

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

**KURBAĞA SİYATİK SINIRININ CANLI ORTAMDA  
ESNEK ELEKTROT KULLANILARAK  
ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLE UYARIMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Sefa ŞİMŞEK**

**Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı**

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

**ARALIK 2016**



Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

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

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

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

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 141211019 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Sefa ŞİMŞEK**'in ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "**KURBAĞA SİYATİK SINIRININ CANLI ORTAMDA ESNEK ELEKTROT KULLANILARAK ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLE UYARIMI**" başlıklı tezi **19 Aralık 2016** 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.

Sefa Şimşek



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### KURBAĞA SİYATİK SINIRININ CANLI ORTAMDA ESNEK ELEKTROT KULLANILARAK ELEKTROKİMYASAL YÖNTEMLE UYARIMI

Sefa ŞİMŞEK

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

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Rohat MELİK

Tarih: Aralık 2016

Günümüzde sinirsel bozukluklar, omurilik yaralanmaları gibi durumlarda tedavi metodu olarak klasik fonksiyonel elektriksel uyarımı uygulanmaktadır. Bu yöntem yüksek akım uygulanması gerektirdiğinden ötürü istenmeyen sinirlerin uyarılmasına ve geçici veya kalıcı şekilde dokularda zarar oluşmasına neden olabilmektedir. Bu problemi engellemek için, uyarım eşik değerinin (siniri uyarmak için gerekli olan asgari akım değeri) düşürülmesini öneriyoruz. Klasik fonksiyonel elektriksel uyarımı klasik kablo ile uygulanırken, bu çalışmada eşik değerini düşürmek için uyarım akımı mikrofabrikasyon yöntemleriyle üretilmiş düzlemsel ve esnek elektrotlar ile uygulanmıştır. Düzlemsel elektrot standart litografi yöntemleriyle cam levha üzerine altın kaplayarak üretilmiştir. Esnek elektrot üretmek için ise termal bant zemin olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada, nanoteknolojinin sunduğu gelişmelerden olan bu mikrofabrikasyon yöntemleri biyomedikal uygulama alanına tatbik edildi. Ayrıca, klasik fonksiyonel elektriksel uyarıma ek olarak iyon konsantrasyonunu uyarım sırasında değiştirerek eşik değerini daha da düşürmek hedeflendi. Uyarım sırasında akım uygulanırken iyon konsantrasyonu otomatik olarak değiştirilerek elektrokimyasal uyarım yapılmış oldu. Uyarım iyon hareketlerine bağlı olduğu için

bu yöntem kullanılarak aksiyon potansiyeli oluşumu kolaylaştırılıp eşik değeri düşürüldü.

Klasik kablo, mikrofabrikasyon yöntemiyle üretilmiş düzlemsel ve esnek elektrot olmak üzere üç elektrot kullanılarak kurbağanın siyatik siniri üzerinde eşik değerleri *in-situ* ortamda ölçüldü. Tüm hayvan deneyleri etik kurallar çerçevesinde kurbağalar üzerinde yürütülmüştür. Vücutta gastrocnemius kasıyla birlikte bulunan siyatik siniri kurbağadan disseke edilmiştir. Eşik değerini ölçmek için uyarım akımı elektrotla siyatik sinire uygulanmış ve gastrocnemius kasında oluşan kuvvet force transducer ile kaydedilmiştir. Eşik değerini tespit etmek için uygulanan uyarım akımı sonucunda kasta kasılma olup olmadığı gözlemlenmiştir. Düzlemsel elektrot ile ölçülen Eşik Değeri klasik fonksiyonel uyarımdan 60-65% daha düşük olarak gözlemlenmiştir. Bunun nedeni sinir ve elektrot arasındaki temas yüzeyinin artışıdır. Öte yandan, Esnek Elektrotla yapılan ölçümde ise klasik kabloya göre Eşik Değerinde 80-85% düşüş gözlemlenmiştir. Bu düşüşün nedeni de Esnek Elektrotun siniri sararak yüzey alanını daha da artırmasıdır. Son olarak, esnek elektrotlar ISE (İyon Seçici Elektrot) teknolojilerinde kullanılan  $Ca^{2+}$ -ISM (Kalsiyum-iyon seçici membran) ile kaplanarak uyarım sırasında  $Ca^{2+}$  çekilmesi sağlandı.  $Ca^{2+}$  iyonu doğal bir Sodyum Kanal engelleyicisi olduğu için,  $Ca^{2+}$  çekmek uyarımı kolaylaştırdı ve Eşik Değerini yalın elektrota oranla 15-25% düşürdü.

Sonuç olarak, esnek elektrot küçük cihazlarda verimli temas yüzeyi sağladığı için uyarım akımını düşürerek daha zararsız uyarım sağlamaktadır. Ayrıca, esnek elektrotlar  $Ca^{2+}$ -ISM ile kaplanarak uyarım sırasında otomatik olarak  $Ca^{2+}$  iyonunun çekilmesi sağlanmıştır. Bu elektrokimyasal yöntem ise uyarımın kolaylaşmasını ve eşik değerin düşmesini sağlar. Böylece uyarım verimliliği artırılmıştır ve daha düşük uyarı akımlarıyla sinir uyarılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Fonksiyonel elektriksel uyarım, Canlı ortamda iyon konsantrasyonu değiştirme, Esnek elektrot.



## **ABSTRACT**

Master of Science

Electrochemical Stimulation of Sciatic Nerve of a Frog *in-vivo*

using Flexible Electrodes

Sefa ŞİMŞEK

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

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Rohat MELİK

Date: December 2016

Conventional functional electrical stimulation is a currently available treatment method for neurological disorders such as paralysis and spinal cord injury. This conventional electrical stimulation results in unwanted nerve signals and temporary or permanent damage on tissues because of the requirement of high current values. In order to prevent these problems, we propose to reduce the threshold value for stimulation which is the minimum required current value to stimulate the nerve. In this study, stimulation current was applied with microfabricated planar and flexible electrodes to reduce the threshold whereas the conventional functional electrical stimulation is implemented with conventional cable. The planar electrode was fabricated with the standard lithography techniques by coating gold on a glass wafer. On the other hand, in order to fabricate the flexible electrode, we used kapton tape as a substrate. These microfabrication methods are provided by the developments of the nanotechnology and we applied these techniques for biomedical applications. In addition, the threshold value is reduced by modulating the ion concentration automatically during the stimulation. By using this technique, the electrochemical stimulation is applied. Since the stimulation depends on the ion concentration

gradient, the action potential is produced easily and threshold for stimulation is reduced.

The threshold values for these three electrodes; conventional cable, microfabricated planar electrode and flexible electrode were measured *in-vivo* along the sciatic nerve of a frog. All the animal experiments were performed in pursuance of the ethical protocols. The sciatic nerve which is integrated with the gastrocnemius muscle, was dissected from the frog. To measure the threshold value, the stimulation current was applied by the electrode, and the resulting force on the gastrocnemius muscle was recorded via force transducer. The threshold values for the three types of electrodes were detected by observing whether there is a muscle contraction or not, as a result of the stimulation current applied. The microfabricated planar electrode reduced the threshold values by 60-65% compared to the conventional functional stimulation due to increase in contact area between the nerve and the electrode. Furthermore, the flexible electrode reduced the threshold values by 80-85% in comparison to the conventional cable. This improvement was achieved by increasing the contact area more, through surrounding the nerve by flexible electrode. Finally,  $\text{Ca}^{2+}$  is depleted from the extracellular solution by coating the flexible electrode with  $\text{Ca}^{2+}$ -ISM (Calcium-ion selective membrane). Since the  $\text{Ca}^{2+}$  is a natural blocker of voltage-gated sodium channels, the threshold values is reduced by 15-25% when compared to bare electrode by depleting  $\text{Ca}^{2+}$  during the stimulation.

In conclusion, since the flexible electrode provides efficient contact area in a small device, it can be implanted into a body. Furthermore, the electrochemical stimulation applied and the threshold is reduced by depleting the  $\text{Ca}^{2+}$  ion from the extracellular solution. It is the most harmless way to stimulate the nerve by decreasing the stimulation current applied. Hence, the flexible electrode can be used for implantable neuroprosthetic devices for treatment of neural disease or injury.

**Keywords:** Functional electrical stimulation, Ion concentration modulation *in-vivo*, Flexible electrode.

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, her zaman olumlu yaklaşımıyla 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.

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 Zafer Soybaş ve Büőra Korkmaz'a katkılarından ötürü teşekkür ederim.

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

Ayrıca, yalnızca bu yüksek lisans eğitimim süresince değil, tüm hayatım boyunca her zaman yanımda olup desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim. Ailemizin sevgi tomurcukları olan yeğenlerim Ahmet Said ve Fatma Betül'e oynadığımız oyunlardan ötürü teşekkür ederim.

Son olarak, yüksek lisans eğitimim sırasında evlendiğim, hayatıma renk katan sevgili eőim Esra Nur'a teklifimi kabul edip hayatımızda mutlu bir pencere açtığı için ve aynı zamanda grubumuzda yer alıp çalıőmalarımıza yaptığı entelektüel katkıları için teşekkür ediyorum.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	iv
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	viii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ix
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	xi
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	xii
<b>KISALTMALAR</b> .....	xiii
<b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....	xiv
<b>RESİM LİSTESİ</b> .....	xv
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Tezin Amacı .....	1
1.2 Literatür Araştırması .....	1
1.2.1 Sinir sistemi mekanizması.....	2
1.2.2 Sinir hastalıkları .....	3
1.2.3 FES ve uygulamaları .....	3
1.2.4 Güncel çalışmalar .....	4
1.2.5 Dezavantajlar.....	4
1.3 Çalışmanın yaklaşımı ve mekanizma .....	5
1.3.1 Temas yüzeyi.....	5
1.3.2 İyon konsantrasyonunu değiştirme.....	5
1.3.3 Ca <sup>2+</sup> iyonunun aksiyon potansiyeli oluşumundaki rolü .....	5
<b>2. METOTLAR</b> .....	<b>7</b>
2.1 Elektrotların Üretimi .....	7
2.1.1 Düzlemsel elektrot üretimi .....	7
2.1.2 Esnek elektrot üretimi .....	10
2.1.3 ISM kokteylinin hazırlanması .....	11
2.2 Deney hayvanının hazırlanması .....	13
2.2.1 In-vitro.....	13
2.2.2 In-vivo .....	14
2.3 Deney düzeneği .....	14
2.3.1 Aksiyon potansiyeli ölçümü.....	15
2.3.2 Eşik değerinin belirlenmesi .....	16
<b>3. DENEYSEL SONUÇLAR</b> .....	<b>19</b>
3.1 Elektriksel Uyarım Deneyleri.....	19
3.1.1 Tripolar elektrotun polaritesi.....	19
3.1.2 Uyarım dürtü frekansı .....	20
3.1.3 Elektrotun sinir üzerindeki konumu.....	21
3.1.4 Elektrot kutupları arasındaki mesafe.....	22
3.1.5 Temas yüzeyi deneyleri.....	22
3.2 Elektrokimyasal Uyarım Deneyleri.....	24
3.2.1 Elle iyon konsantrasyonu değişimi (enjeksiyon) deneyleri .....	24
3.2.2 Ca <sup>2+</sup> -ISM ile uyarım deneyi .....	26

3.2.3 Uyarım kontrol çözünürlüğü .....	28
<b>4. SONUÇ .....</b>	<b>31</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>33</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>35</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1 : Aksiyon potansiyeli ve iyon kanalları .....	2
Şekil 1.2 : Voltaj kapılı sodyum kanalları.....	3
Şekil 2.1 : Düzlemsel elektrotların üretim aşamaları .....	8
Şekil 2.2 : PDMS mikrokanal üretimi.....	9
Şekil 2.3 : Eski ve yeni elektrot tasarımları .....	10
Şekil 2.4 : Esnek elektrot üretimi .....	10
Şekil 2.5 : Disseksiyon .....	13
Şekil 2.6 : Deney düzeneğinin blok diyagramı .....	14
Şekil 2.7 : Deney düzeneği .....	15
Şekil 2.8 : Örnek eşik değeri deneyi sonucu .....	17
Şekil 3.1 : Polarite deney sonuçları.....	19
Şekil 3.2 : Uyarım noktasındaki akım.....	20
Şekil 3.3 : Dürtü frekansı sonuçları .....	20
Şekil 3.4 : Uyarım konumu deney sonuçları .....	21
Şekil 3.5 : Elektrot kutupları arası mesafe deneyi sonuçları .....	22
Şekil 3.6 : Örnek temas yüzeyi deneyi sonucu .....	23
Şekil 3.7 : Temas yüzeyi deney sonuçları .....	23
Şekil 3.8 : İyon enjeksiyon deney sonuçları.....	25
Şekil 3.9 : ISM'in $Ca^{2+}$ çekmesi .....	27
Şekil 3.10 : Yalın ve ISM-kaplı elektrotların eşik değerleri .....	27
Şekil 3.11 : $Ca^{2+}$ çekmenin eşik değerine etkisi.....	28
Şekil 3.12 : $Ca^{2+}$ çekmenin uyarım kontrol çözünürlüğüne etkisi .....	28
Şekil 3.13 : $Ca^{2+}$ çekmenin kasılma üzerine etkisi.....	29





## ÇİZELGE LİSTESİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 2.1 : İyon seçici kokteyl içeriğinin elektriksel iletkenliğe etkisi .....	12
Çizelge 3.1 : Hücre içi ve hücre dışı iyon konsantrasyonları.....	25



## **KISALTMALAR**

<b>ISM</b>	: İyon Seçici Membran
<b>FES</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.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
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 1.1 : Ulnar sinirinin uyarılması .....	1
Resim 2.1 : Düzlemsel elektrot .....	8
Resim 2.2 : Esnek elektrot .....	11
Resim 2.3 : Aksiyon potansiyeli ölçümü deney düzeneği .....	16





## 1. GİRİŞ

Günümüzde sinir hasarı veya felç gibi sinirsel bozukluklar için farklı tedavi yöntemleri mevcuttur [1]. Fonksiyonel elektriksel uyarım (FES) da bu yöntemlerden birisidir. Fonksiyonel elektriksel uyarım, sinir sistemindeki bir problemten ötürü aksiyon potansiyeli oluşmadığı veya iletilmediği durumda, sinirin dışarıdan elektrik akımı ile uyarılmasıdır. Dışarıdan oluşturulan uyarı sinir sisteminde iletilip vücudun gerçekleştiremediği fonksiyonların gerçekleştirilebilmesini sağlar.

### 1.1 Tezin Amacı

Fonksiyonel elektriksel uyarım (FES) ile dışarıdan uyarı verilerek kaybedilmiş bir fonksiyonu gerçekleştirmek mümkündür [2]. Bu yöntem yüksek akım uygulanması gerektiğinden ötürü istenmeyen sinirlerin uyarılmasına ve geçici veya kalıcı şekilde dokularda zarar oluşmasına neden olabilmektedir [3]. Örneğin, Resim 1.1’de görüldüğü gibi ulnar siniri dışarıdan elektrik akımı ile uyarılarak el sıkma hareketi yaptırılabilir [4]. Fakat bu akım ulnar siniri etrafındaki reseptör sinirleri de uyardığından, o bölgede acı hissedilir. Bu çalışmanın amacı uyarımın etkinliğini artırarak bu ve buna benzer yan etkilerden kurtulmaktır.



Resim 1.1 : Ulnar sinirinin uyarılması

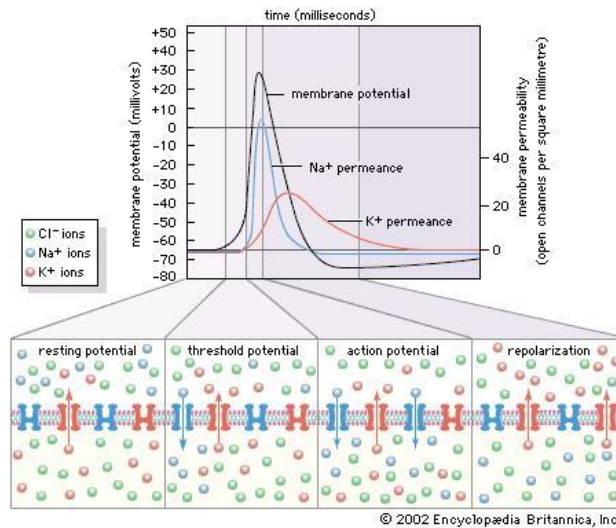
### 1.2 Literatür Araştırması

Literatürde sinir sistemini dışarıdan elektriksel uyarı yöntemi üzerine çalışmalara sıkça rastlanmaktadır [5]. Çünkü geçtiğimiz yıllarda yapılan araştırmalara göre

dünyadaki insanların yaklaşık altıda biri bu sinirsel bozukluklardan etkilenmektedir. Tahminen her yıl 7 milyon insan sinirsel hastalıklar sonucu ölmektedir [6]. Bu konudaki çalışmalara temel oluşturan sinir hücresi modeli 1956'daki çalışmalar sonucunda ortaya çıkarılan Hodgkin-Huxley modeli olarak bilinen sinir hücresi modelidir [7]. Günümüzde halen bu sinir hücresi modeli geçerliliğini korumaktadır. Bu modele göre sinir hücresi dışarıdan elektrik akımı ile uyarılabilir.

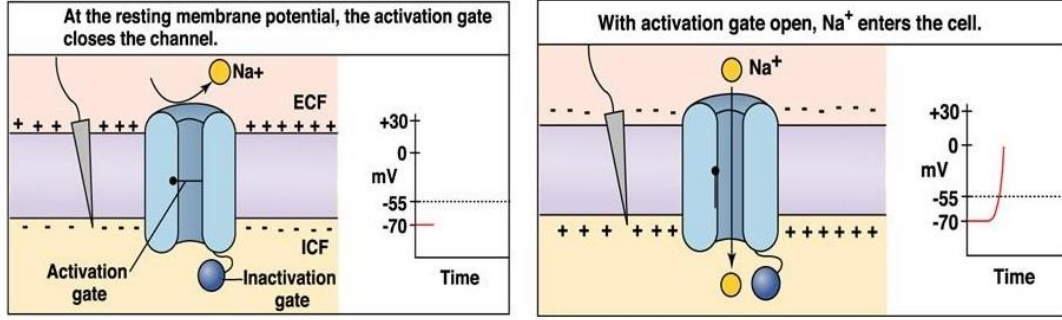
### 1.2.1 Sinir sistemi mekanizması

Sinir sisteminde reseptör sinirlerden algılanan bilgi veya beyinden gönderilen komut bilgisi sinir hücreleri üzerinde elektrokimyasal mekanizmayla iletilir. Bu mekanizma elektromanyetik dalgaların ilerlemesi mekanizmasına benzemektedir [8]. Elektromanyetik dalgalarda, elektrik ve manyetik dalgalar birbirini tetikleyerek ilerler. Sinir hücresinde ise hücre zarı üzerindeki potansiyel ve hücre içi-dışı iyon konsantrasyonları birbirini tetikleyerek ilerler. Sinir hücresi üzerinde bilginin iletildiği hücre zarı üzerindeki potansiyel sinyal formuna Aksiyon Potansiyeli (A.P.) denir [7]. Aksiyon potansiyeli oluşuktan sonra sinir hücresi boyunca iletilir ve sonraki diğer sinir hücresi veya kas hücresine ulaşır. Hücre zarı üzerindeki membran potansiyeli dinlenme durumunda negatiftir. Bunun sebebi hücre içi ve dışı sıvılarındaki iyon konsantrasyonları ve hücre zarının iyonlara olan geçirgenliğidir. Aksiyon potansiyeli oluşması için membran potansiyeli belli bir eşik değerini aşmalıdır. Bu özel eşik değerine ulaştıktan sonra Şekil 1.1'de gösterildiği gibi voltaj-kapılı sodyum kanalları açılır ve membran potansiyeli hızla artarak maksimum seviyesine ulaşır [9].



Şekil 1.1 : Aksiyon potansiyeli ve iyon kanalları

Aksiyon potansiyelinin bu ilk evresine depolarizasyon denir. Aksiyon potansiyeli oluşması için depolarizasyon başlamalı yani dışarda daha çok bulunan Sodyum iyonları içeri geçmelidir. Bunun için de Şekil 1.2’de görüldüğü gibi voltaj-kapılı sodyum kanalları açılmalıdır [10].



Şekil 1.2 : Voltaj kapılı sodyum kanalları

Voltaj-kapılı sodyum kanallarının açılması için gereken minimum membran potansiyeline eşik değeri denir. Membran potansiyeli eşik değerine ulaştığında aksiyon potansiyeli oluşur ve iletilir.

### 1.2.2 Sinir hastalıkları

2007 yılında Birleşmiş Milletler tarafından yayınlanan rapora göre neredeyse 1 milyar insan sinirsel bozukluklardan muzdariptir. İçlerinde Alzheimer, Parkinson, felç, epilepsi, migren, ALS ve beyin hastalıkları da bulunan bu sinirsel bozukluklardan dolayı her yıl yaklaşık 7 milyon insan ölmektedir [6]. Bazen bu hastalıklar sonucu bazen de sakatlıklar sonucu sinir sisteminde bazı işlevler yerine getirilemez. Aksiyon potansiyelinin oluşturulamadığı veya sakatlık sonucu sinirdeki kopmadan ötesine iletilmediği durumlarda dışarıdan uyarı göndermek için FES kullanılır.

### 1.2.3 FES ve uygulamaları

Fonksiyonel elektriksel uyarım (FES) ile dışarıdan uyarı verilerek kaybedilmiş bir fonksiyonu geri kazanmak mümkündür. Elektriksel Uyarım (ES) aynı zamanda ağrıların azaltılması, sakatlık durumunda iyileşme sürecinde kasların alıştırmaya yapılarak diri tutulması ve kalp pili, kulak protezi gibi tedavi yöntemlerinde

kullanılmaktadır [11]. FES'in, sinir hücresi rejenarasyonunda da uygulanması için araştırmalar yürütölmektedir [12].

#### **1.2.4 Güncel alışmalar**

FES uygulamaları konusunda güncel çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin 2012 yılında yayınlanan bir çalışmaya göre elektriksel sinir uyarımında enerji verimliliğini artırmak için kalp pillerindekine benzer bir uyarı jeneratörü kullanılmıştır [13]. Aynı grup 2014 yılında yayınladığı çalışmada ise tetraplej (her iki kol ve bacağı tutan felç) hastalarının FES sayesinde kollarını ve bileklerini açıp esnetebildiklerini, ellerini açıp kapatabildiklerini, omuzlarını indirip kaldırabildiklerini rapor etmiştir [14]. FES ayrıca kronik ağrıların engellenmesi amacıyla klinikte de uygulanan bir yöntemdir [15-17]. Yüksek ilgi gören bir başka çalışmada ise omurilik felci sonrasında elektriksel uyarım sayesinde tekrar yürüme yeteneği kazandırılan bir deney hayvanı anlatılmıştır [18, 19].

#### **1.2.5 Dezavantajlar**

Literatürde uyarım yöntemleri geliştirilirken, elektriksel verimliliğinin artması için çok sayıda çalışma bulunmaktadır [14, 16, 17]. Fakat sinirde uyarım ve uyarının iletimi iyonlarla sağlandığı için uyarım sadece elektriksel bir olay değil aynı zamanda kimyasal bir olaydır [7]. Dolayısıyla, elektrokimyasal yöntemler geliştirmek ve bu doğrultuda çalışmalar yapmak gerekmektedir. Aksi takdirde uyarımın oluşturulması için uygulanması gereken akım miktarı yüksek kalacaktır. Yüksek akımlar ile dışarıdan uyarım yapmak ise istenmeyen bölgelerin uyarılmasına sebep olacağı için uygulanabilir olmayacaktır [3]. Aynı zamanda, uzun süreli uygulamalarda yüksek elektrik akımı dokuya da zarar verebileceğinden dolayı, uygulanan akım miktarı olabildiğince düşük olmalıdır.

Genellikle FES çalışmalarında uyarım yöntemi sadece elektriksel olup verimliliği arttırmak için yine elektriksel yöntemler kullanılmıştır [12-17]. Bu teze konu olan çalışma ise elektrokimyasal yöntemle uyarım yapılması ve bunun sağlayacağı avantajlardır.

### **1.3 Çalışmanın yaklaşımı ve mekanizma**

Bu çalışma, FES'te uygulanan akımı azaltacaktır. Düşük akımla yapılan uyarımlar hem oluşabilecek zararları azaltır, hem de sadece istenen sinirin uyarılması ile daha hedef odaklı olacaktır. Uygulanması gereken akımın düşürülmesi için önerilen iki temel yöntem vardır. Bunlar, temas yüzeyini artırmak ve iyon konsantrasyonunu değiştirerek aksiyon potansiyeli oluşumunu kolaylaştırmaktır.

#### **1.3.1 Temas yüzeyi**

Akım uygulanan sinir demeti ile elektrot arasındaki temas yüzeyinin artırılması daha etkin ve verimli uyarım yapılmasını sağlar. Bu sayede uyarı oluşturulması için gereken eşik değerinin düşürülmesi hedeflenmiştir.

#### **1.3.2 İyon konsantrasyonunu değiştirme**

Sinir hücresinde aksiyon potansiyeli iyon akışlarıyla sağlandığından dolayı, uyarı oluşturmak için akım uygulanırken, aynı zamanda iyon konsantrasyonunun da değiştirilmesi ile daha etkin bir yöntem geliştirmek mümkündür. Akım uygulanırken iyon konsantrasyonunu değiştirmek amacıyla İyon Seçici Membranlardan (ISM) faydalanılmıştır. ISM içerisinde bulunan ve sadece bir iyonu geçirgenlik sağlayan ionophore molekülü sayesinde diğer iyonlara geçirgen değilken bir iyonu geçirgen olabilmektedir [20]. Genellikle ölçüm amaçlı kullanılan iyon seçici elektrotlarda yaygınca kullanılan bu teknolojiyi [21] FES ile birleştirerek uyarım eşik değerini daha da düşürmeyi hedefledik.

#### **1.3.3 Ca<sup>2+</sup> iyonunun aksiyon potansiyeli oluşumundaki rolü**

Ca<sup>2+</sup> iyonunun Membran Potansiyelinde ve aksiyon potansiyelinde direkt bir etkisi yok denecek kadar azdır [7]. Fakat çalışmalar gösteriyor ki kalsiyum, voltaj-kapılı sodyum kanallarını tıkadığı için, Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonu düştüğü zaman aksiyon potansiyeli daha kolay oluşuyor, Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonu arttığında ise aksiyon potansiyeli oluşması zorlaşıyor [22]. Sinir hücresi matematiksel modelindeki yeri ufak olmasına karşın fizyolojik etkisinden dolayı Ca<sup>2+</sup> iyonu aksiyon potansiyeli oluşumunda dolaylı fakat önemli bir rol oynamaktadır.



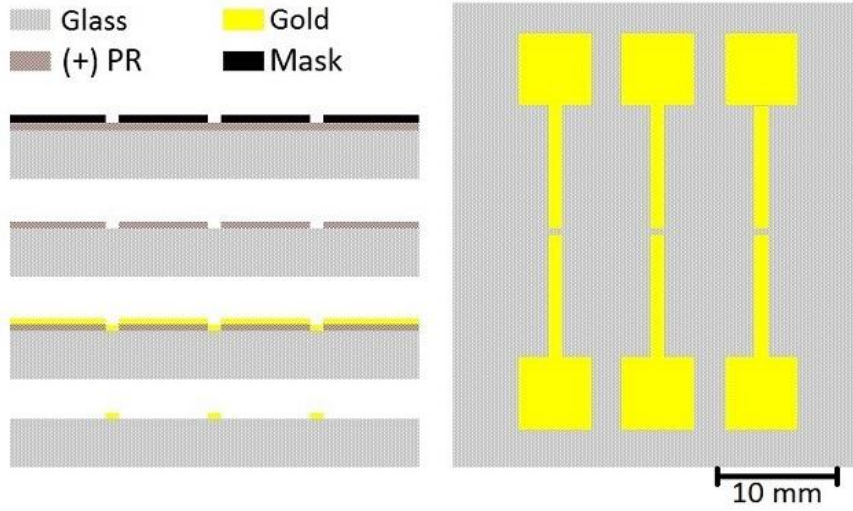
## 2. METOTLAR

### 2.1 Elektrotların Üretimi

Kurbağanın siyatik sinirini elektriksel uyarım yapacak elektrotlar mikrofabrikasyon metotları kullanılarak üretildi. Bu üretim için gerekli altyapı Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Merkezi (UNAM) tarafından sağlandı. Fabrikasyon adımları standart litografi yöntemleri, termal buharlaştırma ve poli(dimetil siloksan) (PDMS) kanal üretimi olarak üç ana sınıfta ele alınabilir. Standart litografi yöntemleri ve termal buharlaştırma elektrotların üretimi için gerekli olan adımlardır. PDMS kanal üretimi ise hazırlanan İyon Seçici Kokteylin düzlemsel elektrot üzerine kaplanmasında kullanılmıştır.

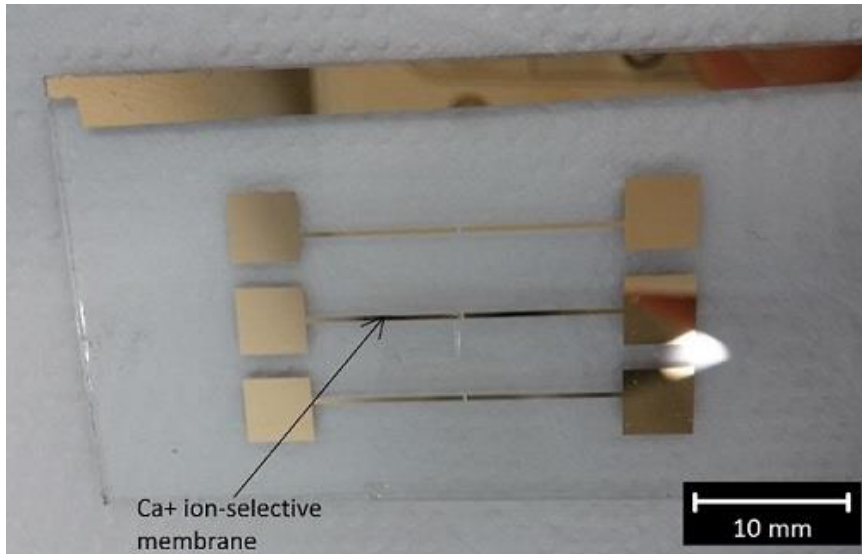
#### 2.1.1 Düzlemsel elektrot üretimi

Bu çalışmada kullanılan düzlemsel elektrotlar cam üzerine altın kaplanarak üretilmektedir. Düzlemsel elektrotların üretim aşamaları kısaca Şekil 2.1'deki gibidir. Cam üzerine ince standard litografi yöntemleri kullanılarak önce fotorezist kaplanır ve istenen mimariye sahip maske kullanılarak ultraviyole ışığa maruz bırakılır. Daha sonra termal buharlaştırma (T.E.) yöntemi kullanılarak altın kaplanır. Son olarak da aseton içinde bekletilerek sadece elektrot mimarisi cam lamel üzerinde bırakılır. Elektrot kutup genişlikleri 800  $\mu\text{m}$  ve uzunlukları 9 mm olup lehimlemek için bırakılan altın film de 4  $\text{nm}^2$ 'dir. Cam lamel üzerine ince film kaplama yöntemlerinden termal buharlaştırma yöntemi kullanılmıştır. Altının kaplanacağı alanı düzenlemek için standart litografi yöntemi AZ5214 pozitif fotorezist (+ PR) ile kullanılarak istenen mimari ayarlanmıştır. Camın üzeri yaklaşık 5  $\mu\text{m}$  kalınlığında pozitif fotorezist ile kaplanmıştır. Cam ile fotorezistin birbirine yapışması için öncelikle cam HMDS ile kaplanıp ardından pozitif fotorezist ile kaplanmıştır. Daha sonra ultraviyole ışığa maruz bırakılarak ışığın ulaştığı bölgeler AZ400k developer içerisinde çözünecek kıvama getirilmiştir. Ultraviyole ışık hazırlanan maske üzerinden gönderilerek istenen yapı ayarlanabilmektedir.



Şekil 2.1 : Düzlemsel elektrotların üretim aşamaları

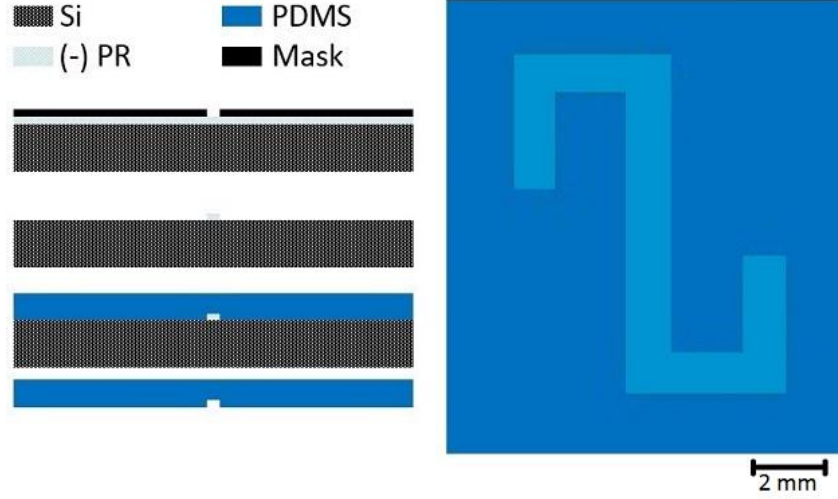
Sonrasında, 4 birim su 1 birim AZ400k developer karışımı içerisinde bir müddet bekletilerek altın kaplanmak istenen bölgelerdeki fotorezistin çözünmesi sağlanmıştır. Bundan sonra ise ince film kaplama metoduna geçilmiştir. Elektrotlar üretilirken kullanılan ince film kaplama yöntemi termal buharlaştırmadır (T.E.). Camın altına (Au) yapışması için yaklaşık 10-15 nm kalınlığında krom (Cr) veya titanyum (Ti) ile kaplanır. Biz bu amaç için krom kullandık. Daha sonra tüm yüzey 200 nm altın ile kaplanıp aseton içerisinde fotorezist olan kısımların çözülmesi sağlanır. Bu işlemlerin öncesinde ve sonrasında, yapışkanlığı artırmak için sıcak plakada bekletmek faydalı olmuştur. Bu işlemler sonucunda elektrotlar Resim 2.1'deki haliyle hazırdır.



Resim 2.1 : Düzlemsel elektrot



Şekil 2.2'deki gibi 100 µm derinliğe sahip, 1 mm kalınlıkta ve 9 mm uzunlukta PDMS kanal üretilir. Bu PDMS kullanılarak hazırlanan ISM kokteyli düzlemsel elektrotun ortadaki (-) kutbu üzerine kaplanmaktadır.

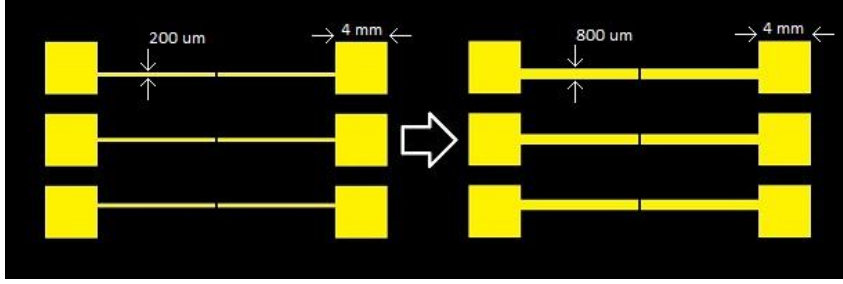


Şekil 2.2 : PDMS mikrokana1 üretimi

Mikrokana1lar silikon levha kullanılarak hazırlanmıştır. Öncelikle silikon levha üzerine 50 µm kalınlığında SU-8 2050 negatif fotorezist (-PR) kaplanır. Pozitif fotorezist işlemleri daha kolay ve daha ucuz olmasına rağmen, 50 µm gibi kalın sayılabilecek ve kalıcı yapılar için uygun değildir. Silikon ile SU-8 2050 fotorezistin birbirine yapışması için öncelikle silikon SU-8 2005 ile kaplanıp ardından SU-2050 fotorezist ile kaplanmıştır. Daha sonra ultraviyole ışığa maruz bırakılarak ışığın ulaşamadığı bölgeler aseton içerisinde çözünecek kıvama getirilmiştir. Sonrasında, aseton içerisinde bir müddet bekletilerek kana1 yapısı silikon üzerinde kalacak duruma getirilir. Sonrasında kana1 yapısına sahip silikon levha üzerine hava kabarcıkları vakumlanmış sıvı haldeki PDMS dökülür ve yaklaşık bir gece sıcak plaka üzerine bırakılarak PDMS in katı hale gelmesi sağlanır. Daha sonra, PDMS levha üzerinden kaldırılır ve her parçada bir kana1 olacak şekilde kesilir. Bu kana1 optik hizalama yöntemi ile ISM cihazının ortadaki elektrotu üzerine ayarlanır ve şırınga kullanılarak elektrot sıvı haldeki ISM kokteyli ile kaplanır. Yaklaşık bir gece bekledikten sonra ISM kokteyli kurumuş ve zar halini almıştır. Kana1 kaldırılır, ISM cihazı Resim 2.1'de görüldüğü gibi kullanıma hazırdır.

Eski cihaz tasarımı *Rana catesbeiana* (North American bullfrogs) cinsi kurbağalar için olumlu sonuçlar verdiği bilinmektedir [23]. Bu cins kurbağaların yurtdışından gelişi

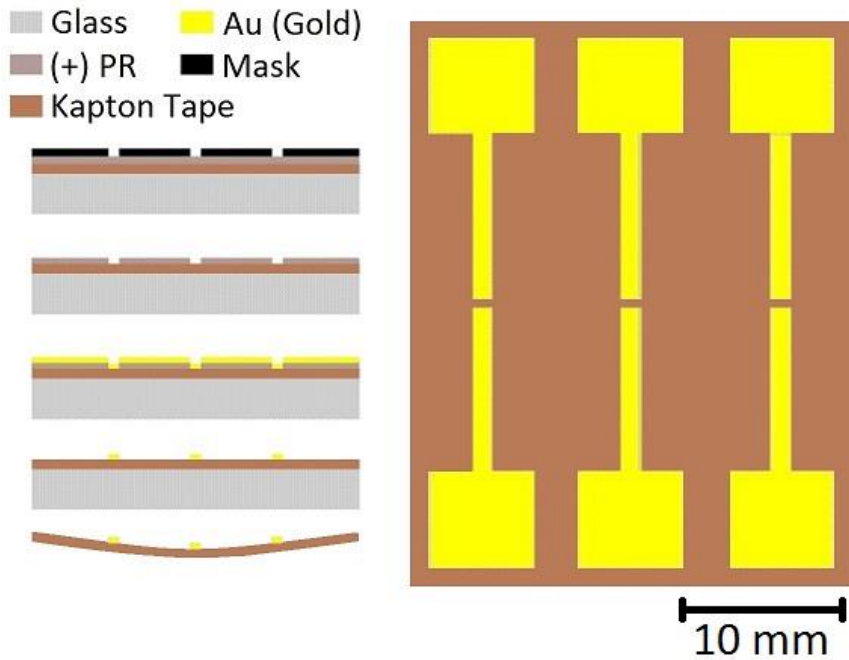
ile alakalı izin ve yetkisi bulunan firma olmadığı için yurtiçindeki Rana Ridibunda cinsi kurbağalarla deneyler yapıldı. Bu iki cins arasındaki en önemli fark ise büyüklükleridir. Rana catesbeiana (North American bullfrogs) cinsi kurbağalar 10-15 cm ve 500-800 gram iken Rana Ridibunda cinsi kurbağalar 5-7 cm ve 150-200 gramdır. Bu ise siyatik sinir kalınlığı ve direkt olarak temas yüzeyini etkilemektedir. Bu fark gözetilerek tasarımı Şekil 2.3'te görüldüğü gibi elektrot kalınlıklarını 200  $\mu\text{m}$ 'den 800  $\mu\text{m}$ 'ye çıkartılacak şekilde değiştirildi ve üretimi yapıldı.



Şekil 2.3 : Eski ve yeni elektrot tasarımları

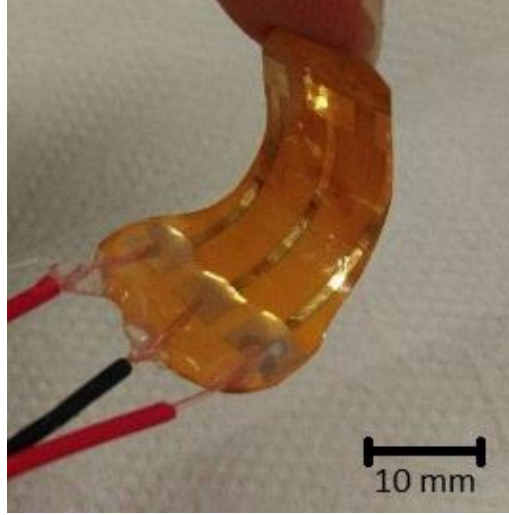
### 2.1.2 Esnek elektrot üretimi

Esnek elektrot üretimi aşamaları 2.1.1. başlığındaki üretim kısmında anlatılan düzlemsel elektrot üretimiyle aynı prosedüre sahiptir. Aradaki tek fark cam üzerine termal bant yapıştırılıp termal bant üzerine işlemler yapılmaktadır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 : Esnek elektrot üretimi

Termal bant yapıştırıldıktan sonra diğer prosedürler tamamlanmakta ve hazır hale geldikten sonra termal bant sökölüp bir A-4 kağıdı üzerine yapıştırılmaktadır. Böylece elektrotumuz esnek hale gelmektedir. Üretilen esnek elektrotumuz Resim 2.2’de görölmektedir. Görölen 3 kutuplu esnek elektrot *in-vivo* deneylerde uyarım için kullanılmaktadır.



Resim 2.2 : Esnek elektrot

### 2.1.3 ISM kokteylinin hazırlanması

Ortakdaki elektrot üzerinde İyon Seçici Membran (ISM) kaplanarak istenilen bir iyonun hücre dışı sıvıdaki konsantrasyonunu değiştirmek amaçlanmaktadır ve bu iyon konsantrasyonu değişimi sayesinde Aksiyon Potansiyeli oluşturmak için gerekli eşik değeri düşürölmektedir.

Ayrıca iyon seçici kokteyl hazırlanıp elektrotların üzeri kaplanmıştır. İyon seçici kokteyl hazırlama yöntemi oturmuştur ancak bazı dezavantajlardan kurtulmak için yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bu dezavantajlardan en önemlisi İyon Seçici Membranın elektrot üzerine kaplandıktan sonra kısa bir süre içerisinde kuruması ve bunun sonucunda elektriksel iletiminin düşmesi bu konu üzerine çalışma yapılmasını gerekli kılmıştır. İyon seçici kokteyl içerisindeki ionophore, iyonun bağ kuracağı kompleks kimyasal yapıyı içermektedir. İçerisinde ionophore bulunmadığı durumda kokteylin direncinin yeterince düşük olması gerekmektedir ki sinirin uyarılmasında eşik değerini etkileyip yükseltmesin. Bunu sağlayabilmek için kokteyl içerisinde bulunan çözünen ve çözücü kimyasalların miktarları değiştirilip I-V testleri yapılarak

ortalama elektriksel dirençleri hesaplanmıştır (Çizelge 2.1). Bu direnç değerleri sonucunda kokteyle içerisindeki tuz (NaTPB) miktarının artırılmasına karar verilip yeni kokteyl hazırlanmıştır. Sonuç olarak, esnek elektrotların üzerine kaplanan 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. Siklaheksanon içerisinde diğer kimyasallar çözüldükten sonra elektrotlar ISM kokteyli ile kaplandı ve iyon seçici özellikleri kullanıldı.

Çizelge 2.1 : İyon seçici kokteyl içeriğinin elektriksel iletkenliğe etkisi

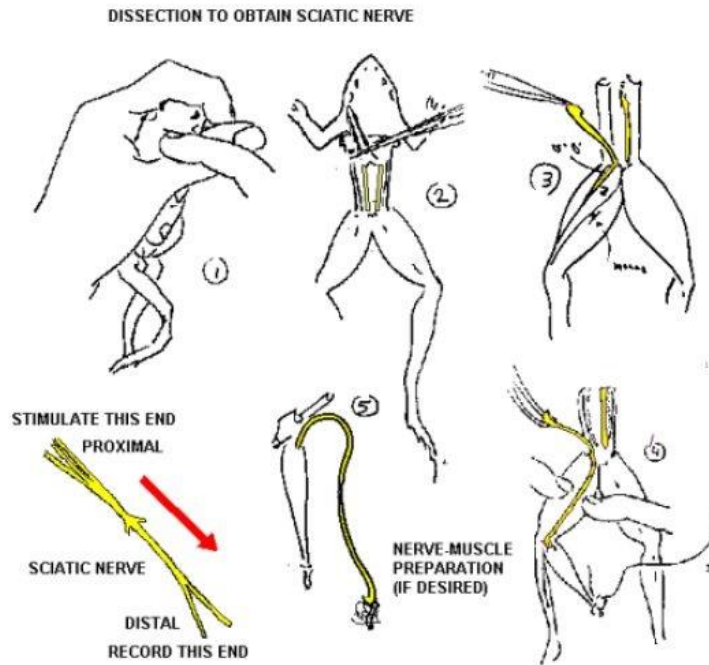
İçerik değişikliği	Solüsyon	Ortalama Direnç (MΩ)
1/2 PVC	Solution 1	2.31 ± 0.8
Normal [23]	Solution 2	5.20 ± 1.0
5 PVC	Solution 3	1.90 ± 0.7
1.5 PVC	Solution 4	6.30 ± 1.4
No ether	Solution 5	156.00
1/2 ether	Solution 6	14.53 ± 9.1
1.5 ether	Solution 7	5.30 ± 0.4
No NaTPB	Solution 8	4166.00
1/2 NaTPB	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 hazırlanması

Bu çalışma boyunca yapılan tüm hayvan deneyleri etik kurul onayı ile etik kurallar çerçevesinde gerçekleştirilmiştir. Deneyleri gerçekleştiren araştırmacılar, deneyleri yapmadan önce gerekli eğitimleri alıp “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” sahibi olmuşlardır. Araştırmacılar bu sertifikayı Ankara Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi tarafından sağlanan yaklaşık 1 aylık teorik ve uygulamalı eğitim ve bu eğitimle alakalı final sınavı sonrasında almaya hak kazanmışlardır. Deney hayvanları hazırlanırken iki farklı yöntem kullanılmıştır. Çünkü bu çalışma boyunca hem *in-vitro* hem de *in-vivo* deneyler yapılmıştır.

### 2.2.1 In-vitro

*In-vitro* deneyler için *Rana Ridibunda* cinsi kurbağaya öncelikle yüksek dozda uyuşturucu ilaç verilerek ötenazi uygulanır. Daha sonra siyatik sinir ve gastrocnemius kası disseke edilerek deney düzeneğine alınır. *In-vitro* deneylerde Şekil 2.5’teki gibi siyatik sinir ve gastrocnemius kası vücuttan tamamen ayrılarak deney düzeneğine dahil edilir.



Şekil 2.5 : Disseksiyon

Vücuttan ayrılmasından dolayı hızlıca bozulmasını engellemek amacıyla deneyin aktif bir biçimde yapılmadığı zamanlarda canlı ortamına benzer iyon konsantrasyonuna

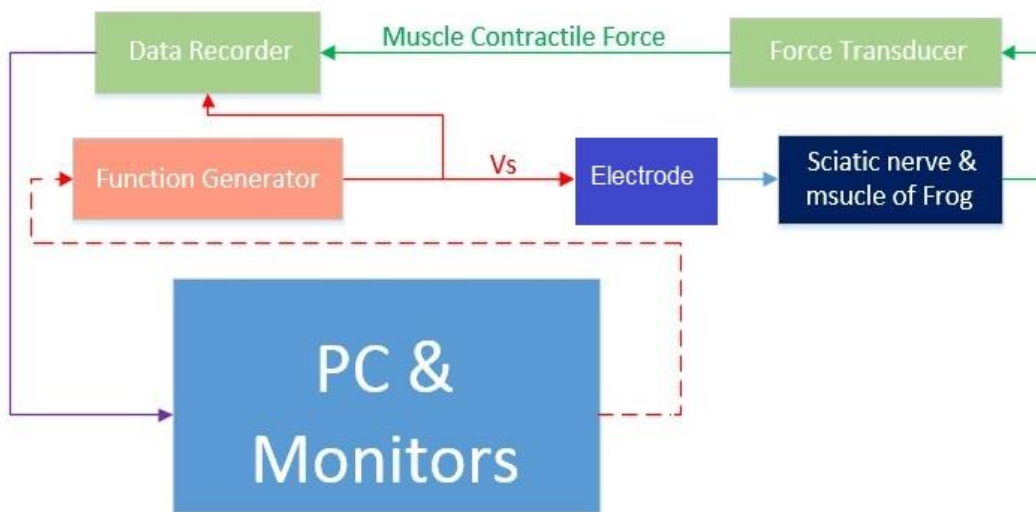
sahip Ringer çözeltisinin içinde bekletilir. Bu sayede *in-vitro* deneylerde deney süresince sinir ve kasın ortamı deney sonuçlarını etkilemeyecek şekilde sabit tutulur.

### 2.2.2 In-vivo

*In-vivo* deneyler için *Rana Ridibunda* cinsi kurbağaya öncelikle büyüklüğüne ve ağırlığına göre uygun dozda (0.3-0.5 ml) uyuşturucu ilaç verilerek deney hayvanının iyice uyuşması sağlanır. Daha sonra siyatik sinir uyluğun dorsal yüzeyinden kas dokusu ayrılarak çıkarılır. Gastrocnemius kası force transducer a bağlanacak şekilde ayrılır ve hayvan deney düzeneğine alınır. *In-vitro* deneylerde siyatik sinir ve gastrocnemius kası vücuttan ayrılmadan deney düzeneğine vücutla beraber dahil edilir.

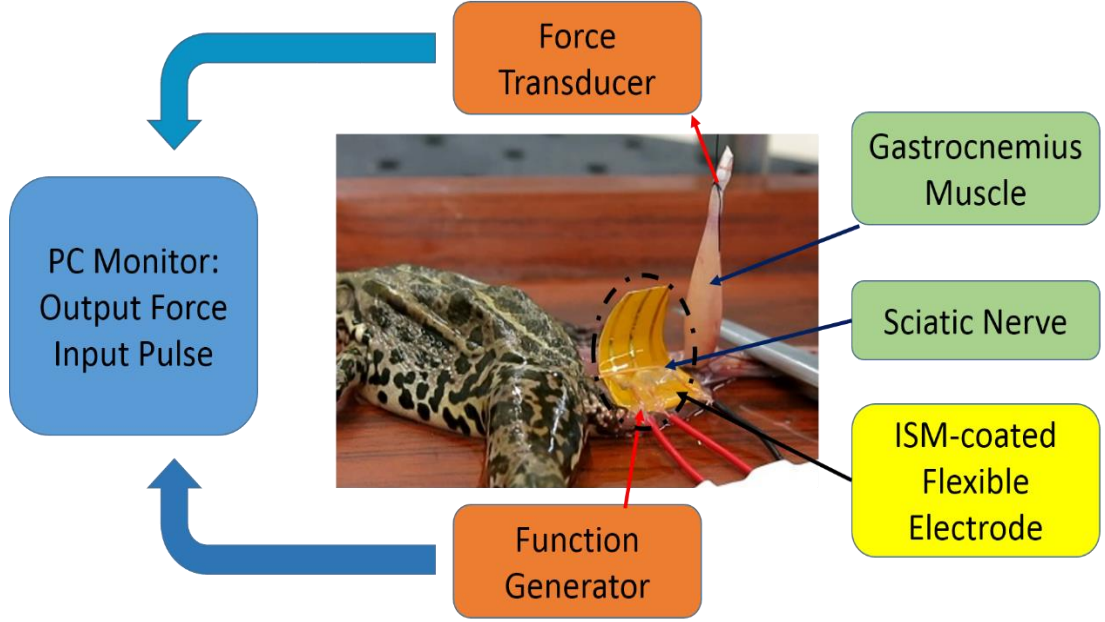
### 2.3 Deney düzeneği

Deney düzeneğinin bağlantıları Şekil 2.6'da verilmiş olan blok diyagramdaki gibidir. Kası uyarmak için Function Generator'den AC sinyaller (uyartılar) gönderilmektedir. Uyarı gönderilen siyatik sinir gastrocnemius kasını uyarır ve hareket ettirir. Bu hareket sonucunda ise force transducer'da gerilim oluşur. Force transducer oluşan bu gerilimleri elektronik sinyallere dönüştürerek Data Recorder sayesinde bilgisayar ekranında birer çıktı olarak görmemizi sağlar. Bu şekilde gönderilen uyartılar ve kas tepkileri eş zamanlı olarak gözlemlenebilir.



Şekil 2.6 : Deney düzeneğinin blok diyagramı

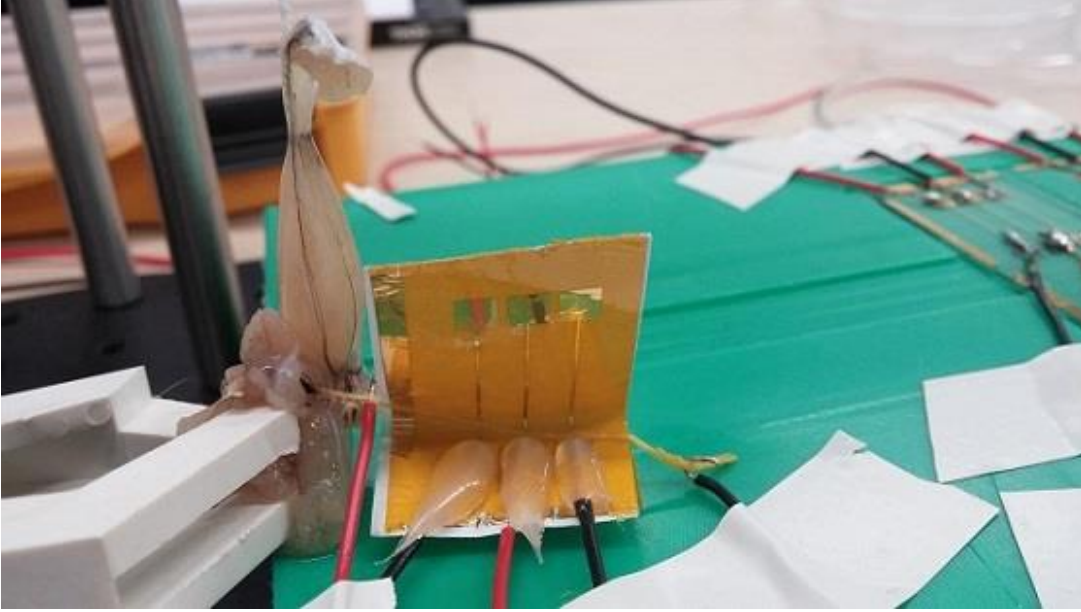
Şekil 2.7'deki gibi gastrocnemius kasının ucu ip ile force transducer'a bağlandı. Labscribe veri kazanım yazılımını kullanarak sinire gönderilen uyarıyı ve force transducer'dan gelen kastaki kasılma sinyalleri kaydedildi.



Şekil 2.7 : Deney düzeneği

### 2.3.1 Aksiyon potansiyeli ölçümü

Resim 2.3'te görüldüğü üzere esnek elektrot kullanılarak uyarım yapılmaktadır. Esnek elektrotun iki yanında bulunan kablolar birleşik aksiyon potansiyelini gözlemlemek için 500 MHz'lik yüksek frekanslı ölçüm yapabilen Agilent DSO6054A osiloskopa bağlanmıştır. Sinirin başlangıç noktasına referans elektrotu, kasa yakın yere ise ölçüm elektrotu bağlanmıştır. Sürekli uyarım yapılırken, uyarı akımı ve kas kasılmasının ölçümü bilgisayar ekranında görülmektedir. Bu sırada osiloskop ekran görüntüleri de kaydedilip 1 saniyelik aralıklarla siyatik sinirde uyarı sonucu oluşan birleşik aksiyon potansiyeli gözlemlenmiştir. Cihaz kapasitesinin yeterli olduğu ölçüde aksiyon potansiyeli deneyleri yapılmış ve dürtülerin oluşturduğu aksiyon potansiyeller gözlemlenmiştir. Aksiyon potansiyelini gözlemlemek için kullanılan bu metot literatürde direkt metot olarak geçmektedir. Bu çalışmada bu metot sadece aksiyon potansiyelinin direkt metot kullanılarak da gözlemlenebildiğini göstermek için kullanılmış olup, diğer tüm deneylerde indirekt metot kullanılarak aksiyon potansiyeli oluşumu gözlemlenmiştir.



Resim 2.3 : Aksiyon potansiyeli ölçümü deney düzeneği

### 2.3.2 Eşik değerinin belirlenmesi

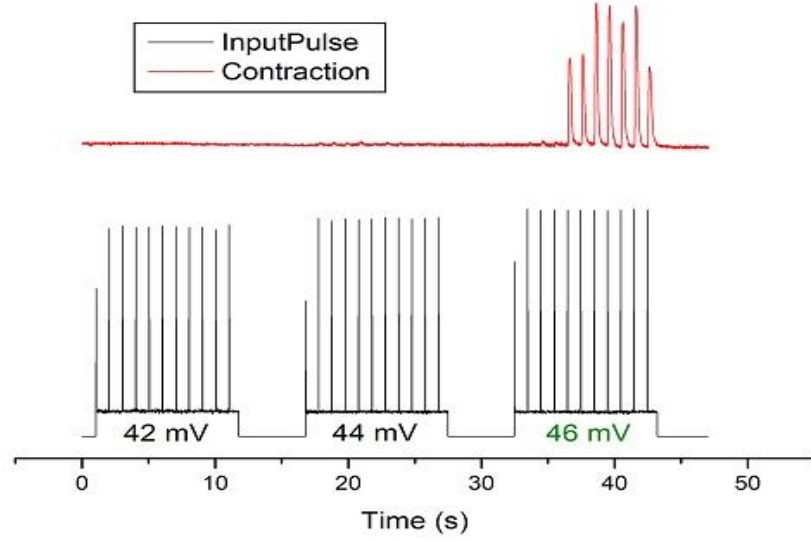
Eşik değerinin belirlenmesinde ise uyarım verilerek aksiyon potansiyeli oluşup oluşmadığına bakılmıştır. Eşik değeri belirlenirken aksiyon potansiyeli ölçümünde indirekt metot kullanılmıştır. İndirekt metotta oluşan aksiyon potansiyeli doğrudan sinir üzerinden ölçülmez. Bunun yerine uyarılan sinirin bağlı olduğu kasın kasılma miktarı ölçülür. Eğer sinirin bağlı olduğu kasta kasılma oluşuyorsa, aksiyon potansiyeli oluşmuş ve bu kasa iletilmiş demektir, kasılma oluşmamışsa aksiyon potansiyeli de oluşmamıştır.

Eşik değerini belirlemek için, siyatik sinire Agilent 33220A fonksiyon jeneratörü kullanılarak dürtü treni formunda elektrik potansiyeli uygulanmıştır. Her bir dürtü arasında 1 saniyelik boşluk olacak ve her bir dürtü genişliği 1 ms olacak şekilde 10 dürtü ve 5 saniye dinlenme şeklinde dürtü treni üretilmiştir. Aralıksız gelen 10 dürtünün genliği aynı kalır ve 5 saniyelik ara sonrası dürtü genliği artırılır. Başlangıçta siyatik sinir uyarılamayacak kadar düşük genlikteki dürtülerle uyarılmaya başlanılır. Dürtü genliği yavaş artırılır, ne zaman ki yaklaşık olarak her dürtüde bir kasılma ölçülür, eşik değeri olarak kasılmayı gerçekleştirebilen ilk dürtünün genliği alınır. Bu şekilde deney hangi şartlarla yapılmışsa, o şartlar için eşik değeri gözlemlenmiş olur. Bu çalışmada dürtü genliği karşılaştırması yapılırken her deney için eşik değeri her



deney içerisinde normalize edilmiştir ve değiştirilen parametrenin eşik değerine etkisi gözlemlenmiştir.

Örneğin Şekil 2.8’de uyarı siyatik sinire verilmiş ve gastrocnemius kasındaki kasılma ölçülmüştür. Dürtü genliği 2’şer mV artırılmış ve kasılmanın başladığı uyarı genliği eşik değeri olarak kaydedilmiştir.



Şekil 2.8 : Örnek eşik değeri deneyi sonucu



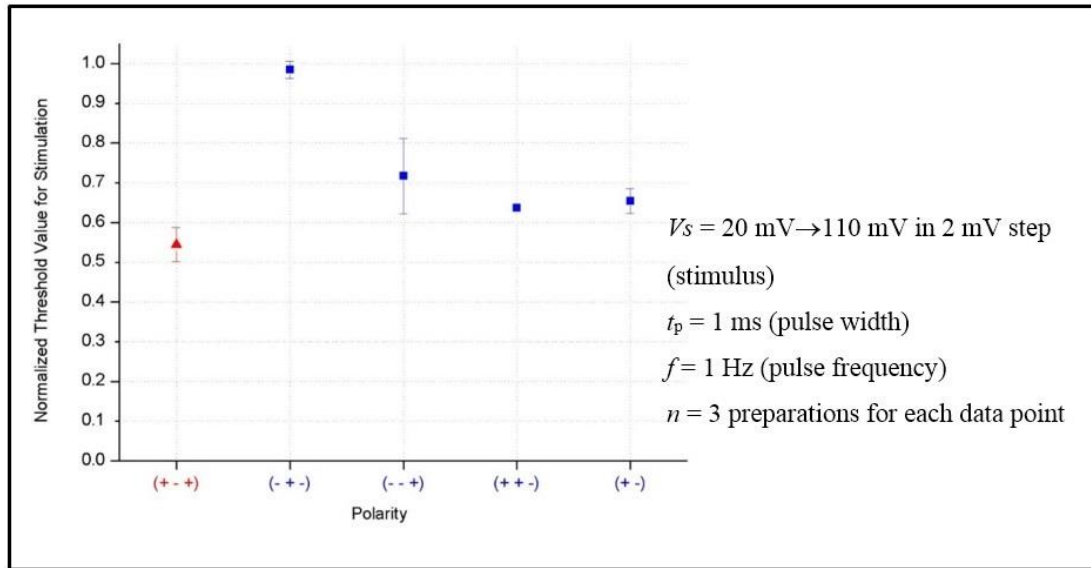
### 3. DENEYSEL SONUÇLAR

#### 3.1 Elektriksel Uyarım Deneyleri

Kontrol deneylerimizde amaç elektriksel uyarım sırasında fark oluşturabilecek tüm parametrelerin etkisini gözlemlemek ve buna göre ana deneylerimizi yapmaktır. Bu deneyler tekrarlı olarak yapıldıktan sonra ortalama eşik değerleri, her bir kontrol deneyi için normalize edilerek karşılaştırıldı. Kontrol deneyleri sonucunda parametrenin etkisine göre ana deneylerde bu parametreler sabit tutulmuştur.

##### 3.1.1 Tripolar elektrotun polaritesi

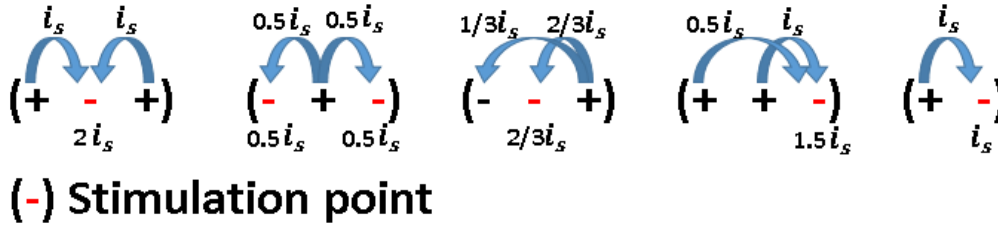
Bu deneyde elektrotların polaritelerinin uyarım eşik değeri üzerindeki etkisi incelendi. Polariteler karşılaştırıldığında en düşük eşik değerine sahip polarite (+ - +) olarak görülmektedir. En yüksek eşik değeri ise (- + -) polarite düzeninde olmaktadır (Şekil 3.1). Bilindiği üzere uyarım için sinir hücresi zarı üzerindeki  $V_m$  ( $V_{in}-V_{out}$ ) potansiyelini artırmamız gerekmektedir.  $V_{out}$  noktasına (-) yük verdiğimizde  $V_m$  ( $V_{in}-V_{out}$ ) artıyor ve böylece uyarım sağlanabilmektedir.



Şekil 3.1 : Polarite deney sonuçları

Dolayısıyla uyarım (-) noktasından olmaktadır. (+) kutuptan gelen akımı (-) kutup konumuna bağlı olarak yakın olduğunda akımı uzak olduğu duruma göre iki kat çekebilmektedir.

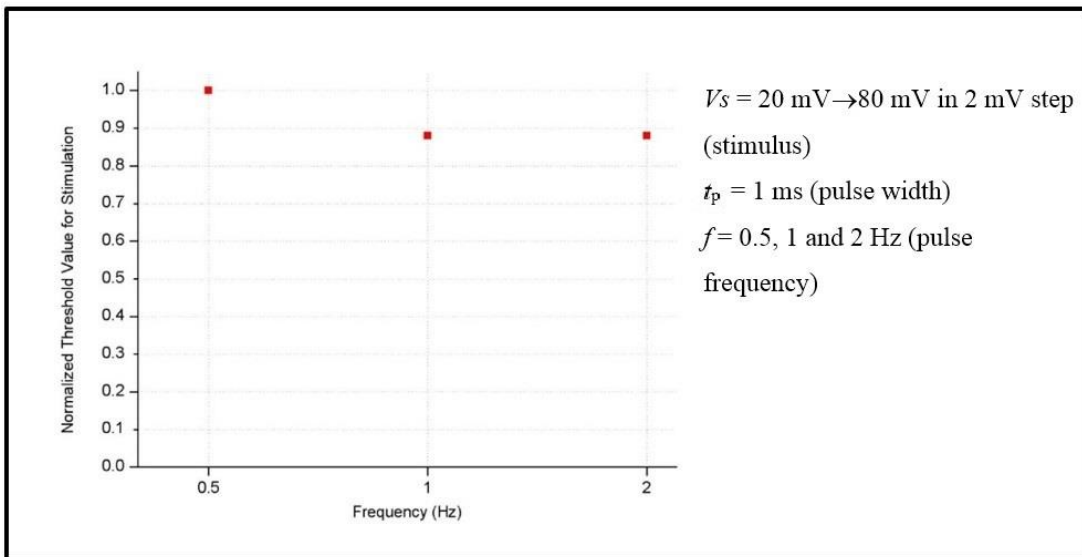
Polarite kombinasyonlarından (+ - +) düzeninde  $V_m$ 'e bir (-) kutubundan en yüksek akım ( $2i_s$ ) verilmiş olmaktadır. Şekil 3.2'de görüldüğü üzere, diğer kutuplar içinse; (- + -)  $0.5i_s$ , (- - +)  $0.67i_s$ , (+ + -)  $1.5i_s$  ve (+ - -)  $i_s$  akımı ile uyarım gerçekleşti ve eşik değerleri de bu akımlara orantılı çıktı. En düşük eşik değerine sahip polarite düzeni olan (+ - +)' da eşik değeri, en yüksek eşik değerine sahip (- + -) polarite düzenine göre yaklaşık % 40-50 daha düşük çıkmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3.2 : Uyarım noktasındaki akım

### 3.1.2 Uyarım dürtü frekansı

Bu deneyde uyarıma frekansın etkisini gözlemlendi. Deney sonucunda optimum frekansın 1 Hz olduğu gözlemlendi (Şekil 3.3).

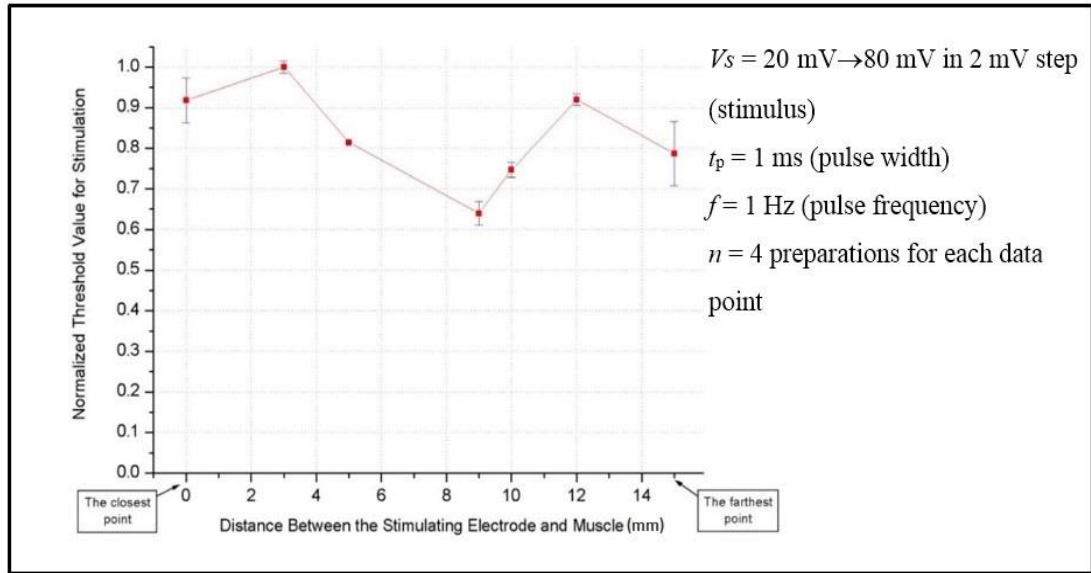


Şekil 3.3 : Dürtü frekansı sonuçları

Daha düşük frekanslarda eşik değeri daha yüksek çıkmakta, daha yüksek frekanslarda ise uyarılan kas diğer dürtü gelene kadar tam olarak gevşeyemediği için uzun süren deneylerde kasın hızlı yorulmasına ve ölmesine neden olacağı öngörülmektedir. Bu problem ise bir deney hayvanı ile yapılabilecek deney süresini kısaltacak olduğu için frekans için uygun değer 1 Hz olduğu görüldü ve deneylere bu frekansla devam edildi.

### 3.1.3 Elektrotun sinir üzerindeki konumu

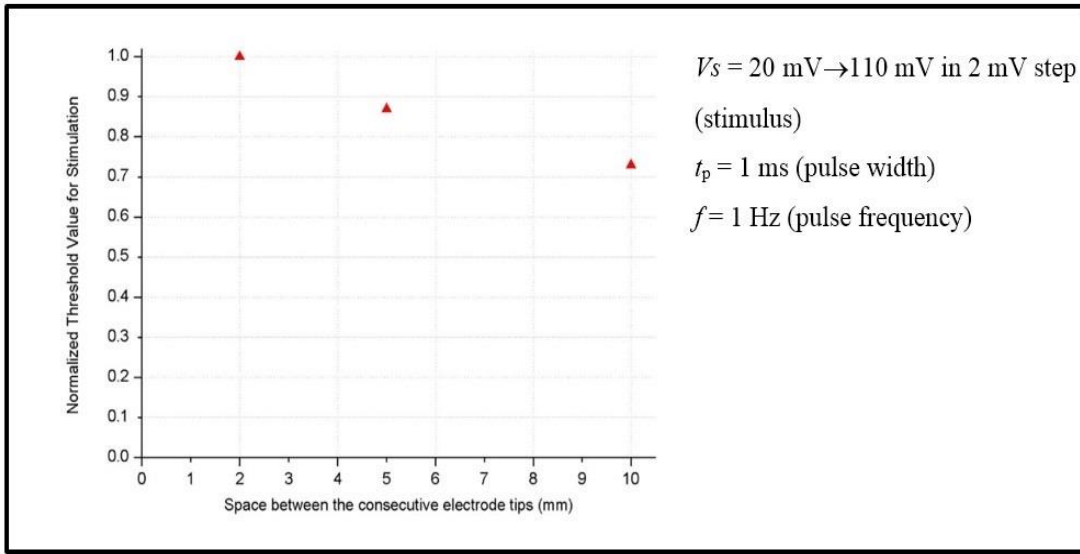
Uyarım noktasının eşik değerine etkisini görmek için elektrot siyatik sinir üzerinde farklı noktalara yerleştirilerek eşik değerleri ölçüldü. Deney sonucunda çıkarılan sonuç şu olmuştur: Sinir üzerindeki uyarım noktası eşik değerine etki etmektedir (Şekil 3.4). Fakat bu etkinin konuyla tam olarak nasıl bir ilişkiye sahip olduğu saptanamamıştır. Buradan hareketle, karşılaştırma yapılan tüm deneylerde elektrotun sinir üzerindeki konumu sabit tutulmalıdır, aksi takdirde rastgele sonuçlar alınabilir. Bu kontrol deneyi sonucunda mekanizmayla alakalı kesin bir yargıya varılmamasına karşın, çıkarılan sonuç, deney sonuçlarının güvenilirliği açısından çok önemlidir.



Şekil 3.4 : Uyarım konumu deney sonuçları

### 3.1.4 Elektrot kutupları arasındaki mesafe

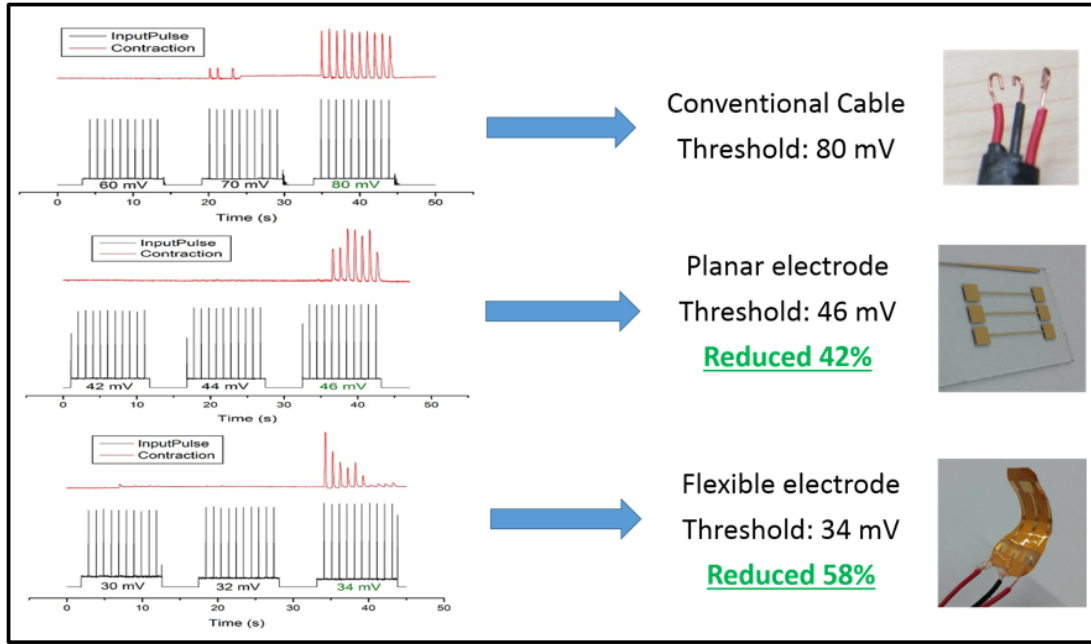
Bu deneydeki amacımız kullanılan tripolar elektrotun (+ - +) uçları arasındaki mesafenin eşik değeri üzerindeki etkisini incelemektir. Deneyde, üretim zorluklarından dolayı tripolar uçlar yerine kablolar kullanılmıştır. Deney sonucunda elektrot kutupları arasındaki mesafe arttıkça eşik değerinin düştüğü görüldü (Şekil 3.5). Fakat kutuplar arası mesafe arttıkça threshold düşmesine rağmen uyarılan bölge genişlediği için elektrot, siyatik sinir uzunluğunu aşmaktadır ve böylece deney yapmak zorlaşmaktadır. Bu sonuca dayanarak kutuplar arası mesafe 5 mm de sabitlenmiştir.



Şekil 3.5 : Elektrot kutupları arası mesafe deneyi sonuçları

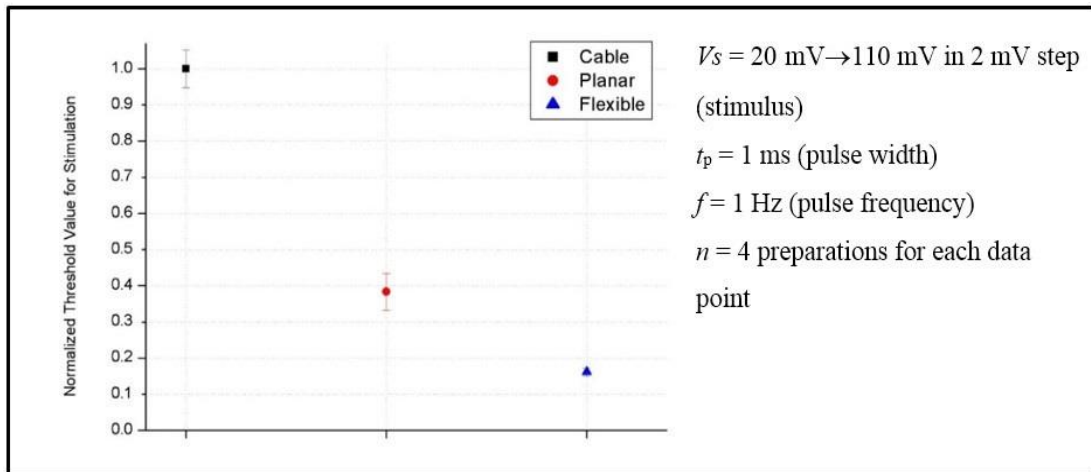
### 3.1.5 Temas yüzeyi deneyleri

Elektriksel uyarım yaparken eşik değerini düşürmek için önerdiğimiz yöntem temas yüzeyini artırmaktır. Bu hipotezi test etmek amacıyla yapılan deneylerde, uyarım elektrotunun cinsi değiştirilerek eşik değeri ölçümü yapıldı. Şekil 3.6'da örnek bir sonuç görülmektedir. Bu deneyde üç farklı elektrotla eşik değeri ölçülmüş ve bu değerler karşılaştırılmıştır. Bu elektrotlar arasındaki en önemli fark sinirle aralarındaki temas yüzeyidir. Bu sonuca göre temas yüzeyinin artırılmasının eşik değerini ciddi oranda düşürdüğü görülmüştür.



Şekil 3.6 : Örnek temas yüzeyi deneyi sonucu

Bu deneyin sonucunda temas yüzeyinin etkisini net bir yargıya bağlamak için tekrarlarında da anlamlı sonuçlar çıkması gerekmektedir. Bu sonuca varabilmek için tekrarlanan deney istatistiksel sonuçları Şekil 3.7’de gösterilmektedir.



Şekil 3.7 : Temas yüzeyi deney sonuçları

Mikrofabrikasyon yöntemiyle üretilen esnek elektrot, düzlemsel elektrot (cam yüzey üzerine) ve klasik kablo ile uyarım eşik Değerleri karşılaştırıldı. Deney sonuçlarına göre en verimli olan elektrot cinsinin esnek elektrot olduğu görüldü. Düzlemsel elektrot ve kablo karşılaştırıldığında düzlemsel elektrot kabloya göre eşik değerinde yaklaşık 55-65% bir düşüş sağlamaktadır. Bunun sebebi düzlemsel elektrotun kabloya göre

sinirle temas için daha geniş yüzey alanı sağlaması ve kablonun kontrolünün zor olmasıdır. Esnek elektrot ve düzlemsel elektrot karşılaştırıldığında esnek elektrotun klasik kabloya göre eşik değerinde 85-95% oranında bir düşüş sağlamaktadır. Bunun sebebi esnek elektrotun sinirin etrafını sararak düzlemsel elektrota daha geniş temas yüzeyi sağlamasıdır. Ayrıca siniri sarabilmesi implant edilebilecek bir ürün adına daha ümit vericidir.

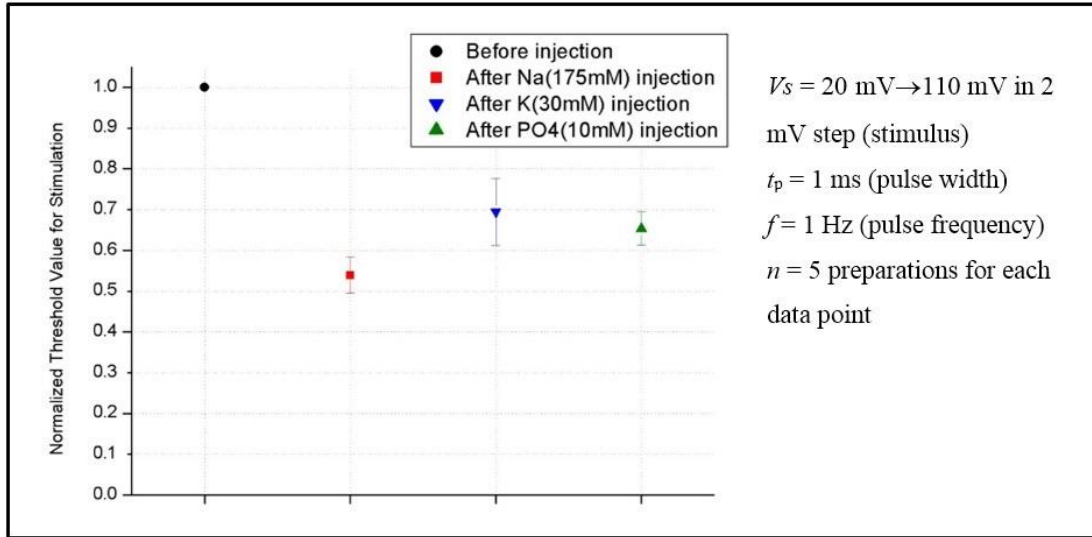
### **3.2 Elektrokimyasal Uyarım Deneyleri**

Elektriksel uyarım deneylerinde eşik değerini mümkün olduğunca düşürmek için temas yüzeyi artırıldı ve eşik değerine etki edebilecek parametreler için kontrol deneyleri yapıldı. Elektrokimyasal uyarım deneylerinde ise aksiyon potansiyeli oluşumu ve iletiminde iyonların etki ve görevleri göz önünde bulundurularak iyon konsantrasyonu değişimlerinin uyarıma etkileri gözlemlendi. Öncelikle iyonların etkilerini görmek için hücre dışı sıvısındaki iyon konsantrasyonlarını artıracak veya azaltacak çözeltiler enjekte edilerek deneyler yapıldı. Sonrasında ise elektrot, iyon seçici membran (ISM) ile kaplanarak deneyler yapıldı. Böylece klasik elektriksel uyarım değil, iyon konsantrasyonlarına etki edildiği için, elektrokimyasal uyarım yapılmış oldu.

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

Aksiyon potansiyeli oluşumunda iyonların etkisini gözlemlemek için sinire elle iyon enjeksiyonu yapıldı. Bu deney ISM kaplı elektrotla yaptığımız ana deneyler öncesinde her bir iyonun Eşik Değerine etkisinden emin olmak için yapıldı. Deneyler için ayrı ayrı Sodyum ( $\text{Na}^+$ ) ve Potasyum ( $\text{K}^+$ ) enjekte edilerek hücre dışı sıvısındaki  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  iyon konsantrasyonları artırılırken Fosfat ( $\text{PO}_4^{2-}$ ) enjekte edilerek hücre dışı sıvısındaki  $\text{Ca}^{2+}$  iyon konsantrasyonu ise düşürüldü.  $\text{PO}_4^{2-}$  enjekte edilmesinin sebebi ise  $\text{PO}_4^{2-}$ 'ün ortamda öncelikle  $\text{Ca}^{2+}$  ile bağ kurması ve  $\text{CaPO}_4$ 'nin çözünürlüğü düşük olduğu için çökmesidir. Bu sayede hücre dışı sıvısındaki  $\text{Ca}^{2+}$  iyon konsantrasyonu düşürülmüştür. Bu üç farklı durum için sonuçlar Şekil 22'deki gibi görülmüştür. Üç durumda da eşik değerinin düştüğü görülmüştür (Şekil 3.8).





Şekil 3.8 : İyon enjeksiyon deney sonuçları

Bu deney sırasında enjekte edilecek iyonların konsantrasyonları Çizelge 3.1'e göre belirlenmiştir. Ortamda bulunan konsantrasyonlardan biraz fazlası enjekte edilerek deneyler gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1 : Hücre içi ve hücre dışı iyon konsantrasyonları

Outside K <sup>+</sup> (mM)	Outside Na <sup>+</sup> (mM)	Outside Cl <sup>-</sup> (mM)	V <sub>m</sub> (mV)	ΔV <sub>m</sub> (mV)
4	145	123	-74	0
24 (↑)	145	123	-50	24
4	165 (↑)	123	-72	2
4	145	103 (↓)	-73	1

Çizelge 3.1'e göre siyatik sinirde hücre dışı sıvısındaki Na<sup>+</sup> konsantrasyonu 145 mM değerindedir ve hücre içi sıvısına göre daha yüksek konsantrasyondadır. Uyarım sırasında aksiyon potansiyelinin oluşabilmesi için içeri Na<sup>+</sup> akışı olması gerekir. Hücre dışı sıvısındaki konsantrasyonu 175 mM lık Na<sup>+</sup> çözeltisi enjekte ederek artırdığımızda V<sub>m</sub>'i artırmış oluyoruz. Böylece eşik değerine ulaşmak ve uyarım kolaylaşmış oluyor ve eşik değeri 40-50% oranında düşüyor. Çizelge 3.1'e göre hücre dışı sıvısındaki K<sup>+</sup> (Potasyum) konsantrasyonu 4 mM değerindedir ve hücre içi sıvısına göre daha düşük konsantrasyondadır. Hücre dışı sıvısındaki potasyum konsantrasyonunu 30 mM'lık K<sup>+</sup> çözeltisi enjekte ederek artırdığımızda V<sub>m</sub>'i artırmış oluyoruz, böylece Eşik Değerine ulaşmak ve uyarım kolaylaşmış oluyor ve eşik değeri 20-40% oranında düşüyor. PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> iyonu ise Ca<sup>+2</sup> iyonu ile bağ yapıp çökeltilmektedir. Ca<sup>2+</sup> iyonları voltaj-kapılı Na<sup>+</sup>

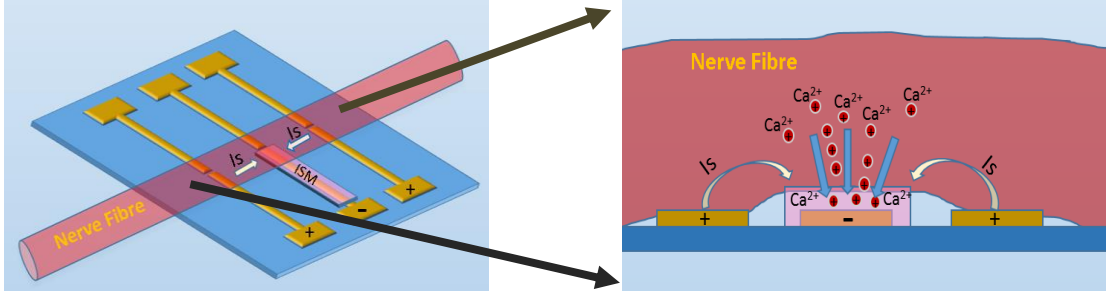
kanallarını tıkeyıp uyarım esnasında dış ortamdan iç ortama Na<sup>+</sup> iyon akışını azaltmaktadır. Başka bir deyişle uyarımı zorlaşmaktadır. Sinir hücresi dış ortamına 10 mM'lık PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> çözeltilisi enjekte edildiğinde bu iyonlar Ca<sup>2+</sup> iyonlarını çökertmiş oluyor ve böylece Na<sup>+</sup> voltaj kapılı kanallardan içeriye daha rahat girebiliyor. Bu sayede dolaylı olarak uyarım daha kolaylaştırılmaktadır ve eşik değeri % 30-40 oranında düştüğü gözlemlenmiştir.

### 3.2.2 Ca<sup>2+</sup>-ISM ile uyarım deneyi

İyon Seçici Membran (ISM) hazırlanırken yapılan deneyler sonucu kokteyl içeriği değiştirilmiştir. Hazırlanan yeni ISM kokteylinde diğer kimyasalların miktarları aynı kalırken tuz (NaTPB) miktarı artırılmıştır. Buna ek olarak ISM kuruduktan sonra iyon seçebilme özelliğini korumasına rağmen elektriksel iletkenliği çok düştüğü gözlemlenmiştir. Bu gözlem sonucunda ISM'in elektrot üzerine kaplandıktan sonra çok fazla zaman geçmeden deneylerin yapılmasına karar verilmiştir. Kurumadan dolayı iyon geçirgenliğinin düşmesi iyon seçici zarlar için bilinen ve literatürde de bulunan bir problemdir. Bu problem üzerine çalışmalar devam etmektedir.

Tuz oranı arttırıldıktan sonra amaçlanan sonuç yalın elektrot ve üzerinde içerisinde ionophore bulunmayan iyon seçici kokteyl kaplanmış elektrotun uyarım değerlerinin aynı çıkmasıdır. Başka bir deyişle iyon seçici kokteylin elektriksel direncinin uyarıma, dikkate alınması gerekecek ölçüde, etkisinin bulunmamasıdır. Yapılan deneyler sonucunda Çizelge 2.1'deki Solution 23 kaplı elektrot ve yalın elektrotların ortalama uyarım eşik değerleri sırasıyla 30.4 mV ve 30.4 mV çıkmıştır. Tuz (NaTPB) miktarının 10 katına çıkması sonucu uyarım eşik değerine etkisi yok edilmiştir. Bu sonuca dayanarak kullanılan İyon Seçici Membranda (ISM) tuz (NaTPB) miktarı 10 katına çıkarılmış ve *in-vivo* ortamda deneyler yapılmıştır.

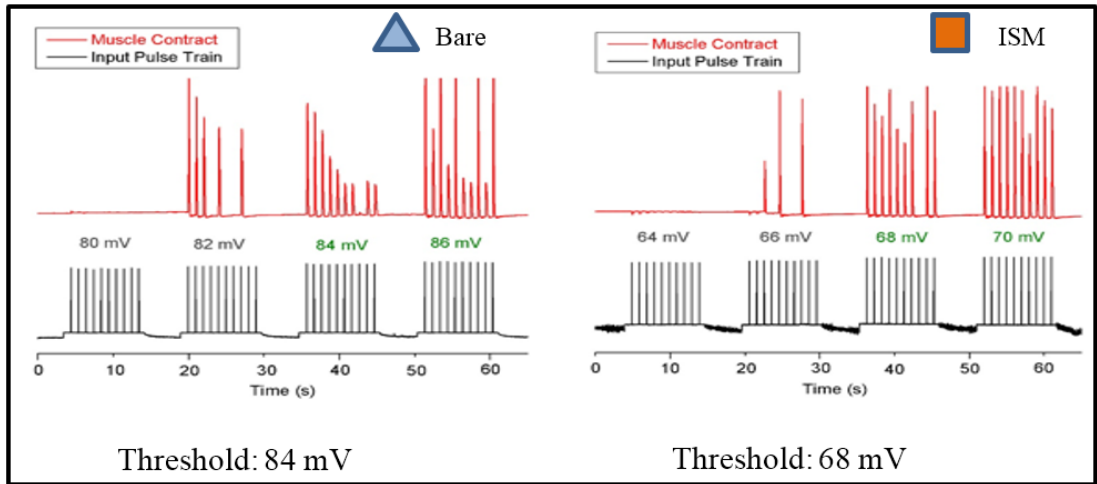
Enjeksiyon deneylerinin sonucunda iyonların etkisi görüldükten sonra iyon konsantrasyonu değişimini uyarım sırasında otomatik gerçekleştirmek için elektrot ISM ile kaplandı. Elektrotun bir kutubu ISM ile kaplanarak uyarım için verilen dürtüler sırasında istenen bir iyonun hücre dışı sıvısından ISM üzerine çekilmesi sağlandı. ISM'in istenen iyonu seçmesi ise, şekil 3.9'da gösterildiği üzere uyarı akımı verilirken elektrot polaritelerine göre iyonlar hareket etmek istemesi ve ISM'in iyon seçiciliği sayesinde sadece bir iyon ISM üzerine geçmesiyle sağlanır.



Şekil 3.9 : ISM'in  $Ca^{2+}$  çekmesi

Bu mekanizma sayesinde uyarım esnasında hücre dışı sıvısındaki iyonları ISM üzerine çekerek konsantrasyonu otomatik olarak değiştirmiş oluyoruz.

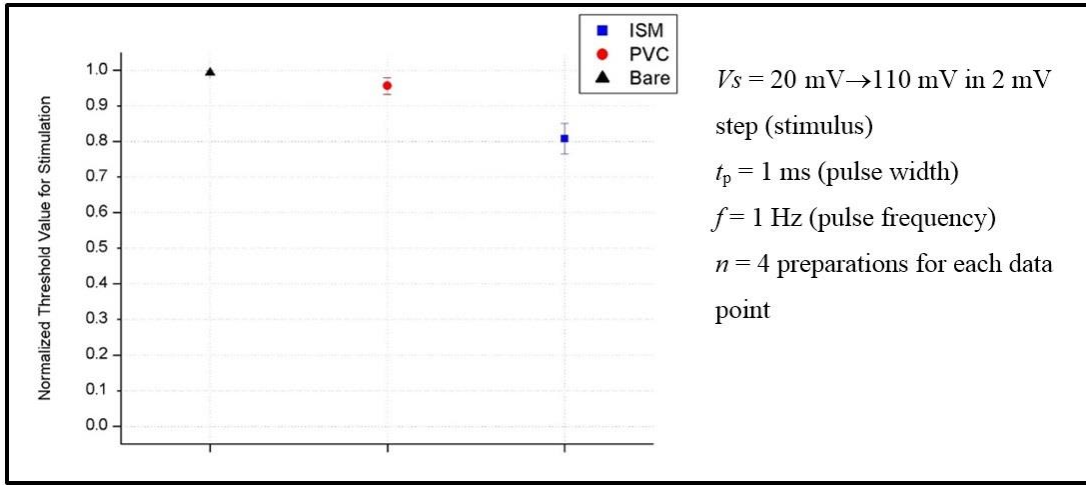
Enjeksiyon deneylerinden alınan sonuçlara göre ISM üzerine iyon çekmek, ISM üzerinden iyon göndermeye kıyasla daha kolay olduğu için  $Ca^{2+}$  seçici ISM kullanarak deneyleri sürdürdük. Böylelikle uyarım akımı verildiğinde hücre dışı sıvısındaki  $Ca^{2+}$  iyonları ISM üzerine çekilir ve voltaj kapılı sodyum kanallarının önü açılarak aksiyon potansiyeli oluşumu kolaylaştırılmış olur. Bu hipotezi test etmek için bir kurbağada önce yalın elektrotla, hemen arkasından da  $Ca^{2+}$ -ISM kaplı elektrotla eşik değeri ölçüldü. Örnek bir sonuç Şekil 3.10'da görülmektedir.



Şekil 3.10 : Yalın ve ISM-kaplı elektrotların eşik değerleri

Bu sonuçtan da görüleceği gibi  $Ca^{2+}$  çekmek eşik değerini ciddi oranda düşürmüştür. Bu sonucun doğrulanması adına, eşik değerinin  $Ca^{2+}$  çekmenin etkisiyle düştüğünü görmek için farklı bir deney daha yaptık. Bu deneyde ISM içerisindeki iyon seçici özelliğe sahip ionophore çıkarıldı ve PVC membran hazırlandı. Deneyler hem ISM

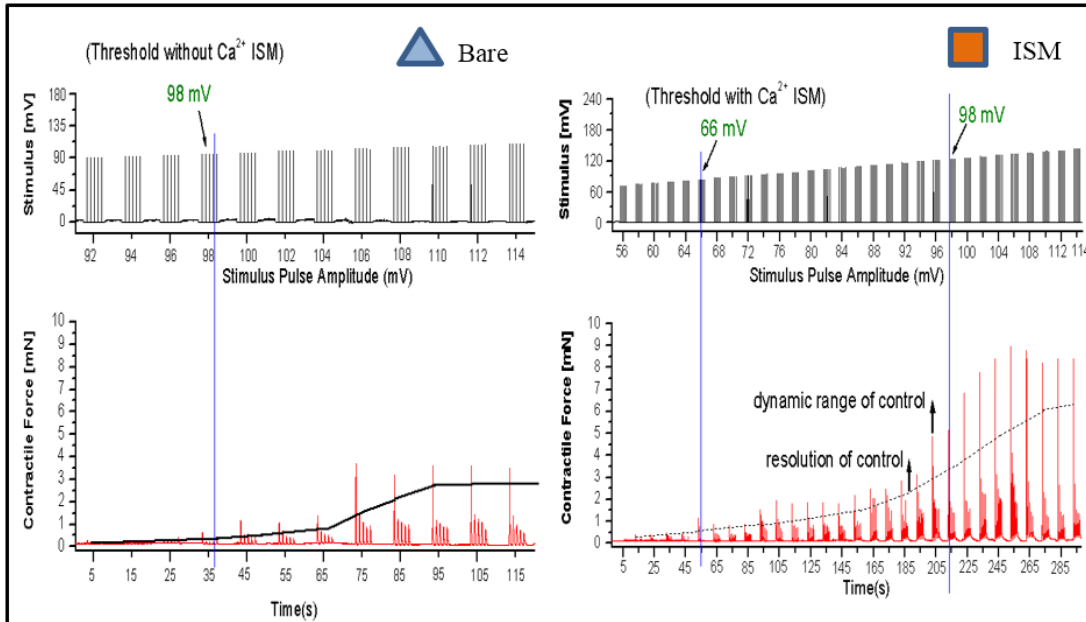
kaplı ve yalın elektrot hem de PVC membran kaplı elektrot kullanılarak yapıldı ve Şekil 3.11'deki sonuçlar görüldü.



Şekil 3.11 :  $\text{Ca}^{2+}$  çekmenin eşik değerine etkisi

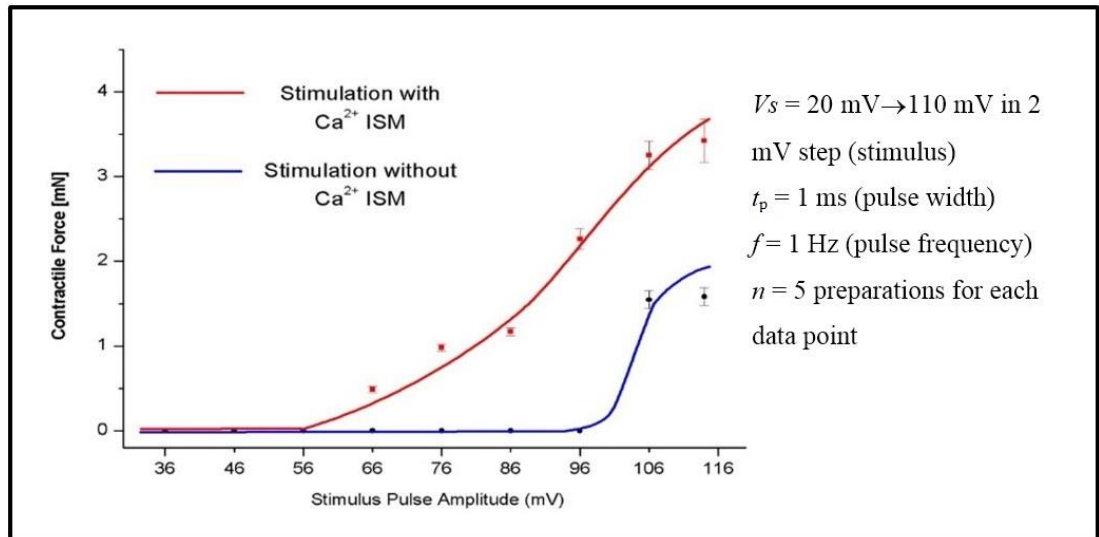
### 3.2.3 Uyarım kontrol çözünürlüğü

Diğer bir deney ISM'in uyarım üzerindeki etkisini incelenmesi ile ilgilidir. Bunun için yalın elektrot ve ISM kaplı elektrot uyarım için karşılaştırıldı. ISM, Şekil 3.12'de görüldüğü gibi yalın elektrota göre eşik değeri düşürmektedir.



Şekil 3.12 :  $\text{Ca}^{2+}$  çekmenin uyarım kontrol çözünürlüğüne etkisi

Uyarım voltajı artırıldıkça daha çok sinir uyarıldığı için Gastrocinemius kasının hareket kuvveti de artmaktadır. Yalın elektrotla uyarım yapıldığında uyarım daha ani olmakta ve verilen uyarım voltajına bağlı olarak kasın hareket kuvveti sert bir değişim göstermektedir. ISM kaplı elektrotla uyarım yapıldığında ise verilen uyarım voltajına bağlı olarak kasın hareket kuvvetindeki değişim daha yavaş gerçekleşmektedir. ISM ile uyarım ve yalın elektrotla uyarım karşılaştırıldığında ISM ile eşik değeri daha düşük olduğu için aynı voltaj değerlerinde kasın hareket kuvveti kıyaslandığında ISM ile elde edilen uyarımın daha kuvvetli olduğu görülmektedir. Bunun sebebi olarak bir çalışmada [24] ise düşük uyarı akımı ile uyarılan sinirlerin küçük çaplı sinirler olduğu söyleniyor. Bu sayede ISM kaplı elektrotla uyarım yapılırken yalın elektrotla hiç uyarılamayan sinirler de uyarılıyor ve daha fazla kas lifi uyarılarak daha büyük bir kasılma oluşuyor. ISM kaplı elektrot ile eşik değeri düştüğü için daha düşük akımda uyarım yapılabilir. Bu sayede daha düşük akım gerektiren aksonları harekete geçirerek bölgesel uyarım yapılabilir. Böylece bütün sinir için “ya hep ya hiç” davranışı yerine daha kontrol edilebilir bir uyarım davranışı elde edilebilir. Bunun sonucunda ISM kaplı elektrot ile uyarım için kontrol çözünürlüğü yalın elektrotta göre daha yüksektir (Şekil 3.13). Yalın elektrotta daha yüksek akımlarda uyarım olur ve geçişler daha sert olur. ISM’de ise daha düşük değerlerde uyarım başlar ve kasılma kuvvetindeki geçişler daha yumuşak olur.



Şekil 3.13 :  $Ca^{2+}$  çekmenin kasılma üzerine etkisi



#### 4. SONUÇ

Bu çalışma sonucunda FES'in uygulama alanlarında uyarımın sadece Elektriksel Uyarım değil Elektrokimyasal Uyarım olmasının verimi ve kontrolü artırdığını gördük. Esnek cihaz teknolojisi sayesinde bu Elektrokimyasal Uyarım yöntemi kullanılarak sinir hastalıklarına tedavi olabilecek birçok ürün geliştirilebilir. Örneğin, bölgesel felç durumlarında temel hareket kabiliyetini sağlayacak bir algoritma bizim çalışmamızdaki ISM kaplı elektrotlarla uygulanabilir. Bu çalışmadaki yüksek verimli elektrokimyasal yöntemin kullanılması hem dokuya daha az zarar verir hem de daha uzun süreli kullanılabilir. Aynı şekilde, sakatlık durumlarında, sinir dikildikten sonra iyileşmesi için gereken sürede kasların veya sinirlerin tembelleşmesini engellemek için implant edilecek bir cihazla uyarım sağlanabilir. Bu ve buna benzer daha birçok sinirsel bozukluklarda uygulanacak tedavi yönteminde, vücutta meydana gelebilecek zararları engellemek için uyarım elektrotu olarak ISM kaplı elektrot kullanılabilir. Bu çalışma sonucunda elektriksel uyarım için eşik değerinin düşürülmesi hedefi gerçekleştirilmiştir. Bu amaç için kullanılan elektriksel yöntem, sinir ve elektrot arasındaki temas yüzeyinin artırılması ve elektriksel verimliliğin artırılmasıdır. Esnek elektrotun klasik kabloya göre 85-95% oranında bir düşüş sağladığı görülmüştür. Eşik değerini düşürmek için uygulanan diğer yöntem ise iyon konsantrasyonunu düşürmektir. Bu elektrokimyasal yöntem ise elektrot üzerinin ISM ile kaplanarak hücre dışı sıvısından  $Ca^{2+}$  iyonu çekilmesidir. Bu yöntemle eşik değerinin yalnız elektrota göre 15-25% oranında düşüş sağladığı gözlemlenmiştir. Eşik değerinin düşürülmesi sonucu düşük akım değerleriyle uyarım sağlanabildiği için daha az zararlı FES uygulamalarına olanak sağlamaktadır. Ayrıca esnek elektrotlarla canlı ortamda deneyler yapıldığı için, sinir sistemi hastalıklarında tedavi amaçlı vücuda yerleştirilebilen bir implant olarak da kullanılabilir.





## KAYNAKLAR

- [1] **Anderson, K. D.**, (2004). Targeting recovery: priorities of the spinal cord-injured population. *Journal of Neurotrauma*, 21(10), 1371–1383.
- [2] **Ho, C. H., Triolo, R. J., Elias, A. L., Kilgore, K. L., DiMarco, A. F., Bogie, K., ... Mushahwar, V. K.**, (2014). Functional electrical stimulation and Spinal Cord Injury. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 25(3), 631-654.
- [3] **Nitsche, M. A., Liebetanz, D., Lang, N., Antal, A., Tergau, F., Paulus, W., & Priori, A.**, (2003). Safety criteria for transcranial direct current stimulation (tDCS) in humans. *Clinical Neurophysiology*, 114(11), 2220–2223.
- [4] **URL-1** <https://www.biopac.com/wp-content/uploads/h03data.gif> Alındığı tarih: 03.06.2016.
- [5] **Hunter Peckham, P., & Knutson, J. S.**, (2005). FUNCTIONAL ELECTRICAL STIMULATION FOR NEUROMUSCULAR APPLICATIONS\*. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 7, 327–360.
- [6] **URL-2** <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2007/pr04/en/> Alındığı tarih: 14.08.2016.
- [7] **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.
- [8] **Basser, P. J., & Roth, B. J.**, (1991). Stimulation of a myelinated nerve axon by electromagnetic induction. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 29(3), 261–268.
- [9] **URL-3** <https://global.britannica.com/science/action-potential> Alındığı tarih: 22.07.2016.
- [10] **URL-4** <http://player.slideplayer.com/29/9469292/data/images/img42.jpg> Alındığı tarih: 10.08.2016.
- [11] **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.
- [12] **Isaksson, J., Kjäll, P., Nilsson, D., Robinson, N. D., Berggren, M., & Richter-Dahlfors, A.**, (2007). Electronic control of Ca<sup>2+</sup> signalling in neuronal cells using an organic electronic ion pump. *Nature Materials*, 6(9), 673–679.
- [13] **Foutz, T. J., Ackermann, D. M., Kilgore, K. L., & McIntyre, C. C.**, (2012). Energy Efficient Neural Stimulation: Coupling Circuit Design and Membrane Biophysics. *PLOS ONE*, 7(12), e51901.

- [14] **Memberg, W. D., Polasek, K. H., Hart, R. L., Bryden, A. M., Kilgore, K. L., Nemunaitis, G. A., ... & Kirsch, R. F.,** (2014). Implanted neuroprosthesis for restoring arm and hand function in people with high level tetraplegia. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 95(6), 1201-1211.
- [15] **Lempka, S. F., McIntyre, C. C., Kilgore, K. L., & Machado, A. G.,** (2015). Computational Analysis of Kilohertz Frequency Spinal Cord Stimulation for Chronic Pain Management. *Anesthesiology*, 122(6), 1362–1376.
- [16] **Hardin, E., Kobetic, R., Murray, L., Corado-Ahmed, M., Pinault, G., Sakai, J., ... Triolo, R. J.,** (2007). Walking after incomplete spinal cord injury using an implanted FES system: a case report. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 44(3), 333–346.
- [17] **Creasey, G. H., Ho, C. H., Triolo, R. J., Gater, D. R., DiMarco, A. F., Bogie, K. M., & Keith, M. W.,** (2004). Clinical applications of electrical stimulation after spinal cord injury. *Journal of Spinal Cord Medicine*, 27(4), 365–375.
- [18] **Van den Brand, R., Heutschi, J., Barraud, Q., DiGiovanna, J., Bartholdi, K., Huerlimann, M., ... Courtine, G.** (2012). Restoring voluntary control of locomotion after paralyzing spinal cord injury. *Science*, 336(6085), 1182–1185.
- [19] **Courtine, G., Gerasimenko, Y., van den Brand, R., Yew, A., Musienko, P., Zhong, H., ... Edgerton, V. R.,** (2009). Transformation of nonfunctional spinal circuits into functional states after the loss of brain input. *Nature Neuroscience*, 12(10), 1333–1342.
- [20] **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.
- [21] **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.
- [22] **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.
- [23] **Song, Y.-A., Melik, R., Rabie, A. N., Ibrahim, A. M. S., 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(10), 980–986.
- [24] **Khaja, E., & Fawaz, R. M.,** Electro-chemical stimulation of neuromuscular systems using ion-selective membranes: flexible device fabrication and motor unit recruitment order *M.Eng. thesis*, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, (2013).

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Sefa Şimşek  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 06.12.1990 YENİMAHALLE  
**E-posta** : s.simsek@etu.edu.tr

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2014, O.D.T.Ü., Mühendislik Fakültesi, Elektrik ve Elektronik Mühendisliği

### MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

Yıl	Yer	Görev
2016-...	TED Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2014-2016	TOBB ETÜ	Proje 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.