

**ANTİMİKROBİYAL AJAN SALAN HİDROJEL BAZLI DOKU
GENİŞLETİCİLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

**DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL AGENT RELEASING
HYDROGEL-BASED TISSUE EXPANDERS**

SAHAR SHAHIRDAVARPANA

Prof. Dr. MENEMŞE GÜMÜŞDERELİOĞLU
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyomühendislik Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.


2015

SAHAR SHAHIRDAVARPANAHA'ın hazırladığı “Antimikrobiyal ajan salan hidrojel bazlı doku genişleticilerin geliştirilmesi” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Nuray YILDIZ
Başkan



Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Danışman



Prof.Dr. Dilek Şolpan ÖZBAY
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

09/07/2015


SAHAR SHAHIRDAVARRPANAHAH

ÖZET

ANTİMİKROBİYAL AJAN SALAN HİDROJEL BAZLI DOKU GENİŞLETİCİLERİN GELİŞTİRİLMESİ

SAHAR SHAHIRDAVARPANA

Yüksek Lisans, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Temmuz 2015, 110 sayfa

Sunulan tez çalışmasının ana hedefi, halen klinikte kullanılmakta olan mevcut yumuşak doku genişletici hidrojellere alternatif olabilecek ve onların neden olduğu komplikasyonları minimum düzeye indirebilen, doku onarımını sağlayabilecek antimikrobiyal özellikte yeni bir hidrojel bazlı doku genişletici geliştirmek ve bu hidrojelin karakterizasyonunu gerçekleştirmektir. Bu amaca yönelik olarak, çalışma kapsamında, grubumuzca daha önce geliştirilen ve doku genişletici olarak en uygun özellikleri taşıdığı belirlenen poli(akrilamid-ko-2-hidroksietil metakrilat) p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli kullanılmıştır. Bu hidrojel, dokunun en zayıf olduğu dönemde oluşabilecek enfeksiyon riskini minimize etmek üzere amoksisilin (AMX) isimli antimikrobiyal ajanın salımını yapacak şekilde tasarlanmıştır. Ayrıca, geliştirilen doku genişletici modifiye edilerek, şişme hızı kontrolünün iyileştirilmesi de hedeflenmiştir. Hidrojeller silikon bir kılıfla kaplanmış ve silikon kılıfa bir delik açılmıştır. Delik, elektroçirme yöntemiyle üretilen polikaprolakton-amoksisilin (PCL-AMX) nanofiberlerle kapatılmıştır. Hidrojeller, serbest radikalik zincir polimerizasyonu ve çapraz bağlanma reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Polimerizasyonda, akrilamid (AAm) ve 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) monomerleri

molce % 94.5:5.5 oranında kullanılmıştır. Çapraz bağlayıcı olarak N,N'-metilen bisakrilamid (BIS) ve başlatıcı çifti olarak da amonyum persülfat (APS) ve N,N,N',N'-tetrametilendiamin (TEMED) kullanılmıştır. Bu çalışmada, gliserinli ve gliserinsiz, iki tür hidrojel sistemi üretilmiştir. Nanofiberlerin üretimi için hekzafloroizopropanol (HFIP) içerisinde %11'lik (kütle/hacim) PCL çözeltisi hazırlanmış ve amoksisilin, PCL'in kütlesine oranı % 3 veya 5 olacak şekilde çözeltiliye eklenmiş ve 40 veya 80 dk elektroğirilmiştir. Bunun yanı sıra, hidrojellerin, PCL ve PCL-AMX nanofiberlerin yapısal karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM), ısıl özellikleri termogravimetrik analiz (TGA), mekanik özellikleri sıkıştırma testi ve çekme testi ile incelenmiştir. PCL-AMX matrislerden ilaç salımı, spektrofotometrik olarak 229 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Dinamik şişme çalışmalarına (PBS, pH:7.4) göre, gliserinsiz ve gliserinli hidrojellerin 60 gün sonundaki denge su içerikleri, sırasıyla yaklaşık % 586 ve % 458 olarak bulunmuştur. Hidrojellerin şişme hızı, çalışmanın ilk 10 günü için, 5 mm x 5 mm boyutlarında ve 90-100 µm kalınlığındaki PCL-AMX nanofiber matrisin silikon kılıf üzerindeki delik üzerine kapatılmasıyla azaltılmış ve istenilen hızda şişme sağlanmıştır. Gliserinli ve gliserinsiz hidrojelleri içeren doku genişleticilerin denge su içerikleri, ilk 10 günde sırasıyla % 90 ve % 54 olarak hesaplanmıştır. PCL matrisin bozunması ile şişme oranları 10. güne göre çok daha hızlı artmaya devam etmiş ve aynı hidrojeller için bu oranlar 60. günde % 130 ve % 190 olarak belirlenmiştir. PCL-AMX nanofiberlerin *in-vitro* salım çalışmalarında, ani patlama etkisi (burst effect) görülmüş ve ilk 2 saatin sonunda matristen 55 µg AMX/mg PCL matris ilaç salımı gerçekleşmiştir. AMX salımı, ilerleyen sürelerde kontrollü bir şekilde devam etmiş ve 10 günün sonunda % 5'lik 80 dk elektroğirilmiş silikon kılıflı PCL-AMX nanofiber matrislerden 149 µg AMX/mg ve silikon kılıfsız PCL-AMX matrislerden 81 µg AMX/mg salımı elde edilmiştir. Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, kontrol edilebilir şişme özellikleri ve antimikrobiyal yapısıyla, amoksisilin salan p(AAm-ko-HEMA) hidrojelinin, umut vaat eden bir malzeme olarak klinikte doku genişletici olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Doku genişletici, akrilamid, hidroksietil metakrilat, hidrojel, amoksisilin, kontrollü salım.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF ANTIMICROBIAL AGENT RELEASING HYDROGEL-BASED TISSUE EXPANDERS

Sahar SHAHIRDAVARPANA

Master of Science, Department of Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

July 2015, 110 pages

The aim of this study is to develop a novel tissue expander based on the poly (acrylamide-co-hydroxyethyl methacrylate) hydrogel, p(AAm-co-HEMA), which is eliminating the problems seen in the current soft tissue expanders. P(AAm-co-HEMA) hydrogel which has desired properties, was put in a silicon shell to reduce and control the swelling rate. The hole on the shell was closed by using poly (ϵ -caprolactone) (PCL) nanofibrous mat to allow wound healing for approximately in ten days. Furthermore, an antibiotic, amoxicillin (AMX) was added into the PCL matrix and *in-vitro* release kinetics of AMX from tissue expander were investigated. In this study, hydrogel based tissue expanders were synthesized by free radical chain polymerization and cross-linking reaction. AAm and HEMA (94.5/5.5, mole ratios) were used as monomers whereas N,N'-Methylenebis acrylamide (BIS) and ammonium persulphate and (APS)/N,N,N',N'-Tetramethylenediamine (TEMED) were used as crosslinker and initiator system, respectively. Hydrogels were also modified by glycerin for easy manipulation and to obtain the shape memory hydrogel. Hydrogel was put in a silicon shell and the hole on the shell was closed with AMX loaded PCL (Mw 80,000) nanofiber matrix that was produced by

electrospinning method. Before electrospinning process, PCL 11% (w/v) with 3 or 5% (w/w) AMX was dissolved in hexafluoroisopropanol (HFIP). Solution was electrospun during 40 or 80 min. For characterization, swelling studies were carried out with two types of hydrogel, i. glycerin containing (3 mm x 10 mm) and ii. without glycerin (2 mm x 10 mm). Swelling and *in-vitro* AMX release studies were carried out in a shaking bath at 37°C and 70 rpm. AMX concentration was determined by spectrophotometrically at 229 nm. Morphologies of the hydrogels and PCL-AMX nanofibers were determined by SEM. All data were expressed as mean \pm standard deviations of representative of three similar experiments carried out in triplicate. According to the results of the dynamic swelling tests, equilibrium water contents of hydrogels with glycerin and without glycerin, in dry basis were approximately 458 % and 586 % for 60 days, respectively. The swelling rate of hydrogel was reduced and controlled with silicone shell that containing PCL nanofiber mat (5 mm x 5 mm, 90-100 μ m thickness) during first ten days. On the 10th day of swelling studies, the water contents of hydrogels with glycerine and without glycerine were calculated as 90 % and 54 %, respectively. By depending upon degradation of PCL mat, swelling ratios continued to increase faster than that of first ten days and were determined as 130 % and 184 % for hydrogel with glycerine and without glycerin, respectively. The release of AMX continued in a controlled manner and at the end of ten days 149 mg AMX/ μ g mat was released from silicon shell/PCL-AMX/80 min and 81 mg AMX/ μ g mat was released from PCL-AMX/80 min 5% (w/w) samples. In conclusion, AMX releasing p(AAm-co-HEMA) hydrogel based tissue expander is a novel and promising vehicle with its controllable swelling properties.

Keywords: Tissue expander, acrylamide, hydroxyethyl methacrylate, hydrogel, amoxicillin, controlled release.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca değerli bilgileriyle her zaman yönlendirici, öğretici ve eğitici olan; yüksek lisans öğrenimim boyunca hoşgörüsü, sabrı ve heyecanı ile bana kazandırdığı değerler için her zaman minnettar olacağım sevgili ve çok değerli hocam Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU'na,

Umutlarımı, heyecanlarımı, sevinçlerimi, üzüntülerimi kısacası tüm hayatımı paylaştığım; bugüne gelmemde emeği çok büyük olan, çok sevdiğim, her şeyim annem, babam ve kardeşime,

Tez çalışmam süresince, bilgi ve deneyimleri ile bana her zaman yardımcı olan, danışmaktan çekinmediğim sevgili çalışma arkadaşlarım Tuğrul Tolga DEMİRTAŞ'a, Gülseren Irmak'a,

Mutluluklarımı ve üzüntülerimi paylaşan, beni hiç yalnız bırakmayan, hayatımda oldukları için kendimi çok şanslı hisettiğim sevgili dostlarım İnci Şeyxaliev'a, Elif Sunal'a, Ulduz Tofig, Ferzin Asgari Sana'a, Derya'ya, Araz Noruzi'le en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Aynı ortamda çalışmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım, Dr. Murat ŞİMŞEK'e, Dr. Anıl Sera ÇAKMAK'a ve Dr. Soner ÇAKMAK'a, Müşra ZEREN'e, Ar. Gör. Merve ÇAPKIN YURTSEVER'e, Gökçe KAYNAK'a, Ekin Özge TUNÇAY'a,

En içten teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ETİK	i
ÖZET	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Hidrojeller	4
2.1.1. Hidrojellerin sınıflandırılması	6
2.1.1.1. Homopolimer hidrojeller	7
2.1.1.2. Kopolimer hidrojeller	7
2.1.1.3. Çoklu polimer hidrojeller	7
2.1.1.4. İç içe geçmiş polimerik ağ yapılı hidrojeller (Interpenetrating networks, IPN)	7
2.1.1.5. İyonik olmayan hidrojeller	8
2.1.1.6. İyonik hidrojeller	8
2.1.1.6.i) Anyonik hidrojeller	8
2.1.1.6.ii) Katyonik hidrojeller	8
2.1.2. Hidrojellerin sentezi	9
2.1.2.1. Serbest radikal polimerizasyonu	9
2.1.2.2. İyonik polimerizasyon	10
2.1.2.3. Kondenzasyon polimerizasyonu	10
2.1.3. Hidrojellerde suyun konumu	11
2.1.4. Hidrojellerin şişme özelliklerini etkileyen kuvvetler	12
2.1.4.1. Polimer-polimer interdifüzyon ve yapışma teorisi	12

2.1.4.2. Hidrojen-iyon basıncı teorisi	12
2.1.5. Hidrojelik biyomalzemeler.....	13
2.1.5.1. Hidrojelik biyomalzemelerin avantajları	13
2.1.6. Hidrojellerin kullanım alanları	15
2.2. Doku Genişlemesi	15
2.2.1. Doku genişleticilerin tarihçesi	16
2.2.2. Doku genişleticilerin karşılaştırılması	19
2.2.3. Doku genişlemesi yönteminin avantajları ve dezavantajları	22
2.2.4. Doku genişlemesinin kullanım alanları	23
2.3. Ağız Bölgesindeki Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Tedavisi	24
2.3.1. Antibiyotikler	24
2.3.2. Antibiyotiklerin tıpta kullanımı	26
2.3.3. Antibiyotiklerin farmakodinamiği	26
2.3.4. Antibiyotiklerin sınıflandırılması	26
2.3.5. Amoksisilin (AMX)	27
2.3.5.1. Amoksisilin tıpta kullanımı	28
2.3.5.2. Amoksisilin etki mekanizması	28
2.3.5.3. Amoksisilin mikroorganizma spektrumu.....	28
2.3.5.4. Amoksisilin kullanımına ilişkin literatür örnekleri.....	28
2.4. Elektroçirme ile Nanofiber Üretimi.....	29
2.4.1. Elektroçirme tekniği	30
2.4.2. Elektroçirme tekniğinin biyotıp alanındaki önemi.....	30
2.5. Kontrollü İlaç Salımı Prensipleri.....	32
2.5.1. Kontrollü salım yapan sistemlerin sınıflandırılması.....	33
2.5.2. Difüzyon kontrollü sistemler.....	33
2.5.3. Kimyasal kontrollü sistemler	34
2.5.4. Çözücünün harekete geçirdiği sistemler.....	34

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	36
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
3.2. Hidrojel Sentezi	38
3.2.1. P(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin sentezi....	38
3.3. Şişme Hızının Kontrol Altına Alınması ile İlgili Çalışmalar	40
3.3.1. Hidrojellerin silikon kılıfla kılıflanması	40
3.3.2. Kılıf üzerindeki deliğin kapatılması	40
3.3.3. Elektroegirme cihazı ile PCL-AMX nanofiber matrislerin üretimi	40
3.4. P(AAm-ko-HEMA) Hidrojellerin Karakterizasyon Çalışmaları	42
3.4.1. Şişme çalışmaları	42
3.4.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile morfolojik analiz	43
3.4.3. Termal gravimetrik analiz (TGA).....	43
3.4.4. FTIR analizi	44
3.4.5. Mekanik analiz.....	44
3.5. PCL Nanofiberlerden AMX'in <i>In-vitro</i> Salım Çalışması.....	44
3.6. Antimikrobiyal Çalışmalar	46
4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR.....	47
4.1. Doku Genişletici Hidrojellerin Sentezi.....	47
4.1.1. Ticari doku genişletici hidrojel (Osmed®): sentezi, karakteristik özellikleri ve dezavantajları	47
4.1.2. P(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin sentezi	48
4.1.3. P(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin gliserinle muamelesi	49
4.1.3.1. Gliserinin p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin üzerindeki etkisi	50
4.1.4. Yıkama işlemleri	51
4.1.5. Kurutma işlemleri.....	51
4.2. Şişme Hızının Kontrol Altına Alınması ile ilgili Sonuçlar	52
4.2.1. Kılıflama çalışmaları ile ilgili sonuçlar	52

4.3. PCL ve PCL-AMX Nanofiberlerin Üretimi ve Karakterizasyonu	53
4.4. Yapısal Karakterizasyon Çalışmaları	57
4.4.1. Hidrojellerle yapılan şişme çalışmaları	57
4.4.1.1. Farklı sürelerde gliserin ile muamele edilmiş hidrojellerin şişme özellikleri	58
4.4.1.2. Tersinir şişme çalışmaları	59
4.4.1.3. Silikon kılıfın hidrojellerin şişme kinetiği üzerine etkisi	61
4.4.2. Hidrojellerin SEM ile analizi	66
4.4.3. Termal analiz	68
4.4.4. FTIR analizi	70
4.4.5. Mekanik dayanım testi	71
4.5. PCL-AMX nanofiberden AMX salım mekanizması	73
4.5.1. <i>In-vitro</i> salım çalışmaları	73
4.5.1. (2x2 cm) boyutlarındaki PCL-AMX matrislerden salım	74
4.5.1.2. (5 mm x 5 mm) ebatında olan PCL-AMX matrislerin salım kinetiği ile ilgili sonuçlar	76
4.6. Mikrobiyal Aktivite Testi	78
5. GENEL SONUÇLAR	80
KAYNAKLAR	83
EKLER	91
ÖZGEÇMİŞ	92

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

EWC	Denge su içeriği (Equilibrium Water Content)
W_t	Dengedeki şişmiş ağırlık
W_0	Kuru ağırlık

Kısaltmalar

AAc	Akrilik asit
AAm	Akrilamid
APS	Amonyum persülfat
Bis	N,N'-metilen bisakrilamid
HEMA	2-hidroksietil metakrilat
PCL	Polikaprolakton
TEMED	N,N,N',N'-tetrametilendiamin
CMC	Karboksimetil selüloz
MMA	Metil metakrilat
AMX	Amoksisilin
MIC	Minimum inhibitör konsantrasyon
FTIR	Fourier Transform Infrared
IPN	Interpenetrating Network (İç İçe Geçmiş Ağ Yapı)
p(HEMA)	Poli(2-Hidroksietil Metakrilat)
SEM	Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
TGA	Thermogravimetric Analyzer (Termogravimertik Analiz Cihazı)
UV	Ultraviyole
HFIP	Hekzafloroizopropanol
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
SPAN	Nişasta-Graft-Poliakrilonitril
NIPAAm	N-izopropilakrilamid
HA	Hidroksiapatit
PLGA	Poly (lactide-co-glycolide)

1. GİRİŞ

“Doku genişlemesi” canlılığın ilk gününden beri var olan fizyolojik bir olaydır. Canlı dokular basınç ve gerilim uyarılarına karşı boylarını uzatarak, yüzeylerini genişleterek ve kütlelerini artırarak cevap verirler. Bu fiziksel olay bir tedavi yöntemi olarak uzun yıllardır klinikte de kullanılmaktadır. Doku genişlemesi amaçlı bu yöntem, vücudun herhangi bir yerinde bulunan derinin, kemiğin veya diğer dokuların büyümesini teşvik etmek için kullanılmaktadır. Bu teknikte kullanılan cihazlara “doku genişleticiler” denilmektedir [1].

Yumuşak doku genişletme fikri ilk olarak Neomann tarafından 1957 yılında balon tekniği yöntemi ile ortaya atılmıştır. Bu teknikte cilt altına bir balon yerleştirilmiş ve bu balon cilt dışına polietilen bir tüp ile bağlanarak hava enjeksiyonu ile doku genişlemesi hedeflenmiştir [2]. Balonun cilt dışına bağlantısının olması nedeniyle pek çok komplikasyonla karşılaşıldığından bu teknik ilerleyen yıllarda popülaritesini yitirmiştir. Daha sonra 1979 yılında Radovan, yumuşak doku genişletmede yeni bir yöntem olan ve halen kullanılmakta olan konvansiyonel tekniği geliştirmiştir. Bu teknikte tümör veya travma sonrası meydana gelen doku kayıplarının rekonstrüksiyonu için hasarlı bölgeye komşu sağlıklı dokunun genişletilmesi ve hasarın aynı doku ile onarılması amaçlanmıştır. Radovan'ın tekniğinde doku genişletici olarak silikon balon kullanılmış ve bağlantı tüpü uzak bir noktadan cilt dışına çıkarılmıştır. Bağlantı tüpü yoluyla düzenli olarak serum fizyolojik çözeltisi enjekte edilerek doku genişlemesi sağlanmıştır. Fakat bu teknikte de pek çok komplikasyon ile karşılaşmıştır [3].

Hidrojellerin doku genişletici olarak ilk kullanımları, Downes ve ark tarafından 1992 yılında, ozmotik sürücü kuvvet ile genişleyen biyouyumlu poli(hidroksietil metakrilat) (pHEMA) hidrojelinin kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir [4]. Ardından 1993'te Wiese, ozmotik basınç yolu ile kendiliğinden şişebilen 2-vinil piroolidon-ko-metilmetakrilat hidrojelini kullanarak, hidrojellerin doku genişletici olarak etkin malzemeler olduğunu onaylamış ve yeni bir yumuşak doku genişletici tanımlamıştır. Günümüzde "Osmed®" (Ilmenau, Almanya) adıyla bilinen bu doku genişletici, doku altına konulduktan sonra, dışarıdan bir etki olmadan vücut sıvılarını içine hapsederek şişmekte ve böylece doku genişlemesine neden olmaktadır [4]. Bunun yanı sıra, Varga ve ark tarafından doku genişletici olarak kullanılmak üzere akrilamid (AAm),

akrilik asit (AAc) ve N-izopropil akrilamid (NIPAAm) hidrojenlerinin *in-vivo* uygulanabilirliği araştırılmıştır [3].

Günümüzde hidrojenlerin doku genişletici olarak kullanıldığı tek bir ürün bulunmaktadır. Bu ürün Alman bir firmanın üretip, "Osmed®" adıyla piyasaya sunduğu bir yumuşak doku genişleticidir ve çeşitli alanlarda kullanılmak üzere farklı boyutlarda üretilmiştir. Osmed®'in kullanıldığı farklı uygulamalarda bazı komplikasyonlar görölmüştür. Bu yumuşak doku genişletici ile ilgili olarak en çok belirtilen komplikasyonlar, yara açılması, doku genişleticinin ekspozu ve doku nekrozudur. Tıbbi gereksinimler, yüksek şişme kapasitesi ve yavaş şişme hızına ilave olarak biouyumlu ve uygun mekanik dayanımlı malzemelerin kullanımını gerektirmektedir. Halen kullanılmakta olan bu ürünün uygulamadaki olumsuzluklarını gidermek için yeni tür hidrojelik sistemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır [6].

Grubumuzca çok yakın bir zamanda gerçekteşirilen bir çalışmada [7] hidrojel sentezinde sıklıkla kullanılan akrilik bazlı sentetik polimerler ve çeşitli doğal polimerlerin uygun bileşimleri ve polimerizasyon yöntemleri kullanılarak, poli(2-hidroksietil metakrilat-ko-karboksimetil selüloz) (p(HEMA-ko-CMC)), poli(akrilamid-ko-akrilik asit) (p(AAm-ko-AAc)), poli(akrilamid-ko-2-hidroksietil metakrilat) (p(AAm-ko-HEMA)) ve poli(akrilamid-2-hidroksietil metakrilat-metil metakrilat) (p(AAm-HEMA-MMA)) hidrojenleri sentezlenmiş ve p(AAm-ko-HEMA) istenilen şişme kinetiğine sahip doku genişletici hidrojel olarak belirlenmiştir. Bu hidrojel sistemi ile şişme hızının kontrol altına alınması için kaplama ve kılıflama çalışmaları yapılmıştır [7].

Sunulan tez çalışmasının ana hedefi, halen klinikte kullanılmakta olan mevcut yumuşak doku genişletici hidrojele (Osmed®) alternatif olabilecek ve onun neden olduğu komplikasyonları minimum düzeye indirecek yeni bir yumuşak doku genişletici geliştirmek ve karakterizasyonunu gerçekteşirmektir. Bu amaca yönelik olarak grubumuzun önceki çalışmasında geliştirilen ve doku genişletici olarak en uygun özellikleri taşıdığı belirlenen p(AAm-ko-HEMA) hidrojenleri, dokunun en zayıf olduğu yara iyileşmesi dönemindeki enfeksiyon riskini minimize etmek için kontrollü antimikrobiyal ajan salımı yapacak bir cihaz şeklinde tasarlanmış ve ayrıca boyutsal

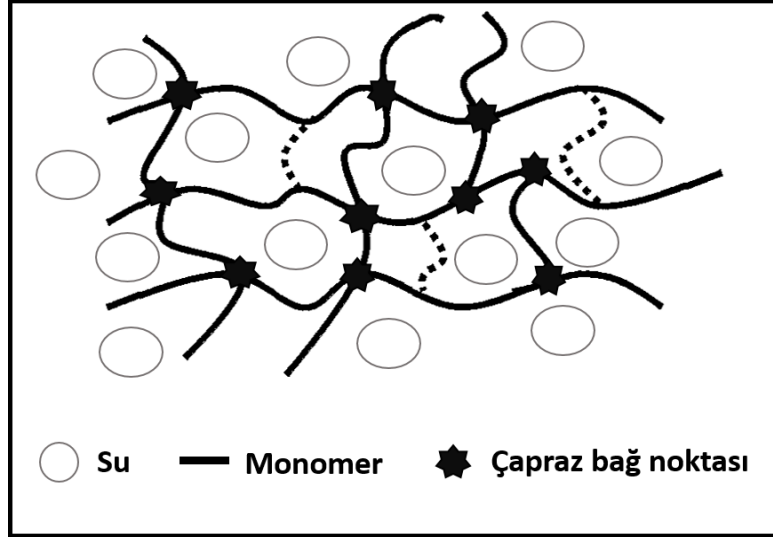
ve şekilsel olarak modifiye edilerek şişme hızı kontrolünün daha da iyileştirilmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde, sunulan tez çalışmasını içeren konular, beş ana başlık altında özetlenmiştir. Öncelikle hidrojeller ile ilgili genel bilgiler verilmiştir. Hidrojellerin tanımı yapılmış, temel özellikleri, sınıflandırılması, sentez yöntemleri ve uygulama alanlarına değinilmiştir. Bunlara ek olarak hidrojellerin karakterizasyon yöntemlerinden bahsedilmiş ve şişme kinetiği üzerinde durulmuştur. Bir sonraki bölümde, doku genişlemesi yönteminden bahsedilmiş ve bu amaçla kullanılan doku genişleticiler ayrıntılarıyla anlatılmıştır. Daha sonra, ağız bölgesinde bulunan mikroorganizmalardan ve antibiyotiklerden söz edilmiş, yara iyileşmesi dönemindeki enfeksiyon riskini minimize etmek için model ilaç olarak kullanılan amoksisilin (AMX)'in yapısı ve özelliklerine yer verilmiştir. Devam eden bölümlerde, nanofiber üretiminin tarihçesi, elektroçirime tekniği ve nanofiberlerin uygulama alanları açıklanmıştır. Son bölümde ise, kontrollü ilaç salım sistemleri anlatılmıştır.

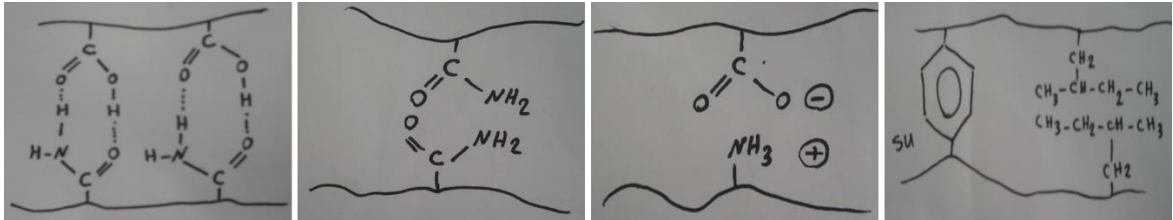
2.1. Hidrojeller

Polimerik malzemelerin önemli bir grubunu oluşturan hidrojeller çapraz bağlı, hidrofilik özellikte ve suda şişebilme yeteneğine sahip yapılardır. Kontrollü şişme, yoğun polimer zincirleri içerisine suyun daha düşük hızda difüzlenmesinden kaynaklanmaktadır [8, 9]. Fiziksel çapraz bağlı jellerin dış çevre değişimine fazlaca duyarlı oldukları bilinmektedir [10,11]. Hidrojeller, homopolimer veya kopolimer zincir ile oluşan bir ya da daha fazla monomerin polimerizasyon reaksiyonu ile hazırlanırlar [12,13]. Hidrojellerin uyarı-cevap polimerleri, akıllı polimerler ya da akıllı jeller olarak tanımlanan türleri de mevcuttur. Hidrojellerin zincir yapısı Şekil 2.1'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Çapraz bağlı, hidrofilik polimer zincirlerine sahip hidrojel yapısının görüntüsü.

Hidrojellerin makroskopik özellikleri ve üç boyutlu yapıları, moleküller arasında gerçekleşen hidrojen bağları, Van der Waals kuvvetleri, iyonik etkileşimler ve hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla belirlenmektedir. Belirtilen etkileşimler neticesinde ortaya çıkan yapılar suda çözünmez özellik göstermektedir [14]. Bu etkileşimler Şekil 2.2’de sunulmuştur [15].



Şekil 2.2. Hidrojellerin polimer zincirleri arasında gerçekleşen dört temel moleküler etkileşimin şematik gösterimi.

Hidrojeller, tıbbi uygulamalar açısından gösterdikleri üstün özellikler nedeniyle son yıllarda ilgi odağı olmuştur. Yaygın olarak plastik cerrahi ve doku genişletici sistemlerde kullanılan polimerik hidrojel yapıların ana malzemesi, genellikle çapraz-bağlı poli(2-hidroksietil metakrilat) (pHEMA) ve poli (metil metakrilat) (pMMA) gibi sentetik polimerlerden oluşur. İlk sentetik hidrojellerin 1954 yılında Wichterle ve Lim tarafından tanımlanması ile hidrojel teknolojileri pek çok alanda kullanıldığı gibi biyolojik uygulamalarda da sıklıkla kullanılmıştır [16,17]. Hidrojeller ilk olarak, kontak lenslerde kullanılmıştır. Bu uygulamada kullanılan hidrojeller, oftalmoloji alanında

büyük bir devrime neden olmuştur [18]. Bu hidrojel, kendi ağırlıklarının 40-50 katı kadar şişme kapasitesine sahiptir. Hidrojeller, yapılarında çok fazla miktarda su bulundurmaları, yumuşak ve esnek yapıları gibi taşıdıkları birçok fiziksel özellikler açısından canlı dokularla büyük bir benzerlik göstermektedirler [19].

İlk ticari hidrojel nişasta-graft-poliakrilonitril (SPAN) bileşiminin alkalik hidrolizi ile hazırlanmıştır [20]. Sentetik polimerlerin kullanım alanları zamanla genişlemiş ve ayrıca yeni nesil doğal polimerlerden (biyopolimerler) elde edilen hidrojellerin kullanılması yıllar içinde giderek önem kazanmıştır.

2.1.1. Hidrojellerin sınıflandırılması

Polimerik hidrojel, hazırlama yöntemleri, iyonik yük, fiziksel yapıları ve çapraz bağlanma koşullarına bağlı olarak sınıflandırılırlar [10,21]. Bu polimerlerin sınıflandırılması aşağıda ayrıntılı şekilde listelenmiştir [7].

- Hazırlama yöntemine göre,
 - Homopolimer hidrojel
 - Kopolimer hidrojel
 - Çoklu polimer hidrojel
 - IPN (interpenetrating networks) hidrojel
- İçerdikleri yan gruplara göre,
 - Nötral (iyonik olmayan) hidrojel
 - İyonik hidrojel
 - Anyonik (negatif yüklü) hidrojel
 - Katyonik (pozitif yüklü) hidrojel
 - Poliamfolitik hidrojel
- Fiziksel yapılarına göre,
 - Amorf hidrojel
 - Yarı-kristalin hidrojel
 - Hidrojen bağlı hidrojel
- Çapraz bağlanma durumlarına göre,
 - Fiziksel hidrojel
 - Kimyasal hidrojel
- Kaynaklarına göre,
 - Doğal hidrojel

- Sentetik hidrojeller
- Su içeriklerine göre,
 - Düşük şişme dereceli (%20-50) hidrojeller
 - Orta şişme dereceli (%50-90) hidrojeller
 - Yüksek şişme dereceli (%90-99.5) hidrojeller
 - Süper-absorban (%>99.5) hidrojeller
- Kimyasal kararlılıklarına göre,
 - Biyobozunur hidrojeller
 - Biyobozunmayan hidrojeller

2.1.1.1. Homopolimer hidrojeller

Tek tür hidrofilik monomerden oluşturulan hidrojellerdir. Poli (2-hidroksietil metakrilat) (pHEMA), poli (gliseril metakrilat) ve poli (3-hidroksipropil metakrilat) içeren poli (hidroksialkil metakrilat)'lar bu tür hidrojellere verilebilecek örneklerdendir [22]. Bu hidrojellerin, yumuşak kontak lens yapımı ve kontrollü ilaç salım aparatları gibi önemli uygulama alanları vardır [23].

2.1.1.2. Kopolimer hidrojeller

Bu tür hidrojeller iki komonomerin çapraz bağlanması ile hazırlanırlar; ancak monomerlerden en az bir tanesi hidrofilik yapıda olmalıdır. Kopolimerik hidrojellerde çapraz bağlanma kovalent ya da iyonik olarak gerçekleşebilir [24]. En çok araştırılan kopolimerik hidrojellere poli (HEMA-ko-AA) ve poli (HEMA-ko-metilmetakrilat) [poli (HEMA-ko-MMA)] örnek olarak verilebilir [25].

2.1.1.3. Çoklu polimer hidrojeller

Üç veya daha fazla monomerden oluşan yapılardır [26]. Bu tür hidrojellere, pH ve ya sıcaklık duyarlı polimerler olan poli (N-izopropilakrilamid, NIPAAm-ko-AA-ko-HEMA) ve poli(sodyum akrilat-ko-NIPAAm) hidrojelleri örnek olarak verilebilir [27].

2.1.1.4. İç içe geçmiş polimerik ağ yapılı hidrojeller (Interpenetrating networks, IPN)

Çapraz bağlı iki polimerik örgünün fiziksel olarak birleşmesi ile oluşurlar. Bu yapılardan en az biri diğerinin varlığında sentezlenir ve/veya çapraz bağlanır. Örneğin polioksietilen ve PAA'dan hazırlanan IPN yapılar mevcuttur. IPN'yi oluşturan iki polimerik örgünün birbiriyle uyumlu olması IPN oluşumunu artırır, faz ayrımını engeller [28].

2.1.1.5. İyonik olmayan hidrojel

Yapılarında yüklü gruplar bulundurmeyen homopolimerik veya kopolimerik nötr hidrojelldir. Çözücünün ozmotik basıncı yan zincirin gerilme enerjisi ile dengelendiği zaman hidrojel denge değerine kadar şişer. Bu hidrojellderin şişme ve büzüşme durumları genellikle çevre sıcaklığındaki değişimin bir sonucu olarak meydana gelir [29].

2.1.1.6. İyonik hidrojel

Polielektrolitler olarak da bilinen iyonik hidrojelldir, iyonik yüklü monomerlerden hazırlanır. Bu hidrojelldir, monomer yüklerinin pozitif ya da negatif olmasına göre katyonik ve anyonik hidrojelldir olarak adlandırılır. Ayrıca pozitif ve negatif yüklerin her ikisinin de bir arada bulunduğu poliamfolitik hidrojelldir mevcuttur [30]. İyonik hidrojelldir ana zincirinde yüklü grupların bulunması uyarılara duyarlılıklarını artırır. Bu iyonik ağ yapılar hem asidik hem de bazik gruplar içerir. Uygun pH ve iyonik şiddetteki sulu ortamda bu gruplar iyonize olur ve jelde sabit yükler oluşur. Bu yüklerin elektrostatik itme kuvvetlerinin sonucunda, ağ yapı içerisine daha çok çözücü girebilir ve şişme dereceleri artar [31].

2.1.1.6.i) Anyonik hidrojel

Anyonik hidrojelldir, genellikle negatif yüklü asidik veya anyonik monomerlerin homopolimerlerinden ya da bir anyonik monomerle bir nötr monomerin kopolimerinden oluşur. Bunlar dış ortam pH'sına bağlı olarak denge şişme davranışlarında ani değişimler gösterirler [31]. Ortam pH'sı iyonlaşacak grubun pKa değerinin üzerinde olduğu zaman, polimerdeki yüklü grupların sayısı artar ve buna bağlı olarak zincirler arasındaki elektrostatik itme kuvvetleri güçlenir. Bu da ağ yapının hidrofilik özelliğini artırarak yüksek şişme değerlerine ulaşılmasını sağlar. Anyonik hidrojelldir hazırlanmasında, akrilik asit (AA), krotonik asit ve itakonik asit yaygın olarak kullanılan monomerlerdendir [23].

2.1.1.6.ii) Katyonik hidrojel

Katyonik hidrojelldir, pozitif yüklü bazik veya katyonik monomerlerin homopolimerlerinden ya da bir katyonik monomerle bir nötr monomerin kopolimerinden oluşur. Katyonik hidrojelldir hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan monomerlerden bazıları aminoetil metakrilat ve türevleri, 4-vinil piridindir [23]. Bu hidrojelldir, ortamın pH'sı iyonlaşacak grubun pK_b değerinin altında olduğu zaman iyonlaşır ve zincirler arasındaki elektrostatik itme kuvveti artar. Bu da ağ

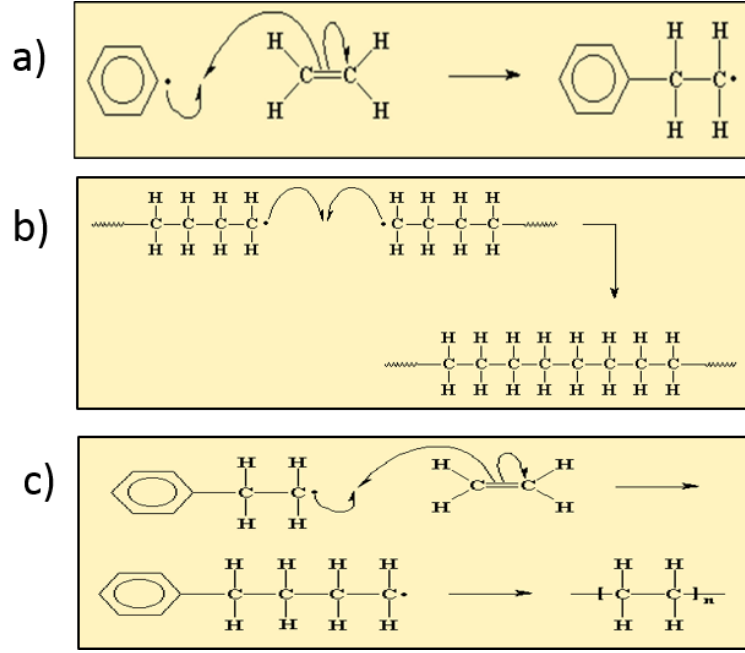
yapının artan hidrofilik özelliğe sahip olmasına ve yüksek şişme değerlerine ulaşılmasına neden olur [22].

2.1.2. Hidrojellerin sentezi

Hidrojeller farklı yöntemlerle sentezlenmektedir ve yönteme bağlı olarak farklı özellik ve avantaja sahip hidrojeller elde edilmektedir. Bu yöntemler, serbest radikalik polimerizasyon, iyonik polimerizasyon ve kondenzasyon polimerizasyonu olarak üç ana başlık altında açıklanmıştır.

2.1.2.1. Serbest radikal polimerizasyonu

Zincir polimerleşmesinin radikaller üzerinden yürüyen türüdür. Serbest radikal polimerizasyonu üç aşamadan oluşur. Başlangıçta monomer molekülleri çeşitli yöntemler kullanılarak radikal haline dönüştürülür. Radikal oluşumu, ısısız, fotokimyasal başlatıcılar veya çeşitli yüksek enerji ile sağlanır. Ortamda radikal oluşturmak için en yaygın yöntem, ortama dışarıdan bir başlatıcı (termal veya fotokimyasal) eklemektir. Başlatıcı, radikal oluşturarak vinil grubundaki çift bağa atak yapar ve böylece polimerizasyon işlemi başlatmış olur. Başlatıcı olarak çeşitli peroksitler, diazo bileşikler ve redoks çiftleri kullanılır. Peroksit başlatıcılar arasında en yaygın kullanılanı benzoil peroksittir. Benzoil peroksit ısı etkisi ile parçalanarak iki tane serbest radikal oluşturur (Şekil 2.3.a). Daha sonra başlama aşamasında oluşan radikaller monomer molekülündeki çift bağa atak yaparak polimerizasyonu başlatırlar. Şekil 2.3.b'de başlatıcıdan oluşan radikaller etilen molekülündeki çift bağdan birini kırıp yeni bir radikal oluştururken böylelikle polimerizasyon reaksiyonunu da başlatmış olur. Oluşan yeni radikaller ortamda bulunan monomerler ile reaksiyona girerek polimer zincirinin büyümesine neden olur. Polimerizasyon ilerledikçe polimer zinciri büyür ve molekül ağırlığı artar. Polimerizasyonun bu aşamasında artık ortamda monomer sayısı azalmıştır, dolayısıyla ortamdaki radikaller sönmeye başlar (Şekil 2.3.c). Ortamdaki radikaller çeşitli yollar ile (dallanma, yeni çift bağ oluşturma veya bir başka radikal ile reaksiyona girme) sönmelenir ve polimerizasyon işlemi tamamlanır.



Şekil 2.3. Benzoil peroksit ile başlatılan serbest radikal polimerizasyonunun mekanizması.

2.1.2.2. İyonik polimerizasyon

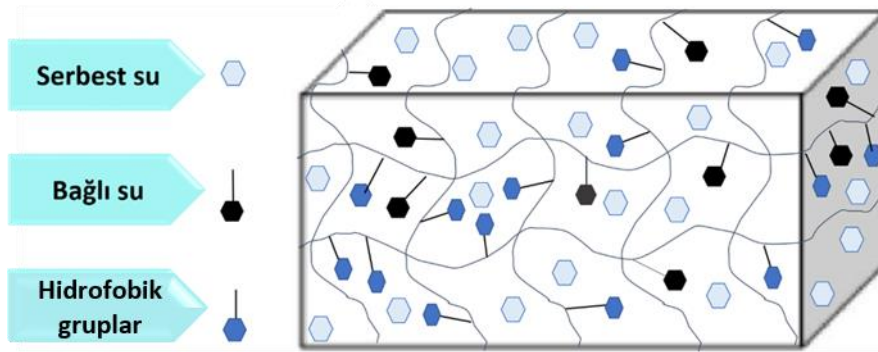
İyonik polimerizasyon sırasında çifte bağın etrafındaki yan grupların etkisi ile elektriksiz yüke sahip bir yapı oluşmaktadır. Bu tür polimerizasyon katyonik veya anyonik olarak ortaya çıkmaktadır. Bu polimerizasyonun çok hızlı bir şekilde ilerlemesinden dolayı, ortamda düşük miktarda bulunan katalizör, sistemdeki safsızlıklardan çok fazla etkilenmektedir.

2.1.2.3. Kondenzasyon polimerizasyonu

Kondenzasyon polimerleri benzer veya farklı yapıdaki poli-fonksiyonel monomerlerin, genellikle küçük bir molekülü uzaklaştırarak reaksiyona girmesiyle elde edilir. Burada en önemli koşul monomerlerin poli-fonksiyonel olmasıdır. -OH, -COOH ve -NH₂ gibi fonksiyonel gruplardan en az iki tane taşıyan monomerler esterleşme, amidleşme, vb. gibi reaksiyonlarla, yapıdan küçük moleküllerin ayrılmasıyla, kondenzasyon polimerlerini oluşturur. Poliüretanların elde edildiği üretan oluşumu ve naylon 6'nın elde edildiği halka açılması gibi küçük molekül çıkışı olmadan doğrudan monomerlerin katılması şeklinde yürüyen polimerizasyon reaksiyonları da genellikle bu grup içinde değerlendirilir [32].

2.1.3. Hidrojellerde suyun konumu

Bir jelin hidrojel olabilmesi için yapısında -OH, -NH₂, -COOH, -COOR, vb. gibi polar ve hidrofilik fonksiyonel grupları içermesi gerekir [33]. Bu gruplar, su ile etkileşerek hidrojen bağlarını oluşturur. Bağlı durumuna geçen su ile çevrilen hidrofilik gruplardan dolayı, jelin hacmi ve kütlesi artar ve jel şişmeye başlar. Bir jeldeki hidrofilik grupların fazlalığı şişmeyi daha da artırır. Şişmiş bir hidrojelde Şekil 2.4'te gösterildiği gibi üç tür su bulunmaktadır [34].



Şekil 2.4. Şişmiş bir hidrojeldeki suyun bulunma türleri.

- Bağlı su: Polimerin polar grupları ile hidrojen bağları yapan sudur.
- Ara yüzey suyu: Polimerin hidrofobik grubu çevresinde toplanan sudur.
- Serbest ya da kütle suyu: Polimerin gözeneklerini dolduran bu su, serbest su gibi davranır ve polimerle etkileşmez.

Şişmiş bir hidrojin yüzeyi çok farklı davranışlar gösterebilir. Bu yüzey bölgesi; yüksek zincir hareketliliği, değişim gradyanı, heterojen zincir uzunlukları, dipolar özellik ve değişik su yapısı ile karakterize edilir. Bu özellikler, hidrojel yüzeylerinin analizini ve karakterizasyonunu zorlaştırır. Bir hidrojel yüzeyinde yürüyebilecek karmaşık olaylar hakkında şunlar söylenebilir:

- Suyun konumu ve sistemdeki kimyasal bileşenlerin etkileri gibi çevresel etkilere karşı yanıt veren polimer zincirleri hareketlenir.
- İyonlar, küçük mol kütleli organik bileşikler ve proteinler, jel içindeki çözeltide bir derişim gradyanı oluşturur.
- Serbest su, polimer zincirine veya polimer moleküllerine bağlanır ve buz benzeri bir yapı oluşturur. Suyun yapısı sistemdeki polimer zincirleri ya da diğer moleküllerin etkisiyle değişebilir [35,36].

2.1.4. Hidrojellerin şişme özelliklerini etkileyen kuvvetler

Hidrojel oluşturulan polimerik zincirler elastik bir yapıya sahiptir. Bu yüzden jelin genel yapısında kauçuk elastiklik özelliği görülmektedir ve hidrojeller uygulanan streslere karşı aynen kauçukta görüldüğü gibi yanıt verir. Hafif deformasyona maruz kalan hidrojel (>%20), kendisini etkileyen kuvveti sınırlamak için büzülür veya genişler ve hızlı bir şekilde orjinal boyutuna geri döner. Jel çökmüş halde ise kauçuk elastik kuvveti jeli şişirmeye çalışır. Tam tersi durumda ise gergin hale gelen hidrojin yapısındaki polimer zincirler tarafından uygulanan basınç kuvvetine karşı kauçuk elastikliği onu sıkıştırmaya yönelik bir kuvvet uygular. İlk olarak Treloar [37] ve Flory [38] tarafından ortaya konulan kauçuk esneklik teorisi, hidrojellerin elastik davranışlarını incelemek ve yapılarını aydınlatmak için kullanılmıştır. Bu teori daha sonra Flory tarafından vulkanize kauçuk ve polimerler için modifiye edilmiştir [39].

2.1.4.1. Polimer-polimer interdifüzyon ve yapışma teorisi

Polimer-polimer ilgisi, hidrojin yapısındaki mevcut polimer zincirleri ile çözücü arasındaki karşılıklı etkileşimdir. Polimer yapısındaki moleküllerin kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak çekici ve itici etkileşimler şeklinde görülebilir.

2.1.4.2. Hidrojen-iyon basıncı teorisi

Bu kuvvet, polimer ağ örgüsünün iyonize olması nedeniyle oluşur. Biyopolimerlerin ağ yapı bünyesinde mevcut olan negatif ve pozitif iyonların derişimi, dış ortamdakinden daha büyük olmasından dolayı hidrojin yapısı dışarıya doğru genişler. Polimer jeli çözücü içinde termodinamik dengeye ulaştığında tüm bu kuvvetler birbirini dengeler, yani kuvvetlerin toplamı sifıra eşit olur.

Çizelge 2.1. Hidrojellerin denge şişme davranışını etkileyen faktörler.

Faktör	Etki
Jel Özellikleri	
Polimer ana zincirinin hidrofilitesi/hidrofobitesi	Hidrofilitesi $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \uparrow , Hidrofobitesi $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \downarrow
Hidrojinin parçacık boyutu	Parçacık Boyutu $\downarrow \Rightarrow$ Yüzey Alanı $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \uparrow
Hidrojinin gözenekliliği	Gözeneklilik $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \uparrow
Çapraz bağ yoğunluğu	Yoğunluk $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \downarrow
İyonlaşabilen monomerin yükü	Asidik: pH $\uparrow \Rightarrow$ İyonlaşma $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \uparrow
İyonik monomerin pKa'sı	pKa $\uparrow \Rightarrow$ pH \uparrow - pH İyonlaşma Profili \Rightarrow Şişme \uparrow
İyonlaşabilen monomerin derişimi	Derişim $\uparrow \Rightarrow$ İyonize Haldeki Şişme \uparrow
Şişme çözeltileri	
pH	Asidik: pH $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \uparrow , Bazik: pH $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \downarrow
İyonik güç \downarrow	İyonik Güç $\uparrow \Rightarrow$ Jel İçindeki Ozmotik Basınç $\uparrow \Rightarrow$ Şişme
Koilyon	Genellikle Değişim Yok
Karşı iyon	Türe Bağlı Olarak Etkiler
Karşı iyon değeri	Değerlik $\uparrow \Rightarrow$ Şişme \downarrow

Jellerin denge şişme davranışını kontrol eden pek çok kriter mevcuttur. Hidrojellerin denge şişme davranışını etkileyen en önemli faktörler ise jel ve çözeltileri özelliklerini içerenler olarak sınıflandırılır ve bu faktörler Çizelge 2.1'de ayrıntılı olarak verilmiştir [39].

2.1.5. Hidrojelik biyomalzemeler

2.1.5.1. Hidrojelik biyomalzemelerin avantajları

Biyomalzemeler, herhangi bir nedenle yaralanan/kaybolan doku ve/veya organ işlevlerini geçici veya sürekli olarak yerine getirmek amacıyla geliştirilen doğal ya da sentetik malzemelerdir. Bu nedenle biyolojik uygulamalarda kullanılacak biyomalzemeler, sözü edilen kaybı karşılayacak kimyasal, fiziksel, mekanik, vb. özelliklere sahip ve biyouyumlu olmalıdırlar [40]. Bu malzemelerin aşağıda sıralanmış bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir:

- Biyolojik yönden uyumlu olması
- Toksik ve karsinojenik olmaması
- Kimyasal açıdan inert ve kararlı olması
- Yeterli mekanik kuvvete sahip olması
- İmplant çevresindeki dokularla sürtünmesinin az olması
- Uygun ağırlık ve yoğunlukta olması
- Büyük miktarlarda işlenebilmesi
- Fabrikasyon kolaylığı göstermesi ve ekonomik olması.

Hidrojellerin doku onarımında kullanılabilmesi ve doğru sonuca ulaşmak için tasarım sırasında bazı kriterlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu kriterler, hem fiziksel (örneğin, bozunma ve mekanik) hem de biyolojik performans parametrelerini (örneğin, hücre yapışması) içermektedir. Biyouyumluluk özelliği göstermeyen hidrojelik implantlar, immün cevap ve etrafında yaşayan hücrelerde hasarlar oluşturma gibi istenmeyen ve kalıcı sonuçlara neden olabilmektedir [41]. Hidrojellerin biyomedikal uygulamalarda sundukları üstünlükler şöyle sıralanabilir.

- Hidrojelin ve dokuların yüzey serbest enerjileri yaklaşık aynı olduğu için hidrojel ile hücre veya protein arasındaki etkileşimler minimum seviyededir. Dolayısıyla hidrojeller vücutta yabancı cisim olarak algılanmaz ve immün reaksiyon görülmez.
- Normal biyolojik reaksiyonlarda inerttir,
- Vücut sıvılarına, yaşam için önemli olan minerallere ve oksijen gibi maddelere karşı yüksek geçirgenlik gösterirler,
- Mukoza zarı ve dokulara karşı düşük yapışma gösterirler,
- Çevredeki dokularla sürtünmesi azdır,
- Bozunmaya dirençlidir ve aynı zamanda yumuşaktır. İmplant etrafındaki oluşan hassas yumuşak dokuya zarar vermez,
- Bazı hastalıklar nedeni ile vücutta aşırı miktarda sıvı birikmesi durumunda hidrojeller vücut sıvılarının atılmasında kullanılır,
- Vücut tarafından emilmez,
- Isıyla steril edilebilir,
- Vücut sıvısını kendi yapısına absorbe ederek şişer, bu durumda su plastikleştirici olarak davranır ve hidrojel yumuşak bir hale gelir ve implantların yerleştirilmesinde kullanılır,

- Gözenekli yapıları ile büyük miktarlarda su absorbe ettiğinden, büyük moleküller (özellikle ilaçlar) için difüzyon yolları sağlar,
- Polimerik yapısı, sahip olduğu örgü nedeniyle büyük moleküller, hücreler ve bakteriler için bariyer gibi davranmaktadır,
- Çok değişik şekil ve formlarda hazırlanabilir ve kolay şekillendirilebilir [42].

2.1.6. Hidrojellerin kullanım alanları

Hidrojeller tıpta ilk defa 1960 yılında yumuşak kontak lenslerin üretiminde kullanılmıştır. Mekanik kararlılıklarının iyi oluşu, yüksek oksijen geçirgenliği, ışık kırınımının iyi olması ve uygun kırınım indisine sahip oluşları, kontak lenslerde kullanılmalarının temel nedenidir [43]. Hidrojellerin diğer uygulamaları; yapay tendon malzemeler, su buharı ve metabolitleri geçirebilmelerinden dolayı yara iyileşmesinde biyoyapışkan madde, yapay böbrek zarları, yapay deri, doku mühendisliğinde doku iskelesi ve taşıyıcı matris olarak ve ayrıca doku genişletici olarak kullanılmaları şeklinde sıralanabilir. Son yıllardaki en önemli uygulamalardan biri ise kullanım kolaylığı ve yüksek geçirgenlik özellikleriyle kontrollü ilaç salım sistemleridir. Örnek olarak insülin salımı sağlayan glikoza duyarlı hidrojel sistemlerinin diyabet tedavilerinde kullanımı gösterilebilir. Hidrojellerin ileri uygulamalarından biri de yapay kasların geliştirilmesidir. Elektrokimyasal uyarıları mekanik işe çeviren akıllı hidrojeller, insan kas dokusu işlevi görebilir. Bu özellikten yararlanarak yapay kaslar geliştirilmektedir. Biyoteknolojik uygulamalarda da, özellikle biyoaktif proteinlerin ayrılmasında hidrojellerden faydalanılmaktadır [14, 44]. Bunlara ek olarak günlük hayatta da çocuk bezleri, hidrojel bazlı çeşitli sulama sistemleri ve akıllı camlar hidrojellerin uygulamalarına örnek olarak verilebilmektedir [44]. Hidrojeller, çevredeki uyarana bağlı olarak jel yapısını değiştirerek ilaç salımını kontrol edebilmektedir. Sıcaklığa duyarlı hidrojeller, kendisini çevreleyen sıvının sıcaklığının değişimine göre şişme ya da büzüşme özelliğinden dolayı farmasötik alanda akıllı sistemlerin geliştirilmesinde de yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.

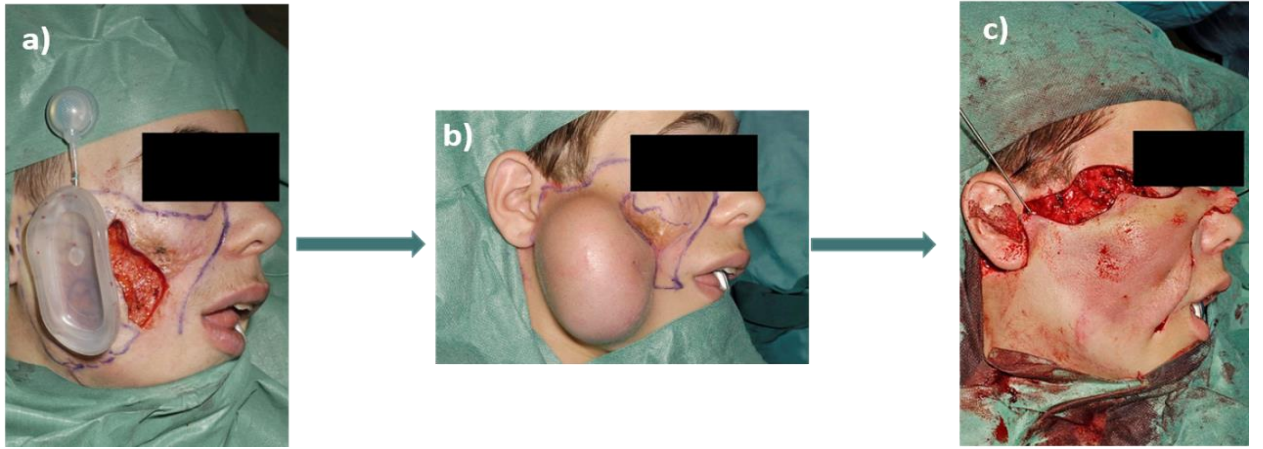
2.2. Doku Genişlemesi

Canlı dokuların, basınç ve gerilim gibi uyarılara karşı yüzey alanlarını genişletmeleri ve kütlelerini artırarak cevap vermeleri fizyolojik bir olay olarak bilinmektedir. Doku genişlemesi hayatın bütün aşamalarında karşımıza çıkan doğal bir süreçtir. Doku genişletme tekniği örtücü dokuların, altlarında büyüyen kitlelere, yüzey alanlarını genişleterek uyum sağlaması prensibine dayanmaktadır. Doku

genişletme tekniği 30 yıldan beri plastik ve rekonstrüktif cerrahi uygulamalarında önemli bir rol üstlenmiştir. Doku genişletme yöntemi benzer renk, doku ve kalınlık gibi avantajları ile, nevüs ve yanık izleri ve sekonder rekonstrüksiyon tedavilerinde kullanılmaktadır. Literatürde ilk olarak kulak rekonstrüksiyonu için uygulanmış doku genişlemesi tekniği, halihazırda birçok klinik sorunlar için uygulanabilir bir tedavi haline gelmiştir [1,6,45,46].

2.2.1. Doku genişleticilerin tarihçesi

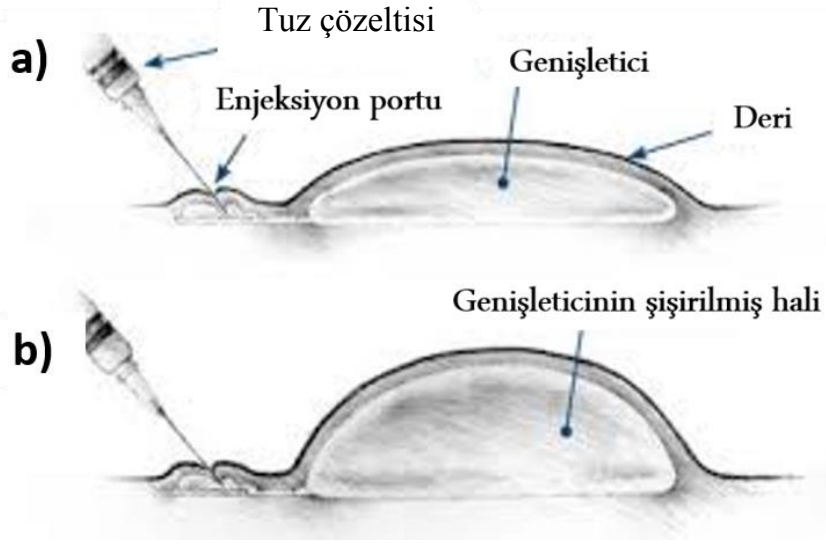
Bu tekniğin klinik olarak ilk defa kullanımı 1957 yılında Neumann tarafından gerçekleştirilmiştir. Uygulama sırasında, kauçuk bir balon cilt altına yerleştirilmiştir ve bu balon polietilen tüp ile cilt dışına bağlanarak hava enjeksiyonu yardımıyla şişirilmiştir. Bu sırada ortaya çıkan doku genişlemesi kulak rekonstrüksiyonunda kullanılmıştır. Bu teknik sırasında, balonun cilt dışına bağlantısının olması ve yabancı cisim reaksiyonu gibi komplikasyonlarla karşılaşıldığından yöntem popülaritesini yitirmiştir [6]. Şişirilebilir deri altı balonu ve doku genişlemesi görüntüleri Şekil 2.5'te gösterilmiştir [47].



Şekil 2.5. Yanak bölgesinde bulunan bir doku hasarının tedavisinde doku genişlemesi amacıyla kullanılan şişirilebilir balonun görüntüsü; a) havası alınmış deri altına yerleştirilen genişletici, b) şişirilmiş bir doku genişletici tarafından genişleyen doku, c) doku genişletici çıkarıldıktan sonraki durum.

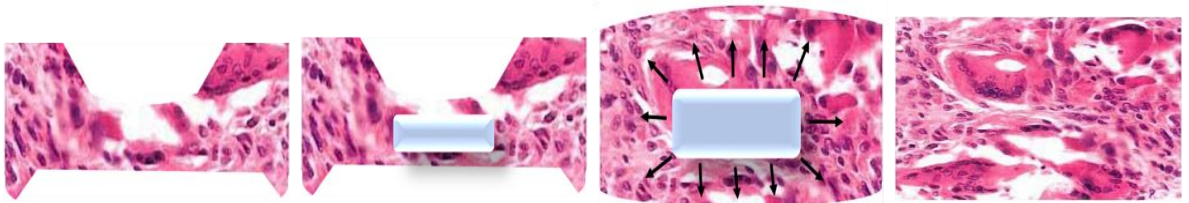
Radovan tarafından 1979 yılında kullanılan silikon balon tekniği, Neuman yöntemini biraz daha geliştirmiştir. Bu teknik sırasında tümör veya travma sonrasında ortaya çıkan doku kayıplarının rekonstrüksiyonu için, hasar görmüş dokuyu çevreleyen sağlıklı dokunun genişletilmesi ve hasarlı dokunun bu doku ile onarılması

amaçlanmıştır. Bu yöntem sırasında silikon balon doku altına yerleştirilmiş ve bağlantı tüpü silikona uzak bir bölgeden cilt dışına çıkarılmıştır. Serum fizyolojik sıvısı, haftalık olarak bağlantı tüpü yardımıyla balon içerisine enjekte edilmiş ve bu sayede doku genişlemesi sağlanmıştır. İmplantın içerisinde ortaya çıkan hacim artışı ile basınç artmış ve yeni doku oluşumu gerçekleşmiştir. Bu teknik, karşılaştığı bazı komplikasyonlara rağmen günümüze geçerliliğini korumuştur ve halen, özellikle plastik cerrahide en çok kullanılan yöntem olarak bilinmektedir [48,49]. Şekil 2.6'da şişirilebilir derialtı balon genişletici şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Şişirilebilir deri altı doku genişletici, a) çözelti enjekte edilmeden önce ve b) tuz çözeltisi doldurulmuş doku genişletici.

1982 yılında Austad ve Rose tarafından, hipertonic sodyum klorür çözeltisi ile doldurulan, geçirgen bir silikon membrana sahip olan ve kendiliğinden şişebilen bir genişletici geliştirilmiştir. Bu teknik, karşılaştığı bazı komplikasyonlardan dolayı deneysel kullanımdan klinik alana geçememiştir [50].

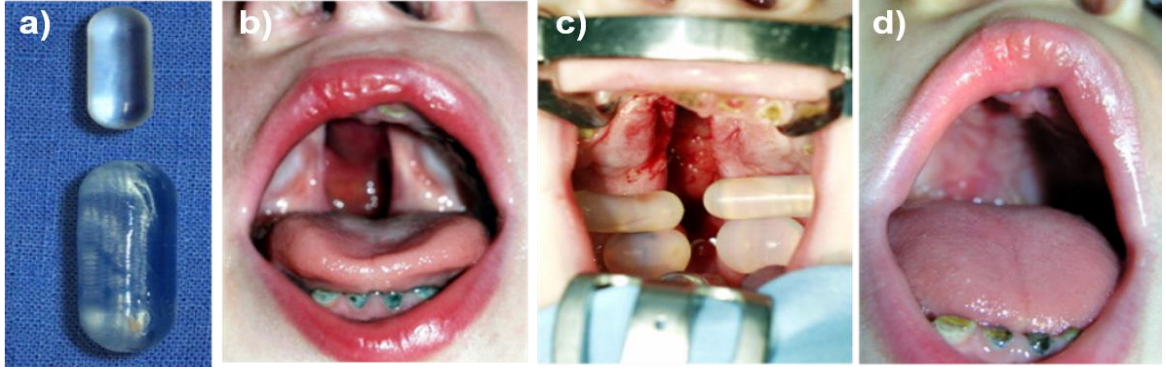


Şekil 2.7. Osmotik basınç yoluyla şişebilen doku genişletici ile doku genişlemesinin aşamaları.

Hidrojeliler ilk defa, Downes ve ark. tarafından 1992 yılında doku genişletici olarak kullanılmıştır [51]. Bu çalışmada, ozmotik sürücü kuvvetler ile genişleyen biyouyumlu PHEMA hidrojelini kullanılmıştır. Ardından 1993'te Wiese, ozmotik basınç ile kendiliğinden şişebilen 2-vinil piroolidon-ko-metilmetakrilat (p(NVP-ko-MMA)) hidrojelini kullanmış ve bu malzemenin yeni bir yumuşak doku genişleticisi olarak kullanılabileceğini göstermiştir [52]. Günümüzde "Osmed®" (Ilmenau, Almanya) ticari adıyla bilinen bu doku genişletici, doku altına yerleştirildiğinde dışarıdan herhangi bir etki olmadan vücut sıvısını içerisine hapsederek şişer ve böylece doku genişlemesi sağlanmış olur. Şekil 2.7'de bu yöntem ile gerçekleşen doku genişlemesi gösterilmiştir. Hidrojel yapısında bulunan bu tür bir doku genişletici; kellik tedavisi ve ufak deformasyonların onarımı, göz, ağız ve damak yaralarının onarılması, kemik büyütme operasyonu öncesi, meme rekonstrüksiyonunda ve bunlar haricinde ise yanık, yara izi, ben tedavileri, deri kanseri ve deri defektlerinin tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Genişleticinin şekli, boyut ve ebatları kullanılacağı bölge ve hasar durumuna bağlı olarak değişebilmektedir. Hızlı şişme özelliğine rağmen bu genişleticilerin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Dolayısıyla genişleticinin yavaş şişmesinin istenildiği durumlarda, hidrojeliler üzerinde, kullanılacağı alana bağlı olarak farklı özellikte delikler içeren silikon bir kılıf ile kılıflandırıldıktan sonra da kullanılmaktadır [51].

Wiese tarafından yapılmış çalışmalar sonucunda, şişirilebilir deri altı balonlarda çarpıcı olarak iki önemli dezavantaj belirlenmiştir. Bunlar; genişlemenin zaman alıcı (8-14 hafta) olması ve hipertonic çözeltinin balon dışına sızması sonucunda yumuşak dokuda nekroza yol açmasıdır. Aynı çalışmanın devamında ise, Osmed® hidrojel doku genişleticinin biyouyumluluğu *in-vivo* çalışmalarla gösterilmiş ve hidrojelin 6-8 hafta içinde denge şişme değerine ulaştığı belirtilmiştir. 2009 yılında Varga ve ark. tarafından doku genişletici olarak kullanılan akrilamid (AAm), akrilik asit (AA) ve N-izopropil akrilamid (NIPAAm) hidrojelilerinin *in-vivo* olarak uygulanabilirliği araştırılmıştır [52]. Araştırmalar hidrojelilerin iki haftada denge şişme değerine ulaştığını göstermiş ve akrilik asit kullanıldığında dokuda ciddi hasarların oluştuğu, akrilamid kullanıldığında ise küçük doku hasarlarının görüldüğü belirlenmiştir. Diğer taraftan bu olumsuzlukların yapıların *in-vivo* uygulamayı kısıtlayacak seviyede olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak NIPAAm hidrojelilerinin doku genişletici olarak plastik ve rekonstrüktif cerrahi uygulamaları için güvenle

kullanılabileceği vurgulanmıştır. 2007 yılında Kobus tarafından 2 ile 3 yaş arasındaki 19 çocuk üzerinde yapılan araştırmalar sırasında damak yarığının onarılması için Osmed® hidrojelere kullanılmıştır [53]. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Şekil 2.8'de gösterilmiştir.



Şekil 2.8. a) doku geliştirici hidrojel, b) tedaviden önceki damak yarığı, c) damağa yerleştirilen doku genişleticiler, d) genişlemiş doku ile kapatılan damak dokusu.

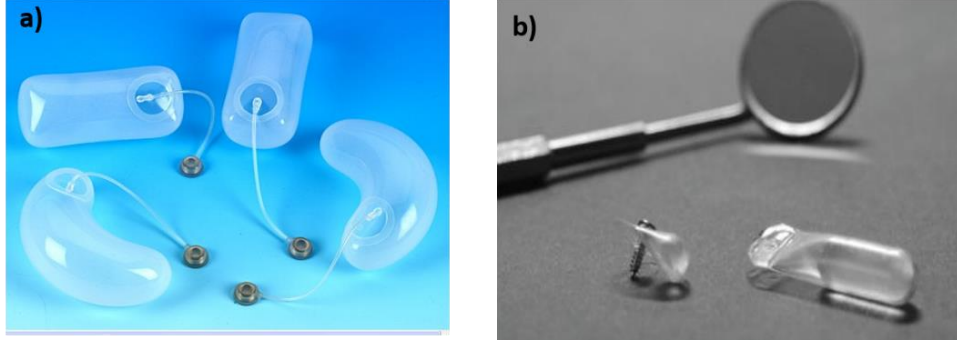
Bu çalışmada hastaların hemen hemen tamamında damak yarığının onarıldığı ve herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmadığı belirtilmiştir. Diğer taraftan ise, doku genişleticilerin doku altına konulduktan sonra hızlı bir biçimde şişmesinin bazı avantaj ve dezavantajlara neden olduğu görülmüştür. Dezavantajlar; doku nekrozu riski ve yara açılması gibi istenmeyen durumların görülmesi ve ayrıca hızlı şişmeye bağlı olarak doku büyümesini sağlamak için yeterli zaman kazandırmaması ve doku genişlemesinin etkinliğini sınırlı tutması olarak sıralanabilir. Doku genişleticilerin doku altında kısa bir süre beklemesine bağlı olarak enfeksiyon riskinin ve tedavi maliyetlerinin azalması ise bu yapının avantajları olarak sayılabilir.

2.2.2. Doku genişleticilerin karşılaştırılması

Yumuşak doku genişletme, tıp, plastik cerrahi, tümör veya herhangi bir travma sonrası ortaya çıkan doku kayıplarının onarılmasında komşu sağlıklı dokuları kullanan bir tedavi tekniğidir. Doku genişletme alanında temel olarak günümüzde iki farklı yöntem kullanılmaktadır:

- Şişirilebilir deri altı balon genişleticiler ve
- Basınç yolu ile kendiliğinden şişebilen hidrojel genişleticiler.

Silikon balon genişleticiler ve kendiliğinden şişebilen silikon kılıflı Osmed® Şekil 2.9'da gösterilmiştir [49].



Şekil 2.9. Doku genişleticiler; a) konvansiyonel silikon balon genişletici (solda), hidrojel genişletici (sağda), b) Osmed®

Şişirilebilir deri altı doku genişleticiler istenilen şekil, boyut ve destek konfigürasyonuna sahiptirler. Bu genişleticilerde bulunan enjeksiyon portu içeride, dışarıda, uzakta veya genişletici ile bütünleşmiş şekilde olabilmektedir. 1957 yılında Neumann'ın uygulaması sırasında bir yetişkin hasta için dışarıdan portlu genişletici kullanılmıştır. Daha sonra içten portlu genişleticiler, genişleticinin ekspozisyonu ve portun bozulması gibi dezavantajları azaltan bir kapalı sistem oluşturduğundan daha sık tercih edilmeye başlanmıştır. İçten portlu genişleticilerle dıştan portlu genişleticilerin avantajları ve dezavantajları bazı araştırmacılar tarafından tartışılmıştır. Jackson ve ark. tarafından yapılan çalışmada, dış rezervuarlı genişleticilerin kullanım sırasında komplikasyon oranı %5.6, içten portlu genişleticiler kullanıldığında ise komplikasyon oranının %20 ile %40 arasında olduğu görülmüştür [48]. Lozano ve Drucker yaptıkları çalışmada, 28 hastaya 34 dıştan portlu genişletici uygulamış, bu hastalarda enfeksiyon ve ekspozisyona maruz kalma oranının %17.6 olduğu görülmüştür. Araştırmacılar bu durumda, dıştan portlu genişletici kullanıldığında daha az parçalanma, ağrısız port erişimi ve sızıntıların daha erken tespitinin yapılabildiğini vurgulamışlardır. Buna rağmen cerrahi işlem sırasında şişirilebilir deri altı doku genişleticilerin şişirilmesi ve boşaltılması yorucu ve hem de zaman kaybına yol açan bir çabadır. Bu sırada doku genişleticiye tekrar tekrar enjektör ucunun batırılması ve ameliyat bitiminde vücut içerisinde yabancı bir cisim olarak bırakılacak olan doku genişleticide enfeksiyon gelişimi olasılığı da bulunmaktadır. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak için kapalı sistem olarak bilinen içten portlu genişleticiler kullanılarak enfeksiyon riski azaltılabilmektedir [45].

Doku genişletme tekniğinde klinik olarak kullanılmakta olan şişirilebilir deri altı balonların dezavantajları aşağıda belirtilmiştir:

- Düzenli kontrolün gerekli oluşu,
- Enjeksiyonun ağrıya eşlik etmesi,
- Sızıntı riski ve
- Doku nekrozu riskidir.

Plastik cerrahide vücudun hemen her bölgesinde cilt ve yumuşak doku hasarlarının onarımına olanak sağlayan doku genişleticilerin, ideal koşullarda genişleme gerçekleştirebilmeleri ve deride genişlemelere neden olmaları için, doku genişleticinin mümkün olan en küçük yarık kullanılarak açılan cebe yerleştirilmesi önem taşımaktadır [54]. Doku genişletici olarak hidrojenlerin kullanılması, hidrojenlerin istenilen şekil ve boyutta üretilebilme özelliğinden dolayı ön plana çıkmaktadır. Wiese, çalışması sırasında elde ettiği sonuçlara dayanarak, yumuşak doku genişletmede hidrojenlerin kullanılmasının çok sayıda avantaj sağladığını belirtmiştir [48]. Bunlar;

- Hidrojenin içinde sodyum klorür gibi hipertonic bir çözelti olmadığı için doku nekrozu riskinin azalması,
- Hidrojen etrafındaki dokuda düşük, fakat devamlı bir ozmotik basınçla daha güvenli ve etkili bir genişleme sağlanması,
- Her şekil ve boyutta üretilebildiği için daha kolay bir kullanım sağlanmasıdır.

Demirdöver ve ark. tarafından yapılan çalışmada, yanık, tümör ve travma endikasyonlarında kullanılmak üzere, 59 hastaya toplam 83 konvansiyonel doku genişletici uygulanmıştır. Uygulama sonrası, hastaların %10.1'inde enfeksiyon ve % 3.3'ünde genişletici ekspozisyonu görülmüştür [55]. Aynı grubun yaptığı bir diğer çalışmada ise, 15 çocuk hastada toplam 22 şişirilebilir silikon doku genişletici, nevüs, yanık ve lezyon tedavileri için kullanılmıştır [1]. Bu çalışmada, genişleme süresi 2 ay ve komplikasyon oranı ise %18 olarak bulunmuştur. Komplikasyonlar, hematoma, serotoma ve yara açılması olarak ortaya çıkmıştır. Tassan ve ark. göğüs, baş-boyun ve diğer alanlarda konvansiyonel genişleticilerin kullanıldığı 46 hasta üzerinde çalışmışlardır [55]. Bu genişleticilerin ortalama şişme süresinin 11-12 hafta olduğunu ve toplamda %35.6 oranında komplikasyonla karşılaştıklarını; bu

komplasyonların enfeksiyon, serotoma, doku nekrozu, genişleticinin sönmesi ve genişleticinin ekspozisyonundan kaynaklandığını raporlamışlardır. Bu çalışmalarla bağlantılı olarak Cunha ve ark., yaptıkları çalışmada karşılaştıkları %22.2 oranındaki komplasyonların genişleticinin ekspozisyonundan, enfeksiyondan ve genişleticinin kötü fonksiyonlarından kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir [44]. Habertz ve ark., kendiliğinden şişen ozmotik doku genişleticileri çocuk hastalar üzerinde test etmişlerdir [52]. Çalışmada yanık izleri, saçkıran, nevüs ve ayak deformasyonu tedavileri için 30 çocuk hastaya 53 doku genişletici uygulanmış ve genişleticilerin 6 hafta içinde istenilen hacme ulaştığı belirtilmiştir. Enfeksiyon oluşumu %3.8 ve karşılaşılan diğer küçük komplasyonlar %11.4 olarak rapor edilmiş ve bu problemler kontrol altına alınmıştır. Elde edilen sonuçlara dayanarak, kendiliğinden şişen genişleticilerin klinik uygulamada güvenli malzemeler olduklarını ve plastik, rekonstrüktif ve ortopedik alanlarda kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

2.2.3. Doku genişlemesi yönteminin avantajları ve dezavantajları

Doku genişletme tekniğinin rekonstrüktif cerrahide kullanılmaya başlamasından önce birçok hasar, renk ve doku uyumu bakımından ideallikten uzak greft veya flepler ile kapatılmaktaydı. Yumuşak doku iyileşmesi sağlamak amacıyla kullanılan bu yöntemlerin içerdiği dezavantajlar aşağıda listelenmiştir [56, 57];

- Flep güvenilirliğinin her zaman tam olmaması,
- Hasarlı bölgeye yerleştirme sorunu,
- Verici bölge problemi,
- Her zaman yeterli ve uygun doku elde edilememesi,
- Greftlerde renk ve doku uyum sorunu yaşanmasıdır.

Bu dezavantajlar dikkate alındığında, doku genişletme tekniğinin diğer tedavi yöntemlerine göre üstün olduğu görülmüştür. Bu yöntemin avantajları [58];

- Cerrahi işlemin basit olması,
- Renk, doku benzerliği ve duyu bakımından mükemmel yakın eşleşme sağlanması,
- Donörden gelebilecek hastalık riskinin olmaması,
- İyi kanlanan güvenilir flepler sağlanması, minimal yara izi,
- Kısa operasyon süresi olarak sıralanabilir.

Diğer taraftan doku genişletme yönteminin dezavantajlarından biri, cildin genişleyip ek derinin büyümesi için gerekli olan zamanın fazla oluşudur. Uygulanacak bölge ve alana bağlı olarak, doku genişlemesinin konvansiyonel yöntemle üç veya dört aya kadar uzayabileceği bilinmektedir. Bu süreç içinde, genişletici genişleyerek meme rekonstrüksiyonunda istenen fakat diğer durumlarda istenmeyen bir görüntü oluşturan şişlik yaratmaktadır. Buna ek olarak ise, bu yöntem sırasında balonun şişirilmesi için cerraha tekrarlanan ziyaretler gereklidir. Hidrojel yapısındaki doku genişleticiler kullanıldığında ise dezavantajlar yok denecek kadar azdır. Genişleme süresi ayarlanabilmektedir ve şişirme işlemi için ise düzenli olarak doktor kontrolüne ihtiyaç duyulmamaktadır [54]. Doku genişleticilerin kullanıldığı tedavilerde bir miktar komplikasyon riski olmakla birlikte, bunlar aynı dokuda ard arda gerçekleştirilen genişlemeler ile artma göstermektedir [59].

2.2.4. Doku genişlemesinin kullanım alanları

İnsan varlığının ilk gününden beri doku genişleyebilme yeteneği fizyolojik bir olay olarak devam etmektedir. Literatürde ilk olarak kulak rekonstrüksiyonu için tarif edilmiş olan doku genişlemesi tekniği, son zamanlarda birçok klinik sorunlar için alternatif bir tedavi haline gelmiştir. Günümüzde vücutta genişletilebilecek bir dokunun bulunduğu her bölgede, örneğin deri, kas, bağ doku ve sinirlerde doku genişleticiler kullanılabilir hale gelmiştir [59]. Doku genişleticiler vücudun bazı bölgelerine uygulandığında ve belirli aralıklarla şişirildiğinde uygulandığı bölgedeki derinin genişlemesine ve bu derinin başka alanlarda kullanılmasına imkan sağlamaktadır. Kullanılacak doku genişleticinin şekli ve boyutu, hasarın ve komşuluğunda olan sağlıklı dokunun durumuna bağlı olarak belirlenmektedir. Doku genişletme tekniğinin en çok uygulandığı alan plastik cerrahidir [45]. Bu teknik;

- Meme rekonstrüksiyonunda,
- Baş, boyun, gövde defektlerinde,
- Yanık tedavilerinde
- Kellik problemlerinde,
- Yara izlerinin düzeltilmesinde ve
- İntraoral uygulamalarda kullanılmaktadır [42].

Uzun yıllar boyunca gerçekleştirilen araştırmalar neticesinde, kullanılan bu teknikle ilgili yöntemler yeterince gelişme göstermiştir. Saçlı derideki kayıplarda, göğüs bölgesindeki doku eksikliklerinde; vücutta, boyunda, kol ve bacaklarda olmak üzere vücudun çok farklı alanlarında doku genişleticiler kullanılmaktadır [59]. Bunlara ek olarak ağız, yüz ve çene cerrahisinde ise yumuşak doku genişleticiler sıklıkla kullanılmaktadır. Konvansiyonel tekniğe dayanarak yumuşak doku genişletme uygulaması ilk olarak Lew ve ark tarafından 1986'da ağız mukozasında alveol kemik ogmentasyonu öncesinde, diş eti miktarını artırmak için kullanılmıştır [1].

Wysocki ve ark. tarafından yapılan çalışmada, 12 mm x 4 mm ebatındaki Osmed® doku genişleticileri tavşanlardaki damak yarıklarının onarılmasında kullanılmıştır [60]. Bu genişletici, uygulandıktan 2 gün sonra çıkartılmıştır. Histolojik sonuçlarda dokuda herhangi bir hasar görülmemiştir. Wiese ve ark. ise doğuştan gözü olmayan bir çocukta, 8 mm çapında olan lens tipindeki kendiliğinden şişebilen polimerik doku genişleticiyi kullanmışlardır. Sonuçlar herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmeden göz kapağının oluştuğunu göstermiştir [61]. Lasheen'in yaptığı çalışmadaysa, üst ekstremitte oluşan yanığın tedavisinde şişirilebilir balon genişletici kullanarak yumuşak doku genişlemesi sağlamıştır [62]. Awad ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, 30 çocuk hastaya, yüz ve kafa derisindeki yanık izleri ve ben tedavisi için doku genişleticiler uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir [63].

2.3. Ağız Bölgesindeki Mikroorganizmalar ve Antibiyotik Tedavisi

Ağız boşluğunun dış ortamla doğrudan temas halinde olması nedeni ile ağız bölgesinde çeşitli mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bu bölgede bulunan anaerobik mikroorganizmaların aerobiklere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir [64]. Operasyon veya herhangi bir hasar sonrası mikroorganizmaların neden olduğu akut enflamasyonlar, yaranın ilk oluştuğu dönemde kolayca diş etinde yayılabilmektedir. Dolayısıyla bu dönem sırasında enfeksiyon riskini önlemek için antibiyotik kullanımı sıklıkla tercih edilir. Çalışma kapsamında ağızda bulunan mikroorganizmalara karşı etkili bir antibiyotik olan amoksisilin kullanılmıştır.

2.3.1. Antibiyotikler

Antibiyotikler, mikroorganizmaların büyüme ve çoğalmasını inhibe eden ajanlar olarak bilinmektedirler. Antibiyotik sözcüğü ilk defa 1942 yılında Selman Waksman tarafından mikroorganizmalarca üretilen ve antagonist (diğer mikroorganizmaları etkisiz hale getiren) etki gösteren ürünler için kullanılmıştır [65,66]. Bu tanım

bakterileri öldüren fakat mikroorganizmalar tarafından üretilmeyen maddeleri (mide suyu ve hidrojen peroksit) ve sentetik antibakteriyel bileşimleri (sulfonamidler) kapsamamaktadır. Antibakteriyel bileşikler, molekül ağırlıkları 2000'den daha küçük oldukları için küçük moleküller kategorisine girmektedirler. Tıbbi kimya alanındaki gelişmelerle, beta-laktam antibiyotikleri, sefalosporin ve karbapenemler gibi modern antibakteriyellerin bir çoğu doğal penisilin bileşimlerinin yarı-sentetik modifikasyonu gibi işlemler sonucunda elde edilmektedirler [66].

Canlı mikroorganizmlardan izole edilen antimikrobiyal bileşikler aminoglikosid şeklinde olurken, sentetik ve kimyasal yollardan elde edilen bileşiklerin sulfonamid ve kuinolonlar şeklinde oldukları bilinmektedir. Böylece, antibakteriyel bileşiklerin birçoğu doğal kökenli kimyasal/biyosentetik, yarı-sentetik ve sentetik olarak sınıflandırılır. Bir diğer sınıflandırma ise bu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri temeline göre yapılmaktadır. Bu sisteme göre antibakteriyel bileşikler; bakterileri öldüren bakteriyosidal ajanlar ve bakterilerin büyüme ve çoğalmasını engelleyen bakteriyostatik ajanlar olarak iki sınıfa ayrılır.

Enfeksiyon tedavisi için antimikrobiyal karışımların kullanımı 2000 yıl öncesine dayanmasına rağmen, 20. yüzyıla kadar enfeksiyon tedavilerinin temelini geleneksel yöntemler oluşturmuştur. Yunanistan ve Mısır gibi eski kültüre sahip medeniyetlerde enfeksiyon tedavisi için küf ve bitkisel maddelerin kullanıldığı bilinmektedir [67]. Antibiyozis terimi ise 1877 yılında Louis Pasteur ve Robert Koch tarafından *bacillus anthracis*'in havadaki *bacillus*'lar tarafından inhibe olduğu gözlemlendikten sonra kullanılmıştır [67].

1942 yılında Selman Waksman (Amerikan mikrobiyolog) tarafından bu ilaçların adı antibiyotik olarak değiştirilmiştir [64,68]. Sentetik antibiyotikler ise ilk defa Paul Ehrlich tarafından 1880'lerde elde edilmiştir [65,69]. 1928 yılında Alexander Fleming küf'ün Petri kabında olan bakteriler üzerinde aynı etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Böylece *Penicillium fungi*'ler tarafından üretilen bileşiklerin antibakteriyel etkiye sahip olduğu görülmüştür [70]. İlk sulfonamid ve ilk ticari antibiyotik, Gerhard Domagk ve grubu tarafından 1939 yılında üretilmiştir. Prontosil adı verilen bu bileşik gram-pozitif koksiler üzerinde etkilidir. Rene Dubos ise 1939 yılında, doğal kaynaklı olan ilk antibiyotikleri elde etmiştir. Bunlardan biri tyrocidin ve diğeri ise gramicidin olarak tanımlanmıştır. Bu antibiyotikler 2. Dünya savaşında

tedavi amaçlı kullanılmasına rağmen, insanda toksik etki gösterdiği için günümüzde kullanımı sınırlanmıştır [71]. Florey ve Chain 1945 yılında ilk saf penisilini elde etmişlerdir. Penisilin G adı verilen bu ürünün eldesi, bu bilim adamlarına Nobel Ödülü kazandırmıştır [72].

2.3.2. Antibiyotiklerin tıpta kullanımı

Antibiyotikler tıpta:

- Tedavi amaçlı
 - Bakteriyel enfeksiyonlar,
 - Protozoa enfeksiyonları (metronidazole birçok parazite karşı etki gösterir)
 - Immünomodülasyon [73]
- Önleme amaçlı
 - Cerrahi yaralarda
 - Diş antibiyotik profilaksisi [74]
 - Nötropeni koşullarında (kanserele ilgili)

kullanılmaktadır.

2.3.3. Antibiyotiklerin farmakodinamiği

Antibiyotik tedavisinin başarıyla sonuçlanması çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunlar; konağın savunma mekanizması, enfeksiyon bölgesi ve antibakteriyelin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleridir [75]. Antibakteriyelin bakteriyosidal özelliği bakterinin hangi üreme fazında olduğuna ve bakterinin bölünme ve metabolik aktivitelerine bağlıdır [76]. Bir diğer önemli bileşen ise bakteri konsantrasyonudur [76]. Farklı bakteri konsantrasyonu için değişik miktarda antibakteriyel maddeler kullanılmaktadır. Bu değeri bulmak için *in-vitro* testler yapılır. Bu testler MIC (Minimum inhibitör konsantrasyon) ve MBC (Minimum bakteriyosidal konsantrasyon) olarak tanımlanmaktadır. Bir antibakteriyel maddenin maksimum etkiyle kullanabilmesi için o maddenin farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerini iyi bilmek gerekir [77].

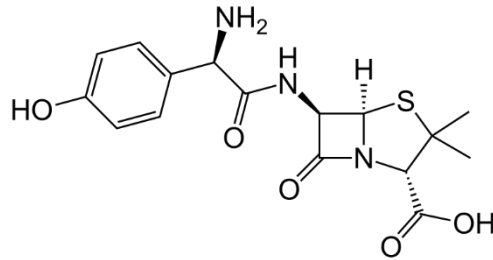
2.3.4. Antibiyotiklerin sınıflandırılması

Antibiyotikler genel olarak, etki mekanizmaları, kimyasal yapıları ve etki spektrumlarına göre sınıflandırılır. Antibiyotikler, bakterileri etkisiz hale getirmek için

bakterilerin işlevleri ve büyümelerini hedef alarak çalışır [70]. Bu hedefler, bakterilerin hücre duvarı (penisilin ve sefalosporin), hücre zarı (polimiksin) veya bakterilerin önemli ve gerekli enzimleri (rifamycins, lipiarmycins, quinolones ve sulfonamidler) olabilmektedir. Bakterilerin protein sentezini yürüten mekanizmaları ise diğer bir hedef olabilmektedir (makrolidler, linkozamidler ve tetrasiklinler) [78]. Dar spektrumlu antibiyotikler yalnızca özel bakteriler üzerinde etki gösterirken (yanlızca gram pozitif veya negatif), geniş spektrumlu antibiyotikler birçok bakteriyi etkisiz hale getirebilir. Geniş spektrumlu antibiyotikler genelde bakterilerin enzimleri veya genetik materyalleri üzerinde etki gösterirken, dar spektrumlu antibiyotikler hücre duvarında etki gösterirler [79].

2.3.5. Amoksisilin (AMX)

Amoksisilin ve amoks'a bağlı olan antibiyotikler birçok bakteriyel enfeksiyonun tedavisinde kullanılan etkin bir antibakteriyel ajandır. Bu ilacın sistematik adı ve kimyasal yapısı aşağıda verilmiştir (Şekil 2.10). Molekül ağırlığı 365.4 g/mol'dür. Bu bileşiğin uzun adı (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hidroksifenil)-asetik]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tiya-1-azabisiklo[3.2.0] heptane-24-karboksilik asit'tir.



Şekil 2.10. Amoksisilin'in 3 boyutlu kimyasal yapısı.

Kimyasal olarak iki tür amoksisilin üretilmiştir, amoksisilin trihidrat ve amoksisilin sodyum. Amoksisilin trihidrat beyaz renkli kristalin bir yapıya sahiptir. Vücut sıvıları ve etanolde düşük çözünürlüğe sahipken, yağlarda çözünmezdir. Amoksisilin sodyum, hafif pembe renkli amorf ve higroskopik bir yapıya sahiptir. İlaçlarda amoksisilin'in trihidrat formu kullanılır ve kan proteinlerine düşük oranda bağlanarak vücut doku ve sıvılarına etkili derişimlerde dağılır. Vücut sıvılarında yüksek çözünürlük kapasitesi gösterirken, etanol ve asetonda düşük seviyelerde çözünen bir ilaçtır. Bu ilacın kanıtlanmış bir toksisitesi yoktur [80]. Orta-spektrumlu ve β -laktam ailesine ait olan bu ajanın, gram pozitif ve gram negatif bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde büyük bir katkısı bulunmaktadır. Penisilin'e alerjik

tepkiler gösteren hastalara ideal bir alternatif olarak oral yoldan alınmaktadır. Amoksisilin ilk defa 1972'de kullanılmıştır ve temel sağlık sistemi için tıpta önemli bir yere sahip olan bir ajan olarak bilinmektedir [81].

2.3.5.1. Amoksisilin tıpta kullanımı

Amoksisilin birçok enfeksiyonun tedavisinde kullanılmaktadır. Örnek olarak, akut orta kulak iltihabı, streptokokal faranjit, pneumonia, cilt enfeksiyonu, üriner enfeksiyonu, salmonellazis, lenf hastalığı ve klamidya enfeksiyonları verilebilir. Diğer taraftan, çene ve diş ameliyatları sırasında *Streptococcus Pneumonia* ve tekrar edebilir bakteri enfeksiyonlarını engellemek için koruma amaçlı kullanılan bir ilaç olarak da bilinir [82].

Amoksisilin ve amoksisilin-klavulanat bakteriyel sinüzit için ilk tercih edilen ilaçlardan biridir. Buna rağmen, sinüzitlerin birçoğuna virüsler neden olduğu için çoğu zaman bu ilaçlar bu tür hastalıklar için etkisiz olabilmektedirler. Amoksisilin bazen akne vulgaris gibi cilt enfeksiyonlarında, doksisilin gibi diğer antibiyotiklerden düşük cevap alındığında kullanılmaktadır [83].

2.3.5.2. Amoksisilin etki mekanizması

Amoksisilin asıl etki mekanizması, bakterinin hücre duvarı sentez mekanizmasını inhibe etmesine dayanır. Bu mekanizma sırasında, amoksisilin, gram pozitif ve gram negatif bakterilerin hücre duvarında olan lineer peptidoglikan polimerlerin arasında oluşan çapraz bağlanma reaksiyonlarını inhibe eder. Amoksisilin kimyasal yapısında, amin grubunun alfa-pozisyonunda, karboksilik ve amid karbonil grupları fizyolojik aralığında iki iyonize edilebilir grup bulunmaktadır [84].

2.3.5.3. Amoksisilin mikroorganizma spektrumu

Genel olarak *Streptococcus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus*, *Haemophilus*, *Helicobacter* ve *Moraxella* amoksisiline hassasken, *Citrobacter*, *Klebsiella* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakteriler bu ilaca direnç göstermektedir. Diğer taraftan *E.coli* ve klinik olarak izole edilmiş *Staphylococcus aureus* suşlarının bazıları amoksisiline karşı farklı seviyelerde direnç göstermektedir [85].

2.3.5.4. Amoksisilin kullanımına ilişkin literatür örnekleri

Rams ve ark. yaptıkları çalışmada, dental implant bölgesinde oluşabilecek bir enfeksiyonu önlemek amacıyla antibiyotik tedavisi uygulamıştır. Periimplantitis görülen 120 yetişkin hastada, 160 dental implanttan kültüre edilen submukozal

biyofilmler 4 mg/L doxycycline, 8 mg/L amoxicillin, 16 mg/L metronidazole ve 4 mg/L clindamycin ile muamele edilmiştir. Amoksisilin ve metranidazol kullanıldığında bölgedeki patojenlerin antibiyotiğe direnci en az olmuştur [85].

Valarezo ve ark'nın yaptıkları çalışmada, AMX yüklü PCL nanofiberleri elektroejirme yöntemi ile üretilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda amoksisilin (%3,5,7 g AMX / g PCL) PCL çözeltisine eklenmiş ve elde edilen AMX yüklü nanofiberler ile salım çalışması yapılmıştır. Salım ilk başta ani patlama etkisi göstermiş ve ardından azaltılmış salım gözlenmiştir. *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Escherichia coli* ile mikrobiyolojik çalışmalar gerçekleştirilmiş ve ilaç içeren AMX yüklü PCL matrislerin ilaç salarak bakteri üremesini engelledikleri zon oluşumlarıyla görülmüştür [86].

2013 yılında yapılan bir çalışmada amoksisilin nano-hidroksiapatit yüzeylere fiziksel adsorpsiyonla tutturulmuştur. Daha sonra yapı PLGA çözeltisi ile karıştırılarak elektroejirme ile amoksisilin/nano-HA/PLGA kompozit nanofiber yapılar elde edilmiştir. Üretilen malzemenin antimikrobiyal aktivitesi *S. aureus* model bakterisi kullanılarak belirlenmiştir. L929 hücreleri ile MTT analizi ve sitotoksisite çalışmaları yapılmıştır. AMX/PLGA %1 (ağırlıkça), nano-HA/PLGA %5 oranlarında olacak şekilde hazırlanmıştır. Amoksisilin PLGA fiberlerden salımında, ilk 24 saatte ani patlama etkisiyle yapıdaki miktarın %40'ı, 10 günde ise % 90'ının salındığı, AMX-nano-HA/PLGA'dan salımında ise 24 saate %16, 18 günde ise yapıdaki miktarın %35'nin salındığı görülmüştür. Antimikrobiyal çalışmalarda 40 µg/mL konsantrasyonlu amoksisilinde %90 üstü inhibisyon alan etkisi gözlenmezken, 60 µg/mL konsantrasyonlu AMX için %90 üstü bakteriyel inhibisyon etki gözlenmiştir [87].

2.4. Elektroejirme ile Nanofiber Üretimi

16. yüzyılın başlarında İngiliz fizikçi William Gilbert'in suyun içinde çözdüğü kehribarı elektrostatik olarak yükledikten sonra, konik bir iğne ucundan parçalar halinde karşı yüzeye püskürtmesiyle temeli atılan elektroejirme tekniği, 1900'lü yılların başında J. F. Cooley ve W. J. Morton tarafından patentlenmiş ve o zamandan bu yana biyotıp alanında araştırmacıların ilgisini çekmeyi başarmıştır [88]. İlk olarak 1930'lu yıllarda tekstil alanında iplik yapılar elde etmek için kullanılması öngörülen teknik, daha sonra özellikle nanoteknolojinin adından söz ettirmeye başladığı 1990'lı yıllarda, diğer malzeme alanlarına da sıçramıştır [89].

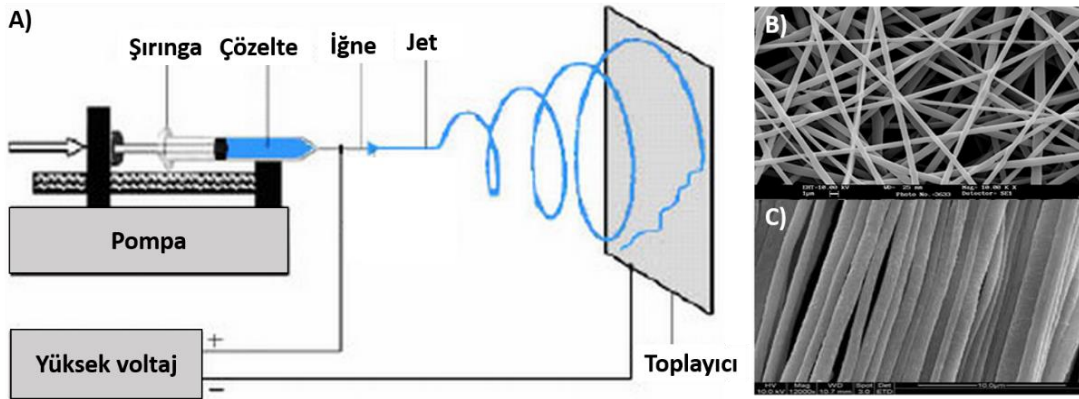
2.4.1. Elektroğirme tekniği

Kuvvetli bir elektrik alana maruz kalarak artı veya eksi yüklenen sıvı çözeltiler, tıpkı iki mıknatısın benzer uçlarının birbirini itmesi gibi, birbirlerinden uzaklaşmaya çalışır. Bu itme, sıvının elektrik alanı doğrultusunda bir su damlası formu almasına sebep olur. Ancak itme kuvveti öyle bir noktaya ulaşır ki, sıvı damlası tıpkı bir sakız gibi uzar ve incelir. Havada ilerlerken kuruyan çözeltiler, bir karşı plaka üzerinde tıpkı çözülmüş bir yün yumağı gibi, kesintisiz iplikli fiberler halinde birikir. Bu yöntemle, insan saçından (mikron büyüklüğünde) 20.000 kat daha ince, nano büyüklükte iplikler elde edilir. Bu iplikli yığın, hem yüzey özellikleri hem de fiziksel özellikleriyle biyotıp alanında birçok uygulamada kendine yer bulmuştur [90].

Elektroğirme yöntemi için gerekli deney düzeneği temel olarak üç önemli ana bileşenden oluşmaktadır (Şekil 2.11).

Bunlar:

1. Yüksek voltaj güç kaynağı
2. Besleme ünitesi (şırınga, metal iğne vb.) ve
3. Toplayıcı (iletken plaka, döner silindir v.b.) olarak sıralanabilir.



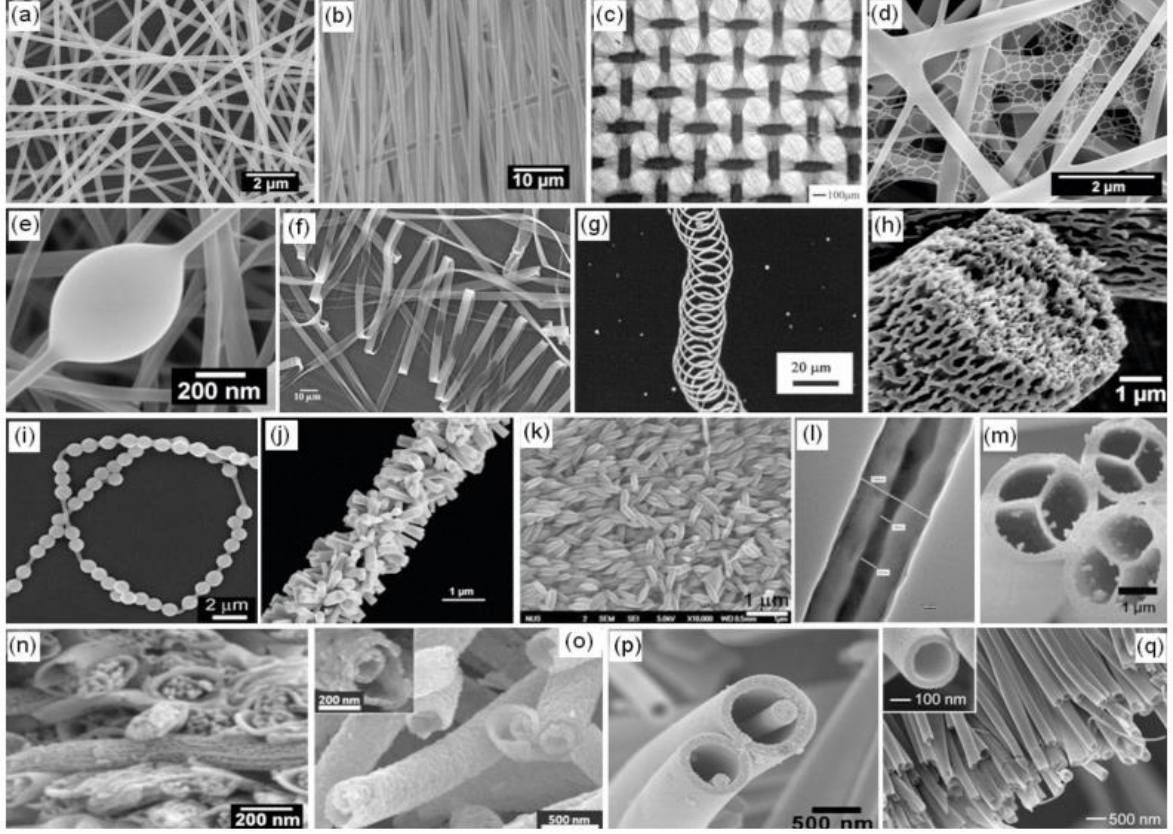
Şekil 2.11. A) Elektroğirme düzeneği, B) rastgele nanofiberler, C) hizalanmış nanofiberler [91].

2.4.2. Elektroğirme tekniğinin biyotıp alanındaki önemi

Biyotıp alanında kullanılacak bir malzemeden beklenen pek çok özellik bulunmaktadır. Bu özellikler, aslında malzemenin biyolojik sistemle ne kadar biyoyumlu olduğunun göstergesidir. Bu özelliklerin başında, malzemenin kimyasal

yapısı, yüzey pürüzlülüğü, gözenekliliği ve mekanik dayanımı gelmektedir [92]. Biyomalzemeler, çoğu zaman istenilen özelliklerin hepsini yapısında bulundurmamaktadır. Bu noktada son yıllarda ideal biyouyumluluğu elde etmek için araştırmacılar tarafından iplikli yapılar kullanılmaya başlanmıştır. Yığın haldeki iplikli yapılar, doku hücre dışı matrisi taklit edebilme özelliklerinin yanında ayrıca malzeme ile biyolojik çevre arasındaki etkileşim için gerekli yüzey pürüzlülüğünü, gözenekli yapıyı ve de istenilen mekanik dayanımı sağlayabilmektedir. Elektroçirme tekniği ile istenilen nano özellikli ve canlı hücrelerle uyumlu pek çok malzeme üretilebilmektedir. Bu yöntemle üretilen iplikli yapılar, nano özelliklerinden dolayı çok geniş yüzey alanına sahiptir ve dolayısıyla dış ortamla malzeme arasındaki etkileşim alanı büyüktür. Travma veya hastalık sonucu oluşan doku kayıplarının tedavisinde, yukarıda bahsedilen özelliklerden dolayı nano iplikli yapılar sıklıkla kullanılmaktadır. Hidrofobik yüzey özeliğine sahip elektroçirilmiş malzemelerden elde edilen yara ve yanık örtüsü, hem dış ortamdan gelen nemi ve mikropları uzak tutar hem de derideki yaranın nemli ve besince zengin kalmasını sağlayarak iyileşmeyi destekler. Bu iplikli yapılara gümüş parçacıkları katılarak antibakteriyel özellik de sağlanmaktadır [93].

İplikli yapılar, gözenekli oluşları ve yüzey özellikleri bakımından insan dokusundaki hücreleri çevreleyen destek yapıya çok benzer ve yerleştirildikleri hasarlı bölgeler dokunun yenilenmesini destekler. Elektroçirilmiş ipliklerin ağsı yapısı, piyasadaki damar stentlerine, sinir tedavi kanallarına ve ameliyat ipliklerine benzediği için ticari malzeme olarak kullanılmaktadır [94]. Elektroçirme düzeneği ihtiyaca göre modifiye edilip çok farklı ve karmaşık iplikli yapılar kolayca elde edilebilmektedir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. Elektroçirme yöntemiyle elde edilen farklı ipliksi yapılar [95].

Elektroçirme tekniği ile biyobozunur malzemeler üretilmesi, hasarlı bölgenin iyileşmesi gerçekteştikten sonra malzemelerin ikinci bir ameliyata gerek kalmadan vücuttan zararsızca uzaklaştırılmasına olanak sağlar. Elektroçirilmiş biyobozunur malzemeler ihtiyaca göre, çeşitli ilaçlar yüklenerek tedavi edilmesi amaçlanan bölgede ilaç salımı gerçekteştirilebilmektedir. Bu sayede, hem doz aşımının önüne geçilmekte hem de ilaçların yan etkileri azaltılmaktadır [96].

2.5. Kontrollü İlaç Salımı Prensipleri

Vücutun belirli bölgelerine ilaç bırakabilen ya da uzun süreli ilaç salımını kontrollü bir şekilde yapabilen salım sistemleri fikri, eski zamanlara dayanmasına rağmen ancak son yıllarda bu tür sistemlerin geliştirilebilmesi mümkün olmuştur. Konvansiyonel ilaçlarda görünen bazı dezavantajlar nedeniyle (hastanın günde birkaç kez ilaç alma gereksinimi, ilacın toksik düzeylere ulaşması ile bir takım yan etkiler) ilacın daha az sıklıkta ve daha az dozda alımını sağlamak üzere, etken maddenin serbestleştirilmesinin yavaşlatılması için araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda geliştirilen farmasötik sistemler, "Kontrollü Salım Yapan

Sistemler” olarak adlandırılmıştır. Kısa zaman içerisinde bu yeni ilaç salım sistemleri, kardiyoloji, oftalmoloji, endokrinoloji, onkoloji ve immünoloji dahil olmak üzere tıbbın hemen her dalında etkili olmaktadır [97].

2.5.1. Kontrollü salım yapan sistemlerin sınıflandırılması

Bu sistemler uygulama yerine göre (örneğin: oküler, nazal, oral, transdermal, implant sistemleri gibi) sınıflandırılabilirler gibi etkin madde salım mekanizmalarına göre de şu şekilde sınıflandırılabilirler [98]:

1. Difüzyon kontrollü sistemler
 - Membran (rezervuar) sistemler
 - Matriks (monolitik) sistemler
2. Kimyasal kontrollü sistemler
 - Vücutta aşınan sistemler
 - Zincire takılı sistemler
3. Çözücünün harekete geçirdiği sistemler
 - Şişme kontrollü sistemler
 - Ozmotik kontrollü sistemler
4. Difüzyon ve kimyasal kontrollü sistemler

2.5.2. Difüzyon kontrollü sistemler

Difüzyon kontrollü sistemler en yaygın olarak kullanılan sistemlerdir. Bu sistemlerde etkin maddenin salım hızı, etkin maddenin suda çözünmeyen bir polimerden difüzyonu ile kontrol edilir. Bunlar, membran ve matriks sistemler olmak üzere iki şekilde hazırlanır [99].

Membran sistemler: İlaç taşıyıcı sistemin etrafı suda çözünmeyen polimer bir membranla kaplanmıştır. Etkin madde, membran içinde dağılıp, membrandan sistemi çevreleyen ortama difüze olur. Kontrollü salım sağlayan membrandan difüzyonla etkin madde salımının kontrol edildiği bu sistemlerde; etkin maddenin dağılma ve difüzyon katsayıları, membranın kalınlığı saptanarak salım hızı önceden belirlenebilir [100].

Matriks sistemler: Bu sistemlerde etkin madde çözünmeyen bir polimerin oluşturduğu iskelet yapı içerisinde Şekil 2.13.a'daki gibi çözünür/dağılır. Matriks sistemler genellikle tablet şeklinde hazırlanır. Etkin madde toz halindeki çözünmeyen polimer ile karıştırılıp doğrudan veya granülasyondan sonra veya

polimer ile katı dispersiyonu hazırlandıktan sonra tablet basılır. Granülasyonda bilinen bağlayıcı maddeler veya polimerin çözündüğü fakat etkin maddenin çözünmediği çözücüler kullanılır. Tablet basma sırasında partiküller veya granüller basınçla birbirine kaynar ve homojen (gözeneksiz) bir matriks oluşur. Matriks materyaline hidrofil maddeler eklenerek heterojen (gözenekli) matriksler oluşturulur. Sisteme sıvı girdiğinde hidrofilik maddeler hızla çözünüp uzaklaşarak matriksin içinde boşluklar oluşur ve etkin maddenin difüzyonu bu kanallardan gerçekleşir [101].

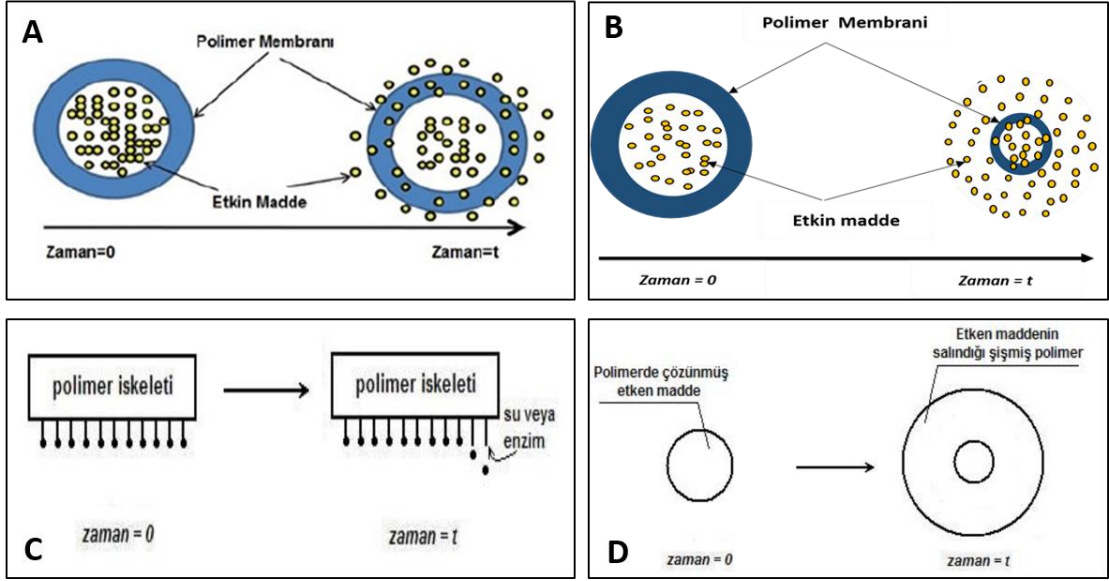
2.5.3. Kimyasal kontrollü sistemler

Vücutta aşınan sistemler: Etkin madde polimer içinde homojen olarak dağıtılmıştır. Şekil 2.13.b'de görüldüğü gibi etkin madde difüzyonla salınırken polimer faz kütlesi erozyon nedeniyle azalmaktadır. Eğer polimerin biyolojik olarak parçalanma tepkimesinin kinetiği biliniyorsa, bu tür sistemler için matematiksel eşitlikler elde edilebilmektedir [102].

Zincire takılı sistemler: Bu sistemlerde Şekil 2.13.c'de şematik olarak gösterildiği gibi, etkin madde bir polimer zincirine kimyasal olarak bağlanır ve aradaki bağın hidrolitik veya enzimatik olarak kopması ile etkin madde salınır. Toksikiteyi azaltabilmek, terapötik etkinliği arttırabilmek veya etkin maddeyi belli bir organa ya da hücreye hedeflemek amacıyla kısa süreli kullanıma yönelik kontrollü salım yapan implantlarda kullanılmaktadır [103].

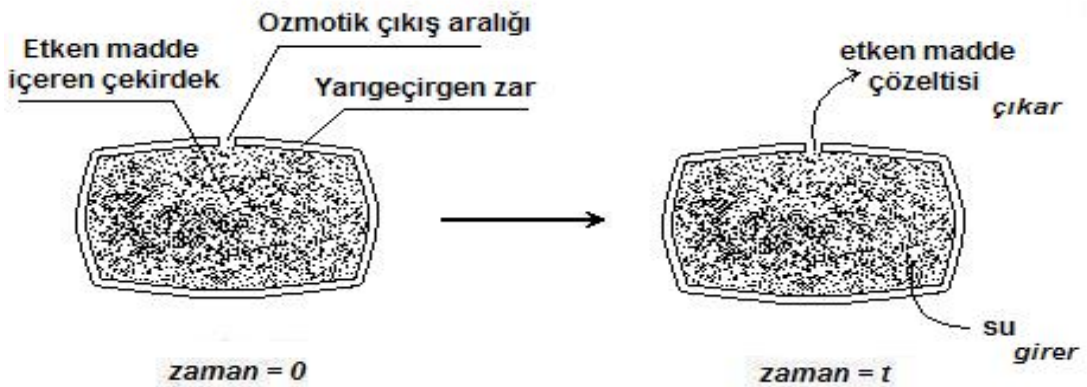
2.5.4. Çözücünün harekete geçirdiği sistemler

Şişme kontrollü sistemler: Bu sistemlerde salım, polimerin bir çözücü varlığında camsı durumdan kauçuğumsu duruma geçişi ve bu durumda ortaya çıkan makromoleküler gevşeme sonucu gerçekleşir. Çözücü moleküllerinin camsı bölge içinde neden olduğu baskı sonucu, polimer moleküllerinin uçtan uca uzaklığında ve dönme yarıçapında artış meydana gelmekte ve böylece çözücü molekülleri camsı bölge içine girmektedir (Şekil 2.13 c) [104].



Şekil 2.13. a) Difüzyon kontrollü matris sistemlerin şematik görünümü, b) vücutta aşınan sistemlerin şematik görünümü, c) zincire takılı sistemlerin şematik görünümü, d) şişme kontrollü sistemlerin şematik görünümü [105].

Ozmotik kontrollü sistemler: Bu sistemlerde difüzyonla membrandan geçerek sistemin içine giren sıvının yarattığı ozmotik basınç etkin maddenin dışarı çıkmasını kontrol eder (Şekil 2.14). Etkin madde yarı geçirgen bir membran içindedir ve genellikle derişimi, doyumluk sınırının üstündedir. Sistemde ozmotik işlemi yürüten bir tuz da bulunabilmektedir. Ozmotik sistem su veya biyolojik sıvı ile temas ettiğinde, su yarı geçirgen membranın gözeneklerinden içeriye girmekte ve böylece etkin madde çözünmektedir. Etkin madde, bu membrandan difüze olamayacağı için lazer ile açılmış olan delikten salınmaktadır [106].



Şekil 2.14. Ozmotik kontrollü sistemlerin şematik görünümü [107].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

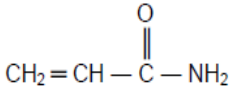
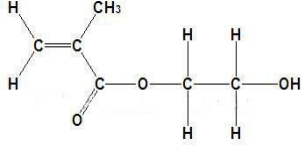
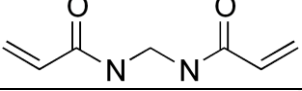
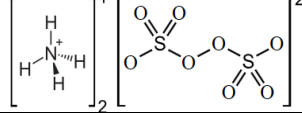
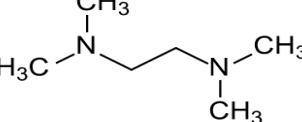
Bu bölümde, sunulan tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalar ile ilgili ayrıntılı bilgiler verilmiştir. İlk olarak çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler özetlenmiştir. İkinci bölümde, doku genişletme amacıyla kullanılan hidrojel sistemlerinin sentez yöntemleri ayrıntılı olarak anlatılmıştır. Üçüncü bölümde, hidrojellerin şişme hızının kontrol altına alınması ile ilgili yapılan kaplama ve kılıflama çalışmalarından bahsedilmiştir. Son bölümde ise, hidrojellerin karakterizasyonu amacıyla yürütülen çalışmalara yer verilmiştir.

3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler

Tez çalışması kapsamında geliştirilen doku genişletici hidrojellerin sentezinde monomer olarak kullanılan akrilamid (AAm, %99) ve 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) Sigma (A.B.D.) firmasından temin edilmiş ve bu monomerler kullanılarak değişik kopolimer bileşimlerinde hidrojel sistemleri sentezlenmiştir. Çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan N,N'-metilenbisakrilamid (BIS) Sigma firmasından, polimerizasyon başlatıcı çifti olarak kullanılan amonyum persülfat (APS) Across (A.B.D.) firmasından, N,N,N',N'-tetrametilendiamin ise (TEMED) Sigma (ABD) firmasından temin edilmiştir. Sentezlerde çözücü olarak distile su kullanılmıştır. Tüm kimyasal maddeler herhangi bir saflaştırma işlemi uygulanmaksızın kullanılmıştır. Gliserinli hidrojellerde kullanılan gliserin Sigma (A.B.D.) firmasından satın alınmıştır. Sentezde kullanılan malzemelerin kimyasal yapıları ve kullanım gerekçeleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Hidrojeller ile yapılan tüm şişme deneylerinde, şişme ortamı olarak fosfat tampon çözeltisi (PBS, pH:7.4) hazırlanmıştır. Sırasıyla NaCl, KCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄, NaOH tuzları 800 mL distile suda çözülmüş ve çözelti hacmi bir litreye tamamlanarak 7.4 olan sahip olan fosfat tampon çözeltisi elde edilmiştir.

Çizelge 3.1. Hidrojel sentezinde kullanılan kimyasallar, kapalı/açık formülleri ve kullanım gerekçeleri.

Kimyasalın Adı	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Kapalı Formülü	Açık Formülü	Kullanım Gerekçesi
Akrilamid (AAm)	71.08	C ₃ H ₅ NO		Monomer
2-hidroksietil metakrilat (HEMA)	130.14	C ₆ H ₁₀ O ₃		Monomer
N,N'- metilen bis akrilamid (BIS)	154.20	C ₇ H ₁₀ N ₂ O ₂		Çapraz bağlayıcı
Amonyum persülfat (APS)	228.20	(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈		Başlatıcı
N,N,N',N'- tetrametilendiamin (TEMED)	116.20	C ₆ H ₁₆ N ₂		Başlatıcı katalizörü

Doku genişletici olarak kullanılmak üzere sentezlenen hidrojellerin şişme hızının kontrol altına alınması amacıyla yapılan kaplama çalışmalarında kullanılan silikon kılıflar, “Kardeşler Silikon” (Ostim, Ankara) firması tarafından üretilmiştir. Silikon kılıfın yapımında medikal kalitede silikon kullanılmıştır. Kılıf üzerindeki deliğin kapatılmasında ve PCL matrisin üretiminde kullanılan polikaprolakton (PCL, molekül ağırlığı: 80.000 g/g-mol) Aldrich (ABD) firmasından satın alınmıştır. Elektroeğirme yöntemi ile PCL matris hazırlanmasında çözücü olarak kullanılan 1,1,1,3,3,3,-hekzafloro-2-propanol (HFIP) Sigma-Aldrich (A.B.D.) firmasından temin edilmiştir. Antimikrobiyal bir model ilaç olarak kullanılan amoksisilin (AMX, molekül ağırlığı: 365.4 g/mol) Sigma (A.B.D.) firmasından alınmıştır. AMX yüklü PCL nanofiber matrislerin üretiminde kullanılan ve amoksisilin için kötü çözücü olan dimetil formamid (DMF) ve dikloro metan (DCM) Merck (Almanya) firmasından alınmıştır. PBS içerisinde gerçekleştirilen ilaç salım deneyleri ve şişme çalışmaları sırasında mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla salım ortamına ve aynı şekilde şişme test ortamına Sigma (A.B.D.) firmasından temin edilen sodyum azid (NaN₃, %0.09 w/v) eklenmiştir.

3.2. Hidrojel Sentezi

Sunulan tez çalışması kapsamında, daha önce grubumuzdan Suna Sop'un yüksek lisans tez çalışması kapsamında [7] uygun özellikleri taşıdığı belirlenen P(AAm-ko-HEMA) hidrojelleri temel alınarak 2 tür doku genişletici hidrojel sistemi, serbest radikal zincir polimerizasyonu ve çapraz bağlanma reaksiyonu ile gliserinsiz (p(AAm-ko-HEMA)) ve (gliserinli p(AAm-ko-HEMA)) olarak sentezlenmiştir. Sentez aşamasının ardından, her iki tür hidrojel sistemi ile, şişme hızının yavaşlatılması ve kontrol altına alınması için çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Aşağıda söz konusu hidrojellerin sentezi hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir.

3.2.1. P(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin sentezi

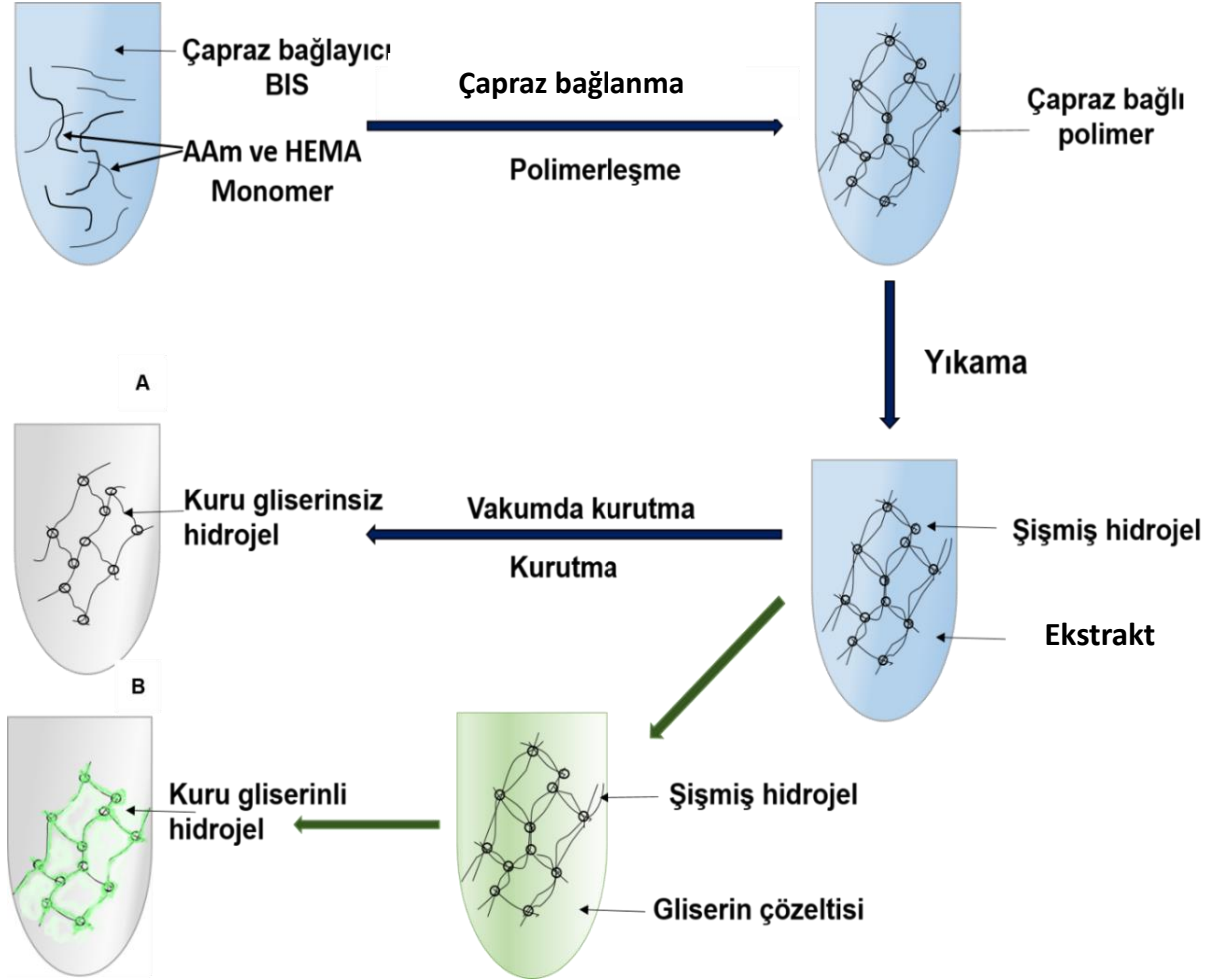
Poli(akrilamid-ko-2-hidroksietil metakrilat) hidrojelleri AAm/HEMA mol oranı % 94.5/5.5 olacak şekilde sentezlenmiştir. Sentezlerde çapraz bağlayıcı (50 mg/mL BIS), başlatıcı (APS 50 mg/mL) ve başlatıcı katalizleyici (TEMED 64/5 mg/1.5 mL) konsantrasyonları sabit tutulmuştur. Sentez reçetesi Çizelge 3.2'de verilmiştir. Polimerizasyon 4 mm x 150 mm boyutlarındaki cam tüplerde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. P(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin sentez reçetesi.

Hidrojel türü	Monomer AAm/ HEMA (mL/mL)	Çapraz bağlayıcı (BIS) (mL)	Başlatıcı (APS) (mL)	Başlatıcı Katalizleyici (TEMED) (mL)
p(AAm-ko-HEMA)	0.100/ 0.100	0.110	0.110	0.110

İlk olarak, AAm Eppendorf tüpüne alınmış ve distile suda tamamen çözüldükten sonra üzerine HEMA monomeri eklenerek tekrar karıştırılmıştır. Ardından, bu karışıma hızlı bir şekilde çapraz bağlayıcı ajan, başlatıcı ve başlatıcı katalizleyici eklenerek, tüpün ağzı Parafilm ile kapatılmış ve çözelti karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çözelti, 2 dk karıştırıldıktan sonra pipetlenerek 4 mm'lik cam tüplere alınmıştır. Polimerizasyon reaksiyonu oda sıcaklığında gerçekleştirilmiş ve reaksiyonun 30 dk boyunca devam etmesine izin verilmiştir. Reaksiyonun sonunda, cam tüpler dikkatlice kırılarak silindirik çubuk halindeki jeller çıkarılmıştır. Silindirik jel örnekleri bisturi yardım ile dilimlenerek (12 mm uzunluğunda) uniform jeller elde edilmiştir. Sentezlenen hidrojeller, yapılarındaki reaksiyona girmeyen monomerlerin ve diğer bileşenlerin uzaklaştırılması amacıyla distile suda üç günlük bir yıkama işlemine tabi tutulmuştur ve distile su ortamı günde iki kez yenilenmiştir. Silindirik jeller 37°C

sıcaklık ve 25 mmHg basınçında kurutulularak 2 mm çap ve 10 mm kalınlığa sahip jeller elde edilmiştir. Çalışma kapsamında izlenen hidrojel sentezinin aşamaları Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. A) p(AAm-ko-HEMA) ve B) gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerin sentez aşamaları.

Şekil hafızalı ve manipülasyonu daha kolay hidrojeller elde etmek amacıyla, 70 mL distile suya 30 mL gliserin eklenmiş ve bu çözelti manyetik karıştırıcıda 15 dk karıştırılmıştır. Daha sonra hidrojeller 20 dk, 40 dk, 2 sa ve 6 sa gliserin çözeltisinde bekletilerek gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojeller elde edilmiştir.

Yukarıdaki işlemlerin sonunda iki grup hidrojel elde edilmiştir:

1. p(AAm-ko-HEMA), (10 mm uzunluk x 2 mm çap)
2. Gliserinli p(AAm-ko-HEMA), (10 mm uzunluk x 3 mm çap)

3.3. Şişme Hızının Kontrol Altına Alınması ile İlgili Çalışmalar

Doku genişletici sistemlerinde hidrojelin hızlı şişme özelliği bazı dezavantajlar getirmektedir. Bu nedenle hidrojellerin şişme hızının kontrol altına alınması gereklidir. Çalışmada, hidrojellerin şişme kinetiği ve sentez sonrası mekanik dayanımları göz önüne alındığında, kısmen farklı özelliklere sahip gliserinli ve gliserinsiz p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerin elde edildiği ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerin istenilen özelliklere daha yakın oldukları görülmüştür. Şişme hızını yavaşlatmak için kılıflama çalışmaları her iki tür hidrojel üzerinde de gerçekleştirilmiştir. Aşağıda bu çalışmalar hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir.

3.3.1. Hidrojellerin silikon kılıfla kılıflanması

Çalışmada, hidrojellerin şişme hızını kontrol altına almak amacıyla medical kalitede silikondan yapılan bir kılıf kullanılmıştır. Hazırlanan kılıf 18 mm uzunluğa ve 5 mm çapa sahiptir. Hidrojel, kılıf içerisine yerleştirildikten sonra, ucundaki 4 mm'lik bölümü silikon yapıştırıcı ile yapıştırılmıştır. Son olarak, her bir silikon kılıf üzerinde 0.5 mm çapında delik açılmıştır. Ardından, kılıflanmış her iki tür hidrojelle şişme çalışmaları yürütülmüştür.

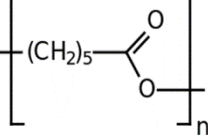
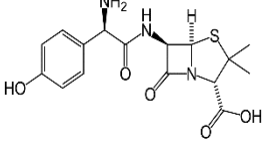
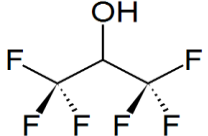
3.3.2. Kılıf üzerindeki deliğin kapatılması

Yara iyileşme sürecinin yaklaşık ilk on gününde, yani dokunun en zayıf olduğu dönemde, implant olarak kullanılan hidrojelin şişme hızını yavaşlatmak ve ayrıca ameliyat esnasında ve ameliyattan sonra enfeksiyon riskini minimize etmek gerekir. Bu amaca yönelik elektroğirme yöntemi kullanılarak kontrollü salım yapan PCL-AMX nanofiber matrisler üretilmiştir. Kılıfın üzerindeki delik biyobozunur PCL-AMX matris ile kapatılmıştır. Bu matris, 5 mm x 5 mm ebatındaki PCL-AMX nanofiber matristen kesilip silikon yapıştırıcı ile kılıf üzerine yapıştırılmıştır.

3.3.3. Elektroğirme cihazı ile PCL-AMX nanofiber matrislerin üretimi

Elektroğirme yöntemi ile PCL-AMX nanofiber matrisin hazırlanmasında kullanılan kimyasallar Çizelge 3.3'de listelenmiştir.

Çizelge 3.3. PCL-AMX nanofiberlerin sentezinde kullanılan kimyasallar, kapalı/açık formülleri ve kullanım gerekçeleri.

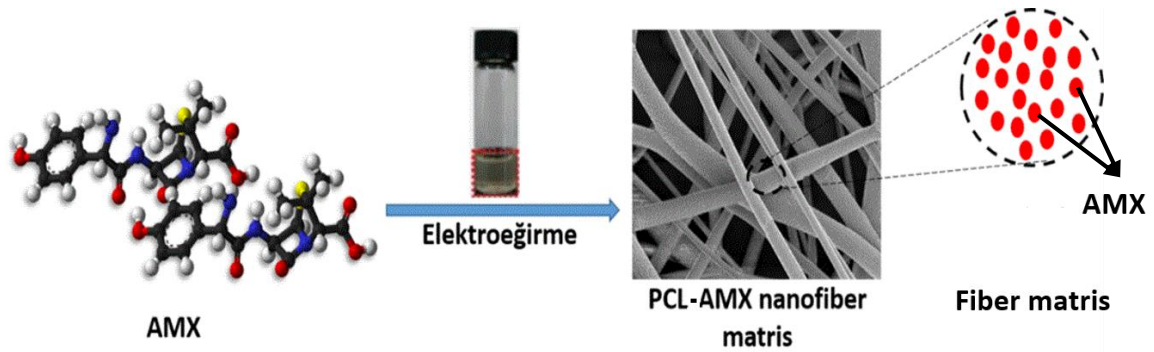
Kimyasalın Adı	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Kapalı Formülü	Açık Formülü	Kullanım Gerekçesi
Polikaprolakton (PCL)	80.000	$(C_6H_{10}O_2)_n$		Biyobozunur polimer
Amoksisilin (AMX)	365.4	$C_{16}H_{19}N_3O_5S$		Antimikrobiyal ajan
3.3.4.3. 1.1,1,3,3,3- Hekzafloro-2- propanol (HFIP)	168.04	$C_3H_2F_6O$		Çözücü

PCL-AMX nanofiber matris üretiminde iki farklı çözücü, 1.1,1,3,3,3- Hekzafloro-2-propanol (HFIP) ve dimetilformamid/diklorometan (DMF/DCM) kullanılmıştır. Bunlar ile sırasıyla % 11 ve %12 (kütlece/hacim) oranlarında PCL çözeltileri hazırlanmıştır. Elektroçizme çözeltilerinin hazırlanmasında 2 farklı oranda amoksisilin (kütlece % 3 ve 5) kullanılmıştır. Amoksisilin nanofiber oluşumundaki etkisini incelemek ve antimikrobiyal çalışmada AMX yüklü nanofiber matrislerin etkisini göstermek amacıyla nanofiber üretimindeki koşullar kullanılarak AMX içeren nanofiber matrisler üretilmiştir. Çalışmada, şırınga ucu iğnesi ile toplayıcı arasındaki mesafe 35 cm olarak sabit tutulmuştur. HFIP kullanılan PCL çözeltisinde güç kaynağı 27.5 kV'ya ayarlanmış, 2 mL/sa akış hızı ile işlem gerçekleştirilmiştir. DMF/DCM kullanılan PCL çözeltisinde ise güç kaynağı 22 kV'ya ayarlanmış, 12 mL/sa akış hızıyla elektroçizme işlemi gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.4). nanofiberlerin toplama süreleri 40 dk ve 80 dk olarak değiştirilmiştir. Tüm işlemler, oda sıcaklığında yapılmıştır.

Çizelge 3. 4. PCL nanofiberlerinin üretimi için kullanılan parametreler.

Polimer Türü	Çözücüler	Toplayıcı mesafesi (cm)	Toplama süresi (dk)	Akış hızı (mL/sa)	Voltaj (kV)
PCL	HFIP	35	40/80	2	27.5
PCL	DMF/DCM	35	40/80	12	22.0

Çalışma kapsamında izlenen amoksisilinin PCL nanofiber yapısına yüklenmesi şematik olarak Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Amoksisilinin PCL nanofiber yapısına yükleme aşamaları.

Üretilen nanofiberlerin çapları, ImageJ Programı (NIH, ABD) kullanılarak SEM fotoğrafları üzerinden hesaplanmıştır.

3.4. P(AAm-ko-HEMA) Hidrojellerin Karakterizasyon Çalışmaları

Tez kapsamında hazırlanan p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerin karakteristik özellikleri;

- ❖ Şişme deneyleri,
- ❖ Taramalı elektron mikroskobu (SEM),
- ❖ Termal gravimetrik (TGA) analiz,
- ❖ Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR),
- ❖ Mekanik analiz,

yöntemleri ile incelenmiştir.

3.4.1. Şişme çalışmaları

Dinamik şişme deneyleri, 37°C sabit sıcaklıktaki etüvde (NÜVE EN 500, Türkiye) fosfat tamponunda (PBS, pH:7.4) her bir bileşim için 3 paralel örnek kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerin kuru ağırlıkları kaydedildikten sonra, örnekler 25 mL

PBS içeren beherlere koyulmuş ve şişme deneyleri başlatılmıştır. Belirli zaman aralıklarında şişme ortamından uzaklaştırılan örneklerin yüzey nemi alınmış ve örnekler hassas terazide tartıldıktan sonra tekrar şişme ortamına konulmuştur. Bu işlemler, hidrojel denge şişmesine ulaşana kadar sürdürülmüştür. Her bir hidrojele ait denge şişme oranları (EWC), gravimetrik tayin yöntemi ile kuru ağırlık temel alınarak, Eşitlik 3.1 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$EWC (\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (3.1.)$$

Bu eşitlikte W_0 hidrojin kuru ağırlığı, W_t ise dengedeki yağ ağırlığıdır.

Her bir hidrojel için zamana karşı % denge su içerikleri grafiğe geçirilmiştir. Hesaplanan denge su içerikleri \pm standart sapma değerleriyle birlikte verilmiştir. Hidrojeller ile dinamik şişme çalışmaları gerçekleştirildikten sonra, doku genişletici olarak en uygun şişme profili gösteren hidrojel sistemi ile diğer karakterizasyon aşamalarına geçilmiştir.

Uygun doku genişletici olduğu düşünülen hidrojel sistemi ile şişmenin tersinir olup olmadığının belirlenebilmesi için tekrarlı şişme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Hidrojeller denge şişme değerine ulaşana kadar şişirilmiş ve ardından vakum etüvünde kurutulmuştur. Kurutulan hidrojel sabit tartıma geldikten sonra tekrar şişme ortamına bırakılmıştır. Bu işlem aynı hidrojel örneği üzerinden ardarda 3 kez tekrarlanmıştır.

3.4.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile morfolojik analiz

Çalışma kapsamında hazırlanan polimerik hidrojel ve kılıf üzerindeki deliğin kapatıldığı PCL-AMX matrisin yüzey yapısı ve morfolojileri taramalı elektron mikroskobu (Zeiss Evo 50, Germany) ile incelenmiştir. Analiz öncesi örnekler altın ile kaplanarak iletken hale getirilmiştir.

3.4.3. Termal gravimetrik analiz (TGA)

Çalışmada kullanılan gliserinli ve gliserinsiz p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerin termal davranışları termogravimetrik analiz cihazı (TGA/DTA 6300, SII EXSTAR 6000, Seiko Instruments Inc., ABD) kullanılarak 25-600°C sıcaklık aralığında, N₂ atmosferinde 10°C/dk ısıtma hızı ile incelenmiştir.

3.4.4. FTIR analizi

Sentezlenen p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin molekül yapısı FTIR (Fourier Transform Infrared) spektrofotometresi (Thermo Scientific, Nicolet 6700, ABD) ile 400-4000 cm⁻¹ dalga boyu aralığında incelenmiştir.

3.4.5. Mekanik analiz

Doku genişletici hidrojel ve silikon kılıfın mekanik dayanıklılıklarının ve yük altındaki dayanımlarının belirlenmesi için mekanik dayanım testleri yapılmıştır. Hidrojeller üzerinde basma testi ve silikon kılıf üzerinde çekme testi gerçekleştirilmiştir.

3.4.5.1. Sıkıştırma testi (basma testi)

Çalışmada kullanılan gliserinli p(AAm-ko-HEMA) ve p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerin mekanik dayanımları, mekanik test cihazı (Zwick/Roell Z250, Almanya) ile belirlenmiştir. Hidrojeller denge şişme halindeyken sıkıştırma testinde (basma testi), şişmiş formdaki hidrojellere (7 mm çap, 9 mm uzunluk) oda sıcaklığında 2 mm/dk hızla yük uygulanmıştır ve test hidrojel parçalanana kadar devam ettirilmiştir.

3.4.5.2. Çekme testi

Silikon kılıf çekme makinesine bağlanarak çekme kuvvetine maruz bırakılmıştır. Kılıflara etki eden kuvvet, numune koparılanaya kadar artırılmıştır. Bu esnada, etki eden kuvvet ve test numunesinde meydana gelen uzama sistem tarafından sürekli olarak kaydedilmiştir. Mekanik test sonucu, malzemenin gerilim-gerinim eğrileri elde edilmiş ve eğrilerin doğrusal bölgesindeki eğim yardımıyla elastik modülleri (E) hesaplanmıştır. Medikal kalitede 18 mm'lik silikon kılıflara, 5 mm/dk çekme hızı uygulanarak silikonların mekanik özellikleri belirlenmiştir.

3.5. PCL Nanofiberlerden AMX'in *In-vitro* Salım Çalışması

Elektroeğirme yöntemi ile %3 ve %5 (kütlece) amoksisilin yüklü PCL-AMX nanofiber matrislerden salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Toplama süreleri 40 dk ve 80 dk, kalınlıkları ise sırasıyla 40-50 µm ve 90-100 µm olan PCL-AMX nanofiber matrislerden AMX'in salım karakteristiği belirlenmiştir. Bu amaçla matrislerin orta kısımlarından makas yardımı ile istenilen ebatlarda örnekler alınmıştır. Kesilen matrisler alüminyum folyo yüzeyinden dikkatle kaldırılmış ve daha sonra hassas terazide ağırlıkları belirlenmiş ve deney ortamına konulmuştur. *In-vitro* salım çalışması 2 şekilde gerçekleştirilmiştir.

1. 4 cm²lik PCL matrislerden AMX salımı
2. Hidrojel içeren silikon kılıflar üzerindeki deliklere 5 mm x 5 mm boyutlarında silikon yapıştırıcı ile yapıştırılmış PCL-AMX matrislerden AMX salımı.

In-vitro salım çalışması, 37°C sabit sıcaklıkta termostatlı çalkalayıcı (Memmert, Almanya) içerisinde ve 70 rpm hızda gerçekleştirilmiştir. PCL-AMX nanofiberler, 25 mL'lik PBS (pH:7.4) ortamı içeren ağız rodajlı erlenlere yerleştirilmiş ve salım çalışması başlatılmıştır. PBS ortamındaki kümülatif salım, Nanodrop cihazı (Thermo Scientific, ABD) ile 229 nm'de (UV) tayin edilmiştir. Mikrobiyal kontaminasyonu önlemek amacıyla, salım ortamına sodyum azid (% 0.09 ağırlık / hacim) eklenmiştir. Çalışma kapsamında elektroçirme yöntemiyle elde edilen PCL-AMX nanofiber grupları ve her birine ait matris kalınlıkları Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3.5. PCL-AMX nanofiber matris grupları ve her birine ait matris kalınlığı.

Grup No	PCL Nanofiberlerin özellikleri	PCL-AMX matris kalınlığı
1 (A)	%3 AMX/40 dk elektroçirme işlemi	40-50 µm
1 (B)	Kılıf üzerine yapıştırılmış PCL-AMX nanofiber, %3 AMX/40 dk elektroçirme	
2 (A)	%3 AMX / 80 dk elektroçirme işlemi	90-100 µm
2 (B)	Kılıf üzerine yapıştırılmış PCL-AMX nanofiber, %5 AMX/80 dk elektroçirme	
3 (A)	%5 AMX/40 dk elektroçirme işlemi	50-60 µm
3 (B)	Kılıf üzerine yapıştırılmış PCL-AMX nanofiber, %5 AMX/40 dk elektroçirme	
4 (A)	%5 AMX/80 dk elektroçirme işlemi	90-100 µm
4 (B)	Kılıf üzerine yapıştırılmış PCL-AMX nanofiber, %5 AMX/80 dk elektroçirme	

Salım süresince belirli aralıklarda salım ortamından 2.5 mL numune alınarak NanoDrop cihazıyla ilaç salım miktarları tayin edilmiştir. Ayrıca alınan numuneye eşit hacimde taze sodyum azidli fosfat tampon çözeltisi (PBS) beherlere eklenerek sürücü güç olan konsantrasyon farklı sabit tutulmaya çalışılmıştır. İlaç miktarını belirlemek amacıyla, PBS içerisinde farklı konsantrasyonlarda AMX çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Ardından bu grafik kullanılarak, salınan AMX'e ait derişim değerleri belirlenmiştir. Salım çalışmaları her bir PCL-

AMX matris için 3 paralel örnek üzerinden yürütülmüştür. Salınan ilaç miktarı, ilk 6 sa boyunca birer saat aralıklarda izlenmiş ve salım 25 gün boyunca sürdürülmüştür.

3.6. Antimikrobiyal Çalışmalar

Amoksisilin salımının antibakteriyel etkinliği Refik Saydam Ulusal Tıp Kültür Koleksiyonu'ndan (RSKK) temin edilen gram pozitif bakteri *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923, gram pozitif, fakültatif anaerob) ve gram negatif bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 25922, gram negatif, fakültatif anaerob) standart bakteri suşları ile belirlenmiştir. Antibakteriyel etkinliğin belirlenmesinde %5 (kütlece) amoksisilin içeren PCL matrisler (2 cm x 2cm ve 5 mm x 5 mm boyutlarında) ve kontrol grubu oluşturmak amacıyla aynı boyutlarda PCL matrisler kullanılmıştır. Ayrıca ticari ürün olarak satın alınan amoksisilin diskin (5 µg/ 6mm disk, Bioanalyse, Türkiye) de antibakteriyel etkinliği incelenmiştir. Pozitif kontrol grupları oluşturmak amacıyla ampisilin (10 mg/6 mm disk BD, ABD), Vankomisin (30 mg/6 mm disk BD, ABD), *Carbenicilin* (30 mg/6 mm disk BD, ABD), Kanamycin (30 mg/6 mm disk BD, ABD), amoksisilin (30 mg/6 mm disk BD, ABD) ve Kanamycin (10 mg/6 mm disk BD, ABD) standart antibiyotiklerinin bakteri suşları üzerindeki antibakteriyel etkinliği incelenmiştir. Deneylerde, disk difüzyon test yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemle göre suşlar nutrient brass ortamında 37°C'de 12 saat çoğaltıldıktan sonra *S. aureus* ve *E. coli* Muller Hilton agara Mc Farland 0.5'e eşit olacak "Wickerham card" yardımıyla inoküle edilmiş ve mikroorganizma konsantrasyonu belirlenmiştir. Ekilecek olan bakteri miktarı fotometre (BD, ABD) ile ölçülmüştür. Deneyler, 3 paralel örnekle gerçekleştirilmiştir. İnhibisyon çapları CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) kurallarına göre inhibisyon zonu ölçümleri alınarak belirlenmiş ve mm cinsinden kaydedilmiştir.

4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR

Bu bölümde, ağız-çene cerrahisinde kullanılması amaçlanan doku genişletici sistemin manipülasyonu ve bu malzemenin ticari ürün haline getirilmesine yönelik olarak yapılan çalışmalar sunulmuştur. Bu amaçla, gliserin içeren ve içermeyen p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin üretimi ve karakterizasyonuna ait sonuçlar sunulmuştur. Devam eden bölümlerde, hidrojellere ait dinamik şişme çalışmaları, amoksisilin yüklü PCL matrislerden salım ve salım kinetiği analizlerinin sonuçları tartışılmış ve bu matrislerin antibakteriyel özelliklerine ait sonuçlar verilmiştir. Deneysel sonuçlara ait bulgular, literatürdeki bulgular ışığında değerlendirilmiştir.

4.1. Doku Genişletici Hidrojellerin Sentezi

Doku genişletme amacı ile grubumuz tarafından gerçekleştirilen bir önceki çalışmada p(AAm-ko-HEMA) hidrojel sentezlenmiştir [7]. Bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında uygun biyomalzeme tasarımlarının yapılması amaçlanmıştır. Tezde sunulan yeni doku genişletici sisteminin mevcut doku genişletme amaçlı olarak kullanılan ticari hidrojel sistemlere [75] bir alternatif olacağı düşünülmektedir. Sentezlenen hidrojel sistemleri oldukça küçük ebatlarda, şişme hızları daha düşük, ancak şişme kapasitesi yüksek olacak şekilde üretilmiştir. Gliserinle muamele edilen ve edilmeyen hidrojel sistemleri ile dinamik şişme çalışmaları ve diğer karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar kapsamında hidrojel doku genişletici sistemi üretilmiş ve elde edilen bulgular üzerine gerekli tartışmalar yapılmıştır.

4.1.1. Ticari doku genişletici hidrojel (Osmed®): sentezi, karakteristik özellikleri ve dezavantajları

Kliniklerde ticari olarak kullanılan Osmed®; ağız, yüz ve çene cerrahisinde sıklıkla tercih edilen ve şişebilen polimerik hidrojellerden üretilmiş bir implanttır. Metil metakrilat-N-vinilpirolidon monomerlerinin kopolimerizasyonu ve çapraz bağlanması ile hazırlanmaktadır. Malzeme, şişme hızının düşürülmesi amacıyla silikon bir kılıf içerisine yerleştirilmiş ve üzerinde küçük bir delik açılarak daha kontrollü bir şişme davranışı göstermesi hedeflenmiştir. Silikon kılıflı Osmed®'in denge su içeriği, kılıfın etkisiyle % 450'den %150'ye düşmektedir. Osmed® doku genişleticilerinin klinik kullanımında bazı dezavantajlar bulunmaktadır [7]. Malzemenin boyutları yeterince küçük değildir ve uygulamada zorluklar yaşanmaktadır. Hidrojel doku altına yerleştirildiği andan itibaren şişmeye başlar ve

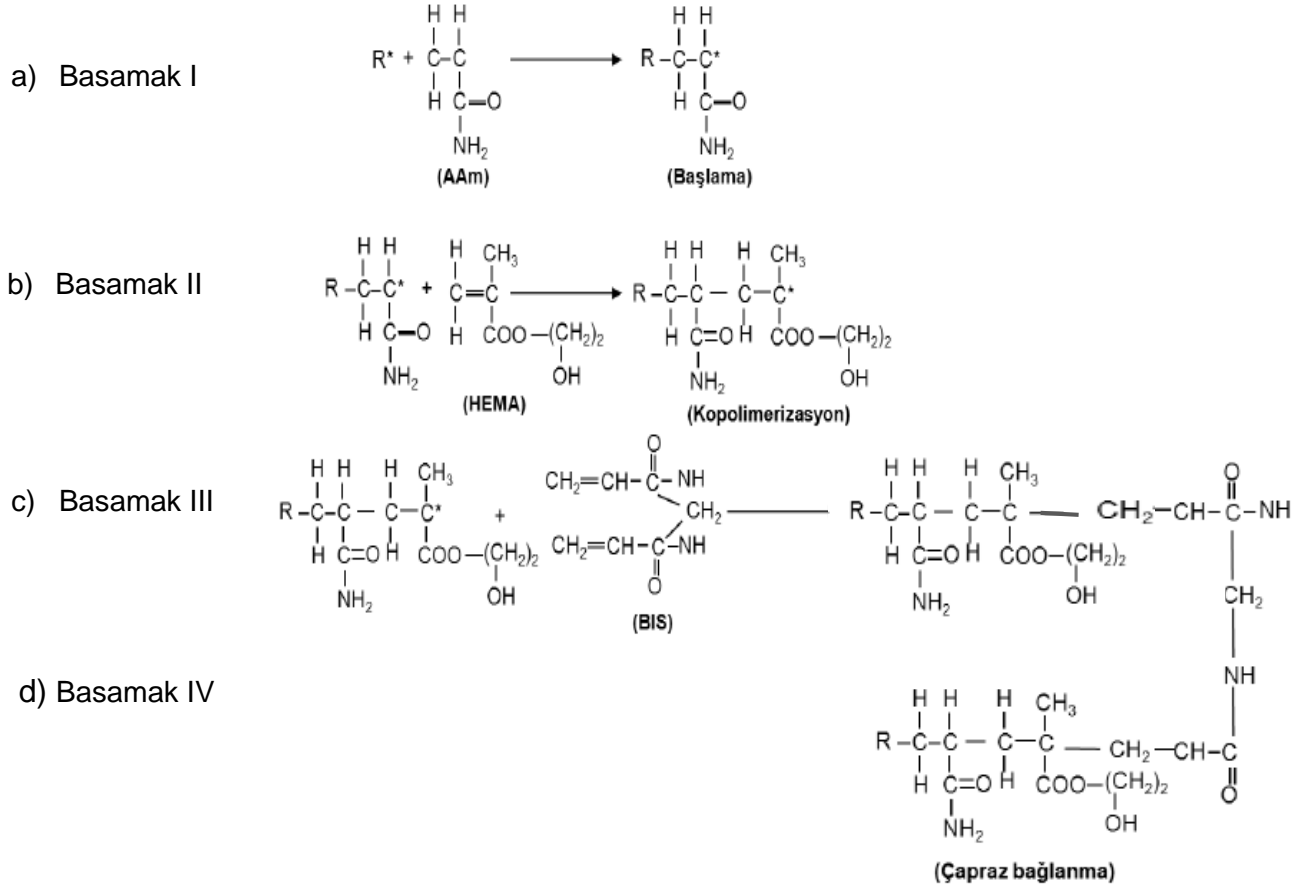
takiben buradaki dikişlere zarar verir. Bu hidrojinin şişme kapasitesi doku genişletme için yetersizdir ve uygulama aşamasında enfeksiyon ihtimali bulunmaktadır. Ayrıca, şişme davranışının tersinir bir özelliğe sahip olmadığı da görülmüştür. Grubumuz tarafından gerçekleştirilen bir önceki çalışmada bu sorunların bir kısmı yeni geliştirilen hidrojel sistem ile giderilmiştir. Sunulan tez çalışması kapsamında ise bu çalışmalar biraz daha ileriye götürülmüş ve daha üstün özelliklere sahip bir doku genişletici geliştirilmiştir.

4.1.2. P(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin sentezi

Akrilamid (AAm) ve 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), hidroksil ve amid gruplarını içeren hidrofilik monomerlerdir. HEMA ve AAm esaslı hidrojeller kolaylıkla sentezlenirler, mekanik dayanımları yüksektir, vücut tarafından absorplanmaz ve ayrıca medikal alanda çok tercih edilen hidrojellerdendir [109]. Bu çalışmadaki yumuşak doku genişletici sistemi, AAm ve HEMA monomerleri kullanılarak hidrojel yapıda üretilmiştir. P(AAm-ko-HEMA) hidrojelleri, AAm/HEMA oranı molce % 94.5/5.5 olacak şekilde hazırlanmıştır. APS/TEMED serbest radikal başlatıcı çifti, AAm ve HEMA monomerlerinin ve belli oranda BIS çarpaz bağlayıcısının yapısındaki çift bağlara etki ederek polimerizasyonu tetikler. Ardından çift bağlar açılır, monomerler kovalent olarak birbirlerine bağlanarak uzun alifatik bir zincir oluşur ve son olarak oluşan alifatik zincirler çarpaz bağlayıcı ile bağlanır. Polimer ana zincirleri arasındaki çarpaz bağlanma yoğunluğu, çarpaz bağlayıcının konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir. Ayrıca, çarpaz bağlayıcı miktarı polimerin şişme oranını da etkilemektedir. Çarpaz bağlayıcı miktarının artması ile iki polimer zinciri birbirine daha güçlü tutunacak, yapılar arasındaki boşluklar azalacaktır. Buna bağlı olarak şişme oranı da azalacaktır.

Sentez mekanizması

Şekil 4.1'de, p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerine ait serbest radikalik polimerizasyon mekanizması şematize edilmiştir.



Şekil 4.1. p(AAm-ko-HEMA) hidrojenlerine ait serbest radikal polimerizasyon mekanizması (a,b,c,d).

4.1.3. P(AAm-ko-HEMA) hidrojenlerinin gliserinle muamelesi

Sentezlenen hidrojenler, farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde gliserin çözeltisinde bekletilerek, gliserinin hidrojenler üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmada sentezlenen hidrojenlerde gözenek olup olmaması ve tamamen homojen hidrojen yapısı elde edilmesi, yumuşak doku genişletici sistemlerinin doğrudan şişme kapasitesini etkilediği için önemlidir. Bu nedenle, örneklerin morfolojik (SEM) incelemeleri yapılmış ve sentez için en uygun bileşen miktarları belirlenmiştir. SEM fotoğrafları hidrojenlerin gözeneksiz, tamamen homojen morfolojiye sahip olduğunu göstermiştir.

P(AAm-ko-HEMA) ve gliserinle muamele edilmiş P(AAm-ko-HEMA) hidrojenlerin sentez aşamaları şematik olarak EK-1'de verilmektedir.

4.1.3.1. Gliserinin p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin üzerindeki etkisi

Hidrojeller, sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle tıbbi uygulamalar açısından oldukça dikkat çeken malzemelerdir. Yüksek biyouyumluluğu, fiziksel, kimyasal yapıları ve sahip oldukları yüksek su içeriği nedeniyle, doğal doku ile çok benzer bir esneklik derecesine sahiptir. Fakat yapısına su absorbe etmemiş hidrojel aslında camsı ve sert yapıya sahip olması nedeniyle manipülasyonu zordur ve operasyon sırasında implantı yerleştirirken dokuya zarar verebilir. Çalışmada bu dezavantajları ortadan kaldırmak amacıyla hidrojeller sentez aşamasından sonra %70'lik gliserin çözeltisinde bekletilmiştir. Bunun için p(AAm-ko-HEMA) hidrojelleri sırasıyla 20 dk, 40 dk, 2 sa ve 6 sa gliserin çözeltisinde bekletilmiş ve hidrojellerin şişme davranışları denge şişme oranına gelinceye kadar incelenmiştir. Şişmeye bağlı olarak hidrojellerin ağırlık ve boyutlarındaki değişimler Çizelge 4.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. Hidrojellerin şişmeye bağlı gravimetrik ve boyutsal değişimleri.

Hidrojinlin türü	Şişme öncesi			Şişme sonrası		
	Kütle (g)	Çap (mm)	Uzunluk (mm)	Kütle (g)	Çap (mm)	Uzunluk (mm)
P(AAm-ko-HEMA)	0.07	2	10	0.5	7	20.0
gliserinli P(AAm-ko-HEMA)/20 dk	0.08	3	10	0.41	7	19.5
gliserinli P(AAm-ko-HEMA)/40 dk	0.10	3	10	0.47	7	20.0
gliserinli P(AAm-ko-HEMA)/2 sa	0.13	3	10	0.46	7	19.0
gliserinli P(AAm-ko-HEMA)/6 sa	0.12	3	10	0.45	6.5	19.5

Gliserinli P(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin şişme öncesi ve sonrası ağırlıkları dikkate alındığında, en yavaş şişme, 40 dk gliserin çözeltisinde bekletilen hidrojellerde gözlenmiştir. Dolayısıyla, üretilen hidrojellerin % 70'lik (hacimce) gliserin çözeltisinde 40 dk bekletilmesine karar verilmiştir. Buradaki ana amaç, gliserin miktarını ayarlayarak, elde edilen hidrojellerin şişme kapasitelerini kaybetmeden tamamen şekil hafızalı, manipülasyonu kolay ve daha esnek bir jel yapısı elde etmektir. Şekil 4.2'de gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli gösterilmiştir.



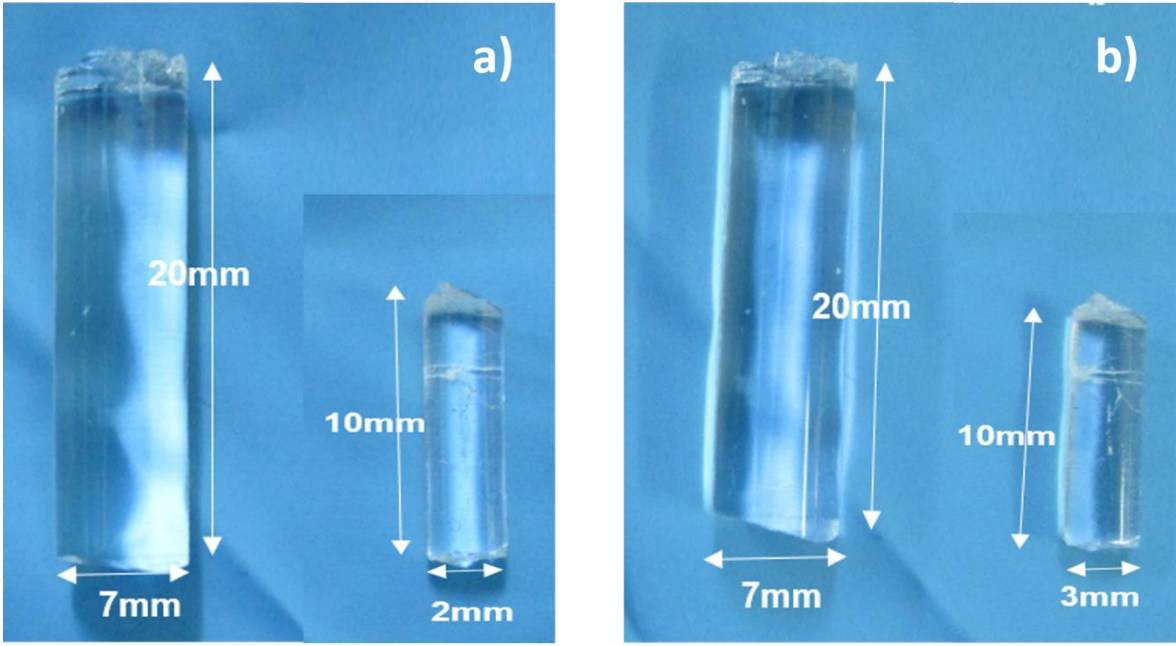
Şekil 4.2. Gliserinli P(AAm-ko-HEMA) hidrojelinin görüntüsü.

4.1.4. Yıkama işlemleri

Polimerizasyon işlemlerinin sonunda elde edilen silindirik hidrojellerin yapılarında bulunan yüksek miktardaki organik bileşikler, polimer zincirine bağlanmadan ortamda serbest kalabilmektedir ve bu bileşiklerin sitotoksik etkilere neden olduğu bilinmektedir. Özellikle polimerize olmamış malzemeler, polimerize olmuş malzemelere oranla daha fazla sitotoksiktir [89]. Dolayısıyla reaksiyona girmemiş bileşiklerin uzaklaştırılması önem taşımaktadır ve bu bileşikler yıkama işlemleri ile uzaklaştırılabilmektedir. Bu nedenle hidrojeller, çalkalayıcı ortamında distile su içerisinde ve bu suyun günde 2-3 kez değiştirilmesiyle üç gün boyunca yıkanmıştır.

4.1.5. Kurutma işlemleri

Yıkama işleminin ardından yapılan kurutma işlemi sırasında, su hidrojel yapının içerisinde buharlaşır ve yüzey gerilimi geçici bir şekilde jelin büzülmesine neden olur. Kurutma işlemi, 37°C'de, hidrojeller sabit tartıma gelene kadar devam ettirilmiştir. Şekil 4.3'te vakumda kurutulmuş gliserinli ve gliserin içermeyen hidrojellerin kuru ve şişmiş halleri gösterilmiştir.



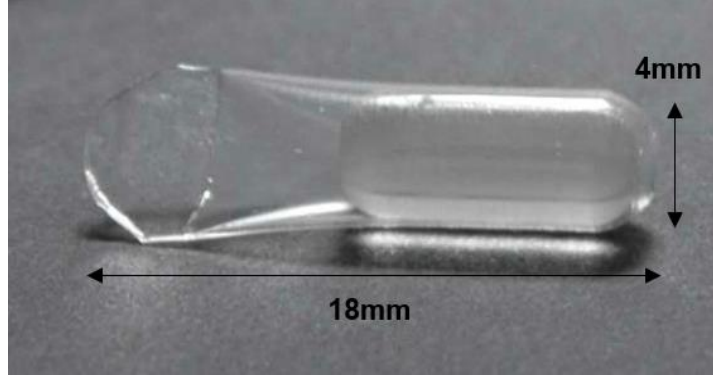
Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan hidrojellerin genel görüntüsü; a) p(AAm-ko-HEMA) hidroveli, b) gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidroveli; hidrojellerin kurutmadan önceki (sol) ve vakumda kurutulduktan sonraki görüntüleri (sağ).

4.2. Şişme Hızının Kontrol Altına Alınması ile ilgili Sonuçlar

Bu bölümde hidrojellerin şişme hızının kontrol altına alınması için uygulanan kaplama çalışmaları ve hidrojellerin kılıflanması ile ilgili sonuçlar iki başlık halinde verilmiştir.

4.2.1. Kılıflama çalışmaları ile ilgili sonuçlar

Hidrojeller sıvı ortama yerleştirildikten hemen sonra sıvı ozmotik basınç yoluyla jel yapılarına nüfuz eder. Sıvı ile temas halinde olan jel yapısı, kendi şişme dengesine ulaşana kadar şişmeye devam eder. Sıvının hidrojel içerisine difüzyonu kılıf vasıtasıyla engellenerek şişme yavaşlatılabilmektedir. Böylece şişme kontrollü bir sistem elde edilebilmektedir. Bu çalışmada, hidrojellerin şişme hızının kontrol altına alınması kılıflama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bunun için medikal kalitede silikondan 18 mm uzunluğunda kılıflar üretilmiştir. Hidrojel bu kılıfların içerisine konulduktan sonra, kılıf ucundaki 5 mm'lik bölüm silikon yapıştırıcı ile yapıştırılmıştır. Şekil 4.4'te silikon kılıf içerisine konulmuş hidrojel gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Silikon kılıf içerisinde konulmuş p(AAm-ko-HEMA) hidrojelinin görüntüsü.

Bu çalışmada kullanılan medikal kullanıma uygun silikon kılıf, doku genişletici sisteminin bir parçası ve vücut ile doğrudan temas halinde olacağından, kılıfın biyouyumluluğu büyük önem taşımaktadır. Silikon; kontakt lensler, kan damarları, parmak eklemleri, kalp kapakçıkları gibi pek çok tıbbi uygulama alanına sahiptir [108]. Ayrıca silikon yüksek oranda elastik bir malzemedir. Silikonun elastik özelliği, içine yerleştirilen hidrojelın şişmesine olanak sağlayabilmektedir. Bu avantajlar nedeniyle, doku genişletici olarak silikon kılıfların kullanımı tercih edilmiştir.

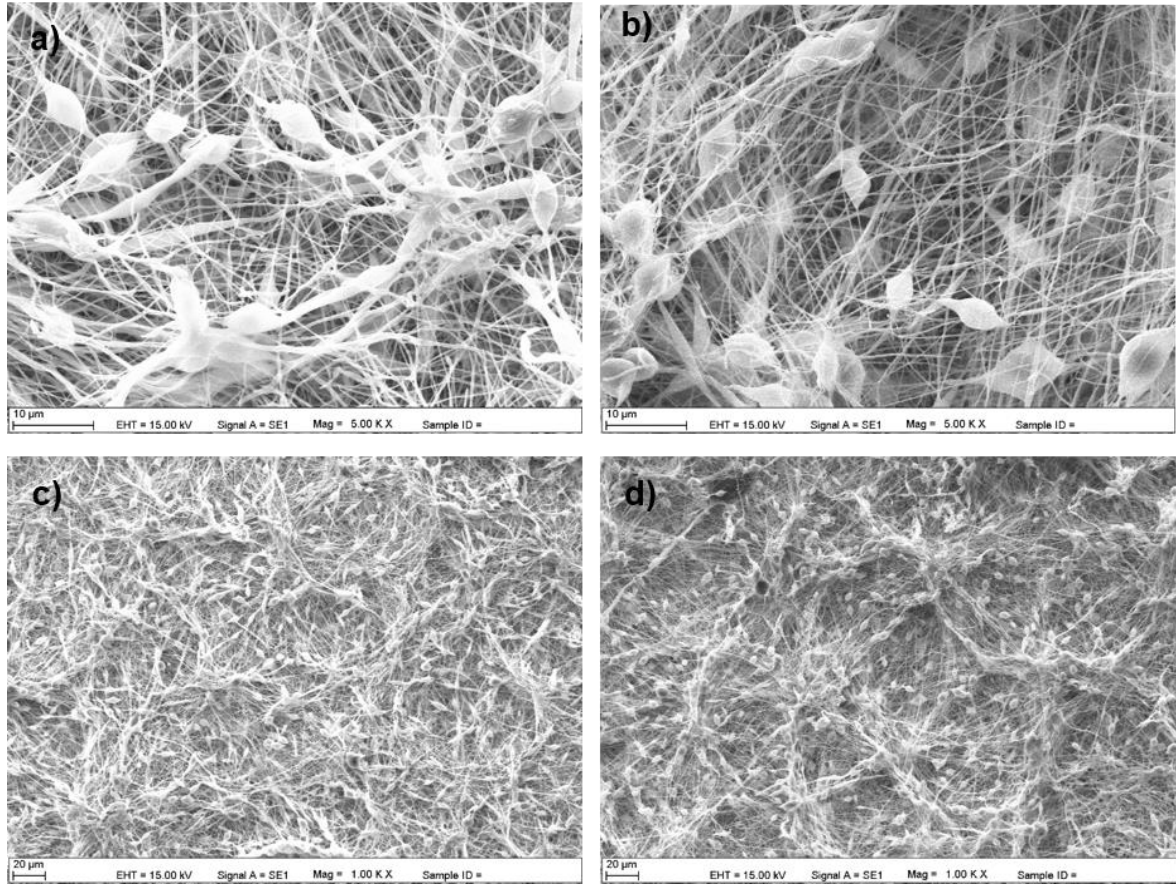
4.3. PCL ve PCL-AMX Nanofiberlerin Üretimi ve Karakterizasyonu

Bu çalışmada, çok yönlülüğü, kullanım kolaylığı ve uygun maliyeti nedeniyle elektroçirime tekniği kullanılarak ilaç yüklü ve ilaç içermeyen PCL nanofiber matrislerin üretimi amaçlanmıştır. Hazırlanan PCL bazlı nanofibröz matrisler silikon kılıf üzerinde açılan deliği kapatılması amacıyla kullanılmıştır. PCL matrisin gözenekliliği ve biyobozunmasına bağlı olarak delikten su difüzyon hızı ayarlanabilmekte ve böylelikle hidrojelın şişme hızı istenilen değerlerde tutulabilmektedir. Ayrıca matrise antibiyotik yüklenerek matrisin kontrollü ilaç salım özelliğinden yararlanılmakta ve hasarlı bölgede antibakteriyel etki sağlanmaktadır. Üretilen nanofibröz matrisin morfolojik yapısı taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir.

Matrislerin üretiminde kullanılan elektroçirime tekniğinin en büyük zorluklarından biri fiber üretim koşullarının optimizasyonudur. Uygulanan voltaj, akış hızı, şırınga ucu-toplayıcı arasındaki mesafe, polimer derişimi ve polimer çözeltisinin iletkenliği gibi parametreler, elektroçirime tekniği ile elde edilen fiberlerin fiziksel yapısında önemli değişimlere neden olmaktadır. Boncuk oluşumunu engellemek amacıyla, başlangıçta jet kararlı hale gelene kadar, toplayıcı ile şırınga arasında toplayıcı ile

çok yakın mesafede bir perde görevi görecek harici bir yüzey kullanılmıştır. Bu yüzey sisteme hızlı bir şekilde dahil edilip yine hızlı bir şekilde çekilerek fiber toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. PCL-AMX nanofiberlerin eldesi için öncelikle dimetil formamid/diklorometan DMF/DCM (50/50, hacimce) içerisinde %12'lik PCL (ağırlık/hacim) çözeltileri kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

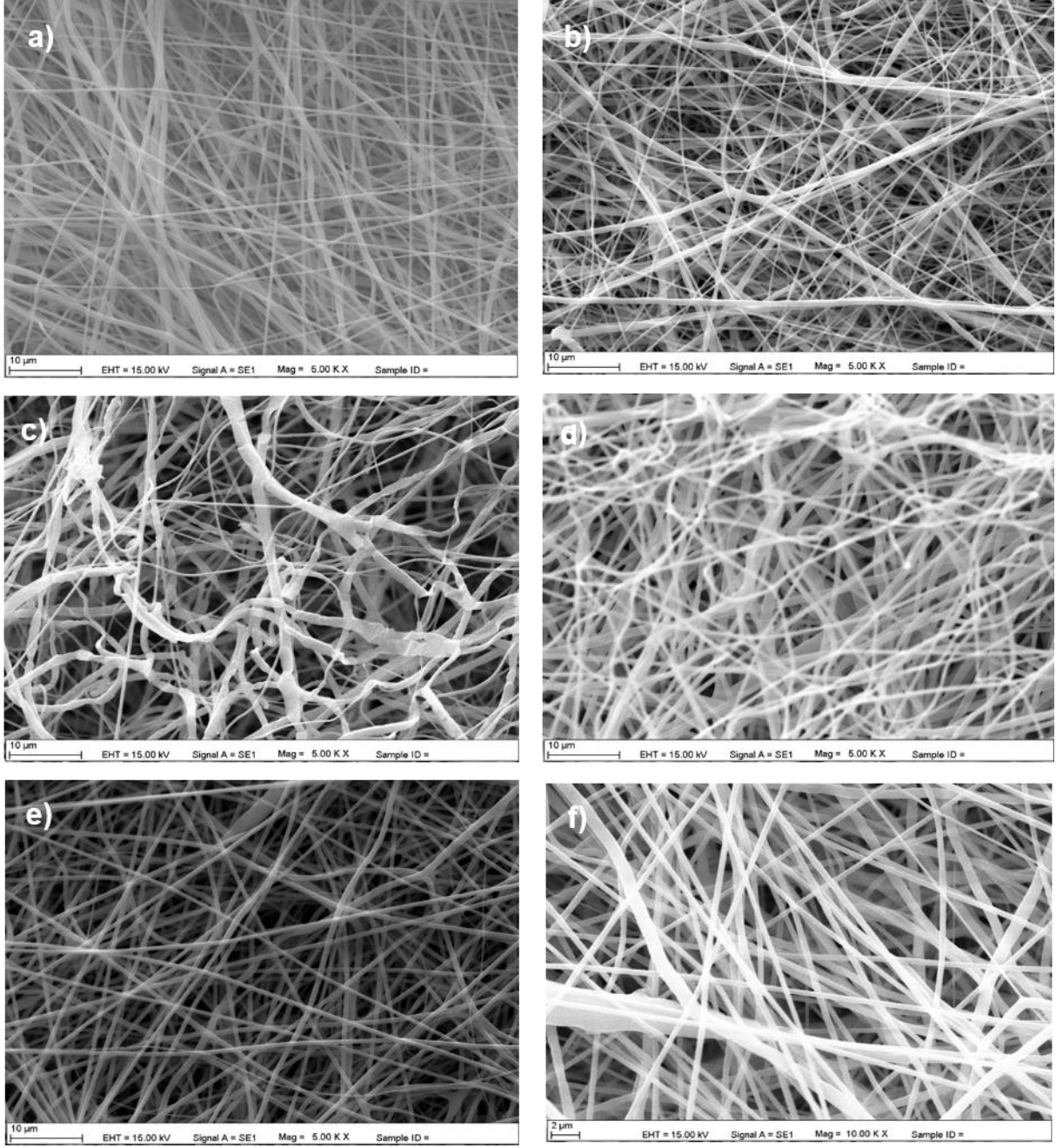
DMF/DCM çözeltisi kullanılarak, elektroçermeye üretilen nanofiber matrislerin yapısında boncuk oluşumu gözlenmiştir (Şekil. 4.5).



Şekil 4.5. Soldan sağa %12 PCL (w/v, DMF/DCM, 50/50) çözeltisinden %3 ve %5 AMX konsantrasyonlarında 40 dk ve 80 dk toplama süresinde elde edilen PCL-AMX fiberlerin SEM görüntüleri a) 5 Kx (40 dk, %5 AMX), b) 5 Kx (80 dk, %5 AMX), c) 1 Kx (40 dk, %3 AMX) ve d) 1Kx (80 dk, %3 AMX).

Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda, nanofiber matrislerin üretimi için çalışmalarda, PCL ve AMX için ortak çözücü olan HFIP çözücüsü ile devam edilmesine karar verilmiştir. HFIP'nin, hidroksil gruplara sahip AMX ile etkileşimini olanaklı kılan güçlü hidrojen bağlama özelliğinin olduğu bilinmektedir [109].

Gelişigüzel düzendeki fiberlerin üretilmesi amacıyla Çizelge 3.3.a'da belirtilen koşullar kullanılmıştır. HFIP içerisinde hazırlanan %11'lik PCL (ağırlık/hacim) çözeltisi ile 27.5 kV voltaj değerinde, 35 cm toplayıcı mesafesinde ve 2 mL/sa akış hızında yapılan çalışmalarda elde edilen fiberlerin düzgün yapıya sahip oldukları, fiber yapılarda devamsızlık ve boncuk oluşmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.6). Hazırlanan ilaçsız PCL nanofiber matrislerin, farklı sürelerde (40 dk, 80 dk) elektroöğirmeye bağlı olarak farklı kalınlıklarda oluştukları belirlenmiştir. Çizelge 4.2'de AMX varlığında elektroöğrilen nanofiber matris kalınlıklarıyla, ilaçsız nanofiber matris kalınlıkları karşılaştırılmıştır. Fiber toplama süresinin artışıyla tüm bileşimlerde matris kalınlıkları artmıştır. Şekil 4.6'da verilen SEM görüntüleri incelendiğinde nanofiberlerin gelişigüzel düzenlenmiş halde oldukları görülmektedir. Fiberlerin çapları nm olarak Çizelge 4.2'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ilacın varlığı fiber morfolojisini bir miktar etkilemiştir. Bu sonuç, belirtilen konsantrasyondaki ilacın çözeltiliye ilavesi sonucunda elektroöğirme için kritik viskozite değerinin değişmesiyle bağdaştırılabilir.



Şekil 4.6. PCL ve PCL-AMX nanofiberlerin 40 dk ve 80 dk'lık elektroöğirme işleminden sonraki SEM görüntüleri; a) %3 AMX/40 dk (5 Kx), b) %3 AMX/80 dk (5 Kx), c) %5 AMX/40 dk (5 Kx), d) %5 AMX/80 dk (5 Kx), e) 40 dk elektroöğirme (5 Kx) ve f) 80 dk elektroöğirme (5 Kx).

Çizelge 4.2. 40 ve 80 dk elektroçirime sonunda elde edilen AMX içeren ve içermeyen PCL nanofiberlere ait ortalama fiber çapları ve matris kalınlıkları.

Nanofiber matris	Fiber çapı (nm)	Matris kalınlığı (µm)
%3 AMX-40 dk	304±108	50-60
%3 AMX-80 dk	240±106	90-100
%5 AMX-40 dk	662±144	55-67
%5 AMX-80 dk	329±119	100-105
İlaç yok-40 dk	431±151	50-65
İlaç yok-80 dk	311±103	90-100

4.4. Yapısal Karakterizasyon Çalışmaları

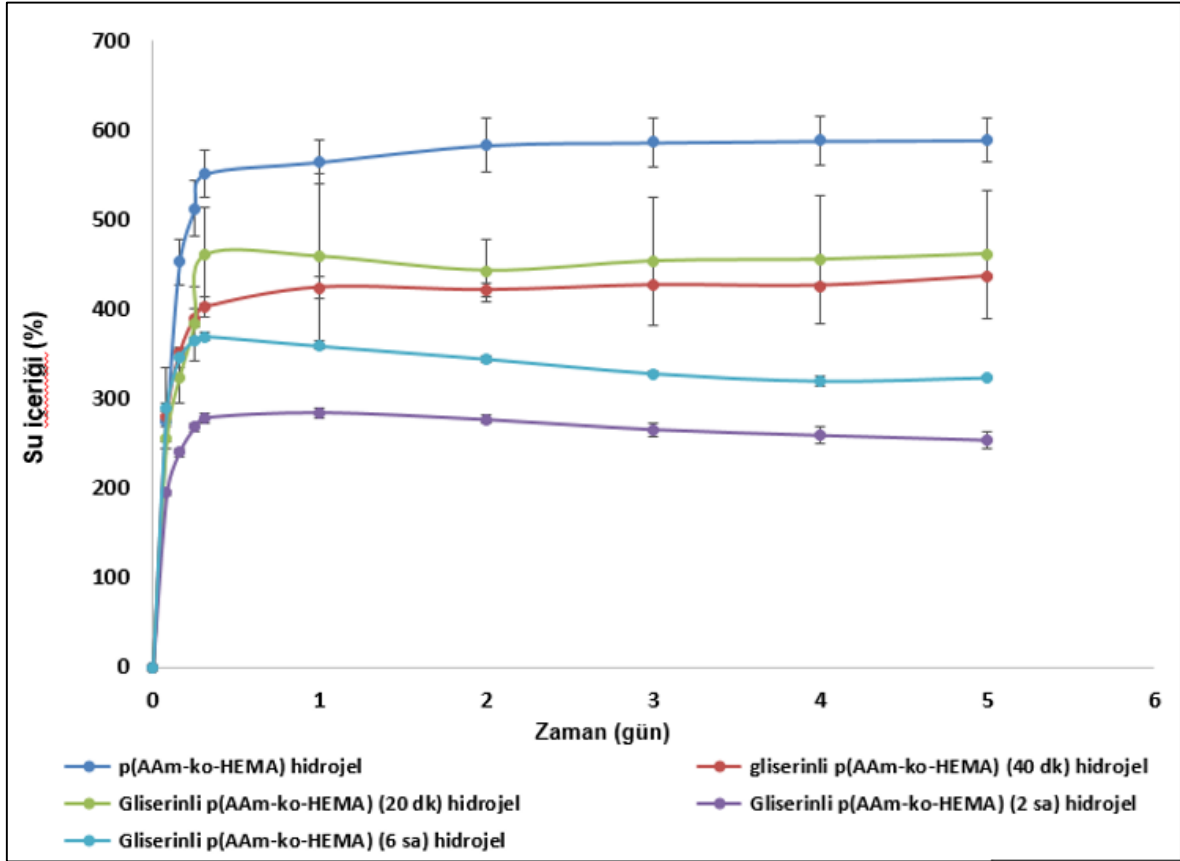
Hidrojeller ile gerçekleştirilen karakterizasyon çalışmaları, şişme çalışmaları ve yapısal karakterizasyon çalışmaları olmak üzere iki ana başlık altında toplanmıştır. Hidrojeller ile öncelikli olarak dinamik şişme çalışmaları gerçekleştirilmiş, daha sonra hidrojel sistemleri ile SEM, TGA ve mekanik testler yürütülmüştür. Karakterizasyon çalışmalarının sonuçları aşağıda tartışılmıştır.

4.4.1. Hidrojellerle yapılan şişme çalışmaları

Hidrojellerin su absorpsiyon kinetiği, dinamik şişme deneyleri ile gravimetrik olarak belirlenmiştir. Şişme deneyleri, silindirik formdaki 2 mm çap ve 10 mm uzunluğa sahip p(AAm-ko-HEMA) hidrojelleri ve 3 mm çap ve 10 mm uzunluğa sahip gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojelleri ile fosfat tampon çözeltisinde (pH:7.4) yürütülmüştür. Vakum etüvünde sabit tartıma gelen kuru örnekler, 25 mL fosfat tampon çözeltisi içeren beherler içerisine daldırılmış ve şişme deneyleri başlatılmıştır. Belirli zaman aralıklarında ortamdan uzaklaştırılan örneklerin şişme değerleri (% su içeriği) kuru ağırlık baz alınarak hesaplanmış ve zamana karşı grafiğe geçirilerek şişme eğrileri elde edilmiştir. Şişme çalışmaları p(AAm-ko-HEMA), gliserinli p(AAm-ko-HEMA) (20 dk, 40 dk, 2 sa, 6 sa), silikon kılıflı p(AAm-ko-HEMA), silikon kılıflı gliserinli p(AAm-ko-HEMA), silikon kılıf üzerindeki deliğin 40 dk elektroçirime uygulanmış PCL matris ile kapatıldığı p(AAm-ko-HEMA), 40 dk elektroçirime uygulanmış PCL matris ile kapatıldığı gliserinli p(AAm-ko-HEMA), 80 dk elektroçirime uygulanmış PCL matris ile kapatıldığı p(AAm-ko-HEMA), 80 dk elektroçirime uygulanmış PCL matris ile kapatıldığı gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojelleriyle yürütülmüştür.

4.4.1.1. Farklı sürelerde gliserin ile muamele edilmiş hidrojellerin şişme özellikleri

Çalışma kapsamında p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojelleri, AAm/HEMA mol oranı % 94.5/5.5 olacak şekilde sentezlenmiştir. Bu hidrojellere ait şişme eğrileri Şekil 4.7’de verilmiştir. Şişme çalışmalarında kullanılan hidrojellerin şişme öncesi ve sonrası boyutları Çizelge 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.7. p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerine ait şişme eğrileri.

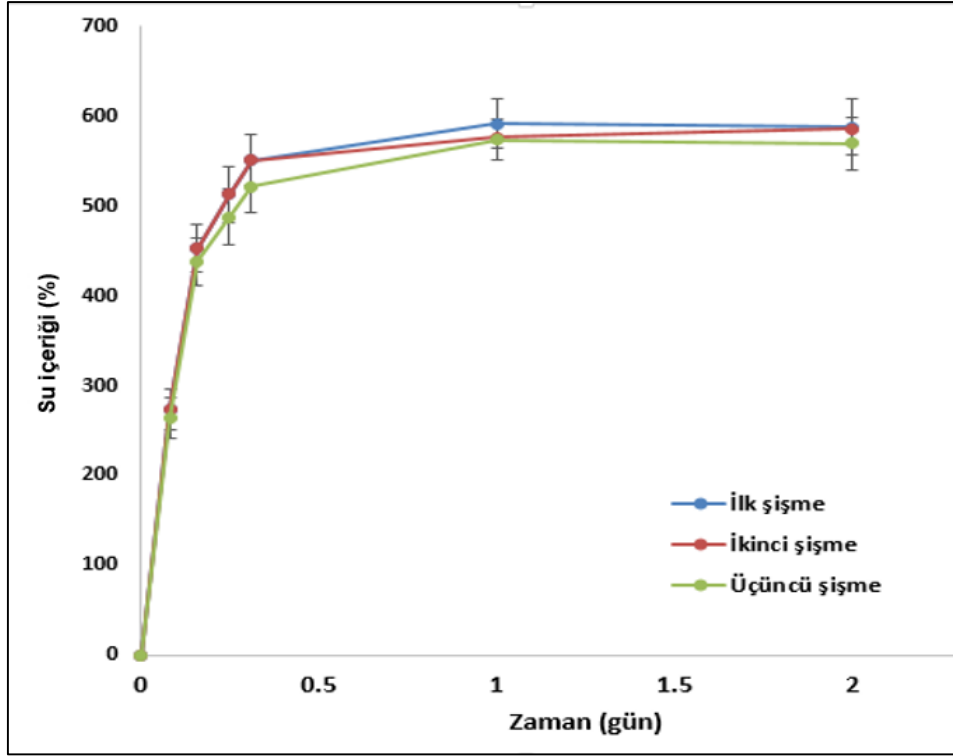
Hidrojellerin denge su içerikleri, Çizelge 4.3’te özetlenmiştir. Şekil 4.7’de görüldüğü gibi şişme başlangınçta hızla artmakla beraber belli bir süre sonra sabit bir değere ulaşmaktadır. Hidrojeller denge şişme değerine yaklaşık bir günde ulaşmaktadırlar. Bu hidrojeller yüksek derecede hidrofilik oluşları nedeniyle suyla temas ettiği anda suyu yapısına hızlı bir şekilde absorplamaktadır. Ancak gliserinin yapıdaki varlığı şişme oranı değerlerini bir miktar azaltmaktadır ki bu da beklenen bir durumdur. Gliserin hidrofobik oluşumunun nedeniyle su ve hidrojelin temasını azaltmaktadır. Hidrojel sulu ortamda konulduktan sonra gliserinin yapıdan çıkmasıyla jel su almaya başlamakta ve hidrojelın şişme kapasitesi artmaktadır.

Çizelge 4.3. Hidrojellerin dinamik şişme deneylerine ait sonuçlar.

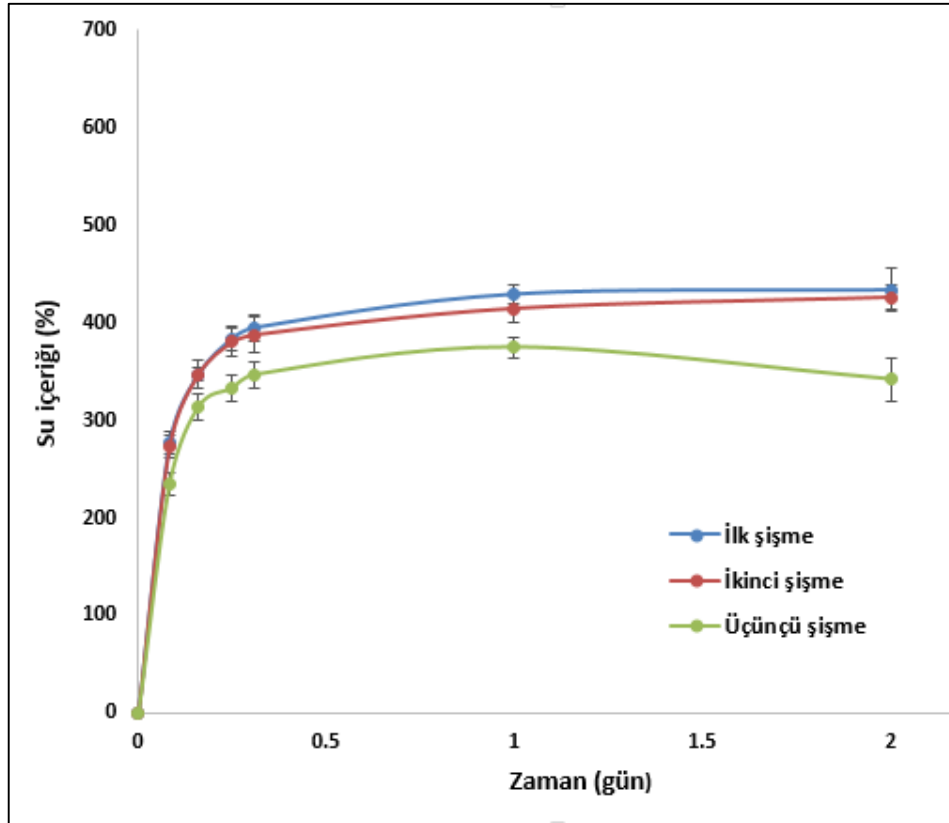
Hidrojinlin türü	Gliserinle muamele süresi	Denge su içeriği (%)
p(AAm-ko-HEMA)	-	587±23
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)	20 dk	461±72
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)	40 dk	440±1
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)	2 sa	253±9
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)	6 sa	323±2

4.4.1.2. Tersinir şişme çalışmaları

Dinamik şişme çalışmalarına ait sonuçlar incelendiğinde, gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin, p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerine benzer şişme profiline sahip oldukları ve doku genişletici olarak kullanılabilecekleri görülmüştür. Buna bağlı olarak, p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin şişme özelliklerinin tersinir olup olmadığının belirlenebilmesi için, bu hidrojeller ile ard arda şişme/kurutma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bunun için, 37°C'de PBS içerisinde şişirilen jeller, denge şişme değerine ulaştıktan sonra, vakum etüvünde 37°C'de sabit tartıma gelinceye kadar kurutularak tekrardan şişme ortamına konulmuşlardır. Her bir hidrojel için bu işlem üçer defa tekrarlanmıştır. Bu çalışmaya ait p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA)/40 dk hidrojellerinin şişme grafikleri Şekil 4.8 ve 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.8. p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerine ait tekrarlı şişme grafiği.



Şekil 4.9. Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)/40 dk hidrojellerine ait tekrarlı şişme grafiği.

Hidrojellerin yapısı gereği, şişme prosesinin tersinir olması ve şişirilip kurutulduktan sonra tekrar tekrar kullanılabilmesi önemlidir. Osmed® hidrojelinin ilk şişirilmedeki denge su içeriği %450 iken, ikinci şişirilme işleminde denge su içeriği %390'a düşmüş, üçüncü şişirilmede ise bu değer %200 olarak ölçülmüştür [7]. Denge su içerikleri arasındaki bu fark, Osmed® hidrojelinin şişme davranışının tersinir bir özelliğe sahip olmadığını göstermektedir. P(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojelinin ise denge su içerikleri arasında anlamlı bir fark görülmemiş ve dolayısıyla bu hidrojellerin şişme özelliklerinin tersinir olduğu gözlenmiştir. Tekrarlı şişme çalışmalarından elde edilen şişme değerleri Çizelge 4.4'te özetlenmiştir.

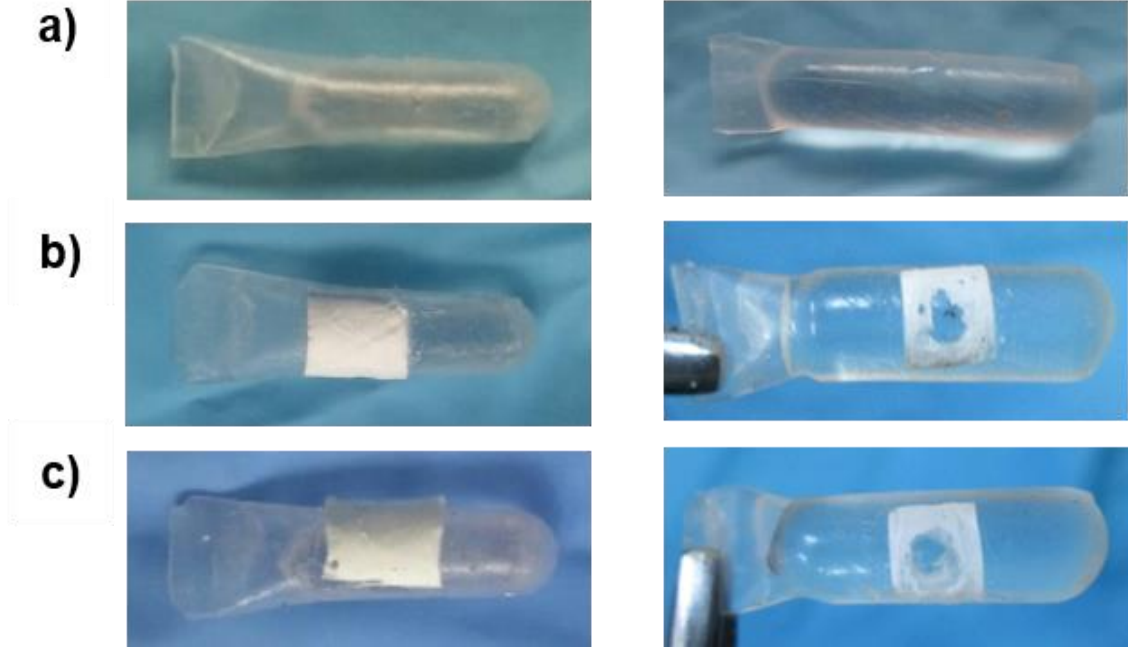
Çizelge 4.4. Tekrarlı şişme analizi sonucunda elde edilen şişme değerleri (PBS, pH:7.4, 37°C).

Hidrojel	Denge su içeriği (%)		
	İlk şişme	İkinci şişme	Üçüncü şişme
p(AAm-ko-HEMA)	587±31	586±29	596±14
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA) (40 dk)	431±6	428±5	344±23

4.4.1.3. Silikon kılıfın hidrojellerin şişme kinetiği üzerine etkisi

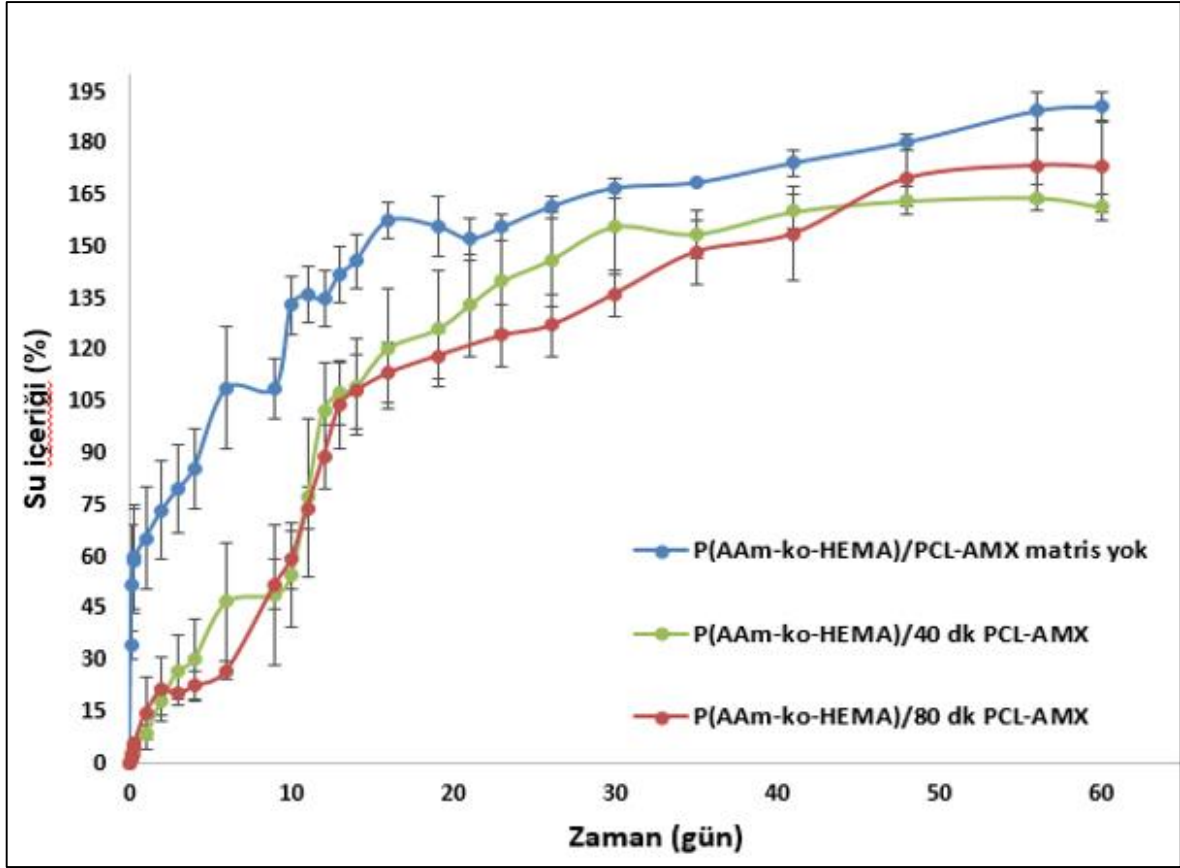
P(AAm-ko-HEMA) hidrojeli, gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli ve Osmed®'in denge şişmeye ulaşma süresi yaklaşık 1 gün olup, p(AAm-ko-HEMA) hidrojelinin denge su içeriği %586, gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojelinin denge su içeriği %458 olarak bulunmuştur. Yüksek şişme kapasiteleri p(AAm-ko-HEMA) hidrojelinin yapısında daha hidrofilik grupların bulunmasıyla açıklanabilir. Hidrofilik grupların sayısının artmasıyla su tutma kapasitesi artmaktadır. Akrlamid, yapısındaki amid grupları, 2-hidroksietil metakrilat ise, yapısındaki hidroksil grupları nedeniyle hidrojele yüksek oranda şişme özelliği kazandırmaktadırlar. Gliserin içeren hidrojellerde gliserin kontrolü salım yapan bir sistem gibi davranır, gliserinin varlığı şişmeyi kısıtlamakla beraber, gliserin PBS (pH:7.4) ortamında hidrojel yapılarından salınarak uzaklaşırken hidrojellerin şişme kapasitesi de artmaktadır. Ancak, belli bir miktarda gliserin yapı içerisinde kalmaktadır. Bu nedene bağlı olarak p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli gliserinli hidrojellere göre daha yüksek şişme kapasitesine sahiptir. Osmed®'in yapısındaki N-vinil pirolidon hidrofilik bir monomer olmasına rağmen, yapıya hidrofobik bir monomer olan metil metakrilatın katılması bu ticari ürünün şişme kapasitesini düşürmektedir.

Doku genişletici olarak kullanılması planlanan hidrojellerin şişme hızının kontrol altına alınması önemli bir olaydır. Hidrojellerin kendiliğinden şişmesi bir avantaj iken, çok hızlı bir şekilde şişmesi beraberinde bazı komplikasyonları getirmektedir. Bu nedenle şişme hızını düşürmek ve kontrol altına almak amacıyla hidrojeller, üzerinde 0.5 mm çapında delik olan silikon bir kılıf içerisine konularak kullanılmıştır. Hidrojelin su ile etkileşimi, kılıf vasıtasıyla engellendiğinden, suyun difüzyonu 0.5 mm çapındaki delikten kısıtlı bir şekilde gerçekleşmektedir. Silikon kılıfla kullanılan doku genişleticiler, şişme potansiyelini yavaşlatmakta ve doku nekrozu, yara açılması ve doku genişleticinin ekspoze olması riskini azaltmaktadır, fakat yine de dokuya yerleştirildiği andan itibaren şişmeye başladığı için komplikasyon risklerini tamamen ortadan kaldıramamaktadır. Bu çalışmada, komplikasyon ve enfeksiyon risklerini en aza indirmek için hidrojellerin yara iyileşmesine olanak tanıyacağı süre olan ilk 11 günde şişme hızını yavaşlatmak amaçlanmıştır. Bu nedenle çalışmada üretilen hidrojellerin içerisine yerleştirildiği silikon kılıf üzerindeki delik, amoksisilin yüklü PCL nanofiber matris kullanılarak kapatılmıştır. Amoksisilin salımı ile şişme sürecinde, bakteriler tarafından oluşturulan plaklar nedeniyle deliğin kapatılmasının engellenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, PCL matrisin bozunmasına bağlı olarak 10 günün sonunda deliğin açılarak şişmenin hızlanacağı düşünülmüştür. Çalışmada kullanılan silikon kılıflı hidrojel örneklerinin şişme öncesi ve sonrasındaki fotoğrafları Şekil 4.11'de verilmiştir. Hidrojeller şekilden de görülebildiği gibi, şişme sonrasında orijinal şekillerini korumaktadırlar.



Şekil 4.11. Çalışmadan kullanılan silikon kılıflı hidrojellerin genel görüntüleri; a) silikon kılıflı p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli, b) silikon kılıf üzerindeki deliğin AMX-PCL nanofiberle kapatıldığı p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli, c) silikon kılıf üzerindeki deliğin AMX-PCL nanofiberle kapatıldığı gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli; kuru hal (sol tarafta), şişmiş hal (sağ taraf).

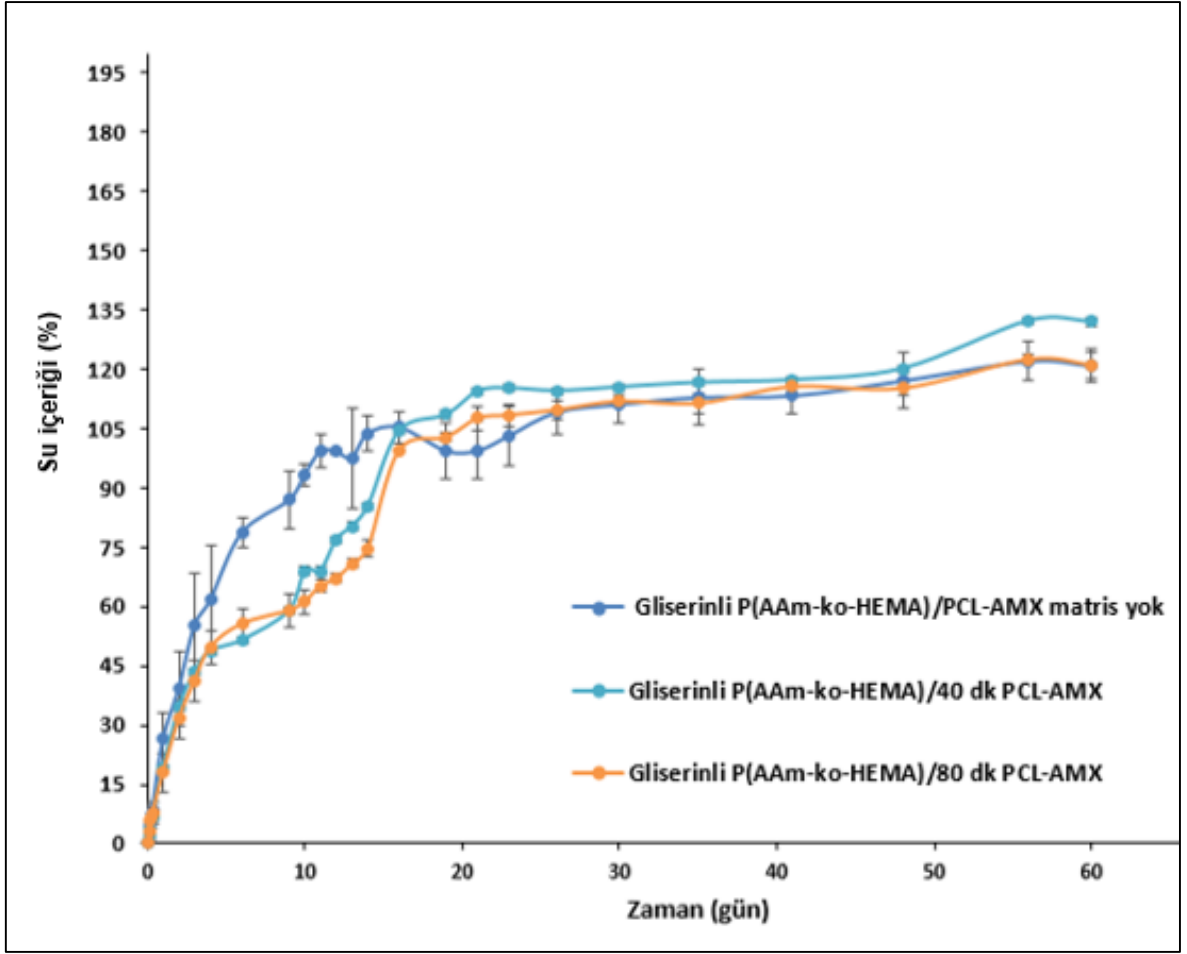
Şişme çalışmalarında, her bir hidrojel sistemi için 3 paralel örnekle çalışılmış ve standart sapma değerleri de aynı grafik üzerinde gösterilmiştir. Şekil 4.12 ve 4.13'deki grafiklerinden görüldüğü üzere, artan elektroeğirme süresinin, yani deliği kapatmak için kullanılan nanofibröz matris kalınlığının artışı başlangıç şişme hızını azaltmış ancak denge su içeriği değerini önemli derecede etkilememiştir. Çizelge 4.5'de gliserin içermeyen hidrojeller için denge su içeriği değerleri verilmiştir.



Şekil 4.12. Silikon kılıflı p(AAm-ko-HEMA), deliğin 40 dk ve 80 dk PCL-AMX matris ile kapatıldığı silikon kılıflı p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin şişme grafikleri.

Çizelge 4.5. Deliğin 40 dk ve 80 dk elektroöğrilmiş nanofiberöz matris ile kapatıldığı silikon kılıflı hidrojellerin denge şişme değerleri.

Hidrojel türü	Denge su içeriği (%)
P(AAm-ko-HEMA)/PCL-AMX matris yok	191±4
P(AAm-ko-HEMA)/40 dk PCL-AMX	161±4
P(AAm-ko-HEMA)/80 dk PCL-AMX	175±12



Şekil 4.13. Deliğın 40 dk ve 80 dk elektroğrılmış PCL-AMX nanofiber ile kapatıldığı silikon kılıflı gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin şişme grafikleri.

Çizelge 4.6. Deliğın 40 dk ve 80 dk elektroğrılmış nanofibröz matris ile kapatıldığı silikon kılıflı ve gliserin içeren hidrojellerin denge şişme değerleri.

Hidrojinin türü	Denge su içeriği (%)
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)/PCL-AMX matris yok	120±4
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)/40 dk PCL-AMX	132±2
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)/80 dk PCL-AMX	121±3

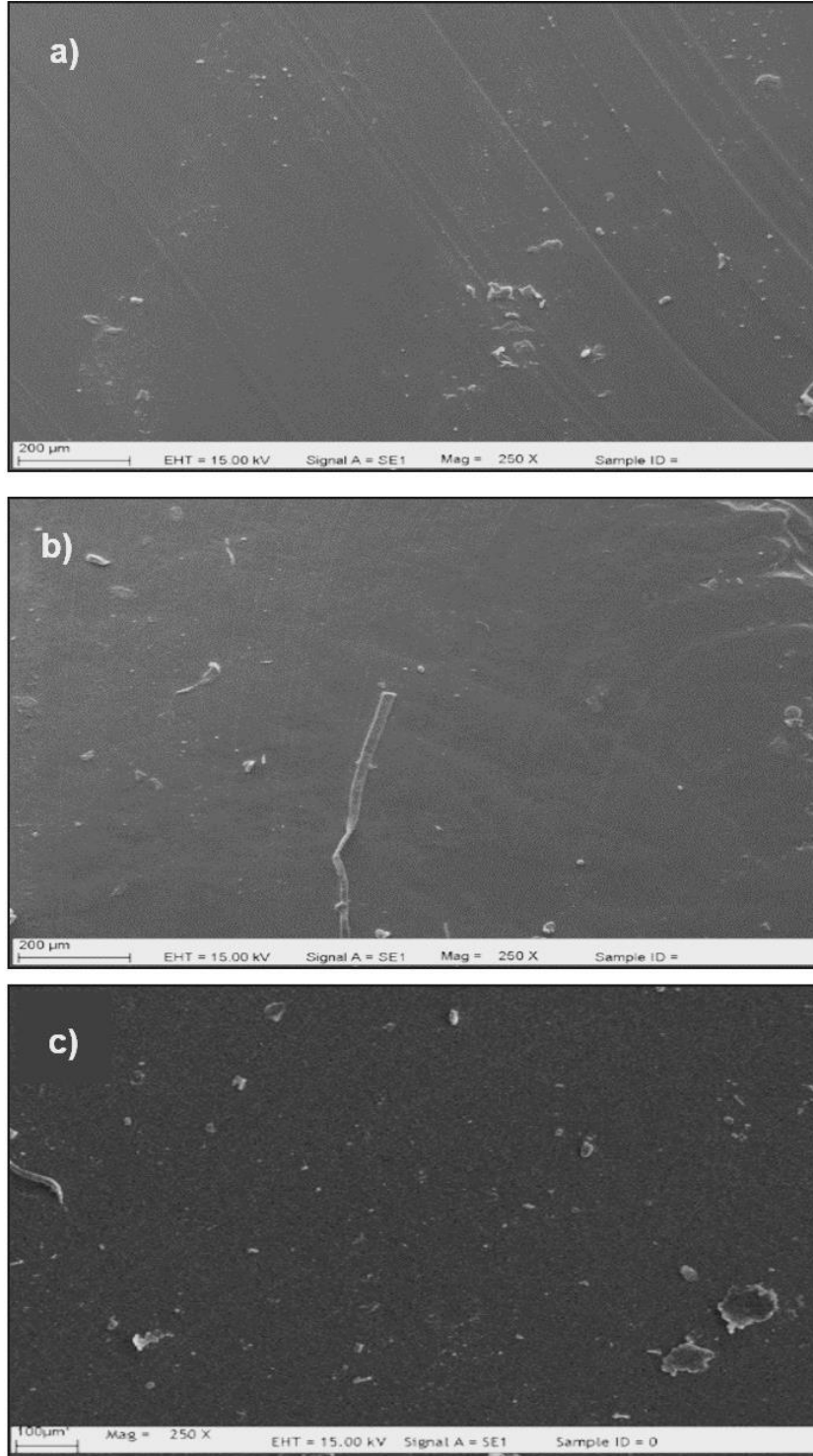
Hidrojel yapısında gliserinin varlığı şişme hızını azaltmıştır. Dolayısıyla gliserinin hidrojinin şişme kapasitesi üzerine doğrudan bir etkisi söz konusudur. Verilen şişme kinetiği grafikleri incelendiğinde, hidrojellerin denge şişmeye ulaşma süresinde silikon kılıfın etkisi açıkça görölmektedir. Gliserinin varlığı özellikle hidrojinin yara iyileşmesine olanak sağlayacağı ilk 11 gúndet hidrojel sistemlerin şişme hızını düşürmüştür, şişme kapasitesini ise bir miktar azalmıştır (Şekil 4.12 ve Şekil 4.13).

Silikon kılıf içerisindeki hidrojel, kılıfın üzerindeki delikten su ile yavaş yavaş temas etmekte, buna bağlı olarak kılıfsız hidrojele oranla daha yavaş şişmektedir. Hidrojel kılıf içerisinde şişmeye başladıkça kılıf üzerine bir gerilim uygulayarak, kılıfın esnemesine neden olmaktadır. Ayrıca, silikon kılıfın üzerindeki delik PCL-AMX nanofiberle kapatıldığında sulu ortam ve hidrojin teması daha da kısıtlanmıştır ve bu durum PCL nanofiber bozulana kadar devam etmektedir. PCL-AMX nanofiber bozulduktan sonra kılıf yüzeyindeki delik vasıtasıyla su hidrojin yapısına difüze olur ve jel hızlıca şişmeye başlar.

Silikon kılıf üzerindeki deliğin 80 dk elektroçirme işleminden elde edilen PCL-AMX nanofibröz matris ile kapatıldığı p(AAm-ko-HEMA) hidrojinin ilk 11 günlük şişme hızı, silikon kılıflı p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojeline göre daha yavaştır. Silikon kılıflı p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin 11. gündeki su içeriği sırası ile % 139 ve % 95 iken, 80 dk PCL-AMX nanofiber kullanılan p(AAm-ko-HEMA) hidrojinin su içeriği yaklaşık % 44'tür. Bu süre esnasında, nanofibröz matrisinin fiberleri arasındaki boşluklardan yapıya bir miktar su girişi olmuştur, fakat bu su girişi hidrojelde ayırt edilecek bir hacimsel değişim meydana getirmemiştir. Onbir günden sonra ise PCL-AMX nanofiberin bozunmasıyla şişme hızı artış göstermiş ve 30. günde silikon kılıflı hidrojin şişme hızına yaklaşmıştır. Bu sonuç, kılıf üzerindeki deliğin PCL-AMX nanofiberle kapatılmasının, ilk 11 günlük süreçteki şişme hızının azaltılmasında olumlu etki yarattığını göstermektedir. Bu da, doku altına yerleştirildikten sonraki süreçte şişme hızının yavaşlatılabilmesi için doku genişleticilere önemli avantaj sağlamaktadır.

4.4.2. Hidrojellerin SEM ile analizi

Sunulan çalışmada kullanılan silikon kılıfın, gliserinli ve gliserin içermeyen p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin yüzey yapısı taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiştir (SEM). Örnekler, altın tabakası ile kaplanarak analiz edilmiştir. SEM fotoğrafları Şekil 4.14'te verilmiştir.



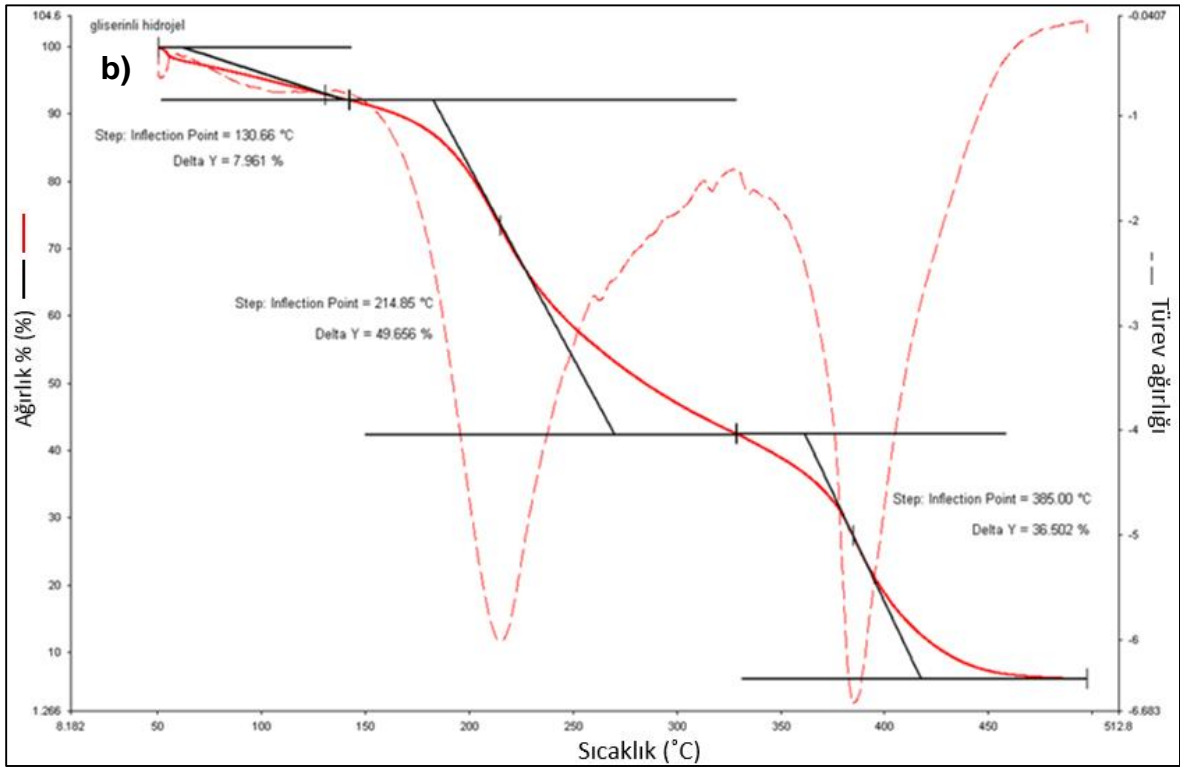
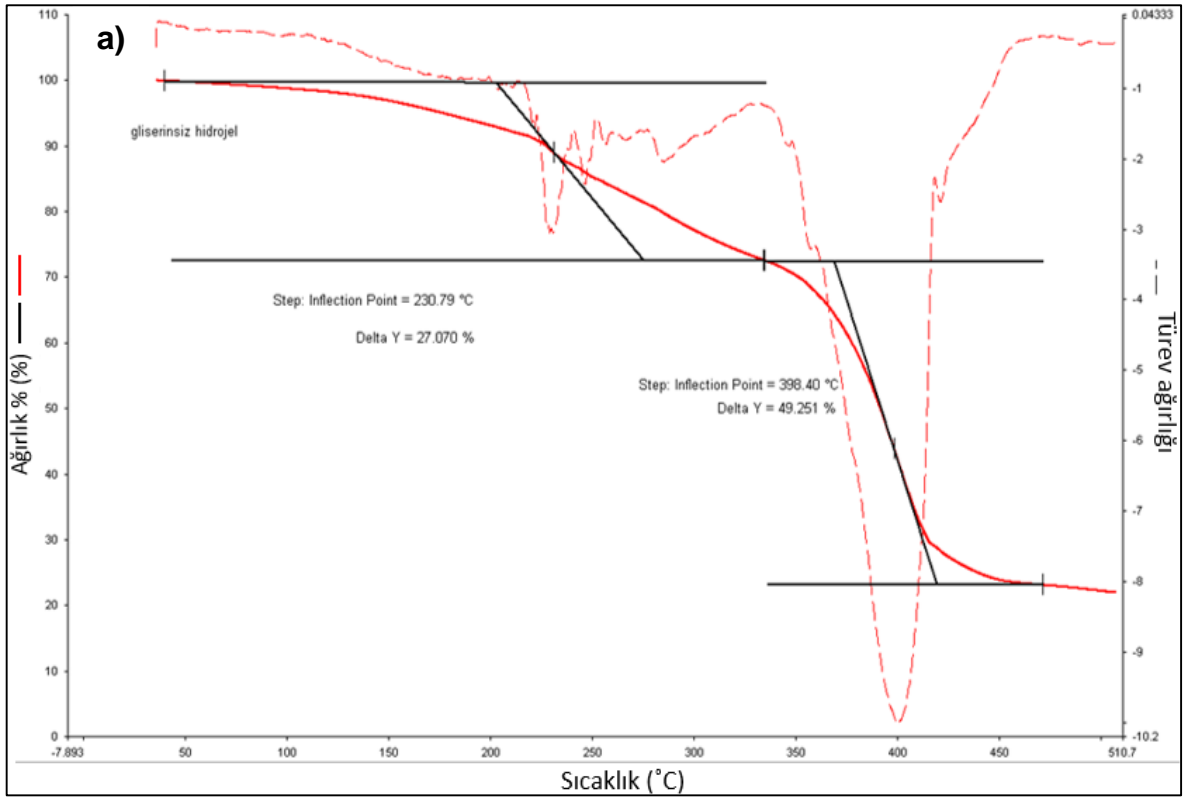
Şekil 4.14. Hidrojelle ve silikon kılıfa ait SEM fotoğrafları; a) p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli dikey kesit (250 x), b) gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojeli dikey kesit (250 x), c) Silikon kılıf (250 x).

Şekil 4.14.a ve b'de p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin kesitinden alınan SEM fotoğrafları görülmektedir. Hidrojellerin yapısında gözenek bulunmamakta, tamamen homojen bir morfoloji sergilemektedirler. Fotoğrafta

görülen pürüzler kesit alınırken oluşmuştur. Şekil 4.14.c'de silikon kılıfın yapısı görülmektedir. Fotoğraftan görüldüğü gibi silikon kılıfın yüzeyi de pürüzsüz ve oldukça düzgün bir yapıdadır.

4.4.3. Termal analiz

P(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin sıcaklıkla kütle kaybının incelendiği termal analiz çalışmaları, 25°C-600°C sıcaklık aralığında ve 10°C/dk ısıtma hızıyla yürütülmüştür. p(AAm-ko-HEMA), gliserinli p(AAm-ko-HEMA) ve bir önceki çalışmadan elde edilen ticari ürün Osmed® hidrojellerine ait termogramlar sırasıyla Şekil 4.15'de gösterilmiştir. Termogramlar, hidrojellerden nemin uzaklaşmasına bağlı olarak başlangıçtaki kütle kaybını izleyen iki basamaklı bozunmayı göstermektedir. Gliserinin varlığı bozunmanın biraz daha düşük sıcaklıkta gerçekleşmesine neden olmuştur. Ancak, Çizelge 4.7'de verilen bozunma sıcaklığı değerleri oldukça yakındır ve 300°C'nin üzerindeki değerler, hidrojel örneklerin otoklavda sterilizasyonunun mümkün olacağını işaret etmektedir.



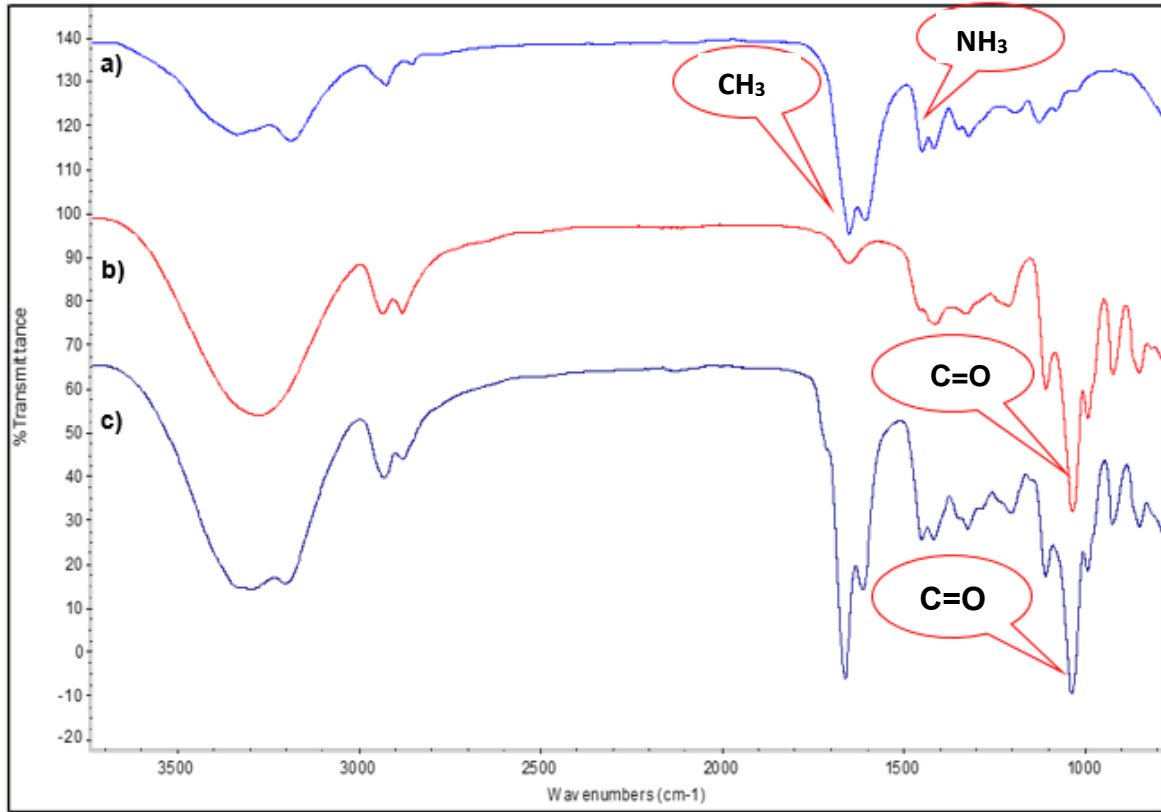
Şekil 4.15. Hidrojellere ait termogramlar; (a) p(AAm-ko-HEMA hidrojel ve (b) gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojel.

Çizelge 4.7. Termal analiz sonuçları.

Hidrojel örneği	Termal bozunma sıcaklığı (°C)
p(AAm-ko-HEMA)	398
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)	385

4.4.4. FTIR analizi

Çalışma kapsamında sentezlenen p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin kimyasal yapılarının incelenmesi amacıyla FTIR analizleri yapılmıştır. Spektrumlar 4 cm^{-1} çözünürlükte ve $400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında kaydedilmiştir. Örneklere ait FTIR spektrumları Şekil 4.16'de verilmiştir.



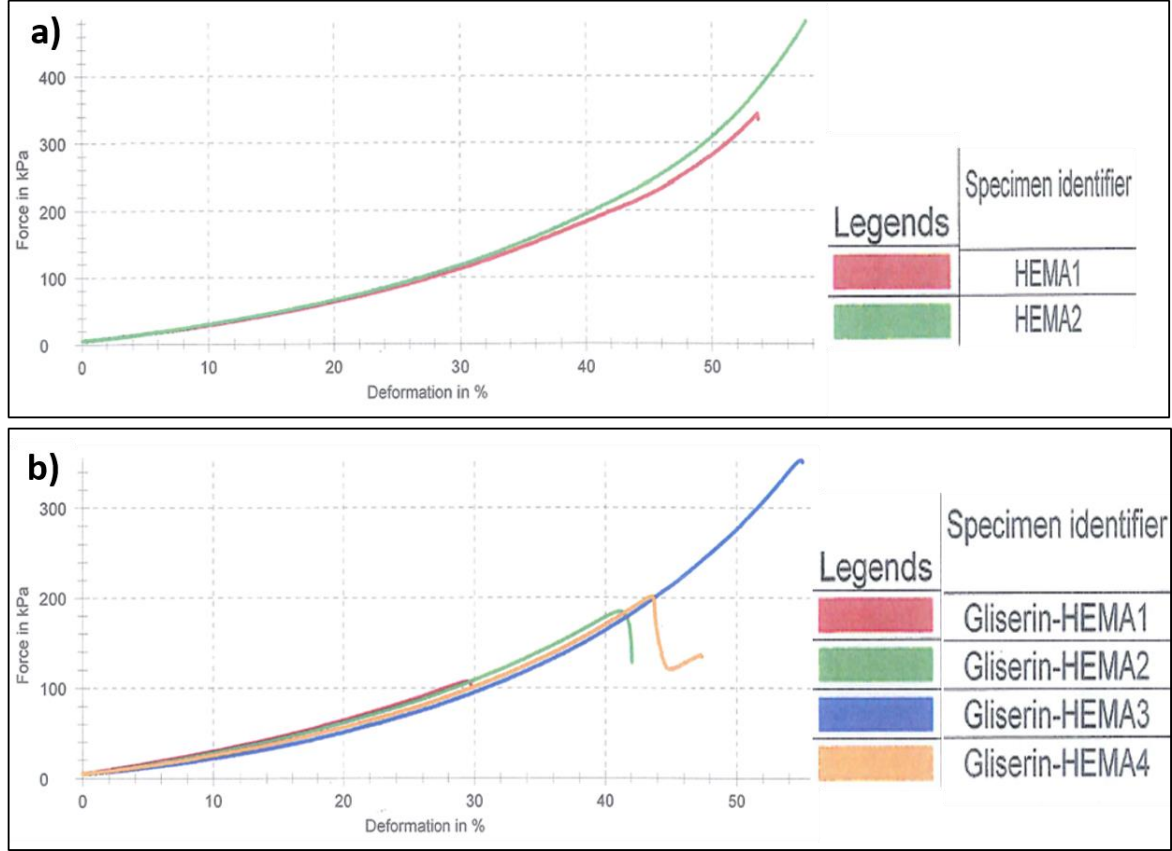
Şekil 4.16. Hidrojellere ait FTIR spektrumları; a) p(AAm-ko-HEMA), b) gliserin, c) gliserinli p(AAm-ko-HEMA).

Şekil 4.16.a'da ve c'de verilen spektrumlar p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerine aittir. 3128 cm^{-1} 'den başlayarak 3492 cm^{-1} 'e devam eden eğimli geniş soğurma görünüşü gösteren pik, hidrojelin HEMA'nın çapraz bağlanmasına ek olarak hidrojen bağı vasıtasıyla da oluştuğunu göstermektedir. Gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinde HEMA'nın metil gruplarını gösteren karakteristik pik 1126 cm^{-1} 'de, AAm'in amid grubunu gösteren karakteristik pik 1448 cm^{-1} 'de ve gliserinin karakteristik piki olan C=O grubuna ait gerilme titreşimi piki 1032 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. FTIR analizinden elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda gliserin ve gliserin içermeyen p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin kimyasal yapıları doğrulanmıştır.

4.4.5. Mekanik dayanım testi

Doku genişlemesi için, tıbbi gereksinimler göz önüne alındığında, yüksek şişme kapasitesi ve yavaş şişme hızına ilave olarak uygun mekanik dayanıma sahip malzemelerin kullanımı gerekmektedir. Bu çalışma kapsamında sentezlenen p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellere sıkıştırma testi

uygulanmıştır. Sıkıştırma testi sonucunda elde edilen eğriler Şekil 4.17’de verilmiştir.



Şekil 4.17. Hidrojel örneklerinin sıkıştırma testi grafiği; a) p(AAm-ko-HEMA), b) gliserinli p(AAm-ko-HEMA).

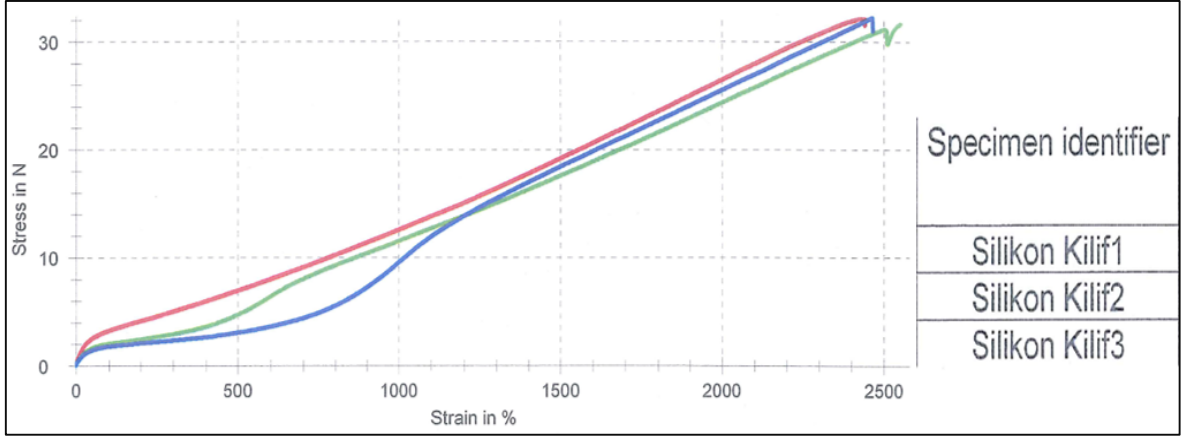
Bu eğrilerden elde edilen elastik modül değerleri Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Hidrojellere uygulanan sıkıştırma testi sonuçları

Hidrojel örneği	Elastik Modülü (kPa)
p(AAm-ko-HEMA)	0.700±0.019
Gliserinli p(AAm-ko-HEMA)	0.500±0.020

Daha önce yapılan çalışmalarda, insan canlı dokularına benzer olması için doku genişletici olarak kullanılan hidrojellerin elastik modüllerinin 0.1 kPa ile 50 MPa aralığında olması gerektiği belirtilmiştir [7]. Buna göre çalışma kapsamında geliştirilen doku genişletici hidrojeller için Çizelge 4.8’de belirtilen elastik modül değerlerinin yeterli olduğu düşünülmektedir.

Çalışmada şişme hızının yavaşlatılması amacıyla kullanılmak üzere yaptırılan silikon kılıflara çekme testi uygulanmıştır. Çekme testinin amacı, malzemelerin statik yük altındaki elastik davranışlarını belirlemektir. Çekme testi sonucunda elde edilen gerilim-gerinim eğrileri Şekil 4.18’de verilmiştir.



Şekil 4.18. Çalışmada kullanılan silikon kılıf çekme dayanım eğrileri.

Çekme testleri sonucu elde edilen gerilim-gerinim eğrilerinden, silikon kılıfların çekme dayanımları ve % uzama miktarları belirlenmiş ve bu değerler Çizelge 4.9’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.9. Silikon kılıflar ile yapılan çekme testi sonuçları.

Malzeme	Çekme Dayanımı (N)	Uzama miktarı (%)
Çalışmada kullanılan silikon kılıf	31.6	2600

Çalışmada kullanılan silikon kılıfın uzama oranı %2600 olarak belirlenmiştir. Sonuç ticari ürün Osmed® ile karşılaştırıldığında Osmedin uzama miktarından (%1200) daha fazla olduğu gözlenmiştir. Silikon kılıfın uzama miktarının, hidrojellerin şişme kapasitesi üzerinde doğrudan etkisi olduğundan, uzama miktarının artmasıyla hidrojellerin kılıfı esnetme kapasitesi de artmaktadır. Dolayısıyla silikon kılıfın esneme özelliğinin yüksek olması nedeniyle p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin şişme kapasitesi Osmed®’e oranla daha yüksek değerlere ulaşmıştır.

4.5. PCL-AMX nanofiberden AMX salım mekanizması

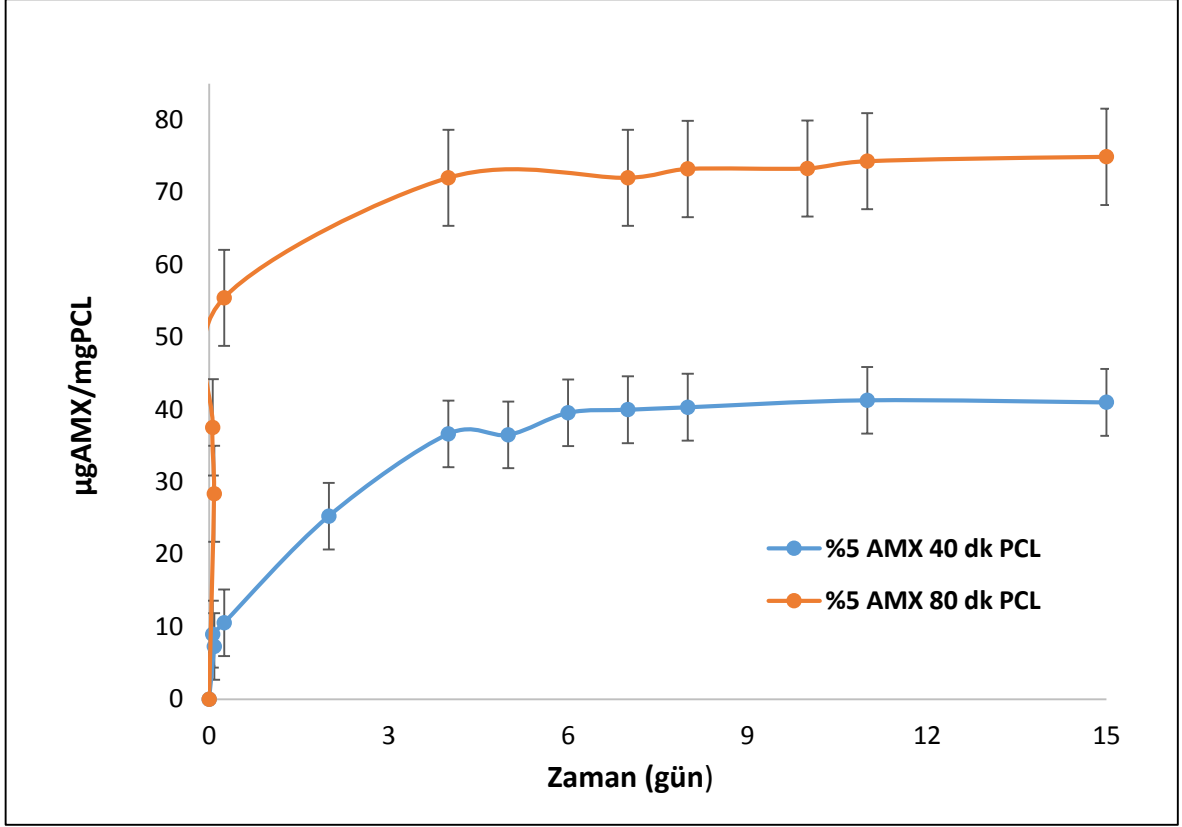
4.5.1. *In-vitro* salım çalışmaları

PCL nanofiberlerden ve PCL nanofiber kaplı doku genişletici hidrojel sistemlerden AMX salım çalışmaları 30 gün boyunca devam ettirilmiştir. AMX salımı ilk 24 saatte

de ani patlama etkisi (burst effect) göstermiştir. İlk 10 gün boyunca hızlanan bir şekilde devam eden salım daha sonra doğrusal bir profil sergilemiş ve 15 gün boyunca devam etmiştir. PCL-AMX nanofiber matrislerden AMX salımı iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk aşamada, AMX yüklü PCL matrisler PBS ortamı ile etkileşmekte ve ortam sıvısı PCL matrise penetre olmakta, böylelikle matris şişmeye başlamaktadır. Aynı zamanda matris yüzeyi üzerindeki AMX de salınmaya başlamaktadır. İkinci aşamada, polimer matris ortam sıvısını absorplarken AMX matristen difüzlenebilir ve ortama salımı artan bir şekilde devam eder. PCL-AMX nanofiber matrisin bozunmasıyla beraber sistem yok olmaktadır. Çalışmada 4cm² (2x2 cm) ebatındaki PCL-AMX nanofibröz matrislerden ve ayrıca silikon kılıfın üzerindeki deliği kapatmak için kullanılan PCL-AMX matrisin gerçek boyutundaki (5 mm x 5 mm) nanofibröz matrislerden AMX salım çalışmaları yapılmış ve sonuçlar aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.19 ve 4.20).

4.5.1.(2x2 cm) boyutlarındaki PCL-AMX matrislerden salım

Salım miktarının belirlenebilmesi için, nanofibröz matrislerin yer aldığı rezervuarlardan belirli aralıklarla örnekler alınmıştır. AMX yüklü %5 PCL-AMX/40 dk ve %5 PCL-AMX/80 dk elektroçirime işleminden geçmiş nanofiber matrisler 2 mm x 2 mm boyutlarında kesildikten sonra *in-vitro* salım çalışması 25 mL PBS (pH:7.4) içeren rezervuarlarda 30 gün boyunca sürdürülmüştür. Ancak 15 günden sonra salınan AMX miktarında çok fazla değişiklik olmadığından 15 günlük sonuçlar verilmiştir.

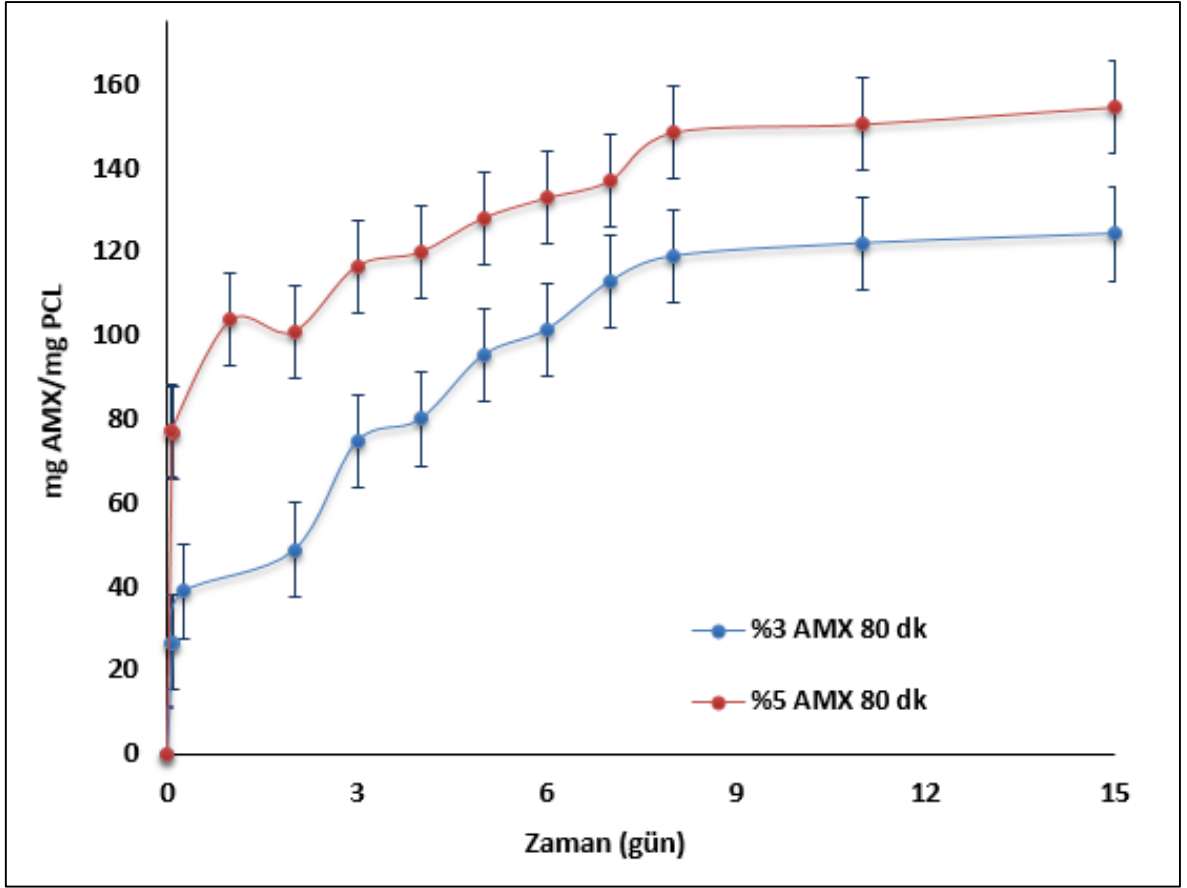


Şekil 4.20. 4cm²'lik %5 AMX içeren PCL nanofiber matrislerden ilaç salım profili.

Şekil 4.20'de verilen grafikten görüleceği gibi %5 PCL-AMX/40 dk ve %5 PCL-AMX/80 dk nanofiberlerde ilk 24 saatte AMX salımı ani patlama (burst effect) etkisi göstermiştir. İlk 10 gün boyunca salım, hızlanan bir şekilde artmış ve PCL-AMX/40 dk ve PCL-AMX/80 dk fiberlerden sırasıyla, 38 µgAMX/mg PCL ve 80 AMX µgAMX/mgPCL AMX salınmıştır. Daha sonra ise, salım doğrusal bir profil sergilemiştir. Elde edilen *in-vitro* salım çalışmaları, sentezlenen PCL nanofiberlerin, uygun ilaç yükleme kapasitesine sahip, yükleme basamağında aktivite kaybı yaratmayan ve antibiyotik ilaçların daha da etkin olması için gerekli olan salım profilini sağlayan salım sistemi olarak değerlendirilebileceğini göstermiştir. PCL-AMX'e ait salım profilleri incelendiğinde az miktarda da olsa tamamlanamayan bir salım söz konusudur. Nanofiber sistemlerinde salım mekanizması, bozunma ve difüzyon kontrollü olarak gerçekleşir. Ancak PCL matrislerin çalışılan sürede bozunmasının tam olarak gerçekleşmemesinden dolayı AMX salımı büyük oranda difüzyon ile gerçekleşmiştir. Yapının iç kısımlarında kalan AMX bu nedenle tamamen salınamamıştır. %5 PCL-AMX/80 dk nanofiberler daha düzgün ve yüksek salım oranı nedeniyle yaranın iyileşmesini destekleyecek uygun bir salım sistemi olarak değerlendirilebilir.

4.5.1.2. (5 mm x 5 mm) ebatında olan PCL-AMX matrislerin salım kinetiği ile ilgili sonuçlar

2 cm x 2 cm'lik AMX yüklü PCL nanofiberlerden yapılan salım çalışmaları ile birlikte doku genişletici sisteminde kullanılan 80 dk elektroöğirme işlemi uygulanan %5 ve %3 AMX yüklü PCL matrislerden salım profilini belirlemek amacıyla da salım çalışmaları yapılmıştır. Bunun için AMX yüklü PCL nanofiberler 5 mm x 5 mm boyutlarında kesilerek silikon kılıflı hidrojel yüzeyine yapıştırılmıştır ve 25 mL PBS (pH:7.4) içeren rezervuarlarda salım çalışmaları yürütülmüştür. Elde edilen verilerden Şekil 4.2'de yer alan salım grafiği çizilmiştir. Şekil 4.22 ve 4.23'te %3 PCL-AMX/40 dk, %5 PCL-AMX/40 dk ve 80 dk nanofiberlerde salımı gösteren eğriler verilmiştir. %5 PCL-AMX/ 80 dk nanofiberlerde AMX salımı diğerlerine göre daha yüksek değerlerde gerçekleşmiştir. Bunun nedeni, %5 PCL-AMX/80 dk'in yapısında bulunan AMX miktarının diğerine göre daha yüksek olması ile açıklanabilir ve yüklenen AMX miktarı doğrusal bir şekilde salınan ilaç miktarını etkilemektedir. Amoksisiline ait 229 nm dalga boyundaki kalibrasyon grafiği (0.01- 1 mg/mL) EK-2'de verilmektedir. PCL-AMX nanofiber yapısında 0.3668 µg AMX bulunmaktadır.



Şekil 4.21. 5 mm x 5 mm'lik olan PCL nanofiberlerden ilaç salım profili; a) % 5 AMX içeren PCL nanofiberlerin, b) %3 AMX içeren PCL nanofiberlerin salımı.

%3 PCL-AMX/80 dk nanofiberlerden ilk 24 saatte ani patlama ile matristen 36 µgAMX/mgPCL salınmıştır. İlk 10 gün boyunca salım, hızlanan bir şekilde artmıştır ve yapıdan 121 µgAMX/mgPCL salınmıştır. Daha sonra ise, salım doğrusal bir profil sergilemiştir. %5 AMX-PCL/80 nanofiberlerde ise ilk 24 saatte matristen 77 µgAMX/mgPCL salınmıştır. İlk 10 gün boyunca salım, hızlanan bir şekilde artmıştır ve bu süreç sonunda, yapıdan 150 µgAMX/mgPCL salınmıştır.

Başlangıçtaki hızlı salımı karakterize eden “burst” etkisi, yüklü matrislerde, AMX moleküllerinin yüzeye yakın lokalize olanlarının ortamla etkileşince hemen salındığını ifade etmektedir. Yüzeye yakın lokalizasyon; AMX yükleme miktarına ve elektroçirme koşullarına bağlı olarak karşılaşılan bir durumdur. %5 ve %3 AMX yüklü 5 mm x 5 mm ebatında olan PCL nanofiberlere ait salım profilleri incelendikten sonra, %5 PCL-AMX/80 dk elektroçirme işleminden elde edilen örneklerin daha düzgün ve etkili bir salım profili gösterdikleri belirlenmiştir. AMX yüklü PCL

matrislerden salım mekanizması Bölüm 2.4.1’de açıklandığı gibi difüzyon mekanizması şeklinde gerçekleşmektedir.

4.6. Mikrobiyal Aktivite Testi

Test edilecek malzemenin antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesinde “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)”ın önerdiği mikrodilüsyon yönteminden yararlanılmıştır. Buna göre mikroorganizma inokulumu hazırlanarak mikrodilüsyon yöntemiyle antibakteriyel aktivite saptanmıştır. Testin yapılmasında *S. aureus* (ATCC 25923) ve *E. coli* (ATCC 25922) standart bakteri suşları kullanılmıştır. Mikrobiyal çalışmada kullanılmış olan bakterilerin testi için “Bioanalyse” firması tarafından üretilmiş olan standart antibiyotik diskleri kullanılmıştır (Çizelge 4.10). Çizelge 4.11’da CLSI tarafından *S. aureus* ve *E. coli* suşlarının disk difüzyon doğruluğunu izlemek için önerilen değerler verilmektedir.

Çizelge 4.10. Mikrobiyal çalışmada kullanılmış olan bakterilerin testi için standart antibiyotik diskleri.

Antibiyotik Diskleri	Disk İçeriği (µg)
Ampicillin (Am)	10
Kanamycin (K)	30
Vankomisin(Va)	30
Carbenicilin (PY)	100

Çizelge 4.11. Bakterilerin duyarlılık testleri için antibiyotiklerin seçiminde CLSI önerileri [109].

	Dayanıklı (mm)	Orta (mm)	Duyarlı (mm)
<i>S. aureus</i>			
<i>Ampicillin</i>	28	-	29
<i>Vankomisin</i>	-	-	15
<i>Kanamycin</i>	13	14-17	18
<i>Amoxicillin</i>	19	-	20
<i>E. coli</i>			
<i>Ampicillin</i>	13	14-16	17
<i>Amoxicillin</i>	13	14-17	18
<i>Carbenicilin</i>	19	20-22	23
<i>Kanamycin</i>	13	14-17	18

Mikroorganizmaların malzemenin yüzeyine yapışması ve silikon kılıfın içerisindeki hidrojele nüfuz etmesi hidrojelın şişme kabiliyetini düşürmektedir. Bu yüzden tedavi

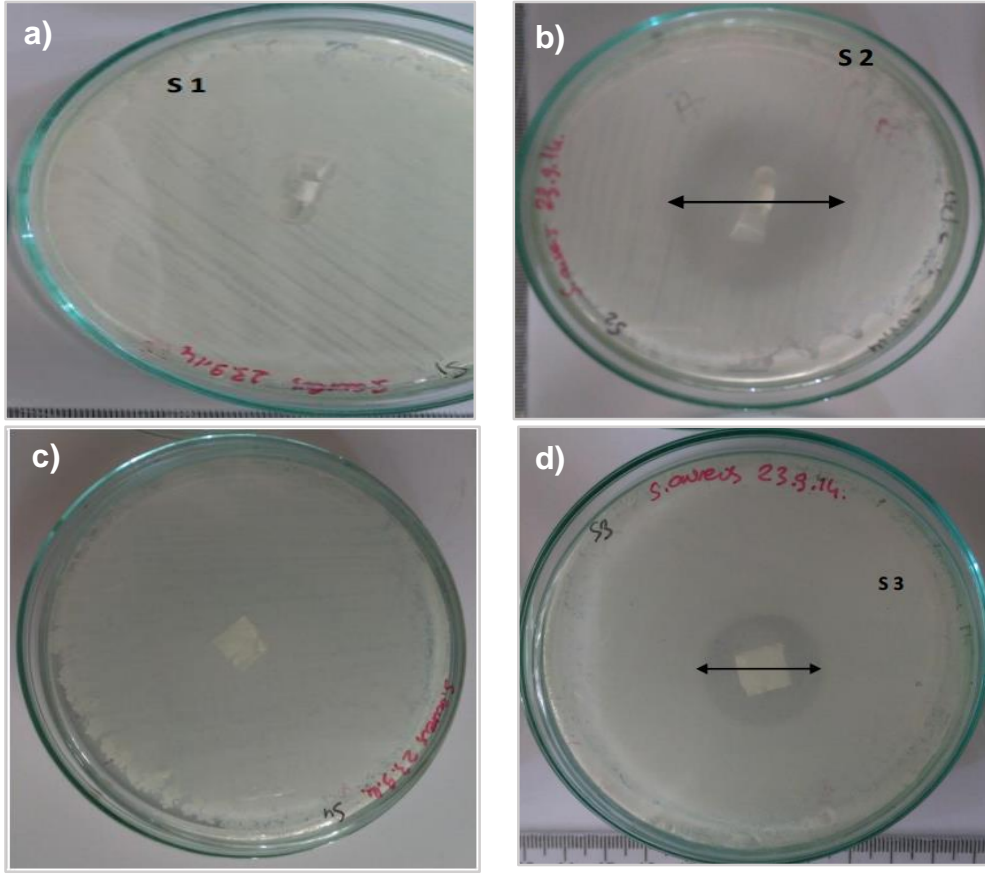
esnasında enfeksiyonu engellemek ve mikroorganizmaların malzemenin yüzeyine yapışmalarını önlemek büyük önem taşımaktadır. Başarılı bir ilaç taşıyıcı sisteminde, ilacın nanofiber yapısına yüklendikten sonra kimyasal özelliklerini kaybetmemesi önemlidir. 2012 yılında Wang ve ark. yaptığı bir çalışmada PLGA, PLGA/LAP, PLGA/AMX ve PLGA/LAP/AMX nanofiberleri elektroeğirme yöntemi ile üretmiştir. Elde edilen farklı konsantrasyonlarda (10, 20, ve 30 µg/mL) AMX içeren nanofiberler 1 cm x 1 cm boyutlarında kesilerek, Dulbecco Modifiye Eagle (DMEM) ortamında antibakteriyal aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada 100 µL *S. aureus* standart bakteri suşu kullanılmıştır. AMX içeren PCL matrislerin, ilaç salarak bakteri üremesini engelledikleri ve ilaç içermeyen nanofiberlerde ise inhibisyon zonu oluşmadığı görülmüştür [110].

Bu tez kapsamında yapılan çalışmada ise %5 ilaç (AMX) içeren 40 ve 80 dk elektroeğrilmiş PCL-AMX nanofiber matrislerin antibakteriyal özelliğinin gösterilmesi ve matrislerin mikrobiyal enfeksiyonu önleme kabiliyetleri zon çapı ölçümleriyle incelenmiştir.

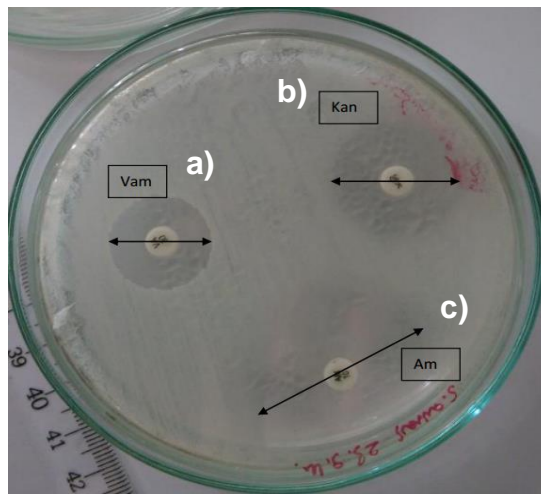
AMX içeren PCL nanofiberlerin mikrobiyal özellikleri 2 farklı şekilde incelenmiştir:

1. 2 cm x 2 cm'lik PCL ve PCL-AMX matrislerin antibakteriyel etkisi
2. Yükleme ortamı oluşturmak için her bir silikon kılıf üzerinde 0.5 mm çapında delik açılması ve 5 mm x 5 mm boyutlarında silikon yapıştırıcı ile yapıştırılmış PCL ve PCL-AMX nanofiber bulunan sistemin antibakteriyel etkisi.

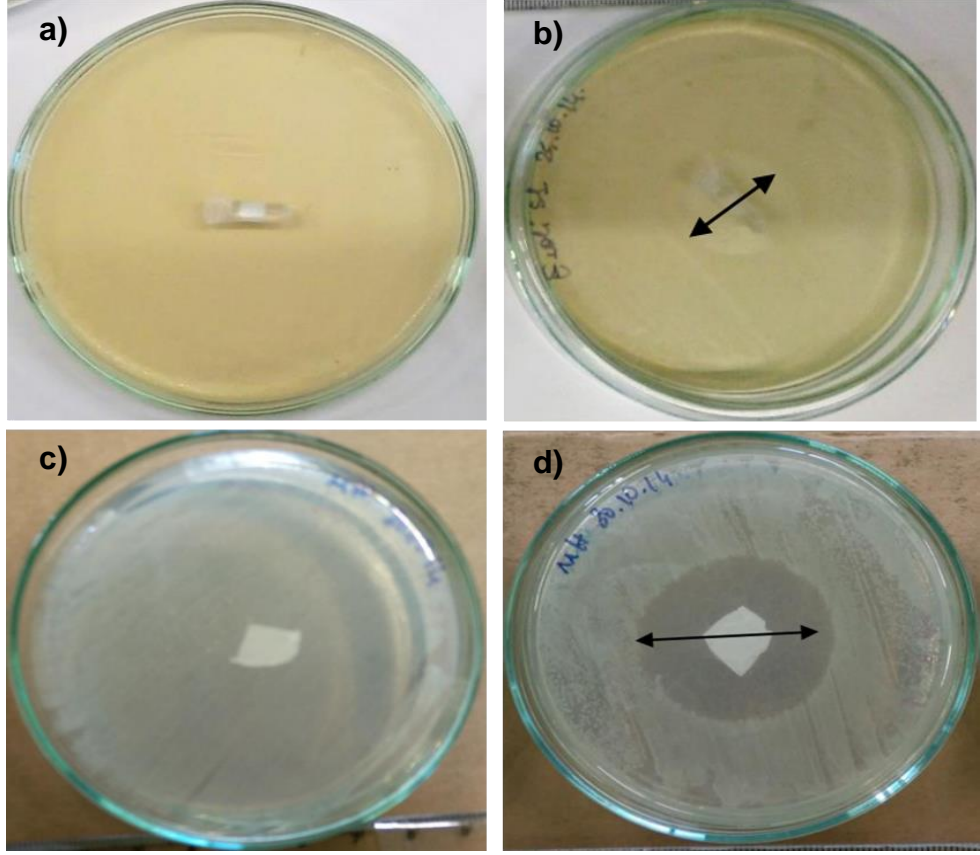
Testlere ait inhibisyon zonlarını gösteren fotoğraflar sırasıyla, Şekil 4.22 ve 4.23'da verilmiştir. Aynı zamanda bu test sırasında oluşan inhibisyon zon sonuçları Çizelge 4.11'da gösterilmiştir. Bu sonuçlar Çizelge 4.12'da verilen değerlerle karşılaştırdığında PCL matrisin kendi başına antibakteriyel bir etkiye sahip olmadığı, ancak ilaç içeren PCL-AMX matris numunesinin ilaç salarak bakteri üremesini engellediğini göstermektedir. Şekil 4.24'te *S. aureus* ATCC 25923 antibakteriyel etkinliği ve Şekil 4.25'da antibiyotiklerin inhibisyon zonları verilmiştir.



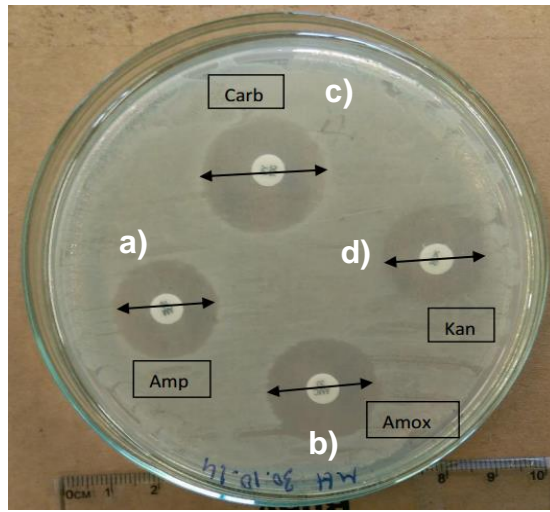
Şekil 4.22. *S. aureus* (ATCC 25923) antibakteriyel etkinliği; a) Silikon kılıf yüzeyine yapıştırılmış PCL matris, b) Silikon kılıf yüzeyine yapıştırılmış PCL- AMX matris, c) PCL matris, d) PCL-AMX matris.



Şekil 4.23. *S. aureus* (ATCC 25923) testine ait antibiyotiklerin inhibisyon zon çapı sonuçları; a) Vankomisin (Van), b) Kanamycin (Kan), c) Ampicillin (Am).



Şekil 4.24. *E. coli* ATCC 25922 antibakteriyel etkinliği; a) Silikon kılıf yüzeyine yapıştırılmış PCL matris, b) Silikon kılıf yüzeyine yapıştırılmış PCL-AMX matris, c) PCL –AMX matris, d) PCL matris.



Şekil 4.25. *E. coli* ATCC 25922 testine ait antibiyotiklerin inhibisyon zon sonuçları; a) Ampicillin (Amp), b) Amoxicillin (AMX), c) Carbenicilin (Carb), d) Kanamycin (Kan).

Çizelge 4.12. Elektroeğirme yöntemiyle üretilen PCL-AMX ve PCL nanofiber matrisler ve standart antibiyotiklerin antimikrobiyal etkinlikleri.

Suşlar antibiyotikler ^A	İnhibisyon zon (mm)									
	Örnekler				Standard					
	A	B	C	D	AM	VA	K	Am	CB	
					10	30	30	10	100	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	37	-	27	-	28	16	19	21	TE	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	38	-	26	-	18	TE	19	19	23	

AM: ampicillin; VA: Vankomisin; K: Kanamycin; Am: Amoxicillin; CB: Carbenicilin; TE: Test Edilmedi; (-) Duyarlı değil.
^A mg/6 mm paper disc.

Örnekler:

A) Silikon kılıflı PCL-AMX matris B) Silikon kılıflı PCL matris C) PCL-AMX matris D) PCL matris

5. GENEL SONUÇLAR

Sunulan tez kapsamında; doku altına yerleştirildiğinde ozmotik basınç yolu ile kendiliğinden şişen, mevcut yumuşak doku genişletici hidrojel dezavantajlarını ortadan kaldıracak özelliklere sahip hidrojel sistemlerinin üretimi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Çalışma kapsamında elde edilen önemli sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Doku genişletici hidrojel sistemleri olarak p(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojel, serbest radikalik polimerizasyon ve çapraz bağlanma reaksiyonları ile istenilen boyutlarda uygun kalıplarda hazırlanmıştır. Sentez sonrası yıkama işlemine tabi tutulan hidrojellerin bir kısmı gliserin çözeltisinde belli bir süre bekletilmiştir. Hidrojellerin şişme hızı, kapasitesi ve hacim değişimleri belirlenmiştir.
- Geliştirilen hidrojellerin dinamik şişme çalışmaları fosfat tampon çözeltisinde yapılmıştır. Ayrıca hidrojel FTIR, TGA, SEM ve mekanik test ile karakterize edilmiştir. Daha sonra, malzemelerden AMX salımı ve antibakteriyel özellikler incelenmiştir.
- Doku genişleticilerde karşılaşılabilecek enfeksiyon riskini ortadan kaldırmak üzere uygun antimikrobiyal ajan seçimi yapılmış ve bu ajan (AMX), hidrojel kılıflanmasında kullanılan silikon kısma tarafımızca önerilen yeni bir yaklaşımla yüklenmiştir.
- P(AAm-ko-HEMA) hidrojellerinin denge su içerikleri, AAm/HEMA mol oranı % 94.5/5.5 olduğunda yaklaşık %596 ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojel için ise yaklaşık % 458 olarak bulunmuştur.
- P(AAm-ko-HEMA) ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojellerin şişme hızını yavaşlatmak için biyouyumlu ve biyobozunur polimerle kaplama ve silikon kılıf ile kılıflama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Kaplama çalışmalarıyla hidrojel şişme hızını azaltmak mümkün olmamış, bunun yerine hidrojel, silikon ile kılıflanarak kullanılmıştır. Silikon kılıf üzerinde 0.5 mm çapında delik açılmış ve bu deliğin üzeri biyobozunur AMX yüklü PCL matris ile kapatılarak suyun hidrojel içerisine difüzyonunun kontrol altına alınması ve aynı zamanda ilaç salımı sağlanmıştır. Hidrojel denge su içeriği ilk 12 gün % 35 iken, PCL-AMX/80 dk

matrisin bozunmasıyla şişme hızı artış göstermiş, 60. günde denge su içeriği %190 olarak ölçülmüştür. %5 AMX-PCL/80 dk nanofiber matrislerden 24 saatte AMX salımı 44 AMX (μg)/PCL mat (mg), 10 gün boyunca 83 AMX (μg)/PCL mat (mg) ve 30 günlük salım süresinin sonunda 85 AMX (μg)/PCL mat (mg) salındığı belirlenmiştir.

- PAAm-ko-HEMA), gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojenlerinin ve silikon kılıfın kesitinden alınan SEM fotoğrafları incelendiğinde, hidrojenin gözeneksiz ve homojen yapıda, kılıfın da pürüzsüz ve düzgün bir yapıda oldukları görülmüştür.
- Hidrojenlerin termal davranışlarının incelenmesi amacıyla, 25-600°C sıcaklık aralığında TGA analizleri yapılmıştır. P(AAm-ko-HEMA) hidrojenlerinin 398°C'de ve gliserinli p(AAm-ko-HEMA) hidrojenlerinin 385°C'ye kadar kararlı olması, bu örneklerin otoklavda sterilizasyonunun mümkün olacağını göstermiştir.
- Sıkıştırma testi sonucunda, gliserinli p(AAm-ko-HEMA) ve P(AAm-ko-HEMA) hidrojenli hidrofilik yapısı nedeniyle yapısına daha fazla miktarda su almakta ve buna bağlı olarak mekanik dayanım açısından zayıflamaktadır. Hidrojenlerin elastik modül değerlerinin literatürde tanımlanan değerlerle uyumlu olduğu belirlenmiştir.
- %5 PCL-AMX/80 dk nanofiberlerin antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesinde *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. coli* ATCC 25922 standart bakteri suşları kullanılmıştır.
- Kontrollü salım çalışmaları, fosfat tampon çözeltisinde (PBS, pH:7.4) yürütülmüştür ve AMX'in kümülatif salım değerleri belirlenmiştir. PCL matrislerin numunesinin kendi başına antimikrobiyal bir etkisinin olmadığı görülmüş, ancak ilaç içeren PCL-AMX mat numunesinin ilaç salarak bakteri üremesini engellediği Petrielerde zon oluşumlarıyla belirlenmiştir.

Sunulan tez çalışması kapsamında elde edilen tüm bu bulguların ışığında, p(AAm-ko-HEMA) hidrojenlerinin halen klinikte kullanılmakta olan mevcut yumuşak doku genişleticiye alternatif olabileceği ve sahip olduğu şişme özellikleriyle klinikteki komplikasyonları minimum düzeye indirebileceği öngörülmüştür. Bu hidrojenlerin, dokunun en zayıf olduğu yara iyileşmesi döneminde şişmeyerek dokunun iyileşmesine zaman tanıyan, daha küçük boyutta olan, daha yavaş fakat daha

yüksek derecede şişen ve aynı zamanda antimikrobiyal ajan olan yumuşak doku genişletici olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Alpay, U.C., *Doku Genişleticilerin Klinik Kullanımı*, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Şişli Eftal Hastanesi Plastik Cerrahi Kliniği, İstanbul, **1993**.
- [2] Neumann, Charles G., The expansion of an area of skin by progressive distention of a subcutaneous balloon: Use of the method for securing Skin for Subtotal reconstruction of the ear, *Plastic and Reconstructive Surgery* 19.2, 124-130, **1957**.
- [3] Varga, J., *Osmotically Active Hydrogels of Acrylics: Characterisation and Application As Tissue Expander*, Ph.D. Thesis, Department of Dermatology and Allergology, University of Szeged, **2009**.
- [4] Downes, R., M. Lavin, and R. Collin, Hydrophilic expanders for the congenital anophthalmic socket, *Advances in Ophthalmic Plastic and reconstructive Surgery* 9, 57-61, **1991**.
- [5] Lawman. A.M., Peppas, N.A., Hydrogels for controlled drug delivery, *John Wiley And Sons*, New York, 397-418, **1999**.
- [6] Lee, J., *Development of an Anisotropic Swelling Hydrogel for Tissue Expansion: Control Over the Degree, Rate and Direction of Hydrogel Swelling*, Ph.D. Thesis, Georgie Institute of Technology, **2008**.
- [7] Sop, E.S., *Doku Genişletme Amaçlı Hidrojel Sentezi Karakterizasyonu ve Şişme Kinetiği*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, **2013**.
- [8] Qui, Y., Park, K., Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, (West Lafayette, USA), *Advanced Drug Delive Reviews*, 53, 321-339, **2001**.
- [9] Gupta, P., Vermani, K., Garg, S., Hydrogels from controlled release to pH-responsive drug delivery, *Drug Discov Today*, 7, 569-578, **2002**.
- [10] Özgündüz, H.İ., *Akrilik Asit-akrilamid-poli(Vinil Alkol) İçeren Yarı-Ipn Tipi Hidrojellerin Şişme Özellikleri ve Lipaz Salım Davranışları*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, **2006**.
- [11] Bulut, M., *Makrogözenekli Poli(Akrilamid) Hidrojellerinin Hazırlanması ve Farklı Ortamlardaki Şişme Davranışlarının İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2005**.
- [12] Roseman, T.J., Carderelli, N.F., Monolithic polymer devices (Florida, USA), *Controlled Release Technikos*, 11, 46-49, **2001**.
- [13] Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., Dubovik, A.S., Grinberg, N.V., Burova, T.V., Grinberg, V.Y., Temperature-sensitive chitosan-poly (N-isopropylacrylamide) interpenetrated networks with enhanced loading capacity and controlled release properties, *Journal of Controlled Release*, 102, 629-641, **2005**.
- [14] Gümüşderelioğlu, M., Biyomalzemeler, *Bilim ve Teknik Dergisi*, Yeni Ufuklara Doğru eki, 416, **2002**.
- [15] Duran, S., Şolpan, D., Güven, O., Synthesis and characterization of acrylamide–acrylic acid hydrogels and adsorption of some textile

- dyes. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 151(1), 196-199, **1999**.
- [16] Kopecek, J., Hydrogels: From soft contact lenses and implants to self-assembled nanomaterials. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 47(22), 5929-5946, **2009**.
- [17] Wichterle, O., Lim, D., Hydrophilic gels for biological uses. *Nature*, 185, 117–118, **1960**.
- [18] Buchholz, F.L., Peppas, N.A., Superabsorbent polymers science and technology. In: ACS symposium series. Washington DC: American Chemical Society, 2, 7–9, **1994**.
- [19] Taşdelen, B., Kayaman, N., Güven, O., Baysal, B.M., Anticancer drug release pol(N-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels, *Radiation Physics and Chemistry Journal*, 73, 340-345, **2005**.
- [20] Babensee, J. E., Anderson, J. M., McIntire, L. V., Mikos, A. G., Antonios G., Host response to tissue engineered devices, (Houston, USA), *Advanced Drug Delivery Reviews*, 33, 111–139, **1998**.
- [21] Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H., Hydrogels in pharmaceutical formulations, *European Journal Pharmaceutical Biopharm*, 50, 27-46, **2000**.
- [22] Swami, S.N., *Radiation Synthesis of Polymeric Hydrogels for Swelling controlled Drug Release Studies*, Ph.D. thesis, University of Western Sydney New South Wales, Australia, **2004**.
- [23] Park, K., Shalably, S.W.W., Park, H., Biodegradable hydrogels for drug delivery, *Technomic Publishing Company Inc*, 35-66, **1993**.
- [24] Brazil, C.S., Peppas, N.A., Mechanisms of solute and drug transport in relaxing, swellable hydrophilic glassy polymers, *Journal of Polymer*, 40, 3383-3398, **1999**.
- [25] Uysal, İ., *Poli(Vinil Eter) Bazlı Ampifilik Hidrojellerin Sentezi ve Kontrollü İlaç Salım Uygulamaları*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2001**.
- [26] Vakkalanka, S.K., Brazel, C.S., Peppas, N.A., Temperature and pH sensitive terpolymers for modulated delivery of streptokinase, *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 8, 119-129, **1996**.
- [27] Bag, D.S., Alam, S., Mathur, G.N., Terpolymer smart gels: synthesis and characterizations, *Smart Material Structure*, 13, 1258-1262, **2004**.
- [28] Ostroha, J., Pong, M., Lowman, A., Dan, N., Controlling the collapse/swelling transition in charged hydrogels, *Journal of Biomaterials*, 25, 4345-4353, **2004**.
- [29] Sutani, K., Kaetsu, I., Uchida, K., Matsubara, Y., Stimulus responsive drug release from polymer gel-controlled release of ionic drug from polyampholyte gel, *Radiation Physics and Chemistry*, 64, 331-336, **2002**.

- [30] Am Ende, M.T., Hariharan, D., Peppas, N.A., Factors influencing drug and protein transport and release from ionic hydrogels, *Reactive & Functional Polymers*, 25, 127-137, **1995**.
- [31] Güven, O., Şen, M., Preparation and characterization of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogels, *Polymer*, 32, 7634-7652, **2001**.
- [32] Yücesan, D., *Polisilanların Yatyonic Ve Serbest Radikal Mekanizmaları Blok Kopolimer Sentezinde Kullanımı*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, İstanbul, **1994**.
- [33] Basan, S., Polimer kimyası, *Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları*, (Sivas, Türkiye), 1-57, **2001**.
- [34] Turan, E., *Sıcaklık Duyarlı Poli(N-t-bütillakrilamit-ko-akrilamit) Hidrojellerinin Şişme Davranışlarına Çapraz Bağlayıcı Türü ve Miktarının Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 10-20, **2005**.
- [35] Huglin, M.B., Zakarai, M.B., Swelling properties of copolymeric hydrogels prepared by gamma irradiation, *Journal of Applied Polymer Science*, 31, 457-475, **1986**.
- [36] Tanaka, T., Phase transition in polymer gels, *Scenes American Journal*, 7, 110-112, **1985**.
- [37] Flory, P.J., Rabjohn, N., Shaffer, M.C., Dependence of elastic properties of vulcanized rubber on the degree of crosslinking, *Journal of Polymer Science*, 4, 225-245, **1949**.
- [38] Flory, P.J., *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press, (Ithaca, USA), **1953**.
- [39] Gümüşderelioğlu, M., Basan, H., Orbey, T., Diclofenac sodium releasing pH-sensitive monolithic devices, *International Journal of Pharmaceutics*, 245, 191-198, **2002**.
- [40] Ulijn, R.V., Jayawarna, V., Thronton, P., Todd, S.J., Mart, R.J., Smith, A.M., Gough, J.E., Bioresponsive hydrogels, *Material Today*, (Manchester, UK), 10, 40-48, **2007**.
- [41] Lee, J., Cuddihy, M.J., Kotov, N.A., Three-dimensional cell culture matrices: state of the art, *Tissue Engineering Part B*, Michigan, 14, 61-86, **2008**.
- [42] Argenta, L. C., Marks, M. W., Pasyk, K. A., Advances in tissue expansion, *Clinics in Plastic Surgery*, 12.2, 159-171, **1985**.
- [43] Radovan, C., Tissue expansion in soft-tissue reconstruction, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 74, 482-490, **1984**.
- [44] Loiudice, J., Gosain, A. K., Pediatric tissue expansion: indications and complications, *Journal of Craniofacial Surgery*, 14, 866-872, **2003**.
- [45] Şirinoğlu, H., Ersoy, B., Tezel, E., Doku genişletici uygulamaları için yeni ve pratik bir yöntem, *Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi*, (Turk Plast Surg), 19, 51-52, **2011**.

- [46] Radovan, C., Tissue expansion in soft-tissue reconstruction, *Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*, 74, 482-490, **1984**.
- [47] Cunha, M. S., Nakamoto, H. A., Herson, M. R., Faes, J. C., Gemperli, R., Ferreira, M. C., Tissue expander complications in plastic surgery: a 10-year experience, 57, 93-97, **2002**.
- [48] Austad, E. D., Rose, G. L., A self-inflating tissue expander, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 70, 5, 588, **1982**.
- [49] Downes, R., Lavin, M., Collin, R., Hydrophilic expanders for the congenital anophthalmic socket, *Advances in Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery*, 9, 57-61, **1992**.
- [50] Wiese, K.G., Osmotically induced tissue expansion with hydrogels: a new dimension in tissue expansion: A preliminary report, *Journal of Craniomaxillofac Surgery*, 21, 309-313, **1993**.
- [51] Masaro, L., Zhu, X. X., Physical models of diffusion for polymer solutions, gels and solids, *Journal of Progress in Polymer Science*, 24(5), 731-775, **1999**.
- [52] Jackson, I.T., Sharpe, D.T., Polley, J., Costanzo, C., Rosenberg, L., Use of external reservoirs in tissue expansion, *Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*, 80, 266-271, **1987**.
- [53] Karadağ, E., Barış, Ü.Ö., Saraydin, D., Water uptake in chemically crosslinked poly (acrylamide- co-crotonic acid) hydrogels, *Journal of Materials & Design*, 26, 265-270, **2005**.
- [54] Demirdöver, C., Vayvada, H., Güç, H., Yılmaz, M., Doku genişletici uygulamalarında komplikasyonların azaltılması, *Türk Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Dergisi*, 19, 82-87, **2011**.
- [55] Lozano, S., Drucker, M., Use of tissue expanders with external ports, *Journal of Annals of Plastic Surgery*, 44, 14-17, **2000**.
- [56] Serel, S., Şen, Z., Kaya, B., Emiroğlu, M., Zeki, C., *İmplantlar ve doku genişleticiler ile meme rekonstrüksiyon*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 57, 167-173, **2004**.
- [57] Böttcher-Haberzeth, S., Kapoor, S., Meuli, M., Neuhaus, K., Biedermann, T., Reichmann, E., Schiestl, C., Osmotic expanders in children: No filling-no control-no problem, *European Journal of Pediatric Surgery*, 21, 163-167, **2011**.
- [58] Bajpai, A.K., Giri, A., Swelling dynamics of a macromolecular hydrophilic network and evaluation of its potential for controlled release of agrochemicals, *Journal of Reactive and Functional Polymers*, 53, 125-141, **2002**.
- [59] Objedin M.C., Philipp N.J., Werker P.M.N., The osmotic tissue expander:A three year clinical experience, *Journal Plast Reconstr Aesthet Surg*, 62, 1219-1222, **2009**.
- [60] Wysocki, M., Kobus, K., Szotek, S., Kobielarz, M., Kuroпка, P., Będziński, R., Biomechanical effect of rapid mucoperiosteal palatal tissue expansion

- with the use of osmotic expanders, *Journal of Biomechanics*, 44, 1313-1320, **2011**.
- [61] Wiese, K. G., Vogel, M., Guthoff, R., Gundlach, K. K., Treatment of congenital anophthalmos with self-inflating polymer expanders: a new method, *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 27, 72-76, **1999**.
- [62] Lasheen, A. E., External tissue expansion using negative pressure in upper-extremity reconstruction, *The Journal of Hand Surgery*, 31, 1694-1696, **2006**.
- [63] Awad, M. M., The effect of tissue expanders on the growing craniofacial skeleton. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 39, 22, **2006**.
- [64] Waksman, S. A., What is an antibiotic or an antibiotic substance, *Wycologia*, 39 (5), 565–569, **1947**.
- [65] Sykes. R., Penicillin: from discovery to product, *Public Health Classics*, 79, 778–9, **2001**.
- [66] Lindblad, W.J., Considerations for determining if a natural product is an effective wound-healing agent, *International Journal of Lower Extremity Wounds*, 7, 75–81, **2008**.
- [67] Forrest, R.D., Early history of wound treatment, *Journal of the Royal Society of Medicine*, 75, 198–205, **1982**.
- [68] Limbird, L.E., The receptor concept: a continuing evolution, *Molecular Interv Journal*, 4, 326–36, **2004**.
- [69] Fleming, A., Classics in infectious diseases: on the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae* by Alexander Fleming, *British Journal of Experimental Pathology*, 2, 129–39, **1980**.
- [70] Bosch, F., Rosich, L., The contributions of Paul Ehrlich to pharmacology: a tribute on the occasion of the centenary of his Nobel Prize, *Pharmacology Journal*, 82, 171–9, **2008**.
- [71] Van Epps, H.L., René Dubos: unearthing antibiotics, *Journal of Experimental Medicine*, 203, 2, 259, **2006**.
- [72] Florey, H.W., Use of micro-organisms for therapeutic purposes, *British Journal of Hospital Medicine*, 2, 635–642, **1945**.
- [73] Wilson, W., Taubert. K.A., Gewitz, M., Prevention of infective endocarditis: guidelines from the American heart association, *Circulation Journals*, 116, 1736–54, **2007**.
- [74] Zadik, Y., Findler, M., Livne, S., Dentists knowledge and implementation of the 2007 American heart association guidelines for prevention of infective endocarditis, *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 106, 16–9, **2008**.
- [75] Benet, L.Z., Effect of route of administration and distribution on drug action, *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 6, 6, 559, **1978**.
- [76] Mcgilvray, I.N., Modified release dosage forms: Drug regulatory concerns, *Pharmaceutical Industry*, 48, 647, 13, 1986.

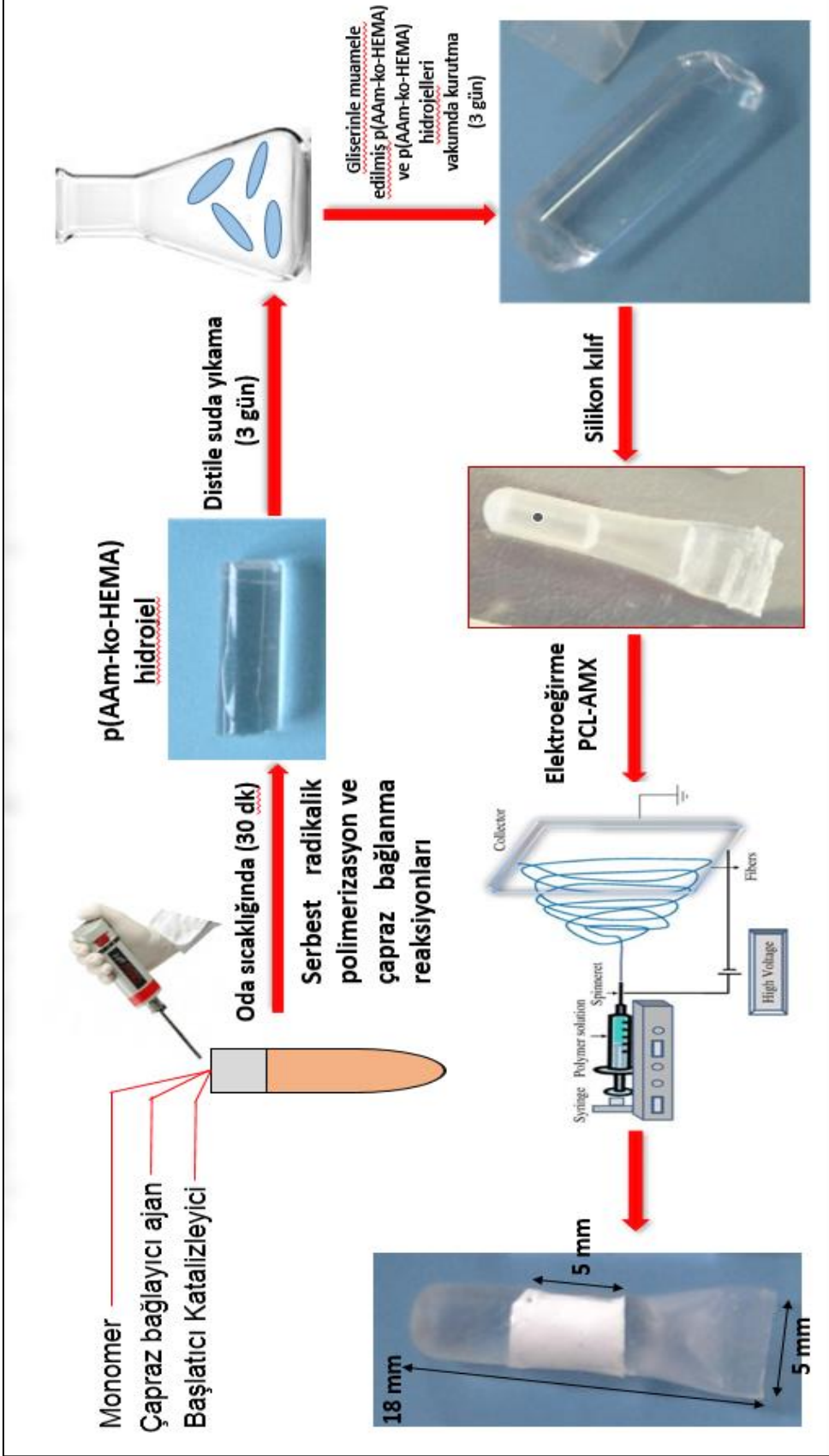
- [77] Wiegand, I., Hilper, K., Hancock, R.E.W., Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances, *Nature Protocols*, 3, 163–175, **2008**.
- [78] Spanu, T., Santangelo, R., Andreotti, F., Cascio, G.L., Velardi, G., Fadda, G., Antibiotic therapy for severe bacterial infections: correlation between the inhibitory quotient and outcome, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23, 120–8, **2004**.
- [79] Sharma, K.K., Sangraula, H., Mediratta, P.K, Some new concepts in antibacterial drug therapy, *Indian Journal of Pharmacology*, 34, 390–396, **2008**.
- [80] Finberg, R.W., Moellering, R.C., Tally, F.P., The importance of bactericidal drugs: future directions in infectious disease, *Clinical Infect Disease Journal*, 39 (9), 1314–20, **2004**.
- [81] Kaur, S. P., Rao, R., Nanda, S., A broad spectrum antibiotic, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 0975-1491, 3, **2011**.
- [82] <http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/>(Aralık, 2014).
- [83] Prieto-González, S., Escoda, R., Coloma, E., Grau, M.J., Amoxicillin-induced acute aseptic meningitis, *Journal of Clinical Neuroscience*, 18, 443–444, **2011**.
- [84] José, R., Arrieta, M.D., Alejandro, S., Galgano, M.D., Eulalia Sakano, M.D., Ximena Fonseca, M.D., Carlos. F., Amábile-Cuevas, D.S., Gerardo Hernández-Oliva, M.D., Raul Vivar, M.D., Gerardo González, M.D., Arturo Torres, M.D., Moxifloxacin vs amoxicillin/clavulanate in the treatment of acute sinusitis, *American Journal of Otolaryngology*, 28, 78–82, **2007**.
- [85] Bradley, F., Marple, M.D., Craig. S., Roberts, Pharm.D., Jennifer. R., Frytak, Ph.D., Vernon, F., Jessica, C., Wegner, Jay, F., Sonia, P., Sanchez, M.D., Azithromycin extended release vs amoxicillin/clavulanate: symptom resolution in acute sinusitis, *American Journal of Otolaryngology*, 31, 1–8, **2010**.
- [86] Valarezo E, Tammora L, Gonzalez S, Malagon O, Vittoria V, Fabrication and sustained release properties of poly(ϵ -caprolactone) electrospunfibers loaded with layered double hydroxide nanoparticles intercalated with amoxicillin, *Applied Clay Science*, 72, 104–109, **2013**.
- [87] Fuyin Zheng, F., Wang, S., Wen, S., Shen, M., Zhu, M., Shi, X., Characterization and antibacterial activity of amoxicillin-loaded electrospun nano-hydroxyapatite/poly(lactic-co-glycolic acid) composite nanofibers, *Biomaterials*, 34, 1402-1412, **2013**.
- [88] Cooley, J.F., Apparatus for electrically dispersing fluids, *U.S. Patent Specification*, 692631, **2010**.
- [89] Morton, W.J., Method of dispersing fluids, *U.S. Patent Specification*, 705691, **1902**.
- [90] Reneker, D.H., Chun, I., Nanometer diameter fibres of polymer, produced by electrospinning, *Nanotechnology*, 7, 216-223, **1996**.

- [91] Bhardwaj, N., Kundu, S.C., Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique, *Biotechnology Advances*, 28, 325-347, **2010**.
- [92] Pasinli, A., Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler, *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4, 25-34, **2004**.
- [93] Koki N., Makoto T.S., Takao A., Mitsuhiro E., Fabrication of zeolite–polymer composite nanofibers for removal of uremic toxins from kidney failure patients, *Biomaterials Science Journal*, 2, 674-679, **2014**.
- [94] LIU, Y., WANG, R., MA, H., HSIAO, B.S., CHU, B., High-flux microfiltration filters based on electrospun polyvinylalcohol nanofibrous membranes, *Journal of Polymer*, 54, 548-556, **2013**.
- [95] Li. D., Xia. Y., Electrospinning of nanofibers: reinventing the whell, *Advanced Materials*, 16, 1151–1170, **2004**.
- [96] Mami. H., Shiori. Y., Yuki. H., Yuki. S., Keizo. F., Nobuyuki. S., Asako. N., Nobuhito. S., Preparation and pharmaceutical evaluation of nano-fiber matrix supported drug delivery system using the solvent-based electrospinning method, *International Journal of Pharmaceutics*, 464, 243–251, **2014**.
- [97] Denizli, A., Kiremitçi, M., Pişkin E., Kontrollü salınım teknolojisinin kemoterapik uygulaması. *Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Beytepe, Ankem Dergisi*, Ankara, 2, 77-85, **1988**.
- [98] Welling, P.G., Oral controlled drug administration, pharmacokinetic consideration, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 9 (7), 1185-1225, **1983**.
- [99] Hui, H.W., Robinson, J., Lee, V.H.L., Desing and fabrication for oral controlled release drug delivery systems, *Controlled Drug Delivery*, (Eds: Robinson, J.R., Lee, V.H.L.) Marcel Dekker Inc., New York, 373, **1987**.
- [100] Benet, L.Z., Effect of route of administration and distribution on drug action, *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 6, 6, 559, **1978**.
- [101] Kılıçarslan, M., *Verapamil Hcl'in Kontrollü Salım Yapan Çok Birimli Oral İlaç Şekillerinin Hazırlanması*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 35-47, **1999**.
- [102] Rishchel, W. A., Bioparmaceutic and pharmacokinetic aspects in the desing of controlled release peroral drug delivery system, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 15 (687), 1073-1103, **1989**.
- [103] Read, N. W., Sugden, K., Gastrointestinal dynamics and pharmacology for the optimum desing of controlled release oral dosage forms, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 4, 221-263, **1987**.
- [104] Ordu, Ş., Özdemir, N., *Yüzen Dozaj Formlarının İnvitro İnvivo İncelenmesi*, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, **1994**.
- [105] Steward, A.P., *Review of Pharmaceutical Controlled Release Methods an Devices*, PhD Thesis, Nottingham Trent University, **1995**.

- [106] Turan, E., Caykara, T., Swelling and network parameters of pH-sensitive poly (acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, 106 (3), 2000-2007, **2007**.
- [107] Işık B., Swelling behavior of acrylamide-2-hydroxyethyl methacrylate hydrogels, *Turk Journal of chemistry*, 24, 247-156, **2000**.
- [108] Siegemund, G., Schwertfeger, W., Feiring, A., Smart, B., Behr, F., Vogel, H., *Fluorine Compounds, Organic in Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, John Wiley & Sons, 10, 11-349, **2007**.
- [109] Franklin R., Cockerill, III., CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement*, CLSI document M 100-S21, Wayne, P.A., *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 31,1, **2011**.
- [110] Wang, S., Fuyin Zheng, F., Huang, Y., Yuting Fang, Y., Shen, M., Meifang Zhu, M., Shi, X., Encapsulation of amoxicillin within laponite-doped poly(lactic-co-glycolic acid) nanofibers: preparation, characterization, and antibacterial activity, *ACS Applied Material Interfaces*, 4, 6393–6401, **2012**.

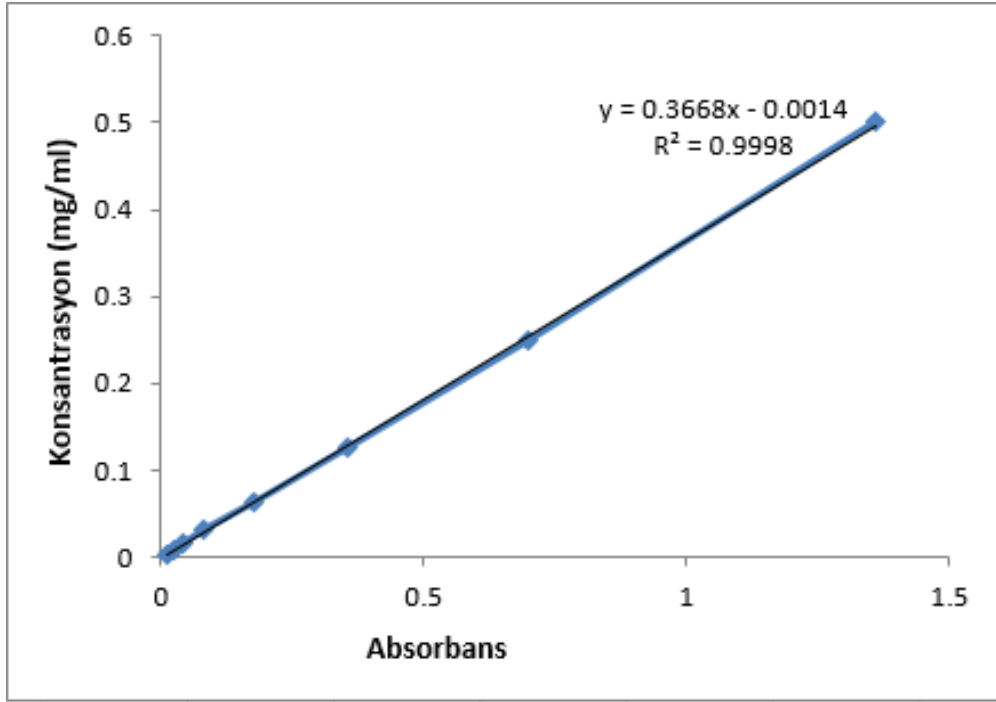
EKLER

EK-1



P(AAm-ko-HEMA) doku genişletici hidrojellerinin şematik olarak sentez aşamaları

EK-2



Amoksisilin'e ait 229 nm dalga boyundaki kalibrasyon grafiği (0.01- 1 mg/mL)

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: SAHAR SHAHIRDAVARPANAHA

Doğum Yeri: TEBRİZ

Medeni Hali: BEKAR

E-posta: sahar.sdv@gmail.com

Adresi: Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü, 06800 Beytepe Ankara

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise: ALZAHRA LİSESİ

Lisans: AZAD ÜNİVERSİTESİ

Yüksek Lisans: HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

Yabancı Dil ve Düzeyi

AZERİCE (İLERİ), İNGİLİZCE (İLERİ), TÜRKÇE (İLERİ), FARŞÇA (İLERİ), ARABCA (ORTA).

İş Deneyimi:

ALMAHDI LİSESİ (ĞÖRETMEN)

Deneyim Alanları

-

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

-

Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

The 10th Nanoscience and Nanotechnology Conference of Turkey (NanoTR10), June 17-21, 2014, Istanbul, Turkey. (ID: 469)