

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HPMA ve POLİ(Q4-VP) BAZLI ÇİFT KATMANLI ANTİMİKROBİYAL YARA
ÖRTÜSÜNÜN ÜRETİMİ ve KARAKTERİZASYONU**

CEMRE DEMİRKAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SEVİL DİNÇER İŞOĞLU**

İSTANBUL, 2014

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HPMA ve POLİ(Q4-VP) BAZLI ÇİFT KATMANLI ANTİMİKROBİYAL YARA
ÖRTÜSÜNÜN ÜRETİMİ ve KARAKTERİZASYONU**

Cemre DEMİRKAN tarafından hazırlanan tez çalışması 02.06.2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Sevil DİNÇER İŞOĞLU
Abdullah Gül Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Sevil DİNÇER İŞOĞLU
Abdullah Gül Üniversitesi

Prof. Dr. İbrahim İŞILDAK
Yıldız Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. İ. Alper İŞOĞLU
Abdullah Gül Üniversitesi

ÖNSÖZ

Tüm yükseköğrenim hayatım boyunca bilgisi ve enerjisiyle bana destek olan, cesaretlendiren, her konuda ilgi ve desteğini esirgemeyen, tezim konusunda bana yol gösteren, beraber çalışmaktan mutluluk ve onur duyduğum değerli hocam Doç. Dr. Sevil Dinçer İşoğlu'na

Tez çalışmalarım boyunca bilgisini, deneyimini ve ilgisini benden esirgemeyen, ihtiyaç duyduğum her an yanımda olarak bana destek olan ve laboratuvarını açan kıymetli hocam Doç. Dr. Kadriye Tuzlakoglu'na,

Tez kapsamında gerçekleştirilen antimikrobiyal testleri yapan Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden Dr. Mine Gül Şeker'e,

Tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen Biyomühendislik bölüm başkanı Prof. Dr. İbrahim Işıldak'a ve bölüm hocalarına,

Hiçbir zaman bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen ve manevi desteğiyle yanımda olan Arş. Gör. Dr. Murat Topuzoğulları'na,

Dostluklarıyla her zaman yanımda olan ve manevi desteklerini eksik etmeyen Özlem Çevik, Şule Koca ve Samet Yıldız'a,

Tüm zorlukları ve umutsuzlukları benimle paylaşan, her zaman yola devam edebilmem için bana güç veren, bu zor yılları anlamlandıran değerli dostum canımın içi Sena Didem Erkal ve canımın, ruhumun parçası, huzur kaynağım Salim Yaşar Yaşa'ya

Bugün bu noktaya gelebilmemde hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan değerli aileme,

Sonsuz teşekkür ederim.

Haziran, 2014

Cemre DEMİRKAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	vi
KISALTMA LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	3
1.3 Hipotez	3
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 Deri ve Yapısı.....	4
2.1.1 Epidermis	5
2.1.2 Dermis	6
2.1.3 Hipodermis	7
2.1.4 Derinin Ekleri.....	7
2.2 Yaralar.....	7
2.2.1 Yanık Yaraları	9
2.3 Yara İyileşmesi.....	10
2.4 Yara Örtü Malzemeleri	16
2.4.1 Geleneksel Yara Örtüleri	19
2.4.2 Sentetik Yara Örtüleri.....	19
2.4.3 Biyolojik Yara Örtüleri	22
2.4.4 Geçici Yara Örtüleri	23

2.4.4.1	Sentetik Membranlar	24
2.5	Kriyojeller.....	28
2.5.1	Polimerizasyon ya da Polikondenzasyon ile Oluşturulan Kriyojeller	32
2.5.2	Polimerik Öncülerin Kovalent Çapraz Bağlanması ile Hazırlanan Kriyojeller	32
2.5.3	İyonik Kriyojeller	33
2.5.4	Kovalent Olmayan Kriyojeller	33
2.6	Elektroeğirme.....	34
BÖLÜM 3		
MATERYAL VE METOT		42
3.1	Deneyisel Çalışmada Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Laboratuar Ekipmanları.....	42
3.1.1	Kullanılan Cihazlar	42
3.1.2	Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Laboratuar Ekipmanları	42
3.1.3	Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler	43
3.2	Çift Katlı Yara Örtü Malzemelerinin Hazırlaması	44
3.2.1	Hidroksipropil metakrilat (HPMA) Bazlı Kriyojellerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu	44
3.2.2	Antibakteriyel Polimerin Sentezi ve Karakterizasyonu	45
3.2.2.1	Poli(4-VP) Sentezi ve Kuaternerleştirilmesi.....	45
3.2.2.2	Antibakteriyel Özelliğin İncelenmesi	47
3.3	Kriyojeller Üzerinde Poli(Q4-VP)'nin Elektroeğirilmesi ve Karakterizasyonu.....	48
3.4	Şişme Testi	49
3.5	Kriyojele Askorbik Asit Yüklenmesi ve Salım Çalışmaları	49
BÖLÜM 4		
SONUÇLAR VE TARTIŞMA		50
4.1	Yapısal Analiz	50
4.1.1	HPMA-bazlı Kriyojeller.....	50
4.1.2	Poli(4-VP) Sentezi ve Kuaternerleştirilmesi	50
4.2	Morfolojik Karakterizasyon.....	51
4.3	Antibakteriyel Özelliğin İncelenmesi	56
4.4	Şişme Testi	58
4.5	Askorbik Asit Salım Çalışması.....	58
BÖLÜM 5		
SONUÇ ve ÖNERİLER		60
KAYNAKLAR		62
ÖZGEÇMİŞ.....		68

SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
µm	Mikrometre
cm	Santimetre
g	Gram
mg	Miligram
kV	Kilovolt
dk	Dakika
sa	Saat
cfu	Koloni oluşturma birimi
Ti	Titanyum
Al	Alüminyum

KISALTMA LİSTESİ

Poli(4-VP)	Poli(4-vinil piridin)
poli(Q4-VP)	Kuaterner Poli(4-vinil piridin)
HPMA	Hidroksipropil Metakrilat
ECM	Ekstraselüler Matriks
ADP	Adenozin Di Fosfat
PEG	Poli(etilen glikol)
HEMA	Hidroksietil Metakrilat
PLA	Poli(laktat)
PGA	Poli(glikolat)
PF	Polifümarat
PCL	Poli(ϵ -kaprolakton)
PTFE	Poli(tetrafloroetilen)
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametiletildiamin
MBA	N,N-Metilenbisakrilamid
APS	Amonyum persülfat
AAM	Akrilamit Monomeri
PVA	Poli(vinil alkol)
HA	Hidroksiapatit
DMF	Dimetilformamid
AIBN	2-2'-Azoisobütironitril
PHA	Fitohemaglütinin
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hekzafloro-2-propanol
CaP	Kalsiyum Fosfat
dH ₂ O	Destile Su
TGF- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-beta
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör- alfa
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
VEGF	Vasküler-endotelyal Büyüme Faktörü
PDGF	Platelet-türevli Büyüme Faktörü
IgG	İmmüoglobülin G
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
UV	Ultraviyole

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
TYBÜKS	Türkiye Yara Bakımı Ürünleri Kodlama Sistemi

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 İnsan Derisinin Tabakaları.....	4
Şekil 2. 2 Birinci, İkinci, Üçüncü Derece Yanıklar ve Deri Graftının Derinliği.....	10
Şekil 2. 3 Yara İyileşme Sürecinde Gelişen Fazlar	14
Şekil 2. 4 Biobrane'in Şematik Gösterimi	24
Şekil 2. 5 Soğutma ve Dondurma ile İndüklenen Jelleşme Arasındaki Farklar	30
Şekil 2. 6 Polimerik Kriyojel Oluşumunun Temel Mekanizması	32
Şekil 2. 7 Optik Mikroskop Altında PVA ve Agaroza Kriyojel.....	33
Şekil 2. 8 Döner Levhalı Elektroeğirme Sisteminin Şematik Gösterimi.....	36
Şekil 2. 9 Elektroeğirmede Kullanılan Bazı Toplayıcı Tipleri	37
Şekil 2. 10 Farklı Konsantrasyondaki Polimer Çözeltilerinden Elde Edilen Elektronanollüğlerin SEM Fotoğrafları.....	39
Şekil 3. 1 Islakken Kesilen Kriyojellerin Görüntüsü	45
Şekil 3. 2 Poli(4-vinil piridin)'in Sentez Reaksiyonu	46
Şekil 3. 3 Kuaterner Poli(4-vinil piridin)'in Sentez Reaksiyonu.....	47
Şekil 3. 4 Elektroeğirme Sistemi	48
Şekil 4. 1 HEMA-bazlı Kriyojelle Ait FT-IR Spektrumu	51
Şekil 4. 2 Poli(4-VP) ile 4 ve 8 Gün Kuaternerleştirme Uygulanmış poli(Q4-VP)'e Ait FT-IR Spektrumları.....	52
Şekil 4. 3 HEMA Kriyojel-poli(Q4-VP) Membran Çift Katmanlı Yapısının SEM Görüntüleri	53
Şekil 4. 4 Poli(Q4-VP) Fiberlerin SEM Görüntüsü	55
Şekil 4. 5 Sentezlenen Polimerlerin Antibakteriyel Test Görüntüleri	57
Şekil 4. 6 Sentezlenen Polimerlerin Antifungal Test Görüntüleri	57
Şekil 4. 7 % Şişme Oranının Zamanla Değişimi	59
Şekil 4. 8 Zamana Karşı C Vitamini Salımı.....	60

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1 Türkiye Yara Bakımı Ürünleri Kodlama Sistemi (TYBÜKS)'nin Belirlediği Pasif Yara Örtüleri Kategorizasyonu	20

**HPMA ve POLİ(Q4-VP) BAZLI ÇİFT KATMANLI ANTİMİKROBİYAL YARA
ÖRTÜSÜNÜN ÜRETİMİ ve KARAKTERİZASYONU**

Cemre DEMİRKAN

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Sevil DİNÇER İŞOĞLU

Bu tez çalışmasında kendiliğinden iyileşmesi güç ve enfeksiyon riski yüksek olan yaraların iyileşmesini hızlandıracak ve yarayı bakteriyel istiladan koruyarak yara bölgesinde oluşabilecek ikincil travmaları önleyebilecek özellikte, toksik madde salım sorunu olmayan, poli(Q4-VP)-HPMA bazlı çift katmanlı yara örtülerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Yara örtüsünün antibakteriyel tabakasını oluşturan poli(Q4-VP) polimerinin sentezi iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada 4-vinil piridin monomerinden serbest radikal polimerizasyonu ile poli(4-vinil piridin) polimeri sentezlenmiştir. İkinci aşamada ise üretilen poli(4-VP) polimeri 6-bromokaproik asit ile alkillenme reaksiyonuna sokularak antibakteriyel özellik göstermesi beklenen poli(Q4-VP) polimeri sentezlenmiştir. Sentezlenen polimerlerin yapısal analizi FT-IR ile gerçekleştirilmiştir.

Yara örtü malzemesinin ilk katmanını oluşturacak olan makrogözenekli süngerimsi yapı HPMA'nın kriyojelasyonu ile hazırlanmıştır. Malzemenin ikinci katmanını oluşturan antibakteriyel poli(Q4-VP) membran ise elektroegirme yöntemiyle kriyojel yapı üzerine yerleştirilmiştir. Oluşan çift katmanlı yara örtüleri SEM ile karakterize edilmiştir.

Son olarak yara iyileşmesini arttırması amacıyla kriyojel tabakaya doğal iyileşme prosesinde etkili olan askorbik asit (C vitamini) yüklenmiş, C vitamini salımı UV spektrofotometre ile izlenmiştir.

Üretilen çift katmanlı yara örtülerinin antibakteriyel özellikleri *S.aureus*'a ve antifungal özellikleri *C.albicans*'a karşı incelenmiştir.

Tez çalışması sonunda, çift katlı antibakteriyel özellikte, yüksek şişme kapasitesine sahip, yara iyileşmesini uyarıcı özellikte, geçici örtüler elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antibakteriyel yara örtüleri, kuaterner poli(4-vinil piridin), elektroegirme, kriyojel

**PRODUCTION and CHARACTERIZATION OF HPMA-POLY(Q4-VP) BASED
BILAYER ANTIMICROBIAL DRESSING**

Cemre DEMİRKAN

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Assoc. Prof. Dr. Sevil DİNÇER İŞOĞLU

This study aimed to produce poly(4-VP) and HPMA-based bilayer wound dressing materials enhancing healing mechanism for the wounds which have self-healing problem and high infection risk. These materials were designed to protect wound from secondary traumas caused bacterial invasion and do not have toxic substance release problem.

Synthesis of quaternary poly(4-VP) (poly(Q4-VP)) which is the antibacterial layer of wound dressing material was carried out in two stages. At first stage, poly(4-vinyl pyridine) polymer was synthesized from 4-vinyl pyridine monomer by free radical polymerization. Then, poly(Q4-VP) was synthesized from poly(4-VP) by alkylation reaction with 6-bromocaproic acid. Resulted polymer was characterized by FT-IR, structurally.

The macroporous spongy structure, as the layer of wound dressing material, was prepared by cryogelation of HPMA. Then, the antibacterial polymer was electrospun onto the cryogel structure and bilayered material was obtained. Cryogel structure, fiber morphology and layer integration was examined by SEM.

To enhance wound healing mechanism, ascorbic acid (vitamin C) was loaded to cryogel layer and release was followed by UV spectrometer.

The antibacterial and antifungal properties of the materials were examined against *S.aureus* and *C.albicans*, respectively.

According to the results, bilayered, antibacterial, temporary wound dressings which can stimulate wound healing and have high swelling capacity were obtained successfully.

Keywords: Antibacterial wound dressings, quaternary poly(4-vinyl pyridine), electrospinning, cryogel

1.1 Literatür Özeti

Deri memelilerdeki en büyük organdır ve insan bedeni ile çevre arasında koruyucu bariyer rolü oynar. Deri, vücudu patojenlere ve mikroorganizmalara karşı korur. Buna bağlı olarak, deri direkt olarak potansiyel zararlı mikrobiyal, termal, mekanik ve kimyasal etkilere maruz kalmaktadır (Groeber vd. [1]).

Yara ise, yumuşak dokuların normal anatomik yapı ve fonksiyonun bozulmasıdır. Başarılı bir yara iyileşmesi, bir dizi sitokin ve büyüme faktörünün düzenlediği hücre dışı matris (ECM) ile epidermal ve dermal hücreler arasındaki etkileşimi ve anjiyogenezi içeren karmaşık bir olgudur (Harding vd. [2]). Yanık ve diğer deri hasarlarının tedavisinde geleneksel olarak otogreft ve allogreftler kullanılmaktadır. Ancak, otogreftler yüksek bir başarı oranına sahip olmasına rağmen sağlanabilirliği azdır ve donör sebepli hastalığa sebep olabilmektedir. Allogreftler çok miktarda bulunabilir ve temin edilebilir olsalar da her zaman hastalık aktarma ve immünolojik red oluşturma riskine sahiptir.

Yüksek oranda deri kaybının olduğu yaralar, yaranın korunabilmesi için, acil şekilde bir örtü malzemesi ile kapatılmaya ihtiyaç duyarlar. İdeal bir örtü malzemesi doğal derinin fonksiyonlarını taklit edebilir olmalıdır; yarayı sıvı ve protein kaybından korumalı, eksudat emilimi, mikroorganizma istilasını engelleme ve yara kısmının estetik görüntüsünü geliştirme gibi özelliklere sahip olmalıdır (Hogge vd. [3]). Arzu edilen fizyokimyasal özelliklere sahip yara örtüleri, filmler, mikrofiber yapıdaki membranlar ve süngerler gibi çeşitli formlarda üretilmektedirler. Yara iyileşmesi için kritik faktörler;

polimerin seçimine bağlı olarak fabrikasyon metotları, hücre fenotipi ve yüzey topografisidir (Kumbar vd. [4]).

Yara örtüleri temel olarak iki kategoride incelenebilir: kalıcı ve geçici örtüler. Eğer yara yüzeysel ise, kabul edilebilir bir sürede iyileşeceği ve kozmetik probleme yol açmayacağı öngörülüyor ise bu yara geçici yara örtü malzemesi ile örtülebilir. Grup olarak geçici yara örtü malzemeleri mikrobiyal istilaya karşı bariyer sağlar, sıvı kaybını engellemeye yardım eder, acı kontrolü sağlar ve membranın altında iyileşme gerçekleşirken koruma sağlar. Yaygın kullanım alanına sahip, başarılı çok çeşitli geçici yara örtüleri bulunmaktadır. Spesifik kullanımlarına bağlı olarak, bu geçici ikameler çok çeşitli sentetik malzemelerden, saflaştırılmış doğal biyomalzemelerden ve kültüre edilmiş deri hücreleri ve dokulardan inşa edilmektedir (Eming vd. [5]).

Polimerik kriyojeller hem moleküllerin hem de biyolojik birimlerin içine girebileceği bir kütle ve etkileşebilecekleri parçalar (ligandlar) dan oluşan süper makro gözenekli bir polimerik matriks oluşturabilmeleri sayesinde yara örtü malzemelerinde kullanıma uygundurlar (Lozinsky [6]). Yüksek sıvı emme özellikleri sayesinde yara bölgesinde oluşacak eksudatı kolayca uzaklaştırabilir ve aynı zamanda yara iyileşme prosesine katkı sağlayacak faktörlerin bölgeye aktarılmasında taşıyıcı görevi de görebilmektedirler.

Nanolifli yüzeylerin, insan cildinde oluşan yara ve yanıkların tedavisinde kullanımının mümkün ve avantajlı olduğu yapılan araştırmalarla ortaya koyulmuştur. Elektroüretim metodu ile elde edilen nanolifli membranlar, geniş yüzey alanı, gözenekli yapısı ve iyi filtrasyon özelliği sayesinde yaranın sıvıdan hızla uzaklaştırılmasını sağlar ve böylece olası bir enfeksiyonu engeller. Ayrıca, kontrollü su buharı kaybı ve mükemmel oksijen geçirgenliği ile yara ortamının nemli kalmasını ve oksijen almasını sağlayarak yara iyileşmesi için uygun ortamı sağlar ve yara iyileşmesini hızlandırıcı etki yaratır (Karaca vd. [7]). Yara örtüleri için dokumasız (non-woven) nanofibröz membranlar genellikle 500 nm ile 1 µm arası boyutlarda gözenek çaplarına sahiptir ve bu boyutlar yarada bakteriyel penetrasyon olmasına engel olmak için yeterlidir. 5-100 m²/g gibi yüksek yüzey alanı sayesinde sıvı absorpsiyonu ve dermal salım için oldukça etkilidir (Huang vd. [8]). Yapılan histolojik incelemeler, elektroğrılmış nanolifli membranla

kapatıldığında yaranın epitelizasyon hızının yükseldiğini ve dermis oluşumunun iyileştiğini göstermiştir (Karaca vd. [7]).

Vitamin C (L-askorbik asit), vitamin A (retinol) ve vitamin E (tokoferol)'nin kuvvetli antioksidan ve antiinflamatuvar etki gösterdiği bilinmektedir. Özellikle Vitamin C'nin yara iyileşmesinde pek çok rolü bulunmaktadır. C vitamini eksikliği, kollajen sentezinde, fibroblast üretiminde ve anjiyogeneze azalmaya ve kapiler kırılabilirliğin artmasına sebep olarak iyileşmenin eksik ya da az gerçekleşmesine sebep olmaktadır. Ayrıca C vitamini eksikliği immün cevabın azalmasına ve yara bölgesinin enfeksiyona karşı daha hassas hale gelmesine sebep olmaktadır (Guo ve DiPietro [9]). Bundan dolayı yara bölgesine dışardan C vitamini takviyesinin yara iyileşmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında amaç, yara örtüsü olarak, alt tabakası yüksek gözeneklilik ve sıvı emme kapasitesine sahip, hücre büyümesine yardımcı, biyouyumlu, süngerimsi HPMA-bazlı kriyojel; dış ortamla temas edecek üst tabaka ise yapısındaki kuaterner amonyum tuzları sayesinde antibakteriyel etki gösteren, elektroğrılmış fiberler halindeki poli(4-vinil piridin) membrandan oluşan, çift katmanlı malzemelerin üretimi ve karakterizasyonudur. Ayrıca, yara iyileşmesini arttırmak üzere, üretilen çift katmanlı yara örtü malzemesinin kriyojel tabakasına C vitamini yüklenmiştir.

1.3 Hipotez

Tez çalışması ile,

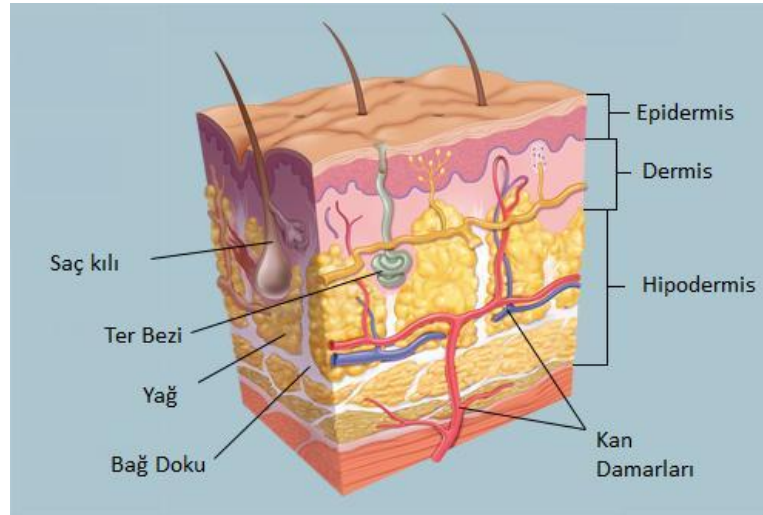
- İlk katmanı gözenekli, süngerimsi, yüksek şişme kabiliyetine sahip HPMA-bazlı kriyojellerin sentezlenmesi,
- Üst katman olarak antibakteriyel özellikte, mikrofiber yapıda, ağsı, kuaternerleştirilmiş poli(4-VP) membranın elektroğrilme ile eldesi,
- Kriyojel yapıya C vitamininin yüklenmesi ve salımı,
- Bütünüyle, antibakteriyel, yara iyileşmesini uyarıcı, eksudatı emebilen, kullanımı kolay, geçici bir yara örtüsü malzemesinin hazırlanması beklenmektedir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Deri ve Yapısı

Deri vücuttaki en büyük organdır ve birincil görevi çevreye karşı koruyucu bariyer özelliği göstermesidir. Derinin diğer önemli fonksiyonları sıvı dengesinin sağlanması, termoregülasyon, immün gözetim, sensör kontrolü ve kendi kendine iyileşmedir MacNeil [10]). İnsan derisinin aktif ve pasif görevleri iki temel tabakası olan epidermis ve dermis tabakalarında bulunan özelleşmiş hücre ve yapılar tarafından gerçekleştirilmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 İnsan derisinin tabakaları [11].

Epidermis, gövdenin dış yüzünü örten boynuzlaşan çok katlı yassı epitel dokusudur. Dermis ise gevşek ve sıkı bağ dokusundan oluşan kalın bağ dokusudur. Dermisin altında, daha gevşek ve yağ dokusundan zengin hipodermis tabakası bulunmaktadır.

Yağ hücrelerinden oluşan yağ dokusu altındaki yapı ve organları darbelerden ve ısı değişimlerinden korur. Derinin hareketli olmasını sağlar (MacNeil [10]).

2.1.1 Epidermis

Keratinleşen çok katlı yassı epitelin görüldüğü tek yerdir. Temel epitel hücresi keratinositlerdir. Hücrelerin çoğalıp, özel yapıları ve işlevlerini yerine getirdikten sonra yozlaşmalarıyla epiderminin tabakaları meydana gelir. Epidermis beş tabakadan oluşmuştur: Stratum Bazale, Stratum Spinozum, Stratum Granülozum, Stratum Lusidum ve Stratum Korneum.

Stratum Bazale; bazal lamina üzerinde tek katlı prizmatik epitel hücrelerinden oluşur. Hücreler birbirlerine desmozomlarla, bazal laminayada hemidesmozomlarla tutunurlar. Çekirdekleri hücrenin tabanına yakın ve oldukça büyüktür. Bu tabakada mitoz bölünme aşamasında çok sayıda hücre yer alır.

Stratum Spinozum; startum bazaledaki hücreler çoğalarak yukarı doğru dikensi kat olarak da adlandırılan bu tabakayı oluşturur. Hücreler poligonal (çok yüzlü) şekillidir. Mitoz bu hücrelerde de vardır. Epidermise sağlamlık kazandıran tabakadır.

Stratum Granülozum; yassılaştırmış 3-5 hücre tabakasından oluşur. Çekirdekleri ortadadır. Sitoplazmalarında bol sitokeratin filamanlarının yanı sıra keratohiyalin granülleri vardır.

Stratum Lusidum; ışık kırıcıdır ve sedef gibi parlak görülür. İnce bir tabakadır. Hücreler iyice yassılaştırmıştır. Desmozomlarla sıkıca paketlenmiş tarzda birbirlerine tutunmaya devam ederler. Organelleri lizozomlarca sindirilmiştir. Çekirdekleri yoktur.

Stratum Korneum; boynuzsu tabakadır. Yassı hücrelerin üst üste on beş-yirmi katman yapacak şekilde yığılmasıyla ortaya çıkar. Hücreler çekirdek içermez. Sitoplazma keratin adı verilen ışık mikroskobunda parlak görünen sert filament benzeri bir proteinle doludur. Keratini oluşturan proteinler tonofilamanların alt birimlerini oluşturur. El içi ve ayak tabanı gibi dışarıdan gelen basınçlara çok açık olan bölgelerde çok kalındır.

Epidermiste keratinositlerdeki mitoz ile başlayan hücre başkalaşım olayları 20 -30 gün sürer ve yenilenme oluşur. Çok katlı yassı boynuzlaşan epitelden oluşan epidermiste

keratinositlerin arasında sayıca daha az olan başka hücreler de vardır: Melanositler, Langerhans Hücreleri ve Merkel Hücreleri.

MELANOSİTLER; stratum bazale de tek tek bulunan hücrelerdir. Nöral kristadan köken alırlar. Sitoplazmalarında melanozom adı verilen büyük ve yoğun salgı granülleri vardır. Melanozomlar kahverengi melanin proteinini içerir. Hücrelerde golgi kompleksi, granüllü ER, ribozomlar, mitokondriler bol miktarda bulunur. Melanin hücre sitoplazmasında sentezlendikten sonra hücre uzantıları yoluyla çevredeki keratinositlerin sitoplazmasına verilir. Keratinositler melanin pigmenti için depo görevi yapar. Hücreler apikal sitoplazmalarına yerleşen melanin pigmenti sayesinde güneşin olumsuz ışınlarından korunur.

LANGERHANS HÜCRELERİ; stratum spinosumun üst tabakalarında yer alan uzun uzantılı hücrelerdir. Bunlara dendritik hücreler de denir. Desmozom, melanin ve tonofilaman içermezler. Kemik iliğindeki öncü hücrelerden gelişen bu hücreler, antijen tanıcı özelliktedirler. Derinin immün yanıtında rol alırlar.

MERKEL HÜCRELERİ; epidermisin taban katında az sayıda bulunan hücrelerdir. Keratinositlere desmozomlarla bağlanırlar. Parmak ucu ve el içi ve ayak tabanında daha çok bulunmaları dokunma duyusu (duyu alıcı) ile ilgili olduklarını düşündürür. Miyelinli afferent sinir liflerinin çıplak sonlanmaları bu hücrelerle Merkel hücresi-nörit kompleksi bölgelerini oluşturur (Can [12]).

2.1.2 Dermis

Stratum papillare (papilla tabakası) ve Stratum Retikülar (retiküler tabaka)'den oluşmuştur.

Stratum Papillare; epitelin altında yer alan gevşek bağ dokusunun oluşturduğu bölgedir. Bol miktarda bağ dokusu hücresi ve kan damarlarını içerir. Tip III kolajen ve elastin teller içerir. Meissner cisimcikleri bu bölgede yer alır. Temas duyusunun algılanmasında görevlidir.

Stratum Retikülar; papilla katının altındadır. Çoğunluğunu Tip I kollajen tellerin oluşturduğu düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındadır. Daha az hücre bulunur. Elastin

lameller özellikle yağ ve ter bezleri etrafında ağ oluşturur. Derin basınç duyusunu alan Pacini cisimcikleri görülür (Can [12]).

2.1.3 Hipodermis

Deriyi altındaki organlara bağlar. Gevşek bağ dokusu bölmeleriyle sarılı yağ dokusudur. Derinin hareketini ve vücut ısının korunmasını kolaylaştırır. Vücudun en belirgin yağ deposudur. Erkeklerde karın çevresinde, kadınlarda kalça ve baldırlarda daha belirgindir (Can [12]).

2.1.4 Derinin Ekleri

Derinin yapısında bulunan ve çeşitli görevler üstlenen ter bezleri, yağ bezleri ve kıllar ile kıl folikülleri derinin ekleri olarak sınıflandırılmaktadırlar.

Ter Bezleri; ekrin ve apokrin olmak üzere iki tip ter bezi bulunmaktadır. Ekrin bezler en yaygın olanıdır. Basit, kıvrıntılı tübüler bez biçimindedir. Salgı hücreleri ve bazal lamina arasında miyoepitel hücreleri vardır. Salgının lümene iletilmesinde rol alırlar. Dermisin derinlerine kadar uzanırlar. Bezin salgı yapan bölümünce ve kıvrıntılı olan boşaltma kanalıyla sürer ve epidermisde geçerek ter delikçisi ile açılır. Apokrin bezler koltuk altı, meme ucu, genital bölge gibi gövdenin bazı bölgelerinde bulunur. Dışkulak yolundaki bezler ve göz kapağındaki Moll bezleri de bu tip bezlerdir. Ekrin bezler gibi deri yüzeyine açılmaz, yağ bezleri gibi kıl foliküllerine açılırlar. Dallı alveoler bezlerdir. Özel bir kokuları vardır.

Yağ Bezleri; en çok yüzde, saçlı deri ve alında bulunur. Dallı alveoler bezlerdir. Holokrin tarzda salgılama yapar. Salgılarını kıl folikülü kanallarına bırakır. Salgılarına sebum adı verilir.

Kıl ve Kıl Folikülleri; kıllar, derinin epidermis tabakasından dışarı doğru uzanan keratin filamanlarının oluşturduğu yapılardır. Kıl folikülleri, kılların geliştiği epidermisin dermise doğru yaptığı çöküntülerdir (Can [12]).

2.2 Yaralar

Dokunun normal anatomik yapısında ve işlevinde çeşitli sebeplerle oluşan bozukluklar yara olarak adlandırılırlar. Hastalık ya da sakatlanmalara bağlı olarak derinin büyük kısımlarının bütünlüğünün bozulması (yaralanması) ciddi derecede işlev kaybına ve

hatta ölüme sebep olabilmektedir. 1993 yılında yayınlanan bir çalışmada, 1992 yılında ABD’de 35.2 milyon ağır deri kaybı vakalarının gerçekleştiği ve bunların yaklaşık 7 milyonunun kronik yaraya dönüştüğü tespit edilmiştir. Vakaların ölümlerle sonuçlanmasının temel sebepleri ciddi sıvı kaybı ve mikrobiyal istiladır (Ratner vd. [13]).

Ciddi anlamda deri kaybına neden olan en yaygın sebep, Amerika’da yılda 1 milyon kişinin acil servislere başvurmasına sebep olan yanık yaralarıdır. Deri kayıplarının diğer sebepleri, travma ve diabetes mellitus, basınç ve venöz stazis sebepli kronik ülserleşmelerdir. ABD’de her yıl çoğu amputasyonla sonuçlanan 2 milyon kronik diyabet ülseri vakası görülmektedir; venöz ülserleri de içeren basınç ülserleri ve bacak ülserleri 2 milyon kişiyi etkilemektedir. Bu ciddi yaralanmaların yılda 8 milyar dolar gibi oldukça yüksek bir tedavi maliyeti bulunmaktadır. 2003 yılında, ABD pazarında biyolojik ve sentetik yara örtülerini de içeren ileri yara bakım ürünleri için 1.7 milyar dolar harcanmıştır ve bu harcamaların gittikçe artması beklenmektedir (Lanza vd. [14]).

Yaralar, çeşitli özelliklerine göre 4 grupta ele alınabilir. Bunlar (Karaca vd. [7]);

- Kalınlığına göre yaralar: Kısmi kalınlıklı, tam kalınlıklı
- Kapanma tarzına göre yaralar: Birinci intansiyon yaraları, ikinci intansiyon yaraları, üçüncü intansiyon yaraları
- Klinik görünümüne, rengine göre yaralar: Siyah-nekrotik yaralar, yeşil-enfekte yaralar, kırmızı-granülasyon yaraları, pembe-epitelizasyon yaraları, karma yaralar,
- İyileşme süresine göre yaralar

Kalınlığına göre yaralardan kısmi kalınlıklı yaralarda, cildin epidermis tabakası yani sadece üst deri hasar görmüştür (epidermal ve yüzeysel kısmi-kalınlıkta yaralar). Bu tip yaraların iyileşmesi rejenerasyon (yeniden epitel oluşumu) ile gerçekleşmektedir. Tam kalınlıklı yaralarda ise (derin kısmi-kalınlıkta ve çok-kalın deri yaraları) cildin epidermis, dermis ve deri altı tabakaları hasar görmüştür. Bu tip yaralar, kas ve kemik dokusunu da içerebilmektedir. Bu yaraların iyileşmesi birkaç aşamalıdır ve iyileşme sonucu yara izi oluşmaktadır (Dabney [15]).

2.2.1 Yanık Yaraları

Deri ve derialtı dokusunun sıcak, sıcak bir madde (güneş, ateş, sıcak su, kızgın yağ, sıcak metal cisimler), yakıcı kimyasal maddeler, elektrik akımı veya radyasyon gibi bir nedenle harabiyeti sonucu oluşan yaralanmalara *yanık* denir (Ashcroft vd. [16]).

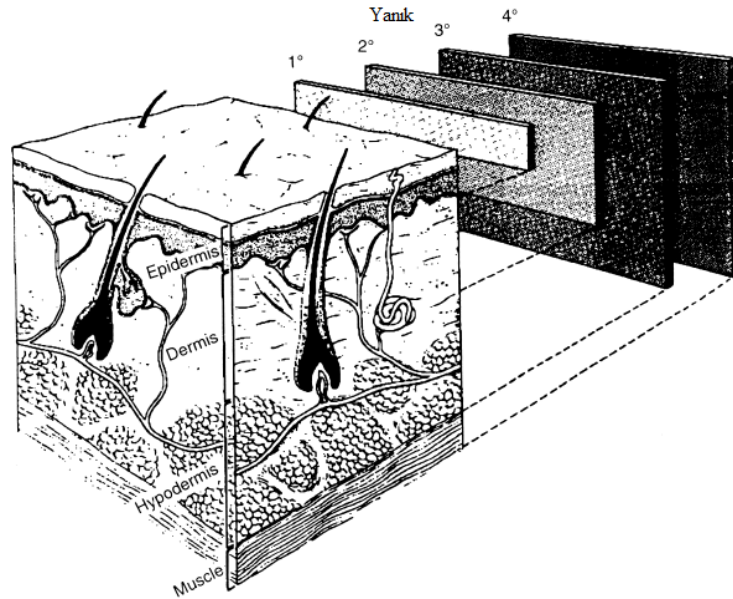
İnsan cildinde 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda oluşan doku hasarı logaritmik olarak artmaktadır. Sıcaklığın yükseklik miktarı ve temas süresine bağlı olarak doku hasarının derecesi değişmektedir. Sıcaklığın sebep olduğu protein denatürasyonu sonucu hücrelerde hasar oluşmakta ancak bu hasarlar çoğunlukla geri döndürülebilir bozulmalar olmaktadır. 45°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda meydana gelen protein denatürasyonu ise hücrenin tamir kapasitesinin üzerindedir. Hücrenin sıcaklığa cevabı her zaman aynı olmadığı gibi statik bir cevabı da bulunmamaktadır. Yanık yarasının çevresi ve bölgesel kanlanma derecesi hücresel cevabın bütünlüğünü tayin etmektedir. Termal yaralanmaya bağlı olarak vücuttaki tüm fizyolojik sistemlerde normal fonksiyonlarda değişiklikler olmakta ve yanık yarasının ciddiyetine paralel olarak bunlar değişiklik göstermektedir (Basu vd. [17]).

Yanık yarasının derinliği maruz kalınan sıcaklığın deride oluşturduğu hasar ve hücre nekrozunun seviyesine göre 3 ayrı kategoride değerlendirilmektedir (Şekil 2.2):

Birinci derece yanıklar tipik olarak güneş kaynaklı yanıklardır ve burada yanık hasarı sadece epidermiste gerçekleşmiştir. Dermis bu yanıktan etkilenmez. Klinik olarak ağrı ile karakterizedir ve kendiliğinden iyileşebilen yanıklardır. Epidermisin en alt tabakasını oluşturan bazal hücrelerin çoğalması ve yer değiştirmesiyle I. derece yanık 4-7 gün içinde iyileşmektedir. Birinci derece yanıklar herhangi bir cerrahi problem taşımadığından vücut yüzde hesabına sokulmamaktadır. (Basu vd. [17]).

İkinci derece yanıklar daha çok sıcak suyla haşlanma, alevle veya sıcak cisimle temas sonucu oluşan yanıklardır ve ciltte kızarıklığa ek olarak su kesecikleri oluşmasına sebep olmaktadır. Çok ağrılı, iltihaplanmaya açık yanıklardır. İkinci derece yanıklar veya kısmi kalınlıktaki bu yanıklar epidermisin tamamı ve dermisin bir bölümünü kapsamaktadır. İkinci derece yanıklar kendiliğinden iyileşen yanıklardır ve bu iyileşme potansiyelini sağlayan kıl folikülleri, ter ve yağ bezlerinin iç yüzeyini kaplayan bazal

hücrelerdir. Kısmi kalınlıkta olan yanıklar parlaktır ve cerrahi eldivenle tutulduğunda altta kolayca kayar, ıslaktır, cilt çok hassas ve yumuşak olup katlanabilmekteyken daha derin olanları daha az hassas olup gittikçe sertleşmeye başlamaktadırlar (Basu vd. [17]). Üçüncü derece yanıklar ise derinin tam kat yanıklarıdır ve 10 mm'den büyüklerinin cerrahi olarak kapatılması gerekmektedir. Eğer yanık derinliği adale, tendon veya kemiğin de yaralanmadan etkileneceği kadar derinse bunlar dördüncü derece yanık olarak da isimlendirilmektedirler. Bu derece ciddi yanıklar genellikle yüksek voltaj elektrik yanıklarından kaynaklanmaktadır. Tam kat yanarak canlılığını yitirmiş deriye yanık eskarı adı verilir, serttir ve genellikle kurudur, karbonize olmamışsa genellikle beyaz renklidir. Üçüncü derece yanığın tedavisi cerrahidir, eskarın erken dönemde kesilip çıkarılması ve greftleme işlemi ile yapılmaktadır. Eğer hastanın durumu cerrahi müdahale için uygun değilse işlem daha uygun bir zamana kadar ertelenmektedir ve bu erteleme 3 haftayı geçerse eskar dokusu aniden ayrışmaya başlayarak yerine granülasyon dokusu ile kaplı deri hasarı bırakmaktadır (Basu vd. [17]).



Şekil 2.2 Birinci, ikinci, üçüncü derece yanıklar ve deri graftının derinliği (Ratner vd. [13]).

2.3 Yara İyileşmesi

Operatif veya travmatik olarak dokunun hasar görmesini takiben her organizmanın öncelikli görevi; kanamayı durdurma, enfeksiyonu önleme, bozulan anatomik bütünlük ile fonksiyonel yapıyı onarmaktır. Lokal yaralanmaya karşı organizmanın cevabı ilk

olarak inflamasyon süreciyle başlamakta ve rejenerasyon ve tamir ile sonuçlanmaktadır. Rejenerasyon ve tamir, doku ve hücre bütünlüğünün yeniden tesis edilmesinde iki temel süreçtir. Rejenerasyon, orijinal yapıdan hem yapı, hem de fonksiyon olarak benzer yeni dokunun meydana gelmesidir. Tamir ise hücre dışı matriksin yeniden sentezlenip birikmesiyle, yani bağ doku oluşumu ile doku devamlılığının sağlanmasıdır. Dermal doku iyileşmesi, hücre çoğalması, hücre göçü ve kollajen sentezi gibi bileşenlerden oluşan dinamik bir olaydır. Tam kalınlıktaki dermal yaralar dermis ve epidermisi kapsamaktadır. Epidermis damarsız bir yapıya sahip ve epitelizeasyon ile iyileşen bir tabaka iken, dermis granül doku oluşumu ve kollajen sentezi ile iyileşmektedir (Karasu ve Bakır [18]).

Onarım, yaralanmaya karşı doku bütünlüğünün yeniden sağlanmasına yönelik olarak vücuttaki tüm sistemlerde ortaya çıkan doğal yanıttır. 20. yüzyılın başlarında antibiyotiklerin bulunması, daha sonraları moleküler biyoloji, immunohistokimya ve en son olarak da biyomühendislik alanlarında sağlanan gelişmeler sayesinde yara iyileşmesinin metabolik, hümmoral ve hüccresel düzeyde anlaşılması kolaylaşmıştır. Yara iyileşmesi ardışık, birbiri ile bağlantılı, karmaşık bir biyokimyasal ve hüccresel olayların bütünüdür ve 8 bölümde değęerlendirilebilir (Uzer [19]):

- i. Doku Hasarı: Mikrodamarsal düzeydedir ve yara içine kanama meydana gelir. Zedelenmiş olan damarlar kan kaybını azaltabilmek için hızla büzüşerek pıhtılaşma yolağını etkinleştirirler. Kan, alt endotel tabakaya temas ettiğinde, trombositler bölgedeki kollajene yapışarak tıkaç oluştururlar. Bu olay, saniyeler içerisinde oluşarak kanamayı durdurur ve primer hemostaz olarak isimlendirilir.
- ii. Pıhtılaşma: Sekonder hemostaz ile sağlanır. Trombositler pıhtılaşma faktörlerini aktive ederken trombin de trombositleri uyarır. Hageman Faktörü kompleman ve kinin sistemlerini uyarır. Ayrıca membran hasarı da araşidonik asit yolağını başlatır. Böylece ortama salınan kemotaktik ve vasoaktif düzenleyiciler birkaç atar damarlarda birkaç dakikalık vasokonstriksiyona yol açar. Bunu aktif vasodilatasyon izler. İntrinsik ve ekstrinsik pıhtılaşma yollarının son ürünü olan fibrin, oluşan tıkaçı sağlamlaştırarak tam hemostazı sağlar. Oluşan pıhtı trombositleri, kan hüccrelerini ve plazma proteinlerini yakalar. Pıhtı içerisinde

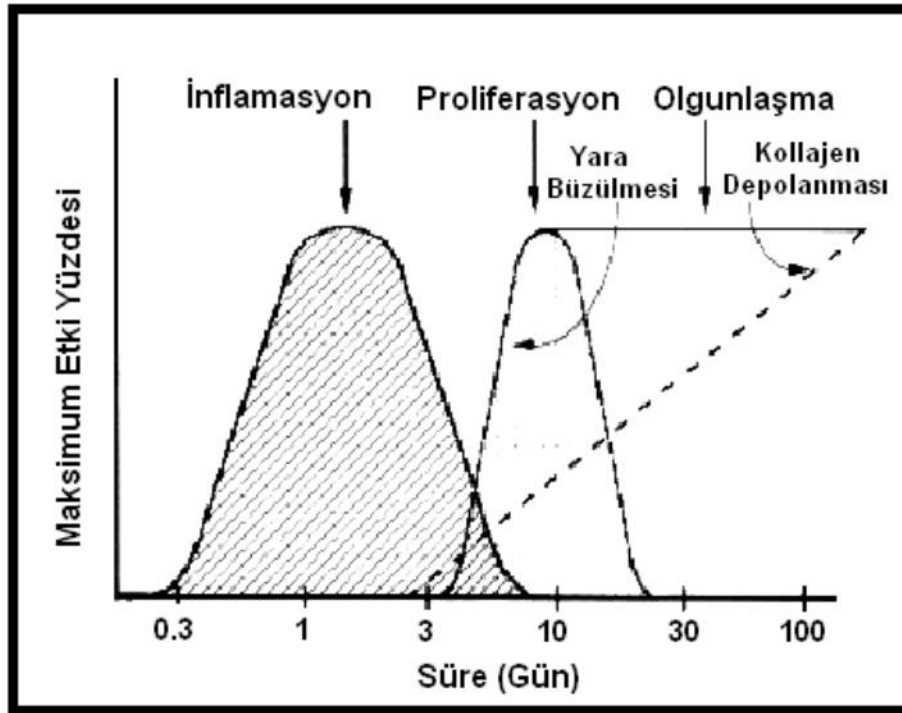
hapsolan trombositlerin yoğun olan granüllerinden salgılanan ADP agregasyonu kolaylaştırırken, serotonin, histamin ve bradikinin ile birlikte damar geçirgenliğini artırır. Alfa granüllerinden salınan çeşitli büyüme faktörleri (TGF- β , PDGF, PFIV) ise inflamasyon hücrelerini kendilerine doğru çekerler.

- iii. Erken İnflamasyon: Kompleman sistemin klasik yoldan aktivasyonu ile birlikte inflamasyon fazı başlar ve yara 24-48 saat içinde granüositler tarafından işgal edilir. Bu hücreleri kompleman ürünlerinden C5a, bakteri kökenli peptid ürünleri ve TGF- β 'yı yara bölgesine çeker. Granüositler bitişik damar endotel hücrelerine marjinasyon ile tutunarak diapedez ile aktif olarak ilerlerler. Ana işlevleri bakterileri ve yabancı debrisı yaradan uzaklaştırarak enfeksiyonu önlemektir.
- iv. Geç İnflamasyon: Dolaşımdaki monositler yara içine girdikten sonra makrofaj şekline dönüşürler ve 48-72 saat içinde baskın hücre grubunu oluştururlar. Yara iyileşmesindeki anahtar hücrelerdir. Kompleman, pıhtılaşma bileşenleri, IgG fragmanları, kollajen ve elastin yıkım ürünleri, sitokinler makrofajları kendilerine çekerler. Makrofajlar, fagositoz yanında büyüme faktörlerinin ve anjiyogenik faktörlerin de birincil kaynağıdır. T lenfositleri bu aşamada yaraya giren en son hücre grubudur (72 saatten sonra). İnterlökin-1, IgG ve kompleman ürünleri tarafından yaraya çekilirler. Salgıladıkları lenfokinlerden İnterferon- γ 'nın endotel üzerinde bağışıklık düzenleyici etkisi vardır. Çeşitli lenfokinlerin fibroblast birikimi ve kollajen sentezi üzerine hem uyarıcı hem de engelleyici etkileri vardır. Bu iki etki arasında hassas bir denge mevcuttur.
- v. Fibroblast Göçü/Kollajen Sentezi: Fibroblastlar büyüme faktörlerinin uyarıları ile hücre dışı matriks içinden yaraya doğru göç ederler. Pıhtıdaki fibrin, fibronektin ve kollajen liflerine yapışarak çoğalır. Fibronektin boyunca ilerleyerek yarayı çaprazlarlar ve kollajen sentezi için bir ağ oluştururlar. 7. günde yaradaki baskın hücre grubunu oluştururlar. 5-7. günde kollajen sentezlemeye başlarlar ve bu 2-3 haftaya kadar doğrusal olarak artar. Yüksek laktat düzeyi, yeterli oksijen düzeyi ve büyüme faktörlerinden özellikle de TGF- β kollajen sentezini uyarır.

- vi. Anjiyogenez: Yeni kan damarlarının oluşumudur ve 4. günde belirginleşir. Birincil uyarıcısı VEGF'dir. Erken dönemde trombositlerce salgılanan TGF- β ve PDGF de dolaylı olarak anjiyogenezi uyarır. Makrofajlar salgıladıkları TNF- α ve FGF gibi maddelerle anjiyogenezde de anahtar rol oynarlar. Tüm bu biyomoleküller mezotel ve endotel hücreleri için kemoatraktan etkinliğe sahiptirler. Endotel hücreleri bir kez çoğalınca yara yüzeyinde kapiller tomurcuklar oluştururlar. Doku plasminojen aktivatörü ve kollajenaz, kapiller tomurcuklardan köken alır ve hücrel istilanın çevredeki kötü damarlanmaya sahip doku içine ilerlemesini sağlarlar. Tomurcuklar halkalardan bir ağ inşa ederler. Bu yapı diğer halkaları birbirine bağlar ve yeni bir kapiller yatak oluşturur. Eritrositler ve plazma, yeni mikrodamarlarda dolaşmaya başlar. VEGF ve diğer anjiyogenik maddelerin üretimi onarım yollarında epidermal ve internal yaralarla, kemik kırıklarında önem göstermektedir. Geçmişteki "yeni damar oluşumunun embriyolojik dönemle sınırlı kaldığı görüşü" 'nün aksine kemik iliği ve periferik dolaşımdaki kök hücre endotel hücre öncüllerinin etkisiyle iskemik dokularda neovaskülarizasyonun oluştuğunu gösteren birçok çalışma olmuştur.
- vii. Epitelizasyon: Epitel hücrelerinin mitozu 48-72. saatlerde başlar. Epitelizasyonu düzenleyen en güçlü büyüme faktörü EGF'dir. Yara temiz, bazal lamina sağlam ve yara nemli tutulmuş ise epitel örtü hızı artar. Kısmi kalınlıklı yaralarda dermisteki epidermal eklerden de çoğalma olurken, tam katlı yaralarda epitel yalnızca yara kenarlarından ilerler. Epitel rejenerasyonun basamakları sırasıyla; bazal hücrelerin hareketi, hücrelerin zedelenen alana göçü, göç eden hücrelerin mitozu, yara alanındaki boşluk dolup hücreler birbirlerine temas edince göç ve mitozun bitmesi, hücrel farklılaşmanın tamamlanmasıdır. Yeni oluşan epitel hiçbir zaman normale dönüşemez. Epitel hücrelerin yara üzerindeki hareketi 24 saatte birkaç milimetredir.
- viii. Olgunlaşma: Kollajen yapım ve yıkımı hücre dışı matriksin yeniden modellenmesi ile birlikte devam eder ve 21 gün sonra sabit bir dengeye ulaşır. Kollajen yıkımı fibroblastlar, granülositler ve makrofajlarca salgılanan matriks metalloproteinazları tarafından sağlanır. Bu enzimler TGF- β tarafından inhibe

edilir. Kollajen miktarı, çapraz bağlanma yoğunluğu ve yapım-yıkım arasındaki denge yaranın gücünü belirler. Erken dönem yara iyileşmesinde çoğunlukla embriyonik Tip III kollajen bulunurken, normal deri oranı olan $4/1 = \text{Tip I} / \text{Tip III}$ oranı elde edilene kadar Tip I ile yer değiştirir. Olgunlaşma fazının süresini hastanın yaşı, genetik yapısı, yaranın tipi, vücuttaki yerleşimi ve inflamasyon periyodunun süresi/yoğunluğu gibi çoklu değişkenler belirler. Yeniden şekillenme hiçbir zaman normal eski haline benzemez. Deri ancak normal gücünün %80'ine ulaşabilir.

Her bir basamaktaki iyileşme oranı birçok etken tarafından belirlenmektedir. Bu nedenle yara iyileşmesi organizmanın bütününden ayrı olarak düşünülemez. Şekil 2.3'de yara iyileşme fazlarının süreleri ve maksimum etki yüzdeleri gösterilmiştir.



Şekil 2.3 Yara iyileşme sürecinde gelişen fazlar (Karaca vd. [7]).

Diyabet olgularında, fagositoz ve iltihabi hücre göçünde ortaya çıkan bozukluklar iyileşmeyi bozarak enfeksiyonlara yol açmaktadır. Ayrıca fibroblast ve endotel hücre çoğalması ile epitelizasyonda bozukluklar, kollajen birikimi ve yara gücünde azalma görülmektedir. Bundan hipergliseminin değil insülin eksikliğinin sorumlu olduğu gösterilmiştir. Nöropati ve damarsal sorunlar da iyileşmeyi kötü etkilemektedir. Travma

ve buna eşlik eden beslenme bozuklukları katabolik ortam yaratarak iyileşmeyi olumsuz etkilemektedir. Bu hastalarda glukoneogenez ve erken hiperglisemi gelişerek negatif azot, potasyum ve fosfor dengesi ortaya çıkmaktadır. Ayrıca serum serbest yağ asidi derişiminde artış ve ketozis; sodyum klorür ve su tutulumu; askorbik asit, tiamin, riboflavin, nikotinamid ve vitamin A düzeylerinde düşüş; çinko, bakır ve demir düzeylerinde eksiklik oluşmaktadır (Uzer [19]).

Protein eksikliği inflamatuvar faz, anjiyogenez, matriks oluşumu ve yeniden modellenmesini olumsuz etkilemektedir. Uzun süre intravenöz beslenen hastalarda esansiyel yağ asidi eksikliklerinin de iyileşmeyi geciktirdiği gösterilmiştir.

Vitamin A fibroplazi, kollajen çapraz bağlanması ve epitelizasyonu uyarmaktadır. Vitamin C kollajen sentezinde lizin, prolinin hidroksilasyonunda kofaktördür ve nötrofil süperoksid yapımı ve bakterilerin yok edilmesinde gerekmektedir. Her ikisinin eksikliğinde de yara iyileşmesi bozulmaktadır (Uzer [19]).

İyonize radyasyonun deri ve yara iyileşmesi üzerine zararlı etkileri deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir. Bu etki yüksek enerjili elektronların DNA'da hasar oluşturması sonucu oluşmaktadır. En fazla etkilenenler hızlı bölünen hücrelerdir.

Steroidler araşidonik asit ürünlerinin salınımını ve makrofaj göçünü engelleyip, nötrofil ve lenfositik T hücre işlevini bozarak inflamasyon basamağını belirgin olarak etkilemektedirler. Ayrıca prokollajen sentezini engelleyerek yara kontraksiyonunu, epitelizasyon ve anjiyogenezi geciktirmektedirler. Yapılan çalışmalarda steroidin antianjiyogenetik etkinliği olduğu ve Vitamin A'nın bu etkileri tersine çevirdiği gösterilmiştir. Kronik olarak steroid kullanımı mevcut hastalarda, dermislerinde incelme ve kollajen miktarında azalma gözlenmektedir.

Yaş etkeninin de yara iyileşmesinde önemli olduğu gösterilmiştir. İltihabi yanıt da yaşla birlikte azalmaktadır. İyileşme basamakları geç başlayıp yavaş seyretmekte ve hiçbir zaman genç yaş grubu düzeyine ulaşamamaktadır.

İskemi, granülasyon dokusu ve hücre dışı matriks sentezini ciddi şekilde bozmaktadır. Yara iyileşmesi sırasında oksijen gereksinimi normal dokuya göre çok artmıştır. Nötrofillerin oksijene bağımlı olması nedeniyle enfeksiyonlara eğilim artmaktadır.

İskemiye yol açan etkenler arasında ateroskleroz, diyabet, vaskülit, kronik ülserlerdeki aşırı fibrozis, ağır anemi, bağ dokusu hastalıkları ve radyasyon sayılabilir.

Yumuşak doku yaralanmalarını meydana geliş süreçlerine göre akut ve kronik yaralanmalar olarak ikiye ayırmamız mümkündür. Akut yaralanma, ani ortaya çıkması, makrotravmatik mekanizması, anatomik bütünlüğün bozulması ve yaralanmaya uygun yaklaşım halinde iyileşmenin düzenli seyri ile karakterizedir. Kronik yaralanma ise daha geç veya yavaş ortaya çıkmaktadır. Akut yaralanmayı izleyen tamir işleminin yetersizliği, uzaması veya sıklıkla akut yakınmaya yol açmayan mikrotravmatik, tekrarlayıcı bir mekanizmanın ürünü olarak karşımıza çıkmaktadır. Kronik yaralanmanın iyileşmesinin seyri akut yaralanmadan farklı olarak düzenli ve zamanında olmayabilir, veya iyileşme prosesi tam bir fonksiyonel anatomik bütünlük geliştirmeyebilir. Bu yetersiz iyileşme sıklıkla uygun olmayan veya eksik tedavi işlemlerinin bir sonucu olarak görülmektedir (Maffuli vd. [20]).

Yara iyileşmesinde en önemli faktörlerden biri, yara ortamının nemli tutulabilmesidir. Nemin yara iyileşmesi sürecine katkısı birkaç yolla olmaktadır. Bunların en temel olanı nemin doku kurumasını ve kabuk oluşumunu engelleyici etkisidir. Yaranın kuruması sonucunda yara kabuğu veya skar oluşmaktadır. Hava ile temas sonucu kuruyan yaraların daha kalın yara kabuğuna sahip olduğu ve yeni epitel oluşumunun daha yavaş gerçekleştiği belirlenmiştir. Epidermal hücreler sadece nemli bölgelerde yara hasarını köprüleştirebilmek için hareket edebilmektedirler; bu nedenle, yara kabuğunun kalınlaşması göçün daha derin bölgelere doğru olmasına sebep olmaktadır. Modern yara örtülerinin en büyük avantajı, yaranın ihtiyaç duyduğu bu nemli ortamı sağlayabilmeleridir (Karaca vd. [7]).

2.4 Yara Örtü Malzemeleri

Biyomalzemelerin en yaygın kullanım alanlarından biri yara örtüleridir. Bilindiği gibi biyomalzeme insan vücudundaki doku, organ veya fonksiyonu düzeltmek-tedavi etmek, geliştirmek veya değiştirmek amacı ile kullanılan ve sürekli olarak vücut akışkanları ya da canlı dokuyla temas eden doğal ya da sentetik malzemeler şeklinde tanımlanmaktadır. Biyomalzeme bilimini anlamak için mutlaka bilinmesi gereken tanımlardan bir tanesi de biyoyumluluktur. Williams 1987 yılında biyoyumluluğu

spesifik bir uygulamada malzemenin konakta makul cevap oluşturma kabiliyeti olarak tanımlamıştır. Biyomalzemeler, hemodiyaliz membranı, üriner kateter, kontakt lens, kalça-eklemi protezleri, dental implantlar gibi çok çeşitli uygulamalara sahiptir (Ratner vd. [13]).

İnterdisipliner bir alan olan biyomalzeme biliminde, bir biyomalzemenin üretimi, satışı ve uygulanması aşamasında malzemenin kullanım amacına göre fizyoterapistler, diş hekimleri, metalürji mühendisleri, polimer kimyacıları, biyomühendisler, makine mühendisleri, biyokimyacılar, veterinerler, endüstriyel tasarımcılar, düzenleme ve patent uzmanları ile cerrahlar sürece dahil olabilmektedirler (Ratner vd. [13]). Biyomalzemelerin üretiminde kullanılan malzeme grupları metal, seramik, polimer ve kompozitlerdir (Özkoç [21]). En yaygın malzeme türü polimerler olup, bunlar da doğal ve sentetik polimerler olarak sınıflandırılmaktadırlar. Poli(glikolik asit), poli(laktik asit) (ve bunların kopolimerleri), poli(p-dioksanon), ve trimetilen karbonat gibi biyobozunur polimerler, poli(HEMA), poli(etilen teraftalat), poli(tetrafloroetilen) sentetik gruba örnek olarak verilebilir. Doğal polimerler ise, kollajen, jelatin, albümin gibi protein yapısında; ve selüloz, hiyalüronat, kitin ve aljinat gibi polisakkarid yapısındaki biyopolimerlerdir (Liu vd. [22]). Uygulama alanına, yerine ve süresine bağlı olarak sentetik veya doğal polimerlerin çeşitli avantaj ve dezavantajları söz konusudur.

Yara örtülerinin kullanımı binlerce yıl öncesine dayanmaktadır. Yara tedavisinde keten gibi kumaşların kullanımı, örgülü ve emici özelliğe sahip pamuk gazlı bezlerin 1871 yılında kullanıma girmesine kadar, en az 4000 yıl devam etmiştir. En eski tıbbi kayıtlardan olan (M.Ö. 1615 tarihine kadar giden) Edwin Smith Cerrahi Kayıtları'nda, yara örtülerinde bez şeritlerin ve alçının kullanımından bahsedilmektedir ve kapatılan yaraların açık yaralardan daha hızlı iyileştiği vurgulanmaktadır (Karaca vd. [7]).

Çok çeşitli tiplerde yaraların bulunması ve bunların pek çok farklı iyileşme fazları bulunması farklı tiplerde yara örtülerinin evrimine izin vermiştir. 1960'lı yıllardan önce yara örtüleri iyileşme prosesinde çok küçük etkileri bulunan pasif ürünler olarak düşünülmüş ve tasarlanmıştır. Daha sonraları 1960'larda Winter [24] yara iyileşmesi için optimal çevre şartlarının oluşturulması ve optimal çevre yaratmada yara örtülerinin aktif olarak rol alması gerektiğinden bahsetmiş, aktif yara örülerinin geliştirilmesine

öncülük etmiştir. Winter'ın yarattığı bu farkındalıkla geleneksel pasif yara örtülerinden ziyade daha fonksiyonel, kapladığı yarayla iletişim yoluyla nemli bir iyileşme ortamı sağlayabilecek aktif yara örtüleri geliştirilmeye başlanmıştır. Geleneksel yara tedavisi dezenfeksiyon, debridman (yaradaki tüm yabancı maddeleri uzaklaştırma) ve doğal iyileşme prosesine uygun nemli ortam oluşumunu sağlamayı içermektedir. İdeal bir yara örtüsünün taşınması gereken kriterler şu şekilde sıralanmaktadır:

- Nemli bir ortam sağlayabilmeli,
- Bakteriyel bariyer rolü üstlenerek ikincil enfeksiyonlara karşı yarayı koruyabilmeli,
- Yeterli miktarda gaz geçişine olanak sağlayabilmeli,
- Salınan eksudatı travma oluşturmada uzaklaştırabilmeli,
- Elastik olmalı, antijenik olmamalı,
- Yara şekline uyum sağlamalı
- Isıl yalıtım sağlamalı
- Kanamayı durdurmak için basınç uygulayabilmeli
- Sargıdan sızıntı olmasını önleyebilmeli
- Kolay uygulanabilir ve kolay çıkarılabilir olmalıdır (Karaca vd. [7]).

Yanık yara örtü malzemeleri kullanımına göre iki temel kategoriye ayrılırlar (Purna ve Babu [25]):

- i. Kısa dönem uygulamalı yara örtüleri: Bu tip örtülerin düzenli aralıklarla değiştirilmesi gerekmektedir.
- ii. Uzun dönem uygulamalar-Deri ikameleri: Bu tip örtüler kendi içlerinde ikiye ayrılırlar:
 - a. Geçici: Yeni oluşmuş bölgesel sıklıkta yaralara, iyileşmenin tamamlandığından emin olunana kadar uygulanır.
 - b. Yarı-Kalıcı: Otograft uygulamasına kadar tam kalınlıkta yaralara uygulanır.

Diğer yandan, örtü malzemeleri kullanım tipleri dışında sıklıkla kullanılan malzemelerin yapısına göre de sınıflandırılırlar. Yara örtü malzemesinin hazırlandığı malzemeye göre geleneksel, biyolojik ve sentetik yara örtüleri olarak sınıflandırılmaktadırlar. Sayılan bu her üç kategori için de:

i. Primer yara örtüleri: Yara yatağı ile fiziksel temas kuran örtüler.

ii. Sekonder yara örtüleri: Primer örtüleri kaplayan örtüler.

iii. Ada örtüleri: Merkezi absorban bölümü adhezif bir bölümle çevrelenmiş örtülerdir.

Çizelge 2.1’de Türkiye Yara Bakımı Ürünleri Kodlama Sistemi (TYBÜKS)’nin belirlediği pasif yara örtüleri kategorizasyonu görülmektedir. Bu kodlama sistemi, hangi yara örtüsünün hangi kategoride değerlendirilmesi gerektiğini göstermesi açısından önemlidir. Bu kodlama sisteminde yer alan yara örtülerinin kullanım alanları; cerrahi işlem sonucu oluşmuş yaraları, travmatik yaraları, bası yaralarını, diyabetik, nöropatik yaraları, arteriyel, venöz, lenfatik bacak yaralarını, yanıkları, onkolojik yaraları, greftlenmiş ya da cerrahi olarak kapatılmış yaraları kapsamaktadır (Karaca vd. [7]).

2.4.1 Geleneksel Yara Örtüleri

Bu yara örtü malzemeleri gazlı bez gibi tekstil malzemelerinden yapılmıştır. Bunlar çok az emilim sağlamak ya da hiç emilim sağlamamakta ve nemin buharlaşmasına izin vererek yaranın kurummasına sebep olmaktadır. Ayrıca, 64 kat gazlı bezin bile yaraya bakteri geçişini önleyemediği belirtilmiştir. 1980’lerde yapılan ilerlemelerle, parafin temelli absorban yara örtüleri ile karbolik asid ve merkürük klorür, penisilin ve polimiksin kremleri gibi antibakteriyel ajanlar kombine edilmiştir. Daha sonraları parafin yerine silikon kullanılarak örtünün uzaklaştırılmasının daha az travmatik olması sağlanmıştır. Geleneksel yara örtülerinin tam kalınlıkta yaraların tedavisinde yetersiz olması sebebiyle sentetik ve biyolojik yara örtülerinin geliştirilmesine ağırlık verilmiştir (Purna ve Babu [25]).

2.4.2 Sentetik Yara Örtüleri

Bu yara örtüleri şu şekilde sınıflandırılırlar:

Filmler, homojen yara örtüleridir ve bir tarafı adhesif olan polimer tabakasından oluşmaktadır. Bunlar yüksek derecede elastomerik ve transparanlardır. En fazla

kullanılan polimerler poliüretan, polietilen, poli(ε-kaprolakton), poli(tetrafloroetilen)'dir.

Çizelge 2.1 Türkiye Yara Bakımı Ürünleri Kodlama Sistemi (TYBÜKS)'nin belirlediği pasif yara örtüleri kategorizasyonu

TYBÜKS pasif yara örtüleri
Kompozit Yara Örtüleri
Transparan Film Örtüler
Hidrokolloid Örtüler
Hidrofiber Örtüler
Hidrokapiller Örtüler
Köpük (foam) Örtüler
Alginat Örtüler
Yara Doldurucuları
Silikon Jel Tabakaları
Antibakteriyel Örtüler
Hidrojel Örtüler
Kompresyon Bandajları
Özel Emici-Yapışmaz Yara Örtüleri
Koku Absorbe Ediciler
Yara Temas Tabakaları
Yara Temizlik Ürünleri
Deri Greftleri ve Greft Eşdeğerleri
Diğerleri
a) Polisakkaritli Örtüler
b) Paste Bantlar
c) Ballı Örtüler
d) Parafin Gaz Yara Örtüleri
e) Bariyer Krem ve Örtüler
f) Kollajenli Örtüler
g) Büyüme Faktörü Örtüler
h) Hyaluronik Asitli Örtüler
i) Enzimatik Debridman Ürünleri

Film yara örtüleri yüzeysel yaralar için uygundur, ama emme kapasitesi düşüktür ve su buharını geçirmezler. Bu da yara örtüsünün altında sıvı birikmesine neden olmaktadır. Ayrıca bakterilerin yara yüzeyine geçişine izin vermektedirler. Bu nedenlerden dolayı geniş ve büyük yaralarda kullanışlı değildirler (Turner [26]).

Köpük ve spreyleyler; Köpük yara örtüleri polimer solüsyonunun köpük haline getirilmesiyle oluşturulmaktadır. Bu polimerler poli(vinil alkol) ve poliüretandır. Bunlar film yara örtülerinden daha üstündürler. Çünkü termal yalıtım sağlamakta ve yara

yüzeyinde nemli ortam oluşmasına yardımcı olmaktadır. Bu yara örtülerinin gaz geçirgenliği vardır ve ayrıca yapışmaz hafif ve rahattırlar. Örneğin silastik köpük ve liyoköpük in situ olarak şekillendirilebilmektedir ve düzensiz oyuk şeklindeki yaralarda kullanılması avantajlıdır. Bununla birlikte bu yara örtülerinin belirli anatomik bölgelerde kullanımı zordur. Sprey yara örtülerinin ise yara yüzeyinde kullanımı daha rahattır ve bunlar tamamen taşınabilirler. Çoğu spre yara örtüleri kopolimerdir. Örneğin Aeroplast, hidroksivinil klorür asetat modifiye maleik reçine esterlerinin kopolimeridir. Yapılan çalışmalar sonucu spre ile köpük kombinasyonundan (örn. Jelatin bazlı köpük kombinasyonları) yara örtüleri geliştirilmiştir (Turner [26]).

Kompozit yara örtüleri iki veya daha fazla tabakadan oluşmaktadır. Dış tabaka dayanıklılık ve elastisite için tasarlanmaktadır ve buharlaşma oranını kontrol etmektedir. İç tabaka ise maksimum yapışma ve elastisite için tasarlanmıştır. Kompozit yara örtüleri aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (Turner [26]):

- i. Hidrokolloid yara örtüleri: Bu yara örtüleri elastomerik adhesif ve jel ajanlarının kombinasyonu sonucu oluşturulmuştur. Karboksi metil selüloz en sık kullanılan malzemedir ve yara yatağındaki sıvıyı çok iyi bir şekilde absorblar. Örneğin, Granuflex, Epigard, Biobrane.
- ii. Hidrojel Tabaka: Bunlar hidrofilik polimerlerin çapraz bağlarla bağlanması sonucu oluşan üç boyutlu yapılardır. Sulu çözeltilerle etkileşmektedirler. En yaygın kullanılan polimer polietilen oksit, poliakrilamid ve poli(vinil pirolidon)'dur. Eşsiz soğutma kabiliyetleri nedeniyle, termal yanıklar için ilk yardım tedavilerinde kullanılabilmektedirler. Bununla birlikte kullanım sırasında çok kaygandır ve yüksek kayma gerilmesine sahiptirler.
- iii. Hidrojel Amorf: Hidrojel tabakaya benzemektedirler. Fakat polimer tabakaya çapraz bağlı değildirler. Bunlar küçük miktarda kollajen, aljinat ve kompleks karbonhidrat içermektedirler ve yaradaki kuru ve kabuk kısımlara nem sağlayarak otolitik debridmanı kolaylaştırmaktadırlar. Ancak amorf hidrojin viskozitesi nedeniyle yara yatağında tutulmaları zor olmaktadır. Bununla birlikte, hidrojel yara örtüleri yüksek oranda yarayı kapatma özelliği ve yeniden epitel doku oluşturma özelliği göstermektedirler.

- iv. Jeller: Jel temelli birçok yara örtüsü geliştirilmiştir. Örnek olarak Wicherlie ve Lim hidroksi etil metakrilat (HEMA) bazlı hidrojel üretmişlerdir. Bu hidrojel biyouyumludur ve toksik değildir. Daha sonra Nathan ve arkadaşları PHEMA ve PEG bazlı (Hydran) hidrojel geliştirmişlerdir. Bu jel ise doğrudan yara yüzeyi üzerinde oluşturulmaktadır. Sonrasında 1977 yılında Wokalek ve arkadaşları tarafından Geliperm geliştirilmiştir. Bu ise agaroz ve akrilamidin polimerizasyonu ile oluşturulmuştur.
- v. Süper absorbentler: Bu yara örtüsü ada konfigürasyonuna sahiptir ve ekstra ince hidrokolloid adhesif kısım içermektedir. Merkez bölgede süperabsorbent partiküller ile kaplıdır. Örnek olarak Combiderm, Conva Tec vb verilebilir.

2.4.3 Biyolojik Yara Örtüleri

Bu tip yara örtüleri genellikle doğal dokulardan türevlenen, kollajen, elastin ve lipidlerin çeşitli formülasyonları ve kombinasyonlarını içeren malzemelerdir. Biyolojik yara örtü malzemeleri aşağıda sıralanan sebeplerden ötürü sentetik yara örtülerinden oldukça üstündürler (Purna ve Babu [25]):

- Suyun buharlaşmasını engelleyecek bir bariyer oluşturarak yarayı dehidrasyondan korur;
- Buharlaşma kaynaklı ısı kaybını azaltır;
- Yara eksudatından protein ve elektrolit kaybını azaltır;
- Yarayı bakteriyel kontaminasyondan korur ve böylece hastayı sepsisten korur.
- Daha az acılı yara örtü değişimine olanak tanır;
- Eklemlerde acısız harekete imkân tanır;
- Yaranın debridmanını kolaylaştırır;
- İyi granülasyon doku yatağı oluşturur;
- Başarılı bir otograft uygulaması için test yapılmasında kullanılabilir;
- Bölgesel sıklıkta yanıkların ve donör bölgesinin iyileşme süresini kısaltır;
- İyileşmesinin kalitesini arttırır, fibroblast sızmasını engeller, kontraksiyonu azaltır.

Biyolojik yara örtüleri allograftlar, domuzlardan, köpeklerden ve diğer türlerden heterograftlar ile embriyonik membranlar, embriyofetüs ve neonatal deri, sıgırdan ve

diğer kaynaklardan elde edilen kollajenden inşa edilmiş filmler, fibrin, kültüre edilmiş epidermal greftler, dermal matriks greftler ve kültüre edilmiş dermal matriks kompozit greftler arasında değişmektedir(Purna ve Babu [25]).

- i. Allograft: Allograft deri normalde herhangi bir aile üyesinden elde edilebilir ancak çoğunlukla kadavralardan toplanmaktadır. Taze dondurulmuş liyofilize allograftlar termal yaralar ve özellikle tam sıklıkta yanıklar için en etkili olanlarıdır. Amniyotik membranlar da allograft olarak kullanılmışlardır. Ancak, bunlar yarada dehidrasyona sebep olan buharlaşma yoluyla su kaybını engellemede etkisizdirler.
- ii. Zenograft: Allograftlara alternatif olarak kaynakları hayvanlar olan greftlerdir. İnsan derisine olan yapısal benzerliğinden dolayı domuz derisi en sık kullanılan zenografttır.

Zenograft ve allograftların temel dezavantajı damarlanması ve doku reddinin engellenmesi için immün baskılayıcıların kullanılmasıdır. Ayrıca immün baskılayıcıların kullanılması yara enfeksiyonu riskini arttırmaktadır. Bundan dolayı, allograft/zenograft kullanımının dezavantajları şu şekilde sıralanabilir:

- Zahmetli ve oluşturulması pahalı;
- Sterilize edilmesi zor ve aseptik olarak depolanması zor;
- Kısa bir raf ömrüne sahip;
- Potansiyel olarak antijenik;
- Beklenmedik kirleticiler içermesi olasıdır;
- Bir ya da daha çok karmaşık yapı taşına karşı aşırı hassaslık ihtimali taşır.

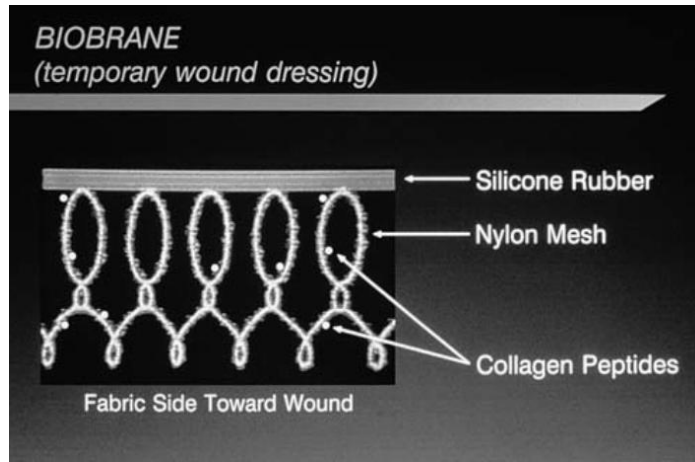
2.4.4 Geçici Yara Örtüleri

Geçici yara örtülerinin dört temel uygulaması bulunmaktadır: Acı kontrolünü kolaylaştırmak ve deri uzantılarından epitelizasyonu sağlamak için donör bölgelerinde örtü malzemesi olarak, aynı sebeplerle temiz yüzeysel yaralarda örtü malzemesi olarak, derin dermal yaralar ve tam-kalınlıkta yaralarda otograft uygulanana kadar ya da uygulanmış otograftlarda iyileşme gerçekleşene kadar geçici fizyolojik kapama sağlamak için ve şüpheli yara yataklarında test grefti olarak kullanılabilir (Ratner vd. [13]).

2.4.4.1 Sentetik Membranlar

Yüzeysel yaralar ve donör bölgelerinin iyileşmesi için buhar ve bakteriyel bariyer olarak görev yapacak ve acıyı kontrol edecek pek çok yarı geçirgen membran örtü malzemesi mevcuttur. Bunlar aynı zamanda yüzeysel yaralarda ve tam-kalınlıkta yaralarda iyi etki gösterebilmektedirler.

Bu tür sentetik membran yara örtü malzemelerinden biri olan çift tabakalı Biobrane® (Mylan Laboratories, Inc.) oldukça yaygın bir şekilde kullanılan yapısında hücre içermeyen geçici deri ikamesidir. Bu ürün su kaybına ve mikrobiyal istilaya karşı bariyer oluşturan silikon bir film tabakasından imal edilmiş bir yara örtü malzemesidir (Şekil 2.4). Silikon filme parça parça yerleştirilmiş ve hidrofilik tip I domuz kollajenine kovalent olarak çapraz bağlanmış nylon iplikçikler bulunmaktadır. Yara yatağı bu üç boyutlu kompleks dokuyla temas ettiğinde nylon matriks pıhtılaşmayı artırır ve membranın yara yatağıyla etkileşiminin güçlendirir. Membran yeni epitel oluşumu gerçekleşene kadar yaraya yapışık kalır (Ratner vd. [13]).



Şekil 2.4 Biobrane'in şematik gösterimi.

Diğer bir ticari yapısında hücre içermeyen deri ikamesi Integra®'dır. Yannas ve Burke'ün çalışmasından yola çıkılarak tasarlanan Integra® epidermal tabaka olarak silikon bir membranın dermal tabaka olarak ise sığır kollajeni ve köpek balığından elde edilen kondroitin-6-sülfat glikozaminoglikanın kullanıldığı çift tabakalı yara örtüsüdür. Silikon tabaka su geçirmez özelliktedir ve enfeksiyonlara karşı koruma sağlamaktadır. Yaranın Integra® ile kapatılmasının ardından yara 2-3 hafta içinde damarlanmaktadır. Damarlanma gerçekleştikten sonra yüzeysel silikon tabakası kaldırılarak yerine çok ince

yarık deri grefti uygulanmaktadır. Hızlı ulaşılabilmesi, yeni dermis oluşumuna zaman sağlaması ve iyi estetik sonuçlar doğurması açısından avantajlı olan Integra®'nın olumsuz yanı ikinci bir işlem gerektirmesidir.

Alloderm® ise temel olarak hücrelerinden arındırılmış kadavra dermisinden köken alan bir matriksten oluşturulmaktadır. Kadavradan alınan deri tuz ile muamele edilerek epidermisin uzaklaşması sağlanmaktadır. Ardından hücresel malzemenin uzaklaştırılması için bir çözelti ile ekstrakte edilen malzeme immünolojik açıdan inert hale getirilmek için dondurarak kurutulmaktadır. Alloderm® fibroblastlar ve endotel hücreler için doğal bir matriks oluşturarak yeni dermis oluşumuna aracılık eden ticari bir yara örtüsüdür.

Yapısında hücre taşıyan ve aynı zamanda geçici bir deri ikamesi olan Transcyte® nylon ağ ile yarı izin verilebilir ve biyouyumlu silikon tabakadan yapılmış çift katlı bir yara örtüsüdür. Yeni doğan sünnet derisinden alınan allojenik fibroblastlar ağ yapısı içine yerleştirilerek hücre dışı matriks oluşturana kadar 3-6 hafta büyütülmektedir. Böylece yara iyileşmesini arttırmak amaçlanmaktadır. Yara bölgesine implante edilen malzeme kendiliğinden ayrılma gerçekleşene kadar yara üzerinde bırakılmaktadır. Transcyte® yanıklarda kullanılmak üzere FDA onayı almıştır (Alrubaiy ve Al-Rubaiy [27])

Araştırmaların önemli alanlarından biri hücre çoğalmasını ve/veya hücre kemotaksisini indükleyerek yara iyileşmesini arttıran büyüme faktörleri üzerinedir. Yara çevresine hücreler tarafından salınan pek çok büyüme faktörü proteinini kodlayan genler tanımlanmıştır ve bu proteinlerin büyük bir çoğunluğu rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmiştir. Bu büyüme faktörü proteinlerinin pek çok çeşidi merhem olarak ya da yaraya doğrudan salım yapacak şekilde biyomalzemelere eklenmiş olarak test edilmiştir. Ayrıca büyüme faktörlerinin salımı için gen terapi yaklaşımları da araştırılmıştır. Kültüre edilmiş keratinositler yüksek miktarda yara iyileşmesini sağlayan büyüme faktörleri salgılayacak şekilde genetik olarak modifiye edilmiştir ve prelinik çalışmalarda test edilmiştir (Eming vd. [28]).

Enfeksiyon ve bakteriyel kolonizasyon yara iyileşmesinin gecikmesinde etkili olan önemli faktörlerden biridir. Şimdiye kadar sistemik ve yüzeysel antibiyotiklerin çok miktarda kullanımı sonucu dirençli bakteri soylarında (metilisin-dirençli Staphylococcus

aureus ve vancomisin-dirençli *Enterococcus faecalis* ve *Pseudomonas aeruginosa*) ciddi bir artış meydana gelmiştir. Bu sebeple, enfeksiyon kontrolünde ve yara iyileşmesinin arttırılmasında etkili antimikrobiyal yara örtülerinin kullanımı önerilmiştir (Stashak vd. [29]).

Gümüş, iyot, ve hatta bal gibi pek çok farklı antimikrobiyal ajan içeren çok çeşitli antimikrobiyal yara örtüleri mevcuttur. Seçim yaparken etkinliğinin spesifitesi, verimliliği, sitotoksitesi ve alerjik özellik göz önünde bulundurulmalıdır (Fletcher [30]).

Balların büyük kısmı ancak başta manuka balının antimikrobiyal özellikte olduğu bilinmektedir. Bu balın hidrojen peroksit salarak ve ayrıca eşsiz manuka faktörü (UMF) denilen sahip olduğu farklı bir antimikrobiyal ajan aracılığı ile etki gösterdiği düşünülmektedir. Ancak balın örtü malzemelerinde kullanıldığı standartlaştırılmış bir protokol bulunmamaktadır (Fletcher [30]).

Ticari olarak mevcut olan iyot içeren örtü malzemesi Iodosord® (Smith& Nephew, Hull, UK) iyot içeren çapraz bağlı polimerize dekstrandan imal edilmiştir. Yara örtüsü nemli yara çevresinde su ile etkileştiğinde elementel iyot salınarak antibakteriyel etki göstermekte ve makrofajlarla etkileşime geçerek TNF- α ve IL-6 üretmelerini sağlamaktadır. Kontamine yaralarda uygulanması için en uygun fazın tamirin inflamatuvar evresinin erken safhaları olduğu bildirilmiştir (Stashak vd. [29]). İyot içeren örtüler genellikle sarı renklidir ve iyot kullanıldıkça rengi beyaza dönmektedir. Bu özellik sayesinde yara örtüsü antimikrobiyal özelliğini kaybettiğinde kolaylıkla tespit edilebilmektedir (Fletcher [30]).

Gümüşün aerobik, anaerobik, gram pozitif ve gram negatif bakteriler ve bunlar kadar lifsi mantarlara ve virüslere kadar oldukça geniş bir etki alanına sahip antimikrobiyal ajan olduğu keşfedilmiştir. Etkinlik, toksisite ve potansiyel direnç arasındaki denge için en uygun gümüş miktarının ne olduğu hala tartışma konusudur. Gümüş ürünleri yara bölgesi dışındaki deriyle temas ederse bölgesel renk değişikliklerine ve iç organlar tarafından emilirse organ fonksiyonlarında bozulmaya sebep olabilmektedir. Bu sebeple yara örtüsünden yara bölgesine salınan gümüş miktarının ve yayılma alanının iyi bir şekilde belirlenmesi ve optimum gümüş miktarının tespiti önem taşımaktadır (Fletcher [30]). Pek çok ticari gümüş klorür kaplı nylon örtü malzemesi bulunmaktadır

(Silverlon® Argentum, Lakemont, GA; Acticoat® Antimicrobial Barrier, dressing, Westaim Biomedical Corp., Ft. Saskatchewan, Alberta, Canada; Actisorb® Silver 220, Johnson & Johnson Products Inc, New Brunswick, NJ). Silverlon®'un antifungal olduğu ve Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus equi subspecies zooepidemicus, and Staphylococcus aureus'a karşı etkili olduğu belirlenmiştir.

Çok etkili bir Antimikrobiyal Gazlı Bez Örtü tipi olan Kerlix® (Antimicrobial Dressing, Tyco Health Care Kendall, Mansfield, MA) geliştirilmiştir. Bu gazlı bez örtü, çok geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahip ve aynı zamanda biyoyumlu olan polihekzametilen biguanid (PHMB) ajan içermektedir. Kerlix® örtüler yara örtüsü boyunca bakteriyel kolonizasyonu önlerken yara bölgesine bakterilerin göç etmesine de engel olurlar. Bu örtüler için önerilen en iyi uygulama açık eklem boşuklarında bulunanyaralarda yara iyileşmesinin inflamatuvar ve debridman fazları boyunca uygulanmasıdır.

Antibiyotik emdirilmiş kollajen süngerler ortopedide ve yumuşak doku yaralanmalarında geniş bir kulanıma sahiptir. Bu ürünlerden biri olan Collatamp G® (Schering Plough, Kenilworth, NJ) denatüre tip 1 sığır kollajenine gentamisin emdirilmesi ile hazırlanmaktadır. Bu yara örtüsü hemostatik etki gösteriren enfeksiyona karşı iyileştirici ve koruyucu etkisi olduğu da belirlenmiştir (Stashak vd. [29]).

Son yıllarda kuaterner veya biyoaktif molekül grupları ile fonksiyon kazandırılmış polimerler ve kopolimerleri içeren farklı sınıflarda antimikrobiyal makromolekül sistemleri geliştirilmektedir ve çoğunlukla başarılı biyosidal maddeler olarak kullanılmıştır. Bu çalışmalar doğrultusunda protonlanmış amin grupları içeren kısmen hidrofobik yapıda olan polimerler sentezlenmiş ve çalışılmıştır.

Uzun alkil substituentleri veya hidrofobik alkil kuyrukları olan amonyum/fosfonyum fonksiyonel gruplarına sahip katyonik kuaterner amfifilik polimerler ve kopolimerler ile antimikrobiyal gruplar içeren N-halaminler ve fenol türevleri gibi polimerler farklı alanlarda antimikrobiyal polimerler olarak geniş kullanım alanları bulmaktadır.

Antimikrobiyal etki mekanizmalarının belirlenmesi için amonyum polibazlar (polilizin, poliallilamin, poli(etilenimin)(PEI)) gibi lineer katyonik polielektrolitler ve kuaterner amonyum polituzları (poliionenler, kuaterner poli(vinilpiridin)) ile lipid hücre membranları arasındaki etkileşim incelenmiştir. Buna göre katyonik polimerin amonyum grupları hücre membranındaki negatif yüklü lipid molekülleri ve membran proteinleri ile etkileşime girmektedirler. Bu etkileşim sonucunda lipidlerin çift tabakalı hücre membranının iç bölgesine bakan negatif yüklü grupları içten dışa yer değiştirmektedirler (flip-flop etkisi) ve bu negatif yüklü lipidlerin yarılmaya ve hücre membranının bütünlüğünü kaybetmesine yol açmaktadır (Timofeeva ve Kleshcheva [71]).

2.5 Kriyojeller

Modern polimer kimyasının bakışıyla jeller polimer-immobilize çözücü sistemler şeklinde yapılandırılmış nispeten kararlı üç boyutlu ağ yapısında olan makromoleküllerdir. Ağın morfolojisi (monofaz ve heterofaz) bağların kimyasal doğası ve jel üretim metodu ile tarif edilir (Papkov [31]).

Genel olarak yapılarına çözücü alabilen ve çözücü alma sığası kendi ağırlığının en az %20'si olan çapraz bağlı polimerler *kserojel* olarak adlandırılır. Çözücü su olunca yapı *hidrojel* adını almaktadır. Son yıllarda hem bilimsel hem de teknolojik açıdan önemi artan hidrojeller, üç boyutlu yapılardır. Temelde hidrofilik (su seven) kopolimer ya da homopolimerlerden oluşturulurlar. Kimyasal ya da fiziksel çapraz bağlarıyla çözünmez durumdadırlar. Çapraz bağlar ağ yapı ve fiziksel bütünlük sağlarlar. Bu yapılarda bağlar kovalent ya da iyonik olabilirler. Bir jelin hidrojel olabilmesi için; yapısında -OH, -NH₂, -COOH veya -COOR gibi polar su sever fonksiyonel grupların olması gerekmektedir. Bu grupların su ile etkileşerek hidrojen bağı oluşturması sayesinde, hidrojeller yapılarında çok fazla su tutabilmekte; yumuşak ve esnek yapıda olmaları gibi daha birçok fiziksel özellikleri açısından da canlı dokularla çok büyük benzerlikler göstermektedirler (Taşdelen [32]).

Polimerde ağa tabi olan çözücü (hidrojeller için su), polimerin yoğun bir polimer kütlesi şeklinde çökmesini engelleyerek ve çözünen maddelerin jelin içine ve dışına difüzyonuna izin vererek jelin stabilitesini korumakta kritik bir rol oynar. Jel sistemlerin

büyük çoğunluğu geri dönüşümlü deformasyonlar geçirebilirler (Ross-Murhy ve McEvoy [33]). Jel üretmenin iki temel yolu vardır: (1) uygun bir düşük-molekül ağırlıklı sıvıda polimer (blok, film, fiber veya toz halinde) ya da kserojelin (çözücüsüz çapraz bağlı polimer) şişmesi, (2) sıvı ortamda jel oluşumu (çözelti ya da jel-oluşum ajanlarının kolloid yayılması).

İkinci yol en çok kullanılan metottur. Burada, başlangıç sistemi jelleşmenin başlayacağı monomer çözeltisini içerir. Jelleşme dallanmış polimerizasyon sonucu, kimyasal çapraz bağlanma sonucu kendi kendine jel oluşumu şeklinde veya kolloidal çözeltinin jele doğru faz değişimi ile meydana gelir.

Kriyotropik jelleşme (*kriyojelasyon* veya *kriyoyapılaşma*), jel oluşturma potansiyeli olan sistemlerin kriyojenik davranışının bir sonucu olarak meydana gelen spesifik bir jel oluşumu tipidir. Donmuş koşullarda oluşan böyle kriyojelleşme ürünleri *kriyojeller* (Yunancada kryos(κρυος) buz anlamına gelir) olarak adlandırılırlar (Lozinsky vd. [34]).

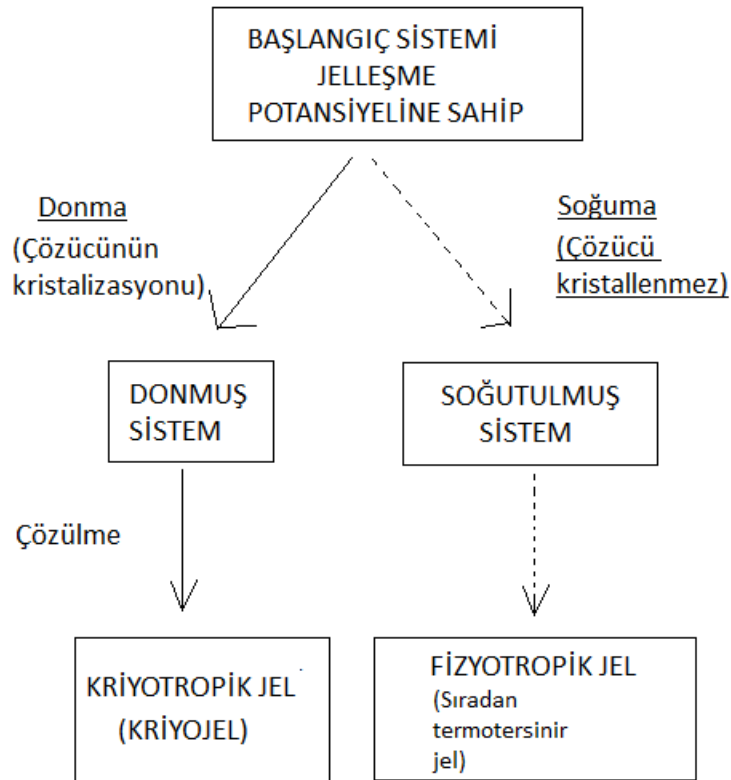
Kriyojelasyon, kriyojel olarak adlandırılan, birbiriyle bağlantılı süpermakrogözenekli yapıya sahip ve yüksek elastisite, mekanik dayanıklılık, kurutmadan sonra gözenekli yapıyı muhafaza edebilmesi ve sıvı yüzeyle temas ettiğinde hızla şişebilmesi gibi sıra dışı özellikleri bir araya getiren makrogözenekli bir hidrojel hazırlamanın yeni bir tekniğidir.

Kriyotropik jelleşmenin mekanizması üzerine yapılan sistematik çalışmalar 1970'lerin sonuna doğru başlamıştır. Bu jelleşme tipinin ana kontrolü, önemli karakteristik özellikleri ve polimerik kriyojellerin yapıları A. N. Nesmeyanov Rusya Bilimler Akademisi Organoelement Maddeler Enstitüsü'nde belirlenmiştir (Lozinsky [6]).

Kriyotropik jel oluşumu şu şekillerde gerçekleştirilebilir:

- i. Donma boyunca, (örneğin jelatinize nişasta hamuru halinde ve termotersinir fiziksel kriyojeller sonucu).
- ii. Örneklerin katı halde saklanması süresince ağırlıklı olarak kimyasal çapraz bağlı kriyojel
- iii. Donmuş örnekler çözünürken, (örneğin jellerin kriyotropik oluşumu için tipik olan sulu poli(vinil alkol)(PVA) çözeltilerinden).

Kriyojeller monomerik veya polimerik başlatıcıların donmuş çözeltilerinde üretilen jel yapılarıdır. Kriyojel oluşumuyla sonuçlanacak prosesler için gerekli koşul başlatıcı sistemdeki düşük-molekül ağırlıklı ana yığının kristalizasyonudur (dondurma). Bu nedenle kriyojellerin hazırlanması sürecinde kriyokonsantreleştirme etkisinin oluşmasını sağlayan camlaştırma yerine kristalleşmiş çözücü madde sıcaklık düşürülmesi ile hazırlanmalıdır. Kriyojelasyonu soğutmayla indüklenen jelleşmeden ayıran temel özellik, sıcaklığın düşmesine bağlı olarak jelleşmenin gerçekleştiği yerde çözücünün hiçbir faz değişimi göstermeden kristalizasyonudur (indirgenmiş sıcaklık ve basınçta süblimleşerek) (Şekil 2.5) (Lozinsky vd. [34]).



Şekil 2.5 Soğutma ve dondurma ile indüklenen jelleşme arasındaki farklar (Lozinsky vd [35]).

Polimer jel fazı, direkt olarak başlangıç sisteminin donması, örneklerin donmuş fazda muhafazası veya donmuş numunelerin erimesi aşamalarından birinde meydana gelebilir (Lozinsky vd. [34]).

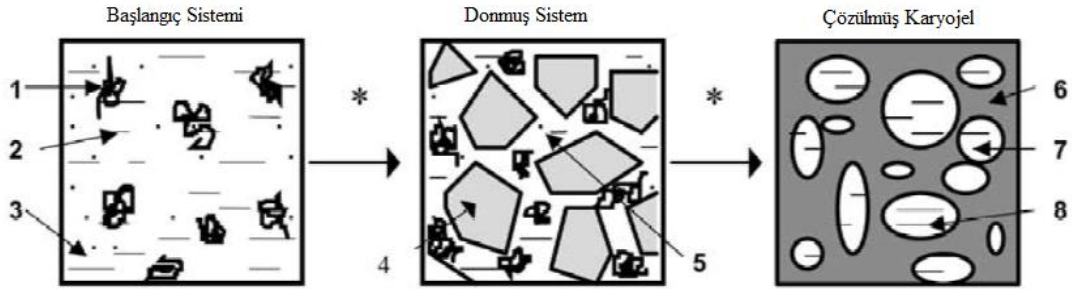
Kriyotropik jel oluşumu temel olarak, makroskopik boyutta donmuş olan örneğin içerdiği donmamış sıvı mikrofazda gerçekleşen bir süreçtir. Donmamış sıvı

mikrofazdaki jel öncülerinin kriyokonsantrasyonundan dolayı, kriyojelleşme jelleşmenin kritik konsantrasyonundaki azalmasından ve geleneksel donma sıcaklığı üzerindeki jelleşme ile karşılaştırıldığında jelleşme oranındaki artış ile kendisini gösterir. Kısmen donmuş örneklerdeki kriyojelleşme genellikle donma noktasının üzerindeki sıcaklıklarda meydana gelen geleneksel jelleşmeden daha hızlı ilerler. Jelleşmeyi kolaylaştıran faktörler ile yavaşlatan faktörler (düşük sıcaklık, donmamış sıvı mikrofazda yüksek viskozite) arasındaki rekabete bağlı olarak kriyojelleşmenin bir optimum sıcaklığı vardır. Kriyojelin özellikleri kriyojelleşmenin sıcaklığı, örneğin donmuş halde tutulduğu süre ve dondurma/çözülme oranları, çözücünün doğası ve çözünebilir ve çözünemeyen katkıların eklenmesi ile düzenlenebilmektedir.

Polimerik kriyojellerin en etkileyici özellikleri donmuş çözücü kristalleri tarafından oluşturulan makrogözeneklerin kombinasyonu ve makrogözeneklerin duvarlarında oluşan polimerik makromoleküllerin arasındaki mikrogözeneklerdir (Şekil 2.6). Kriyojellerdeki bu makrogözenekler köpük-benzeri polimerlerdeki kadar yakın değildirler ancak birbirleriyle bağlantılıdır. Bu gözenek morfolojisinin kriyojellerde görülmesinin sebebi donan çözücünün kristallerinin diğer kristal yüzeyleri ile karşılaşana kadar büyümesidir. Bundan dolayı, donmuş örnekteki polikristalin faz kesintisizdir ve çözülmeden sonra sistemin birbiriyle bağlantılı gözenekleri olmasını sağlar (Lozinsky vd. [34]).

Kriyojeller, hem fiziksel hem de kovalent çapraz bağlı heterojen polimer ağların oluşumuyla elde edilebilir. Makrogözeneklerin birbirine bağlı sistemleri ve sünger-benzeri morfolojiye sahip tipik kriyojeller her boyuttaki çözünen maddelerin engellenmeden difüzyonuna izin verirler. Sünger-benzeri kriyojellerin içinde bulunan suyun çoğu kılcallara bağlıdır ve sıkıştırma ile mekanik olarak kaldırılabilir (Lozinsky vd. [34]).

Şekil 2.7’de görülen yapıdaki koyu renkli bölümler uygun şekilde makro gözenek duvarlarından oluşan polimerik jel fazı ve açık renkli bölümler ise sıvı ile doldurulmuş (bu örnekte su) gözeneklerin kendisidir. Herhangi moleküler büyüklükte olan çözünebilir maddeler ve hatta virüs gibi biyolojik birimler makrogözenekli kriyojellerin içine mikro metre kesitleri olan gözenekleri kullanarak difüze olabilirler.



Şekil 2.6 Polimerik kriyojel oluşumunun temel mekanizması 1.çözeltildeki makromoleküller 2. Çözücü 3. düşük- moleküler çözünen madde 4. buz polikristalleri 5. sıvı mikrofaz 6.Kriyojelin polimerik iskeleti 7. Makrogözenekler 8. Çözücü. (Lozinsky [6]).

Öte yandan çok büyük gözenekli kriyojellerin içine sadece difüzyonla kütle transferi dışında mikro kapiler içerisinden sıvı akışı da gerçekleşir, örnek olarak hem çözünebilir maddeler hem de hücre boyutunda olan parçaların kütle aktarımı verilebilir (Lozinsky [6]).

2.5.1 Polimerizasyon ya da Polikondenzasyon ile Oluşturulan Kriyojeller

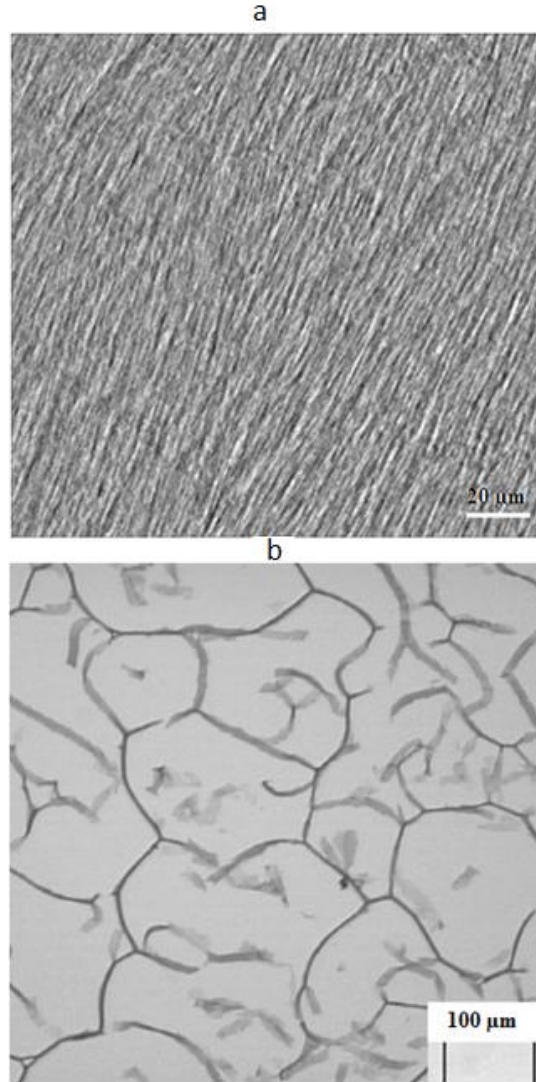
Donmuş çözeltilerde kimyasal başlatıcılarla yapılan polimerizasyon ile gerçekleştirilen kriyotropik jelleşmenin sistematik çalışmalarında temel olarak poliakrilamid kriyojeller (kriyo(PAAG)) oluşturulmuştur. Akrlamid'in (AAM) N,N'-metilenbisakrilamid (MBA) ile yapılan suda radikalik kopolimerizasyonu bu tip ko-monomerler için geleneksel olarak kullanılan, amonyumpersülfat (APS)+N,N,N',N'-tetrametiletildiamin (TEMED) isimli düşük sıcaklıklarda radikal oluşturabilen bir redoks sistemi tarafından başlatılmıştır (Lozinsky [36]).

2.5.2 Polimerik Öncülerin Kovalent Çapraz Bağlanması ile Hazırlanan Kriyojeller

Makromoleküler öncülerin çözeltilerinde çapraz bağlanma ile liyojellerin hazırlanması uzun zamandır gerçekleştirilmektedir. Bu tipte, başlangıç sistemlerinin orta derecede donması, gerekli zaman periyodunda donmuş halde inkübasyonu ve sonraki çözündürme makrogözenekli kriyojel oluşumunu sağlar. Bu yöntemle gerçekleştirilen kriyojelasyonlarda tiol içeren (karboksimetilselüloz ve PAAM'in SH türevleri) polimer modeller kullanılmaktadır (Lozinsky [36]).

2.5.3 İyonik Kriyojeller

İyonik, koordinasyon ve iyonik+koordinasyon polimer jeller özel jel benzer sistemleri sunarlar. Bunlar polielektrolitlerin çeşitli yöntemlerle kriyojelasyonu sonucu oluşan kriyojellerdir (Lozinsky [36]).



Şekil 2.7 Optik mikroskop altında makrogözenekli PVA kriyojel (a) ve süpermakrogözenekli agaroz kriyojel (b).

2.5.4 Kovalent Olmayan Kriyojeller

Kovalent olmayan kriyojeller en bilinen ve başta PVA kriyojeller olmak üzere en çok çalışılan kriyojellerdir. Kovalent olmayan moleküller arası etkileşimler, kolloidal dağılım sisteminden temel alan kriyojellerin oluşumunda önemli bir rol oynarlar: süspansiyonlar, macunlar ve kolloidal sollar. (Lozinsky [36]).

Kriyojellerin görünümü, oda sıcaklığında sıvı halde aynı karışımla üretilen geleneksel jellere göre oldukça farklıdır. Geleneksel hidrojel­ler trans­pa­ran ve daha kırıl­gan­dır. Ancak kriyojeller, opak, süngere benzer ve oldukça elastiktir. Şişmiş formdaki kriyojeller az bir parmak baskısıyla bile kolayca suyu dışarı atarlar ve daha sonra suyla yeniden temas ettiklerinde çok hızlı bir şekilde yeniden şişerek eski boyutlarına ve şekillerine geri dönerler. Sıkıştırma ve şişme, kriyojel özelliklerini etkilemeden defalarca tekrarlanabilir. Kullanılan polimerin tipi ve özellikleri (molekül ağırlığı ve molekül ağırlığı dağılımı), toplam gözeneklilik, gözenek boyutu ve gözenek duvarlarının sıklığı gibi kriyojel özelliklerini kriyojelasyon koşulları (sıcaklık, soğutma hızı, dondurulacak örneğin boyutu ve şekli, kalıbın malzemesi, vb.) kadar etkiler (Bolgen vd [37]).

Polimerik kriyojeller yapısal özellikleri sayesinde biyoteknolojik açıdan oldukça ilgi çekicidirler. Çünkü hem moleküllerin hem de biyolojik birimlerin içine girebileceği bir kütle ve etkileşebilecekleri parçalar (ligandlar)'dan oluşan bir polimerik matriks oluşturabilmektedirler. Sahip olduğu özellikler sayesinde kriyojeller biyoteknolojide; akıllı emici maddelerin geliştirilmesi, verimli büyük gözenekli taşıyıcıların yapılması, biyolojik birimler ile çalışmak için büyük gözenekli kromatografik emici maddelerin oluşturulması ve 3 boyutlu makrogözenekli yapı iskelelerinin oluşturulması gibi pek çok farklı alanda kullanılmaktadır (Lozinsky [6]).

2.6 Elektro­ğir­me

1 µm'den küçük çaplı lifler nanolifler olarak adlandırılmaktadır. Bugüne kadar çekme, kalıp sentezi, faz ayrışması, kendiliğinden bir araya gelme, elektro­ğir­me vb. birçok üretim tekniği polimer nanolifler hazırlamak için kullanılmıştır (Karaca vd. [7]).

Çekme, tek tek çok uzun tekli nanoliflerin üretiminin yapıldığı kuru eğirme yöntemine benzer bir pro­se­stir. Bununla beraber, sadece viskoelastik malzemeler çekme sırasında meydana gelecek olan gerilimi desteklemek için yeterince kohezif olarak güçlü deformasyonlarla başa çıkabilmektedirler.

Kalıp sentezinde, katı (lif) ya da oyuk (ufak tüp) şeklinde nanofiberleri oluşturmak için bir nanogözenekli membran kalıp olarak kullanılmaktadır. Bu metodun en önemli özelliği elektronik olarak iletken polimerler, metaller, yarıiletkenler ve karbonlar gibi

çok çeşitli hammaddelerin işlenebilmesinde yatmaktadır. Diğer yandan, bu yöntemle tek tek sürekli nanofiberlerin oluşumu gerçekleştirilememektedir.

Faz ayrışması, çözülme, jelleşme, farklı bir çözücünün kullanımı ile ekstraksiyon, donma ve kuruma aşamalarını içeren ve nanoboyutta gözenekli köpük oluşumuyla sonuçlanan bir prosestir. Katı polimerin nano-gözenekli köpüğe dönüşmesi göreceli olarak oldukça uzun bir zaman almaktadır.

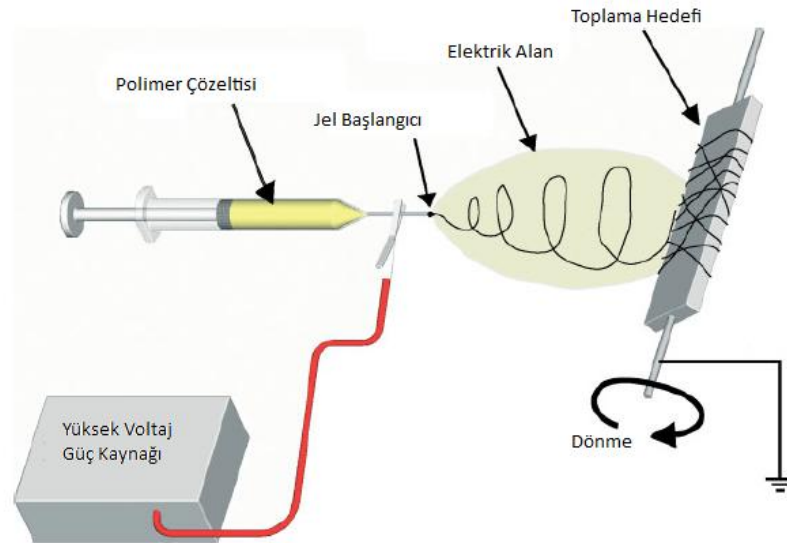
Kendiliğinden bir araya gelme olarak adlandırılan metot ortamda önceden bulunan tekil bileşenlerin arzulan desen ve fonksiyonda kendi başlarına organize oldukları prosestir. Ancak, faz ayrışmasına benzer olarak kendiliğinden bir araya gelme metodu da sürekli nanofiberlerin oluşturulmasında oldukça zaman kaybettiricidir. Bu sebeple, elektroegirme prosesi, çeşitli polimerlerden tek tek sürekli nanofiberlerin çok miktarda üretiminde uygulanacak tek uygun yöntem olarak gözükmektedir (Huang vd. [8]).

‘Elektrostatik egirme’den türevlenen *elektroegirme* kavramı her ne kadar görece yakın zamanlarda (1994 civarı) kullanılmış olsa da, temel fikri 60 yıl daha geriye dayanmaktadır. Formals 1934’ten 1944’e kadar elektrostatik güç kullanılarak polimer iplikçiklerin üretiminin deneysel durumunu tarif eden pek çok patent yayınlamıştır [38], [39], [40], [41], [42]. 1952’de, Vonnegut ve Neubauer yaklaşık 0.1mm çaplı oldukça elektrik yüklü uniform dropletlerin üretimini başarmışlardır [43]. Elektriksel atomizasyon için basit bir cihaz icat etmişlerdir. 1955’te, Drozin [44] yüksek elektrik potansiyeli altında çeşitli sıvıların aerosollerde dağılımını araştırmıştır. 1966’da, Simons elektriksel egirme kullanarak ultra ince ve çok hafif farklı desenlere sahip örgüsüz yapıda dokumaların üretilmesi için kullanılacak bir cihazın patentini almıştır [45]. 1971’de, Baumgarten [46] çapları 0.05-1.1 mikron arasında değişen elektroegirilmiş akrilik fiberlerin üretilbildiği bir cihaz yapmıştır. 1980’lerden beri ve özellikle son yıllarda elektroegirme prosesi temel olarak Baumgarten’in [46] uygulamasına benzer şekilde uygulanmaktadır.

Elektroegirme elektriksel olarak yüklenmiş sıvı polimerin topraklanmış bir yüzey üzerinde dağınık ve sürekli lif formunda konumlanması esasına dayanır. Bu yöntemle, çapları 3 nm’den 1 mikron ve üzerine kadar değişen kalınlıklarda dokumasız (non-

woven) nanoliflerin pek çok polimerden başarıyla elde edildiğinden söz edilmektedir (Karaca vd. [7]).

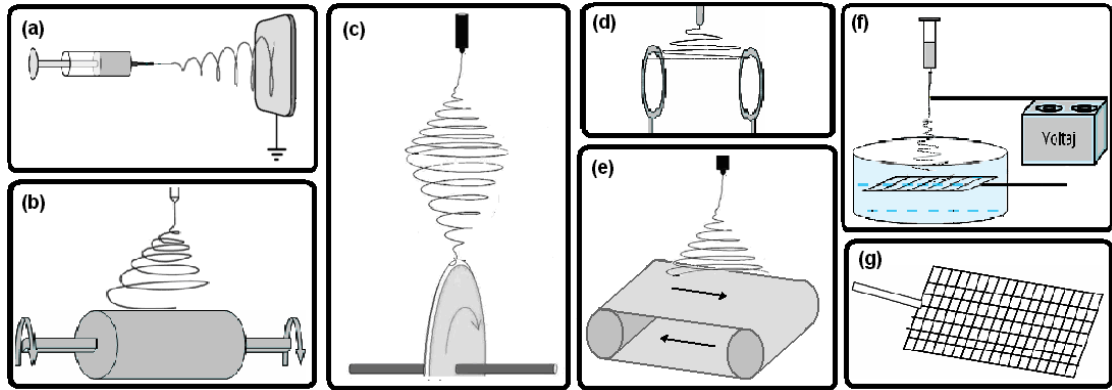
Elektroeğirme işleminde bir pipet ya da şırınga içerisine konulan polimer çözeltisi ya da eriyik polimer elektrik ile yüklenmekte ve iki elektrot arasında kV seviyesinde oluşturulan yüksek voltaj sayesinde bir çekim alanı oluşturulmaktadır. Alan oluşturulmadan pipet ya da şırınga ucunda damla formunda olan polimer çözeltisi, alan oluşturulduktan sonra elektrik yükleri nedeniyle Taylor konisi olarak adlandırılan koni formunu almakta ve elektrik kuvvetleri polimer çözeltisinin yüzey gerilimi ve viskozitesini yendiğinde ince bir polimer çözeltisi yüzeyden fışkırmaktadır. Elektrik kuvvetleriyle fışkıran polimer çözeltisi hızlanmakta, fakat viskozite direnci nedeniyle bir süre sonra ivme yavaşlamakta ya da sıfır olmaktadır ki bu anda stabil olmayan bir davranış göstermektedir (He vd [47]). Fışkıran polimerin uzaması ve çözücünün uçmasıyla liflerin çapı küçülmekte, küçülen çap nedeniyle yüklenme artmakta ve daha küçük çaplara bölünmektedir (Reneker ve Chun [48]). Polimer nanofiberlerin elektroeğirmesi Şekil 2.8'deki şematik diyagramda gösterilmiştir.



Şekil 2.8 Döner levhalı elektroeğirme sisteminin şematik gösterimi (Sell vd. [49]).

Elektroeğirmenin başlayabilmesi için besleme ünitesi ile toplayıcı arasında bir elektrik alan olmalıdır. Pek çok elektroeğirme düzeneğinde bu elektrik alanı sağlayabilmek için toplayıcı olarak alüminyum folyo gibi iletken bir malzeme kullanılmakta ve bu malzeme elektriksel olarak topraklanmaktadır. Böylece besleme ünitesi ile toplayıcı arsında stabil

bir potansiyel fark oluşur. Toplayıcı malzemesi kadar toplayıcının şekli de elektroëğirme ve oluşan nanoliflerin yapısı üzerinde etkilidir. Yapılan çalışmalarda hareketli ve sabit pek çok farklı toplayıcı tasarımı uygulanmıştır. En sık kullanılan toplayıcı, alüminyum plakalardır. Bunun yanı sıra, metal ızgaralar, dönen tambur, dönen disk, taşıyıcı bant, üçgen çerçeve, paralel bilezik ve sıvı banyosu, elektroëğirme ile oluşturulan nanolifleri toplamak için kullanılan malzemeler arasındadır (Şekil 2.9) (Karaca vd. [7]). Elektroëğirmesi yapılacak bazı polimer çözeltileri veya eriyikleri ağır ve tehlikeli kokular yayabilirler. Bu sebeple proses havalandırma sistemi olan bir odada yapılmalıdır. Ayrıca, elektroëğirme işlemi için çok yüksek DC voltajı gerektiğinden işlem esnasında yüklenmiş herhangi bir noktaya temastan kaçınılmalıdır.



Şekil 2.9 Elektroëğirmede kullanılan bazı toplayıcı tipleri (a) Sabit plaka; (b) Dönen tambur; (c) Dönen disk; (d) Paralel bilezikler; (e) Taşıyıcı bant; (f) Sıvı banyo; (g) Metal ızgara (Karaca vd. [7]).

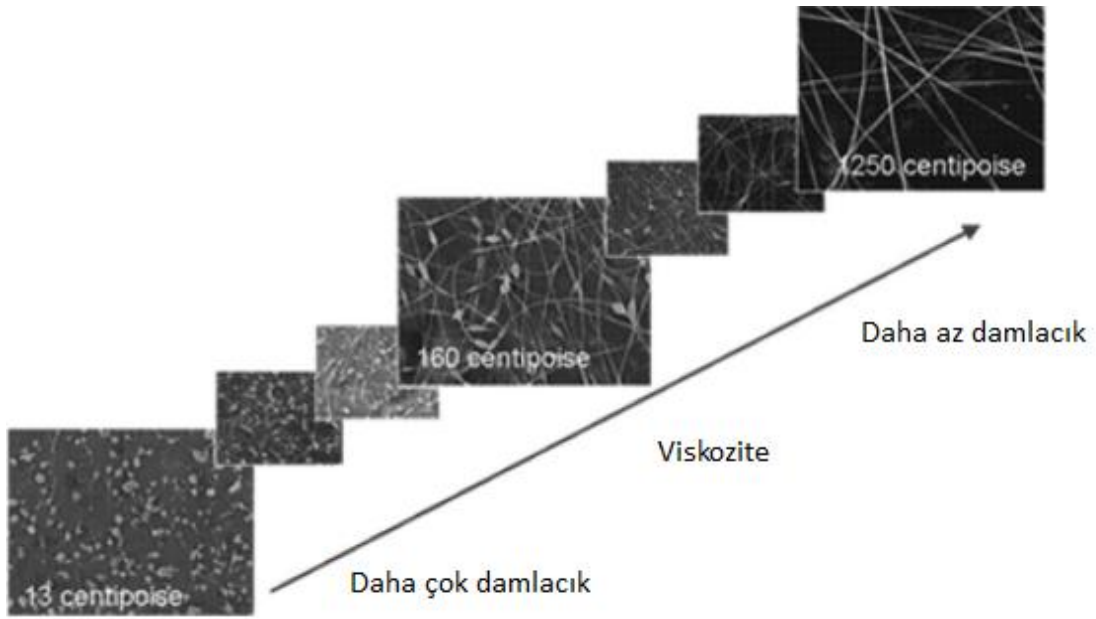
Polimer çözeltilerinin elektroëğirmesinden farklı olarak polimer eriyiklerinin kullanıldığı prosesler oda koşullarında değil vakum şartlarında gerçekleştirilmektedir. Kapiler tüp (ya da şırınga), yüklü eriyik sıvının hareket ettiği ortam ve metal toplama ekranı vakumlanmış bir ortam içinde bulunmalıdır. Ancak eriyik halde kullanılan polimerler çözelti olarak kullanılanlara kıyasla çok az sayıdadır (Huang vd. [8]).

Pek çok parametre polimer çözeltilerinin elektroëğirme yoluyla nanofiberlere dönüşmesini etkilemektedir. Bu parametreler viskozite, elastisite, iletkenlik ve yüzey gerilimi gibi çözelti özellikleri; kapiler tüpteki hidrostatik basınç, kapiler iğnedeki elektrik potansiyeli ve iğne ucu ve toplama ekranı arasındaki mesafe gibi yönetim değişkenleri ve çözelti sıcaklığı, nemlilik ve elektroëğirme odasındaki hava akışı gibi ortam şartlarını içermektedir (Huang vd. [8]).

Elde edilen nanoliflerin morfolojisini değiştiren en önemli etken elektrolif çekiminde kullanılan polimer çözeltisinin özellikleridir (Ramakrishna vd. [50]). Yüzey gerilimi lif uzunluğu boyunca oluşan boncuklanmada rol oynamaktadır. Çözeltinin viskozitesi ve elektriksel özellikleri çözeltinin uzamasındaki genişlemeyi belirlemekte ve bu durum çekilen lifin çapını belirlemektedir. Viskoziteyi etkileyen faktörlerden biri polimerin moleküler ağırlığıdır. Yüksek moleküler ağırlığa sahip bir polimer çözöcöde çözöldöğünde viskozitesi aynı polimerin düşük moleküler ağırlığına göre yüksek olmaktadır. Yeterli molekül ağırlığı ve viskozite elektrolif oluşumu için gereklidir. İşlem sırasında jet yüzeyden ayrıldığında polimer çözeltisi uzayacak ve toplayıcıya doğru hareket edecektir. Bu esnada polimerin kopmasını önleyen çözelti içindeki molekül zincirlerinin birbirlerine dolanmasıdır. Bundan dolayı monomer ve küçük polimer zincirleri elektrolif oluşturmamaktadır (Ramakrishna vd. [50]). Viskoziteyi arttırmanın bir diğer yolu da çözeltideki polimer konsantrasyonunu arttırmaktır. Benzer olarak artan konsantrasyon polimer zincirleri arasındaki düğümlemeyi arttıracadından viskoziteyi arttıracaktır ki bu sürekli bir çekim için gereklidir. Eğer viskozite çok yüksek olursa şırınga içinde çözeltiyi pompalamak sorun olacak, pipet içinde akmayacak, ya da damla formu oluştuğunda çözgenin uçması sonucu çabuk kuruyacaktır. Düşük vizkozitelerde toplayıcı üzerinde boncuklanmalar görölmektedir. Farklı konsantrasyonlarda polimer çözeltiğinde gözlenen boncuk oluşumu Şekil 2.10'da görölebilmektedir. Viskozite arttıka boncukların şekli yuvarlaktan boyuna doğru uzamaya başlayacak, nihayetinde lif formunu alacaktır. Düşük vizkozitelerde çözöcü moleküllerinin fazlalığı ve düşük zincir düğümlemesi lif boyunca oluşan boncuklanmada jet üzerinde etkin kuvvetin yüzey gerilimi olduğunu göstermektedir [50], [51]. Ancak yüksek konsantrasyon bükölme kararlılığını arttıracadından iğne ucundan toplayıcıya kadar daha küçük bir mesafede hareket etmesine neden olacaktır. Azalan jet yolu aynı zamanda çözeltinin daha az uzamasına ve dolayısıyla daha kalın lif çapına neden olacaktır (Karaca vd. [7]).

Elektrolif çekiminin başlaması için yüklö çözeltinin yüzey gerilimini yenmesi gerekmektedir. Fakat jetin toplayıcı plakaya hareketi sırasında yüzey gerilimi jet üzerinde boncukların oluşmasına neden olacaktır. Yüzey geriliminin akışkanın yüzey alanı/kötle değerini azaltıcı etkisi bulunmaktadır.

Bu durumda, serbest çözelti moleküllerinin artışı yüzey gerilimi nedeniyle moleküllerin toplanması ve küresel şekil almasına neden olacaktır. Yüksek viskozite çözücü ve polimer molekülleri arasında daha yüksek etkileşim oluşturacak ve çözeltinin yükler nedeniyle çekilmesi sırasında da çözelti molekülleri polimer moleküllerinin üzerinde dağılacak bundan dolayı da çözücü moleküllerinin toplanması önlenecektir. Yüzey gerilimini düşürmenin bir yolu çözeltiye yüzey aktif malzemeler ilave etmektir. Yüzey aktif malzemeler daha düzgün lif elde edilmesine neden olacaktır (İkiz ve Adanur [53]).



Şekil 2.10 Farklı konsantrasyondaki polimer çözeltilerinden elde edilen elektronanofiblerin SEM fotoğrafı (Fong ve Reneker [52]).

Elektrolif çekimi yüzeyde yüklerin akması ve çözeltinin bu sayede uzaması ile meydana gelmektedir. Eğer çözeltinin iletkenliği artar ise daha fazla yük akacak ve daha fazla jet taşınacaktır. Çözelti iletkenliği iyon katılarak artırılabilir. Bundan dolayı çözeltiye küçük miktar tuz ilavesi yük miktarını arttıracak ve bu çözeltinin daha fazla çekilmesini sağlayacaktır. Böylelikle düzgün lif formu oluşumu sağlanabilmektedir. Çözeltinin daha fazla çekilmesi aynı zamanda liflerin çapını da azaltacaktır. Jetin çapı ile çözelti iletkenliğinin küp kökü ters orantılı olarak bağıntılıdır. Ayrıca çözeltideki yüklerin artmasıyla elektrolif oluşumu için gerekli kritik voltaj seviyesi azalacaktır. Artan yüklerin bir başka etkisi ise daha yüksek bükülme kararsızlığı oluşturmakta olmasıdır. Bu artan jet yolundan ötürü daha ince liflerin oluşumunu sağlanabilmektedir. Organik çözücülerin iletken olmadığı bilinse de birçoğu yeter miktar iletkenliğe sahiptir. Yüksek

iletkenlikte hazırlanan çözücülerle elde edilen nanoliflerde boncuklanma gözükmezken, sıfır iletkenlikte lif çekimi gerçekleşmemektedir (İkiz ve Adanur [53]).

Konuyla ilgili alınan patentlerin fazlalığından da anlaşılabileceği gibi (nanoliflerle ilgili alınan U.S. patentlerinin yaklaşık 2/3 si); özellikle elektroegirme yöntemi ile üretilen nanolifler ile ilgili üzerine en çok araştırma yapılan konu, nanoliflerin biyomedikal uygulama alanlarıdır. Nanoliflerin özellikle organogenez, genetik tıp, akıllı yara örtüleri gibi gelişmekte olan medikal uygulamalara katkı sağlayacağı tahmin edilmektedir. Özellikle umut vaat eden araştırma konuları ise; doku mühendisliğinde kullanılan nanolif bazlı üç boyutlu doku iskeleleri, kontrollü ilaç dağılımı için nanolif aygıtların tasarımı ve nanolifli yara örtü malzemeleridir. Polimer nanoliflerinin doku şablonlarındaki başarısı özellikle, yüksek gözeneklilik ve kolaylıkla uyarlanabilir yüzey kimyası bakımından vücut dokularının yüzey özellikleri ile çok benzemesine bağlıdır. Ayrıca bu tarz uygulamalar için biyobozunur organik nanolifler sıklıkla kullanılırken, biyoyumlu inorganik nanolifler de kullanılmıştır (Andrady [54]).

Nanoliflerin biyomedikal kullanımları içerisinde en çok ilgi çeken ve umut vaat eden alanlardan biri yara örtüleridir. Nanolifli yüzeylerin, insan cildinde oluşan yara ve yanıkların tedavisinde kullanımının mümkün ve avantajlı olduğu yapılan araştırmalarla ortaya koyulmuştur. Elektroegirme metodu ile elde edilen nanolifli membranlar, geniş yüzey alanı, gözenekli yapısı ve iyi filtrasyon özelliği sayesinde yaranın sıvıdan hızla uzaklaştırılmasını sağlar ve böylece olası bir enfeksiyonu engeller. Ayrıca, kontrollü su buharı kaybı ve mükemmel oksijen geçirgenliği ile yara ortamının nemli kalmasını ve oksijen almasını sağlayarak yara iyileşmesi için uygun ortamı sağlar ve yara iyileşmesini hızlandırıcı etki yaratmaktadır (Karaca vd. [7]).

Chen ve arkadaşları [55] çalışmalarında, elektroüretim metodu ile kollajen ve kitosandan meydana gelen kompozit nanolifli membranı başarı ile üretmiş ve bunları yara örtüsü olarak değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada, nanolifli membranların hızla doku onarımını başlattığı ve dokuyu iyileştirmek için kollajen ve sitokinler gibi fibroblastları dermis tabakasına çektiği görülmüştür. Yapılan incelemeler sonucunda; kollajen-kitosan nanolifli membranlar, yara iyileşmesini destekleyici, hücre göçüne ve çoğalmasına sebebiyet verici bulunmuştur. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda bu

nanolifli membranların, yara iyileşmesinde, gazlı bez ve ticari kollajen süngerden daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir (Chen vd. [55]).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 Deneyisel Çalışmada Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Laboratuvar Ekipmanları

Bu bölümde deneyisel çalışmalarda yer alan laboratuvar ekipmanları, kimyasal maddeler ve cihazlar belirtilmektedir.

3.1.1 Kullanılan Cihazlar

- pH Metre (WTW, 315i)
- Hassas Terazî(Ohaus EP214C)
- Isıtıcıli Manyetik Karıştırıcı (Heildolph MR 3001)
- FTIR (Fourier Transform Infrared Spektrofotometresi) Sistemi (Shimadzu)
- Etüv(MMM, Ecocell 111)
- Eppendorf Micropipet (0,5-10 µl, 20-200 µl,10-100µl, 100-1000 µl,)
- Vorteks (HEIDOLPH, REAXtop)
- Su banyosu
- Ultrasonik Banyo
- Elektroegirme Sistemi

3.1.2 Deneyisel Çalışmalarda Kullanılan Laboratuvar Ekipmanları

- 50 mL, 250 mL, 600 mL, 1000mL beher

- 2.5mL, 5 mL ve 10 mL cam pipet
- 50mL erlenmayer
- Eppendorf Tüpleri
- Puar
- Pastör pipet
- Petri kabı
- Mezür
- Falcon Tüpleri
- 10 mL penisilin şişesi
- 2 mL ve 5 mL'lik şırınga
- Cam deney tüpü
- Manyetik balıklar

3.1.3 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler

- 4-vinil piridin
- 2-2'- Azoizobütironitril (AIBN)
- Dimetilformamid
- Dietil eter
- Toluen
- Kloroform
- Metanol
- 1,1,1,3,3,3-Hekzafloro-2-propanol
- Destile Su
- N-Hidroksipropil metakrilamit (HPMA)
- Amonyum persülfat

- N,N,N',N'-Tetrametiletilediamin
- N,N-Metilenbisakrilamid
- 6-bromokaproik asit

3.2 Çift Katlı Yara Örtü Malzemelerinin Hazırlaması

Çalışmada amaç iki farklı tabakadan oluşan bir malzemenin hazırlanmasıdır. Alt katman birbiriyle bağlantılı makrogözeneklere sahip, şişebilen, jel yapıda bir tabakadır. Üst tabaka ise, daha az gözenekli, ağsı ve antibakteriyel özellik ile bariyer etkisi gösteren bir membrandır. Çalışmada, antibakteriyel özellikte polimer elde etmek üzere poli(4-vinil piridin) sentezlenecek, daha sonra kuaternerleştirilerek antibakteriyel hale getirilecektir. Ardından bu polimer kriyojel yapı üzerine elektroegirme ile membran halinde yerleştirilecektir. Aşağıda çalışmada uygulanan yöntem ayrıntıları ile açıklanmaktadır.

3.2.1 N-Hidroksipropil metakrilamit (HPMA) Bazlı Kriyojellerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Yara örtü malzemesinin ilk tabakasını oluşturacak olan makrogözenekli süngerimsi yapı HPMA'nın kriyojelasyonu ile hazırlanmıştır. Kriyojel üretiminin ilk aşamasında HPMA ve MBA ayrı penisilin şişelerinde destile suda sonikasyon yardımıyla çözülmüşlerdir. Ardından MBA çözeltisi cam deney tüpüne alınarak bu çözelti üzerine hazırlanan HPMA çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra sırasıyla gereken miktarlarda APS ve TEMED deney tüplerine eklenmiştir. Her bir maddenin eklenmesi sonrasında vorteks ile çok iyi karıştırma uygulanmıştır. Silindirik yapıda kriyojelasyon için 2 ml'lik plastik şırıngalar, ucu sıcak silikon ile kapatılarak kalıp olarak kullanılmıştır. TEMED eklenir eklenmez cam tüpteki çözelti şırıngaya alınarak derhal sıvı azot içine daldırılmıştır. Sıvı azotta dondurulan şırıngalar -20 °C'deki derin dondurucuya kaldırılmıştır. -20 °C'de bir gece bekletilen örnekler üzerine ertesi gün gene aynı sıcaklıkta bekletilen dietileter eklenerek faz ayrılması sağlanmıştır. Örnekler -20 °C'de beklerken dietileter gün içinde iki kez değiştirilmiştir. Ertesi gün örnekler 4°C'ye alınmış, bir gün de burada bekledikten sonra şırıngadan 50 mL'lik bir behere çıkarılmış ve saf su eklenerek karıştırılmalı su banyosunda oda sıcaklığında çalkalanarak bir gece yıkanmıştır. Ertesi gün kriyojeller bir

bisturi ile ıslakken disk şeklinde kesilerek kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.1). Kriyojellerin hazırlanması için kullanılan tipik reçete şu şekildedir: 0.6 gr HPMA, 0.1 gr MBA, 0.024 gr APS, 10 µL TEMED.

Elde edilen kriyojel yapıların kimyasal yapısı FT-IR ile incelenmiş, şişme özellikleri kuru jel ve belli zamanda emilen su miktarının tartım yoluyla izlenmesi ile değerlendirilmiştir.



Şekil 3.1 İslakken kesilen kriyojellerin görüntüsü.

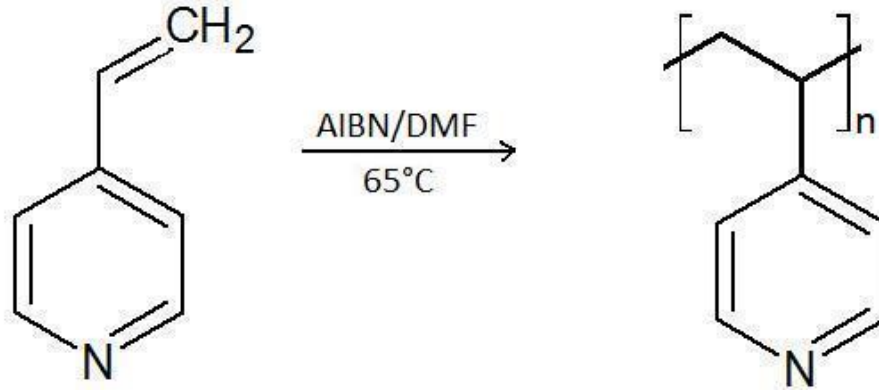
3.2.2 Antibakteriyel Polimerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Çalışmanın bu kısmında amaç, yara örtü malzemesinin antibakteriyel tabakasını oluşturacak polimerin sentezlenmesidir. Bu doğrultuda öncelikle suda çözünmeyen poli(4-vinil piridin) (poli(4-VP)) sentezi gerçekleştirilmiş ve daha sonra elde edilen poli(4-VP) polimeri 6-bromokaproik asit ile reaksiyona sokularak antibakteriyel özellik taşıması beklenen ve suda çözünebilen kuaterner poli(4-vinil piridin) (poli(Q4-VP)) polimeri sentezlenmiştir.

3.2.2.1 Poli(4-VP) Sentezi ve Kuaternerleştirilmesi

İlk aşamada 4-vinil piridin monomerinden çıkılarak serbest radikal polimerizasyonu ile poli(4-VP) polimeri sentezlenmiştir (Şekil 3.2) [56, 57]. Sentezde başlatıcı olarak AIBN, çözücü olarak DMF kullanılmıştır. Çözeltideki polimer/başlatıcı molar oranı 500:1 olacak şekilde gerekli hesaplamalar yapılmıştır. Buna göre gereken miktarlar

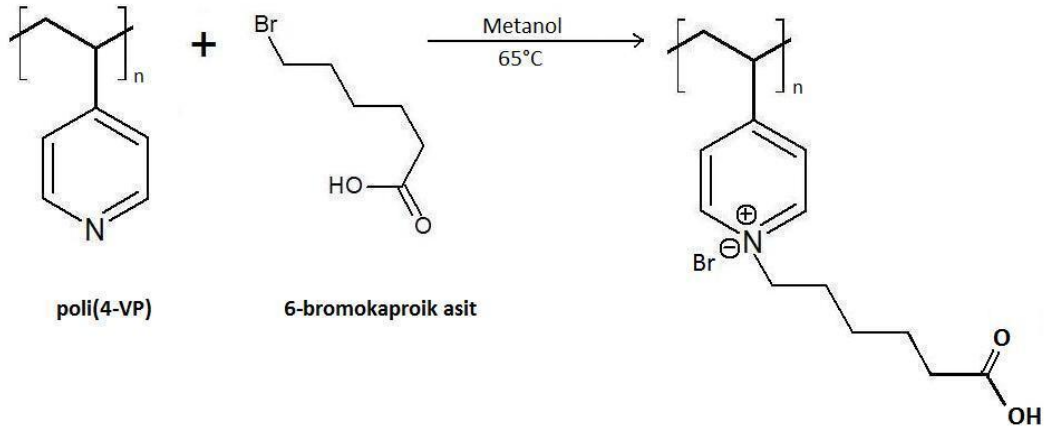
hesaplanarak hazırlanan 4-vinil piridin/AIBN/DMF çözeltisi reaksiyon öncesi sabit basınç ve akış hızında 30 dakika azot gazı ile muamele edilerek reaksiyon ortamının oksijenden arındırılması sağlanmıştır. Reaksiyon 65°C'de yağ banyosunda 20 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra reaksiyondan elde edilen ürün toluende çöktürülerek reaksiyona girmeyen maddeler uzaklaştırılmış poli(4-VP) saf olarak elde edilmiştir. Saflaştırma işlemi üç kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.2 Poli(4-vinil piridin)'in sentez reaksiyonu.

Poli(4-VP) polimerinin farklı alkillenme reaktifleriyle kuaternizasyonu farklı araştırmacılar tarafından çalışılmıştır [58, 59]. Bu çalışmada sentezlenen poli(4-VP) 6-bromokaproik asit ile metanol içerisinde alkillenme reaksiyonuna sokulmuştur (Şekil 3.3). Bu reaksiyonda piridin halkasındaki tersiyer amin grubu halojenik asit ile tepkimeye girer ve azotun alkillenmesi ile kuaterner amonyum katyonu meydana gelir. Reaksiyon sonucu antibakteriyel özellik göstermesi beklenen kuaterner poli(4-VP) (poli(Q4-VP)) elde edilmektedir. Poli(4-VP) ve 6-bromokaproik asit metanolde çözülmüş ve reaksiyon öncesi 5 dk azot gazı ile muamele edilerek 65°C'de yağ banyosunda ve geri soğutucu altında reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünün polimer zincirindeki kuaterner amonyum katyonu içeren ve içermeyen birimlerin oranı reaksiyon süresine göre değişiklik gösterdiğinden 4 ve 8 gün olmak üzere iki farklı süre denenmiştir. Alkilenme reaktifi olan 6-bromokaproik asit polimerin iki katı mol sayısında reaksiyona katılmıştır. Daha sonra reaksiyonlardan elde edilen ürünler dietil eterde çöktürülerek reaksiyona girmeyen maddeler uzaklaştırılmış, yalnızca poli(Q4-VP) elde edilmiştir. Saflaştırma işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Sentezlenen tüm

polimerler yapısal açıdan FT-IR ile incelenmiş ve kuaternerleşme ve süre etkisi doğrulanmıştır.



Şekil 3.3 Kuaterner poli(4-VP) (poli(Q4-VP)) sentez reaksiyonu.

3.2.2.2 Antibakteriyel Özelliğın İncelenmesi

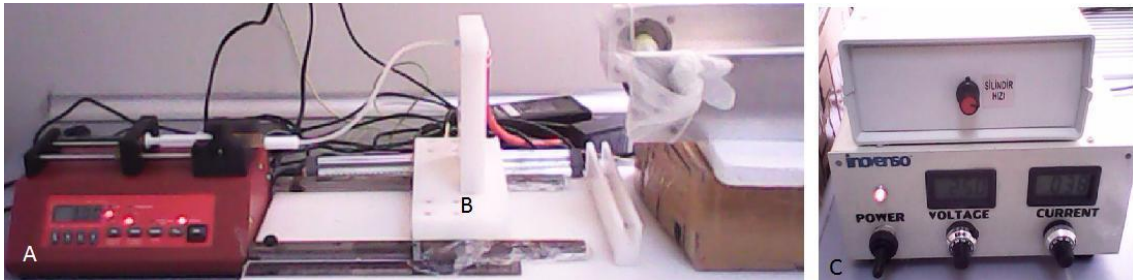
Hazırlanan çift katmanlı yara örtü malzemesinin alt katmanı kriyojel, dış ortamla temas edecek olan üst yüzeyi ise poli(Q4-VP)'nin elektroëğirilmesiyle elde edilmektedir.

Çalışma kapsamında yukarıda da anlatıldığı gibi farklı sürelerde (4 ve 8 gün) kuaternerleştirme reaksiyonu gerçekleştirilerek farklı oranlarda kuaternerleşme sağlanmıştır. Polimerlerin antibakteriyel etkileri, sentez sonrası elde edilmiş tozlar üzerinden agar difüzyon metodu ile incelenmiştir. Antibakteriyel etkinin yanında polimerlerin antifungal etkileri de incelenmiştir. Testlerde bakteri kültürü olarak *Staphylococcus aureus*, mantar kültürü olarak ise bir maya türü olan *Candida albicans* kullanılmıştır. Kullanılan mikroorganizmalar önce 0,5 Mac-Farland'a ayarlanmış, daha sonra *C.albicans* 10⁷ cfu/ml ve *S.aureus* 10⁵ cfu/ml olacak şekilde seyreltilmiştir. Bakteri ekimi için önceden hazırlanan nutrient agar besiyeri içeren petriler kullanılmıştır. Kontrol petrileri dışındaki petriler dörde bölünmüş ve ekimden önce test edilecek malzemelerin ekleneceği kuyular açılmıştır. Daha sonra mikroorganizmalar tüm petrilere 100'er µL olacak şekilde yayma ekimi yöntemi ile steril çubuk kullanarak ekilmiştir. Son aşamada antimikrobiyal etkisi test edilecek polimerler (4 ve 8 günlük poli(Q4-VP)) 50mg/500µL olacak şekilde suyla seyreltilmiş ve kuyulara 100'er µL eklenmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından gözlemler fotoğraflanmıştır. Her bir

mikroorganizma iki tekrarlı çalışılmıştır. Kontrol olarak kuaternerleşme uygulanmamış poli(4-VP) ve su kullanılmıştır.

3.3 Kriyojeller Üzerinde poli(Q4-VP)'nin Elektroeğirilmesi ve Karakterizasyonu

Çalışmada yara örtü malzemesinin dış çevreyle temas edecek kısmı olan antibakteriyel tabakasının elektroeğirme ile elde edilecek membran olması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda yapılan antimikrobiyal testler sonucunda antibakteriyel ve antifungal etki gösterdiği ispat edilen 8 gün kuaternerleştirilmiş poli(Q4-VP) polimeri elektroeğirme için kullanılmıştır. Hazırlanan HPMA-bazlı kriyojeller üzerine elektroeğirme ile poli(Q4-VP) membranlar hazırlamak için %20'lik poli(Q4-VP)/HFIP çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra çözelti şırıngaya çekilerek elektroeğirme sistemine yerleştirilmiştir. Sistemimizde toplayıcı olarak alüminyum folyo kullanılmıştır. Üzerine poli(Q4-VP) membran kaplanacak HPMA kriyojeller kolektör (folyo) üzerine yapıştırılmıştır. Daha sonra pompa açılarak şırıngadan çözelti damlayana kadar beklenilmiştir ve çözelti damlamaya başladığında 10kV voltaj uygulanarak fiberlerin kriyojel üzerinde birikmesi için şırıngadaki çözelti tükenene kadar beklenmiştir. Çözelti bittiğinde önce voltaj daha sonra pompa kapatılarak kriyojeller dikkatli bir şekilde alüminyum folyodan çıkartılmıştır. Toplayıcı uzaklığı 12 cm, şırıngadan örnek akış hızı 3 mL/saat olarak ayarlanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Elektroeğirme Sistemi (A:Pompa ve şırınga, B: Toplayıcı, C: Güç Kaynağı)

Bölüm 3.2 ve 3.5'te elde edilen kriyojel ve çift katmanlı malzemelerin morfolojik açıdan karakterizasyonu Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile yapılmış, malzemelerin gözenek yapıları ve boyutu ile katmanların entegrasyonu değerlendirilmiştir.

3.4 Şişme Testi

Bir yara örtü malzemesinin taşınması gereken en temel özelliklerden biri yaradan salınan enfeksiyonlu sıvıyı travma oluşturmaktan emip uzaklaştırmak ve aynı zamanda yaraya nemli bir ortam sağlamaktır (Karaca vd. [7]). Dolayısıyla hazırlanan yara örtülerinin şişme kapasitelerinin belirlenmesi önem teşkil etmektedir. Şişme özellikleri şişme oranı (%) Eşitlik 3.1’de verilen formüle göre hesaplanarak (Ruvalcaba vd. [60]) grafiğe geçirilmiş ve sonuç değerlendirilmiştir.

$$\text{Şişme oranı (\%)} = \frac{(m_w - m_i)}{m_i} \times 100 \quad (3.1)$$

Bu eşitliğe göre m_w , şişmiş jelin ağırlığı; m_i , kuru jelin ağırlığıdır.

3.5 Kriyojele Askorbik Asit Yüklenmesi ve Salım Çalışmaları

Bu çalışmada askorbik asitin (C vitamini) yara iyileşmesi üzerindeki önemli etkinliği göz önüne alınarak üretilen yara örtü malzemesinin yara iyileşmesini destekleyici özelliğini arttırmak amacıyla yara örtüsünün kriyojel tabakasına C vitamini yüklenmiştir. Bunun için 50 mg C vitamini 500 µL PBS’te çözülmüştür. Çözelti her bir kriyojele 100 µL olacak şekilde beş kriyojele emdirilmiştir. Bu kriyojeller bir gece kurumaya bırakılmıştır.

Her bir kriyojel içinde 37°C’de 45 mL PBS bulunan falkon tüplere alınarak 37°’ye ayarlanmış etüve yerleştirilmiş ve salım çalışması gerçekleştirilmiştir. Belirli aralıklarla örneklerin içinde bulunduğu falkonlardan 1 mL çözelti alınarak alınan miktar kadar PBS eklenmiştir. Örnek alımı 15, 30 ve 45. dakikalar ile 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24, 48 ve 72. saatlerde gerçekleştirilmiştir. Alınan örneklerden UV-Spektrofotometrede 266 nm’de absorbans ölçümleri yapılmıştır.

Okunan değerlerden miktar hesaplamak amacıyla 0,01 mg/mL konsantrasyonundaki C vitamini çözeltisi belirli oranlarda seyreltilerek bir standart eğri çizilmiştir. Daha sonra bu grafik kullanılarak alınan örneklerdeki C vitamini miktarı hesaplanmıştır ve C vitamininin kümülatif salım grafiği çizilmiştir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Yapısal Analiz

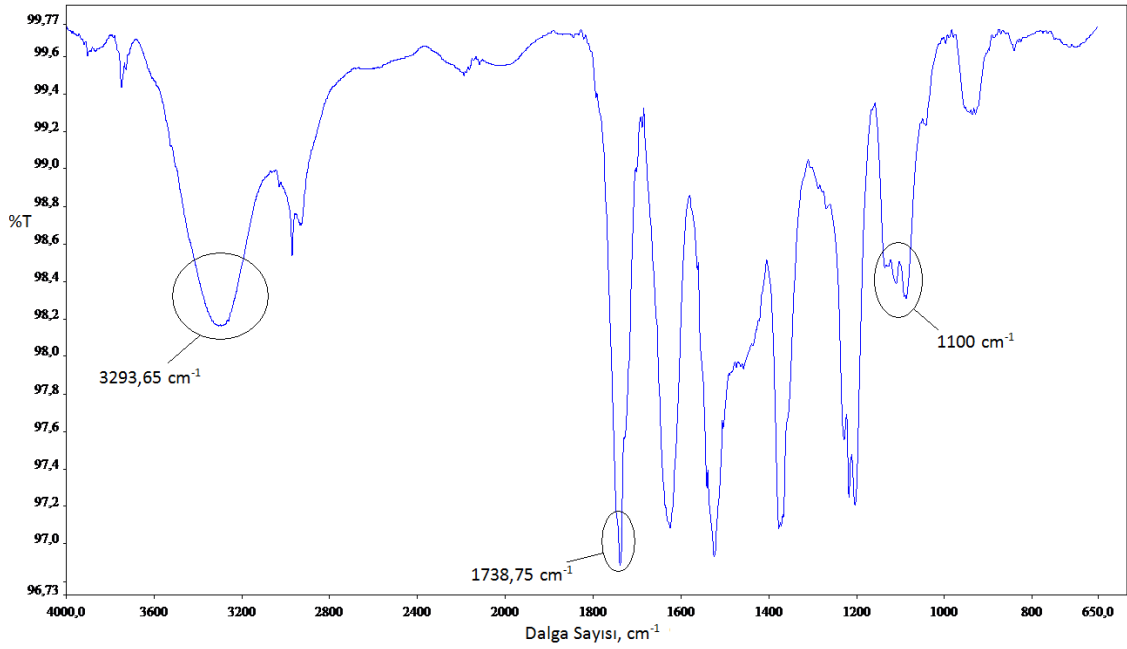
4.1.1 HPMA Kriyojeller

Çapraz bağlanma ve dondurma ile hazırlanan HPMA kriyojellerin yapısal analizi FT-IR ile incelenmiştir. Spektrumda HPMA'nın yapısında bulunan ester ve alkol gruplarına ait piklerin gözlemlenmesi beklenmektedir (Pana vd. [61]). Şekil 4.1'de üretilen HPMA-bazlı kriyojele ait FT-IR spektrumları gösterilmektedir. Buna göre, $3293,65\text{ cm}^{-1}$ 'de HPMA'nın yapısındaki alkol gruplarından kaynaklanan hidroksil (-OH) gerilmesine ait pik gözlenmektedir. $1738,75\text{ cm}^{-1}$ 'de HPMA'nın yapısında bulunan ester grubuna ait karbonil (C=O) gerilmesine ait bir pik elde edilirken 1100 cm^{-1} bölgesinde bu ester grubuna ait C-O-C antisimetrik gerilmesine ait pik gözlenmektedir.

4.1.2 Poli(4-VP) Sentezi ve Kuaternerleştirilmesi

Öncelikle poli(4-VP) serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenmiş ardından kuaternerleştirilmiştir. Elde edilen polimerlerin yapısal analizi FT-IR ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.2 poli(4-VP) ile 4 ve 8 gün kuaternerleştirme uygulanmış poli(Q4-VP)'e ait FT-IR spektrumlarını göstermektedir.

Buna göre 4-VP için 1597 cm^{-1} 'de piridin halkasına özgü halka gerilmesine ait spesifik bir pik elde edilmiştir. Kuaterner polimerlerin spektrumunda beklenildiği gibi (Mondal vd [62]) 3400 cm^{-1} , $1639,49\text{ cm}^{-1}$ ve $1716,65\text{ cm}^{-1}$ 'de yeni pikler gözlenmektedir. 3400 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik karboksilik asit grubuna ait O-H gerilmesini göstermektedir.

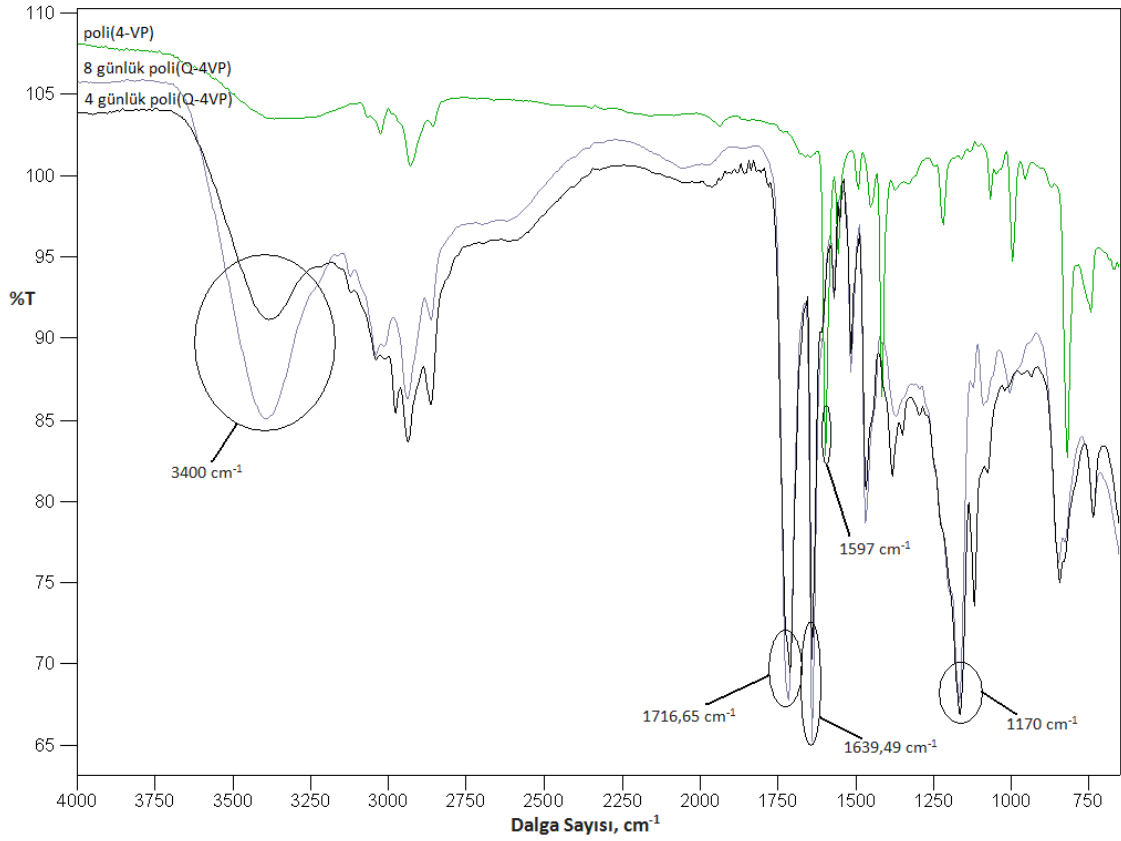


Şekil 4.1 HPMA kriyojele ait FT-IR spektrumu.

Elde edilen spektrumlar incelendiğinde 1597 cm^{-1} 'de 4-VP'e ait spesifik pikin 4 gün ve 8 günlük kuaterner polimerlere ait spektrumda önemli miktarda azaldığı görülmektedir. Ayrıca 3400 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik kuaternerleşme sonucu N atomuna bağlanarak N atomunun dört bağ yapmasını ve pozitif yüklenmesini sağlayan kaproik asitin yapıya katıldığını doğrulamaktadır. 1597 cm^{-1} 'de görülen pikteki azalma miktarı ve 3400 cm^{-1} 'de gözlemlenen pikteki artış miktarı göz önünde bulundurularak sürenin kuaternerleşme oranı üzerindeki etkisi doğrulanmıştır.

4.2 Morfolojik Karakterizasyon

İdeal bir yara örtü malzemesinin nemli ortam sağlayabilmesi, travma bölgesinden salınan enfeksiyonlu eksudatı hızla emerek yara bölgesinden hızla uzaklaştırabilmesi gerekirken, aynı zamanda bakteriyel bariyer görevi üstlenmesi ancak gaz geçişine de engel olmaması gerekmektedir. Buna göre yara bölgesiyle temas edecek malzemenin gözenek yapısının daha büyük, birbiriyle bağlantılı ve yüksek emilim yapma kapasitesine sahip bir yapıda olması gerekmektedir. Diğer yandan bakteriyel enfeksiyonlara karşı bariyer görevi üstlenmesi amaçlanan dış ortamla temas eden bölgenin ise daha az gözenekli olması gerekmektedir. Bunlar göz önünde bulundurularak bu tez kapsamında iki tabakası farklı yöntemlerle üretilen ve bu sayede farklı morfolojik özelliklere sahip çift tabakalı yara örtü malzemeleri tasarlanmıştır.



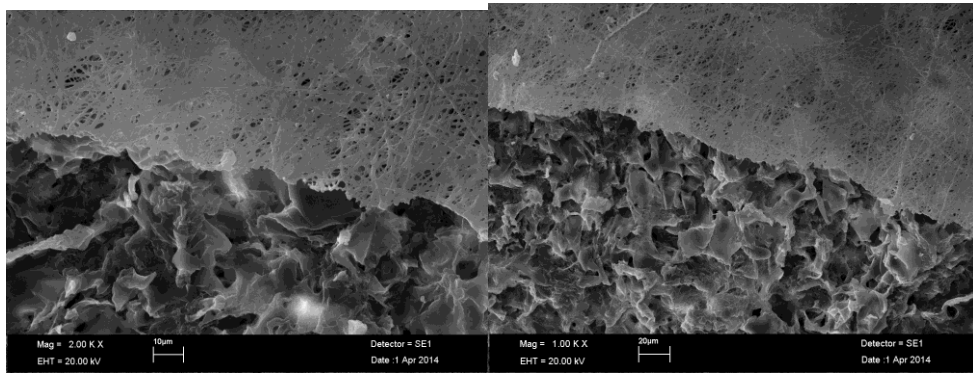
Şekil 4.2 poli(4-VP) ile 4 ve 8 gün kuaternerleştirme uygulanmış poli(Q4-VP)'e ait FT-IR spektrumları.

Yara örtü malzemesinin alt tabakasını oluşturacak, gözenekli süngerimsi yapı HPMA polimerinin kriyojelasyonu ile hazırlanmıştır. Elde edilen bu süngerimsi yapıların SEM görüntüleri Şekil 4.3'te verilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı gibi üretilen kriyojeller ince polimer duvarlarla birbirinden ayrılan, büyük, sürekli, birbiriyle bağlantılı çok gözenekli bir yapıya sahiptir. Gözenek çapları 4-35 μm aralığındadır.

Uygun ve arkadaşları (2012) [63] çapraz bağlayıcı olarak MBA kullanarak TEMED ve APS ile başlatılan serbest radikal polimerizasyonu ile gözenek çapları 10-20 μm arasında değişen poli(hidroksi etil metakrilat (PHEMA) kriyojel üretmişlerdir. Diğer bir çalışmada [64] ise 2013 yılında aynı yöntemle poli(2-hidroksietil metakrilat-ko-1,5-naftalin bismaleimit) [poli(HEMA-ko-NBMI)] kriyojel üretmişler ve 10-100 μm arasında değişen gözenek çapı elde etmişlerdir. Alkan ve arkadaşları [65] 2009 yılında aynı yöntemle 5 mL'lik bir şırınga içinde PHEMA kriyojel üretmiş ve gözenek boyutları 10-200 μm arasında değişen süper makro gözenekli kriyojeller elde etmişlerdir. Aynı yöntemle

Üretilen benzer yapıdaki bu kriyojellerle kıyaslandığında üretilen HPMA-bazlı kriyojellerin gözenek çaplarının literatürdeki sonuçlarla örtüştüğü gözükmektedir.

Polimerik kriyojellerin özellikleri sıcaklık ve örneğın donmuş halde tutulduğu süre ve dondurma/çözülme oranları gibi kriyojenik işlem koşullarına, kullanılan çözücünün doğasına, kullanılan n maddenin tipine (monomer veya polimer n madde), jel oluşturucu maddelerin konsantrasyonuna, diğer çözünebilir maddelerin ve çözünemeyen doldurucu maddelerin varlığına bağlıdır. Kriyojellerde gözenek boyutunu belirleyen temel etkenler ise başlangıç polimer konsantrasyonu ve işlem sıcaklığıdır. Düşük dondurma sıcaklığı daha fazla miktarda küçük çözücü molekülü kristallerinin oluşmasına bu da daha küçük daha küçük gözeneklerin oluşmasına sebep olmaktadır. Ayrıca düşük sıcaklıklarda donmamış sıvı miktarı azalırken gözenek duvarları da incelmektedir (Lozinsky vd. [34]).



şekil 4.3 PHPMA kriyojel-poli(Q4-VP) membran çift katmanlı yapısının SEM görüntüleri.

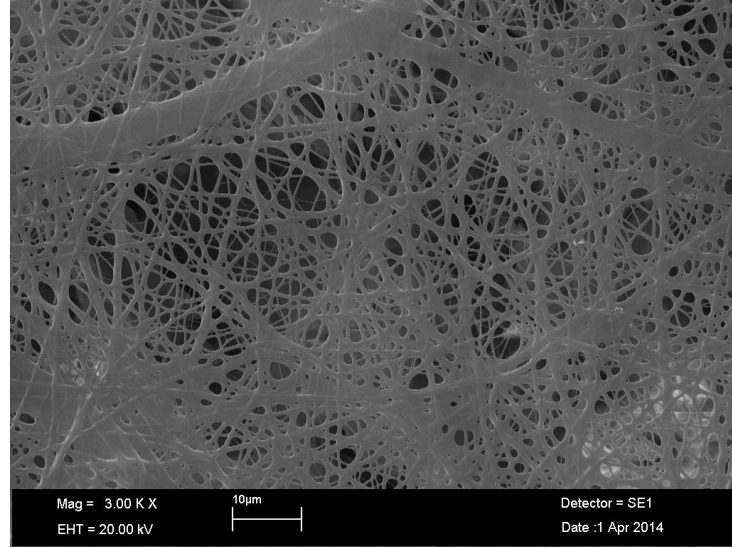
Elektroeğirme metodu ile elde edilen nanolifli membranlar, geniş yüzey alanı, gözenekli yapısı ve iyi filtrasyon özelliği sayesinde sıvının yaradan hızla uzaklaştırılmasını sağlarken, kontrollü su buharı kaybı ve mkemmek oksijen geçirgenliği ile yara ortamının nemli kalmasını ve oksijen almasını sağlayarak yara iyileşmesi için uygun ortamı sağlar ve yara iyileşmesini hızlandırıcı etki yaratır. Nanolifli yüzeylerin sahip olduğu gözeneklerin nano boyutları sayesinde dışarıdan mikroorganizma işgali de nlenmiş olur. Yapılan histolojik incelemeler, elektroeğirilmiş nanolifli membranla kapatıldığında yaranın epitelizasyon hızının yükseldiğini ve dermis oluşumunun iyileştiğini göstermiştir. Membranın fiber çapı mekanik özellikleri, gözenekliliği ve yüzeyin ıslanabilirliğini etkilemektedir. Fiber apı küçüldükçe yüzey alanı ve çekme özellikleri artarken gözeneklilik ve ıslatılabilirlik azalır (Kumbar vd. [4]).

Khil ve arkadaşları [66] 2003 yılında yara örtüsü olarak değerlendirmek amacıyla poliüretandan elektroğirme ile membran üretmişlerdir. Çözücü olarak hacmen 70:30 oranla karıştırılan THF/DMF karışımı kullanarak %25'lik polimer çözeltisi hazırlamışlar, iğne ucu ve toplayıcı arası mesafe 18 cm olacak şekilde 18 kV voltaj uygulayarak ortalama 250-300 nm çaplı fiberlerden oluşan membran elde etmişlerdir.

Chen ve arkadaşları [55] 2008 yılında yara örtüsü olarak değerlendirmek amacıyla elektroğirme ile kollajen ve kitosan bazlı kompozit yara örtüsü üretmişlerdir. Kütlece kollajen/kitosan oranı 1:3 olacak şekilde 0.5 M asetik asit ile polimer çözeltisi hazırlamışlar iğne ucu ve toplayıcı arası mesafe 25 cm ve akış hızı 0,5 mL/sa olacak şekilde 30 kV voltaj uygulayarak ortalama 134-398 nm çaplı fiberlerden oluşan membran elde etmişlerdir.

Rujitanaroj ve arkadaşları [67] 2008 yılında yara örtüsü olarak değerlendirmek amacıyla elektroğirme ile jelatin bazlı membran üretmişlerdir. %70'lik asetik asit kullanarak %22'lik polimer çözeltisi hazırlamışlar, iğne ucu ve toplayıcı arası mesafe 20 cm olacak şekilde 15 kV voltaj uygulayarak ortalama 230-280 nm çaplı fiberlerden oluşan membran elde etmişlerdir. Daha sonra bu membranı glutaraldehit ile çapraz bağlamışlar ve çapraz bağlanmış membrandaki fiber çaplarının 380-410 nm arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

PHPMA kriyojel üzerine elektroğirme ile poli(Q4-VP) nanofibröz membran oluşturulmuş çift katmanlı yara örtü malzemesinin fibröz membran görüntüsü Şekil 4.4'te verilmiştir. Şekil 4.4'te görüldüğü gibi nanofiberler beklenildiği gibi örülmemiş (non-woven) yapıda oluşmuş ve fiberlerde damla oluşumu görülmemiştir. Damla oluşumunun görülmemesi seçilen proses koşullarının optimum olduğunu göstermektedir. Fiberlerin kalınlığı 260 nm ile 6 µm arasında değişmektedir ve 0,8-1 µm çaplı fiberler yoğunluktadır. Dong ve arkadaşlarının çalışmasına göre poli(4-VP) 350 mg/ml konsantrasyonunda DMF ile çözeltisi hazırlanarak, 20kV voltaj uygulanarak ve toplayıcı uzaklığı 25 cm'ye ayarlanarak elektroğirilmiş, pürüzsüz bir yüzey morfolojisine sahip ortalama 290 nm çapında fiberler elde edilmiştir (Dong vd. [68]).



Şekil 4.4 poli(Q4-VP) fiberlerin SEM görüntüsü.

Elektroegirilmiş membran tabaka kriyojel katmana göre daha az gözeneklilik göstermektedir. Bunun nedeni fiberlerin üst üste gelerek ağıs bir yapı oluşturmalarıdır. Daha az gözenekli olması bu tabakanın bariyer görevini desteklemektedir.

Shemesh ve Zilberman [69] biyoemilebilir özellikte PDLGA/kollajen bazlı çift katmanlı yara örtüsü üretmişlerdir. Ürettikleri hibrit yapı ters emülsiyon dondurarak-kurutma tekniği ile üretilen sentetik, mikrogözenekli analjezik ilaç yüklenmiş PDLGA üst tabaka ile süngerimsi kollajen alt tabakadan oluşmaktadır. Analjezik ilacın yara bölgesine salınmasıyla acıyı azaltmak amaçlanmıştır.

Uzunalan ve arkadaşları [70] doku mühendisliği yaklaşımıyla kollajen bazlı çift katmanlı doku iskelesi üretmişlerdir. Derideki dermis/epidermis çift katmanlı yapısına benzerlik göstermesi için malzemenin alt katmanını dondurarak kurutma ile üst katmanını ise elektroegirme ile hazırlamışlardır. Hazırlanan malzemeye antibakteriyel aktivite sağlamak amacıyla üst katmana gümüş nanopartiküller yüklemişler; yara iyileşmesini indüklemek amacıyla ise sünger tabakaya fibrinojen immobilize etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmalardan farklı olarak bu tez çalışmasında üretilen yara örtü malzemesi geçici özellikte bir malzemedir. Ayrıca hazırlanan malzemenin antimikrobiyal özelliği üst katmanında kullanılan polimerin antimikrobiyal etki göstermesi ile sağlanmıştır. Alt katmana yüklenen C vitamini ile ise yara iyileşme prosesine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

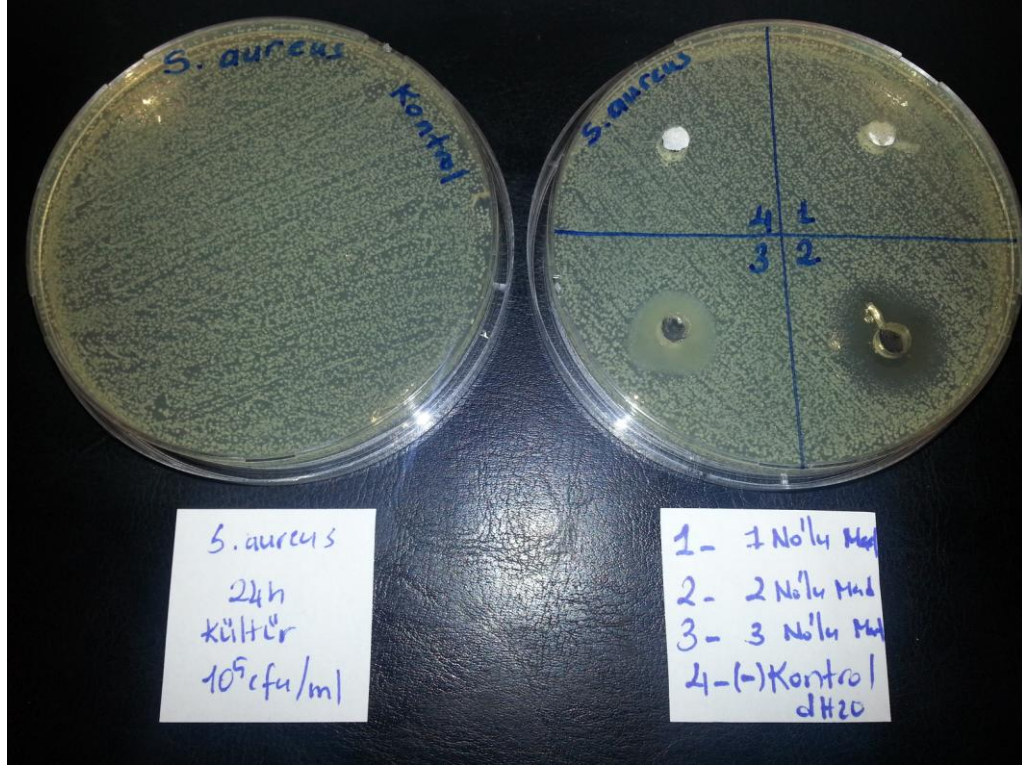
4.3 Antibakteriyel Özelliğın İncelenmesi

Yara örtü malzemesinin elektroğirme ile üretilecek antimikrobiyal tabakasında kullanılması için sentezlenen poli(Q4-VP) polimerinin antimikrobiyal etkisi *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans*'a karşı agar difüzyon metodu ile incelenmiştir. Kuaternerleştirilmiş poli(4-VP) polimerleri yaygın olarak kullanılan sentetik katyonik antimikrobiyal polimerlerdir (Timofeeva ve Kleshcheva [71]).

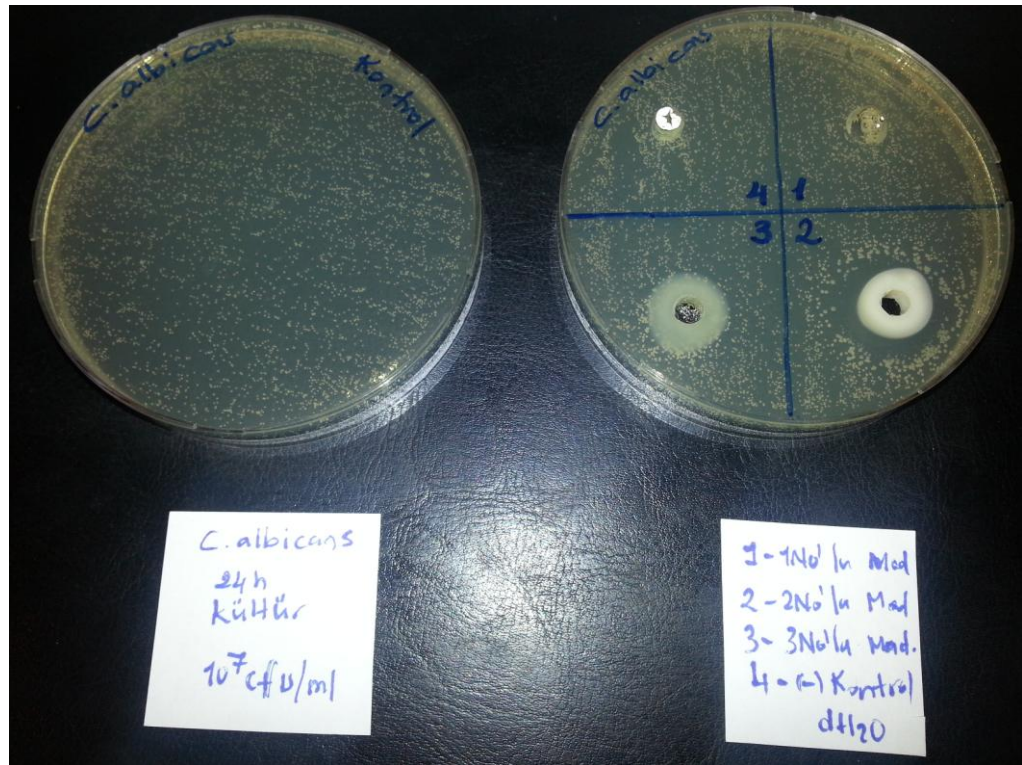
Şekil 4.5'de bir bakteri olan *S.aureus*'a karşı gözlemlenen antibakteriyel etki, Şekil 4.6'da ise bir maya türü olan *C.albicans*'a karşı gözlemlenen antifungal etki sonuçları gösterilmiştir. Buna göre her iki mikroorganizma türü için de Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterildiğı gibi 1 numaralı bölmede bulunan poli(4-VP) polimeri 0 mm bölge çapı ile antibakteriyel ve antifungal açıdan etkisizdir. 2 numaralı bölmede bulunan 8 gün süre ile kuaternerleştirilmiş poli(Q4-VP) polimeri 20 mm bölge çapı ile hem antibakteriyel hem de antifungal etki göstermiştir. 3 numaralı bölmede bulunan 4 gün süre ile kuaternerleştirilmiş poli(Q4-VP) polimeri ise 0 mm bölge çapı ile her iki mikroorganizma üzerinde de etkisiz olmuştur. 4 numaralı bölme ise polimerlerin çözöldüğü destile suyu içeren (-) kontrol kuyusudur.

Kawabata ve Nishiguchi [72] 1988 yılında yaptıkları çalışmada direk temas yöntemiyle, benzil-bromür ile kuaternerleştirdikleri farklı molekül ağırlıklarına sahip poli(Q4-VP)'lerin *A.atrocyaneus*, *B.subtilis*, *S.aureus* ile bazı *Streptococcus* türleri gibi gram-pozitif bakteriler ve *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *S.typhimurium* ile *S.marcescens* gibi gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdiğini belirlemişler ve bu etkinin polimerin molekül ağırlığına bağılı olarak değıştiğini tespit etmişlerdir.

Krishnan ve arkadaşları [73] polistiren-b-poli(4-VP) polimerini 6-perflorooktil-1-bromohekzan ile kuaternerleştirmişler ve *S.aureusa*'a karşı antibakteriyel özelliğini incelemişler ve florlanmamış emsallerine göre daha fazla antibakteriyel etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.



Şekil 4.5 Sentezlenen polimerlerin antibakteriyel test görüntüleri (1:poli(4-VP), 2:8 günlük poli(Q4-VP), 3:4 günlük poli(Q4-VP), 4:(-) kontrol dH₂O)



Şekil 4.6 Sentezlenen polimerlerin antifungal test görüntüleri (1:poli(4-VP), 2:8 günlük poli(Q4-VP), 3:4 günlük poli(Q4-VP), 4:(-) kontrol dH₂O)

Bu tez kapsamında üretilmesi amaçlanan yara örtü malzemesinin antimikrobiyal tabakasını oluşturması amacıyla sentezlenen ve 8 gün boyunca kuaternerleştirilen poli(Q4-VP) polimerinin antifungal ve antibakteriyel özellik gösterdiği ispatlanmış ancak 4 günlük kuaternerleştirmenin antimikrobiyal etki için yeterli olmadığı belirlenmiştir. Burada kullanılan polimerin en önemli avantajı, bazı antibakteriyel ajanların (gümüş iyonu gibi) vücut içerisine salım sorunu olmayışıdır.

4.4 Şişme Testi

PBS ortamında gerçekleştirilen şişme testi sonuçları Şekil 4.7’de verilmektedir. Kriyojel yapıdaki süngerlerden beklenildiği gibi 1 dakika gibi çok kısa bir sürede ani bir şişme gözlenmiş (%444) ve yaklaşık 50 dakikada denge şişme derecesine (%323) ulaşılmıştır.

Mu ve arkadaşları [75] dialdehit nişasta ile çapraz bağladıkları kollajen kriyojel üretmişlerdir. Üretilen kriyojelin aniden şiştiği ve 10 dakikada denge şişme derecesine (%318) ulaştığı tespit edilmiştir.

Bereli ve arkadaşları [76] anti-hlgG immobilize edilmiş PHEMA–bazlı kriyojel üretmişlerdir. Üretilen kriyojelin şişme oranı %750 olarak tespit edilmiştir.

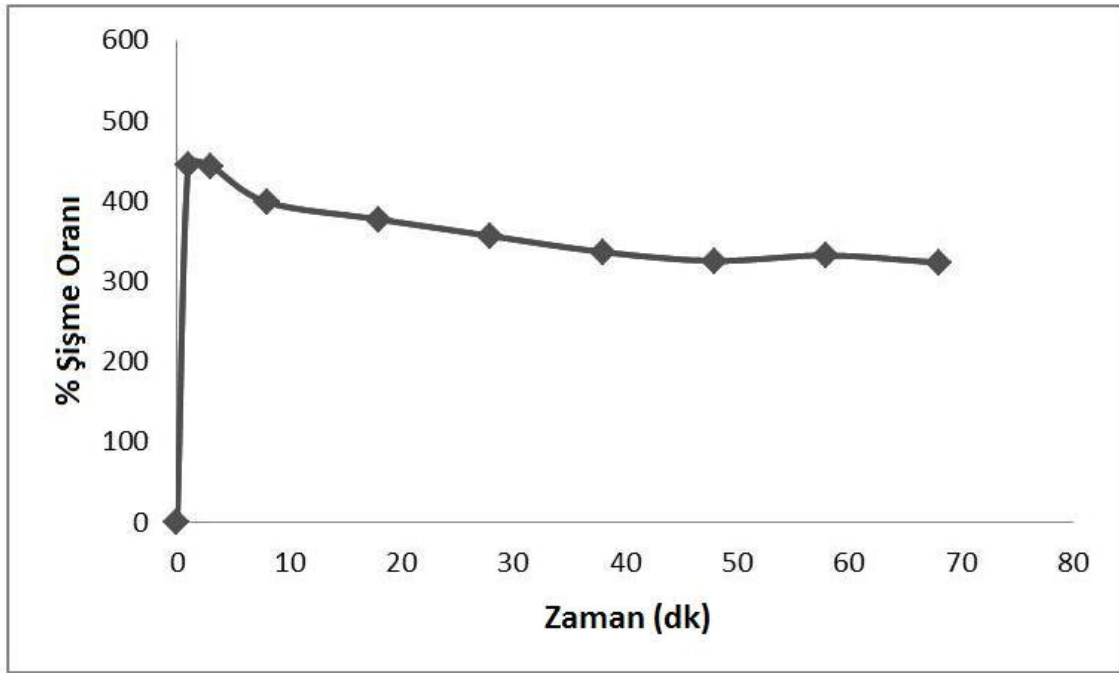
Uygun ve arkadaşları [77] poli(2-hidroksietil metakrilat-ko-gliseridil metakrilat) [poli(HEMA-GMA)] bazlı kriyojel üretmişler ve şişme derecesini %554 olarak tespit etmişlerdir.

Daha yüksek geçirgenlik ve biyouyumluluk göstermesi sebebiyle yüksek su alma kapasitesine sahip ve denge şişme derecesine hızlı ulaşan jeller tercih edilmektedirler (Mu vd. [75]). Buna göre, elde edilen doku iskelelerinin kriyojellerden beklenildiği üzere ani bir şişme davranışı göstermesi ve kısa zamanda denge şişme derecesine ulaşarak, yara bölgesindeki eksudatı emme ve bölgeyi nemli tutma kabiliyetinin olduğu sonucuna varılabilir.

4.5 Askorbik Asit Salım Çalışması

Askorbik asitin (C vitamini) yara iyileşmesinde pek çok rolü olduğu ve bu vitaminin eksikliğinin doku yenilenmesi üzerinde çoklu sonuçlar doğurduğu bilinmektedir. C vitamini eksikliği kollajen sentezi ve fibroblast çoğalmasında azalmaya bağlı olarak anjiyogenezin azalmasına ve kapiler kırılabilirliğin artmasına neden olarak iyileşmenin

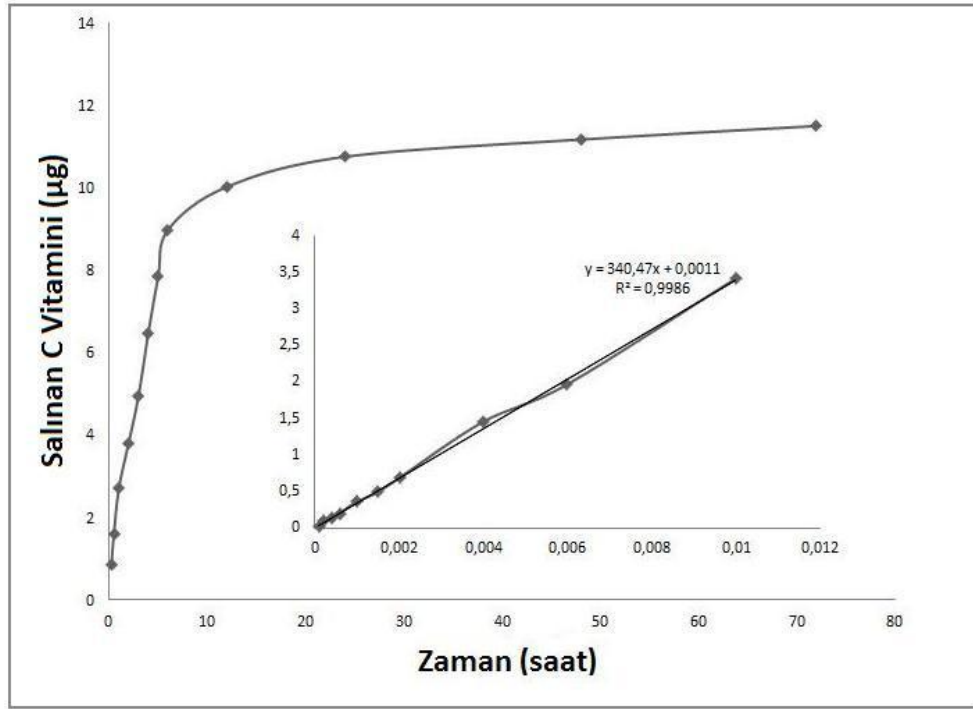
eksik kalmasına sebep olur. Ayrıca C vitamini eksikliği eksik immün yanıt oluşumuna ve yara enfeksiyonuna karşı hassasiyetin azalmasına öncülük eder (Guo ve DiPietro [9]).



Şekil 4.7 % Şişme oranının zamanla değişimi.

Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada hazırlanan yara örtü malzemesinin yara bölgesiyle temas edecek kriyojel tabakasına C vitamini yüklenmiştir. C vitamininin kriyojelden salımı toplam salınan C vitamini hesaplanarak çizilen Şekil 4.8'deki grafikte görüldüğü şekilde gerçekleşmiştir. Şekil 4.8'de de görüleceği gibi başlangıçta hızlı olan salım daha sonra yavaşlamaktadır. Bu durum salım kinetiği çalışmalarıyla ortaya konan, pek çok farklı form ve kompozisyondaki salım aracında görülen ve patlama salımı (burst release) denilen bir davranıştır. Patlama salımı (burst release) salım aracının geometrisi, konak malzemenin yüzey geometrisi, ilaçların polimer matriks içindeki heterojen dağılımı, ilacın yapısal çözünme oranları, salım aracının gözenek yapıları gibi pek çok farklı etkenle ilişkilidir (Fu ve Kao [78]).

Şekilde de gösterildiği gibi 6. saate kadar hızlı bir C vitamini salımı gerçekleşmiştir. Daha sonra yavaşlayan salım 48. saatten sonra neredeyse lineer bir davranış göstermektedir. 24 saatin sonunda toplam salımın % 93,5'unun gerçekleştiği görülmektedir. Bu salım çalışmasında elde edilen sonuçların Yang ve arkadaşlarının [79] C vitamini salımıyla ilgili yaptıkları çalışmada elde ettikleri verilerle uyum gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.8 Zaman karşı C Vitamini Salımı

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında hem yara bölgesinin iyileşmesini kolaylaştıracak ve yara iyileşme proseini destekleyecek hem de yara bölgesini mikrobiyal istiladan koruyabilecek morfolojik özelliklere sahip ve aynı zamanda kimyasal olarak antimikrobiyal etki gösterebilen çift katmanlı yara örtü malzemesi üretimi amaçlanmıştır.

Bu amaçla malzemenin yarayla temas edecek ilk tabakasının yüksek gözeneklilikte, sıvı emme kapasitesi yüksek ve hücre büyümesine yardımcı biyouyumlu, süngerimsi HPMA kriyojelden yapılması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda çapraz bağlayıcı olarak MBA kullanarak TEMED ve APS ile başlatılan serbest radikal polimerizasyonu ile kriyojelasyonu gerçekleştirilen HPMA kriyojellerin morfolojik yapısı SEM ile belirlenmiş ve şişme kapasitesi tespit edilmiştir. Üretilen kriyojellerin amacına uygun olarak ince polimer duvarlarla birbirinden ayrılan, büyük, sürekli, birbiriyle bağlantılı çok gözenekli bir yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir.

Malzemenin dış ortamla temas edecek ikinci tabakasının hem morfolojik yapısı sayesinde fiziksel bariyer olarak hem de kimyasal yapısı sayesinde antimikrobiyal etki göstermesi hedeflenmiştir. Bu amaçla üst tabaka olarak yapısındaki kuaterner amonyum tuzları sayesinde antimikrobiyal etki gösteren, elektroeğrilmiş fiberlerden meydana gelen poli(Q4-VP) membran üretilmiştir. Bunun için öncelikle antibakteriyel özellik taşımayan poli(4-VP) polimeri sentezlenmiş; daha sonra sentezlenen poli(4-VP) polimeri 6-bromokaproik asit ile metanol içerisinde alkilenme reaksiyonuna sokularak kuaterner olması sağlanmıştır. Üretilen HPMA-bazlı kriyojelin ve sentezlenen

polimerlerin yapısal açıdan FT-IR ile incelenmiştir. Elde edilen kuaterner poli(4-VP) polimerinin antibakteriyel ve antifungal özellikleri agar difüzyon testi ile belirlenmiştir.

Antimikrobiyal testler sonucunda antibakteriyel ve antifungal etki gösterdiği ispat edilen 8 gün kuaternerleştirilmiş poli(Q4-VP) polimeri elektroegirme için kullanılmıştır. Hazırlanan HPMA-bazlı kriyojeller üzerine elektroegirme ile poli(Q4-VP) membranlar hazırlamak için %20'lik poli(Q4-VP)/HFIP çözeltisi hazırlanmış ve toplayıcı olarak alüminyum folyo kullanılan elektroegirme sistemine yerleştirilerek kriyojeller üzerine membran üretimi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra çift katmanlı yapının ve fiberlerden oluşan membranın morfolojik karakterizasyonu SEM ile yapılmıştır.

Çalışmanın son aşamasında üretilen çift katmanlı yara örtü malzemesinin kriyojel tabakasına yara iyileşmesini arttırmak amacıyla kollajen sentezi ve fibroblast çoğalmasındaki önemli rolü bilinen C vitamini yüklenmiştir. C vitamininin kümülatif salımı spektrofotometre ile belirlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında verilen bu sonuçlara dayanarak, hazırlanan malzemelerin, sitotoksosite, hassasiyet gibi biyoyumluluk testlerinin, gerek hücre kültürü ortamında gerek hayvanlar üzerinde incelenmesi grubumuzca yapılması planlanan çalışmalardandır. Ayrıca, bu malzemelerin yara üzerindeki beklenen etkinliğinin gözlenmesi için hayvanlar üzerinde yaratılan modeller üzerinde çalışmalar da planlanmaktadır.

-
- [1] Groeber F., v.d., (2011). "Skin tissue engineering:In vivo and in vitro applications", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 63(4-5): 352-66.
- [2] Harding K.G., Morris H.L. ve Patel G.K.,(2002). "Science, medicine and the future: healing chronic wounds", *BMJ (Clin Res Ed)*, 324: 160–3.
- [3] Hogge J., Krasner D., Nguyen H., Harkless L.B. ve Armstrong D.G.,(2000). "The potential benefits of advanced therapeutic modalities in the treatment of diabetic foot wounds", *J Am Podiatr Med Assoc*, 90: 57–65.
- [4] Kumbar S. G., Nukavarapu P. S., v.d.,(2008). " Electrospun poly(lactic acid-co-glycolic acid) scaffolds for skin tissue engineering", *Biomaterials*, 29: 4100–4107.
- [5] Eming S.A., Yarmush M.L. ve Morgan J.R.,(1998). "Genetically modified keratinocytes expressing PDGF-A enhance the performance of a composite skin graft", *Hum. Gene Ther.*,9: 529–539.
- [6] Lozinsky V.I.,(2008). "Polymeric cryogels as a new family of macroporous and supermacroporous materials for biotechnological purposes", Published in Russian in *Izvestiya Akademii Nauk. Seriya Khimicheskaya*, No.5: 996—1013.
- [7] Karaca E., Özbek S., Çavuşoğlu İ., Kahveci R., Üstündağ G.C.,(2009). "Elektroüretim Yöntemi ile Nanolifli Yüzey Üretimi ve Nanolifli Yüzeylerin Yara Örtüsü Olarak Kullanımının In Vivo Çalışmalar ile Araştırılması",Tübitak Projesi, Proje No: 108M396.
- [8] Huang Z.M., Zhang Y.Z., Kotaki M. ve Ramakrishna S., (2003). "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites", *Composites Science and Technology*, 63: 2223–2253.
- [9] Guo S. ve DiPietro L.A., (2010). "Factors Affecting Wound Healing", *J Dent Res*, 89(3): 219-229.
- [10] MacNeil S.,(2008). "Biomaterials for tissue engineering of skin" *Materialstoday* 11: 26-35.
- [11] Skin Problems and Treatments Health Center <http://www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/picture-of-the-skin>, 10 Nisan 2014.
- [12] Can B., <http://histemb.medicine.ankara.edu.tr/Deri%20ve%20Ekleri.pdf>, 12 Nisan 2013.

- [13] Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J. ve Lemons J.E., (2004). Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, Second Edition, Elsevier Academic Press, California.
- [14] Lanza R., Langer R. ve Vacanti J., (2007). Principles of Tissue Engineering, Third Edition, Elsevier Academic Press, California.
- [15] Dabney S.E., (2002). The Use of Electrospinning Technology to Produce Wound Dressings, Doktora Tezi, The University of Acron.
- [16] Ashcroft G.S., Mills S.J. vd., (2003). "Estrogen modulates cutaneous wound healing by down regulating macrophage migration inhibitory factor", J Clin. Invest. 111(9): 1309-1318.
- [17] Basu A., Castle V.P. vd., (2006). "Cross talk between extrinsic and intrinsic cell death pathways in pancreatic cancer: synergistic action of estrogen metabolite and ligands of death receptor family", Cancer Res. 66(8): 4309-4318.
- [18] Karasu A. Ve Bakır B., (2008). "Yara ve Yara İyileşmesi", Veteriner Cerrahi Dergisi, 14 (1): 36-43.
- [19] Uzer N., (2007). Sıçanlarda Deri Fleplerinin Yaşayabilirliğinde Curcumin Kullanımının Etkilerinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
- [20] Maffulli N, Moller H.D. ve Evans C.H., (2002). "Tendon healing: can it be optimised?", Br J Sports Med., 36(5): 315-316.
- [21] Özkoç G., (2008). "Doku Mühendisliği ve Doku Mühendisliği Uygulamalarında Biyomalzemeler, Yapı İskeleleri ve Biyoreaktörler", Temel Kök Hücre Teknikleri ve Moleküler Biyoloji Uygulamaları Kurs Kitapçığı, Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kocaeli.
- [22] Liu C., Xia Z. ve Czernuszka J.T., "Design and Development of Three-Dimensional scaffolds for Tissue Engineering", DOI: 10.1205/cherd06196.
- [23] Shoichet M.S., (2010). "Polymer Scaffolds for Biomaterials Applications", Macromolecules, 43: 581-591.
- [24] Winter G.D., (1962). "Formation of the scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig", Nature, 193: 289-297.
- [25] Purna S.K. ve Babu M., (2000). "Collagen Based Dressings-a review", Burns, 26: 54-62.
- [26] Turner T.D., (1985). "Semioclusive and occlusive dressings: An environment for healing. The role of occlusion", Royal society of Medicine International Congress and Symposium Series No:38, London UK.
- [27] Alrubaiy L. ve Al-Rubaiy K.K., (2009). "Skin Substitutes: A Brief Review of Types and Clinical Applications", OMJ VOL.24 NO.1 P.4.
- [28] Eming S.A., Yarmush M.L. ve Morgan J.R., (1998). "Genetically modified keratinocytes expressing PDGF-A enhance the performance of a composite skin graft", Hum. Gene Ther. 9: 529-539.
- [29] Stashak T.S., Farstvedt E. ve Othick A., (2004). "Update on Wound Dressings: Indications and Best Use", Clinical Tech in Equine Practice, 1534-7516/04.
- [30] Fletcher J., <http://www.nursingtimes.net/best-practice-choosing-an-appropriate-antibacterial-dressing/201546.article>, 14 Nisan 2014.

- [31] Papkov S.P., (1974) "Gel-Like State of Polymers", Khimiya, Moscow, 256 p.
- [32] Taşdelen B., Güven O., Baysal B. ve Erkol A.Y.,(2003) "Poli(N-İzopropilakrilamid)-ko-itakonik asit Hidrojellerinin Radyasyonla Sentezi ve Kontrollü Salım Davranışları", Katalizör,Yıl:2 Sayı:5.
- [33] Ross-Murhy S.B. ve McEvoy H., (1986). "Fundamentals of hydrogels and gelation", Brit. Polym. J. 18: 2–7.
- [34] Lozinsky V., Plieva F., Galaev I. ve Mattiasson B., (2002). "The potential of polymeric cryogels in bioseparation", Bioseparation 10: 163–188.
- [35] Lozinsky V.I., Kalina E.V., Grinberg V.Ya., Grinberg N.V., Chupov V.A. ve Plate N.A. (1997a). "Thermoresponsible cryogels based on crosslinked poly(N,N-diethylacrylamide)", Vysokomolekul soed 39A:1972–1978.
- [36] Lozinsky V. I., (2002). 'Cryogels on the basis of natural and synthetic polymers: preparation, properties and applications', Russian Chemical Reviews 71 (6) 489-511.
- [37] Bolgen N., Plieva F., Galaev I.Y., Piskin E. ve Mattiasson B., (2007). "Cryogelation for preparation of novel biodegradable tissue engineering scaffolds", J Biomater Sci Polymer Ed, 18: 1165–1179.
- [38] Formhals A. US patent 1,975,504, 1934.
- [39] Formhals A. US patent 2,160,962, 1939.
- [40] Formhals A. US patent, 2,187,306, 1940.
- [41] Formhals A. US patent, 2,323,025, 1943.
- [42] Formhals A. US patent, 2,349,950, 1944.
- [43] Vonnegut B. ve Neubauer R.L.,(1952). "Production of monodispers liquid particles by electrical atomization", J of Colloid Science, 7: 616.
- [44] Drozin V.G., (1955). J of Colloid Science, 10: 158.
- [45] Simons H.L., US patent 3,280,229, 1966.
- [46] Baumgarten P.K., (1971). " Electrostatic spinning of acrylic microfibers", J of Colloid and Interface Science, 36: 71–9.
- [47] He J.H., Wu Y. ve Zuo W.W., (2005). " Critical Length of Straight Jet in Electrospinning", Polymer 46: 12647-12640.
- [48] Reneker D.H. ve Chun I., (1996). " Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning", Nanotechnology 7: 216-223.
- [49] Sell S., Barnes C., Smith M., McClure M., Madurantakam P., Grant J., McManus M. ve Bowlin G., (2007). "Extracellular matrix regenerated: tissue engineering via electrospun biomimetic nanofibers", Polym Int, 56: 1349–1360.
- [50] Ramakrishna S., Fujihara K., Teo W.E., Lim T.C. ve Ma Z., (2005). " An Introduction to Electrospinning and Nanofibers", World Scientific Publishing Co., Singapore, Pp: 381.
- [51] Deitzel J.M., Kleinmeyer J., Harris D. ve Becktan N.C., (2001). " The Effect of Processing Variables on the Morphology of Electrospun Nanofibers and Textiles", Polymer, 42: 261–272.
- [52] Fong H. ve Reneker D.H., (1999). " Elastomeric nanofibers of styrene-butadiene styrene triblockcopolymer", J Polym Sci:Part B:Polym Phys, 37(24): 3488–93.

- [53] İkiz Y. ve Adanur S., (2009). "Elektrolif Çekim yöntemi ile nano lif üretimi ve filtrasyonda kullanımı", Tübitak Projesi, Proje No: 105M111.
- [54] Andradý A.L., (2008). " Science and Technology of Polymer Nanofibers", Wiley Pres., New Jersey,Pp: 403.
- [55] Chen J.P., Chang G.Y. ve Chen J.K., (2008). "Electrospun Collagen/Chitosan Nanofibrous Membrane as Wound Dressing", Colloids and Surfaces, 313: 183-188.
- [56] Wang L., Fu Y., Wang Z., Fan Y. ve Zhang X., (1999). "Investigation into an Alternating Multilayer Film of Poly(4-Vinylpyridine) and Poly(acrylic acid) Based on Hydrogen Bonding", Langmuir, 15: 1360-1363.
- [57] Çelik S., (2011). Poli(4-vinilpiridin) Homopolimeri, Maleik Anhidrit ve N-İzopropil Akrilamid ile Kopolimer ve Termopolimerlerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [58] Hu F.X., Neoh K.G., Cen L. ve Kang E.T., (2004). "Antibacterial and Antifungal Efficacy of Surface Functionalized Polymeric Beads in Repeated Applications", Wiley InterScience, DOI: 10.1002/bit.20384.
- [59] Park E.S., Kim H.S., Kim M.N. ve Yoon J.S, (2004). "Antibacterial activities of polystyrene-block-poly(4-vinyl pyridine) and poly(styrene-random-4-vinyl pyridine)", European Polymer Journal 40: 2819–2822.
- [60] Martínez-Ruvalcaba A., Sánchez-Díaz J.C., Becerra F., Cruz-Barba L.E. ve González-Álvarez A., (2009). "Swelling characterization and drug delivery kinetics of polyacrylamide-co-itaconic acid/chitosan hydrogels", eXPRESS Polymer Letters Vol.3, No.1:5–32.
- [61] Pana A.M., Bandur G., Rusnac L.M. ve Halmagean R., (2010). " Thermal Properties of New D-Mannose Oligomer Copolymerized With 2-Hydroxypropyl Methacrylate", Chem. Bull. Politechnica Univ. (Timisoara), Volume 1: 55-69.
- [62] Mondal P., Saha S.K. ve Chowdhury P., (2013). "Simultaneous Polymerization and Quaternization of 4-Vinyl Pyridine", J. Appl. Polym. Sci. 127: 5045–5050.
- [63] Uygun D.A., Akduman B., Uygun M., Akgöl S. ve Denizli A., (2012). "Purification of Papain Using Reactive Green 5 Attached Supermacroporous Monolithic Cryogel", Appl Biochem Biotechnol, 167: 552–563.
- [64] Uygun M., Şenay R.H., Avcıbaşı N. Ve Akgöl S., (2014). "Poly(HEMA-co-NBMI) Monolithic Cryogel Columns for IgG Adsorption", Appl Biochem Biotechnol, 172: 1574–1584.
- [65] Alkan H., Bereli N., Baysal Z. ve Denizli A., (2009). "Antibody purification with protein A attached supermacroporous poly(hydroxyethyl methacrylate) cryogel", Biochemical Engineering Journal 45: 201–208.
- [66] Khil M.S., Cha D.I., Kim H.Y., Kim I.S. ve Bhattarai N., (2003). "Electrospun Nanofibrous Poliurethane Membrane as Wound Dressing", J Biomed Mater Res Pt B Appl Biomater., 67B(2): 675-679.

- [67] Rujitanaroj P., Pimpha N. ve Supaphol P., (2008). "Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles", *Polymer*, Volume 49, Issue 21: 4723–4732.
- [68] Dong H., Fey E., Gandelman A. ve Jones W.E.Jr., (2006). "Synthesis and Assembly of Metal Nanoparticles on Electrospun Poly(4-vinylpyridine) Fibers and Poly(4-vinylpyridine)", *Composite Fibers Chem. Mater.*, 18: 2008-2011.
- [69] Shemesh M. ve Zilberman M., (2014). "Structure–property effects of novel bioresorbable hybrid structures with controlled release of analgesic drugs for wound healing applications", *Acta Biomaterialia*, Volume 10, Issue 3: 1380–1391.
- [70] Uzunalan G., Ozturk M.T., Dincer S. ve Tuzlakoglu K., (2013). "A Newly Designed Collagen-Based Bilayered Scaffold for Skin Tissue Regeneration", *Journal of Composites and Biodegradable Polymers*, 1: 8-15.
- [71] Timofeeva L. ve Kleshcheva N., (2011). "Antimicrobial polymers: mechanism of action, factors of activity and applications", *Appl Microbiol Biotechnol*, 89: 475–492.
- [72] Kawabata N. Ve Nishiguchi M., (1988). "Antibacterial Activity of Soluble Pyridinium-Type Polymers", *Applied and Environmental Microbiology*, Oct.: 2532-2535.
- [73] Krishnan S., Ward R.J., Hexemer A., Sohn K.E., Lee K.L., Angert E.R., Fischer D.A., Kramer E.J. ve Ober C.K., (2006). "Surfaces of Fluorinated Pyridinium Block Copolymers with Enhanced Antibacterial Activity", *Langmuir*, 22: 11255-11266.
- [74] Tiller J.C., Lewis K. ve Klivanov A.M., (2001). "Designing Surfaces That Kill Bacteria on Contact", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98: 5981-5985
- [75] Mu C., Liu F., Cheng Q., Li H., Wu B., Zhang G. Ve Lin W., (2010). "Collagen Cryogel Cross-Linked by Dialdehyde Starch", *Macromol. Mater. Eng.*, 295: 100–107.
- [76] Bereli N., Ertürk G., Tümer M.A., SayR. Ve Denizli A., (2012). "Oriented immobilized anti-hlgG via Fc fragment-imprinted PHEMA cryogel for IgG purification", *Biomed. Chromatogr.*, 27: 599–607.
- [77] Uygun M., Akduman B., Akgöl S. ve Denizli A., (2013). "A New Metal-Chelated Cryogel for Reversible Immobilization of Urease", *Appl Biochem Biotechnol*, 170: 1815–1826.
- [78] Fu Y. ve Kao W.J., (2010). "Drug Release Kinetics and Transport Mechanisms of Non-degradable and Degradable Polymeric Delivery Systems", *Expert Opin Drug Deliv.*, 7(4): 429–444.
- [79] Yang S., Liu W., Liu C., Liu W., Tong G., Zheng H. ve Zhou W., (2012). "Characterization and Bioavailability of Vitamin C Nanoliposomes Prepared by Film Evaporation-Dynamic High Pressure Microfluidization", *Journal of Dispersion Science and Technology*, 33: 1608–1614.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Cemre DEMİRKAN
Doğum Tarihi ve Yeri : Şişli/18.11.1988
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : cemredemirkan@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2011
Lise	Fen Bilimleri	Maltepe Anadolu Lisesi	2006

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2010	ALVİMEDİCA	Üretim Stajı
2009	NOVARTİS	Laboratuar Stajı

ÖDÜLLERİ

2010-2011 YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ KİMYA-METALÜRJİ FAKÜLTESİ
BİYOMÜHENDİSLİK BÖLÜM ÜÇÜNCÜSÜ