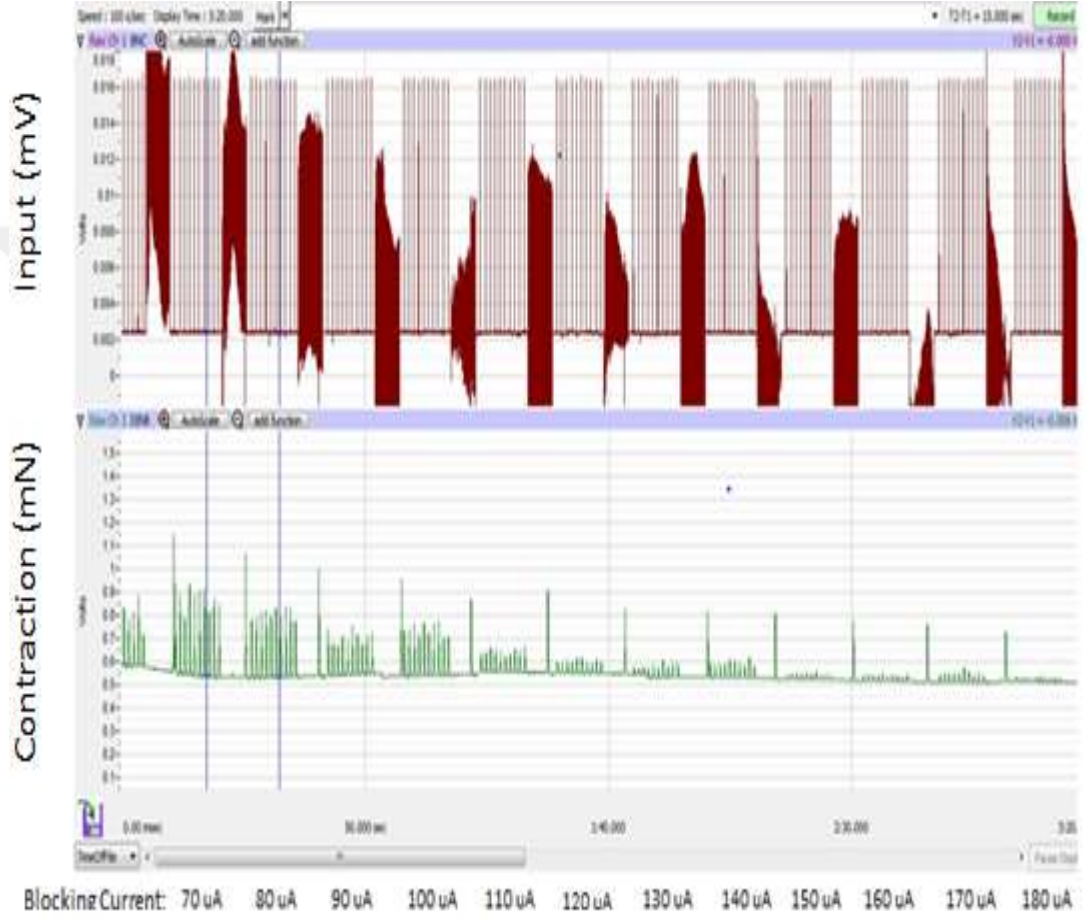
Kastan uzakta olan bare elektrot aracılığıyla AC kaynağından yine 10 mV'dan başlamak üzere belli aralıklarda uyarılar gönderilmiştir ve kasın ilk olarak hangi değerde uyarıya düzenli şekilde cevap verdiği gözlemlenmiştir. Daha sonra ise belirlenen bu değer korunmak üzere kasa yakın olan bare aracılığıyla DC sabit akım gönderilmiştir. Buradaki amaç bu DC kaynaktan verilen akım AC sinyal uyarılarını bloklayacak ve kasın hareketi durdurulmuş olacaktır. Resim 2.3'te yalın elektrot (bare elektrot) bloklama deneyi sonuçları görülmektedir. Bu deneyden elde edilen sonuç Şekil 2.7'de görülmektedir. Şekil 2.7'de görüldüğü şekilde DC kaynaktan 10'ar  $\mu\text{A}$  artırılarak bloklanma sağlanmaya çalışılmıştır. Şekilde görüldüğü üzere akım artırıldıkça kasın tepkilerinde küçülmeler görülmektedir ve 230  $\mu\text{A}$ 'de ise kas tamamen bloklanmıştır. Yani 230  $\mu\text{A}$ 'den sonra kasa uyarı gitmemektedir.



Şekil 2.7 : Yalın elektrot (Bare elektrot) bloklama deneyi

Şekil 2.7'de ISM bloklama deneyi sonucu görülmektedir. Aynı deneye bare elektrot yerine ISM elektrot kullanılarak bloklanmada da düşüş görülmeye çalışılmıştır. Bu deneyden elde edilen sonuç ise Şekil 2.8'de verilmiştir. Deneyde yine aynı şekilde DC akım 10'ar  $\mu\text{A}$  artırılarak bloklama gözlemlenmeye çalışılmış ve kas hareketleri akımın artışıyla beraber küçülmeye başlamıştır ve 180  $\mu\text{A}$ 'de ise tamamen bloklama

görülmüştür. Yani DC kaynaktan verilen  $180 \mu\text{A}$ ' den sonra uyarı kasa ulaşamamaktadır. ISM elektrot kullanılarak bloklama değerinde yaklaşık % 21'lik bir düşüş gözlemlenmiştir. Burada not edilmesi gereken önemli sonuç kası istediğimiz gibi kontrollü biçimde bloklayabilmemizdir. Yani düşük akım verdiğimiz zaman parçalı bloklama, yüksek akım verdiğimiz zaman ise tam bloklama gerçekleşmektedir. Kısacası ISM kullanarak kontrollü biçimde kası bloklayabilmekte ve bare elektrota göre daha düşük akım değerinde bloklama sağlanabilmektedir.



Şekil 2.8 : ISM bloklama deneyi



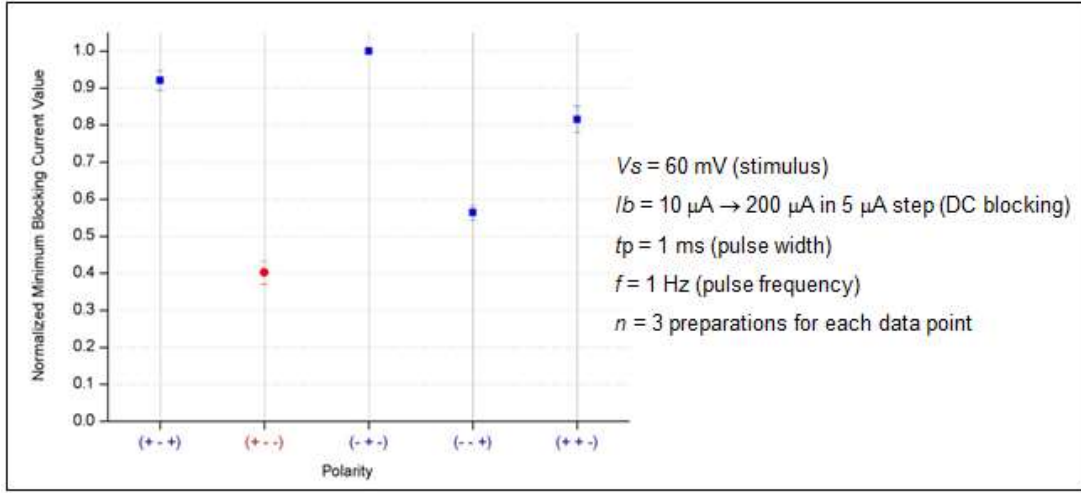
### **3. DENEYSEL SONUÇLAR**

#### **3.1 Elektriksel Bloklama Deneyleri**

İstenmeyen uyarımları bloklamak için DC akımı uygulanmaktadır. Fakat DC akımı yüksek miktarlarda uygulandığında uygulandığı bölgedeki sinir dokusuna kalıcı zarar vermektedir. Bu yüzden bu akımın olabildiğince düşük değerde uygulanması hedeflenir. Bloklama yapabilmek için ideal elektrotu bulmak ve ISM'nin etkisini gözlemleyebilmek amacıyla kontrol deneyleri yaptık. Bloklama elektrotunu kendi içinde esneklik, elektrotun uçları arasındaki mesafe, bloklama akımının uygulandığı noktanın kasa uzaklığı gibi parametrelerle gözlemledik. Elde ettiğimiz sonuçlara göre bloklama akımlarının sağlıklı şekillerde kıyaslanabilmeleri için tüm bu parametrelerin göz önünde bulundurulmaları gerekmektedir. Ana deneylerde sağlıklı kıyaslamalar yapılabilmesi için kontrol deneylerinden elde edilen sonuçlara göre parametreleri sabit tuttuk.

##### **3.1.1 Tripolar elektrotun polaritesi**

Bu deneyde bloklama akımının düşük değerlerde tutulması için farklı kutuplar kullanarak etkilerini inceledik. Şekil 3.1'de görüldüğü üzere farklı sonuçlar elde ettik. Şekil 3.1'de görüldüğü üzere en düşük bloklama akımı (+ - -) kutup düzeninde elde edilmektedir. Çünkü bloklama bölgesel gerçekleşmektedir. Her (-) kutuptan akım verilerek aksiyon potansiyelinin döngüsünü tamamlaması engellenir ve voltaj kapılı sodyum kanalları uzun süre açık tutularak bloklama gerçekleştirilmiş olur. Bu ISM'nin etkisinin incelenmesi deneylerinde bloklama akımını hep (+ - -) kutup düzeninde yaptık.

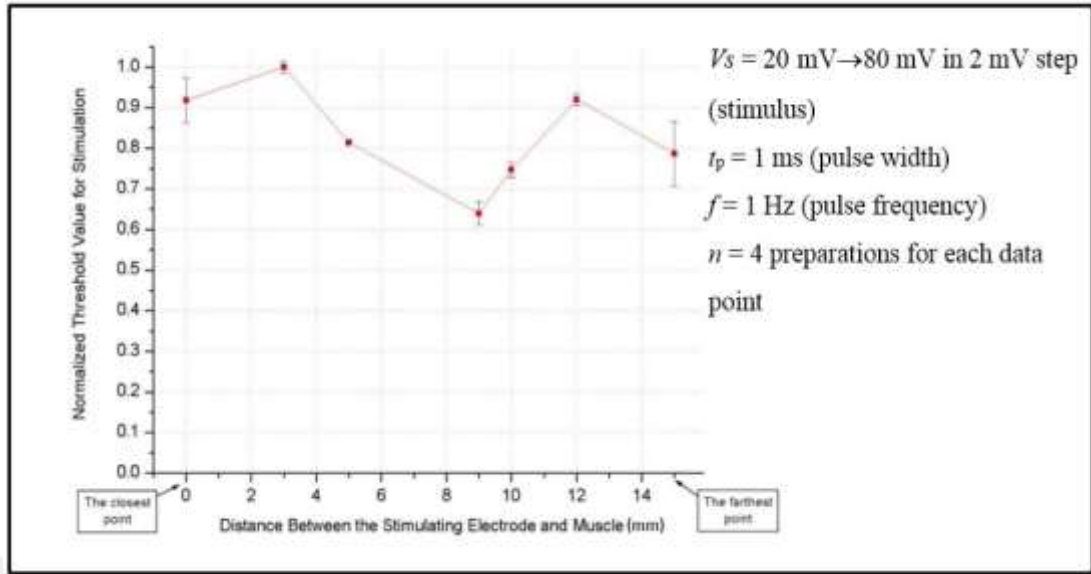


Şekil 3.1 : Polarite deney sonuçları

### 3.1.2 Bloklama noktasının sinir üzerindeki konumu

Bu kontrol deneyimizde siyatik sinirin bloklama yapılan nokta ile kas arasındaki uzaklığın bloklama üzerindeki etkisini inceledik. Bunun incelenmesi için öncelikle uyarım deneyi yaptık. Şekil 3.2’de görüldüğü üzere konumun uyarım üzerindeki etkisini gözlemledik. Deney sonucunda yaptığımız gözlemler; kasa çok yakın yerden ve kasa uzak yerden uyarıldığı zaman threshold yükselmektedir. İdeal uyarım noktası için siyatik sinirin orta noktalarından uyarmak threshold için en düşük değerleri vermektedir. En ideal yerden uyarım için threshold en kötü uyarım noktasıyla kıyaslandığında yaklaşık % 35’lik daha düşük bir değere sahiptir. Bu farklılığın sebeplerini şöyle sıralayabiliriz. Siyatik sinirin kasa uzak olan noktasında damarlı yapı daha dikkat çekmektedir. Kasa yakın olan noktalarda ise siyatik sinir tek lifli yapısını kaybedip dallanma göstermektedir. Fakat ideal uyarım ve bloklama noktası olarak gösterebileceğimiz siyatik sinirin orta kısımları diğer bölgelere kıyasla daha pürüzsüz bir yapı göstermektedir böylece elektrot sinirle daha iyi bir temas yüzeyi oluşturabilmektedir. Bloklamanın da uyarımın DC olarak yapıldığı hal olarak düşünüldüğünde benzer sonuçlar elde edilecektir. Bloklama yapılan noktaya bağlı olarak bloklama akımı değişiklik göstermektedir. Bu yüzden bloklama akımı kıyaslarının sağlıklı olabilmesi için hep aynı noktadan bloklama yapılması

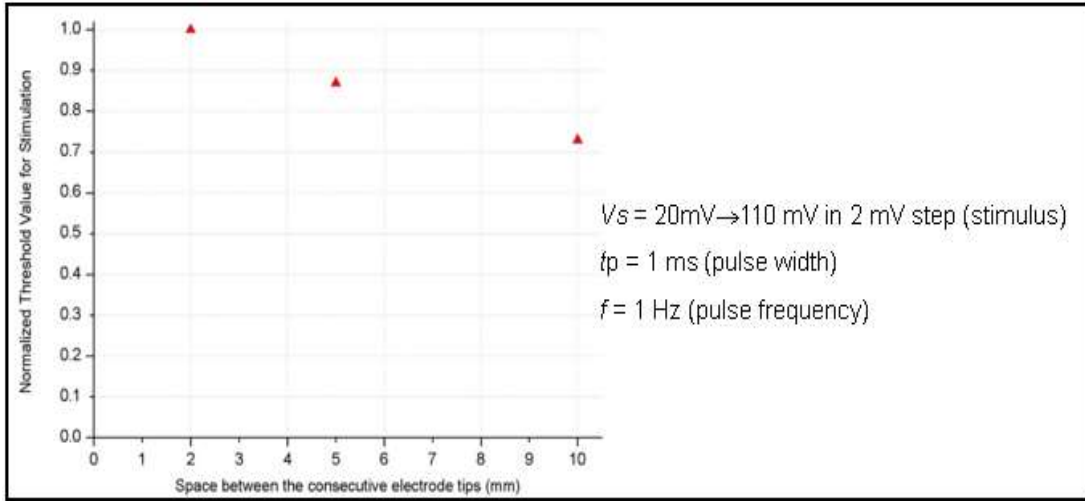
gerekmektedir.



Şekil 3.2 : Dürtü frekansı sonuçları

### 3.1.3 Elektrotun kutup uçları arasındaki mesafesi

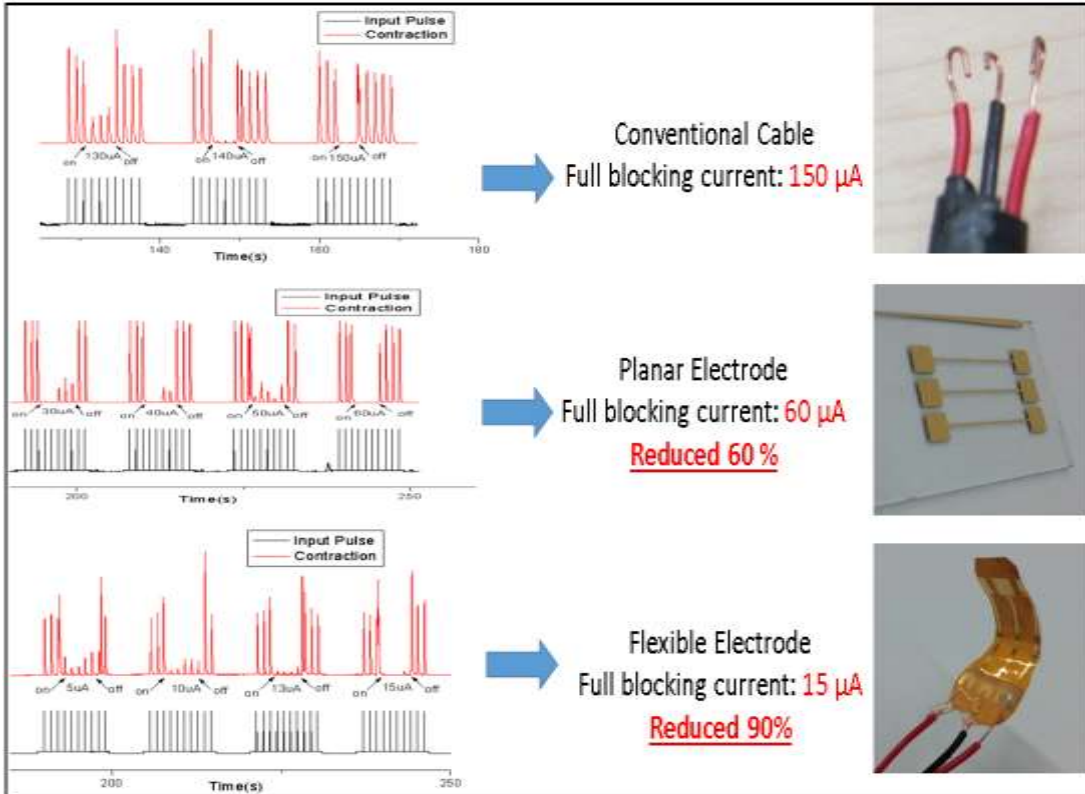
Diğer bir kontrol deneyimizi uyarım için kullanılan tripolar elektrotun uçları arasındaki mesafenin threshold ve bloklama akımı üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yaptık. Bu deneyde tripolar uçlar yerine kablolar kullandık. Yapılan uyarım deneyleri sonucunda ideal uzaklığın 5 mm olduğu görülmüştür. Daha küçük değerlerde threshold daha yüksek çıkmaktadır. Daha yüksek değerlerde ise threshold düşmesine rağmen uyarılan bölge genişlediği için elektrotun yapısı uygun olmamakta ve böylece elektrotun boyu büyümekte ve kontrol etmek zorlaşmaktadır. Bu deneyden elde ettiğimiz sonuç uyarımı yapabilmek için ideal elektrotun uçları arasındaki mesafeyi bulmak olmuştur. Sonuçlar Şekil 3.3'te görülmektedir. Bloklama da uyarımın DC akımı ile yapıldığı düşünüldüğünde bu elektrot uçları arasındaki mesafenin bloklama için de ideal mesafe olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 3.3 : Elektrot kutupları arası mesafe deneyi sonuçları

### 3.1.4 Temas yüzeyi deneyleri

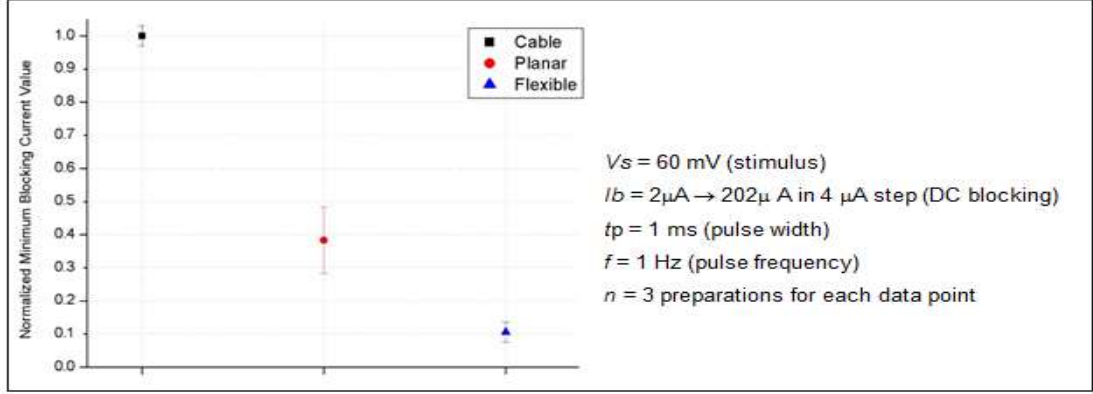
Temas alanı etkisini gözlemlemek için mikrofabrikasyon yöntemiyle ürettiğimiz esnek elektrotumuzdan elde edilen bloklama akımlarını düzlemsel (cam yüzey üzerine) ve klasik (kablo) ile elde edilen bloklama akımlarıyla karşılaştırdık. Bir örnek deney sonucu Şekil 3.4’te verilmiştir.



Şekil 3.4 : Örnek temas yüzeyi deneyi sonucu



Temas yüzeyinin etkisini net bir şekilde görmek için deneyler daha fazla sayıda tekrarlanmalıdır. Tekrarladığımız deney sonuçları Şekil 3.5'te gösterilmektedir.



Şekil 3.5 : Temas yüzeyi deney sonuçları

Deney sonuçlarına göre en ideal yapının esnek elektrot olduğu görülmektedir. Düzlemsel elektrot ve kablo karşılaştırıldığında düzlemsel elektrot kabloya göre bloklama akımında % 50-60 arası daha düşük değerler vermektedir. Düzlemsel elektrotlar kabloya göre sinirle daha iyi temas etmektedir. Esnek elektrottan elde edilen bloklama akımı ve düzlemsel elektrottan elde edilen bloklama akımı kıyaslandığında esnek elektrottan elde edilen bloklama akımı düzlemsel elektrottan elde edilen bloklama akımına göre % 40-60 arası daha düşük değerler vermektedir. Bunun sebebi esnek elektrotun planar elektrota göre siniri daha iyi kavrayabilmesi ve sinirle daha geniş temas yüzeyi sağlamasıdır. Ayrıca esneklikten dolayı sinirleri sarabilmesi düzlemsel elektrot ve kabloya göre kullanım açısından kolaylık sağlamaktadır.

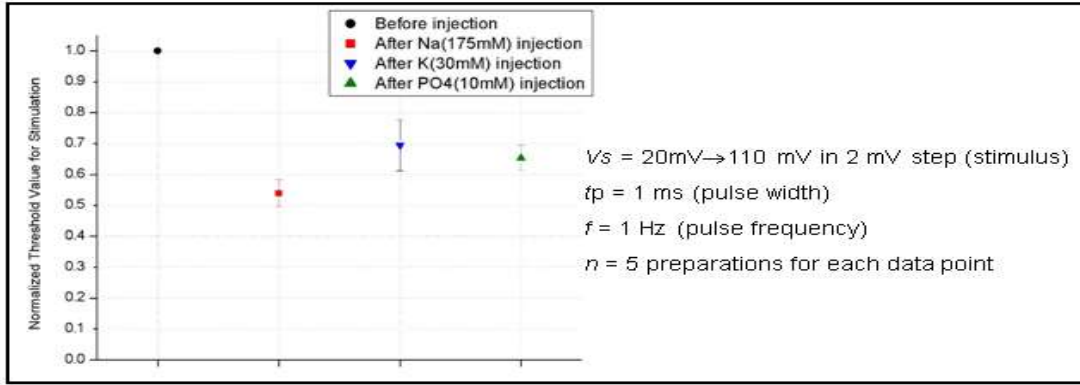
### 3.2 Elektrokimyasal Bloklama Deneyleri

Sadece elektriksel olarak bloklama deneylerinde bloklama akımının düşürülmesi için temas yüzeyi, elektrotlar arası mesafe, kasa uzaklık gibi parametreler için kontrol deneyleri yaptık. Elektrokimyasal bloklama deneylerinde ise iyon konsantrasyonu değişimlerinin uyarım ve bloklama üzerindeki etkisini incelemek için deneyler yaptık. İyonların etkilerini gözlemlemek için hücre dışı sıvısındaki iyon konsantrasyonları değişik konsantrasyonlarda iyon enjekte ederek artırdık ve azalttık.

Daha sonra elektrotları ISM ile kaplayarak deneyler yaptık. Böylece klasik elektriksel bloklama yerine elektrokimyasal bloklama yapmış olduk.

### 3.2.1 Elle iyon konsantrasyonu değişimi (enjeksiyon) deneyleri

Sinir hücrelerinde aksiyon potansiyeli oluşumu ve uyarımın bloklanmasında iyonların etkisini incelemek üzere birinci derecede öneme sahip iyonları manual olarak sinire enjekte ettik. Enjekte edilen iyonlar Sodyum ( $\text{Na}^+$ ), Fosfat ( $\text{PO}_4^{2-}$ ), Potasyum ( $\text{K}^+$ ) iyonlarıdır. Aşağıda Şekil 3.6'da enjekte edilen iyonların uyarım threshold üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bloklama da uyarımın DC hali olarak düşünüldüğünde aynı etkiyi bloklama için de göstereceklerdir. İyon enjeksiyonlarını 1ml lik enjektörler kullanarak kurbağa anestezi altında iken yaptık.



Şekil 3.6 :  $\text{Na}^+$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$ ,  $\text{K}^+$  iyon enjeksiyonları

Enjekte edeceğimiz iyonların konsantrasyonlarını belirlemek için Çizelge 3.1'i kullandık. Deneylerin sağlıklı şekilde gerçekleşmesi için ortamda bulunan iyon konsantrasyonlarından biraz fazlasını enjekte ederek deneyleri yaptık.

Çizelge 3.1 : Hücre içi ve hücre dışı iyon konsantrasyonları

| Outside $\text{K}^+$ (mM) | Outside $\text{Na}^+$ (mM) | Outside $\text{Cl}^-$ (mM) | $V_m$ (mV) | $\Delta V_m$ (mV) |
|---------------------------|----------------------------|----------------------------|------------|-------------------|
| 4                         | 145                        | 123                        | -74        | 0                 |
| 24 (↑)                    | 145                        | 123                        | -50        | 24                |
| 4                         | 165 (↑)                    | 123                        | -72        | 2                 |
| 4                         | 145                        | 103 (↓)                    | -73        | 1                 |

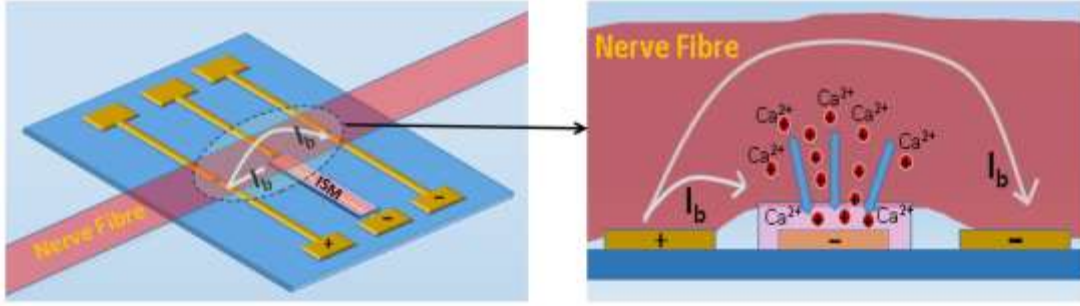
Çizelgeye 3.1'e göre hücre dışı  $\text{Na}^+$  konsantrasyonu 145 mM değerindedir ve hücre içine göre daha yüksek konsantrasyondadır. Uyarım sırasında aksiyon potansiyelinin

oluşabilmesi için içeri  $\text{Na}^+$  akımı girmesi gerekir. Dış ortama 175 mM'lık  $\text{Na}^+$  çözeltisi enjekte ettiğimizde  $V_m$ 'i (membran potansiyeli) artırmış oluyoruz. Böylece uyarımı kolaylaştırmış oluyoruz. Bunun sonucunda da threshold değeri % 40-50 oranında düşüyor. Çizelge 3.1'e göre siyatik sinirde hücre dışı  $\text{K}^+$  konsantrasyonu 4 mM değerindedir ve hücre içine göre daha düşük konsantrasyondadır. Dış ortamdaki  $\text{K}^+$  konsantrasyonunu 30 mM'lık K çözeltisi enjekte ederek artırdığımızda  $V_m$  (membran potansiyeli)'ni artırmış oluyoruz böylece uyarım kolaylaşmış oluyor ve threshold değeri % 20-40 oranında düşüyor.  $\text{PO}_4^{2-}$  iyonu ise  $\text{Ca}^{2+}$  iyonu ile bağ yapıp çökeltmektedir [44].  $\text{Ca}^{2+}$  iyonları voltaj kapılı  $\text{Na}^+$ (Sodyum) kanallarını tıkayıp uyarım esnasında dış ortamdan iç ortama  $\text{Na}^+$  iyon akışını azaltmaktadır. Böylece uyarımı zorlaşmaktadır. Sinir hücresi dış ortamına 10 mM'lık Fosfat ( $\text{PO}_4^{2-}$ ) çözeltisi enjekte edildiğinde bu iyonlar  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarını çökertmiş oluyor ve böylece  $\text{Na}^+$ (Sodyum), voltaj kapılı kanallardan içeriye daha rahat girebiliyor. Böylece dolaylı olarak uyarım daha kolaylaştırılmaktadır ve threshold değeri % 30-40 oranında düşmektedir. Aynı iyon enjeksiyonları sonrasında bloklama akımlarının da düşeceği aşıkardır. Çünkü bloklama için uyarımdan farklı olarak DC akımı uygulanır yani AC akımının sürekli hali olarak düşünülebilir. Bu deneylerde de görüldüğü gibi ISM kullanarak sinirin dış ortamındaki iyon konsantrasyonları değiştirilerek bloklama akımının düşürülmesi mümkün görünmektedir. Deneyde konsantrasyonlar göz önüne alındığında en az değişiklikle 10 mM  $\text{Ca}^{2+}$  iyonu ile etkili bir bloklama akımı değerlerinde düşüş görmek mümkün olmaktadır. Çünkü genel olarak  $\text{Ca}^{2+}$  iyonu diğer iyonlara göre daha az konsantrasyona sahip olmasına rağmen aksiyon potansiyeli oluşumunda başıt rolü oynayan voltaj kapılı  $\text{Na}^+$  kanallarını kapattığından dolayı çok az  $\text{Ca}^{2+}$  iyon değişikliğiyle bloklama akımını düşürmede çok etkili rol oynamaktadır.

### 3.2.2 $\text{Ca}^{2+}$ -ISM ile bloklama deneyi

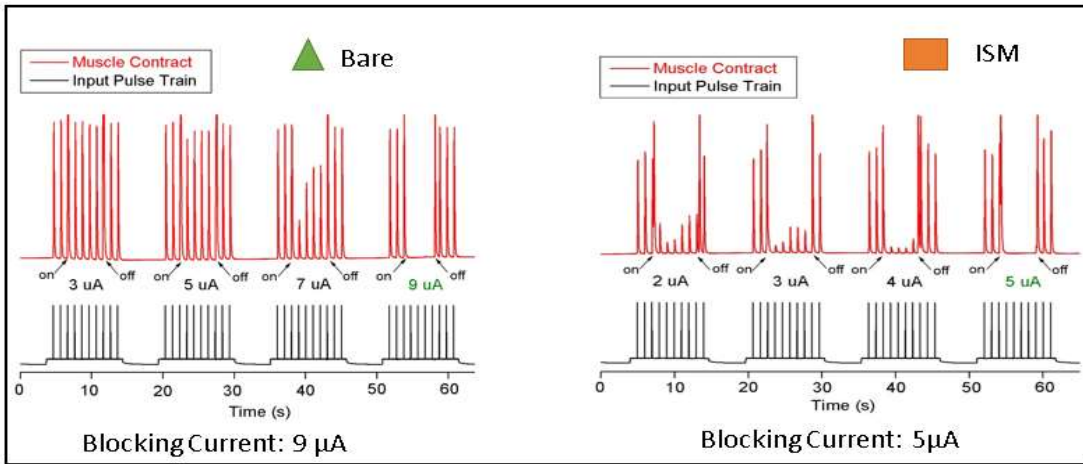
İyonların uyarım ve bloklama üzerindeki etkilerini yukarıda gösterildiği şekilde enjeksiyon yaparak gözlemledik. Bu deneylerden sonra iyon konsantrasyonlarının otomatik olarak gerçekleştirilmesi için ISM kullandık [45]. Elektrotun (-) kutbu ISM ile kaplanarak bloklama için verilen bloklama akımıyla birlikte istenen iyonun hücre dışı sıvısından ISM üzerine çekilmesi sağlandı. Bloklama esnasında bloklama akımıyla birlikte Şekil 3.7'de görüldüğü üzere elektrot polaritelerine göre iyonlar

hareket eder ve ISM'in seçiciliği sayesinde de istenen iyon ISM'e geçer. Böylece istenen iyonun konsantrasyonu kontrollü şekilde gerçekleştirilmiş olur.



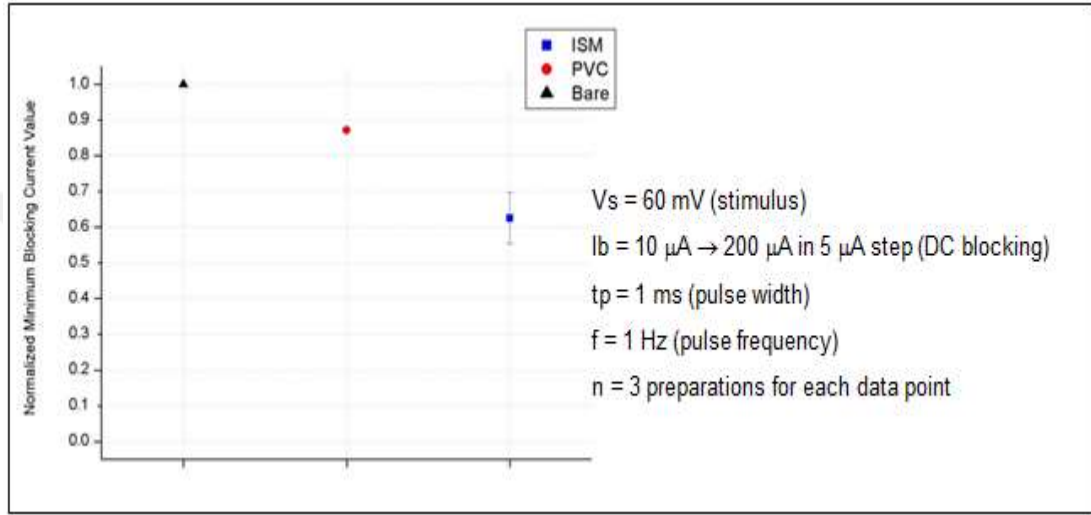
Şekil 3.7 : ISM'in  $Ca^{2+}$  iyonlarını çekmesi

Enjeksiyon deneyleri göz önüne alındığında ISM kullanarak hücre dışı sıvısından iyon çekmek, yine ISM kullanarak iyonu ISM'den hücre dışı sıvısına itmeye göre çok daha kolay ve kontrollü gerçekleşmektedir. İyonların etkisini göz önünde bulundurarak  $Ca^{2+}$  seçici ISM kullanarak deneyleri gerçekleştirdik. Böylece şekil 3.7'de görüldüğü üzere bloklama akımı verildiğinde ISM kaplı (-) yüklü elektrot (+) yüklü  $Ca^{2+}$  iyonlarını üzerine çeker. Bu sayede voltaj kapılı sodyum kanallarının önü açılır ve bloklama daha kolay hale gelir. Çünkü bloklama, voltaj kapılı sodyum kanallarının uzun süre açık tutulması ve böylece kanalın kendini otomatik olarak kapatması şeklinde gerçekleşir. Bu deney için bir kurbağada önce yalın elektrotla, hemen ardında da  $Ca^{2+}$ -ISM kaplı elektrotla bloklama gerçekleştirdik. Şekil 3.8'de görüldüğü üzere yalın elektrotla bloklama akımı  $9 \mu A$  olarak ölçülürken ISM kullanılarak bloklama akımı  $5 \mu A$ 'e düşürülmüştür.



Şekil 3.8 : Yalın ve ISM-kaplı elektrotların bloklama akımları

Bu deneyde yaklaşık % 45'lik bir düşüş elde ettik. Bu deneyden de görüldüğü üzere  $Ca^{2+}$  çekmek bloklama akımında büyük bir düşüşe sebep olmaktadır. Bu deneydeki düşüşün sebebinin  $Ca^{2+}$  iyonlarını çekmek olduğunu göstermek için başka deneyler yaptık. ISM kokteylinden iyon seçici özelliği sağlayan ionophoru çıkararak PVC membran elde ettik. Daha sonra ISM kaplı elektrot, yalın elektrot ve PVC membran kaplı elektrot kullanarak bloklama deneyleri yaptık ve karşılaştırmalar elde ettik. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.9'da görülmektedir.



Şekil 3.9 : ISM-PVC ve Bare elektrot ile bloklama karşılaştırması

Şekil 3.9'da görüldüğü üzere ISM kullanılarak yapılan deneylerde bare elektrot kullanılarak elde edilen bloklama akımına göre % 35-45 arası bir düşüş elde ettik. PVC membrane kullanılarak yapılan deneylerde yalın elektrotlar kullanılarak yapılan deneylere göre eşit çıkması gerektiği halde az bir düşüş elde edilmiştir. Bunun sebebi PVC membranın da seçici bir özellik göstermediği halde dış sıvıdaki bazı iyonları rastgele çekmiş olmasıdır.



#### 4. SONUÇ

Klasik fonksiyonel elektriksel uyarı (FEU) metoduyla bloklama hali hazırda zaten yapılabilmektedir. Fakat bloklama için yüksek miktarda enerji gerekmektedir. Bu da sinir sistemi için istenmeyen bir durumdur ve sinire kalıcı zararlar verebilmektedir. Bu yüzden bloklama akımının olabildiğince düşürülmesi gerekir. Bunun için elektrokimyasal yöntem geliştirdik. Bu metodumuzla bloklama akımını daha düşük değerlere çekebilmekteyiz. Bu metod için geliştirdiğimiz esnek elektrotumuzla birlikte canlı ortamda çalışabilen ve iyon miktarını değiştirebilen cihazımızı üretmiş bulunmaktayız. Bu metodumuz için öncelikli olarak esnek elektrot ürettik. Bu esnek elektrotumuz planar elektrotla ve kabloyla karşılaştırıldığında sinir ile temas alanı daha fazla olmaktadır. Böylece bloklama akımı düşmektedir. Esnek elektrotumuzu kullanarak planar elektrottan elde edilen bloklama akımına göre % 20'lik bir düşüş elde edebilmekteyiz. Buna ek olarak geliştirdiğimiz iyon seçici membranı (ISM) kullanarak elektrokimyasal olarak bloklama metodu uyguladık. İyon seçici membrane (ISM) sayesinde yalın elektrota göre bloklama akımında % 40-50 arası bir düşüş elde edebilmekteyiz. Böylece hem esneklik hem de elektrokimyasal yöntem göz önüne alındığında, esnek elektrot kullanarak elektrokimyasal yöntemle bloklama yapmak en ideal yöntem olmaktadır. Ürettiğimiz cihazımız esnek olduğu için siniri kavrayabilmekte ve bu durum da cihazın vücut içine implant edilebilmesini sağlamaktadır. Bu da ileriki gelişmeler adına çok önemli bir adımdır. Çünkü cihazın esnekliği sayesinde vücuda implant edilebilir olması tıbbi uygulamalar ve tedavi için kullanılabilmesini kolaylaştıracaktır. Sonuç olarak geliştirdiğimiz esnek cihazımız sayesinde hem bloklama için gerekli akımı düşürmüş bulunmaktayız hem de ISM sayesinde önümüzdeki gelişmeler adına pratik ve daha uygulanabilir bir metod ortaya koymuş bulunmaktayız. Bunun sonucunda dünyada ilk defa canlı ortamda sinir çevresindeki iyon miktarını değiştirebilen bir teknoloji geliştirmiş bulunmaktayız.





## KAYNAKLAR

- [1] **Prodanov, D., Marani, E., & Holsheimer, J.** (2003). Functional electric stimulation for sensory and motor functions: progress and problems. *Biomedical Reviews*, 14, 23-50. DOI: <http://dx.doi.org/10.14748/bmr.v14.107>
- [2] **Rattay, F.**, (1990). *Functional Electrical Nerve Stimulation: A Way to Restore Lost Functions. Electrical Nerve Stimulation: Theory, Experiments and Applications*, (Syf 28), Wien, Springer-Verlag.
- [3] **Cockerham, K., Aro, S., Liu, W., Pantchenko, O., Olmos, A., Oehlberg, M., Sivaprakasam, M. & Crow, L.** (2008). Application of MEMS technology and engineering in medicine: a new paradigm for facial muscle reanimation. *Expert review of medical devices*, 5(3), 371-381. DOI:10.1586/17434440.5.3.371
- [4] **Bhadra, N., & Kilgore, K. L.** (2004). Direct current electrical conduction block of peripheral nerve. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 12(3), 313-324.
- [5] **Hodgkin, a L., & Huxley, a F.**, (1952). A quantitative description of membrane current and its applicaiton to conduction and excitation in nerve. *The Journal of Physiolog*, 117(4), 500-544.
- [6] **URL-1** <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr04/en/> Alındığı tarih: 14.08.2016.
- [7] **Hunter Peckham, P., & Knutson, J. S.**, (2005). Functional Electrical Stimulation for Neuromuscular Applications\*. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 7, 327–360.
- [8] **Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. J.** (2000). *Principles of neural science* (Vol. 4, pp. 1227-1246). E. R. Kandel, J. H. Schwartz, & T. M. Jessell (Eds.). New York: McGraw-hill.
- [9] **Weiss, T. F.** (1996). *Cellular biophysics* (Vol. 1). Cambridge, Mass: MIT press.
- [10] **URL-2** <https://global.britannica.com/science/action-potential> Alındığı tarih: 29.03.2017.
- [11] **Luo, C. H., & Rudy, Y.** (1991). A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction. *Circulation research*, 68(6), 1501-1526.
- [12] **Armstrong, C. M., & Cota, G.** (1999). Calcium block of Na<sup>+</sup> channels and its effect on closing rate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 4154-4157.

- [13] **Scholz, A.** (2002). Mechanisms of (local) anaesthetics on voltage-gated sodium and other ion channels. *British Journal of Anaesthesia*, 89(1), 52-61.
- [14] **Haut, S. R., Bigal, M. E., & Lipton, R. B.** (2006). Chronic disorders with episodic manifestations: focus on epilepsy and migraine. *The Lancet Neurology*, 5(2), 148-157.
- [15] **Aarsland, D., Zaccai, J., & Brayne, C.** (2005). A systematic review of prevalence studies of dementia in Parkinson's disease. *Movement disorders*, 20(10), 1255-1263.
- [16] **Luan, S., Williams, I., Nikolic, K., & Constandinou, T. G.** (2014). Neuromodulation: present and emerging methods. *Frontiers in neuroengineering*, 7, 27.
- [17] **Kispersky, T. J., Caplan, J. S., & Marder, E.** (2012). Increase in sodium conductance decreases firing rate and gain in model neurons. *Journal of Neuroscience*, 32(32), 10995-11004.
- [18] **Heinemann, U., Angamo, E. A., & Liotta, A.** (2017). Non-synaptic Mechanisms: Modulation of Neuronal Excitability by Changes in Extracellular Ion Composition q.
- [19] **Udem, B. J., Oh, E. J., Lancaster, E., & Weinreich, D.** (2003). Effect of extracellular calcium on excitability of guinea pig airway vagal afferent nerves. *Journal of neurophysiology*, 89(3), 1196-1204.
- [20] **Frankenhaeuser, B.** (1957). The effect of calcium on the myelinated nerve fibre. *The Journal of physiology*, 137(2), 245.
- [21] **Ding, F., O'Donnell, J., Xu, Q., Kang, N., Goldman, N., & Nedergaard, M.** (2016). Changes in the composition of brain interstitial ions control the sleep-wake cycle. *Science*, 352(6285), 550-555.
- [22] **Landolt, H. P., & Holst, S. C.** (2016). Ionic control of sleep and wakefulness. *Science*, 352(6285), 517-518.
- [23] **Song, Y. A., Melik, R., Rabie, A. N., Ibrahim, A. M., Moses, D., Tan, A., ... & Lin, S. J.** (2011). Electrochemical activation and inhibition of neuromuscular systems through modulation of ion concentrations with ion-selective membranes. *Nature materials*, 10(12), 980-986.
- [24] **Vrabec, T., Bhadra, N., Wainright, J., Bhadra, N., Franke, M., & Kilgore, K.** (2016). Characterization of high capacitance electrodes for the application of direct current electrical nerve block. *Medical & biological engineering & computing*, 54(1), 191-203.
- [25] **Foutz, T. J., Ackermann Jr, D. M., Kilgore, K. L., & McIntyre, C. C.** (2012). Energy efficient neural stimulation: coupling circuit design and membrane biophysics. *PloS one*, 7(12), e51901.
- [26] **Stuart, G. J., & Sakmann, B.** (1994). Active propagation of somatic action potentials into neocortical pyramidal cell dendrites. *Nature*, 367(6458), 69-72.

- [27] **Racine, R. J.** (1972). Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 32(3), 281-294.
- [28] **Grossman, S. P.** (1964). Behavioural effects of direct chemical stimulation of central nervous system structures. *International journal of neuropharmacology*, 3(1), 45-58.
- [29] **URL-3** <http://blp6.atw.hu/BLP6/HTML/C0059780323045827.htm> Alındığı tarih: 29.03.2017.
- [30] **Rosatzin, T., Bakker, E., Suzuki, K., & Simon, W.**, (1993). Lipophilic and immobilized anionic additives in solvent polymeric membranes of cation-selective chemical sensors. *Analytica Chimica Acta*, 280, 197–208.
- [31] **Guenat, O. T., Dufour, J. F., Van Der Wal, P. D., Morf, W. E., De Rooij, N. F., & Koudelka-Hep, M.**, (2005). Microfabrication and characterization of an ion-selective microelectrode array platform. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 105(1), 65–73.
- [32] **Armstrong, C. M., & Cota, G.**, (1999). Calcium block of Na<sup>+</sup> channels and its effect on closing rate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(7), 4154–4157.
- [33] **Tanaka, T., Hasegawa, N., Shiraishi, H., & Okazaki, S.** (1990). A new photolithography technique with antireflective coating on resist: Arcor. *Journal of the Electrochemical Society*, 137(12), 3900-3905.
- [34] **Kern, W.** (2012). *Thin film processes II (Vol. 2)*. Academic press.
- [35] **URL-4** <http://www.elflow.com/microfluidic-tutorials/microfluidic-reviews-and-tutorials/the-poly-di-methyl-siloxane-pdms-and-microfluidics/>
- [36] **Clarkson, R. W., & deVos Jr, J. C.** (1986). The bullfrog, *Rana catesbeiana* Shaw, in the lower Colorado River, Arizona-California. *Journal of Herpetology*, 42-49.
- [37] **URL-5** <http://ralindustry.com/maskingtapes.htm> Alındığı tarih: 14.08.2016.
- [38] **URL-6** <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/t25402?lang=en&regionn=TR> Alındığı tarih: 14.08.2016.
- [38] **URL-6** <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/t25402?lang=en&regionn=TR> Alındığı tarih: 14.08.2016.
- [39] **URL-7**  
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/21199?lang=en&region=TR> Alındığı tarih: 14.08.2016.

- [40] **Theophilidis, G., & Kiartzis, K.** (1996). Stretching of an isolated part of the sciatic nerve of the frog (*Rana rindibunda*) causes excitation of its sensory nerve fibres. *Neuroscience letters*, 215(2), 99-102.
- [41] **Limn, J. K., Stanley, T. H., Eisele, J., Webster, L., & Woodward, A.** (1979). High dose fentanyl anesthesia for coronary artery surgery: plasma fentanyl concentrations and influence of nitrous oxide on cardiovascular responses. *Anesthesia & Analgesia*, 58(5), 390-395.
- [42] **Carlson, B. M.** (1968). Regeneration of the completely excised gastrocnemius muscle in the frog and rat from minced muscle fragments. *Journal of morphology*, 125(4), 447-471.
- [43] **Koefoed-Johnsen, V. A. L. B. O. R. G., & Ussing, H. H.** (1958). The nature of the frog skin potential. *Acta physiologica*, 42(3-4), 298-308.
- [44] **Van der Meer, R., & De Vries, H. T.** (1985). Differential binding of glycine- and taurine-conjugated bile acids to insoluble calcium phosphate. *Biochemical Journal*, 229(1), 265-268.
- [45] **Oesch, U., Ammann, D., & Simon, W.** (1986). Ion-selective membrane electrodes for clinical use. *Clinical Chemistry*, 32(8), 1448-1459.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Zafer Soybaş  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 15.07.1990 Erzurum  
**E-posta** : zsoybas@etu.edu.tr

### ÖĞRENİM DURUMU:

- Lisans** : 2014, TOBB ETÜ, Mühendislik Fakültesi, Elektrik ve Elektronik Mühendisliği

### MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

| Yıl       | Yer      | Görev                           |
|-----------|----------|---------------------------------|
| 2015-...  | TOBB ETÜ | Proje Burslu Y.Lisans Öğrencisi |
| 2014-2015 | TOBB ETÜ | Tam Burslu Y.Lisans Öğrencisi   |

### YABANCI DİL: İngilizce

### TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Şimşek S.\*, **Soybaş Z.\***, Tatar Y., Marçalı M., Elbüken Ç., Aydoğdu B., Melik R., 2016. Flexible Electronics for Efficient Nerve Stimulation, Proceedings of ISCBES'16: International Conference on Biomedical Engineering and Systems, August 16-17, Busapest, Hungary. \*Equal contribution.
- Z. Soybaş\***, S. Şimşek\*, E. N. Şimşek, B. Korkmaz, B. Aydoğdu and R. Melik, ‘‘ Microfabricated Flexible Electrodes for Blocking the Sciatic Nerve of a Frog’’, 11th International Conference on Biotechnology, Bio Informatics, Bio Medical Sciences and Stem Cell Applications (B3SC) 2016, London, England (September 21-22 2016). \* Equally contributed.