

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TERS İYONTOFOREZ YÖNTEMİYLE
NON-İNVAZİF KAN ŞEKERİ
ÖLÇÜMÜ**

**Anabilim Dalı: Elektronik ve Haberleşme Müh.
Programı: Biyomedikal Mühendisliği**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Müh. Mehmet Şükrü KAYNAKÇI**

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Mehmet Korürek

MAYIS 2006

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması sırasında her konuda yardımcı olan çok değerli ve saygıdeğer hocam Dr. Mehmet KORÜREK'e ve desteklerinden dolayı çalışma arkadaşlarım ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2006

Mehmet Şükrü KAYNAKÇI

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	ix
1. GİRİŞ	1
1.1 Ters İyontoforez.....	1
1.2 Stratum Korneum.....	3
1.3 Konu Üzerine Çalışmalar	4
2. DERİNİN EMPEDANS MODELLERİ VE PARAMETRELERİ	7
2.1 Derinin Empedans Modelleri.....	8
2.2 Deri Empedans Modellerinde Parametre Değişimi	10
2.3 Sonuçlar.....	11
3. TERS İYONTOFOREZ SIRASINDA TAŞIMA MEKANİZMALAR	12
3.1 Elektromigrasyon	12
3.2 Elektroosmoz	15
3.3 Elektromigrasyon veya Elektroosmoz'un Kullanımı	17
3.4 Sistemi Geliştirmede Kullanılacak Stratejiler	17
4. DERİ YÜZEYİNDEN İYONTOFOREZ İÇİN AKIM KAYNAĞI	21
4.1 İyontoforezin Temel Devresi	21
4.1.1 Gerilim Katlayıcı	22
4.1.1.1 Gerilim Katlayıcının Çalışma Prensibi	23
4.1.2 Doğru Akım Kaynağı	23
4.1.3 Akım Dalga Şekli Üreticisi.....	25
4.1.3.1 Dalga Şekli Üreticisinin Çalışma Prensibi	25
4.2 Devre Analizinden Çıkan Sonuçlar.....	27
4.3 Sonuçlar.....	28
5. TERS İYONTOFOREZ SİSTEM MODELİ	30
5.1 Maddeler ve Metotlar	33
5.2 Modelin Sonuçları.....	36
5.3 Amperometrik Biyosensör.....	37
5.3.1 Biyosensörün Veri Doğruluğu	38
5.4 Sonuçlar.....	38

6. SONUÇLAR VE ÖZET	39
6.1 Ters İyontoforezin Avantajları ve Sınırları	39
6.2 Sonuçlar	40
KAYNAKLAR	42
EKLER	44
ÖZGEÇMİŞ	45

KISALTMALAR

AC	: Alternatif akım
DC	: Doğru Akım
SC	: Stratum korneum
pH	: Hidrojen iyonları (H+) ağırlığı
Ag / AgCl	: Gümüş - Gümüş Klorür
PGE2	: Prostaglandin E2
CaCl₂	: Kalsiyum Klorür
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
NaCl	: Sodyum Klorür
KCl	: Potasyum Klorür
GO_x	: Glukoz Oksidaz
O₂	: Oksijen
H₂O₂	: Peroksit
Pt	: Platinyum
dk	: dakika
s	: saniye
m	: mili
W	: Watt
CE	: Selüloz Ester
M	: Molarite
RC	: Direnç Kapasite

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1 Fenialaninin konsantrasyona bağlı katodal alımı	6
Tablo 4.1 Ters iyontoforezde toplanan kan şekerinin konsantrasyonu ile kandaki konsantrasyonun karşılaştırılması	38

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1 İyontoforez Şeması	2
Şekil 1.2 Glucowatch Biographer.....	4
Şekil 2.1 Montague modeli	8
Şekil 2.2 Tregear modeli.....	9
Şekil 2.3 Lykken Modeli	10
Şekil 2.4 Yamamoto Modeli	10
Şekil 3.1 Ters İyontoforezin şematik diyagramı	13
Şekil 3.2 Fenitoin alımının konsantrasyona bağlı değişimi	15
Şekil 3.3 Fenialanin alımında konsantrasyona pH etkisi.....	16
Şekil 3.4 Ters iyontoforez yöntemiyle parmak delme yönetiminin karşılaştırılması	18
Şekil 4.1 Ters İyontoforezde kullanılacak akım kaynağı devresinin şeması	22
Şekil 4.2 Gerilim Katlayıcı.....	23
Şekil 4.3 Doğru Akım Kaynağı.....	24
Şekil 4.4 Akım Dalga Şekli Üretici.....	26
Şekil 4.6 Tasarlanan cihazın görünüşü	29
Şekil 4.7 Tasarlanan cihazın yakından görünüşü	29
Şekil 5.1 Ters İyontoforez sistem modeli	30
Şekil 5.2 Ters İyontoforez sistem modelinin genel görünüşü.....	32
Şekil 5.3 Ters iyontoforezde toplanan kan şekerinin konsantrasyonu	35

TERS İYONTOFOREZ YÖNTEMİYLE NON-İNVAZİF KAN ŞEKERİ ÖLÇÜMÜ

ÖZET

İyontoforez terimi yüklü maddelerin biyolojik bir zardan bir elektrik alan altında geçişini ifade eder. İyontoforez tekniği uzun zamandan beri safra kesesi teşhislerinde pilokarpini yönetmek, avuçiçi ve tabandaki hiperhizis tedavisinde, derideki ve dış kulak kanalındaki lokal anestezi amaçlı, diş hekimliğinde florid iyonlarının nüfuz etmesine yardımcı olma amaçlı kullanılmaktadır. İyontoforez tekniği ayrıca birçok ilacın deri delinmeden alınmasına olanak sağlamıştır. Son 10 yıl içerisindeki gelişmeler , iyontoforez tekniği sayesinde deri altındaki endojen maddelerin noninvazif metotla çıkarılmasına olanak sağladı. Bu işlemin ismine ters-iyontoforez ismi verildi.

Buradaki tez çalışmasındaki amaç, endojen maddelerden biri olan insan kan şekerinin non-invazif bir metotla ölçülmesine olanak sağlayan, ters-iyontoforez tekniğiyle çalışan bir ölçüm cihazı geliştirmektir. Bu amaç doğrultusunda, tezin ilk bölümünde iyontoforez ve ters iyontoforez hakkında temel teknik bilgiler verilmiş ve bu tekniklere ilişkin detaylar ele alınmıştır ve ters iyontoforeze giriş yapılmıştır. Ayrıca aynı bölümde, ters iyontoforezde en büyük etkenlerden birisi olan derinin empedansı ele alınmış ve deri empedans modelleri ortaya konulmuştur. İkinci bölümde, söz konusu ters iyontoforez sisteminde kullanılacak düşük maliyetli düşük güç tüketen ve minyatür bir doğru akım kaynağı geliştirilmiştir. Bu akım kaynağının yapısı ve devre analizi incelenmiş ve amaçları anlatılmıştır. Üçüncü bölümde ters iyontoforez sistemi için bir laboratuvar modeli geliştirilmiş, ters iyontoforezi etkileyen şartlar ve parametreleri incelenmiş ve deney sonuçlarıyla birlikte parametrelerin etkileri detaylı olarak anlatılmıştır. Bunların arkasından, kan şekerinin sistem içerisinde ölçülmesine olanak sağlayan enzimatik bir biyosensör teorik olarak incelenmiştir. Son olarak dördüncü bölümde teze ilişkin sonuçlar verilmiş ve cihazın geliştirilmesine yönelik bazı önerilerde bulunulmuştur.

NON INVASIVE GLUCOSE MONITORING WITH REVERSE IONTOPHORESIS METHOD

SUMMARY

Iontophoresis term states for transportation of charged molecules through a biologic membrane under an electric field. Since long time, iontophoresis has been used to manage pilocarpine in the diagnosis of cystic fibrosis, to treat hyperhidrosis of palms and soles, to induce local anaesthesia in the skin and external ear canal, to help penetration of fluoride ions in dentistry etc. Iontophoresis technique also help many drugs to be taken without an invasive procedure. The improvements within last 10 years, has let iontophoresis to be used in noninvasive extracting substances under the skin. This procedure has been called reverse iontophoresis.

The goal in this thesis is, to develop a glucose measurement device which monitors the glucose levels in the blood non invasively. In the scope of this goal, in the first chapter of the thesis, it was given basic technical information about iontophoresis and reverse iontophoresis and described details related to these techniques, and was taken a beginning to iontophoresis. In addition this, skin impedance model which is one of the most effective factor in reverse iontophoresis was reviewed and skin impedance models are described. In the second chapter, a miniature, low cost, low power direct current source was implemented that will be used in the future for reverse iontophoresis system. The structure and circuit analysis of this current source was investigated and goals are explained. In the third, an in vitro model has been developed for reverse iontophoresis system and the conditions and parameters that affect reverse iontophoresis has been explained with laboratory results. In addition to this, to measure the glucose that was extracted during iontophoresis a biosensor development has been advised theoretically. Consequently, in the fourth chapter the conclusion of this thesis is given and some suggestions are proposed.

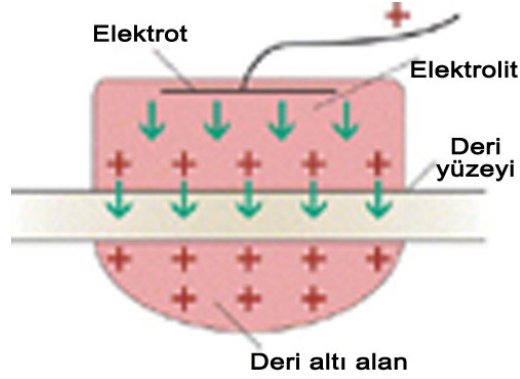
1. GİRİŞ

İyontoforez terimi non-invazif bir şekilde deri üzerinden ilaçların deri altındaki dokulara verilmesi ve deri içinden çeşitli moleküllerin ve iyonların non-invazif bir şekilde deri üzerine alınması için kullanılır. İyontoforez tekniği sayesinde, kan plazmasındaki bileşenlerin (moleküller, iyonlar vs) deri altından toplanmasıyla birlikte, hastaların görüntülenmesinin kolaylaşması düşük-maliyetli sağlık cihazlarının üretimini kolaylaştırmıştır [6]. Günümüzde üretilen belli başlı iyontoforetik cihazlar kolay taşınabilir değil ve dünya çapındaki pazarlar için oldukça pahalıdır. Burada geliştirdiğimiz sistem sayesinde düşük maliyetli, minyatür, düşük güç tüketen ve programlanabilen bir iyontoforetik cihaz geliştirilmiştir. Bu cihaz hastanın rahatlıkla yanında taşıyabileceği kadar küçük, hafif ve kullanışlıdır. Cihazdaki doğru akım kaynağı 1-300 μ A aralığında akım işareti sağlayabilmektedir. İşaretler farklı yapılarda tek kutuplu DC, çift kutuplu DC, darbeli yada darbesiz olarak üretilebilir [4]. İyontoforez yapılırken bu yapılardan birisi seçilebilir yada programlanabilir. Akım farklı empedans aralıklarında uygulanabilir, bu durum birçok medikal uygulamada son derece önem arz etmektedir. Akım kaynağı pil geriliminden bağımsız olarak çalışmaktadır ve genliği değişmemektedir. Bu da cihazın pilin azalması durumunda dahi kullanılabilir olmasını sağlamaktadır.

1.1 Ters İyontoforez

Ters iyontoforez tekniği, deri altı sıvıdan ve mikrovasküler sistemden non-invazif şekilde yüklü ve yüksüz iyonların çıkarılması işleminin temelidir. Normal şartlarda pasif difüzyon sayesinde, deri yüzeyinde bir geçirgenlik oluşur. Ters iyontoforez, deri yüzeyinde pasif geçirgenlikten çok daha fazlasıyla iyonların geçişine olanak sağlar. Bu sayede ters-iyontoforez sistemi non-invazif bir şekilde teşhis ve hasta görüntülemeyi sağlamaktadır. Ters iyontoforez ile görüntüleme, Diyabet I hastalığında kan şekeri değişiminin hassas kontrolü için iyi bir yöntem olmakla birlikte sürekli ölçüm ve kontrol mekanizmasıyla uzun-dönem komplikasyonlarını

önlemede yardımcı olmaktadır. Bu durum kan şekeri ölçümü için ters iyontoforez kullanımının önemle üzerinde durulmasına neden olmuştur. Bu konuda daha önce yapılan çalışmalar ters iyontoforez yönteminin kan şekeri ölçüm seviyelerini en az parmakla ölçümde kullanılan stripler kadar başarılı olduğunu göstermiştir. [3]



Şekil 1.1 : İyontoforez Şeması

Teşhis cihazlarında, sürekli ölçüm yada teşhisler için implant cihazların kullanımında büyük bir güç harcanmaktadır. Bu konuda bilim adamları yıllarca çalışmışlar ve günümüzde, günde birçok defa kullanılan implant glukoz sensörleri ve çeşitli deri altı sensörler üretmişlerdir. Bununla birlikte bazı mikro cihazların biyolojik canlılarda kullanımı laboratuvar ortamında test edilmiş ve laboratuvar ortamında teşhis için kullanılabilirliği öngörülmüştür. Ancak, biyosensörlerin uzun dönemli kullanımı hala ulaşılmayı bekleyen bir amaçtır. Bir biyosensörün aktif bileşenleri insan vücudunda yeniden üretilmedikçe bu konu hala tartışılacaktır. Böyle bir durumda insan derisi yüzeyinde ters iyontoforez yönteminin kullanılması çok daha büyük önem oluşturmaktadır. İnsan derisinin yüzeyi bu teknikte birçok avantajlar getirmektedir [13]. Yukarıda bahsettiğimiz gibi implant cihazların kullanımına gerek kalmadan görüntüleme ve sık kan örnekleri almada, sık alınan örnekleri test edebilmede oldukça efektif bir şekilde ters iyontoforez tekniği kullanılabilir. Moleküllerin deri üzerinden taşınması ve deri yüzeyi üzerinden taşıma yönteminin geliştirilmesi üzerine çok sık çalışmalar yapılmaktadır. Bununla birlikte moleküllerin deriden doğrudan alımı için çalışmalar çok az bulunmaktadır.

1.2 Üst Deri (“Stratum Korneum”)

Molekül taşınması için ana engel insan derisidir. İnsan derisinin stratum korneum dış katmanı iyontoforez için en önemli engeli oluşturur. Moleküllerin ve iyonların deri üzerinden taşınmaları dört anayoldan olmaktadır.

1. Hücreler Arası
2. Hücreler İçi
3. Kıllar
4. Terleme bezleri

Hücreler arası ve hücreler içi yollar belli moleküllerin hücre duvarlarından geçiş kabiliyetine yada lipofilik hücreler arası alanlar boyunca ilerleme kabiliyetlerine bağlıdır. Terleme bezleri ve kıllar yoluyla ilerleme daha rahattır ve bu konuda yapılan çalışmalar göstermiştir ki taşınan moleküller ve iyonlar deriden büyük çoğunlukla bu yolu izlemektedir. Derinin yapısı 10-25 Å alanında por büyüklükleri göstermektedir. Deri üzerinde 150/cm² kadar kıl ve terleme bezi bulunmaktadır. Ve bunların büyüklükleri mikro mertebeleri seviyesindedir (yaklaşık 40 µm).

Moleküllerin ve iyonların deri üzerinden aktarımları fiziksel olarak birkaç metotla gerçekleştirilmektedir.

1. Sonoforez (ultrason)
2. Elektroporasyon (yüksek gerilim darbesi)
3. İyontoforez (düşük seviyede doğru akım)

İyontoforez tekniğinin temeli deriye düşük seviyelerde akımın uygulanmasına dayanır (<1 mA/cm²). Bir iyontoforez devresi iyonların ve yüklü moleküllerin deri yüzeyi üzerinden yük taşıyıcıları tarafından alınması esasına dayanır. Aynı zamanda, yüksüz moleküller iyontoforez altında oluşan bu akıya kapılarak onlar da deri yüzeyinden taşınabilir. Bu olay ise elektroosmozun oluşmasına neden olur [19].

1.3 Konu Üzerine Çalışmalar

Ters iyontoforez ilk defa 1954 yılında sodyum ve potasyum iyonlarının alınması için uygulandı. Deneyler biyolojik canlılarda yapıldı ve bir metal tabaka elektrot olarak kullanıldı. 0.5 mA/cm^2 yoğunluğunda bir akım, 8.3 cm^2 deri yüzeyine 5 dakika süreyle uygulandı. 100 adet denekte denedikten sonra yaş, cinsiyet, ölçüm zamanı, ölçülen yer ve göreceli sıcaklık gibi etkenlerin, katyonda biriken maddeyi etkilemediği gözlemlendi. Fakat diğer taraftan daha uzun süreli deneylerde derinin tahriş olduğu tespit edildi. Bunun esas nedeni ise ortalama 6 -7 arasında olan pH değerinin iyontoforez sonrasında 11'e kadar yükselmesidir. Bu durum iyontoforez deneylerinde ortam pH'ından en az derecede etkilenen Ag / AgCl elektrotların kullanımının seçilmesine neden oldu.

Daha sonra 1989'lara doğru ters iyontoforezin pratik anlamdaki gücü keşfedildi. Deri üzerine alınan belli bir maddenin miktarının deri altındaki madde miktarıyla doğrusal olarak ilişkili olduğu görüldü. Bu ilişkinin önemli bazı endojen maddeler için (klonidin, teofilin ve glukoz için) geçerli olduğu gösterildi. Fazla yada az yüklü katyon, kısmı yüklü katyon ve bir nötr polar molekülün ters iyontoforez ile taşınabileceği kanıtlandı [1].



Şekil 1.2 : Glucowatch Biographer isimindeki cihazın koldaki görünümü

Daha sonraları, bilim adamlarının dikkatleri kan şekeri üzerine yoğunlaştırıldı. Non-invazif bir kan şekeri ölçüm metodunun geliştirilmesi şeker hastalığı dünyasından tıbbi açıdan çok değerli bir yarar sağlayacaktı. Klasik parmak delme yöntemi metodu

doğru ve efektif olmasına karşın hipoglisemi yada hiperglisemi hastalığını görüntülemek yada tedavi amaçlı çok az yada hiç kullanılıyordu. 1995'deki ters iyontoforez üzerinde çalışmalar yeni bir ticari ürünün geliştirilmesini sağladı – Gluowatch Biographer- Şekil 1.2 . Bu cihaz kan şekeri moleküllerinin iyontoforetik metodla deri altından alımını sağlayabilen bir cihazdır . Bu cihaz sayesinde deri altından alınan glukoz örnekleri devre üzerinde tasarlanan amperometrik bir biyosensörle ölçülüyor. Bu cihazdaki kan şekerinin elektrotarıma mekanizması elektroosmoz metoduna dayanmaktadır. Herbir rnekleme zamanında (yaklaşık 20 dk.) analiz edilecek madde miktarı çok az miktarda tespit edilebilmektedir. Bu derece küçük miktarlarda glukozun birikmesi ölçüm için son derece duyarlı analitik metodların uygulanması gerektirmektedir, bu da ancak Pt-glukoz oksidaz sensörün çok iyi bir uyumuyla sağlanabilmektedir [3].

Bunun yanında Gluowatch cihazının sınırları bulunmaktadır: cihazın ölçüm yapabilmesi için en azından 2-3 saat ısınma zamanı geçmesi gerekmekte ve cihazı kalibre edebilmek için her ölçüm öncesi bir parmak delme uygulamasına ihtiyaç olmaktadır [15].

Ters iyontoforez metodunun kan şekeri ölçümü dışındaki, diğer uygulamaları teşhis, görüntüleme ve terapik ilaç görüntüleme olarak ayrılabilir. Ters iyontoforez, cilt iltihabı için tedavi edici bir yaklaşım olarak son zamanlarda kullanılabilmektedir. Son yıllarda, Prostaglandin E2 (PGE2) maddesinin deri altından alımı ters iyontoforez metodu ile gözlemlenmiştir. Düşük akım iyontoforezde tuzun iyontoforezi biyolojik canlıda deri üzerinde herhangi bir iltihaplanmaya neden olmamıştır. Potansiyel rahatsızlık verici ilaçlar (klorpormazin, klorokuin, promazin, tetrakain ve metoklopramid) iyontoforetik olarak alınabilmektedir. Daha sonraları PGE2'nin anodal alımı tuz kontrolünde yapılmıştır. Bu konuda da başarı alınmıştır [4].

Ters iyontoforezle fenilalaninin alımı da aynı zamanda gösterilmiştir. (1999) Fenilketonüri gibi çok ciddi bir metabolik hastalıkta, fenilalanin enzimi kaybolmaktadır. Hastalığın, erken teşhisi ve diyetle kısmı kontrolü olduğua önemlidir. Bu hastalığı olan çocuklar sürekli kan örnekleri ölçümleri yaptırılmaktadır. Bu yüzden bu hastalıkta indirekt (non-invazif) bir yaklaşım olduğua önemlidir. Fenilalanin fizyolojik pH'da iyoniktir ve bu yüzden elektroosmoz metoduyla ters

iyontoforezde alınabilir. Kan şekerinde olduğu gibi katodda ölçülen madde miktarının derialtı konsantrasyonla orantılı olduğu görülmüştür. (Tablo-1.1)

Tablo 1.1 : Fenialaninin konsantrasyona bağlı katodal alımı [4]

Katoddaki elektrolit	Çıkarılan Fenilalanin miktarı (nmol/ cm ² /h)		
	1 mM	5 mM	10 mM
30 mM NaCl, pH 7.4	3.9 +- 0.2	19.5 +- 1.6	33.6 +- 2.1
15 mM NaCl, pH 7.4	6.0 +- 0.4	31.0 +- 2.5	52.0 +- 2.4
30 mM NaCl, pH 8.5	6.2 +- 0.3	32.2 +- 1.5	55.9 +- 3.0
30 mM NaCl, pH 7.4, 10 mM EDTA	6.3 +- 0.2	38.4 +- 3.9	63.4 +- 4.5
15 mM NaCl, pH 8.5, 10 mM EDTA	7.2 +- 0.7	38.3 +- 1.8	64.6 +- 4.4

Son zamanlarda, 2003 yılında, ters iyontoforez metoduyla ürenin alımı 17 hastada gerçekleştirilmiştir. Üre, elektroosmoz ile katodda belli seviyedeki bir akımla 5 dakika boyunca alım yapılmıştır. Anotta biriken üre ile, kandaki üre arasında iyi korelasyon bulunmuştur ($r^2=0.88$). Buradaki üre ölçümündeki amaç böbrek hastalarında diyalizin ne zaman yapılacağını hakkında bilgi edinmek olacaktır.

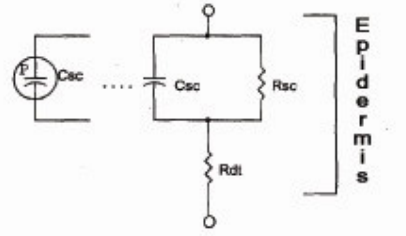
2. DERİNİN EMPEDANS MODELLERİ VE PARAMETRELERİ

Derinin empedansının değişimi deriden ters iyontoforez yönetimiyle biriken madde miktarını önemli ölçüde değiştirmektedir. Ters iyontoforezdeki şartları optimize etmek için derinin empedansının sürekli değişimi göz önüne alınmalıdır. Derinin empedansını modellemek için çeşitli elektriksel modeller oluşturulmuştur. Ayrıca optimal iyontoforez için derinin direnci ve kapasiteleriyle birlikte uyarma modunun da etkisi göz önünde bulundurulmalıdır [20].

Deri kompleks bir organ olarak, üzerinde terleme bezleri, kıl folekülleri ve kretinize deri hücreleri bulundurmaktadır. Tüm bu faktörlerin hepsinin derinin geçirgenliğinde ve iyontoforetik alımda etkisi vardır. Son yıllarda gelişen iyontoforetik cihazlarla birlikte derinin empedans faktörleri daha sık izlenmiştir ve derinin empedansını etkileyen elektrik parametreleri çıkarılmıştır.

Araştırmacılar derinin empedansının frekansa bağlı bir değişken olduğu üzerinde durmuşlardır. Bir başka deyişle, derinin empedansı frekansla ters orantılıdır. Farklı dirençler (R) ve kapasitelerin (C) kombinasyonunda oluşan bir devre gibidir. Bununla birlikte, deride herhangi bir indüktans değeri ölçülmemiştir. Bir aşama ileri götürmek gerekirse, derinin empedansının dirençler ve kapasitelerden oluştuğu üzerinde sıkı bir anlaşma söz konudur. Burada en önemli soru ne tür bir kapasite olduğudur. Genellikle biyolojik sistemlerde iki tür kapasite mevcuttur [20]. İlki iyonik akım yollarını engelleyen ince yapılardan oluşur. Bu yapılar bir dielektrik özelliği gösterir ve akımın önünü kapanıp bir kapasite gibi davranırlar. Buna ilaveten, bu tip kapasitelerin alanları basit direnç yollarına oldukça yakındır ve bu durumda RC ağları meydana getirirler. İkinci kapasiteler ise polarizasyondan kaynaklanmaktadır. Bu polarizasyon durumu elektrot / elektrolit sistemlerinde görülür ve Fricke Elektrik Polarizasyon Teorisi üzerine temellendirilmiştir. Fricke bir elektrik yükünün iyonik akıma dönüşümü, uygulanan akıma karşı bir potansiyel

negatif oluşturur. Bu da akan akışı engelleyici yöndedir. Bu engelleyici güç uygulanan bir frekansa göre kapasite gibi davranır.



Şekil 2.1 : Montague modeli [20]

Derinin empedansı için iki farklı metot geliştirilmiştir. Birinci metot büyük aralıklarda uygulanan bir AC işarete dayanır. Uygulanan gerilimi ve oluşan akımı takip ederek belli bir frekans spektrumunda derinin empedansı bulunabilir. Diğer metot, kare dalga darbeler uygulayarak akım cevaplarını okumaktır [4]. Bu teknik başlangıç akımını ölçmeye ve her bir kare darbeye kararlı durum akımını tespit etmeye yardımcı olmaktadır. Bu başlangıç akımı ve kararlı durum akımları kullanılarak aşağıdakine benzer modeller analiz edilecektir.

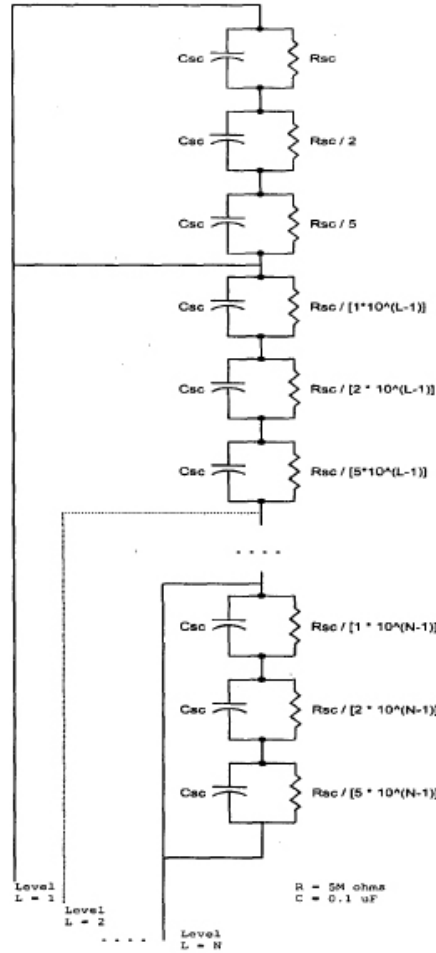
2.1 Derinin Empedans Modelleri

İlk deri empedans modellerinden birisi, Cole tarafından geliştirilen, bir polarizasyon kapasitesinin (C_{sc}) bir dirençle (R_{sc}) birlikte paralel kullanılmasıdır. $R_{sc} - C_{sc}$ paralel kombinasyonu seri bir dirençle (R_{dt}) seri olarak bağlıdır. R_{sc} , stratum korneumun direncini ifade etmektedir. SC epidermisin en üst katmanıdır ve bir lipid çift tabakanın altına gömülmüştür. Hücrelerin bu şekildeki bir kombinasyonu çok efektif bir bariyer sağlar. Böylece maddeler derinin dışına çıkamaz ve giremezler. R_{dt} daha derindeki dokunun direncini ifade eder. Bu bileşenlerin çeşitli değerleri kaynaklardan alınmıştır. Bu konuda yapılan çalışmalar R_{sc} değerinin 79- 5000 $k\Omega \text{ cm}^2$ aralığında olduğunu göstermiştir. Ve R_{dt} ise 01-1.0 $k\Omega \text{ cm}^2$ olarak değişmektedir [3].

İkinci bir model Montague tarafından geliştirilmiştir (Şekil 2.1). Bu modelde deri kapasitesi polarizasyon kapasitesi yerine konulmuştur. Bununla birlikte bu model Cole deri empedans modelinde olan dielektrik bazlı bir kapasitenin paralel olarak bağlanmasıyla oluşmuştur. Burada dielektrik kapasite R_{sc} ile paralel bağlanmıştır. Bu model iyontoforetik bir devrede kullanılan modele oldukça eşdeğerdir. Bu modelin

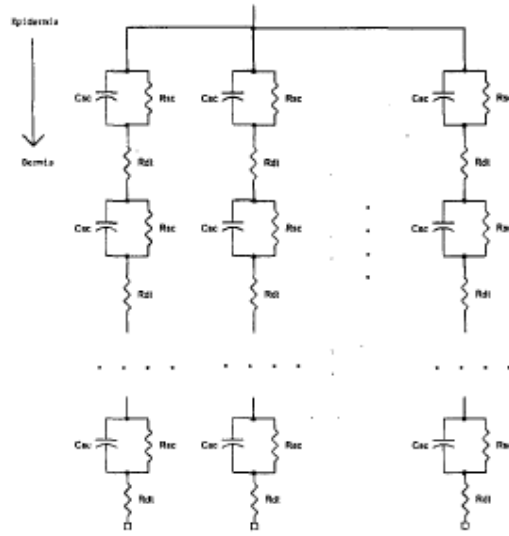
yapısı devre analizi yapılması açısından oldukça avantajlıdır. Çünkü devrede üç pasif eleman vardır. Bu devre elemanlarının fonksiyonları iyi karakterize edilmiştir [16].

Tregear, Montague'un hesaba katmadığı bireysel hücre katmanlarını da hesaba katarak bu modeli geliştirmiştir (Şekil 2.2). Birden fazla paralel RC devreleri bu kapasite ve dirençlerini temsil edebilir. Tregear ve diğerleri stratum korneumun kapasite ve dirençlerinin stratum korneum katmanları kaldırıldıkça azaldığını gösterir. Bu buluş iki açıdan önemlidir. 1- Stratum korneumun katmanlarıyla deri empedansı arasındaki ilişkiyi gösterir 2- Stratum korneum, tek başına deri empedansında en büyük etkiyi oluşturur.



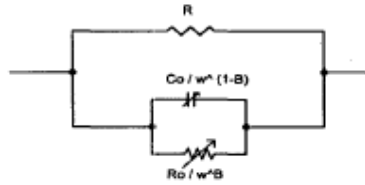
Şekil 2.2 : Tregear modeli [20]

Tüm modellerin sonrasında, Lykken, Tregear modeline seri dirençler ekleyerek modeli geliştirmiş ve derin doku dirençlerini hesaba katmıştır (Şekil 2.3). Bu durumda bir R-RC-R-RC modelinin daha önceki sistemleri göre daha doğru olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 2.3 : Lykken Modeli [20]

Diğer bir model Yamamoto tarafından sunulmuştur (Şekil 2.4). Üç elemanın olduğu tek olmakla birlikte paralel direnç ve kapasite değerleri lineer değildir.



Şekil 2.4 : Yamamoto Modeli [20]

2.2 Deri Empedans Modellerinde Parametre Değişimi

Birkaç memelide yapılan deri empedans parametreleri deneylerinde stratum korneumun direnç ve kapasite değerleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. R_{sc} değerlerinin 0.5 k Ω ile 5000 k Ω arasında değiştiği görülmüştür. Bunlarla birlikte

kapasite değerleri çok az değişmekte yada en fazla 1 üssünde arttığı görülmüştür. Frekans spektrumu DC den 1 Mhz 'e kadar bir veri kümesinde kullanılmıştır [20].

2.3 Sonuçlar

Günümüze kadar birden fazla deri empedans modeli geliştirilmiştir, her birisinin avantajları ve dezavantajları vardır. Üç elemanlı Cole modeli ve Montague modeli birbiriyle neredeyse aynıdır. Fakat Cole ayrıca polarizasyon kapasitesi yerine dielektrik kapasite kullanmıştır. Fakat birçok araştırmacı basit dielektrik bazlı kapasitenin uygun bir model olmadığı konusunda hem fikirdir. Üç elemanlı Montague modeli deri empedanslarını temsil etmede en çok kullanılan modeldir. En çok kullanılmasının nedenleri, simülasyonun kolay olması, parametre analizlerinin kolay yapılabilmesi olarak sayılabilir. Tregear modeli ise epidermisin bireysel katmanlarının içerisindeki kapasiteleri de hesaba katmıştır. Lykken'in derin doku direncini Tregear modeline eklemesi de ayrıca önemlidir [20].

Bununla birlikte deneylerde görülen değişiklikler tam doğru paralel direnç ve kapasite değerlerinin bulunmasına engel olmuştur. Bunun başlıca nedenleri: memelilerin deri tiplerinin farklılığı, iyontoforetik sürüm frekansı, iyontoforetik akım şekli, elektrot büyüklüğü, deri su içeriği vb. olarak sayılabilir [8].

3. TERS İYONTOFOREZ SIRASINDA TAŞIMA MEKANİZMALARI

3.1 Elektromigrasyon

Klasik olarak iyontoforezde, bir doğru akım uygulandığında elektronların bir elektrottan diğerine akışı bir iyon akısına dönüşür. İyontoforezde kullanılacak bir güç kaynağı elektrik akım doğurarak elektronların bu devre üzerinden göç etmesine neden olur. Elektronlar devrenin elektriksel kısmına doğru göç ederler. İyonlar ise iyonik kısma göç ederler. Bu durum öylesine dengelidir ki devrenin elektriksel kısmına doğru akan elektronların sayısı deriye doğru akan iyonik yükün miktarıyla dengelenir. Elektromigrasyonun iyontoforetik taşımaya katkısı akım uygulanmasının direkt bir sonucudur. Deri yüzeyinden oluşan iyonik taşıma elektronötralizasyonu oluşturmak içindir. Sabit durum taşımaya Faraday'ın kanunu uygulanır ve bir membrandan geçen elektrik akımı ile iyonların sayısı birbiriyle ilişkilidir. Aynı zamanda göç eden iyonların sayısı akımın uygulandığı zamana ve iyonun yüküne de bağlıdır [13].

$$M_i = T_i / Fz_i \quad (3.1)$$

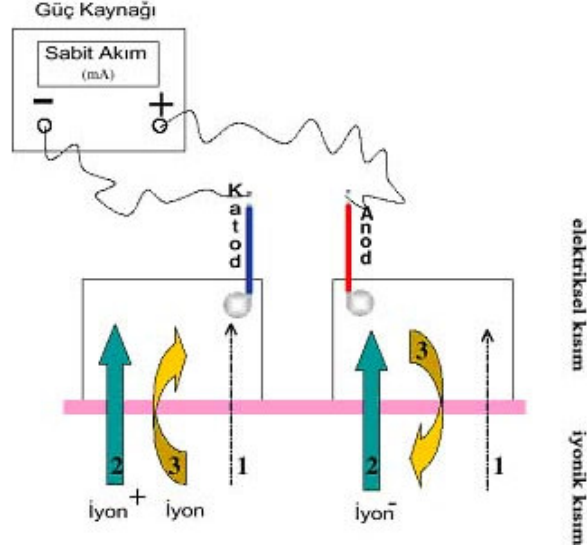
M_i : i.nci iyonun molü

T : Zaman (s)

z_i : i.nci iyonun valansı

F : Faraday sabiti (96487 C/mol⁻¹)

i_i : i.nci tür tarafından taşınan akımın büyüklüğü (A)



Şekil 3.1 : Ters İyontoforezin şematik diyagramı. Katyonik ve nötr maddeler katoda doğru elektromigrasyon (2), elektroosmoz (3) ve pasif difüzyon (1) ile iletilir.

Bariyer (stratum korneum) üzerinden birden fazla iyonun hareket ettiğini düşünerek, taşınan toplam molün sayısı (M) toplam akan akım (I) cinsinden şu şekilde verilebilir :

$$M = \sum M_i = (T/F) \times \sum i_i / z_i \quad (3.2)$$

$$I = \sum i_i$$

Bu formül iyon taşıma numarası (taşıma etkisi) adında bir kavramı gündeme getirir:

$$t_i = i_i / I \quad (3.3)$$

Yukarıdaki formüller çerçevesinde ilk eşitlik şu şekilde yazılabilir:

$$M_i = t_i \times I \times T / Fz_i \quad (3.4)$$

Bu bakış açısından yola çıkarak deneysel ölçülen deriden alış akısını J_i (mol/s) olarak tanımlayabiliriz. Bu akı taşınan mol sayısının örnekleme zamanına oranıdır.

$$J_i = M_i / T = t_i \times I / Fz_i \quad (3.5)$$

(3.5).eşitliğinde görüldüğü gibi iyontoforetik alım akımının yoğunluğuyla tespit edilir. Bununla birlikte iyontoforez zamanı, söz konusu iyonun taşıma numarası ve yükü de etkilidir. Akım yoğunluğu (I) direkt olarak ve kolayca güç kaynağı tarafından kontrol edilir; fakat sınırlıdır. Pratikte biyolojik canlı üzerinde 0.5 mA/cm^2 yi geçmemelidir. Her bir alım zamanı ise yeteri kadar uzun olmalıdır. Bu zaman sayesinde tespit için gerekli yeterli analiz madde miktarı birikmiş olmalıdır. Diğer yandan zamanın çok uzun tutulması sistemin konsantrasyonunda klinik açıdan önemli değişimler oluşturmaktadır. Her durumda ters iyontoforezde, belli bir örnekleme periyodunda, vücuttan analiz için gerekli olan madde miktarının ortalama seviyesi elde edilebilir [9].

Alınan iyonun yükü (z_i) moleküler yapısıyla belirlenir ve örnekleme-analiz gerçekleştirilecek elektrodun polaritesini belirler [8]. Taşıma numarası öte yandan teorik olarak tahmini zor olan bir kavramdır. Çünkü deri üzerinden yüklerin taşınması esnasında diğer iyonların da taşımaya katkısı olduğundan bu kavram diğer iyonlara da bağlıdır. Membran üzerinde bir elektrik alan oluştuğunda, iyonlar her iki taraftan yüklerinin yönlendirdikleri yöne doğru hareket ederler. Bir iyonun hareket hızı onun fizikokimyasal karakteristiğine ve iyonun hareket ettiği ortamın özelliklerine bağlıdır. Bireysel iyonik yüklerin toplamı güç kaynağı tarafından alınan elektronların sayısına eşit olmalıdır.

Üzerinde çalışılan iyonun taşıma numarası aşağıdaki gibi ifade edilebilir :

$$t_i = c_i z_i u_i / \sum c_j z_j u_j \quad (3.6)$$

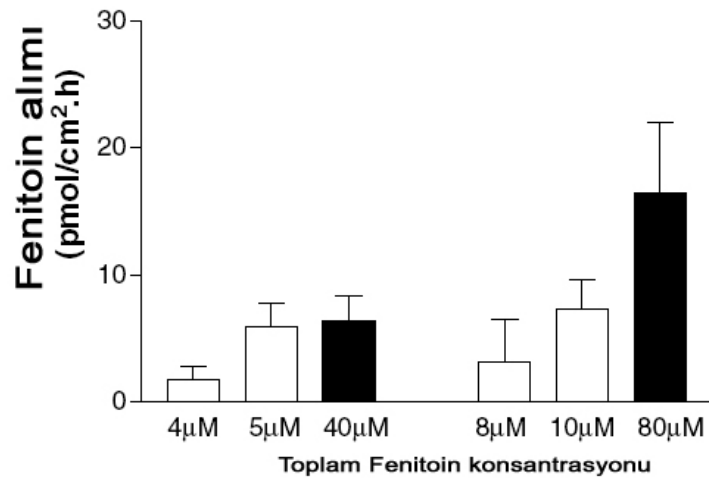
c_j : konsantrasyon (mol / cm^3)

z_j : valans

u_j : sistemdeki iyonların herbirisinin mobilitesi ($\text{cm}^2 \times \text{s}^{-1} \times \text{V}^{-1}$)

Mantıksal olarak taşıma numarası konsantrasyona bağlıdır. Benzer şekilde daha hareketli olan iyonlar taşıma numarasında daha fazla etkilidir ve yükün hareketinde daha büyük bir rol oynarlar. Öte yandan unutulmamalıdır ki konsantrasyonun ve mobilitenin derideki göreceli değerleri bunların tahminlerini daha güç kılmakta ve eşitliğin sınırlarını ifade etmektedir [17].

Ters iyontoforezde çözeltinin konsantrasyonu esas ilgilenilen değişkendir ve ilgili farmakokinetiklere ve dozajlara bağlıdır. Bununla birlikte, elektromigrasyona bağlı kalarak çözeltinin iyonize olmuş kısmı alındığında bu kısmın ilgili pK_a ' a bağlı olduğu görülecektir. Benzer olarak proteinlere bağlı çözeltiler için açıktır ki sadece serbest kısım yük taşımada önemli katkı sağlamaktadır. Şekil-3.2 fenitoinin alımını göstermiştir. Fenitoin %90 oranında albümine bağlı bir ilaçtır. İyonik mobilitede taşımının gerçekleştiği ortamdan bağımsız olarak, moleküler büyüklüğün ters etki yaptığı kanıtlanmıştır (bu sebepten dolayı bağımsız maddelerin ters iyontoforez yöntemiyle alımı mümkün olmuştur) [11].



Şekil 3.2 : Fenitoin alımının konsantrasyona bağlı değişimi. İçi boş sütunlar albumin olmadığı ortamda, içi dolu sütunlar ise albumin bulunan ortamı temsil etmektedir [9].

Özetlemek gerekirse bir iyon küçükse, tam olarak yüklüyse, yüksek konsantrasyondaysa ve proteine bağlı değilse ana yük taşıyıcı olarak fonksiyon görebilir. Taşıma numarasının birkaç şarta bağlı ve eşitlikle ifade edilebilen bir parametre olduğunu söylenebilir. Deneysel olarak taşıma numarası şöyle tespit edilebilir. [10] Örneğin toplam iyon miktarının toplam alınan yüke oranı olarak (Eşitlik 3.1 ve Eşitlik 3.6) Faraday'ın kanunu kullanılarak bulunmuştur

3.2 Elektroosmoz

Fizyolojik pH'da deri negatif yüklüdür ve katyon seçici geçirgendir. Bir elektrik alanı uygulandığında anottan katoda doğru elektroosmotik çözücü akımı oluşur (iyon göçü yönünün tersi). Bu çözücü akışı nötr ve polar moleküllerin taşınmalarında

büyük bir artışa yol açar. Elektroosmoz bu yüzden katyonların taşınmasını hızlandırmasına rağmen anyonların taşınmasında ters bir rol oynar.

Bu mekanizmanın önemli karakteristiği ilk olarak çözücü hacminin akışıdır (J_{vs} , hacim x zaman⁻¹ x alan⁻¹). Deri üzerinden potansiyel gradyanla orantılıdır. Ve ikinci olarak çözücünün elektroosmotik akışı moleküler büyüklükten bağımsızdır.

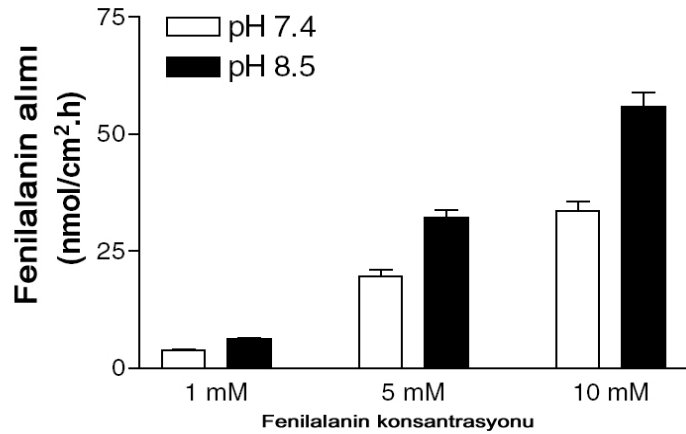
$$J_i = J_{vs}c_i \quad (3.7)$$

J_i : i.nci çözücünün molar akışı

c_i : molar konsantrasyon

J_{vs} : çözücü hacmi akışı

Birçok deneyde J_{vs} 'nin değeri iyontoforezde 6-19 $\mu\text{l h}^{-1} \text{mA}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Akım yoğunluğuna bağlı olarak bulunan pH ve iyonik dayanıklılık elektrot formülasyon parametrelerindedir. Bu parametreler elektroosmoz doğrudan etkiler. Derinin her iki tarafından birinde pH'ı değiştirmek membranın üzerinde yük değişimine sebep olabilir. Sonuç olarak derinin seçici geçirgenliğini etkiler. Pratik olarak sadece yüzeydeki pH biyolojik canlılarda değiştirilebilir. Şekil-3.3, fenilalaninin pH değişimiyle katodik alımının nasıl değiştiğini göstermektedir. Burdan çıkarılacak sonuçla fenilalaninin alımı pH arttıkça artmaktadır, tam tersi durumda asidik pH'da ise katot odacığı önemli ölçüde elektroosmoz elektrodta taşımaktadır. Bu durumda alımı tam tersi yönde arttırmakta ve derideki sabit yükün nötralizasyon değerine sebep olmaktadır [19].



Şekil 3.3 : Fenilalanin alımında konsantrasyona pH'in etkisi. [19]

Katodal alım için elektroosmotik akışın arttırılması elektrot formülasyonun iyonik dayanıklılığının azaltılmasına bağlıdır. Bu teori anodal alım için henüz kanıtlanmamıştır. Öte yandan elektrot odacıklarında belli seviyede elektrolitin olması gerekmektedir (özellikle anot tarafında). Bu sayede Ag / AgCl elektrokimyası desteklenir.

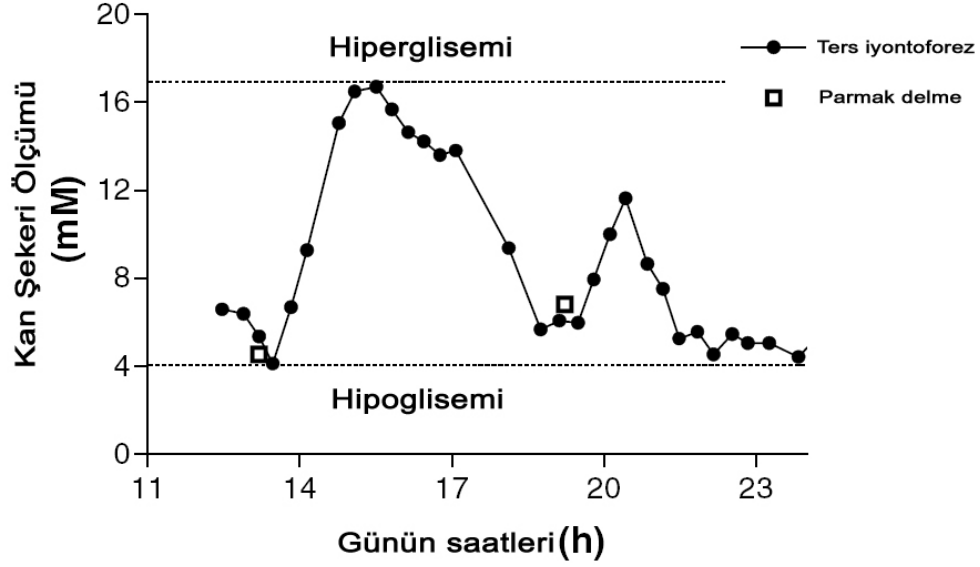
NaCl yerine, CaCl₂ veya MgCl₂'nin anot formülasyonunda kullanılması anot tarafına doğru elektroosmotik akışı hızlandırmaktadır. Bu kullanımın sayesinde derideki net negatif yükün korunması sağlanabilmektedir. Tersine elektroosmozun baskın olduğu katot odacığında arttırılmış çözücü akışı elektrotların Ca⁺⁺ solüsyonuyla banyo yaptırılmasıyla artar.

3.3 Elektromigrasyon veya Elektroosmoz'un Kullanımı

Küçük mobil iyonlar için elektromigrasyon temel mekanizma olarak gözükmektedir. Benzer şekilde nötr, polar maddeler için elektroosmoz baskındır. Bunun nedeni elektrottan elektromigrasyonun bu maddeler için mümkün olmamasıdır. Her iki elektro taşıma mekanizmaları uygulanan akıma bağlıdır. Fakat bu akım elektroosmoz için daha az baskındır. İyonun büyüklüğü arttıkça mobilitesi düşer ve elektromigrasyon arka planda kalır. Katyonlar için bu şu anlama gelir; molekül büyüklüğü arttıkça baskın mekanizma elektromigrasyondan elektroosmoza değişir. Anyonlar için diğer taraftan her iki katkı da tümüyle kendini yok eder ve hiçbir taşıma gözlemlenmez. Bir zayıf asit bu yüzden katoda nötr yapısı olarak daha rahat alınabilir.

3.4 Sistemi Geliştirmek İçin Kullanılacak Stratejiler

Ters iyontoforezin kullanıldığı uygulamaların alanlarını arttırmak ve kullanılan teknolojiyi geliştirmek için üç temel strateji akla gelmektedir. En açık olarak, analitik duyarlılığın geliştirilmesi tercih edilmelidir. Tespit edilebilen miktarın daha düşük olması, potensiyel adayların artması ve örnekleme için daha az zamana ihtiyaç duyulması anlamına gelmektedir [11].



Şekil 3.4 : Ters iyontoforez yöntemiyle parmak delme yönetiminin karşılaştırılması [5]

İkinci olarak, iyontoforetik şartların optimizasyonu maksimum alım maddesinin toplanmasını sağlayacaktır. Bu yüzden, doğru akımı seçmek, akım yoğunluğunu, akım profilini vb. önemli olmaktadır. İyontoforetik taşımanın uygulan akım ve akım uygulama zamanıyla orantılı olduğu anlaşılmıştır. Fakat pratikte bu parametrelerin artırılması için sınırlar bulunmaktadır.

Örneğin akım için bu değer maksimum 0.5 mA/cm^2 olarak bulunmuştur. Bu durumda akımı artırmak için uygulanan yüzeyi artırmak gerekecektir. Akımın artırılması durumunda başka sıkıntılarda ortaya çıkmaktadır:

1- Daha fazla akım Ag/AgCl elektrotların daha fazla AgCl ile kaplanmasını gerektirmektedir. Ancak bu sayede örnekleme zamanında doğru elektrokimya işlemi garantilenebilir.

2- Daha fazla alan ise daha örneğin toplandığı daha büyük bir hacim anlamına gelmektedir. Bu ise analitik metotta daha fazla ihtiyaçlar gerektirmektedir. Derinin iyontoforez işlemi sırasında kızarması ve tahriş olması darbeleri akım farklı frekanslarda kullanıldığında daha az olacağı tavsiye edilmektedir. Fakat pratik sonuçlar tahriş etkisi bulunmadığını göstermiştir. Bununla birlikte darbeleri akımda da akım “sıfır” düzeyine düştüğünde madde alım zamanının arttığı gözlemlenmiştir. AC

akımın ise herhangi bir yararı gözlemlenmemiştir; öte yandan, her bir örnekleme zamanı sonrasında elektrotların polaritelerinin değiştirilmesi Ag/AgCl elektrotların tekrar oluşumu açısından çok büyük avantaj sağlamaktadır [2].

Üçüncü strateji olarak bir kan örneğinin kalibrasyon için alınmasını önlemek için bir metod geliştirilmesi olacaktır. Her bir örnekleme zamanı sonrasında biriken madde 1 µl den daha az olmaktadır. Ve bu miktar 400 µl olacak şekilde seyreltilmektedir. Bu da yaklaşık olarak kan şekerinin üç katı kadar bir seyrelmeye neden olmaktadır. Kalibrasyon bu yüzden kandaki konsantrasyonla ilişkilendirmek için gerekli olmaktadır. Bunun altında yatan temel düşünce ise şudur:

Ters iyontoforez esnasında birden fazla sayıda bileşenin alımı gerçekleşir. Analizi yapılacak madde (A) ile ikinci olarak gelen madde (B)'nin analizleri aynı anda gerçekleşecektir. Bu ikinci molekülün (B) kandaki konsantrasyonu etkin bir biçimde sabit olduğu varsayılabilir. Bu durumda A ve B arasında toplanan konsantrasyon ve kandaki konsantrasyonları açısından bir ilişki söz konusudur [4].

J_A / J_B derialtı konsantrasyonlarını gösterebilir,

C_A / C_B kandaki konsantrasyonlarını gösterebilir,

$$J_A / J_B = K C_A / C_B \quad (3.8)$$

gibi bir ilişki söz konusudur. Bu durumda C_B nin kandaki konsantrasyonunun sabit olduğunu varsayarak;

$$C_A = (C_B / K) \times (J_A / J_B) \quad (3.9)$$

elde edilir.

Bu durumda sabit olan K sabiti bir şekilde belirlenirse, ve seçilen deneklerde bunun değişmeyen bir sabit olduğu gösterilirse, J_A / J_B oranı K ile bulunarak tespit edilebilir. Bu varsayımın geçerliliği ancak A maddesinin (burada kan şekeri) taşıma numarasındaki değişimin B tarafından tamamlanmaması kaydıyla mümkün görülmektedir. Bu durumda yukarıdaki (3.9) eşitliği geçersizleşmektedir [15].

Bu şekilde valporat adlı bir madde üzerine yapılan daha önceki ters iyontoz deneylerinde,

4. İlgilenilen maddenin alımı deri altı konsantrasyonuyla lineer olarak ilişkili bulunmuştur.
5. İlgilenilen madde ile birlikte alınan glutamat adlı maddenin valporat konsantrasyonu değıştikçe sabit kaldığı gözlemlenmiştir.
6. Valporat ve glutamatın alım konsantrasyonları deri altı konsantrasyonuyla orantılı bulunmuştur.

Aynı sonuçlar Li^+ ve Na^+ içinde geçerlidir. Sodyum iyonu ters iyontoz için kullanışlı ve pratik bir madde olmaktadır. Bunun nedeni ise biyolojik canlıda NaCl konsantrasyonunun 125-145 mM aralığının dışına çıkmamasıdır. Na^+ ters iyontoz için katoda taşımada ana taşıyıcı rolü üstlenmektedir. Aynı şekilde Cl^- de anoda taşımada aynı etkiyi göstermektedir. Biyolojik canlılarda bu iki konsantrasyonun sabit kaldığı gözlemlenmiştir. Ve bir K katsayısıyla orantılı olduğu görülmüştür.

4. DERİ YÜZEYİNDEN TERS İYONTOFOREZ İÇİN AKIM KAYNAĞI

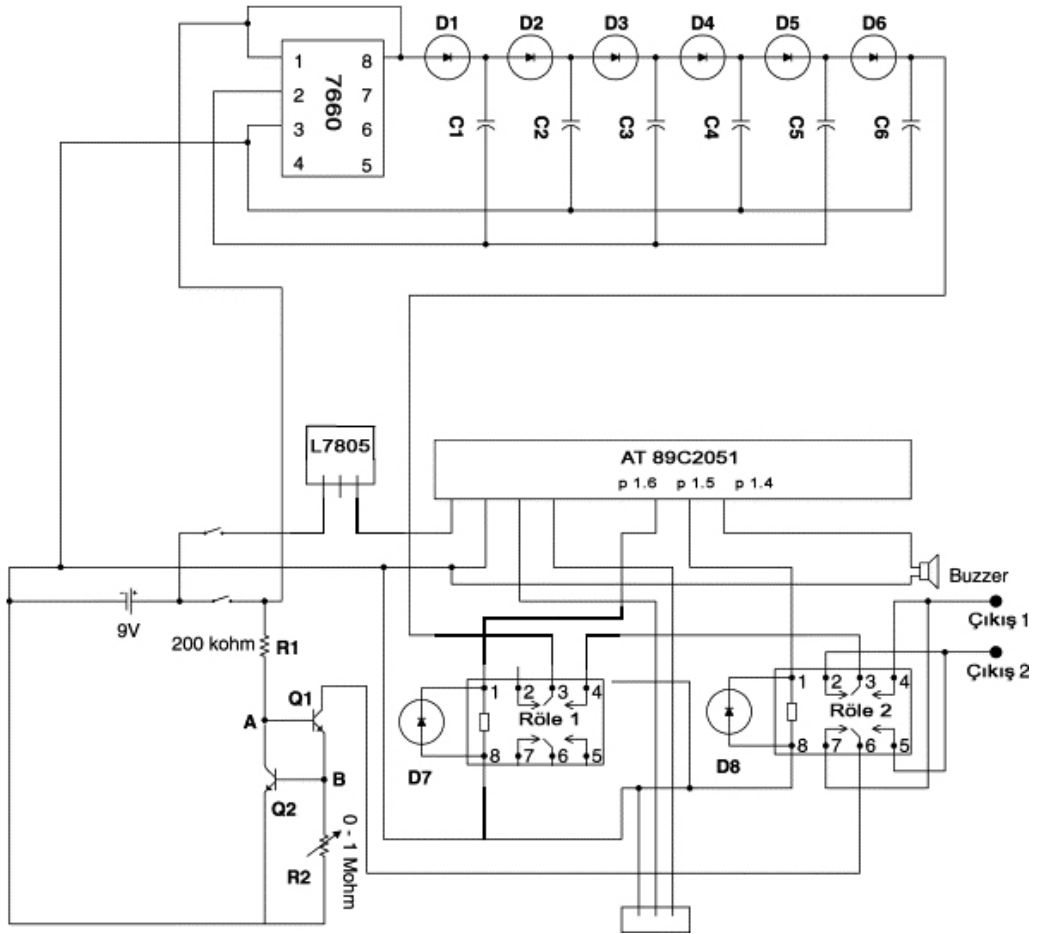
4.1 Ters İyontoforezin Temel Devresi

Temel bir iyontoforetik cihaz anod ve katoda bağlı bir güç kaynağından (pil) oluşur, bu anod ve katod uçları derinin yüzeyine iyi bir iletken ortamda temas ederler. Elektrotlar için tercih edilen metal Ag/AgCl elektrodudur; bu elektrotlar değiştirilebilir ve deriyle temasta oluşabilecek pH değişimlerinden etkilenmezler. Fakat bu tip elektrotların dezavantajı klor iyonlarını anotta tüketmeleri ve katoda yığılmalarıdır. Örneğin, anyonik ilaçların akısı katoda biriken klordan dolayı yavaş yavaş azalmaya başlar. Örneğin platin elektrotun kullanması suyun hidroliziyle sonuçlandığı ve adım adım ve önemli ölçüde pH değişimlerine neden olduğundan tavsiye edilmez. Bu sonuç deri tahrişatına ve derinin seçici geçirgenliğinin ve/veya ilaç iyonizasyonuna sebep olur. Alternatif olarak pH seviyesini sabit tutmak için yüksek iyon kuvvetli tamponların kullanımı söz konusu iyonların geçiş etkinliğini azaltır. Elektrotların seçimi bu yüzden son derece önemlidir. [11] .

Bu tezde aşağıdaki gibi düşük-maliyetli, düşük- güç tüketen minyatür ve programlanabilir bir cihaz tasarlanacaktır. Yapılacak devre iyontoforez ve ters iyontoforez akımlarının alınmasında kullanılabilir. Yaptığımız ölçümler ve performans analizleri sonrasında devrenin değişen deri empedansları üzerinde rahatlıkla uygulanabildiği, farklı genlik ve dalga şekillerinde üretim yapılabildiğini göstermiştir. Cihaz taşınabilir bir özellik göstermekte ve iyontoforez sırasında hasta tarafından rahatlıkla kola takılabilecek boyuta getirilebilir olup, ilaç alımı yada kandan örnek alımı için kullanılabilir. Cihaz uygun elektrotlarla ilaç alımı ve indirekt hasta izleme için kullanılabilir [14] .

Devrenin şematik diyagramı Şekil-4.1'de gösterilmiştir. Bu devre pil tarafından beslemeli (9V) olarak çalışmakta ve 1-300 μ A aralığında doğru akım üretmektedir. Devre temel olarak üç kısımdan oluşmaktadır.

- (i) Gerilim Katlayıcı
- (ii) Doğru akım kaynağı
- (iii) Akım- dalga şekli üreticisi



Şekil 4.1 : Ters İyontoforezde kullanılacak akım kaynağı devresinin şeması

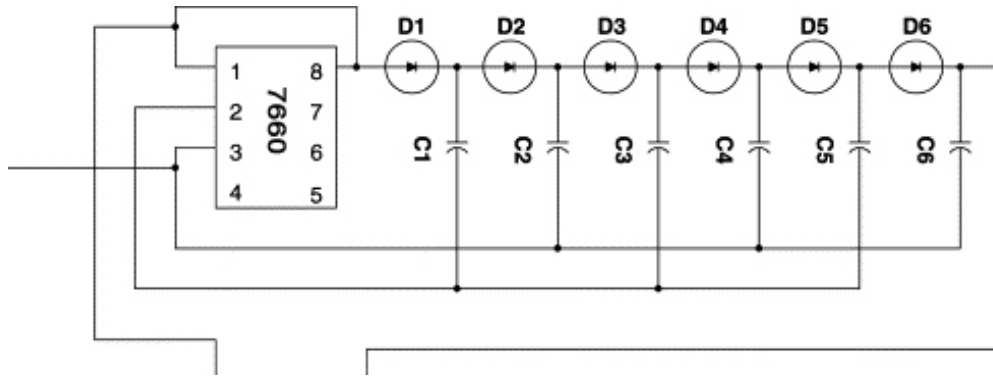
4.1.1 Gerilim Katlayıcı

Bu kısım bir tümdevre IL 7660, altı adet diyot ve altı adet 10 μ F-35 V kapasiteden oluşmaktadır. Tümdevre bir yük pompalayıcı görevi görmektedir. Tümdevrenin 1 numaralı bacağı +9V gerilim kaynağına bağlanmıştır. Bu sayede osilatör frekansı

(7-10 Khz) altı katı kadar artırılmıştır. Böylece katlanan gerilimden dolayı oluşabilecek dalgalanma engellenmiştir [16] .

4.1.1.1 Gerilim Katlayıcının Çalışma Prensibi

Tümdevrenin IL 7660 , 2 nolu bacağı +9 ile 0 gerilimi arasında sürekli değişmektedir. Değişim frekansı 42-60 kHz mertebesindedir. 2 nolu bacak 0V gerilim olduğunda C1,C3, ve C5 kapasiteleri +9V gerilime dolar . Bu dolum D1, D1-D3 ve D1-D5 diyotları boyunca gerçekleşir. 2 nolu bacak +9V'a değiştiğinde C1 , C3 ve C5 'in negatif bacakları +9V'a çekilir. Çünkü D1 diyodu akımın pile doğru akmasını engeller. Yük C1 üzerinden C2'ye D2 diyotundan geçerek akar. Böylece, C2 nerdeyse +18 V değerine katlanır. (+9V pilden, +9V ise C1'den) Benzer şekilde, D3 diyodu akımın geri akmasını engeller yük C3 'den C4 'e D4 diyodu boyunca akar. Bu yüzden, C4 kapasitesi +27 V gerilime kadar katlanır. (+18 V C2'den artı +9V C3'den). Daha önceki durum gibi D5 akımın geri gelmesini engeller, yük C5 kapasitesinden C6'ya akar ve C6 yaklaşık olarak +36 V gerilime katlanır. (+27 V C4'den artı +9V C5'den) Böylece sabit bir akımda C6 üzerinden +36 V elde edilmiş olur [13] .



Şekil 4.2 : Devrenin Gerilim Katlayıcı Kısmı

4.1.2 Doğru Akım Kaynağı

Bu kısım iki adet tranzistör (Q1 ve Q2), bir adet direnç ve bir adet değişken dirençten oluşmaktadır. Devre şemasından da görülebileceği gibi bir doğru akım kaynağında geri besleme prensibi uygulanmaktadır. Q1 tranzistörü için, eğer A noktasındaki gerilim (V_a) B noktasındaki gerilimden (V_b) daha büyükse Q1 tranzistörü

devrededir. Bu yüzden, Q1 üzerinden pozitif bir baz akımı (I_{be}) Q1'in emitörüne akar . Bu baz akımı Q1 üzerinden I_{ce} kolektör akımının akmasına neden olur. R2 direnci üzerinden akan akım I_{be} ve I_{ce} cinsinden ifade edilebilir.

$$V_b = R_2 (I_{be} + I_{ce}) \quad (4.1)$$

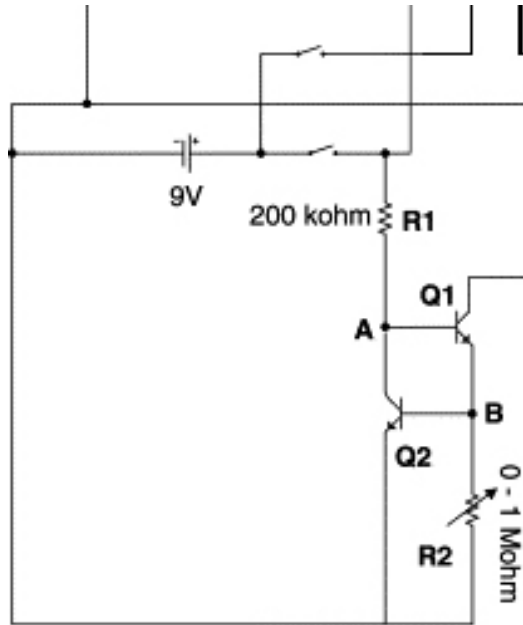
$$V_b = V_a - 0.6 \quad (4.2)$$

Burada 0.6, Q1 tranzistörünün baz ve emitörü arasındaki gerilim farkıdır.

(4.1) ve (4.2) numaralı eşitliklerin birleştirilmesiyle ,

$$(V_a - 0.6) / R_2 = I_{be} + I_{ce} \quad (4.3)$$

eşitliği elde edilir.



Şekil 4.3 : Doğru Akım Kaynağı

V_b gerilimi 0.6V'un üzerinde olduğu sürece Q2 tranzistörü devrede olacaktır. Sonra, akım Q2'nin bazından Q2 emitörüne akacaktır. Bu baz akımı Q2'nin kolektöründen emitörüne akmasını sağlayacaktır. Bu yüzden, V_a gerilimi düşecek ve R2 üzerinde daha düşük bir akım akacaktır. Q2 tranzistörünün R2 direnci üzerinde

sabit bir 0.6V gerilim oluşturmaya bir negatif geribeslem oluşur. Böylece (4.3) nolu eşitlik

$$0.6 / R_2 = I_{be} + I_{ce} \quad (4.4)$$

olarak yazılabilir.

I_{be} baz akımı ve I_{ce} arasındaki $I_{ce} = \beta I_{be}$ eşitlik β 'nin çok büyük olması durumunda (ki genellikle β , 50 ile 200 değeri arasında olmaktadır. Bizim kullandığımız transistörde ise bu değer 120'dir) I_{be} akımı ihmal edilebilecek kadar küçüktür. Ve eşitlik aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$I_{ce} = 0.6 / R_2 \quad (4.5)$$

Bu eşitlikten yola çıkarak deriden akıtılacak olan doğru akımın I_{ce} genliğinin R_2 'yi ayarlayarak bulunabileceği açıktır. Bu devre tasarımında R_1 , 220k Ω (+- %2 tolerans) olarak alınmıştır. Bu direncin amacı, akımı 1 μA ile 300 μA arasında sınırlamaktır. Derinin ortalama empedansının 100 k Ω olduğu düşünülerek 300 μA değerinde bir akım geçmesi durumunda +30V gibi bir gerilim gerekecektir. Bu düşünceden yola çıkarak gerilim katlayıcıda +36V gibi bir sabit gerilim elde edilmiştir [13].

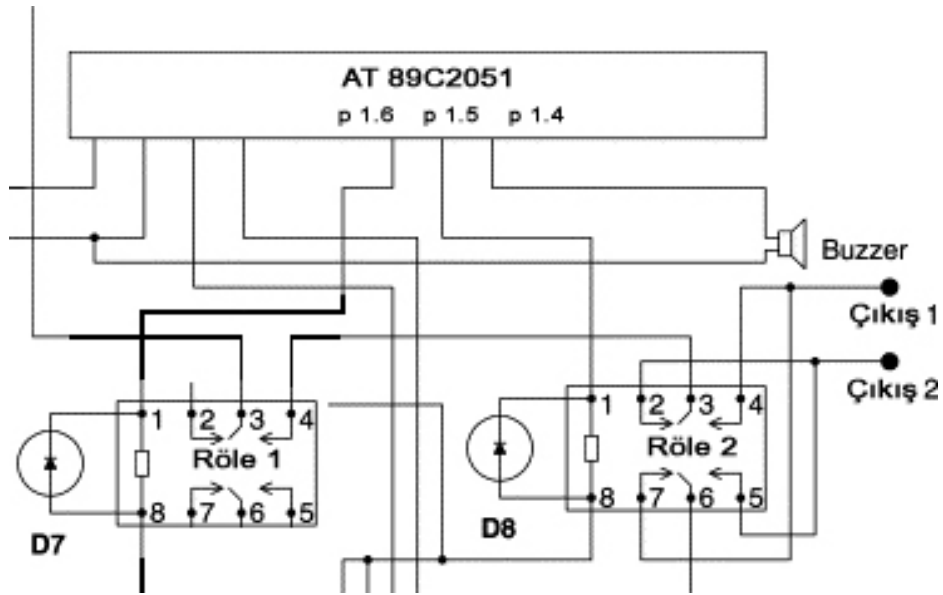
4.1.3 Akım Dalga Şekli Üreticisi

Bu kısımda 8051 bir zamanlayıcı ve 2 adet çift kontaklı röle kullanılmıştır. Her iki röle de +5V DC gerilimde çalışmaktadır. 2051 'in programlanması daha önceden yapılmış ve istenilen dalga şekline göre program yazılmıştır. Yazılan programın kaynak kodları bu tez çalışmasına eklenmiştir.

4.1.3.1 Dalga Şekli Üreticisinin Çalışma Prensipleri

2051'in p 1.6 , p 1.5 ve p1.4 referans numaralı bacakları sırasıyla röle 1, röle 2 ve buzzer'ı çalıştıracak şekilde bağlanmıştır. p 1.6 ve p 1.5 bacakları röleleri kontrol etmektedir. Rölelerin programatik bir şekilde kontrolü dalganın şeklini belirlemektedir.

Röle 1 devrede olduğunda Röle 2'nin görevi çıkış akımının polaritesini değiştirmektir. (örn. bipolar bir akım dalgası üretmek). Röle 2 devrede olduğunda akım 1 numaralı çıkıştan 2'ye akmaktadır. Tam tersi durumda ise eğer Röle 2 devre dışı olursa, bu durumda akım, 2 numaralı çıkıştan 1 numaraya doğru akacaktır. Röle 1'in görevi darbeleri bir akım üretmektir. Örneğin, Röle 1 devrede olduğunda akım 1'den 2'ye yada 2'den 1'e akmaktadır. Öte yandan Röle 1 devre dışı olduğunda her iki çıkış arasında akım akmaz. Buzzer ise p 1.4 tarafından kontrol edilir ve program tamamlandığı zaman işaret verir. Bu sayede programın tamamlanması için gereken sürenin (15dk yada 20dk) dolduğu ve ölçümün tamamlandığı anlaşılır.



Şekil 4.4 : Akım Dalga Şekli Üretici

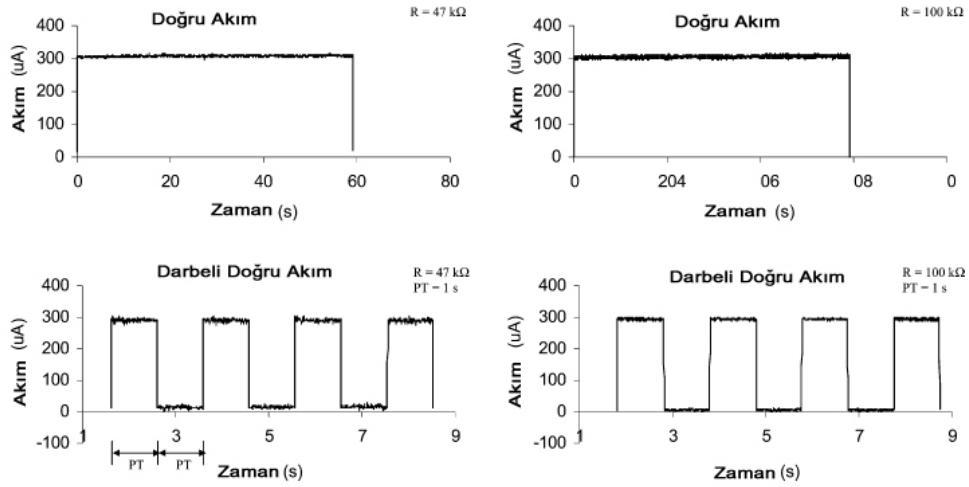
Bu pille beslenen cihazın doğruluğu farklı dalga şekillerinde test edildi ve değerlendirildi.

47k Ω (+- %1 tolerans) ve 100k Ω (+- %1 tolerans) dirençleri farklı farklı deri empedansını temsil etmek için kullanıldı. Her ikisi de farklı zamanlarda ayrı olarak Çıkış 1 ve Çıkış 2'nin uçlarına bağlandı. Heriki ucun çıkışları arasındaki gerilim farkını ölçmek için bir osiloskop kullanıldı. Gerilim farkı Ohm kanununda yararlanarak bulundu.

4.2 Devre Analizinden Çıkan Sonuçlar

Sabit akım oluşturan bu cihazın doğruluğu akım ölçümlerinden çıkacak yüzdelik hatayla belirlenebilir. Bu hata \pm %4 olarak bulunmuştur. Bu hata payının bir kısmı dijital osiloskoptan kaynaklandığı düşünülürse, devredeki dirençlerin de hata payları göz önüne alınarak \pm %4 olarak bulunmuştur.

Uygulanan farklı akım dalga şekillerinde akım genliği gözüne alınarak maksimum yüzdelik hatalar darbeli dc için \pm %3, çift kutuplu dc için \pm %1, darbeli çift kutuplu dc için \pm %1 ve belli bir dinlenme zamanında akım uygulanmayan çift kutuplu dc için \pm %1 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.5 : Tasarlanan cihazla oluşturulabilen dalga şekilleri [5]

Bu cihaz için bazı sınırlamalar bulunmaktadır. İlk olarak, darbe süresi ve çift kutuplu süresi çok fazla kısa olamazlar. Çünkü bu zamanlar rölelerin işleme zamanıyla kısıtlıdır. Bir çift kontaklı röle için tipik işlem zamanı 3 ms'dir. Bu durumda darbe süresi yada bipolar zamanı 1ms 'den daha uzun olması tercih edilir. İyontoforezde bu zamanlama çok fazla bir kısıtlama sayılmaz çünkü iyontoforezde ölçüm zamanı saniyeden çok dakikalardır.

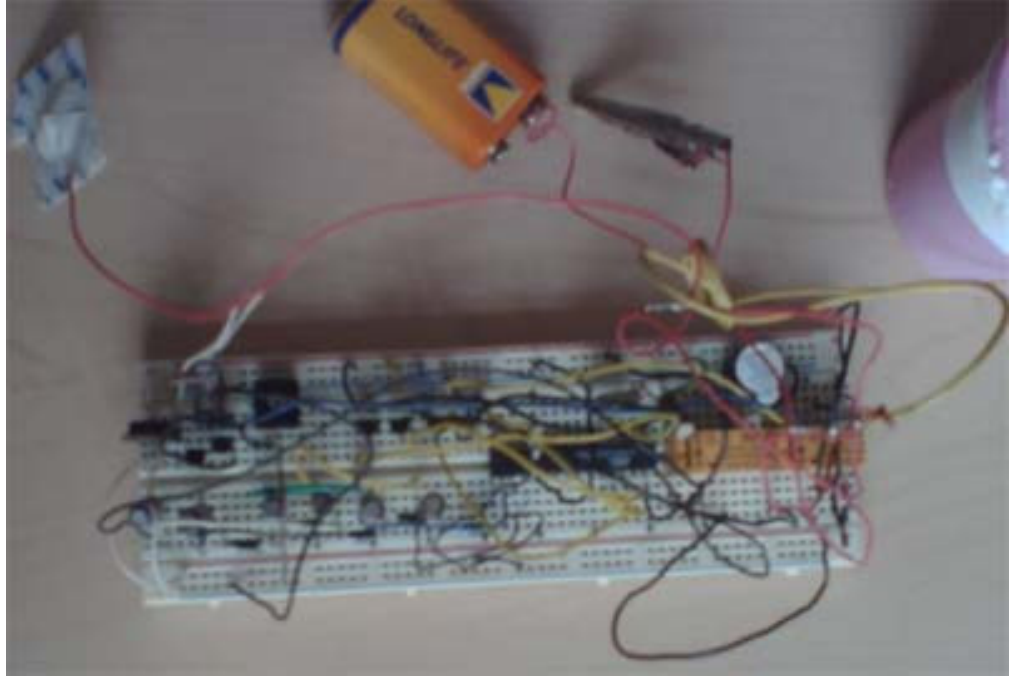
Bu tezde hata oranının daha düşük olması sebebiyle çift kutuplu darbeli akım üreten bir iyontoforez doğru akım kaynağı oluşturulmuştur.

4.3 Sonuçlar

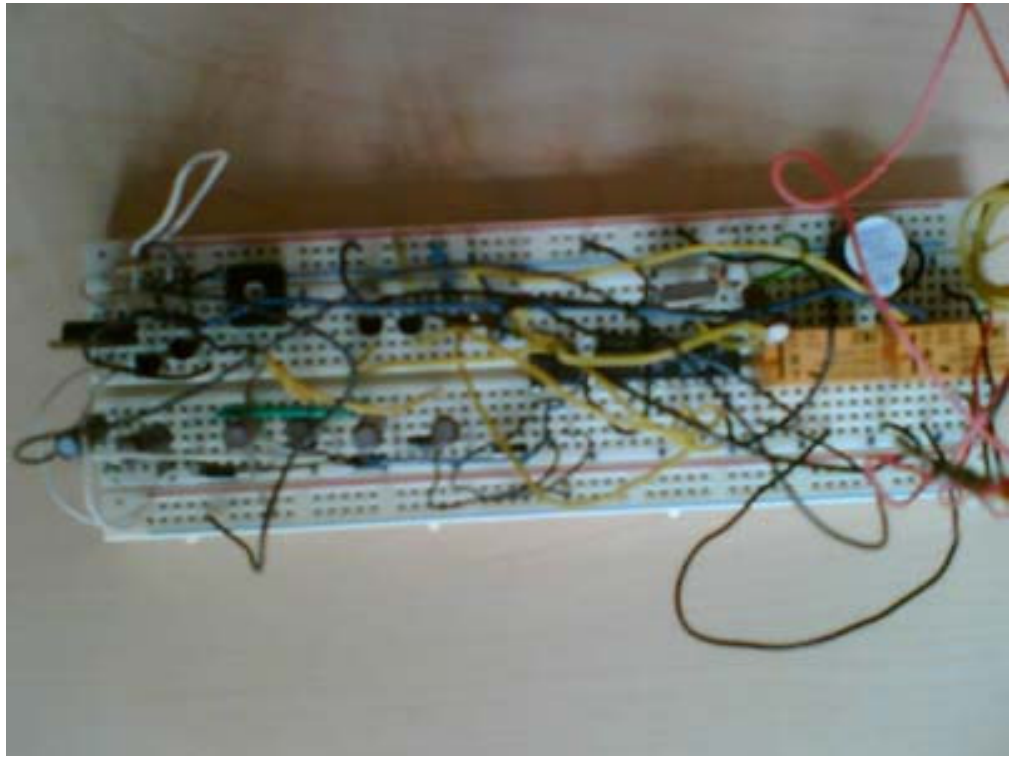
Sonuçlar, cihazın iyontoforez uygulamalarında rahatlıkla kullanılabileceğini göstermektedir. Cihazın en önemli kolaylıklarından birisi uygulanan akımın polaritesinin ve uygulama zamanının işlemci yani program tarafından ayarlanabilmesidir. Akım dalga şekli program tarafından kontrol edildiğinden daha az elektronik bileşenler kullanılmış bu sayede cihazın büyüklüğü oldukça azalmıştır.

Devrenin tümü tarafından çekilen akım 3 - 45 mA arasındadır. Bu akım dalga şeklinden bağımsızdır. Sadece dc doğru bir akım üretmek durumunda daha az güç harcanmaktadır (yaklaşık 30 mW), fakat darbeli akım üretilmesi durumunda ise daha fazla güç gerekmektedir (yaklaşık 150 mW). Bu durumda 9V' luk bir pil tüm devreyi hiç durmadan 10 saat boyunca çalıştırabilir. Bu zaman rutin bir klinik derialtı ilaç alımı yada günlük kan şekeri görüntüleme için yeterlidir. İkinci pil sayesinde 24 saat tümüyle tamamlanabilir. Pillerin şarj edilebilir ve uzun ömürlü olması cihazın kullanımını kolaylaştıracaktır [13].

Bu cihaz için en temel uygulama ters-iyontoforez ise deri altındaki moleküllerin alınması ve iyontoforetik ilaç alınması olacaktır. Bu cihaz bir sonraki bölümde belirtildiği gibi bir insan derisi model sistemi üzerinde kan şekerinin görüntülenmesi amaçlı test edilmiştir. Öncelikli olarak bir model üzerinde geliştirilmesinin nedeni insan derisine cihazın uyumunu sağlamak ve daha önceden ileride meydana gelebilecek komplikasyonları önlemektir.



Şekil 4.6 : Tasarlanan cihazın görünüşü

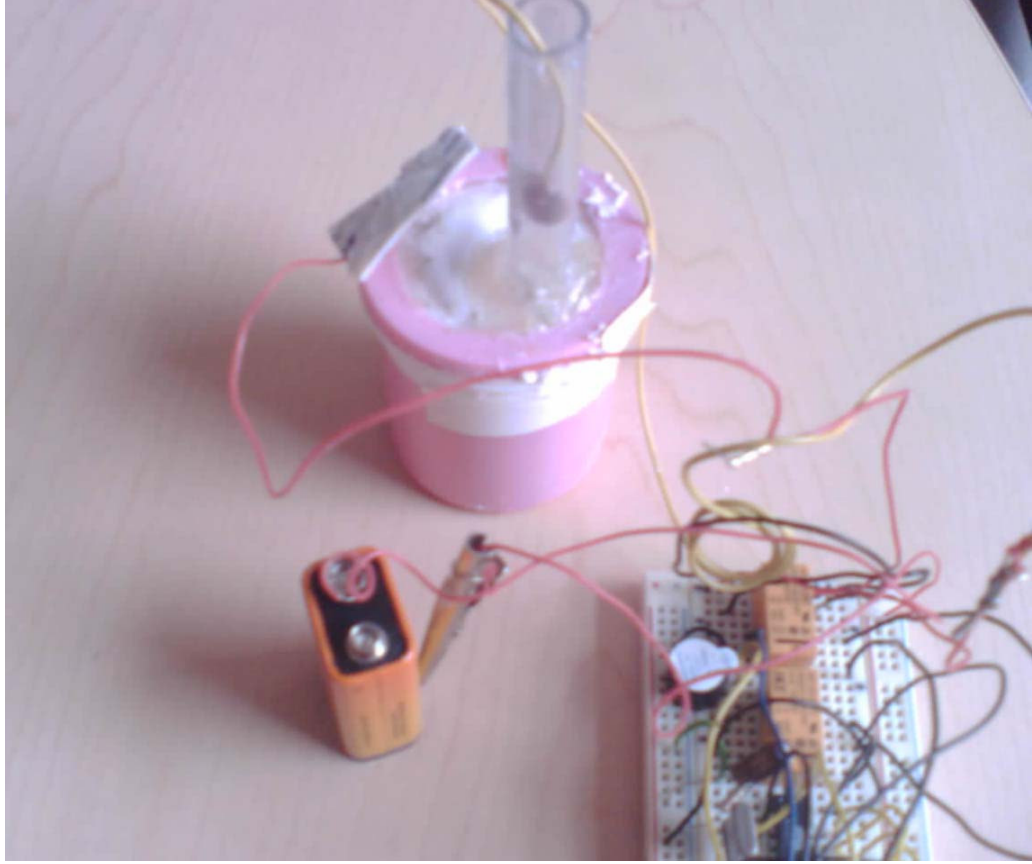


Şekil 4.7 : Tasarlanan cihazın yakından görünüşü

Deri üzerinden taşıma çalışmalarının bir model çalışmayla laboratuvar ortamında gerçekleştirilmesi sırasında kullanımlarıyla ilgili birtakım problemler tespit edilmiştir. Bu tür cihazların farmakolojik çalışmalardaki temeli Franz Hücrelerine dayanmaktadır. Bu tür bir model sensör geliştirilmesinde uygun bir model olarak görülmemektedir. Bu hücre iyontoforez için kullanıldığında, iyontoforetik akımı sürmek için banyo solüsyonuna batırılan elektrotlara sahiptir. Bu biyolojik canlılardaki pratik durumdan oldukça farklıdır. Çünkü elektrotlara bir çözelti içerisinde değil deri üzerinde deriye bitişik durmaktadır. Heriki durumdaki elektrik alan ve elektrik akımının yönü birbirinden tamamen farklıdır. Ayrıca pratikte çok büyük ihmallerden biri olan derinin elektrik empedansı bu hücre modelinde hesaba katılmamaktadır. [6] Franz hücrelerinin gerçekleştirilmesi gerçek anlamıyla biyolojik durumu gerçekleştirmektedir. Bu sorunu ortadan kaldırmak için geliştirilen Glickfeld modeli bir hayvan derisinin (buradaki tezde fare derisi kullanılmıştır) uygun bir şekilde sisteme monte edilmesiyle oluşturulmuştur. Bu dizayn iki iyontoforez odacığının bir deri örneği üzerine monte edilmesiyle sağlanmıştır. Bu tezde ilk olarak uygun pH da negatif yüklü özellik gösteren sentetik bir selüloz membran kullanılacak daha sonra fare derisiyle ayrıca sistem test edilecektir.

Günümüzde kullanılan sistemler iyontoforetik cihazların yada etkilerin testlerini yapabilmek için hayvan yada insan dokularının kullanımına dayanmaktadır. Hayvan yada insan dokularının kullanımı teşhis cihazları geliştirmek isteyen gruplar için birtakım sorunlar getirmiştir. İlk olarak, bu şekilde bir derinin yada dokunun bulunması birçok ülkede yasal ve etik açıdan kısıtlandırılmıştır. İkincisi, insan ve hayvan dokularının kullanımı derilerindeki başka maddelerin de beraberinde gelmelerine ve başka maddelerle karışmalarına neden olmaktadır. En azından deneyin ve testin başlamasından önce bu tarz bir karışıklığın olmaması ve sistemin tek bir madde ile karakterize edilebilmesi önemlidir.

Diğer taraftan ölü hayvan ve insan dokularıyla çalışmak gerçek biyolojik deri davranışını göstermemektedir.



Şekil 5.2 : Ters İyontoforez sistem modelinin genel görünüşü

Son olarak, elektrotlar arasında deri yüzeyi üzerinden oluşan kaçak akım da dikkate alınmalıdır. Derinin stratum korneum tabakasının hidrojel ile hidrasyonu ile derinin yüzey katmanının direnci değişecektir. Yoğun bir terleme sonrasında elektrotlar arasında tam bir kısa devre oluşacak, bu durumda deri altındaki maddelerin alımı mümkün olmayacaktır. Böyle bir durumda göz önünde bulundurularak, bazı cihazlarda iki hidrojel alanı arasında bir temas sensörü oluşturulmuştur. Eğer iki yol arasında iletkenlik belli bir değerin üzerine çıkarsa cihaz kan şekeri okumayı durdurmaktadır.

Yukarıda bahsedilen çeşitli sorunlar ve problemlerde göz önünde bulundurularak ters iyontoforez çalışmasında molekül ve iyonların alımı için Glikfeld modelinden esinlenerek bir sistem geliştirilmiştir. Hayvan ve insan derisi yerine ilk olarak polimer bir membran kullanılmıştır. Daha sonra bu membran bir hayvan dokusuyla değiştirilmiş ve aradaki farklar gözlemlenmiştir.

Burada kullanılan membran biyolojik bir canlıdaki görülebilecek temel özellikleri taşıyan bir membran olarak seçilmiştir, pH 7 'de nano mertebesinde porlara sahip ve negatif yüklü olan bir membrandır. Yapay deri membranları geçmişte de iyonotoforezde ilaç alımı ve moleküler geçirgenlik çalışmalarında kullanılmıştır. Ancak şüana kadar ters iyonotoforez için hangi membranın ideal olduğunu belirten bir çalışma yoktur.

Bu yeni hücrede iki odacık aralarında kaçak akım akmayacak şekilde ayrılmıştır ve yalıtılmıştır. Diğer bir taraftan polimer membranın deri yerine kullanılması ilk laboratuvar çalışmasında olmaması gereken diğer maddelerin karışımını önleyecek ve bundan sonraki testler için güvenilir bir referans olacaktır. Diğer maddelerin biyolojik canlıda karışması olasılığı her zaman göz önünde tutulacak ve yeni cihaz geliştirilirken tüm bunlar dikkate alınacaktır [17] .

Buradaki polimer membranın kullanıldığı ilk sistem modeli, maddenin alım şartlarını (gerilim, akım, örnekleme zamanı) belirlemek ve sensörlerin duyarlılığını ölçmek için geliştirilmiştir. İlk aşamada amaç biyolojik canlı derisindeki problemleri ele almak değildir. Bu yüzden bu modelin esas amacı belirli ilgilenilen ve deri altından alınacak maddenin elektroosmoz ve ters iyonotoforez çalışmasını yapmaktır. Bu çalışma biyolojik canlıda aynen kullanılacakmış gibi düşünülüp belli bir gerilim ve akım altında yapılmıştır.

Burada kan şekerinin yeni hücreki ters iyonotoforez sonuçları anlatılmıştır. İlk aşamada sistemin empedansı belirlenmiştir ve bu empedansın önemi vurgulanmıştır.

5.1 Deneyde Kullanılan Maddeler ve Metotlar

Şekil 5.1, bu tez çalışmasında kullanılan iyonotoforez hücresinin modelidir. Bu model hücre, iki yarıdan oluşur, her ikisi de plastik polimetil türevi olan bu iki yarı yukarı ve aşağı kısımlar olarak ikiye ayrılmıştır. Aşağı kısımdaki sıvı deri altı sıvıyı temsil etmektedir, bir iyonotoforez cihazdaki toplama odacıkları ise burada A ve B'dir. Selüloz Ester (CE) polimer membran alt kısım ile üst kısmı ayırarak şekilde monte edilmiştir. Üst ve alt kısmı ayıran membran alt kısma silikon ile yapıştırılmıştır; böylece sıvının dışarı çıkması önlenmiştir.

Membranın alt ve üst kısma monte edilmesinden sonra alt kısımdaki sıvıyı doldurmak için giriş kapısı dediğimiz bir kapıdan sıvı doldurulacaktır. CE nanofiltre membran burada deriyi simüle etmektedir ve $pH > 3$ için negatif yüklüdür ve moleküler kesimi 800 daltondur.

İyontoforez için gereken deneyde alt kısım sırasıyla distilize su, 5550 mM, 2775 mM, 1387 mM Glukoz çözeltisi NaCl ve KCl ile birlikte doldurulmuştur. Anot ve katot odacıkları (A ve B) distilize su ve 500 μ L NaCl, KCl solüsyonuyla doldurulmuştur. Bu çözeltiler herbir iyontoforez deneyi sonrası değiştirilmektedir.

Ters iyontoforez akımı, daha önce yapmış olduğumuz iyontoforetik doğru akım kaynağından 200 μ A olarak uygulanmıştır. Ters iyontoforez süresi toplam 3 farklı süre olan 15 dakika - 30 dakika ve 60 dakika sürelerle ölçülmüştür. Herbir süreden sonra A ve B odacıklarından 500 μ l kadar örnekler alınmış ve ölçümler için ayrılmıştır. Her ölçümden sonra alt kısımdaki glukoz çözeltisi boşaltılmış, durulanmış ve bir sonraki deney için tekrar yenisi konulmuştur [7].

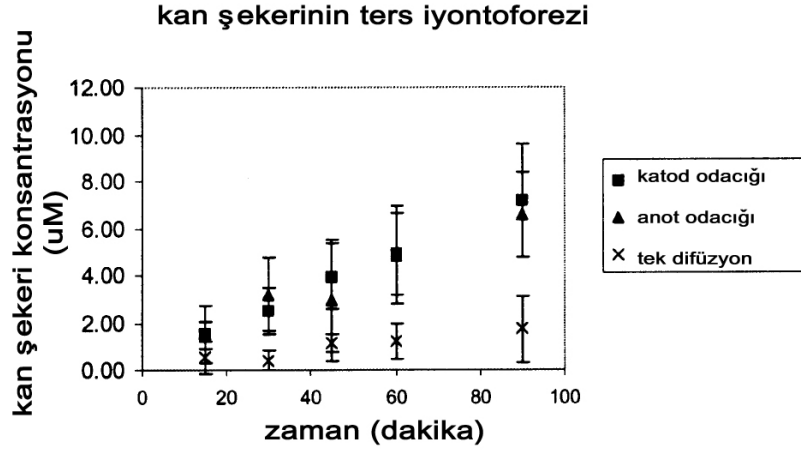
Kontrol deneyleri yukardaki düzenek aynen korunarak fakat elektrotlar olmadan ve bir akım uygulanmadan yürütülmüştür. Bu kontrol deneyi CE membran boyunca ters iyontoforez olmadan difüzyonun etkisini göstermiştir. Alınan örneklerdeki mikromolar seviyelerindeki büyüklükler laboratuvarında ölçüm yapabilmek amacıyla milimolarlar mertebesine çekilmiş ve ölçümler bu şekilde yapılmıştır. A ve B odacıkları arasında oluşan empedansı farklı bir multimetre ile ölçülmüştür. Ag / AgCl elektrotları arasındaki empedans farkı alt kısmın boş ve dolu olması durumlarının her ikisinde de sabit kalmıştır.

Burada 2 durum test edilmiştir

1- Alt kısım tümüyle doldurulmuş böylece akımın akacağı ve iletimin yüksek olduğu bir ortam hazırlanmıştır.

2- Alt kısım tümüyle boşaltılmış ve böylece A ve B odacıkları arasında membran üzerinden kaçak akım akması beklenmiştir.

Odacıklar arası direnç (A-B) bir empedans modeliyle tanımlanabilir.



Şekil 5.3 : Ters iyontoforezde toplanan kan şekerinin konsantrasyonu

Şekil 5.3'den, glukozun düşük akım ters iyontoforezin sonuçları incelenebilir. Glukoz CE membrandan anot ve katot odacıklarına biyolojik canlılardakine benzer miktarlarda birikmiştir. Alt kısımdaki 5mM bir glukoz için üst kısımda 10 µM mertebesinde glukoz toplandığı saptanmıştır. Bizim burada kurduğumuz sistemde hem anot hem de katot odacıklarında glukoz moleküllerinin alımında büyük bir gelişme olmuştur. Glukozun katodal elektroosmoz anoda göre daha büyük olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni negatif yüklü porlardır. Aynı zamanda membran üzerinde nötr yada pozitif yüklü porlarda bulunduğunu varsayarsak anodal alımın da burada mümkün olduğu açıkça görülmüştür. Membranın bazı kısımlarında polarizasyondan kaynaklanan nedenlerden dolayı yük değişimi olmuş ve bu da anodal elektroosmozun etkisini artırmış olabilir. Bizim yaptığımız devrede akımın yönü her 5 sn bir değiştiği için özellikle biyolojik canlılarda cihaz denendiğinde önemli avantajlar sağlamıştır. Akımın yönünü değişmesiyle deri polarizasyonu minimuma indirilmiştir. Bu sayede deriyi simüle eden membran yada ilerde kullanılacak biyolojik derinin yük değişimi engellenmiştir.

A ve B odacıkları arasında yapılan empedans analizinde tümüyle doldurulmuş alt kısımla tümüyle boşlatılmış alt kısım arasında empedans farkı olması beklenmiştir. Kuru olan alt kısmın direncinin iyi bir iletkenlik oluşmuş dolu olan modele göre daha yüksek olacağı düşünülür. Sonuçlar A ve B odacıkları arasındaki direncin alt kısım tam doldurulduğunda 3 kΩ mertebesinde olduğunu göstermiştir. Bu değer elektrotların direncinin çıkarılmış halidir. Bu değer ayrıca ölçüm süresindeki 1.dakika ile 30. dakika arasında değişmemiştir. Alt kısım tamamen boşaltıldığında

ise bu değer 15 k Ω mertebesinde çıkmıştır. Bu ölçümde membran hala ıslaktır. Bu sonuçları bir modele taşıdığımızda akımın yaklaşık %80 gibi bir kısmının iyontoforez olarak membran içine geçtiğini gerisinin %20 ise bir kaçak akımlar membran üzerinden taşındığını göstermiştir. Buradaki değerler biyolojik bir deriyle de paralel sonuçlar vermektedir ve pratikte mutlaka hesaba katılmalıdır [11] .

5.2 Modelin Sonuçları

Bu model hücrede ve membran kombinasyonunda bulunan sonuçlar biyolojik canlılardakine paralel sonuçlar göstermiştir. Buradaki çalışmadan toplanan glukoz miktarının, insandaki kan şekerine benzer bir özellik gösterdiği çıkarılmıştır. Aynı sistem biyolojik canlılarda da kullanılabilir.

Kaçak akımın etkisini bulabilmek için A ve B odacıkları arasında alt kısmın tamamen boşaltıldığı ve doldurulduğu durumlardaki empedans farklılıkları göz önüne alınmıştır. Aynı durum pratikte de oluşmaktadır ve deri yüzeyinden taşımada bir güç kaybına neden olmaktadır . Bu çalışmadan çıkan sonuçlara göre %20 kadar bir akım kaybı olmasına rağmen glukozun yeterli miktarlarda toplanması sağlanmıştır. Bu kaçak akım etkisi iyontoforez ilaç alımı için uygulandığında da görülmektedir.

Deri empedansının iyontoforezde taşıma sayısına etkisi cihazın tasarımında mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Fakat biyolojik canlılarda bu konular çok daha karmaşıklaşmaktadır. Derinin iyi bir şekilde hidrasyonu çok önemli bir faktördür [19]. Bir biyolojik canlıdaki çalışma iyi namlendirilmiş bir derinin stratum korneum yüzeyinde 20 kat daha azalmış direnç düşümüne sebep olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte sürekli aynı yönde uygulanan akım derinin polarizasyonuna neden olmakta ve deri üzerindeki empedansın değerini neredeyse üç katı kadar artırmaktadır.

Bu çalışmanın bir sonraki aşamasında biyolojik bir dokudan alınan örnek CE membranla değiştirilecek ve çıkan sonuçlara göre aynı sistem insan üzerinde denenecektir. Hücre modelinin katot odacığı kısmı glukozun en yüksek oranda toplandığı yer olduğundan bu kısma bir Pt elektrotla çalışan bir sensör cihazı tasarlanacaktır. Bu tez çalışmasındaki hedef rahatlıkla kola takılabilen, düşük güç

tüketen ve sürekli kan şekeri ölçümünü non-invazif bir şekilde yapan sistemi geliştirmektedir.

5.3 Amperometrik Biyosensör

Katodda toplanan bu derece küçük miktardaki glukozun ölçümü için özel olarak tasarlanmış bir biyosensöre ihtiyaç duyulacaktır. Burada kullanılacak metot glukoz oksidaz katalizörlü H_2O_2 nin doğrudan tespiti olabilir [14] .



Bu reaksiyon Pt elektrodun elektroatalitik yüzeyinde gerçekleşir. Peroksit tabanlı bir elektrokimya bu uygulamada oldukça gerekli olacaktır. Kandaki yada dokudaki oksijen eksikliği, kan şekerinin ölçümü açısından önemli bir problem gibi görülebilir, ancak toplanan kan şekerinin miktarı gözönüne alındığında bu eksikliğin reaksiyonu etkilemeyeceği düşünülebilir. Deri altından yapılan ters iyontoforez sistemin diğer bir avantajı ise genellikle peroksit tabanlı elektrokimyada büyük bir problem olan karıştırıcı diğer maddelerin ortadan kaldırılmasıdır yada oldukça azaltılmasıdır. Burada denklemler yazılan kimya diğer taraftan hiçbir şekilde çözülen bir ürün oluşturmamakta ve deride toksitlenmeye neden olmamaktadır. Ve buradaki çözüm periyodik sensör işlemi için ideal derecede uyumludur.

Buradaki tez çalışmasında katodal odacıkta $10 \mu\text{M}$ mertebesinde glukoz birikmiştir. Bu mertebede glukoz ölçümü buradaki elektrokimya ile sorunsuzca yapılabilir [14] . Derinin seçici geçirgenliği sayesinde moleküler ağırlığı 500 dalton üzerinde olan bileşenlerin taşınmasına izin verilmez. Diğer taraftan katodda biriken glukozla karşılık ölçümü karıştıracak maddelerden olan üre ve askorbik asit gibi maddelerde anotta toplanmaktadır. Bu yüzden, her ne kadar sensörde ölçülecek glukoz miktarı çok düşük de olsa birçok karıştırıcı maddeden arındığı için oldukça başarılıdır.

Tüm yukarıdakilerle beraber biyosensörün gerilimi H_2O_2 ölçümü için gerekli olan $Ag/AgCl$ elektrotlarına göre 0.42V kadar yukarıda tutulduğunda glukozun sensör tarafından seçiciliği artar, buna karşın tirozin yada triptopan gibi maddelerin elektroaktiviteleri için daha yüksek gerilim gerekir.

5.3.1 Biyosensörün Veri Doğruluğu

İlk iyontoforez akımından sonra glukozun katodda toplanması sırasında glukoz + GO_x tarafından oluşturulan H_2O_2 katoddaki hidroheli artırır. Sonra, biyosensörlerin gerilimi 0.42V'a çekilir. İyontoforetik katoda biyosensör akımı 7 dakika boyunca uygulanması sonrasında jel içerisindeki H_2O_2 konsantrasyonu sıfıra kadar indirir. Bu işlem sistemin duyarlılığını oldukça artırır ve glukozun toplanması sırasında çıkan gürültüyü oldukça azaltır [6] .

Biyosensörler, insan vücuduyla bitişik olacağı ve kola takılacağı düşünülerek, birçok dış etkene bağlı olmaktadır. (sıcaklık değişimleri, terleme, mekanik şoklar vb.) Bu gibi ters durumlar sensörün işaretinde birtakım bozulmalara yol açabilir. Ölçümler sırasında bu değişim parametre izlenmelidir ve bu değişimlere göre ölçümleri gerçekleştirecek sistemler dizayn edilmelidir [13]. Bu parametrelerden birinde olağandışı bir değişim olduğunda sistem otomatik olarak ölçümü durdurmalıdır. Hatalı ölçümü geçmek yanlış ölçüm değeri vermektten çok daha doğru olacaktır.

Burada yapılan çalışmada biyosensör yapımı mümkün olmamış ancak aynı miktarlar laboratuvar ortamında elde edilerek ölçümler yapılmıştır. Ölçümlerin detaylı bir tablosu ve grafiği ekte verilmiştir.

5.4 Sonuçlar

Tablo 5.1'deki sonuçlardan yola çıkarak, gerçek kan şekeri değeriyle sistemden ölçülen kan şekeri değerlerinin birbirine oldukça yakın oldukları grafikten görülebilir. Korelasyon değerinin 0.85 ile 0.75 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Bu kabul edilebilir bir sonuçtur.

Tablo 5.1 : Ters iyontoforezde toplanan kan şekerinin konsantrasyonu ile kandaki konsantrasyonun karşılaştırılması

Denek	Kan Şekeri Aralığı (mM)	Normalize Kan Şekeri ($\mu l \cdot h^{-1}$)	K \pm SD	r ²
1	4.4-9.6	11.8 \pm 0.9	0.67 \pm 0.04	0.97
2	4.8-10.9	5.8 \pm 2.1	0.34 \pm 0.05	0.79
3	4.6-10.3	11.1 \pm 3.1	0.86 \pm 0.11	0.88
4	4.4-8.3	13.6 \pm 1.5	0.63 \pm 0.09	0.83
5	2.6-10.9	5.8 \pm 1.5	0.44 \pm 0.05	0.89
6	3.7-7.6	4.6 \pm 1.0	0.16 \pm 0.04	0.62

6. SONUÇLAR VE ÖZET

6.1 Ters İyontoforezin Avantajları ve Sınırları

Ters iyontoforezle non-invazif örnekleme metodu aşağıdaki nedenlerden dolayı tüm hastalar için çok daha yararlı olduğu açıktır:

- 1- Örnekler daha sık alınabildiğinden daha çok bilgiye ulaşılabilmesi
- 2- Azalan acı ve rahatsızlık
- 3- Enfeksiyon riskinin azalması
- 4- Potansiyel bir evde görüntüleme sistemi oluşturulması

Bununla birlikte, bazı kişiler üzerinde non-invazif metodun kullanımı son derece yararlı olmuştur: sürekli tekrara dayalı invazif kan ölçümü yaptıranlar, standart terapi rejimlerine tabi olan hastalar, beklenmeyen ilaç yan etkilerine karşı aşırı duyarlılığı olanlar, yada hangi sebeple olursa olsun, doz aşımı yada düşük dozda kullanılabilir. Bu tarz hastalar kritik hasta olup yoğun bakım içeren hastalar da olabilir. Kanser ve AIDS hastaları, hamile kadınlar, beklenmeyen farmakokinetikler gösterenler, sürekli günde bir veya birden fazla ilaç dozu alanlar ve pediyatrik hastalar gibi.

Ters iyontoforezde toplanan maddenin miktarı pasif alımdan çok daha yüksek olmasına rağmen sensörler tarafından ölçülmesi için oldukça güç olmaktadır. Bunun esas nedeni ise toplanan madde miktarının oldukça küçük değerlerde olmasıdır. Bu yüzden analitik kimya gereksinimi oldukça önemlidir ve örnekleme periyotları oldukça uzun olmaktadır, bu da ölçümün yapıldığı sistemdeki sistemik konsantrasyonda değişime neden olmaktadır. Kan şekerinin ölçümünde bu gibi bir durum kabul edilemez olmasına rağmen, terapik ilaç görüntüleme sistemleri için bu problem göz ardı edilebilir.

Bir diğler önemli sınırlama ise deriden ilgili maddenin alınan ilk örneği en çok bilgiyi içermektedir. (bu kan şekeri ve lityum için geçerlidir). Sistemik seviyelerden yansıyan okumalar elde edilmeden önce bir ısınma zamanı gereklidir.

6.2 Sonuçlar

Burada yapılan tez çalışmasında ters iyontoforez bir metodla non-invazif ölçüm sağlayan bir kan şekeri görüntüleme sistemi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçlar katot odacığın toplanan glukoz miktarının kandaki kan şekeri konsantrasyonuyla ilgili belli bir oranda olduğunu göstermiştir. Burada bizim örneğimizde bu oran 1/450 olarak bulunmuştur. Burada oranın anlamı şudur: Yaptığımız cihazın temel karakteristikleri ve uygulanan akımın yoğunluğu ($200 \mu A$), ve ölçüm süresi (1 saat) dikkate alındığında kandaki konsantrasyonun 450'i de 1'i katot odacığında toplanmaktadır. Bu miktar normal bir insanın kan şekerinin 120-140 mg/dL olduğundan yola çıkılarak oldukça düşük bir miktardır. Böylesine düşük bir oranın ölçülebilmesi için enzimatik bir biyosensör kullanılarak ölçümler geliştirilecektir. Yaptığımız tez çalışmasında amacımız bu biyosensörün geliştirilmesi olduğu halde biyosensör, bu tez çalışmasında sadece teorik olarak ele alınabilmiştir. Laboratuvar ortamında ve biyolojik denekler üzerinde yaptığımız ölçümler, ters iyontoforez yöntemi kullanılarak korelasyonu yüksek ve kandaki konsantrasyon değerleriyle orantılı değişim gösteren glukoz ölçümlerinin yapılabileceğini kanıtlamıştır.

Yukarıdaki çalışmanın detaylarında görülebileceği gibi, ölçümün esas gerçekleştiği yer olan ve akımın uygulanmasını sağlayan elektrotlar plastik veya cam odacıklarda elektrolit çözeltisinde tutulur. Tabiki, pratik uygulamalarda, elektrotlar iletken jeller üzerinde kullanılır. Bu durum akımın rahat iletilebilmesi ve deriyle doğrudan temasın önlenerek tahrişin oluşmasını engellemek açısından önemlidir. Daha karmaşık tasarımlar modelleri olarak bir odayı yada diğler odacığı iki bölüme ayırarak birbirleriyle iyon alışverişini zarlar yada tuz köprüleri aracılığıyla iyon alışverişini sağlanabilir. Bu tasarım daha etkin taşıma ve ilaç stabilizesi sağlayabilir.

Ters iyontoforezde iyon akışının sabit bir 'kararlı-durum'a hızlı bir şekilde geçmediği görülmüştür. Bunun için gereken zaman ilgili moleküle, elektrogeçişin baskın mekanizmasına bağlı olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan, bu sınırlama tam olarak

kanıtlanmamakla birlikte belli analiz edilecek madde için kararlı duruma geçmeden önce derialtı konsantrasyonuyla alınan akış arasında kabul edilebilen bir korelasyon olduğunu göstermektedir.

Belli fizyokimyasal özellikler taşıyan moleküller için ters iyontoforezin çalışmadığı belirlenmiştir. Özellikler, proteinler belli miktarlarda alımlar için oldukça büyük moleküllerdir. Lipofilik bileşimler, tespit edilemez olmaktadır, ne yazık ki kolesterol bu kategoriye girmektedir.

Çalışmalarımızdan çıkarılacak önemli sonuçlardan birisi ise yapılan kontrol deneyinde deri altı sıvıyı temsil eden çözeltinin içerisinde NaCl gibi iyonize olabilen tuzun olması durumunda iyon taşınmasının çok daha yüksek oranda arttığı gözlemlenmiştir. Diğer bir kontrol düzeneğinde sadece glukoz konulan bir çözeltide ise toplanan glukoz miktarının NaCl olan bir ortama göre 1/5 oranında az olduğu tespit edilmiştir. Bu ölçümler de ayrıca laboratuvar sonuçları kısmında Ek-B'de bulunabilir.

Özetlemek gerekirse, bu tez çalışmasında oluşturulan ters iyontoforez yöntemini kullanan sistem, düşük maliyetli düşük güç tüketen ve kola takılabilecek kadar küçük bir devre şemasına sahip bir model olarak tasarlanmıştır. Cihazın çalışmasını etkileyen en önemli faktörlerin uygulanan akımın yoğunluğu, ortam pH'i ve ölçün süresi olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca sistemin ölçülecek maddeye (burada Glukoz) özel optimizasyonu ve ayarlanması gerekmektedir. Elde edilen teorik sonuçlar ve pratikteki laboratuvar sonuçları geliştirilen cihazın ters iyontoforez uygulamalarında rahatlıkla kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Simon , L. and Weltner Alison and Wang, Y.** 2005. A parametric study of iontophoretic transdermal drug delivery systems, Elsevier Science Direct , NJ, USA
- [2] **Pikal, M.J.,** 1990. Transport mechanisms in iontophoresis, *Pharm.Res* 7, 118-126.
- [3] **Kontturi,K. and Murtomaki,L.,1996** Mechanistic model of transdermal transport including iontophoresis, *J.Control, Release* 41, 177-185
- [4] **Hirvonen, J. and Murtomaki, L. and Kontturi, K.,** 1998. Experimental verification of the mechanistic model for transdermal transport including iontophoresis, *J.Control, Release* 56 , 169 - 174
- [5] **Ching, C.T.S and Camilleri,I. and Connolly P.** 2004. A low-cost, programmable device for versatile current delivery in iontophoresis applications, *Bioengineering Unit, University of Strachclyde, Glaskow*
- [6] **J.A. Bouwstra and L.J.C. Peschier and J. Brussee and H.E. Bodde´,** 1989. Effect of N-alcaly-azocycloheptan-2-ones including azone on the thermal behaviour of human stratum corneum, *Int. J. Pharm.* 52 , 47–54.
- [7] **Y.W. Chien,** *Transdermal route of peptide and protein drug delivery,* Marcel Dekker Inc, New York, 1991. pp. 667–690.
- [8] **R.R. Burnette and B. Ongpipattanakul,** 1987. Characterization of the permselective properties of excised human skin during iontophoresis, *J. Pharm. Sci.* 76 , 765–773.
- [9] **Benoit, L. and Richard, H Guy. and Begona Delgado-Charro ,** 2003. Reverse Iontophoresis for non-invasive transdermal monitoring , School of Pharmacy, University of Geneva, 6 Jan 2004
- [10] **J. Wang ,** 2001. Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges, *Electroanalysis*, vol. 13, no. 12, pp. 983–987
- [11] **J. Kost, S. Mitragotri and R. A. Gabbay and M. Pishko and R. Langer,** 2000 *Transdermal monitoring of glucose and other analytes using*

ultrasound, *Nature Med.*, vol. 6, no. 3, pp. 347–350

- [12] **P. Glikfeld, and C. Cullander, and R. S. Hinz, and R. H. Guy**, 1988. A new system for *in vitro* studies of iontophoresis, *Pharm.Res.*, vol. 5, no. 7, pp. 443–446
- [13] **Y. A. Chizmadzhev, and A. V. Indenborn, and P. I. Kuzmin, S. V. Galichenko, and J. M. Weaver, and R. O. Potts**, 1998. Electrical properties of skin at moderate voltages: contribution of appendageal macropores, *Biophysical J.*, vol.74, no. 2, pp. 843–856, Pt.1, Feb.
- [14] **R. T. Kurnik, and B. Berner, and J. Tamada, and R. O. Potts**, Design and simulation of a reverse iontophoretic glucose monitoring device, *J. Electrochem. Soc.*, vol. 145, no. 12, pp. 4119–4125, 1998..
- [15] **IL. Zhao, L.K. Hung, and Y. T. Zhang**, Electrical properties of normal and scarred skin, Dept of Orthopaedics., *Vol. 20, No 6, 1998*
- [16] **Anthony F. Coston., and John K-J. Li**, 2003. September 17-21 Instrumentation & Electronics, 68-76
- [17] **A.J. Robinson**, 1996. Transcutaneous electrical nerve stimulation for the control of pain in musculoskeletal disorders, *J. Orthop. Sports Phys. Ther.* 24 208–226.
- [18] **P. Connolly and C. Cotton and F. Morin**, 2002. Opportunities at the skin interface for continuous patient monitoring: a reverse iontophoresis model tested on lactate and glucose, *IEEE Trans. Nanobiosci.* 1, 37–41.
- [19] **Ismail Tuncer Degim and Sibel Iibasmi.**, 2001. Reverse iontophoresis: a non invasive technique for measuring blood urea level, 50, 83-87
- [20] **Coston,A. , and Li,J. , and John, K.** 2003. A Comparative Analysis Of Skin impedance Models And Parameters, 50, 83-87

EKLER

EK-A: Uygulamanın kaynak kodları

EK-B: Laboratuvar sonuçları

ÖZGEÇMİŞ

Mehmet Şükrü KAYNAKÇI, 27.06.1980 Ankara doğumludur. İlk ve orta eğitimini Çorum'da , lise eğitimini Ankara Fen Lisesi'nde tamamlamıştır. 1998 yılında girdiği İstanbul Teknik Üniversitesi Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bölümü'nden 2002 yılında mezun olmuş ve aynı yıl İstanbul Teknik Üniversitesi Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Bölümü Biyomedikal Mühendisliği programında yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Halen yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.

EK A - UYGULAMANIN KAYNAK KODLARI

```
INCLUDE 8051.mc  
ORG 100H
```

```
MOV P1,#0FFH
```

```
BEGIN:  
CALL BUZZER  
MOV R5,#02DH  
START:  
CLR P1.6 ; ROLE2 ACIK  
CALL R1ONOFF5SN  
;CALL DELAY5SN  
SETB P1.6 ; ROLE2 KAPALI  
CALL R1ONOFF5SN  
;CALL DELAY5SN  
DJNZ R5,START
```

```
JMP BEGIN
```

```
R1ONOFF5SN:  
MOV R4,#05H  
OOP:  
CLR P1.5 ; ROLE1 ACIK  
CALL DELAY05SN  
SETB P1.5 ; ROLE1 KAPALI  
CALL DELAY05SN  
DJNZ R4,OOP  
RET
```

```
DELAY05SN:  
MOV R0,#01H  
LOOP:  
MOV R1,#001H  
LOOP1:  
MOV R2,#0FFH  
LOOP2:
```


```
MOV R3,#0FFH
LOOP3:
DJNZ R3,LOOP3
DJNZ R2,LOOP2
DJNZ R1,LOOP1
DJNZ R0,LOOP
RET
```

```
DELAY5SN:
MOV R0,#0AH
LOP:
MOV R1,#001H
LOP1:
MOV R2,#0FFH
LOP2:
MOV R3,#0FFH
LOP3:
DJNZ R3,LOP3
DJNZ R2,LOP2
DJNZ R1,LOP1
DJNZ R0,LOP
RET
```

```
BUZZER:
CLR P1.4 ; BUZZER ACIK
MOV R0,#0FFH
LOPL1:
MOV R1,#0FFH
LOPL2:
DJNZ R1,LOPL2
DJNZ R0,LOPL1
SETB P1.4 ; BUZZER KAPALI
RET
```

```
END
```

EK – B: LABORATUAR SONUÇLARI

**DÜZEN**
LABORATUVARLAR GRUBU

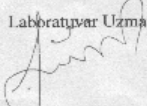
DÜZEN LABORATUVARLAR GRUBU
Bağdat cd. 160/17 34726 Gündüz Apt B Blok
Selamiçeşme-Kadıköy/İSTANBUL

Tel : 0 216 302 97 93 - 302 97 94
Fax: 0216 363 51 88

ADI: MEHMET
SOYADI: KAYNAKÇI
NUMUNE NO:
TARİH: 06.06.2006

Numune No	Birim	TETKİK	SONUÇ
I	mmol/L	Glukoz	4.3 +0.5
II	mmol/L	Glukoz	14,1 +-1.5
III	mmol/L	Glukoz	6,5 +-0.9
IV	mmol/L	Glukoz	2.8 +-0.4

Numune No	Alt Kaptaki Glukoz Konsantrasyonu	Ölçüm Süresi
I	5550 mmol/L. (Distilize Su İle)	Yak. 1 saat
II	5550 mmol/L. (%0.9 İzotonik NaCl ile)	Yak. 1 saat
III	2775 mmol/L (%0.9 İzotonik NaCl ile)	Yak. 1 saat
IV	1387 mmol/L. (%0.9 İzotonik NaCl ile)	Yak. 1 saat

Laboratuvar Uzmanı

Doç.Dr.DURAN DEMİRCİ

DÜZEN LABORATUVARLAR GRUBU
Bağdat cd. 160/17 34726 Gündüz Apt B Blok Selamiçeşme-Kadıköy-İSTANBUL.
Tel : 0 216 302 97 93 - 302 97 94 Fax: 0216 363 51 88
<http://www.duzen.com.tr>