



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**REJENERATİF TIPTA HİDROJELLERİN İN VİTRO BİYOLOJİK
UYGULAMALARININ İNCELENMESİ**

Rumeysa TUTAR

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU**

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

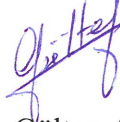
İSTANBUL-2020

Bu çalışma 08.01.2020 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı,
Fiziksel Kimya Programı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ



Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Gülten ATUN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Özlem CANKURTARAN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi



Prof. Dr. B. Filiz ŞENKAL
İstanbul Teknik Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi



Prof. Dr. İsmail BOZ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa’nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, 1059B141700084 numaralı TÜBİTAK 2214-A Doktora Sırası Yurtdışı Araştırma Burs Programı ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma Kaliforniya Üniversitesi, Kaliforniya Nanosistemler Enstitüsü, Khademhosseini Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Khademhosseini Araştırma Laboratuvarı'nda çalışmalarımı yapabilme imkânını tanıyan ve her konuda bana destek veren çok değerli bilim insanı Sayın Prof. Dr. Ali Khademhosseini'ye sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Her zaman engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU'na en içten saygı ve şükranlarımı sunarım.

Her zaman engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, her konuda desteklerini sonuna kadar esirgemeyen çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Gülten ATUN'a bana olan katkılarından dolayı teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Maryam Tavafoghi ve Dr. Amir Sheikhi'ye, Dr. Avijit Baidya'ya, Dr. Reihaneh Haghniaz ve Jamileh Jahangiry' ye ve Khademhosseini Laboratuvar çalışanlarına ve meslektaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince maddi ve manevi olarak desteklerinin yanı sıra göstermiş oldukları sabır ve anlayıştan dolayı çok değerli eşim Selçuk TUTAR'a ve canım oğlum Kerem Taha TUTAR'a ve çok kıymetli babam Muammer ÖZCAN'a teşekkür eder, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamı çok kıymetli annem merhume Nurten ÖZCAN'a ithaf etmekten onur duyarım.

Ocak 2020

Rumeysa TUTAR

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xiii
ÖZET	xv
SUMMARY	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. REJENERATİF TIP NEDİR?	3
2.1.1. Rejeneratif Tıp ve Biyo-yapıştırıcılar.....	3
2.1.2. Biyo-yapıştırıcıların Sınıflandırılması.....	5
2.1.3. Biyo-yapıştırıcı Mekanizmaları.....	9
2.2. HİDROJELLER	9
2.2.1. Jelatin.....	11
2.2.2 GelMA	11
2.2.2.1. Kimyasal Çapraz Bağlanma	14
2.2.3. Aljinat.....	16
2.2.4. AlgMA.....	17
2.2.4.1. İyonik Çapraz Bağlanma	17
2.2.5. Dayanıklı-Sert Hidrojel Yapıştırıcılar	18
2.3. SIZDIRMAZLIK MALZEMELERİ İÇİN STANDART TEST METHODLARI	19
2.3.1. Cerrahi Sızdırmazlık Malzemeleri için Patlama Basıncı.....	19
2.3.1.1. Tanımlamalar	20
2.3.1.2. Gerilme-Gerinim (Stress-Strain) Eğrileri.....	21
2.3.2. Doku Yapıştırıcılarının ve Sızdırmazlık Malzemelerinin Yara Kapama Gücü	22
2.3.2.1. Tanımlamalar	23
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	25
3.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE CİHAZLAR	25

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	25
3.1.2. Kullanılan Cihazlar.....	25
3.2. YÖNTEMLER	26
3.2.1. Jelatin Metakrilamid (GelMA) Sentezi:	26
3.2.2. Aljinat Metakrilamid (AlgMA) Sentezi:	26
3.2.3. GelMA/AlgMA Hibrit Hidrojellerinin Hazırlanması.....	27
3.2.4. GelMA/AlgMA Hibrit Hidrojellerin Kimyasal Karakterizasyonu.....	29
3.2.4.1. GelMA/AlgMA Biyopolimerlerinin ¹ H NMR Analizi.....	29
3.2.5. GelMA/AlgMA Hibrid Hidrojellerin Mekaniksel Karakterizasyonu	29
3.2.5.1. Çekme Testi.....	30
3.2.5.2. Sıkıştırılma Testi	30
3.2.6. GelMA / AlgMA Hibrit Hidrojellerinin Viskoelastik Özellikleri.....	31
3.2.7. Fiziksel Özellikler:	32
3.2.7.1. Şişme Testi	32
3.2.7.2. Degradasyon (Bozunum) Testi	33
3.2.8. Sızdırmazlık Özelliklerinin in vitro Değerlendirilmesi.....	33
3.2.8.1. Patlama Basıncı Testi	33
3.2.8.2. Yara Kapanma Dayanımı Testi	34
3.2.9. Ex vivo Sızdırmazlık Testleri.....	34
3.2.9.1. Ex vivo Patlama Basıncı Testi	35
3.2.9.2. Ex vivo Yara Kapanma Dayanımı Testi.....	35
3.2.10. Hücre Uyumluluğunun Değerlendirilmesi	35
4. BULGULAR.....	37
4.1. GELMA / ALGMA BİYOPOLİMERİNİN ¹ H NMR ANALİZİ	37
4.2. GELMA / ALGMA BİYOPOLİMERİNİN MEKANİKSEL DAYANIM ANALİZİ.....	39
4.2.1. Çekme Testi.....	39
4.2.2. Sıkıştırılma Testi	43
4.3. GELMA / ALGMA BİYOPOLİMERİNİN VİSKOELASTİK SONUÇLARI	47
4.4. GELMA / ALGMA HİBRİT HİDROJELLERİNİN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ	51
4.4.1. Şişme Testi	51
4.4.2. Degradasyon (Bozunma) Testi	52
4.5. SIZDIRMAZLIK ÖZELLİKLERİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ.....	53
4.5.1. Patlama Basıncı Testi	53
4.5.2. Yara Kapanma Dayanımı Testi	55

4.6. EX VİVO SIZDIRMAZLIK TESTLERİ.....	56
4.6.1. Ex vivo Patlama Basıncı Testi.....	56
4.6.2. Ex vivo Yara Kapama Testi	58
4.7. HÜCRE UYUMLULUK TESTLERİ.....	60
4.8. ÇEŞİTLİ BİYOPOLİMERİK SİSTEMLERİN MEKANİK VE YAPIŞKAN ÖZELLİKLERİ	62
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	65
KAYNAKLAR.....	76
ÖZGEÇMİŞ	82



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 : Biyo yapışma mekanizmaları: A, mekanik kilitleme; B, zincir dolanması; C, moleküller arası bağlanma; ve D, elektrostatik bağ.	9
Şekil 2.2 : Foto çapraz bağlı GelMA hidrojel hazırlanması.	14
Şekil 2.3 : Eosin Y-bazlı fotopolimerizasyon sistemi. Eosin Y'nin foto-kaynaklı aktivasyonu ile başlatılan radikal üretim reaksiyonlarının şematik bir gösterimi.	16
Şekil 2.4 : Biyo-yapıştırıcılar tarafından kullanılan arayüzey bağları.	169
Şekil 2.5 : Patlama Test Sistemi (A), Monte Edilen Test Armatürünün (B) Ayrılmış Görünümüyle.	21
Şekil 2.6 : Gerilme-Gerinim Eğrisi: Malzemelerin Özellikleri.	22
Şekil 2.7 : Gerilme-Gerinim Eğrisi: Malzemelerin Dayanımı.	22
Şekil 2.8 : Test Örneği Üstten Görünüm.	24
Şekil 3.1 : Ön jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojellerin hazırlanma aşamaları.	27
Şekil 4.1 : Ön jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojellerin ¹ H NMR spektrumları.	37
Şekil 4.2 : Ön jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojellerin gösterimi.	39
Şekil 4.3 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojeller için çekme testi uygulama çalışmasının gösterimi.	40
Şekil 4.4 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin çekme gerilmesi-gerinim eğrisi.	40
Şekil 4.5 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin kopma sırasındaki çekme gerinimlerine ait bulgular.	41
Şekil 4.6 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin çekme kuvvetlerine (kPa) ait bulgular.	42
Şekil 4.7 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin elastik modülüne ait bulgular.	42
Şekil 4.8 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojeller için dayanıklılıklarına ait bulgular.	43

Şekil 4.9 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için sıkıştırılma testi uygulamaları gösterimi.	43
Şekil 4.10 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin basma gerilmesi-gerinim eğrisi.	44
Şekil 4.11 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için basma kuvvetine ait bulgular.	45
Şekil 4.12 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için basma modülüne ait bulgular.	45
Şekil 4.13 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için basma gerilmesine ait sonuçlar.	46
Şekil 4.14 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için hesaplanan enerji kaybına (%) ait bulgular.	47
Şekil 4.15 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojelleri için depolama modülüne (G') ait bulgular.	47
Şekil 4.16 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojelleri için kayıp modülüne (G'') ait bulgular.	48
Şekil 4.17 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojelleri için kayıp faktörüne (G'/G'') ait bulgular.	48
Şekil 4.18 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için sabit açısal frekansta ($\sim 1 \text{ rad s}^{-1}$) depolama modülüne (G') ait bulgular.	49
Şekil 4.19 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için sabit osilatör kayma geriniminde ($\sim 0.1\%$) depolama modülüne (G') ait bulgular.	49
Şekil 4.20 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için sabit açısal frekansta ($\sim 1 \text{ rad s}^{-1}$) kayıp modülüne (G'') ait bulgular.	50
Şekil 4.21 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için sabit osilatör kayma geriniminde ($\sim 0.1\%$) kayıp modülüne (G'') ait bulgular.	50
Şekil 4.22 : GelMA'dan (% 20 w/v) ve değişken konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrit hidrojel için inkübasyon sürelerine bağlı % şişme oranlarına ait bulgular.	51
Şekil 4.23 : GelMA'dan (% 20 w/v) ve değişken konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrit hidrojel için DPBS'de 4 saatlik inkübasyondan sonrası % şişme oranlarına ait bulgular.	52

Şekil 4.24 : GelMA'dan (% 20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için 37 ° C'de kollajenaz (1.25 U / mL) içeren DPBS'ye batırılmış zamana bağlı bozunma sonuçlarına ait bulgular.	52
Şekil 4.25 : GelMA'dan (% 20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için 37 ° C'de kollajenaz içeren (1.25 U / mL) DPBS'de 5 haftalık inkübasyondan sonra hidrojel için bozunmasına ait bulgular.	53
Şekil 4.26 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için patlama basıncı testi hazırlık aşamaları.....	53
Şekil 4.27 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için patlama basıncı testlerinden elde edilen temsili basınç-zaman eğrileri.....	54
Şekil 4.28 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için patlama basınçlarına ait bulgular.....	54
Şekil 4.29 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için yara kapanması testi hazırlık aşamalarına ait gösterim.	55
Şekil 4.30 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için yara kapama deneylerinden temsili gerilme-gerinim eğrilerine ait bulgular.	55
Şekil 4.31 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için yara kapanma dayanımına ait bulgular.....	56
Şekil 4.32 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için ex vivo patlama basıncına ait gösterim.	57
Şekil 4.33 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için ex vivo patlama basınçlarına ait bulgular.....	57
Şekil 4.34 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için ex vivo yara kapama testi gösterimi.	58
Şekil 4.35 : Biyo-yapışkan malzemenin yara kapatma kabiliyetini test etmek için dokunun gerilmesi.	58
Şekil 4.36 : Gerilme-gerinim eğrileri ve anastomoz gerilme testleri sırasında bazı biyo-yapışkanlık şekilleri örnekleri.	59
Şekil 4.37 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için anastomoz yetmezliği kuvvetlerine ait bulgular.....	59
Şekil 4.38 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için anastomoz yetmezliği enerjilerine ait bulgular.	60
Şekil 4.39 : GelMA'dan (ağırlıkça% 20) ve değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrid hidrojel için in vitro sitotoksikite değerlendirmesine ait bulgular.....	61

Şekil 4.40 : GelMA'dan (ağırlıkça% 20) ve değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrid hidrojellerin in vitro sitotoksitesine değerlendirilmesine ait farklı günlerde % hücre canlılığına ait bulgular.....	61
Şekil 4.41 : GelMA'dan (ağırlıkça% 20) ve değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrid hidrojellerin in vitro sitotoksitesine değerlendirilmesine ait farklı günlerde floresan yoğunluğu bulguları.....	62
Şekil 4.42 : % 20 (w/v) foto çapraz bağlı hidrojinin kopma sırasındaki çekme gerilmesi ve çekme kuvvetleri, GelMA % 25 (w/v) foto çapraz bağlı hidrojel ile kıyaslanmasına ait bulgular.	63
Şekil 4.43 : % 20 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA ile % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA hidrojellerine ait mekaniksel test kıyaslanmasına ait bulgular.	63
Şekil 4.44 : % 20 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA ile % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA hidrojellerine ait ex vivo patlama basıncı ve yara kapama kuvveti sonuçlarına ait bulgular.....	63
Şekil 4.45 : Çapraz bağlanmış % 5 (w/v) AlgMA'ya kıyasla % 5 (w/v) aljinatın patlama basıncına ait bulgular.....	64
Şekil 4.46 : % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA'dan ve değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin patlama basınçlarına ait bulgular.	64
Şekil 5.1 : Foto / iyonik çapraz bağlanma ve doku adezyonu geçiren GelMA-AlgMA hibrit hidrojinin şeması.	73
Şekil 5.2 : GelMA/AlgMA biyo-yapıştırıcı ile MeTro arasındaki mekaniksel farklar.	74

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Klinik olarak kullanılan biyo-yapışkan malzeme çeşitleri.....	6
Tablo 2.2: Ana yapıştırıcı tiplerinden bazılarının tıbbi uygulamaları ve kısa açıklamaları.	7
Tablo 3.1: Hibrit hidrojellerin formülasyonu.	28
Tablo 4.1: Ön jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojellerin ^1H NMR sonuçları.	38

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
3D	: Üç boyutlu
2D	: İki boyutlu
SI	: Uluslararası birim sistemi
w/v	: Ağırlık/hacim
kDa	: Kilo dalton
DI	: Deiyonize su
mM	: Milimolar
E	: Elastik modül
F	: Gerilim
λ	: Deformasyon
G'	: Depolama modülü
G''	: Kayıp modülü
G'/G''	: Kayıp faktörü
kPa	: Kilo paskal
mV	: Mili volt
λ	: Dalga boyu
U/ml	: Unit/mililitre
UV	: Ultraviyole

Kısaltmalar	Açıklama
GelMA	: Jelatin metakrilik
AlgMA	: Aljinat metakrilik
ECM	: Hücre dışı matrisi
GRF	: Jelatin resorsinol formaldehit
MMP	: Matris metaloproteinaz
RGO	: Arginin-glisin-aspartik asit
UV	: Ultraviyole
LAP	: Lityum asilfosfinat tuzu
VC	: N-vinilkaprolaktam

TEA	: Triethanolamin
DPBS	: Dulbecco fosfatlı tampon salin
D₂O	: Döteryum oksit
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
DMSO	: Dimetilsülfoksit
PDMS	: Polidimetilsiloksan
PMMA	: Polimetilmetakrilat
MA	: Metakrilik anhidrit



ÖZET

DOKTORA TEZİ

REJENERATİF TIPTA HİDROJELLERİN İN VİTRO BİYOLOJİK UYGULAMALARININ İNCELENMESİ

Rumeysa TUTAR

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU

Büyük gerilmelere dayanabilen mekanik olarak güçlü ve dayanıklı biyo-yapışkan hidrojellerin tasarlanması mesane gibi oldukça gerilebilir dokuların dikişsiz kapatılması için yeni fırsatlar açabilmektedir. Çapraz bağlanabilir kısımların fonksiyonel grup yoğunluğunun arttırılması ve bunların diğer polimerler veya nanomalzemelerle harmanlanması gibi hidrojellerin tipik kimyasal modifikasyonları, geliştirilmiş mekanik sertlikle sonuçlanmasına rağmen, modifiye edilmiş hidrojeller, çoğunlukla, büyük gerilmeler altında bozulma ile sonuçlanan artan kırılgenlik sergilemişlerdir. Buna göre, görünür ışığa maruz kalma gibi minimal invaziv yöntemler kullanılarak, talep üzerine yerinde çapraz bağlanabilen enjekte edilebilir, sert hidrojeller geliştirmek, karşılanamayan bir tıbbi zorluktur. Doku sızdırmazlığı için ortaya çıkan biyopolimerler arasında, denatüre kolajenden elde edilen doğal olarak türetilmiş bir

biyopolimer olan jelatin metakrilil (GelMA), mükemmel biyoadherasyon, biyobozunurluk ve biyoyumluluk sonucu umut verici bir rol üstlenmiştir. Burada, GelMA'nın ana eksikliklerinden birinin, yani kırılabilirliğin üstesinden gelmek için, suşu altındaki enerjiyi dağıtabilen iyon kaynaklı tersinir çapraz bağlanma elde etmek için metakrilat ile modifiye edilmiş aljinat (AlgMA) kullanarak hibritledik. Hibrit GelMA-AlgMA hidrojel, kalsiyum gibi iki değerli katyonlar kullanılarak tasarlanabilen mükemmel tokluğa sahip, foto çapraz bağlanabilir, enjekte edilebilir ve yapışkan bir platform sağlar. % 600'den fazla iyileştirilmiş tokluğa sahip olan bu yeni hibrid biyopolimer sınıfı, özellikle gerilebilir dokular için minimal invaziv prosedürde dayanıklı, mekanik olarak esnek ve düşük maliyetli doku sızdırmazlık maddeleri için aşama oluşturabilir. Hidrojellerin tokluğunu artırma stratejimiz, benzer şekilde reaktif kısımlara sahip diğer çapraz bağlanabilir polimerlere genişletilebilir.

Ocak 2020, 102 sayfa.

Anahtar kelimeler: Metakrilik anhidrit, metakrilat ve metakrilamid grupları içeren jelatin ve aljinat, hidrojel, biyolojik uygulamalar

SUMMARY

Ph.D. THESIS

INVESTIGATION OF IN VITRO BIOLOGICAL APPLICATIONS OF HYDROGELS IN REGENERATIVE MEDICINE

Rumeysa TUTAR

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU

Sutureless sealing of highly stretchable tissues such as the bladder would be possible by designing mechanically robust and durable bioadhesive hydrogels that can withstand large stresses. While typical chemical modifications of hydrogels, such as increasing the functional group density of crosslinkable moieties and blending them with other polymers or nanomaterials have resulted in improved mechanical stiffness, the modified hydrogels have often exhibited increased brittleness resulting in deteriorated sealing capabilities under large strains. Accordingly, developing injectable, tough hydrogels that can be crosslinked in situ on demand using minimally-invasive methods, such as visible light exposure is an unmet medical challenge. Among the emerging biopolymers for tissue sealing, gelatin methacryloyl (GelMA), a naturally-derived biopolymer obtained from denatured collagen, has secured a promising role

as a result of its excellent bioadhesion, biodegradation, and biocompatibility. Here, to overcome one of the main shortcomings of GelMA, i.e., brittleness, we hybridized it using methacrylate-modified alginate (AlgMA) to impart ion-induced reversible crosslinking that can dissipate energy under strain. The hybrid GelMA-AlgMA hydrogels provide a photocrosslinkable, injectable, and adhesive platform with an excellent toughness that can be engineered using divalent cations, such as calcium. This class of novel hybrid biopolymers with more than 600% improved toughness may set the stage for durable, mechanically-resilient, and cost-effective tissue sealants in minimally invasive procedure, especially for stretchable tissues. Our strategy to increase the toughness of hydrogels may be extended to other crosslinkable polymers with similarly-reactive moieties.

January 2020, 102 pages.

Keywords: Methacrylic anhydride, gelatin and alginate containing methacrylate methacrylamide groups, hydrogel, biological applications

1. GİRİŞ

Günümüze kadar cerrahi sızdırmazlık malzemeleri, dokuları kapamak veya yeniden bağlamak için kullanılmışlardır. Ancak çoğu zaman düşük yapışma, uygun olmayan mekanik dayanım, sitotoksikite kaygıları ve biyolojik ortamlarda düşük performansa sahip olmaları sebebi ile kullanımlarında zorluk yaşanmıştır. Bu zorlukların üstesinden gelmek için, biyouyumlu ve mekaniksel dayanımı oldukça yüksek bir hidrojel sızdırmazlık maddesine ihtiyaç vardır. Bu çalışmamızda, en umut verici rejeneratif doku yapıştırıcı sınıflarından biri olan, doğal olarak türetilmiş protein bazlı hidrojellerin dayanıklılığında (eş zamanlı gerilebilirlik ve mekanik mukavemet) olağanüstü bir gelişme olduğunu göstermekteyiz. Foto-çapraz bağlanabilir hidrojellerin doku sızdırmazlık özelliklerini önemli ölçüde arttırmak için elastik türevleri gibi düşük maliyetli bir alternatif sağlayan doğal olarak türetilmiş foto-çapraz bağlanabilir hidrojellerin doku sızdırmazlık özelliklerini önemli ölçüde arttırmak için biyopolimer esaslı bir kompozit hidrojel tasarladık. Doğal olarak türetilmiş biyopolimerlere, örneğin kollajen, jelatin, fibrin, albümin ve polisakkaritlere dayanan uyarıcılara duyarlı hidrojeller, mükemmel biyouyumlulukları ve biyolojik olarak parçalanabilirlikleri nedeniyle son zamanlarda dikkat çekmiştir. Ancak yapısal heterojenite ve zayıf mekanik ve yapışma özellikleri yaygın klinik kullanımlarını inhibe etmiştir. Tropoelastin türevleri gibi daha iyi mekanik ve yapışma özelliklerine sahip diğer elastik hidrojel sınıfları tipik olarak oldukça pahalıdır ve sıkıcı sentez / fermantasyon adımları gerektirir. Buna göre, son birkaç yılda mekanik olarak esnek yapışkan hidrojel sistemlerinin geliştirilmesine yönelik birkaç çaba gösterilmiştir. Doku sızdırmazlık özellikleri kazandırmak için makromoleküllerin ortak kimyasal modifikasyonları, kimyasal bağlamayı güçlendirmek ve bağ, epitel, sinir ve kas dokuları ile kenetlenmesi için akrilatlar, aldehitler, fosfatlar, tiyoller ve azot içeren kısımlarla fonksiyonelleştirmeyi kapsamaktadır. Doku yapışmasını geliştirmeye rağmen, toksisite (örneğin, aldehitlerle modifiye edilmiş materyaller) ve hidrojellerin mekanik özellikleri üzerindeki olumsuz etkiler de dahil olmak üzere bu kimyasal modifikasyonlarla ilgili zorluklar, biyomalzemeler alanına translasyonel alternatifler aramaya itmiştir. Burada, aljinat türevlerinin (metakrilik modifiye aljinat, AlgMA) benzer kimyasal ipuçlarını içeren jelatin ile son derece kolay bir fizikokimyasal hibridizasyonuna dayanarak bu zorlukların üstesinden gelmek için bir stratejisi sunuyoruz. Aynı şekilde çapraz bağlanabilir kimyasal kısımlardan yararlanarak, klinik olarak kullanılan

biyo-uyumlu bir polimer olan az miktarda AlgMA kullanarak, en umut verici sızdırmazlık maddesi hidrojellerden biri olan jelatin metakrilik (GelMA) sentezi hedeflendi. Kimyasal olarak foto çapraz bağlanmış hibrit hidrojeller, geri dönüşümlü bir yumurta kutusu benzeri G bloğu ağı oluşturmak için Ca^{2+} gibi iki değerli iyonlar kullanılarak fiziksel çapraz bağlanmaktadır. Kimyasal olarak çapraz bağlanmış olan GelMA ve AlgMA MA grupları, hibrit hidrojellerin yapısal bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunurken, fiziksel çapraz bağlanma, hibrit hidrojellere gerilebilirlik ve dayanıklılık kazandıran, stres altında enerjiyi yayan bir polimer ağı sağlar. Yüksek gerilmelere dayanabilen mekanik olarak dayanıklı biyo-yapışkan hidrojellerin tasarlanmasının mesane gibi yüksek oranda gerilebilir dokuların dikişsiz bir şekilde kapatılması için yeni fırsatlar açabileceği öngörülmüştür. Çapraz bağlanabilir kısımların fonksiyonel grup yoğunluğunun artırılması ve bunların diğer polimerler veya nanomalzemelerle harmanlanması gibi hidrojellerin tipik kimyasal modifikasyonları, geliştirilmiş mekanik sertlikle sonuçlanmasına rağmen, modifiye edilmiş hidrojeller, çoğunlukla, büyük zorlanmalar altında bozulma ile sonuçlanan artan kırılabilirlik sergilemişlerdir. Buna göre, görünür ışığa maruz kalma gibi minimal invaziv yöntemler kullanılarak, talep üzerine yerinde çapraz bağlanabilen enjekte edilebilir, sert hidrojeller geliştirmek, karşılanamayan bir tıbbi zorluktur. Doku sızdırmazlığı için ortaya çıkan biyopolimerler arasında, denatüre kolajenden elde edilen doğal olarak üretilmiş bir biyopolimer olan GelMA, mükemmel biyo-yapışma, biyo-bozunurluk ve biyo-uyumluluk sonucu tıp alanında umut verici bir rol üstlenmiştir. Burada, GelMA'nın ana eksikliklerinden birinin, yani kırılabilirliğinin üstesinden gelmek için, zorlama altındaki enerjiyi dağıtabilen iyon kaynaklı tersinir çapraz bağlanma elde etmek için metakrilat ile modifiye edilmiş AlgMA kullanarak hibrit bir hidrojel tasarladık. Hibrid GelMA-AlgMA hidrojelleri, kalsiyum gibi iki değerli katyonlar kullanılarak hazırlanan mükemmel dayanıklılığa sahip, foto çapraz bağlanabilir, enjekte edilebilir ve yapışkan bir platform sağlamaktadır. % 600'den fazla iyileştirilmiş dayanıklılığa sahip olan bu yeni hibrid biyopolimer sınıfı, özellikle gerilebilir dokular için minimal invaziv prosedürde dayanıklı, mekanik olarak esnek ve düşük maliyetli doku sızdırmazlık maddeleri için aşama oluşturabilirler. Hidrojellerin dayanıklılığını artırma stratejimiz, benzer şekilde reaktif kısımlara sahip diğer çapraz bağlanabilir polimerlere genişletilebilir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. REJENERATİF TIP NEDİR?

Rejeneratif tıp, hastalığın, travmanın veya doğumsal anomalilerin neden olduğu doku veya organ hasarlarının giderilmesi ve normal vücut fonksiyonlarının yeniden kazanılması ile ilgilenen yeni gelişmekte olan bir alandır (Slaughter ve diğ. 2009). Bu sonuçları gerçekleştirmek için kullanılan araçlar doku mühendisliği, hücresel tedaviler, tıbbi cihazlar ve yapay organlardır.

Bu yaklaşımların kombinasyonları, doğal iyileşme sürecimizi en çok ihtiyaç duyulan yerlerde artırabilir veya kalıcı hasar görmüş bir organın işlevini üstlenebilirler. Rejeneratif tıp, insanlığın karşılaştığı en zorlu tıbbi sorunların çözümlerini bulmak için biyoloji, kimya, bilgisayar bilimi, mühendislik, genetik, tıp, robotik ve diğer alanlarda uzmanları bir araya getiren nispeten yeni bir alandır.

Yaralanma yada hastalık nedeniyle vücudumuz istila edildiğinde vücudumuzun iyileşmesi ve savunması için doğuştan gelen tepkisi vardır. Vücudun iyileşme gücünden yararlanmak ve sonra klinik olarak uygun bir şekilde iyileşmeyi hızlandırmak mümkün olsaydı ne olurdu? Ya vücudun daha iyi iyileşmesine yardımcı olabilirsek?

Rejeneratif Tıp'ın umut verici alanı, hasarlı doku ve organların yapısını ve işlevini geri kazanmaya çalışıyor olmasıdır. Ayrıca kalıcı hasar gören organlara çözümler üretmek için çalışmalar yapılmaktadır. Bu yaklaşımın amacı, önceden tedavi edilemeyen yaralanma ve hastalıkları tedavi etmenin bir yolunu bulmaktır.

2.1.1. Rejeneratif Tıp ve Biyo-yapıştırıcılar

Biyo-yapışma, doğal ve sentetik malzemelerin cilt veya mukoza membranları gibi biyolojik dokulara yapıştığı, yara kapama ve iyileştirme, ilaç salınımı, biyomedikal cihazların implantasyonu, doku mühendisliği ve diş ve kemik uygulamaları dahil olmak üzere klinik olarak yararlanılabilecek değerli bir özelliktir. Biyo yapıştırıcılar, biyolojik sıvıların sızmasını önleyen bir sızdırmazlık oluşturmak veya yumuşak doku dikişlere ve zımbalara çekici bir alternatif olarak anatomik bütünlüğü güçlendirmek için yumuşak doku onarımı için kullanılabilecek doğal veya sentetik malzemelerdir. Ameliyat sonrası dokuların yeniden bağlanması, yeterli

fonksiyon ve yapının restorasyonu için çok önemlidir. Bu amaç için geleneksel bakım standardı cerrahi işlemlerden sonra dikiş, tel ve zimba kullanmaktır. Bununla birlikte, bu geleneksel yöntemler, on yıllardır cerrahi prosedürlerde sorunlara neden olan birkaç sınırlama ile karşılanmaktadır. Örneğin, bu bağlanmaların uygulanması zaman alıcıdır ve daha fazla doku hasarına neden olabilir, ayrıca bakteri enfeksiyonu riski doğurabilir. Ek olarak, vücut sıvısını ve hava sızıntılarını durdurmak için derhal veya yeterli kapama sağlamayabilirler. Yapışkan biyomalzemelerin kullanımı, basit ve ağrısız uygulamaları ve kısa uygulama süreleri dahil, geleneksel yaklaşımlara göre sundukları avantajlardan dolayı, yara kapama için üstün bir alternatiftir. Bu bağlamda, dokuların kapatılması ve yeniden bağlanması veya cihazların dokulara tutturulması için çeşitli tiplerde cerrahi malzemeler kullanılmıştır. Bu biyomalzemeler, son uygulama için uygun özelliklere ve tıbbi müdahaleye katılan anatomik parçalara sahip olmalıdır. Bu özellikler arasında ince ayarlanmış mekanik stabilite, güçlü arayüzey yapışma gücü, biyobozunurluk, hızlı ve basit uygulama, doku rejenerasyonu ve yüksek enfeksiyon riski olan yaralarda antimikrobiyal yetenek bulunmaktadır. Çeşitli hücre dışı matriks (ECM) proteinleri ve bunların hibritleri veya kompozitlerine dayanan yüksek derecede elastik, biyouyumlu ve biyobozunur doku yapıştırıcıları tasarlanarak bu alanda kullanıma sunulmuştur. Bu malzemeler, anastomoz için gulesler, hava geçirmez akciğer sızdırmazlık maddeleri, sinir tutkalı, kas-iskelet sistemi onarımı için yapıştırıcılar, diş uygulamaları, yara iyileşmesi için püskürtülebilir yapıştırıcılar, yapıştırıcı kardiyopatlar ve kornea sızdırmazlığı ve onarımı için biyo-yapıştırıcılardır. Bu yeni yapıştırıcılar piyasadaki mevcut sızdırmazlık ürünlerinden daha üstündür ve sonuç olarak dikişsiz prosedürleri mümkün kılan cerrahi sızdırmazlık malzemelerinde bir paradigma kayması anlamına geldiği söylenebilmektedir.

Yapıştırıcılar ve biyo-yapıştırıcılar, cerrahi sonrası yaralanmaları iyileştirmede ve normal doku fonksiyonlarının restorasyonunda kullanılan geleneksel yöntemlere ek olarak yaygın şekilde Rejeneratif tıp uygulamalarında kullanılmaktadırlar.

Biyo-yapıştırıcılar uzun süredir tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır ve sentetik yapıştırıcılarla karşılaştırıldıklarında daha biyo-uyumlu bir alternatiflerdir. Uygulama kolaylığı, ameliyat süresinde azalma, gelişmiş kalite ve güç gibi avantajlar sunarlar.

Ayrıca, kontrollü ve sahaya özel ilaç dağıtım sistemleri gibi farklı alanlarda, doku mühendisliği ve doku yenilenmesinde biyo yapıştırıcılar kullanılmaktadırlar. Farklı formlarda mevcut olan

çeşitli pazarlanmış biyolojik yapıştırıcılar vardır. Bu hasta uyumlu bir sistemdir ve gittikçe popülerliklerini arttırmışlardır (Rathi ve diğ. 2018).

Vücudun yapı ve fonksiyonlarının normal restorasyonu için cerrahi sonrası doku yaralanmalarını iyileştirmek önemlidir. Geleneksel olarak, sütürler, zımbalar ve teller bu dokuları bağlamak için kullanılmıştır. Bu ligatürlerin birincil rolü, biyolojik travma olmadan yeterli iyileşme sağlayan, biyolojik sıvıların sızmasını durdurmaktır. Yaygın olarak klinik uygulamalarda kullanılmasına rağmen, bu mekanik yöntemlerin bazı dezavantajları vardır: travmatik yapıları, mekanik birliğin konumlandırılmasındaki yanlışlıklar, enfeksiyon olasılığı vb. (Duarte ve diğ. 2012).

Yukarıdaki yöntemlerin belirtilen tüm eksikliklerine bakıldığında, biyo-yapıştırıcıların bu sorunları çözmek için ideal bir yöntem olduğu görülmektedir. Yapıştırıcılar, travmatik yaralanmalarda büyük kan kaybını önleme ve kanama kaynaklı hipotansiyonun hastanın organlarına zarar verebileceği ameliyatlarda sayısız avantaj özelliğine sahiptirler. Kullanım kolaylığı, ameliyat süresinde azalma, iyileştirilmiş kalite ve sızdırmazlık mukavemeti, boşaltma gereksinimlerinin eksikliği ve hava kaçaklarının etkili sızdırmazlığı nedeniyle klinik uygulamalarda ilgi çekici hale gelmişlerdir (Spotnitz ve Burks, 2008).

Biyolojik yapıştırıcılar, biyolojik veya sentetik kökenli maddeler içerirler ve biyolojik yüzeylere yapışmada kullanılırlar. İdeal olarak, biyo-yapıştırıcıların kullanımı kolay olmalı, toksik olmamalı ve güçlü yapışma özelliklerine sahip olmalıdırlar. Biyolojik olarak parçalanabilir, immünojenik olmamalı ve fizyolojik koşullarda etkili olmalıdırlar. Yaralıların iyileşmesine yardımcı olmak için maddenin dokuyu yerinde tutması gerekmektedir (Montarano ve diğ. 2008).

2.1.2. Biyo-yapıştırıcıların Sınıflandırılması

Biyo-yapıştırıcılar, kökenlerine göre doğal veya biyolojik, sentetik veya yarı sentetik olarak sınıflandırılabilirler (Tablo 2.1 ve 2.2). Siyanoakrilatlar en sık kullanılan sentetik yapıştırıcılardır. Diğer sentetik ve yarı sentetik yapıştırıcılar jelatin-resorsinolformaldehit (GRF) ve üretan ön polimerleridir. Siyanoakrilatlar, yüksek yapışma gücü ve düşük üretim maliyetleri nedeniyle popülerlik kazanmışlardır. Bununla birlikte, iç uygulamalar için kullanımlarını sınırlayan ana dezavantaj, dokularda biriken toksik bozunma ürünlerinin

varlığıdır. Bu nedenle, olası enfeksiyon riskleri ve doku nekrozu nedeniyle cilt onarımı dışındaki uygulamaları önerilmemektedir (Duarte ve diğ. 2012).

Diğer yapıştırıcılar düşük biyouyumluluk, ıslak yüzeylere düşük yapışma ve formaldehit gibi toksik bozunma ürünlerinin salınımının neden olduğu kronik inflamasyon gibi etkiler gösterirler. Bu nedenle, doğal polimerlere dayalı yapıştırıcılar gibi daha biyo-uyumlu alternatifler aramaya ihtiyaç vardır.

Biyo-yapıştırıcılar, kan pıhtılaşması sırasındaki aynı çapraz bağlama düzenini taklit edebilme özelliğine sahiptirler. Çeşitli doğal veya biyolojik bazlı yapıştırıcılar hem proteinli hem de polisakarit bazlı kökenleri içermektedirler. Protein bazlı biyo-yapışkanlar arasında fibrin sızdırmazlık maddeleri, kolajen bazlı yapıştırıcılar ve jelatin bazlı yapıştırıcılar bulunmaktadır. Ayrıca, polisakkarit bazlı yapıştırıcılar arasında esas olarak kitosan sızdırmazlık maddeleri, aljinat bazlı yapıştırıcılar ve kondritin sülfat tutkalı bulunmaktadır.

Tablo 2.1: Klinik olarak kullanılan biyo-yapışkan malzeme çeşitleri.

Örnekler	Tanımı	Yapışma Mekanizmaları
Doğal Malzemeler		
Fibrin sızdırmazlık malzemeleri	Fibröz protein doku yapıştırıcısı	Fibrin çapraz bağlanarak yapışma
Kitosan	Glukozamin ve N-asetil glukosaminin kopolimeri (% 2- % 60); MW 50-2000 kD; yüksek katyonik	İyonik etkileşimler, hidrojen bağı ve hidrofobik etkiler
Dekstran	Kompleks dallı glukoz (glukozdan bir polisakkarit)	Zincir dolaşma
Balanidler	Polipeptit yapıştırıcı yapıları	Kimyasal yapışma
Midyeler	L -3,4- dihidroksifenilalanin (L-DOPA) içeren yapışkan protein	Kimyasal yapışma (hidrojen bağı)
Kum kurtları	DOPA ve fosfoserin içeren yapışkan protein	Kimyasal yapışma
Kollajen	Proteinli yapıştırıcı	Çapraz bağlanma
Sentetik Malzemeler		
Karbopol/Karbomerler	Allil sukroz veya allil pentaeritritol ile çapraz bağlanmış poliakrilik asit; MW 1-4000 kD	Hidrojen bağları ve parçalanma
Poliakrilatlar	Divirilglolikol ile çapraz bağlanmış poliakrilik asit; MW 20-30 kD	Hidrojen bağları ve parçalanma
Poli(etilen glikol) (PEG)	Düşük ve yüksek molekül ağırlıklı polietilen oksitler	Moleküller arası dolaşma
Sianoakrilatlar	Akrilik polimer 2-siyanoakrilat ünitelerinden oluşan akrilik reçineli polimer	Hızlı polimerizasyon

Tablo 2.2 : Ana yapıştırıcı tiplerinden bazılarının tıbbi uygulamaları ve kısa açıklamaları.

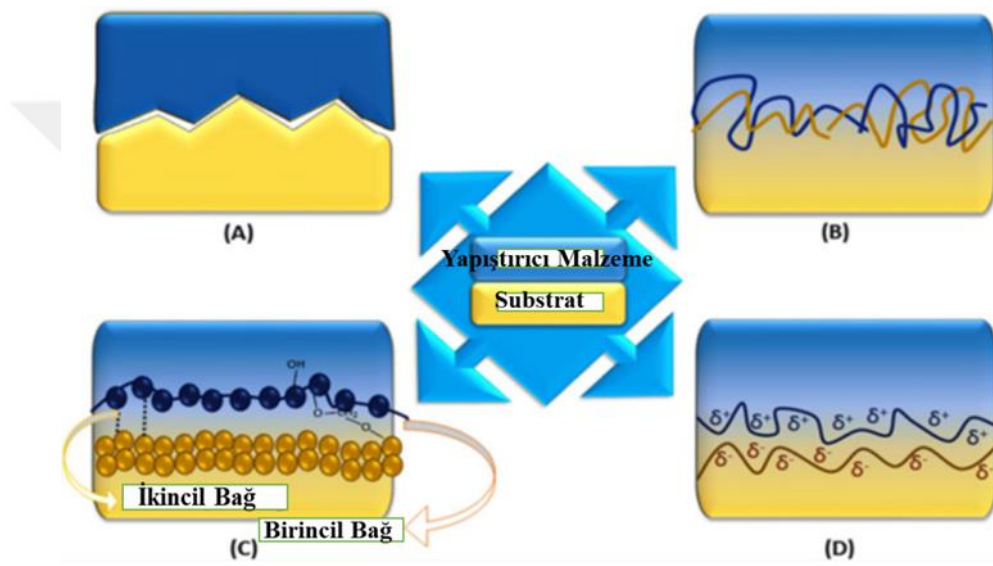
Yapıştırıcı tipi	Cerrahi fonksiyonlar	Test Edilen Ürünler
Doğal veya biyolojik		
Fibrin	Kanama kontrolü, yara kapanması ve doku anastomozları, ekimozları ve hematoma oluşumunu azaltır, sızıntıları kapatır ve onarır, yırtıkları ve tistülleri tedavi eder, debridman sonrası yanık kanamasını kontrol eder ve kemik kırıklarını düzeltir.	Fibrin sıvı sızdırmazlık maddeleri (Hemaseel APR, Tisseel VH, Crosseal®) ve köpük, kuru tabaka, farklı fibrinojen ve trombin bileşimli güç
Kollajen	Genel cerrahi için hemostaz (örneğin kardiyovasküler, hepatik ve ortopedik prosedürler), Vasküler cerrahide hemostaz, Adeno İdektomi Omurga Cerrahisinde Hemostaz.	Sığır mikrofibriler kollajen, sığır trombin, uygulama sırasında eşit miktarda plazma ile karıştırılmış süspansiyon (CoStasis®) Sığır kollajen partikülü sığır trombin (FloSeal)
Jelatin	Çeşitli cerrahi prosedürlerde ve anatomik bölgelerde hemostaz (örn. Femoral bypass), Genel vasküler ve pulmoner prosedürler, Aort diseksiyonu tamiri.	Jelatin parçacık – trombin süspansiyonu (FloSeal®), Jelatin-rezorsinol-formaldehit-glutaraldehit, Sığır albumin – glutaraldehit yapıştırıcı (BioGlue®).
Polisakkaritler		
Kitosan	Lingual kanamada hemostaz, sinir anastomozu, karotis arterde hemostaz, akciğeri havasını mühürleme, cilt yarası kapanması, sızdırmazlık malzemeleri delinme bölgeleri	Kitosan Kitosan ve çapraz bağlayıcı (indosiyenin yeşili veya genipin) Azit ve laktoz kısımları ile foto çapraz bağlanabilir kitosan
Aljinat	Sulu bir ortama maruz kaldıktan sonra bile dokuların bağlanması	Aljinat – kalsiyum iyonları ve floroglucionol
Kondroitin sülfat	Hem doğal kıkırdak dokusunu hem de biyomateriyal implantı bağlar, Güvenli flapsin posterior lamel keratoplasti	Aldehit ve metakrilat grupları ile işlevselleştirilmiş kondroitin sülfat Kondroitin sülfat-aldehid

Tablo 2.2 (devam) :

Sentetik ve yarı sentetik		
Siyanoakrilatlar	Yüzeysel cilt yarası kapanması Kozmetik cerrahi, cilt grefti düzeltmesi, küçük kesikler veya yeniden ortaya çıkan yırtılmalar Endoskopik, laparoskopik, geleneksel cerrahi ve girişimsel radyoloji prosedürleri	Sıvı siyano akrilatlar (Derma bond® ve Liquid band®) 2-Oktil siyano akrilat (Dermabond®) Modifiye n-butil-2-siyano akrilat (Glubran2)
Polimerik Hidrojeller	Dikiş hattı kanamasını engelleme Jinekolojik ve kolorektal prosedürler (örneğin, ileostominin kapatılması) Posterior fossa cerrahisi sonrası insizyonel beyin omurilik sıvısı kaçağı, retina yeniden bağlanması, sinir siyatikaztomisi, vasküler kapanma.	PEG sızdırmazlık ürünleri: tetra-süksinimidil ve tetra-tiol türevi PEG (CoSeal®) PEG sızdırmazlık ürünleri: tetra-süksinimidil ve amin PEG (SprayGel®) PEG sızdırmazlık ürünleri: tetra-süksinimidil PEG ve tri-lisin amin (DuraSeal™)
Dendrimerler	Kornea yarası onarımı Kornea kataraktinasyonları	Birkaç dendrimer, foto çapraz bağlama reaksiyonuna sundu ve birkaç dendrimerler, bir peptit ligasyon reaksiyonu ile birleştirildi.
Poliüretan	Kemik fiksasyonu, vasküler greftin sızdırmazlığı, çeşitli cerrahi işlemlerde hemostaz Abdomino plastiğinde seroma oluşumunu önleme	Poliüretan Lizin türevli püskürtülebilir üretan yapıştırıcı (TissuGlu®)
Biyomimetik yapıştırıcılar		
Deniz midye özü	Gebelik fatal membran rüptürlerinin onarımı	Katekol, sodyum periodat eklendikten sonra molekülleri bir hidrojele çapraz bağlanan PEG'yi (cPEG) fonksiyonelleştirdi

2.1.3. Biyo-yapıştırıcı Mekanizmaları

Biyo-yapışma davranışı temel olarak iki türe ayrılır: spesifik ve spesifik olmayan yapışmalar. Spesifik olmayan yapışma, yüzey özelliklerinden bağımsız olarak yapıştırıcıların yüzeye bağlanmasını içerir. Örneğin, yüzeylerin çoğuna yapışan polimerler bunları gösterir. Spesifik yapışma, hücre yüzeyindeki spesifik hedef grupların tanınmasıyla yapışkanın bağlanmasını içerir. Başka bir örnek, N - asetil glukozamin ile bağ yoluyla spesifik olarak yüzeye bağlanan domates lektinidir (tomato lectin).



Şekil 2.1 : Biyo yapışma mekanizmaları: A, mekanik kilitleme; B, zincir dolanması; C, moleküller arası bağlanma; ve D, elektrostatik bağ.

2.2. HİDROJELLER

Hidrojeller, suda şişebilen ve çözünmeden başlangıç ağırlıklarından çok daha büyük olabilen üç boyutlu (Hoffman, 2012) çapraz bağlı hidrofilik polimer ağlarıdır. Hidrojellerin fiziksel ve biyokimyasal özellikleri büyük ölçüde bileşimlerine, polimerizasyonları için kullanılan yöntemlere ve çapraz bağlanma yoğunluklarına bağlıdır.

Hidrofilik polimerlerin kimyasal ve fiziksel çapraz bağlanması, hidrojeller oluşturmak için tipik yollardır. Bunlar, iyonik çapraz bağlama, kovalent çapraz bağlama, termal jelleşme ve hücre çapraz bağlama olarak adlandırılmaktadırlar.

Hidrojeller, tasarlanmış uygulamalar için istenen özellik kombinasyonlarını içeren çok yönlü bir platform sağlamaktadırlar (Annabi ve diğ. 2014). Doğal ve / veya sentetik polimerlere ve

rejeneratif tıp, ilaç salınımı ve doku yapıştırıcıları gibi farklı biyomedikal uygulamalara yönelik çeşitli çapraz bağlanma kimyasına dayalı sayısız hidrojeller geliştirilmiştir (Thiele ve diğ. 2014). Özellikle, biyomedikal uygulamalar için hidrojeller, doğal ECM özelliklerini taklit edecek ve hücresel büyüme ve doku oluşumu için üç boyutlu (3D) destek sağlayacak şekilde tasarlanırlar (Alge ve Anseth, 2013). Malzeme biliminin gelişmesiyle birlikte, hücre kültürü için hidrojel bazlı iskeleler doku mühendisliği alanında büyük potansiyele sahip olmuşlardır. Hidrojeller, 3D-kültüründe hücre matrisi ve hücre-hücre etkileşimlerini, çoğalmayı, göçü (Luo ve Shoichet, 2004) ve kontrollü farklılaşmayı incelemek için yaygın olarak kullanılmışlardır (West, 2011). Bu amaç için, doğal olarak oluşan biyo-polimerlere dayanan hidrojeller, mükemmel biyouyumluluk, düşük immünorezler ve kimyasal yapılarında kodlanmış olası biyoaktif motifler gibi sentetik polimerlere göre birçok avantaja sahiptirler.

Hidrojeller, olağanüstü biyouyumlulukları, yüksek su içerikleri ve çok yönlü üretim platformları ile uzun süredir farklı fizikokimyasal özelliklere ve geometrilere sahip malzemelere dönüştürülerek biyomedikal uygulamalar için ilgi çekici malzemeler olarak araştırılmaktadırlar. Bununla birlikte, kullanılan ve bilinen hidrojellerin zayıf mekanik özellikleri, genellikle tıbbi ortamlarda kullanılan malzemelerin gerektirdiği kalıcı yük taşıma uygulamalarında kullanımlarını sınırlamıştır. Bu nedenle, in vivo koşullarda göz önüne alınarak klinik olarak uygun malzemelerin ömrünü uzatabilecek mekanik olarak sağlam hidrojellerin geliştirilmesi büyük ilgi çekmektedir (Fuchs ve diğ. 2019). Örneğin geleneksel hidrojellerin mekanik olarak zayıf (sertlik ≈ 10 kPa ve dayanıklılık $< 10 \text{ J m}^{-2}$) olmaları, sürekli olarak uygulamalarını sınırlandırmaktadır. Doku ile bu sonuçlar karşılaştırıldığında (Taylor ve Panhuis, 2016) yük taşıma için dokuların tipik olarak yüksek tokluğa (1000 J m^{-2}), yüksek gerilme mukavemetine (30 MPa) ve yüksek sertliğe (1 MPa) sahip oldukları görülmektedir.

Ek olarak, birçok polimer ağının biyobozunma profilleri, uzun süreli in vivo uygulamalar için uygun değildir, çünkü birçok hidrojel, degradasyon ile istenen terapötik etkileri elde etmek için, özellikle elektrolit çözeltilerinde - genellikle asidik yan ürünler ortaya çıkararak çok hızlı bir şekilde dejenere olurlar (Kamata ve diğ. 2014).

Hidrojeller, fiziksel özelliklerinin çoğu doğal dokuya benzerlik gösterdiği için biyomedikal uygulamalarda ilaç dağıtım araçları (Luo ve diğ. 2000), immünoizolasyon bazlı hücre terapötikleri için kapsülleme malzemeleri (Ponce ve diğ. 2006), yara örtüleri (Draye ve diğ. 1998), yapışma önleyici malzemeler ve doku mühendisliği iskeleleri olarak yaygın şekilde

kullanılmaktadırlar (Dadsetan ve diğ. 2007). Hidrojeller, sulu ortamlarda yüksek derecede şişlik gösteren, çapraz bağlanmış hidrofilik polimerlerin çözünmeyen 3 boyutlu ağlarıdır (Wei ve diğ. 2005). Hücreler hidrojellere dahil edildiğinde, bu biyomalzemelerin çok şişmiş hali, besinlerin ve hücrel atıkların hidrojellerin dışına taşınmasını kolaylaştırır (Drury ve diğ. 2003). Çapraz bağlı 3-D hidrojel yapısı, yeni doku oluşumu için alan ve mekanik stabilite sağlayabilir (Nicodemus ve Bryant, 2008). Bu özellikler hidrojelleri doku mühendisliği için büyük potansiyel aday biyomalzemeler haline getirir.

2.2.1. Jelatin

Jelatin, hidrolizden ve yüksek sıcaklıkta kollajenin denatürasyonundan üretilen bir tür doğal hidrofilik polimerdir (Young ve diğ. 2005). Jelatin, iyi biyoyumluluk, çözünürlük, bozunabilirlik, kolay elde edilebilme ve benzeri dahil olmak üzere bir çok avantaja sahiptir (Van den Bulcke ve diğ. 2000). Özellikle, kolajen ile karşılaştırıldığında jelatinin antijenikliği düşüktür. Ayrıca, jelatin, belirli hücre davranışlarını (yapışma, çoğalma ve farklılaşma gibi) ve hücre enzimatik bozunmasını teşvik eden bir matris metaloproteinaz (MMP) parçalanma sırasını destekleyen arginin-glisin-aspartik asit (RGD) peptid dizisine sahiptir (Van den Bulcke ve diğ. 2000, Ludwig ve diğ. 2018). Bununla birlikte, jelatinin termostabilitesi zayıftır (sıcaklık 37°C'nin üzerindeyken hidrojen bağlarının parçalanması nedeniyle jelatin çözelti haline gelir) ve bazı çapraz bağlama reaktifleri zehirli olduğundan kimyasal çapraz bağlamalar jelatinin biyolojik uyumluluğunu etkileyebilir. Bu nedenle, jelleşmenin uygulanması, yetersiz termostabilite ve kimyasal çapraz bağlanmanın potansiyel zehirlenmesi ile sınırlıdır. Neyse ki, jelatinin yan zincirleri $-OH$, $-COOH$, $-NH_2$, $-SH$ ve benzeri dahil olmak üzere büyük aktif gruplara sahiptir. Bu nedenle, jelatinin eksikliklerinin üstesinden gelmek için belirli gruplarla modifiye edilmesi mümkündür.

2.2.2 GelMA

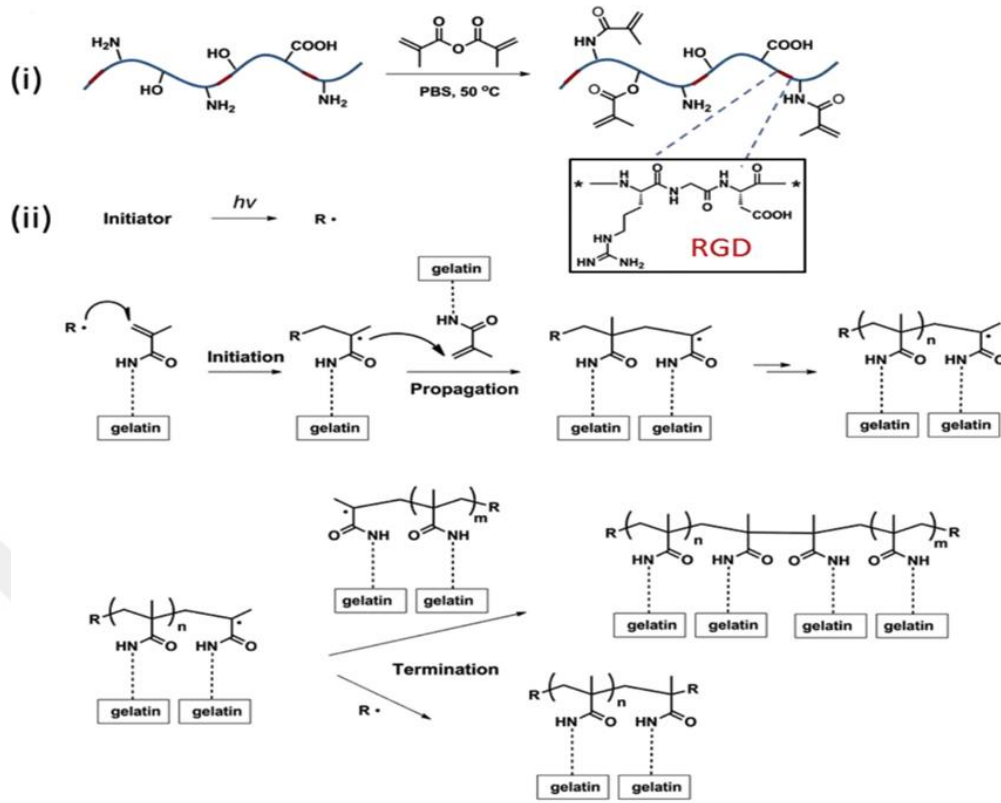
GelMA, foto-başlatılmış bir reaksiyonla çapraz bağlanmış metakrilamid yan grupları ile işlevselleştirilmiş, ucuz bir bileşen olan jelatinden oluşur. GelMA, hidrofilikliği, integrin bağlama motifleri ve MMP degradasyon bölgeleri nedeniyle doku yapılarının mühendisliği için çeşitli hücre tiplerinde kullanılan kollajenin hidrolitik degradasyonundan türetilmiş foto çapraz bağlanabilir bir doğal biyolojiktir. GelMA tersine çevrilebilir termal jelasyona sahiptir ve fotopolimerizasyon yoluyla kalıcı olarak çapraz bağlanabilir. Belirli bir dalga boyuna maruz

kaldıktan sonra, foto başlatıcılar kovalent bağlar vasıtasıyla katı bir jel oluşturmak için GelMA üzerindeki metakrilat grupları ile etkileşime giren serbest radikalleri serbest bırakırlar. Bu jelasyon işlemi, mekanik özelliklerinin ince ayarını kolaylaştırır. GelMA, 2000 yılında Van Den Bulcke ve ark. tarafından üretilmiştir (Van den Bulcke ve diğ. 2000). GelMA, jelatinin metakrilik anhidrit (MA) ile reaksiyonu yoluyla üretilir. Jelatinin yan zincirlerinde ortaya çıkan çok sayıda amino grubu, tadil edilmiş jelatini oluşturan metakrilik anhidrid içindeki metakrilik grupları ile değiştirilir. Bununla birlikte, bu modifiye jelatin, katı-sıvı geçişinin sıcaklıktan da etkilendiği jelatine benzer. Modifiye jelatin, metakrilil gruplarının varlığından dolayı foto çapraz bağlama özelliğini elde eder. GelMA, kovalent olarak çapraz bağlanmış hidrojeller oluşturmak için foto-başlatılmış radikal polimerizasyona (yani bir foto başlatıcı varlığında UV ışığına maruz bırakma) maruz kalır (Liu ve Chan-Park, 2010). Foto başlatıcı eklendiğinde, modifiye jelatinin su çözeltisi hemen UV ışığı altında çapraz bağlanır ve mükemmel termostabiliteye sahip GelMA hidrojelleri oluşur. GelMA hidrojel, RGD ve MMP dizileri muhafaza edildiğinden hala hücre davranışlarını destekleme yeteneğine sahiptir. Ayrıca jelatinin biyouyumluluk ve bozunma özelliği de korunmaktadır. GelMA hidrojellerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri çeşitli uygulamaların gereksinimlerini karşılamak için esnek bir şekilde ayarlanabilmektedir (Sun ve diğ. 2018). GelMA hidrojelleri üzerindeki fiziksel özelliklerin (yani gözeneklilik, sıkıştırma modülü ve su şişmesi) ve hücre tepki parametrelerinin (yani hücre yaşayabilirliği, çoğalması ve yayılması) karakterizasyonu, bu polimerlerin farklı doku mühendisliği uygulamaları için uygunluğunun belirlenmesinde anahtardır. GelMA, sentezini ve işlenmesini (yani çapraz bağlanma koşullarını) değiştirerek özelliklerinin ayarlanması konusunda çok yönlülük sunar. Örneğin, GelMA'nın sıkıştırma modülü, metakrilil sübstitüsyon derecesini değiştirerek veya GelMA'ya inorganik veya organik bileşenler ekleyerek çok çeşitli biyomedikal uygulamalar için uygun hale getirerek ince ayar yapılabilir. GelMA hidrojelleri ayrıca kontrollü gözenek boyutları ve gözenekliliği olan gözenekli iskeleler oluşturmak için kriyojenik işlemlere (yani dondurularak kurutma) tabi tutulabilir (Koshy ve diğ. 2014). Ayrıca GelMA hidrojelindeki gözenek boyutlarının metakrilik derecesi değiştirilerek ayarlanabileceği gösterilmiştir (Lee ve diğ. 2015). Örneğin, Chen ve diğ. (2012) sırasıyla 1, 5 ve 10 M MA çözeltileri kullanılarak farklı metakrilik derecelerine (49.8, 63.8 ve % 73.2) sahip GelMA hidrojellerini sentezlediler. Bu deneylerde, ikame derecesi, ¹H NMR spektroskopisi ile ölçüldüğü haliyle, fonksiyonel hale getirilmiş ve başlangıçta mevcut amino gruplarının oranı olarak tanımlanmıştır. Elde edilen GelMA hidrojellerinin, dondurarak kurutmadan sonra SEM

ile karakterize edilen ortalama gözenek büyüklüğü 50 (% 49,8), 30 (% 63,8) ve 25 μm (% 73,2) olarak bulunmuştur.

GelMA hidrojenlerinin kimyasal, fiziksel ve biyolojik olmak üzere çeşitli özellikleri arasındaki ilişkiler de yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Chen ve diğ. (2012) GelMA hidrojeninin basınç modülünün, metakrilik süstitüsyon derecesi ($2.0 \pm 0.18 \text{ kPa}$ (% 49.8), $3.2 \pm 0.18 \text{ kPa}$ (% 63.8) ve $4.5 \pm 0.33 \text{ kPa}$ (% 73.2)) ile doğru orantılı olduğunu belirtmişlerdir. Sıkıştırma modülü, GelMA w/v fraksiyonu ile doğru orantılı olarak bir artış göstermiştir. Örneğin, Nichol ve ark. (2010) yaptıkları çalışma ile % 5, 10 ve % 15 w/v ve % 53.8'lik metakrilik derecesi içeren GelMA için sırasıyla % 2.0, 10.0 ve 22.0 kPa tahmini sıkıştırma modülü değerlerini yayınladılar. Fakat daha yüksek bir ikame derecesine, % 81.4, sahip GelMA için sıkıştırma modülü değerleri daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu değerler % 5, 10 ve % 15 w/v GelMA için 3.3, 16.0 ve 30.0 kPa olarak verilmiştir (Nichol ve diğ. 2010). Nichol ve diğ. (2010) şişme oranının, metakrilik süstitüsyon derecesini ve GelMA kitle fraksiyonunu artırarak azaldığını bildirmiştir. Yine aynı grup tarafından benzer şekilde, hücre çoğalması hidrojel içindeki GelMA kütle kesiriyle ters orantılı olarak gösterilmiştir.

GelMA hidrojenlerinde farklı hücrelerin bağlanması ve çoğalması yaygın şekilde tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Öncü çalışmalar GelMA hidrojenlerinin, birleşik biyouyumluluk, mekanik özellikler ve biyo-aktif peptid sekanslarının varlığı nedeniyle, hem 2D hem de 3D deneylerinde aktif hücre kültürü matriks materyali olarak hizmet edebileceğini göstermiştir (Dubruel ve diğ. 2007). Örneğin, hücreler GelMA önpolimer çözeltilerinde süspansiyona alınabilir ve hücre yüklü 3D hidrojenler oluşturmak için UV ışığına maruz kaldıklarında çapraz bağlanabilirler. Bu foto çapraz bağlanmış hücre yüklü GelMA hidrojenlerinde genellikle yüksek hücre canlılığı (>% 80) gözlenmiştir. 2D hücre kültürünün aksine, hidrojenler içinde kapsüllenmiş hücrelerin yayılma ve göç için kendilerini çevreleyen ortamlarını değiştirebilmeleri gerektiği belirlenmiştir (Benton ve diğ. 2009).



Şekil 2.2 : Foto çapraz bağlı GelMA hidrojel hazırlanması.

(i) Metakrilil gruplarının varlığında jelatin ve metakrilik anhidridin reaksiyonu. Değişiklik, birincil amin ve hidroksil gruplarında meydana gelir. RGD bölgeleri GelMA zincirleri boyunca kırmızı bölümler olarak gösterilmiş ve kimyasal yapısı iç kısımda tasvir edilmiştir. (ii) Gelma'nın foto çapraz bağlanması sırasında hidrojel ağları oluşturmak için temsili reaksiyonlar. Serbest radikaller, metakrilil grupların zincir polimerizasyonunu başlatan foto başlatıcılardan üretilir. Aynı zincirde ve farklı zincirlerde bulunan metakrilil grupları arasında yayılma meydana gelir. Sonlandırma, iki çoğaltma zinciri arasında veya bir çoğaltma zinciri ile bir ikinci radikal arasında gerçekleşir. Netlik için zincir transferleri ve diğer birçok küçük reaksiyon gösterilmemiştir (Şekil 2.2).

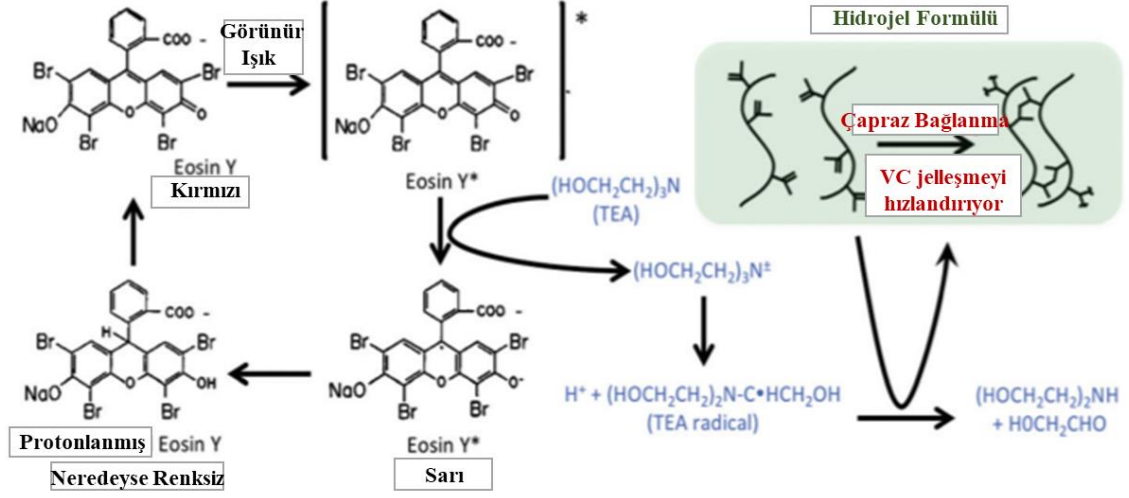
2.2.2.1. Kimyasal Çapraz Bağlanma

Foto çapraz bağlı hidrojeller, biyomedikal uygulamalarda son zamanlarda artan ilgi kazanmıştır. Çünkü hücreleri ve / veya biyoaktif faktörleri içeren sulu makromer çözeltileri, minimal invaziv bir şekilde kullanılabilir ve daha sonra ultraviyole (UV) ışığına kısa süre maruz kaldıktan sonra yerinde fizyolojik koşullarda hızla çapraz bağlanabilir (Schmedlen ve diğ.

2002). UV veya görünür ışığa maruz kaldıktan sonra, foto başlatıcı olarak adlandırılan kimyasallar polimerizasyon işlemini başlatabilen serbest radikalleri üretir. Oluşan serbest radikaller, sulu makromer çözeltilerini hidrojelere dönüştürür (Nguyen ve West, 2002). Düşük yoğunluklu ışığa kısa süreli maruz kalma ve uygun bir foto başlatıcı seçimi, fotopolimerizasyonun hücrelere ve biyoaktif moleküllere sınırlı zararlı etkilerle oluşmasını sağlar (Fisher ve diğ. 2001).

GelMA ürünün foto çapraz bağlanması, UV ışığı altında suda çözünür bir başlatıcı kullanılarak gerçekleştirilebilir. Suda çözünebilir foto başlatıcılar için yaygın seçenekler arasında 2-hidroksi-1- [4- (2 hidroksietoksi) fenil] -2-metil-1-propanon (Irgacure 2959) bulunur (Nichol ve diğ. 2010) ve lityum asilfosfinat tuzu (LAP) bulunur (Fairbanks ve diğ. 2009). Ticari olarak temin edilebilen bir foto başlatıcı olan Irgacure 2959, sulu ortamlarda yürütülen çoğu fotopolimerizasyon için yeterince yüksek olan, suda en az 5 mg / mL'lik (Benton ve diğ. 2009) bir çözünürlüğe sahiptir. Son zamanlarda geliştirilen ve suda çözünür bir foto-başlatıcı olan LAP, su içinde çözünebilirliği (ağırlıkça% 8,5'e kadar) daha yüksek bir çözünürlüğe ve 365 nm'de Irgacure 2959'dan (Fairbanks ve diğ. 2009) daha yüksek bir molar sönmeme katsayısına sahiptir. Yer değiştirme derecesi, GelMA konsantrasyonu, başlatıcı konsantrasyonu ve UV ışığına maruz kalma süresi, ortaya çıkan GelMA hidrojellerinin fiziksel özelliklerinin ayarlanmasını sağlayan ana parametrelerdir (Van den Bulcke ve diğ. 2000).

Hem UV hem de görünür ışık, foto çapraz bağlamayı başlatabilir ve ortak foto başlatıcılar kullanılarak UV aralığında çalışılabilir, ancak UV ışığının organizmalara zarar vereceği iyi bilinmektedir. Her ne kadar kısa süreli UV yada görünür ışığa maruz kalma hücre aktivitesini etkilenmeyecek olsa da, UV ışığının kullanımı hücreler üzerinde uzun vadeli yan etkilere sebep olabilmektedir (Fedorovich ve diğ. 2009). GelMA için foto başlatıcı olarak Eosin Y, elektron verici olarak trietanolamin (TEA) ve bir hızlandırıcı olarak N-vinilkaprolaktam (VC) seçilmiştir (Şekil 2.3). Foto başlatıcı olarak Eosin Y'nin Irgacure 2959'dan daha düşük toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir (Bahney ve diğ. 2011). Ayrıca, görünür ışık çapraz bağlanması, UV çapraz bağlamanın potansiyel yan etkilerini ortadan kaldırır. UV ışığı veya görünür ışık ışınlama parametreleri, sistemi yerleştirmek ve mekanizmayı araştırmak için kolayca ayarlanabilir (Sun ve diğ. 2018). Bununla birlikte, UV ışığı veya görünür ışığın, her ikisinin de insan dokusuna zayıf nüfuz etme derinliğine sahip olması nedeniyle ortak bir kusuru vardır (Yang ve diğ. 2018).



Şekil 2.3 : Eosin Y-bazlı fotopolimerizasyon sistemi. Eosin Y'nin foto-kaynaklı aktivasyonu ile başlatılan radikal üretim reaksiyonlarının şematik bir gösterimi.

2.2.3. Aljinat

Aljinat, 1,4-linked β -D-mannuronic acid ve α -L-guluronic asidin (Ribeiro ve diğ. 2004) yinelenen birimlerini içeren, deniz yosunundan türetilmiş doğrusal dallanmamış bir polisakkarittir. Aljinatlar, guluronik asit artıkları üzerindeki kalsiyum, baryum ve magnezyum ve karboksilik asit kısımları gibi iki değerli katyonlar arasındaki iyonik etkileşimlerle ilgili sulu çözeltilerde geri dönüşümlü jelleşme özelliklerine sahiptir (Coviello ve diğ. 2007). İyonik olarak çapraz bağlanmış aljinatlar, jelleşme işlemi sırasında hücrelere zarar vermediğinden ve genellikle biyo-uyumlu kabul edildiğinden, aljinat hidrojellerinin ilaç dağıtımı, hücre kapsüllemesi ve doku rejenerasyonu için kullanımı konusunda büyük ilgi olmuştur (Coviello ve diğ. 2007, Simmons ve diğ. 2004, Kong ve Mooney, 2003, Alsberg ve diğ. 2001). Her ne kadar önceki çalışmalar ümit verici sonuçlar vermiş olsa da, bunların mekanik özellikleri, şişme oranları ve iyonik olarak çapraz bağlanmış aljinat hidrojellerinin bozulma profilleri üzerinde sınırlı bir kontrolü vardır (Lee ve diğ. 2001). Literatürdeki çeşitli raporlar, çok çeşitli mekanik özelliklere sahip aljinat hidrojellerini sentezlemek için iyonik çapraz bağlama yerine moleküller arası kovalent çapraz bağlama kullanarak kimyasal aljinat mikrokapsülleri veya makroskopik hidrojelleri çapraz olarak incelemeyi açıklamaktadır (Birnbaum ve diğ. 1981, Dusseault ve diğ. 2005, Eiselt ve diğ. 1999, Lee ve diğ. 2000). Bununla birlikte, bu yaklaşımlarla kullanılan reaktifler ve reaksiyon koşulları bazen kapsüllenmiş hücreler veya büyüme faktörleri için elverişsiz veya toksik olmaktadır (Birnbaum ve diğ. 1981).

Foto çapraz bağlanmış ve biyolojik olarak ayrışabilen aljinat hidrojel, biyomedikal uygulamalar için tasarlanmaktadır.

2.2.4. AlgMA

Foto çapraz bağlı ve biyolojik olarak parçalanabilen aljinat hidrojel, biyomedikal uygulamalar için tasarlanmaktadır. Metakrilatlanmış aljinatlar, foto başlatıcıya sahip ultraviyole ışık kullanılarak foto çapraz bağlanabilmektedir. Foto çapraz bağlanmış aljinat hidrojel, yeniden şekillendirilebilir mekanik özelliklere ve degradasyonlara sahip, rejeneratif tıpta ve biyoaktif ilaç uygulamalarında terapötik materyaller olarak büyük yarar sağlamaktadırlar (Jeon ve diğ. 2009). Metakrilatlanmış aljinatlar, doku mühendisliği uygulamaları için kullanılan biyobozunur olan foto çapraz bağlı aljinat hidrojelidir. Fotopolimerizasyon işlemi ile birleştirilebilen hidrolitik olarak parçalanabilir ester bağlantılarına sahip aljinat hidrojel metakrilat sonrası oluşturulmaktadır. Biyopolimer çapraz bağlama yoğunluğu aljinat metakrilasyonunun derecesi değiştirilerek, hidrojel şişme davranışı, elastik modüller ve bozunma profillerinin incelenmesiyle ölçülmektedir.

2.2.4.1. İyonik Çapraz Bağlanma

İyonik çapraz bağlama, hidrojel hazırlamak için kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir ve sulu bir aljinat çözeltisini iki değerli katyonlar gibi iyonik çapraz bağlama maddeleriyle birleştirmeyi içerir. Aljinatların iki değerli iyonlara olan afinitesi aşağıdaki sırayla azalır: $Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co, Ni, Zn > Mn$. Ca^{+2} ise en yaygın kullanılan katyondur (YÄ rr ve diğ. 2006)

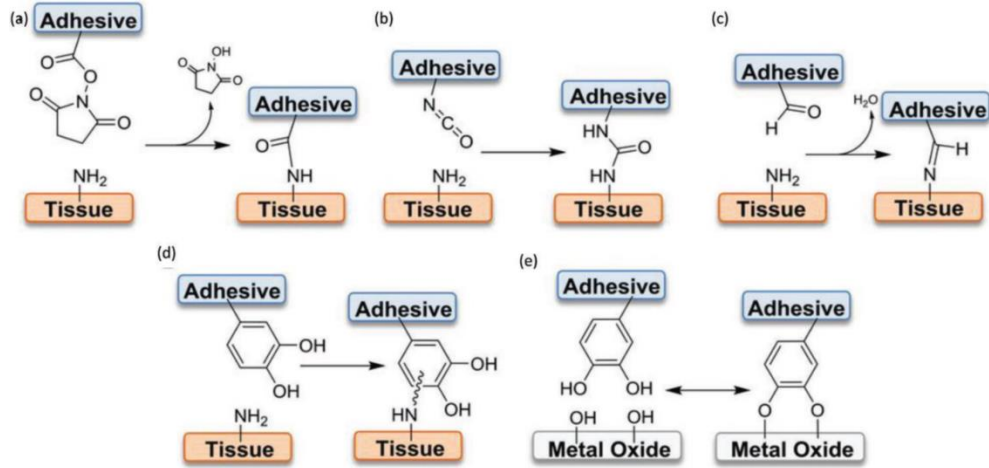
Aljinat hidrojelini sulu bir çözeltide hazırlamak için en yaygın yöntem, aljinatı iki değerli katyonlarla, iyonik çapraz bağlama ajanlarıyla birleştirmektir (Kuo ve Ma, 2001). İki değerli katyonların varlığında, iki değerli katyonlar iyonik köprüler oluşturmak için G monomer bloklarıyla işbirliği içinde etkileşime girdiğinde basit bir jelleşme meydana gelebilir. Aljinat çözeltisinde, M monomer blokları iki değerlikli katyonlarla zayıf bağlar oluşturur. Bununla birlikte, G monomer blokları ve iki değerli katyonlar arasındaki etkileşimler sıkıca tutulan bağlantılar oluşturur.

Son on yılda, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Ba^{2+} veya Sr^{2+} gibi çeşitli ortamlarda iyonik çapraz bağlı aljinat hidrojel geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Genellikle, Ca^{2+} en iyilerinden biridir.

Aljinat ve kalsiyum klorürü (CaCl_2) iyonik olarak çapraz bağlamak için yaygın olarak kullanılan iki değerli katyonlar en iyi seçeneklerden biridir. İyonik olarak çapraz bağlanmış aljinat hidrojel, bir iyon değişimi, çevresindeki ortama iki değerli iyonların kaybını içeren bir işlem yoluyla dağılır. Bununla birlikte, jelleşme hızı, sulu çözeltideki kalsiyum klorürün yüksek çözünürlüğü nedeniyle kontrol edilemeyecek kadar hızlıdır. Aynı zamanda, jelleşme hızı jel homojenliğini ve direncini doğrudan etkiler. Jelasyonu yavaşlatmak ve kontrol etmek için CaCl_2 yerine çözünürlüğü düşük olan kalsiyum sülfat (CaSO_4) veya kalsiyum karbonat (CaCO_3) ile değiştirilebilir. Ayrıca, iyonik olarak çapraz bağlanmış aljinat hidrojel, rejeneratif tıpta uygulanmasını sınırlayan sınırlı ilaç yükleme etkinliğine, dayanıklılığına ve tokluğuna sahiptir (Kuo ve Ma, 2001). Bu nedenle, aljinatın özelliklerini diğer fiziksel veya kimyasal çapraz bağlama yöntemleriyle geliştirmek için modifiye edilmesi gerekir.

2.2.5. Dayanıklı-Sert Hidrojel Yapıştırıcılar

Hidrojellerin yapışkanlığı esnek polimerik ağların, yüksek ara yüz mukavemeti olan alt-tabakalar üzerine tutturulmasına bağlıdır ve aynı zamanda bu ağlar enerji dağıtımında ara yüz tokluğunu arttırmak için önemli bir araçlardır. Güçlü arayüzey bağları oluşturmaya ek olarak, yapıştırıcı, kullanım ömrü boyunca uygulamadan sonra yapışma kuvvetini korumalıdır. Şekil 2.4 te biyo-yapıştırıcılar tarafından kullanılan arayüzey bağları gösterilmiştir (Pinnaratip ve diğ. 2019). Şekilde a-d ile gösterilen arayüzey bağları yapıştırıcılarla dokuyu işlevselleştirmek için yumuşak doku yüzeylerinde bol miktarda bulunan nükleofilik fonksiyonel grupları olan NHS ile aktive edilmiş ester, izosiyanat, aldehit ve katekol kullanan çeşitli arayüzey çapraz bağlama kimyalarını gösterirken, e ile katekolün metal oksit yüzeylerle koordinasyon bağları oluşturma kabiliyeti gösterilmiştir (implantlar veya cihazlar için).



Şekil 2.4 : Biyo-yapıştırıcılar tarafından kullanılan arayüzey bağları.

2.3. SIZDIRMAZLIK MALZEMELERİ İÇİN STANDART TEST METHODLARI

2.3.1. Cerrahi Sızdırmazlık Malzemeleri için Patlama Basıncı

Bu test yöntemi, yumuşak doku üzerindeki sızdırmazlık maddelerinin patlama veya kopma mukavemetinin karşılaştırılmasını sağlamaktadır. Farklı yapıştırıcıların veya yapıştırılan sızdırmazlık malzemelerin kalite güvencesi, geliştirilmesi ve karşılaştırmalı testi için klinik uygulamalarında ilgili bir model olarak kullanılabilir. Bu test metodu, bir yapıştırıcı/yapıştırma sisteminin patlama mukavemetini veya "yapışma mukavemetini" ölçer (yapıştırma mukavemetini değil). SI birimlerinde belirtilen değerler standart olarak kabul edilmelidir. Bu standarda başka hiçbir ölçüm birimi dahil değildir. En azından kısmen canlı dokulara yapışarak işlev gören malzemeler ve cihazlar, ya dikişlere ve zımbalara ek olarak ya da çok çeşitli tıbbi işlemlerde bu cihazlar için açık yedek olarak cerrahi işlemlerde artan kullanım bulmaktadır. İlgili kuvvetlerin doğası ve büyüklüğü endikasyona ve hastaya özel durumlara göre büyük farklılıklar gösterse de, tüm kullanımlar malzemenin beklenen mekanik kuvvetlere dayanma kabiliyetini içerir. Bu nedenle, malzemelerin mekanik özellikleri ve özellikle yapışkan ve yapışma özellikleri, kullanım uygunluklarını değerlendirmede önemli parametrelerdir. Ek olarak, belirli bir sızdırmazlık maddesi bileşiminin mekanik özellikleri, kalite kontrolü için ürün tutarlılığını belirlemede veya cihazın kullanılmasından önce çeşitli yüzey işlemlerinin substrat üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik bir uygulama sağlayabilmektedir (ASTM F2392-04).

2.3.1.1. Tanımlamalar

2.3.1.1.a. Sızdırmazlık Malzemesi Başarısızlığı

Patlama testi sırasında sızdırmazlık maddesi/alt tabaka arayüzünün arızası olarak tanımlanmaktadır.

2.3.1.1.b. Patlama Mukavemeti

Yapıştırıcı veya yapışkan mekanizmalarla sızdırmazlık maddesinin başarısızlığına neden olmak için gereken ortalama basınçtır.

2.3.1.1.c. Yapışkan Başarısızlığı

Patlama testi sırasında sızdırmazlık maddesinin arızası olarak tanımlanmaktadır.

2.3.1.1.d. Yapışma Kuvveti

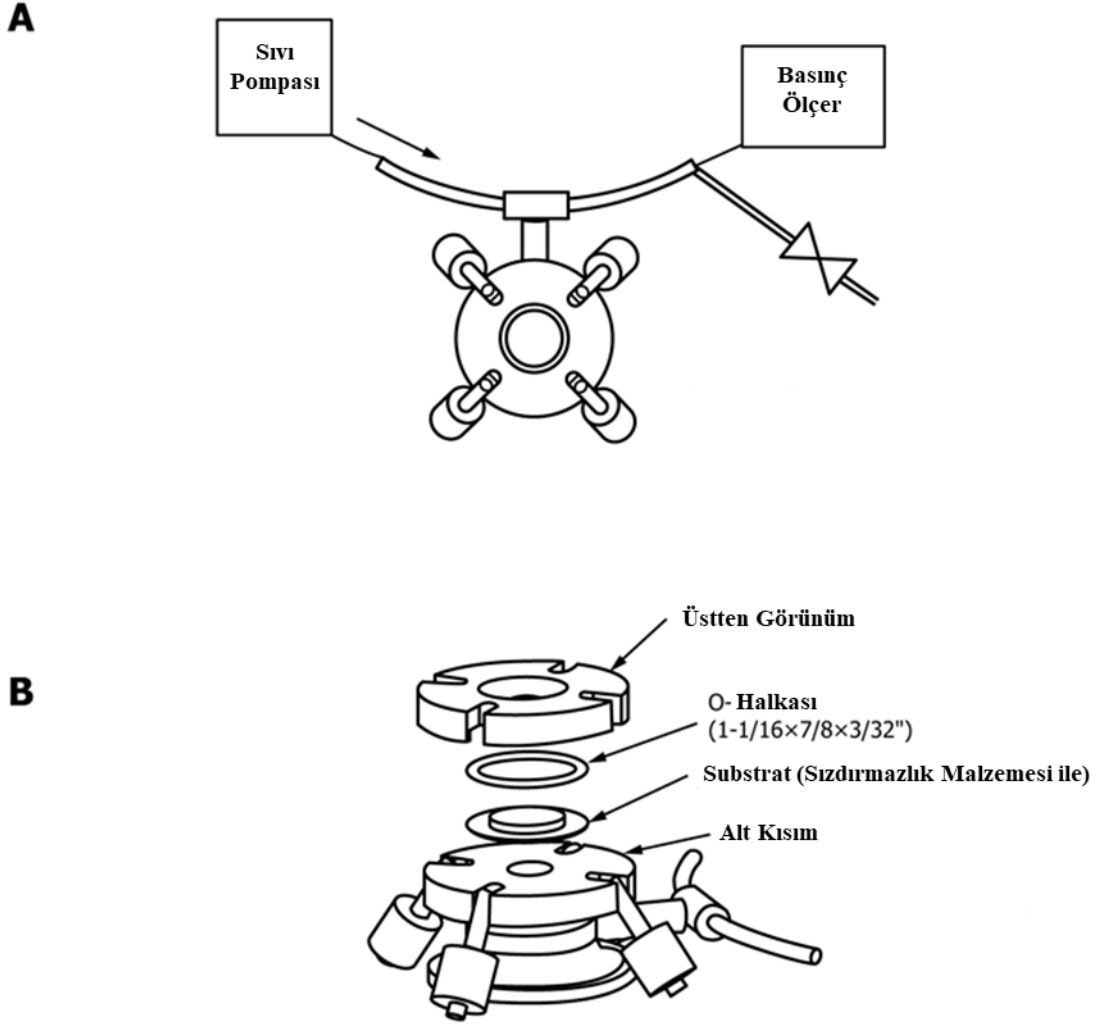
Sızdırmazlık maddesinin iç kuvveti, bazen yapışkan yığın kuvveti olarak adlandırılmaktadır.

2.3.1.1.e. Alt Tabaka (Substrat) Başarısızlığı

Patlama testi sırasında alt tabakanın arızası olarak tanımlanmaktadır.

2.3.1.1.f. Doku Sızdırmazlık Maddesi

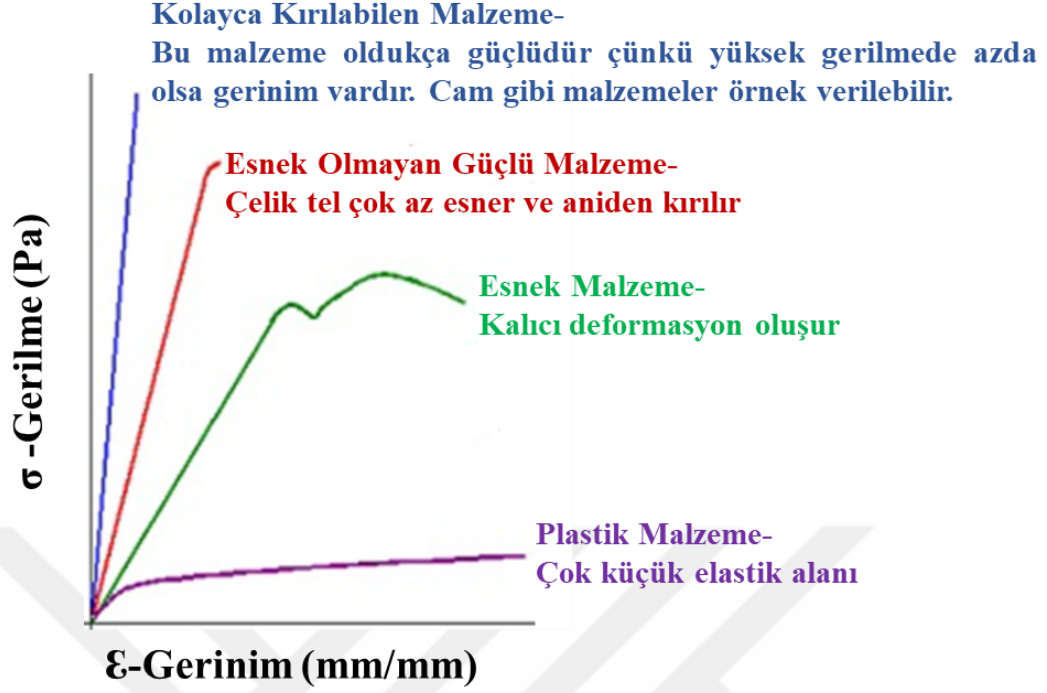
Vücut sıvılarının sızmasını önleyen bir yüzey kaplama maddesidir.



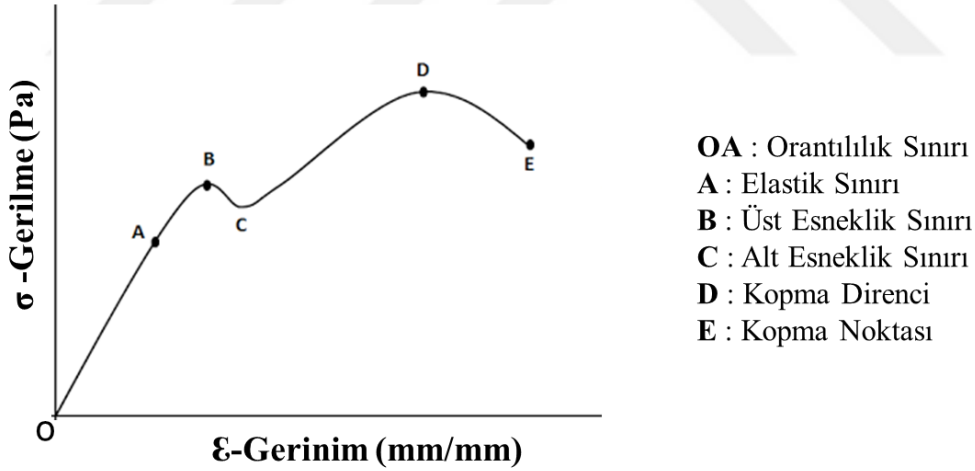
Şekil 2.5 : Patlama Test Sistemi (A), Monte Edilen Test Armatürünün (B) Ayrılmış Görünümüyle.

2.3.1.2. Gerilme-Gerinim (Stress-Strain) Eğrileri

Patlama basıncı testleri sonrası ortaya çıkan gerilme (stress) – gerinim (strain) eğrileri bu başlık altında açıklanacaktır. Bu eğriler çekme ya da basma testleri ile elde edilen, test numunesi üzerine uygulanan kuvvet miktarına bağlı olarak numunede oluşan şekil değişimini gösteren eğrilerdir. Malzemeden malzemeye değişir ve numunenin sıcaklığına ve uygulanan yükün süratine bağlı olarak eğrideki sonuçlar farklılık gösterebilir.



Şekil 2.6 : Gerilme-Gerinim Eğrisi: Malzemelerin Özellikleri.



Şekil 2.7 : Gerilme-Gerinim Eğrisi: Malzemelerin Dayanımı.

2.3.2. Doku Yapıştırıcılarının ve Sızdırmazlık Malzemelerinin Yara Kapama Gücü

Bu test yöntemi, yumuşak dokunun kapanmasını güvence altına almak için kullanılan doku yapıştırıcılarının yara kapanma dayanımının karşılaştırılması için uygulanan bir standarttır. Uygun substrat seçimi ile, doku yapıştırıcı olarak kullanılan tıbbi cihazların imalatında kalite kontrol amacıyla da kullanılabilir. SI birimlerinde belirtilen değerler standart olarak kabul

edilir. Bu standarda başka hiçbir ölçüm birimi dahil değildir. Doku yapıştırıcı malzemeler için bireysel uygulamaların karmaşıklığı ve çeşitliliği, tek bir belirtilen kullanımda bile (fiziksel alana ve klinik amaçlara göre değişebilen cerrahi prosedür), tek bir gerilme mukavemeti testinin sonuçları, uygulama, yapışkan davranışlar ve klinik endikasyonların tam bir analizi ve anlayışı olmadan izin verilen tasarım gerilmelerini belirlemek için uygun değildir. Bu test yöntemi, yapıştırıcıları veya yapıştırma işlemlerini, yorgunluğa, başarısızlığa ve çevresel değişikliklere karşı duyarlılık açısından karşılaştırmak için kullanılabilir, ancak farklı yapıştırıcılar, farklı koşullara farklı tepki gösterebileceği için bu tür karşılaştırmalar büyük bir dikkatle yapılmalıdır. Test yönteminin bir korelasyonu, canlı insan dokusunda gerçek yapışkan performansı ile sonuçlanmalıdır (ASTM F2458-05).

2.3.2.1. Tanımlamalar

2.3.2.1.a. Doku Yapıştırıcısı

Bir yaranın iki kenarının veya zıt yumuşak dokuların bir araya getirilmesini güvence altına almak için tıbbi bir cihaz olarak kullanılan herhangi bir malzemedir.

2.3.2.1.b. Doku Sızdırmazlık Maddesi

Vücut sıvılarının sızmasını önlemek için yeterli yapışma gücüne sahip yüzey kaplamasıdır.

2.3.2.1.c. Yapışma Kuvveti

Yapıştırıcı malzemenin iç kuvveti olarak tanımlanmaktadır.

2.3.2.1.d. Yapışkan Kuvveti

Doku yapışkanının/substrat arayüzünün kuvveti olarak tanımlanmaktadır.

2.3.2.1.e. Yapışkan Başarısızlığı

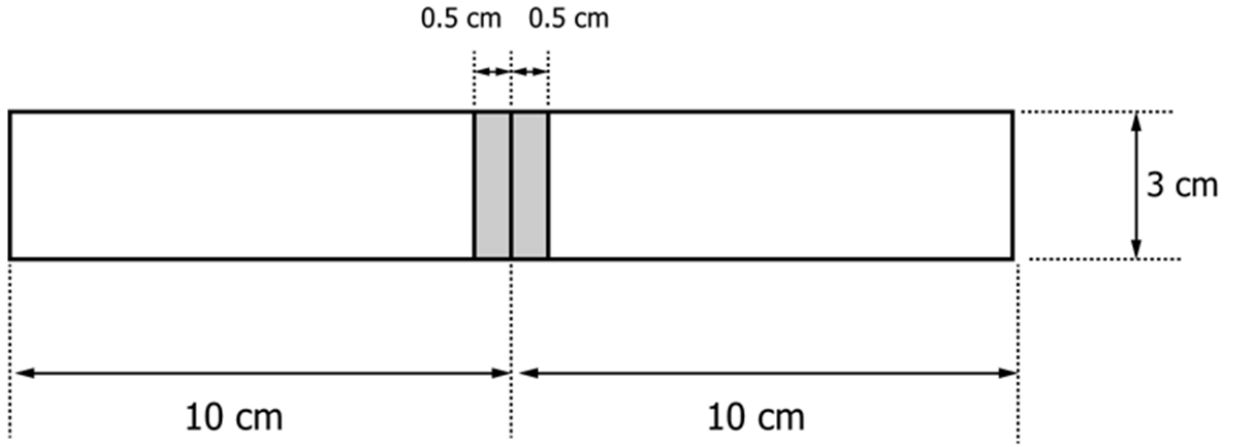
İç yapışkan bağının arızası olarak tanımlanmaktadır.

2.3.2.1.f. Yapıştırıcı Başarısızlığı

Yapıştırıcı / alt tabaka (substrat) bağ arızası olarak tanımlanmaktadır.

2.3.2.1.g. Substrat Başarısızlığı

Doku substratının arızası olarak tanımlanmaktadır.



 = Yapıştırıcı Alanı

Şekil 2.8 : Test Örneği Üstten Görünüm.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER VE CİHAZLAR

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Jelatin (Type A, bloom 300 from porcine skin)
- Aljinik asit sodyum tuzu from brown algae, Sigma-Aldrich (USA)
- Sodyum hidroksit, Bioextra, $\geq 98\%$, Sigma-Aldrich (USA)
- Metakrilik anhidrit (MA, 94%), Sigma-Aldrich (USA)
- Triethanolamine (TEA, 98%), Sigma-Aldrich (USA)
- N-vinilkaprolaktam (VC, 98%), Sigma-Aldrich (USA)
- Eosin Y (2',4',5',7'-tetrabromofluorescein) Sigma-Aldrich (USA)
- Dulbecco'nun fosfat tamponlu salini (DPBS) Thermo Fisher Scientific
- Etanol, Thermo Fisher Scientific
- Dimetil sülfoksit-d6 (DMSO-d6; purity $\geq 99\%$) Sigma-Aldrich
- Döteryum oksit (purity $\geq 99.9\%$) Sigma-Aldrich
- Tip II kollajenaz, Sigma-Aldrich
- Polidimetilsiloksan PDMS-SYLGARDTM 184 Elastomer Kit, Dow Corning, MI, USA
- Polimetilmetakrilat-PMMA
- Mineral yağ (Sigma-Aldrich M5904)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Instron 5943 mekanik Test Cihazı
- Anton Paar Modular Kompakt Reometer (MCR 302)
- Bruker AV400 broad band Proton Nükleer Manyetik Rezonans (FT NMR)
- Patlama Basınç Testi Cihazı, NE-1000 Syringe Pump
- Görünür Işık Cihazı-Genzyme FocalSeal LS1000 Xenon Light
- Fırın, Thermo Scientific HeraTherm
- pH Metre, Mettler Toledo S220 SevenCompact
- Liyafilizatör, Labconco, 8L, -50C
- Sonikatör, Fisher Scientific, 5.7L

- Floresan Mikroskobu, Axio Observer 5, Zeiss
- Floresan Plaka Okuyucu, vis Synergy 2, BioTek

3.2. YÖNTEMLER

Deneysel çalışmalar on (10) aşamada gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Jelatin Metakrilamid (GelMA) Sentezi:

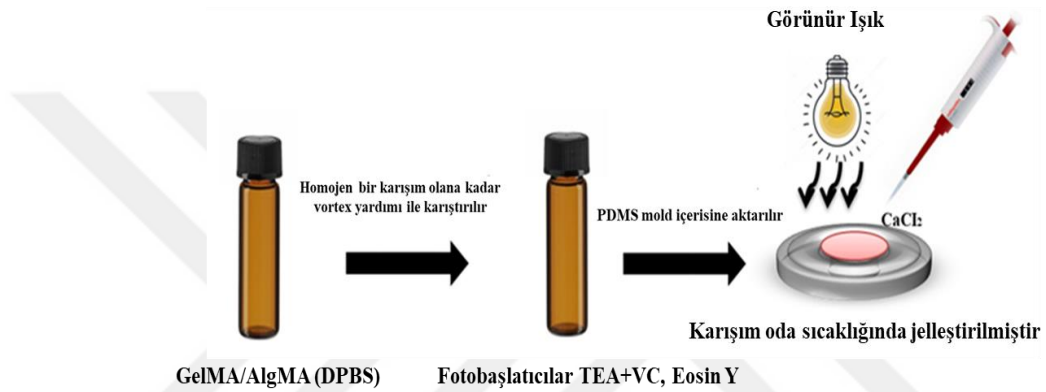
Jelatin metakrilamid, domuz derisinden izole edilmiş A tipi jelatin ve metakrilik anhidrid kullanılarak daha önce yayınlanmış bir prosedür izlenerek sentezlendi ve yüksek derecede fonksiyonelleşmeye sahip GelMA elde edildi (Van den Bulcke ve diğ. 2000). Jelatin, % 5 (ağırlık/ hacim) (w/v) olacak şekilde dulbecco'nun fosfat tamponlu tuz çözeltisi içerisinde (DPBS, Gibco® pH 7.4) 60°C'de çözüldü ve homojen bir çözelti elde edildi. Hazırlanan jelatin çözeltisi 50°C'de magnetik karıştırıcı yardımı ile karıştırılırken metakrilik reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için metakrilik anhidrid (MA) reaksiyon içerisine eklendi. Yapılan çalışmalar ile optimize edilen metakrilasyon dereceleri için (Hoch ve diğ. 2012) MA miktarları örnek alınarak yüksek metakrilasyon derecesine sahip GelMA üretilebilmesi için 8 ml MA çözelti içerisine ilave edildi. MA, hazırlanan jelatin çözeltisi içerisine damla damla ilave edilerek tamamen çözünmesi sağlandı. Sonrasında 2 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyonu durdurmak için, çözelti içerisine daha önceden hazırlanan ılık (50°C) DPBS eklenerek çözelti seyreltildi ve reaksiyon tamamlandı. Seyreltme sonrası saflaştırma için 50°C sıcaklıkta 1 hafta boyunca diyaliz tüpü (MWCO ~ 12–14 kDa kesiti, Spectrum® Laboratories) kullanılarak damıtılmış suya karşı diyaliz gerçekleştirildi. Saflaştırma işlemi sonrası hazırlanan solüsyon 5 gün boyunca liyofilizatör yardımı ile liyofilize edildi.

3.2.2. Aljinat Metakrilamid (AlgMA) Sentezi:

Aljinat metakrilamid, % 2.5 (w/v) olacak şekilde deiyonize (DI) su ile hazırlanan aljinat çözeltisi ve MA kullanılarak daha önce yayınlanmış bir prosedür izlenerek sentezlendi (Li ve diğ. 2017). Kısaca, 2.5 g düşük viskoziteli aljinat, oda sıcaklığında 100 ml DI su içerisinde çözüldürülerek homojen bir çözelti elde edildi. Saf su ile aynı hacimde MA (100 ml) aljinat çözeltisine damla damla eklenerek reaksiyona devam edildi. Reaksiyon manyetik bir karıştırıcıda 250 rpm'de oda sıcaklığında 3 gün boyunca gerçekleştirildi. AlgMA'nın çözelti içerisinden alınabilmesi için, karışım 500 ml etanol (ilk aljinat hacminin 5 katı olacak şekilde)

içerisine döküldü ve AlgMA çökelene kadar karıştırılmaya devam edildi. Çökelti daha sonra 5 μ m'lik filtre kağıtları (50, WhatmanTM) kullanılarak vakumla süzüldü. Elde edilen AlgMA tekrar saf suda (100 mL) çözöldü ve ikinci kez 500 mL etanol kullanılarak çöktüröldü. Bu işlem tuzları uzaklaştırmak ve tamamen saf bir AlgMA elde edebilmek için en az üç kez tekrarlandı. Son olarak, AlgMA çökteltisi filtre kağıdı üzerinde toplandı ve gece boyunca oda sıcaklığında kuruması için bırakıldı.

3.2.3. GelMA/AlgMA Hibrit Hidrojellerinin Hazırlanması



Şekil 3.1 : Ön jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojellerin hazırlanma aşamaları.

GelMA çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanarak doku mühendisliği uygulamalarında kullanımı amaçlandı. Çalışmamızda GelMA konsantrasyonunu %20 w/v olacak şekilde belirlendi ve GelMA ön polimerleri bu oranlarda hazırlandı. %20 w/v olacak şekilde çözeltinin hazırlanması için yeterli miktarda GelMA önpolimeri tartılarak vial içerisine kondu. Hibrit polimer malzemelerin hazırlanması için farklı konsantrasyonlarda AlgMA ön polimerleri belirlendi (% 1, % 2, %3, % 4 ve % 5). Hazırlanan %20 w/v GelMA ve farklı konsantrasyonlardaki AlgMA ön polimerleri 1 ml DPBS içerisinde çözöldü.

Foto çapraz bağlanma için görünür ışık foto başlatıcıları olarak kullanılan, triethanolamine (TEA) [% 1.875 (w/v)], N-vinilkaprolaktam (VC) [% 1.25 (w/v)] ve Eosin Y disodyum tuzu (0.5mM) polimer karışımına eklenmeden önce DPBS kullanılarak hazırlandı. VC ve TEA yukarıda belirtilen oranlarda oda sıcaklığında DPBS içerisinde birlikte çözölerek hazırlandı. Eosin Y 0.5 mM olacak şekilde yine DPBS içerisinde hazırlandı. Foto başlatıcı çözeltilerin sürekli taze olarak hazırlanması ve karışım içerisinde bu şekilde ilave edilmesine dikkat edildi. Foto başlatıcılar daha önceden hazırlanan GelMA/AlgMA hibrit biyopolimeri içerisine

metakrilat katı muhtevası, GelMA ve AlgMA'nın toplam konsantrasyonu ile orantılı olacak şekilde eklenmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Hibrit hidrojellerin formülasyonu.

Örnek	AlgMA% (w/v)	GelMA % (w/v)	VC % (w/v)	TEA % (w/v)	Eosin Y % (w/v)	DPBS (μl)	CaCl ₂ % (w/v)
1	0%	20%	1	1.5	0.006	600	0
2	1%	20%	1.05	1.575	0.0063	580	0.13
3	2%	20%	1.1	1.65	0.0066	560	0.27
4	3%	20%	1.15	1.725	0.0069	540	0.4
5	4%	20%	1.2	1.8	0.0072	520	0.53
6	5%	20%	1.25	1.875	0.0075	500	0.67
7	20%	0%	1	1.5	0.006	600	2.667
8	0%	25%	1.25	1.25	0.0075	500	0

$$VC \% (w/v) = 0.05 \times [GelMA + AlgMA] \% (w/v)$$

$$TEA \% (w/v) = 0.075 \times [GelMA + AlgMA] \% (w/v)$$

$$Eosin\ Y\ \% (w/v) = 0.0003 \times [GelMA + AlgMA] \% (w/v)$$

$$CaCl_2 \% (w/v) = 0.13 \times AlgMA \% (w/v)$$

Foto başlatıcılarıda eklenen karışım daha sonra 80°C'de fırın içerisinde 10 dakika boyunca bekletildi. Bu işlemin uygulanmasında amaç GelMA'nın tamamen DPBS içerisinde çözülmesinin sağlanmasıdır. Bu işlemin ardından hazırlanan malzemeler vortex yardımı ile karıştırıldı. Ardından, eklenen AlgMA polimerlerinin DPBS içinde tamamen çözünmesini sağlamak için hazırlanan malzemeler gece boyunca 37 ° C'de inkübe edildi.

Yirmi dört (24) saat sonra GelMA ve AlgMA ön polimerleri karakterizasyon çalışmaları için hazırlanarak 4 dakika boyunca görünür ışık ışıması (dalga boyu = 450-550 nm, intensity ~ 100 mW/cm² Genzyme FocalSeal LS1000 Xenon Light) ile kovalent olarak çapraz bağlandı (Şekil 3.1). Ayrıca eklenen AlgMA'ların iyonik çapraz bağlanması için, foto çapraz bağlanması

yapılmış hidrojellerin üzerine 0.13 x AlgMA'nın konsantrasyonundaki (Tablo 3.1) yeterli miktarda CaCl_2 çözeltisi eklenmiştir ve oda sıcaklığında en az 5 dakika reaksiyon için bırakıldı.

3.2.4. GelMA/AlgMA Hibrit Hidrojellerin Kimyasal Karakterizasyonu

3.2.4.1. GelMA/AlgMA Biyopolimerlerinin ^1H NMR Analizi

GelMA ve AlgMA biyopolimerlerinin ve çapraz bağlı GelMA/AlgMA hidrojellerinin kimyasal karakterizasyonu için proton nükleer manyetik rezonans (^1H NMR) spektroskopisi kullanıldı. Metakrilamid ile modifiye edilen jelatinin süstitüsyon derecesi, eklenen MA miktarıyla orantılıdır. ^1H NMR ile jelatin üzerindeki serbest amino gruplarının metakrilat grupları ile yer değiştirmesi, ayrıca modifiye edilen jelatinin süstitüsyon derecesi analiz edildi. Metakrilamid ile modifiye edilmiş jelatinin süstitüsyon derecesi, modifiye amino gruplarının primer amino gruplarına pik alan oranı hesaplanarak değerlendirildi.

Tüm NMR spektrumları Kaliforniya Üniversitesi Los Angeles (UCLA) merkez laboratuvarları içerisinde oda sıcaklığında bir Bruker AV400 spektrometresinde kaydedildi. Spektrum, ^1H rezonans frekansında ortalama 400 MHz de 64 tarama ile alındı. Metakrilasyon derecesini ölçmek için GelMA ve AlgMA, döteryum oksit (D_2O) kullanılarak 10 mg/ mL konsantrasyonda ayrı ayrı çözülerek hazırlandı ve metakrilasyon dereceleri, sırasıyla (Van den Bulcke ve diğ. 2000, Nichol ve diğ. 2010) makalelerine göre hesaplandı. Biyo yapıştırıcı olarak tasarlanan biyopolimerlerin çapraz bağlanma derecelerini değerlendirmek için, % 20 GelMA ve % 3 AlgMA içeren hibrid hidrojeller, bölüm 3.2.3'te açıklanan yöntemle göre foto çapraz bağlandı. Numuneler NMR spektroskopisini gerçekleştirmeden önce hidrojelleri kısmen çözmek için 37°C 'de 7 gün boyunca DMSO içerisinde bekletildi ve hidrojelleri kısmen çözmek için her gün 1 saat boyunca sonikatör uygulanarak çözümleri hızlandırıldı. Hibrid hidrojellerin çapraz bağlanma derecesi, referans tepe noktası olarak δ 1.8 ppm'deki akrilat metil grubuyla birlikte çift bağ protonları (vinil) δ 5.28 ppm bütünleştirilerek hesaplandı. Kantitatif analizler için, her hidrojel için en az 3 spektrum analiz edildi.

3.2.5. GelMA/AlgMA Hibrid Hidrojellerin Mekaniksel Karakterizasyonu

GelMA hidrojelinin mekanik özellikleri, sıkıştırma testi ve gerilme testi ile ölçüldü. Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde hazırlanan hidrojellerin gerilme ve basma dayanımları testleri için bir Instron mekanik test cihazı (5943 Serisi) kullanıldı. Her durum için en az 5 örnek test edildi

ve sonuçların ortalaması alınarak sonuçlar gösterildi. Bu çalışmalar için polidimetilsiloksan (PDMS) kalıpları hazırlandı. Bu kalıplar ölçü uzunluğu = 10 mm, ölçü genişliği = 5 mm, ölçü kalınlığı = 1.5 mm ve fileto yarıçapı= 2 mm olacak şekilde polimetilmetakrilat (PMMA) malzeme içeren kalıpların lazer kesici ile hazırlanmasına ve PDMS bazı ve sertleştirme maddesi 10:1 oranında karıştırılarak petri kaplarında kalıpların üzerine dökülerek ve içerisindeki gazı giderilerek 65 ° C'de bir fırında > 4 saat süreyle kürlenmesiyle oluşturuldu.

3.2.5.1. Çekme Testi

En temel mekanik testlerden biri olan çekme testi malzemeye uygulanan çekme kuvveti sonucu malzemenin strese verdiği cevap olarak tanımlanmaktadır. Çekme testleri ile malzeme dayanıklılığı ve uzayabilme kapasiteleri belirlenmektedir.

Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde hazırlanan hidrojeller için çekme deneyinde numune hazırlamak amacı ile, 250 µL ön-jel çözeltisi, daha önce bir yuvarlak şeklinde hazırlanan PDMS kalıbına (ölçü uzunluğu = 10 mm, ölçü genişliği = 5 mm, ölçü kalınlığı = 1.5 mm ve fileto yarıçapı= 2 mm) otomatik pipet yardımı ile aktarıldı. PDMS içerisine aktarılan malzemelerin 4 dakika boyunca görünür ışıkla çapraz bağlanması (kürlenmesi) gerçekleştirildi. Numuneler kalıptan çıkarıldıktan sonra AlgMA polimerlerinin iyonik olarak çapraz bağlanmalarının sağlanması için 30 dakika boyunca 3 ml CaCl₂ çözeltisine daldırıldı. Test işlemi uygulanmadan önce CaCl₂ çözeltisinin uzaklaştırılması sağlandı. Ardından, numuneler peçete yardımı ile malzemeler zarar görmeyecek şekilde kurutuldu ve numunelerin iki ucu süper yapıştırıcı kullanılarak iki cam lamina tutturuldu. Cam slaytlar daha sonra Instron cihazının ilgili kısımları ile birleştirildi ve gerilme testleri sabit bir gerilme hızında (10 mm/dak) gerçekleştirildi. Çekme mukavemeti, başarısızlık noktasındaki maksimum gerilme olarak tanımlanmaktadır ve elastik (Young) modülü, çekme-gerilme eğrisinin eğimidir ve çekme-gerilme eğrisi altında kalan alana göre dayanıklılık hesaplandı.

3.2.5.2. Sıkıştırılma Testi

Sıkıştırılma, malzemenin bir yük altında maksimum dayanabileceği basınç olarak tanımlanmaktadır. Basınç dayanımı, uygulanan maksimum yükün malzemenin başlangıçtaki kesit alanına bölünmesi ile hesaplanmaktadır.

Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde hazırlanan hidrojeller için sıkıştırma testi uygulaması amacı ile, 75 µL ön-jel çözeltisi, bir silindirik PDMS kalıbına (çap = 6 mm ve yükseklik = 1.5 mm) otomatik pipet yardımı ile aktarıldı ve üst yüzeyi düzleştirmek için kalıp üzerine bir cam lamel yerleştirildi. PDMS mold içerisindeki malzemelerin 4 dakika boyunca görünür ışıkla çapraz bağlanması (kürlenmesi) gerçekleştirildi. Numuneler kalıptan çıkarıldıktan sonra AlgMA polimerlerinin iyonik olarak çapraz bağlanmalarının sağlanması için 30 dakika boyunca 3 ml CaCl_2 çözeltisinin daldırıldı. Test işlemi uygulanmadan önce CaCl_2 çözeltisinin uzaklaştırılması sağlandı. Sıkıştırma testi Instron kullanılarak başarısızlık noktasına kadar 0.3 mm/dak gerilme hızında yapıldı. Sıkıştırma modülü, gerilme = 0.2 mm/mm'ye kadar doğrusal gerilme-gerinim eğrisinin eğimine dayanarak hesaplandı. Döngüsel sıkıştırma testleri, gerinim = 0.5 mm / mm'ye kadar aynı gerilme hızında gerçekleştirildi ve enerji kaybı şu şekilde hesaplandı:

Denklem 3.1:

$$\text{Enerji Kaybı \%} = \frac{(\text{Yüklemeye eğrisi altındaki alan} - \text{Boşaltma eğrisi altındaki alan})}{\text{Boşaltma eğrisi altındaki alan}} \times 100$$

3.2.6. GelMA / AlgMA Hibrit Hidrojellerinin Viskoelastik Özellikleri

Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde hazırlanan hidrojellerin gerilim ve kayma hızı ve viskoelastisite arasındaki fonksiyonel ilişkiyi tayin etmek için reolojik analizler kullanıldı. Katıların elastik ve sıvıların akış davranışlarının tanımlandığı viskoelastik terimi, bazı kremler, losyonlar, merhemler ve jeller için tanımlanabilmektedir. Bir katı madde akış ile karakterize edilemezken elastisitesi ile karakterizasyonu yapılabilmektedir. Elastisite, Hooke kanununa göre aşağıda gösterilen eşitlik ile hesaplanabilir (Coates ve diğ. 2013).

Denklem 3.2:

$$E = F / \lambda \quad (1)$$

Bu eşitlikte E, elastik modül (din.cm^{-2}); F, gerilim (din.cm^{-2}); λ , deformasyondur (birimsizdir).

GelMA hidrojelinin viskoelastisitesi, küçük gerginlikteki dinamik kayma salınım ölçümü ile tanımlanabilir (Van den Bulcke ve diğ. 2000). Salınlı makas deformasyon modlarına

dayanan reoloji ölçümleri, paralel pürüzlü plakalarla donatılmış bir reometre ile gerçekleştirilir. Reoloji testleri stres altında malzeme üzerinde meydana gelen deformasyonu ölçmektedir. Mekaniksel davranışların reolojiden etkilenmesi sebebi ile reolojik veriler önem kazanmaktadır. Reometre, GelMA hidrojelinin stabilitesini değerlendirmek için kullanılabilecek elastik modül G' (ayrıca gerçek modül veya depolama modülü olarak da adlandırılır) ve viskoz modül G'' (hayali modül veya kayıp modülü olarak da bilinir) sağlayabilir. Reolojik çalışmalar modüler bir kompakt reometre (MCR 302, Anton Paar, Graz, Avusturya) kullanılarak yapıldı. Sıkıştırma testleri için kullanılan aynı yöntemle $\phi = 8$ mm ve yüksekliği = 1.5 mm olan hidrojel numuneleri ($n = 4$) hazırlandı. Numuneler daha sonra kumlanmış yassı bir plaka altına gelecek şekilde reometre cihazı ıçerisine yerleştirildi ve reolojik testlerin yapılabilmesi için 8 mm ϕ lı bir levha ile kapatıldı. Malzemelerin su ıçeriklerinin buharlaşmasını önlemek için ve hidrojelin nemli kalmasını sağlamak için plakanın etrafına mineral yağ (Sigma-Aldrich'ten M5904) uygulandı. Kayma gerinmesi taramaları 37°C 'de, gerilme =% 0-100 ve açısal frekans = 1 rad/sn ve sıklık taraması açısal frekans = 0-100 rad/s ve gerilme =% 0.1 değerleri referans alınarak yapıldı. Depolama modülü (G'), kayıp modülü (G'') ve kayıp faktörü (G'/G'') açısal frekansta = 1rad/s ve gerilme =% 0,1 aralıklarında çalışılarak belirlendi.

3.2.7. Fiziksel Özellikler:

Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde hazırlanan yapışkan hidrojellerin su içeriğinin in vitro ölçümü ve yapışkan hidrojellerin in vitro enzimatik bozunması belirlenerek malzemelerin fiziksel olarak dayanımları gösterildi.

3.2.7.1. Şişme Testi

Bir hidrojelin şişme özelliği, tartım metodu ile değerlendirilir. Biyo yapışkan hidrojellerin fiziksel özelliklerini test etmek için, bölüm 3.2.5'de açıklanan prosedür izlenerek PDMS kalıplarında silindirik numuneler ($\phi = 8$ mm ve kalınlık = 1,5 mm, her koşul için 5 numune) hazırlandı. Numuneler foto ϕ apraz bağlandıktan sonra ıslak numunelerin ağırlığı ölçüldü (W_w) ve numunelerin DPBS içinde 37°C 'de 1, 2, 4 ve 8 saat boyunca şişmesine izin verildi. Deneylerin sonunda, numuneler DPBS'den çıkarıldı, peçete yardımı ile hafifçe kurutuldu ve ağırlıkları ölçüldü (W_s). Bu çalışma ile şişme dengesi analiz edildi ve şişme oranları hesaplandı. Şişme oranları aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi (Zhao ve diğ. 2016);

Denklem 3.3 :

$$\text{Şişme Oranları \%} = \frac{(W_w - W_s)}{W_s} \times 100$$

3.2.7.2. *Degradasyon (Bozunum) Testi*

Hidrojel, sulu ortamda hızlandırılmış bir bozulma davranışı sergileyebilir. Bozunma derecesi, belli bir ortamda inkübasyondan önce ve sonra ağırlık farkının ölçülmesiyle tahmin edilebilir (Zhao ve diğ. 2016).

Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde hazırlanan malzemelerin bozunma değerlendirmesi için, silindirik numuneler 37°C'de 10 µg / mL kollajenaz içeren bir DPBS çözeltisine daldırıldı. Numuneler çözeltiden istenen inkübasyon sürelerinde uzaklaştırıldı, saf su ile 3 kez durulandı, lyofilize edildi ve kuru ağırlıkları kaydedildi. Bozunma oranı aşağıdaki yöntem kullanılarak hesaplandı:

Denklem 3.4 :

$$\text{Bozunma Oranları \%} = \frac{(W_i - W_d)}{W_i} \times 100$$

Wi, kollajenaz çözeltisine batırılmadan önce numunelerin ilk kuru ağırlığıdır ve Wd, belirli bir zamanda kollajenaz çözeltisinde inkübasyondan sonra malzemenin kuru ağırlığıdır (Pepelanova ve diğ. 2018).

3.2.8. Sızdırmazlık Özelliklerinin in vitro Değerlendirilmesi

3.2.8.1. *Patlama Basıncı Testi*

Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde hazırlanan cerrahi sızdırmazlık maddelerinin patlama mukavemeti için standart protokolü takiben in vitro patlama basıncı testleri uygulandı (ASTM F2392-04, 2015). Kolajen tabakalar (Weston 19-0102-W 33 mm Kolajen Sosis Muhafaza) çapları = 30 mm olacak şekilde yuvarlak parçalara kesildi ve kolajen içerisindeki gliserini çıkarmak ve tabakaları yumuşatmak için DI suyla üç kez yıkandı. Biyopsi zımbası kullanılarak kolajen tabakalarının merkezinde dairesel bir çap (çap = 1 mm) oluşturuldu. Ardından hazırlanan tabakalar kullanılmadan önce oda sıcaklığında 10 dakika boyunca DBPS içerisinde

bekletildi. Daha sonra bir kollajen tabaka DPBS'den çıkarıldı, fazla sıvıyı çıkarmak için peçete ile hafifçe kurularak ve Şekil 4.24 te gösterildiği gibi patlama basıncı cihazına yerleştirildi. 20 µl olarak hazırlanan ön-jel çözeltisi daha önce hazırlanan dairesel çap üzerine uygulandı ve 4 dakika boyunca görünür ışık yardımı ile kürlendi. Ardından 5 dakika boyunca 1 ml CaCl_2 çözeltisine maruz bırakıldı. Patlama basıncı test sistemi bir şırınga pompasına (Aaddin-1000HP, WPI Inc.) bağlandı ve sabitlenmiş 20 mL/dakika hızında sızdırmaz kollajen tabakasının altına hava üflenerek test gerçekleştirildi. Basınç, SPARKvue (versiyon 4.0.0.18, PASCO) yazılımı tarafından izlenen bir sensör (PASCO kablosuz basınç) kullanılarak kaydedildi. Patlama basıncı, yapıştırıcının, malzemenin yırtılmasından veya kollajen tabakasından delaminasyonundan dolayı başarısız olunan maksimum basınç olarak tanımlandı. Her koşul için en az 5 örnek test edildi ve patlama basıncı değerlerinin ortalaması alınarak sonuçlar belirlendi.

3.2.8.2. Yara Kapanma Dayanımı Testi

Numunelerin yara kapanma dayanımları, bazı modifikasyonlarla doku yapıştırıcılarının ve sızdırmazlık maddelerinin, ASTM F2458-05, 2015'in yara kapanma dayanımı için standart test yöntemi izlenerek incelendi. Kısaca, bir kollajen tabakası dikdörtgen parçalar halinde ($5 \times 20 \text{ mm}^2$) kesildi ve deneylerden önce 10 dakika boyunca oda sıcaklığında DPBS içinde bekletildi. Numunelerin hazırlanması için, fazla sıvı peçete yardımı ile uzaklaştırıldı ve tabakanın her bir ucu Süper yapıştırıcı kullanılarak 6 mm olan iki cam lamına yapıştırıldı. Bir tıraş bıçağı kullanılarak kollajen yaprağın ortasına bir insizyon yapıldı ve alanı ($5 \times 6 \text{ mm}^2$) kapsayacak şekilde insizyon üzerine 20 µl ön jel çözeltisi uygulandı. Daha sonra, yapıştırıcı malzeme daha önce açıklandığı gibi görünür ışık ve CaCl_2 ile çapraz olarak bağlandı. Cam slaytlar daha sonra Instron mekanik test cihazına aktarıldı ve bozulma ve gereksiz mekanik stresin önlenmesi için özel dikkat gösterildi. Numune daha sonra sabit 1 mm/dak hızında gerilmiş ve sızdırmazlık malzemelerinin yara kapanma mukavemeti kopma noktasında belirlendi. Her durum için en az 5 kopya test edildi ve değerlerin ortalaması alınarak sonuçlar belirlendi.

3.2.9. Ex vivo Sızdırmazlık Testleri

Ex vivo deneyler için kullanılan dokular, UCLA hayvan tesisi tarafından sağlanan hayvanlardan elde edildi. Dokular, deneylerden önce 4°C 'de buzdolabında en fazla 24 saat

olacak şekilde bekletildi. Bir domuz mesane insizyon modeli kullanılarak GelMA/AlgMA hibrit hidrojel­leri için ex vivo sızdırmazlık kapasitesinin değ­erlendirilmesi ger­çekleştirildi.

3.2.9.1. Ex vivo Patlama Basıncı Testi

Biyo-yapışkanların ex vivo domuz mesanesi modelinden kopması/ayrılması için gereken basınç, mesane başına en az 5 hidrojel kullanılarak ölçüldü. Bir biyopsi zımbası kullanılarak mesanede dairesel bir kusur (hasar) (çap = 3) mm oluşturuldu. 100 µl ön jel çözeltisi mesane üzerindeki defekte bir otomatik pipet yardımı ile uygulandı. Ardından malzemenin üzerine 4 dakika boyunca görünür ışık uygulandı. Daha sonra mesane üzerine 10 dakika boyunca 1 mL CaCl₂ çözeltisi eklenerek iyonik çapraz bağlama yapıldı ve malzemenin kürlenmesi sonlandırıldı. Mesane kademeli olarak bir peristaltik pompa (BT100-1) kullanılarak 20 mL/dak sabit bir hızda DI suyla dolduruldu ve basınç, bölüm 2.7'de açıklanan aynı kurulum kullanılarak izlendi. Patlama basıncı, suyun malzeme ile kapatılan defekten sızmaya başladığı, düşme veya plato basıncına yansıttığı maksimum basınç olarak tanımlandı.

3.2.9.2. Ex vivo Yara Kapanma Dayanımı Testi

Hidrojellerin (n = 4) ex vivo yara kapama etkinliği, bir domuz üreter anastomoz modeli kullanılarak araştırıldı. Üreter 30 mm uzunluğunda parçalar halinde kesildi ve üretere 1 mm çapında plastik bir tüp yerleştirildi. Bir tıraş bıçağı kullanılarak üreter merkezinde bir insizyon yapılmış ve insizyonun her yerine, 4 dakika boyunca görünür ışıkla ışınlanmış 100 µL biyo-yapışkan malzeme uygulandı. Daha sonra CaCl₂ çözeltisi (1 mL) yapıştırıcıya uygulandı ve malzeme iyonik çapraz bağlanma olabilmesi için 5 dakika boyunca CaCl₂ çözeltisi içerisinde inkübe edildi. Daha sonra plastik tüp çıkarıldı ve üreterin iki ucu Süper tutkal kullanılarak iki cam slayt üzerine sabitlendi. Cam slaytlar daha sonra Instron mekanik test cihazına yerleştirildi ve 1 mm/dak hızında gerilim uygulanarak analizler yapıldı. Anastomoz başarısızlık kuvveti, sızdırmazlık maddesinin dokudan yırtıldığı veya ayrıldığı maksimum kuvvet olarak tanımlanmaktadır ve anastomoz yetersizliği enerjisi, kuvvet-yer değiştirme eğrilerinin altındaki alana göre hesaplandı.

3.2.10. Hücre Uyumluluğunun Değerlendirilmesi

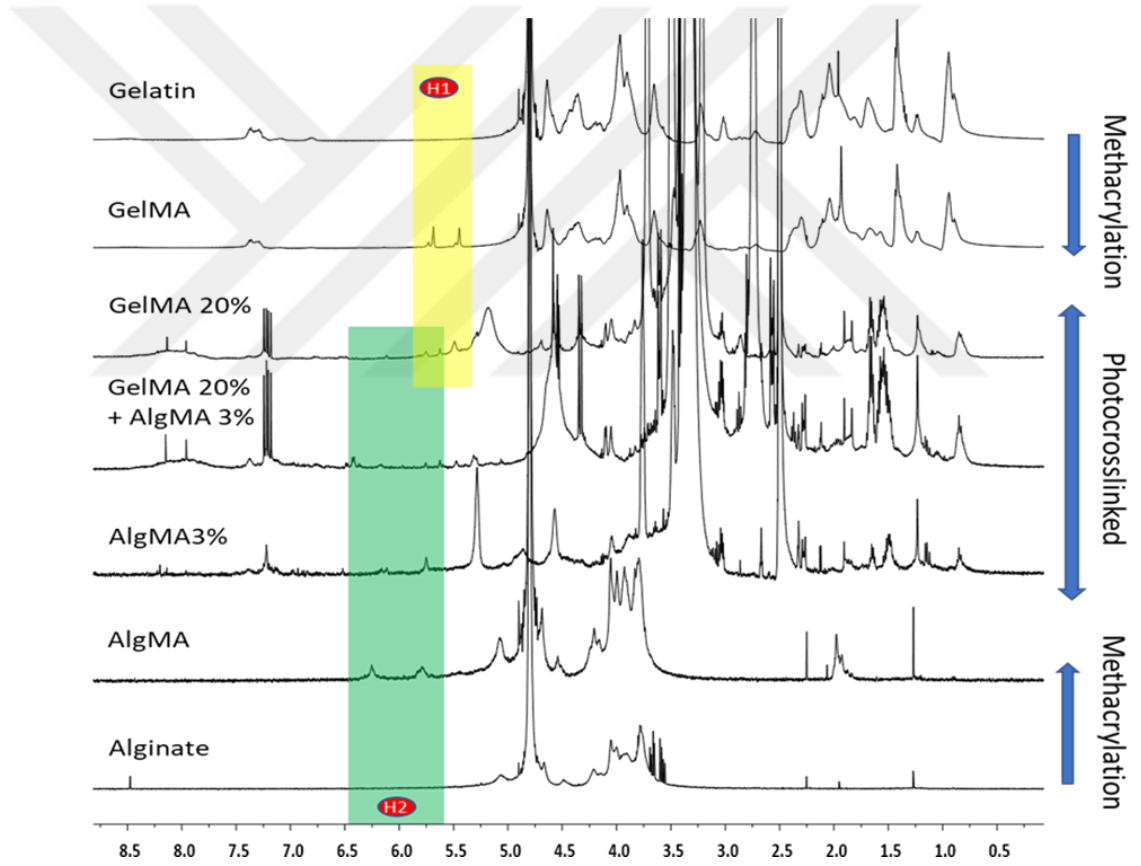
Hazırlanan hidrojellerin hücre uyumluluğu değ­erlendirilmesi, bir fare fibroblast hücre çizgisi (NIH / 3T3, ATCC) kullanılarak 2D kültüründe değ­erlendirildi. 3T3 hücreleri, % 10 FBS ve %

1 antibiyotik-antimikotik (P/S) ile desteklenmiş DMEM içinde kültürlendi ve 37 ° C'de ve % 5 CO₂'de inkübe edildi. Hücrelerin yapısına göre hazırlanan medya ortamı iki günde bir değiştirildi. Hücreler inkübatörden alınarak mikroskop altında incelendi ve hücreler % 90 artış oranına ulaştıkları için pasajlanma gerçekleştirildi. Hidrojellerin sitotoksitesini değerlendirmek için, 0, 2 ve % 5 w / v AlgMA içeren disk şekilli GelMA (% 20 w/v) örnekleri (çap = 8 mm ve kalınlık = 1.5 mm, her durum için 4 örnek) bölüm 3.2.3'te açıklanan yöntemle göre hazırlandı ve 2 saat ultraviyole (UV) ışığı ile sterilize edildi. Ardından, numuneler 48 oyuklu plakalara aktarıldı ve 100,000 hücre/mL içeren 100 uL hücre süspansiyonu hidrojellerin üstüne tohumlandı. Hücre canlılığı, LIVE / DEAD TM canlılığı / sitotoksite kiti (Invitrogen) kullanılarak kültürün 3. ve 7. günlerinde değerlendirildi. Hücreler bir floresan mikroskobu (Axio Observer 5, Zeiss) üzerinde görüntülendi ve canlı (yeşil) ve ölü (kırmızı) hücre sayısını tahmin etmek için ImageJ yazılımı (150.i) kullanıldı. Hücre canlılığı, canlı hücrelerin toplam hücre sayısına oranı olarak belirlenmiştir. Hücrelerin metabolik aktivitesi, PrestoBlue TM reaktifi (Invitrogen) kullanılarak kültürün 1, 3 ve 7. günlerinde ölçüldü. Bunun için PrestoBlue, 1 ila 9 oranında ortam ile karıştırıldı ve hidrojeller üzerine 500 uL çözelti ilave edildi ve 37 ° C'de 2 saat süreyle inkübe edildi. Hücre aktivitesinden kaynaklanan flüoresan yoğunluğu, bir flüoresan plaka okuyucu (vis Synergy 2, BioTek) kullanılarak sırasıyla 560 nm ve 590 nm'lik uyarım ve emisyon dalga boylarında ölçüldü. Ölçümler herhangi bir hücre olmadan kontrol kuyusuna göre normalleştirildi ve her numune için tohumlama sonrası süreye göre raporlandı.

4. BULGULAR

4.1. GELMA / ALGMA BİYOPOLİMERİNİN ^1H NMR ANALİZİ

Bu bölümde tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalardan elde edilen bulgular sunulmuştur. Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde sentezlenen sızdırmazlık malzemelerinin kimyasal karakterizasyonu yöntem 3.2.4.1 de anlatıldığı şekilde çalışılarak, jelatin, çapraz bağlı GelMA (% 20), aljinat, AlgMA ve çapraz bağlanmış AlgMA (% 3), ve çapraz bağlanmış GelMA (% 20) ve AlgMA (% 3) hibrit malzemeleri içeren ^1H NMR spektrumları Şekil 4.1 de gösterildi.



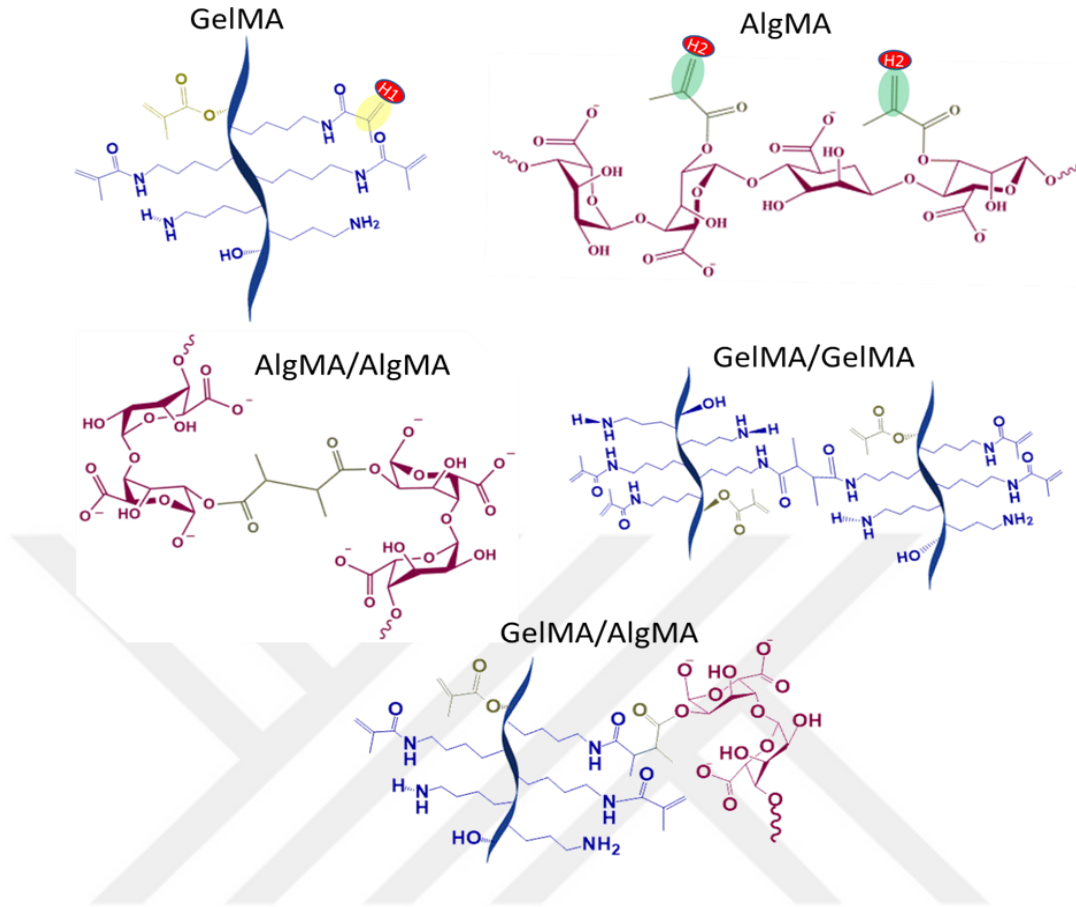
Şekil 4.1 : Ön jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojellerin ^1H NMR spektrumları.

Tablo 4.1: Ön jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojellerin ^1H NMR sonuçları.

Örnekler	GelMA (ön polimer)	AlgMA (ön polimer)	GelMA 20% (Fotoçapraz Bağlı)	AlgMA 3% (Fotoçapraz Bağlı)	GelMA20%+ AlgMA 3% (Fotoçapraz Bağlı)
Metakrilasyon Derecesi	64%	19%	-	-	-
Çapraz Bağlanma Derecesi	-	-	53%	49%	65%

Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde sentezlenen sızdırmazlık malzemelerinin, GelMA ve AlgMA ön polimerleri ve GelMA/AlgMA hibrid biyopolimerleri için metakrilasyon dereceleri ve çapraz bağlanma oranları ^1H NMR sonuçlarına göre Tablo 4.1 de belirtildi. Çapraz bağlanma derecesi görünür ışık altında kürlenene GelMA, AlgMA ve GelMA/AlgMA biyopolimerleri için yine Tablo 4.1 de belirtilen oranlarda bulundu.

Yöntem 3.2.3 te açıklandığı şekilde sentezlenen sızdırmazlık malzemelerinin kimyasal karakterizasyonu yöntem 3.2.4.1 de anlatıldığı şekilde çalışılarak Şekil 4.2 de GelMA ve AlgMA ön polimerleri ve GelMA/AlgMA hibrid biyopolimerleri için yapılar gösterildi. GelMA ve AlgMA ön polimerleri için oluşum yapıları ve GelMA/AlgMA hibrid biyopolimerleri için hibritleşme yapıları Şekil 4.2 de gösterildiği gibi tanımlandı.



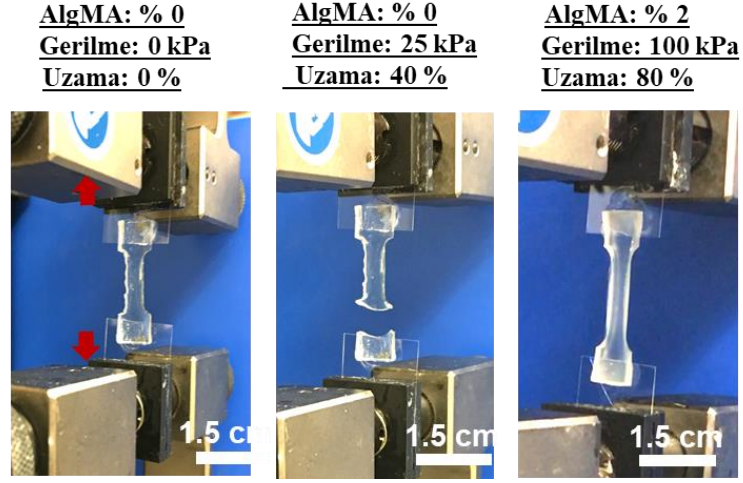
Şekil 4.2 : Ön jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojenlerin gösterimi.

Jelatin yapısındaki $-OH$, $-COOH$, $-NH_2$, $-SH$ ve benzeri büyük aktif grupların Şekil 4.2 de gösterildiği gibi metakrilasyon sonrası özellikle $-NH_2$ gruplarının vinil çift bağlara dönüşmesi ile karakterize edilmiştir. Hibrit biyopolimer oluşumunda metakrile bağların birbirleri ile olan bağlanmaları ön plana çıkmaktadır.

4.2. GELMA / ALGMA BİYOPOLİMERİNİN MEKANİKSEL DAYANIM ANALİZİ

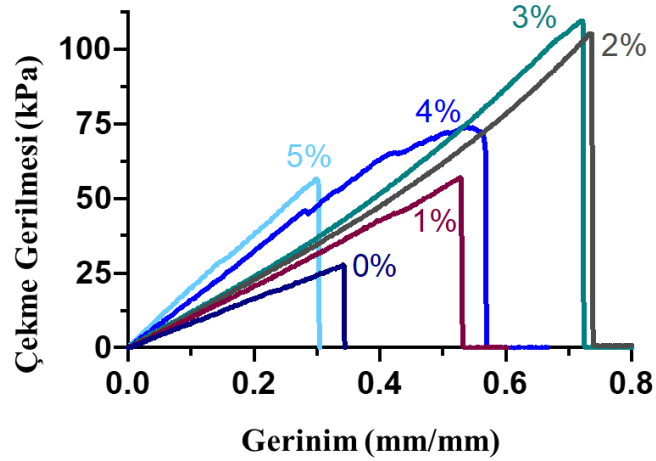
4.2.1. Çekme Testi

Gerilme-gerinim diyagramları kullanılarak ve yöntem 3.2.5.1 de ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0 ve % 2 (w/v) AlgMA konsantrasyonuna karşı gerilme-uzama testi uygulanan hibrid hidrojenlerin 0-100 kPa arasında değişen basınç değerlerinde uzama miktarları 0-80% arasında bulundu (Şekil 4.3). Şekil 4.3 te ayrıntılı olarak gösterilen test ile biyo-yapışkan olarak tasarlanan malzemenin uygulanan basınç kuvvetlerine karşı gösterdiği tepki gerilme/gerinim eğrisi olarak sonuçlandı.



Şekil 4.3 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojeller için çekme testi uygulama çalışmasının gösterimi.

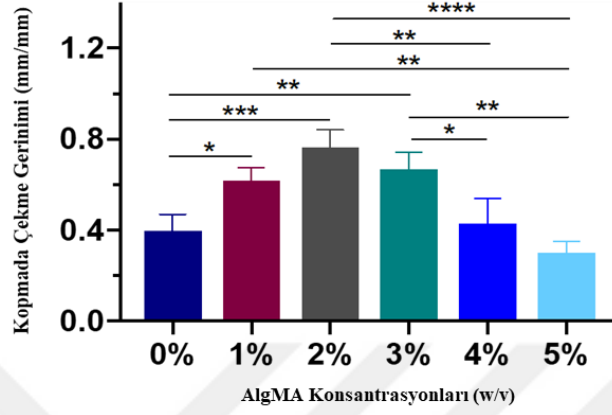
Yöntem 3.2.5.1 de açıklanan test uygulaması sonucu % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v) AlgMA içeren GelMA (20%) hibrit hidrojellerine uygulanan çekme gerilmesi-gerinim eğrisi Şekil 4.4 te gösterildi.



Şekil 4.4 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin çekme gerilmesi-gerinim eğrisi.

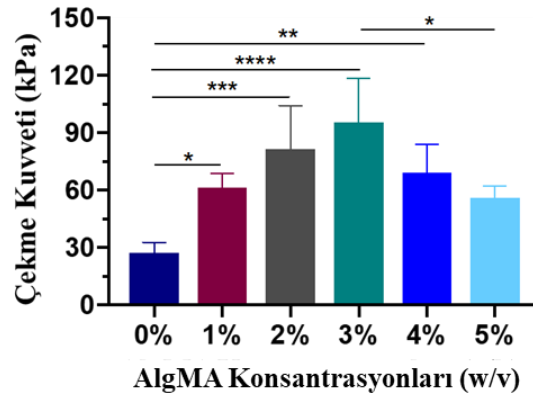
Çekme gerilmesi-gerinim eğrisi dikkate alınarak her bir AlgMA, % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v), konsantrasyonuna karşılık oluşan eğrilerin kopma sırasındaki çekme gerinimleri bulundu ve Şekil 4.5 te gösterilen sonuçlar elde edildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**),

0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



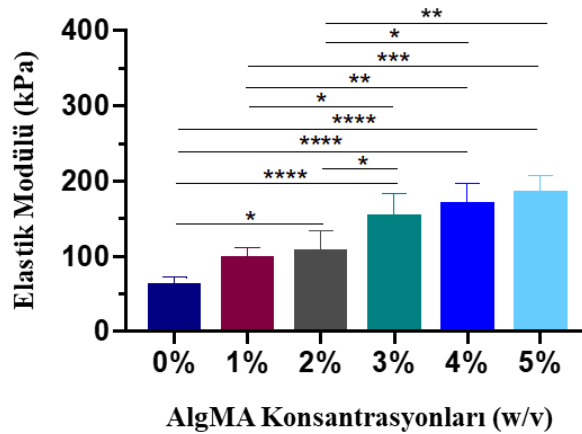
Şekil 4.5 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin kopma sırasındaki çekme gerinimlerine ait bulgular.

Çekme mukavemeti, başarısızlık noktasındaki maksimum gerilme olarak tanımlanmıştır. Bir başka ifade ile nihai çekme dayanımıdır. Çekme gerilmesi-gerinim eğrisi ile her bir AlgMA, % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v), konsantrasyonuna karşılık oluşan eğriler dikkate alınarak başarısızlık noktasındaki maksimum gerilmeler hesaplanarak çekme kuvvetleri (kPa) olarak bulundu ve Şekil 4.6 da gösterilen sonuçlar elde edildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.6 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojenlerin çekme kuvvetlerine (kPa) ait bulgular.

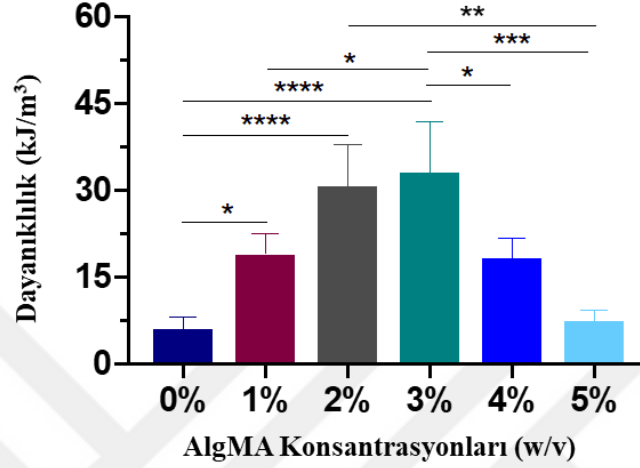
Elastik (Young) modülü gerilim fonksiyonu olarak gerinimde meydana gelen değişim hızı olarak tanımlanmaktadır. Çekme-gerilme eğrisinin eğimidir ve çekme-gerilme eğrisi altında kalan alana göre dayanıklılık hesaplandı. Çekme gerilmesi-gerinim eğrisi ile her bir AlgMA, % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v), konsantrasyonuna karşılık oluşan eğrilerin altında kalan alanların eğimleri hesaplanarak Elastik modülü kPa olarak bulundu ve Şekil 4.7 de gösterilen sonuçlar elde edildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.7 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojenlerin elastik modülüne ait bulgular.

Çekme gerilmesi-gerinim eğrisi ile her bir AlgMA, % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v), konsantrasyonuna karşılık oluşan eğrilerin altında kalan alanlar hesaplanarak dayanıklılık

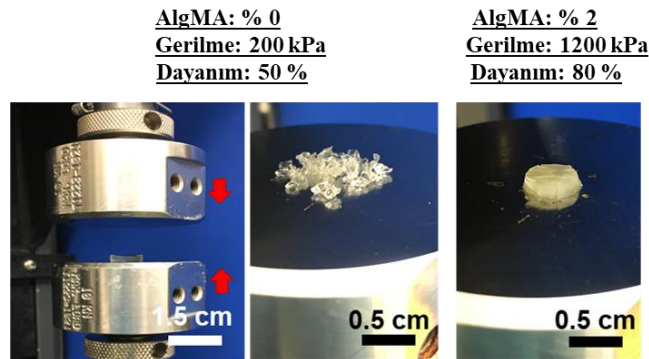
(kJ/m³) olarak bulundu ve Şekil 4.8 de gösterilen sonuçlar elde edildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.8 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için dayanıklılıklarına ait bulgular.

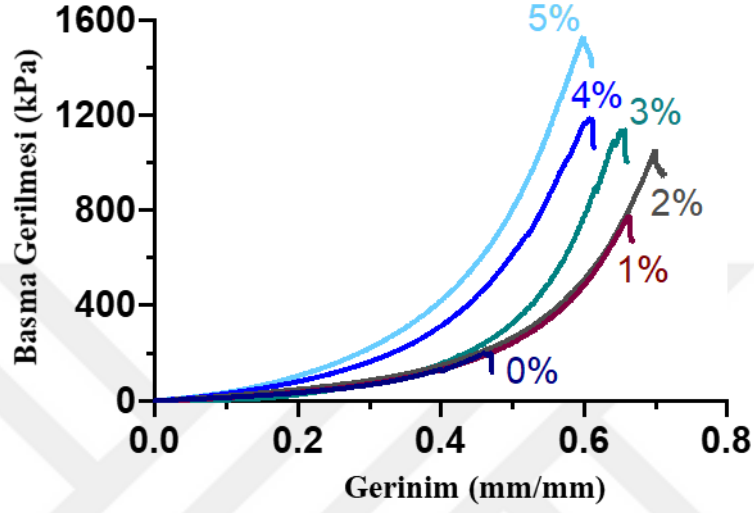
4.2.2. Sıkıştırılma Testi

Yöntem 3.2.5.2 de ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0 ve % 2 (w/v) AlgMA konsantrasyonuna karşı basma gerilmesi-dayanım testi uygulanan hibrit hidrojellerin 200-1200 kPa arasında değişen basınç değerlerinde dayanım oranları 50-80% arasında bulundu (Şekil 4.9).



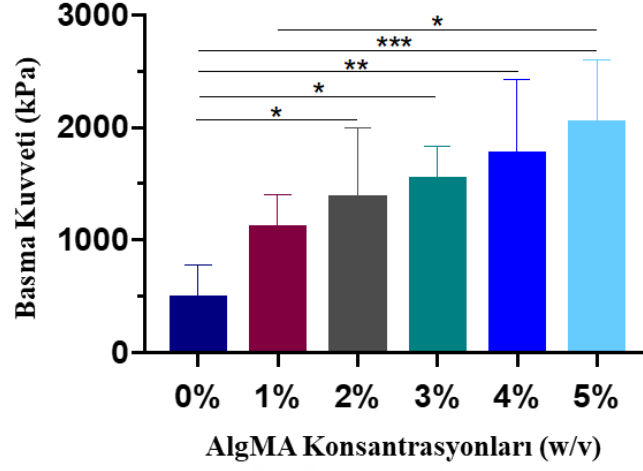
Şekil 4.9 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için sıkıştırılma testi uygulamaları gösterimi.

Yöntem 3.2.5.2 de açıklanan sıkıştırılma testi uygulaması sonucu % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v) AlgMA içeren GelMA (20%) hibrid hidrojellerine uygulanan basma gerilmesi-gerinim eğrisi Şekil 4.10 da gösterildi.



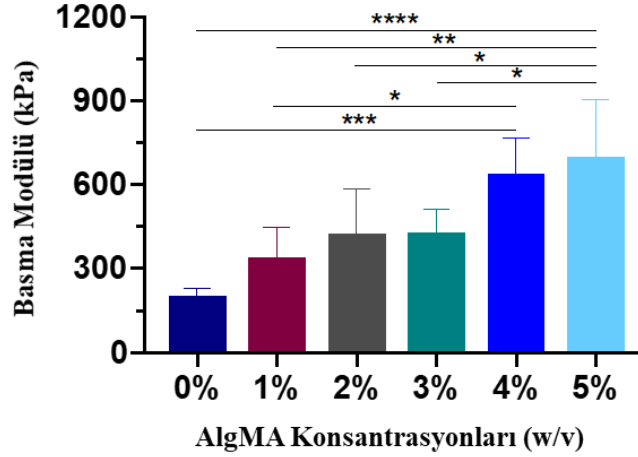
Şekil 4.10 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin basma gerilmesi-gerinim eğrisi.

Yöntem 3.2.5.2 de açıklanan sıkıştırılma testi uygulaması sonucu basma gerilmesi-gerinim eğrisi dikkate alınarak her bir AlgMA, % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v), konsantrasyonuna karşılık oluşan eğrilerin basma kuvvetleri bulundu ve Şekil 4.11 de gösterilen sonuçlar elde edildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



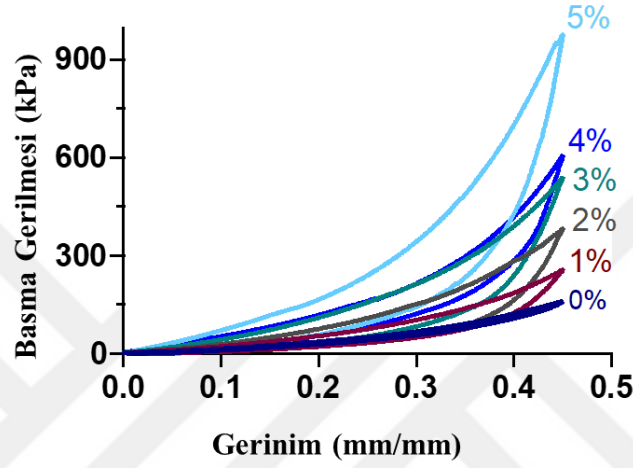
Şekil 4.11 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojeller için basma kuvvetine ait bulgular.

Yöntem 3.2.5.2 de açıklanan sıkıştırılma testi uygulaması sonucu basma gerilmesi-gerinim eğrisi dikkate alınarak her bir AlgMA, % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v), konsantrasyonuna karşılık oluşan sıkıştırılma modülü sonuçları hesaplandı ve Şekil 4.12 de gösterilen sonuçlar elde edildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



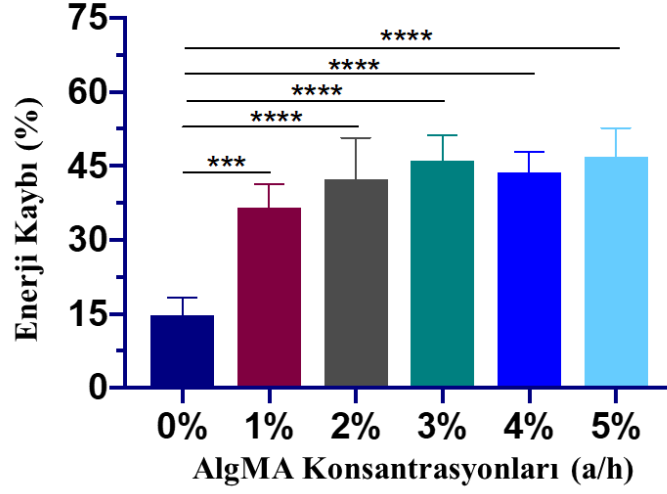
Şekil 4.12 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojeller için basma modülüne ait bulgular.

Yöntem 3.2.5.2 de açıklanan sıkıştırılma testi uygulaması sonucu basma gerilmesi-gerinim eğrisi dikkate alınarak her bir AlgMA, % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v), konsantrasyonuna karşılık oluşan basma gerilmesi kPa olarak bulundu ve Şekil 4.13 te gösterilen sonuçlar elde edildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.13 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için basma gerilmesine ait sonuçlar.

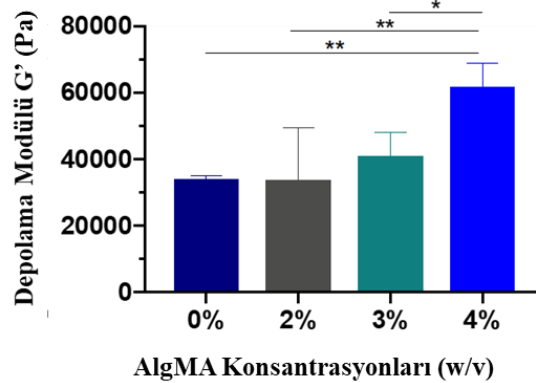
Yöntem 3.2.5.2 de açıklanan sıkıştırılma testi uygulaması sonucu basma gerilmesi-gerinim eğrisi dikkate alınarak ve denklem 3-1 de açıklanan % enerji kaybı hesabı dikkate alınarak her bir AlgMA, % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v), konsantrasyonuna karşılık enerji kaybı % sonuçları hesaplandı ve Şekil 4.14 te gösterilen sonuçlar elde edildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.14 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojeller için hesaplanan enerji kaybına (%) ait bulgular.

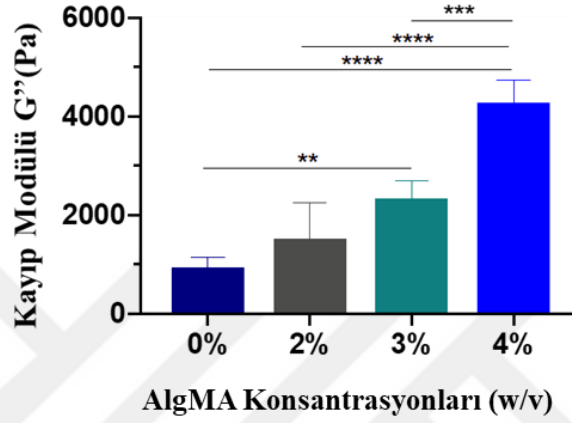
4.3. GELMA / ALGMA BİYOPOLİMERİNİN VİSKOELASTİK SONUÇLARI

GelMA/AlgMA biyo-yapıştırıcı malzemenin bileşenlerinin birbirleri ile olan etkileşimleri reolojik olarak değerlendirildi. Bu sonuçlarda farklı konsantrasyonlardaki AlgMA bileşeninin malzemenin reolojik özellikleri üzerine etkileri sunuldu. Yöntem 3.2.6 da ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3 ve % 4 (w/v) AlgMA hibrit hidrojelleri için depolama modülü (G') (açısal frekans= 1 rad/s ve gerilme = % 0.1) şartları altında hesaplandı ve Şekil 4.15 de gösterildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



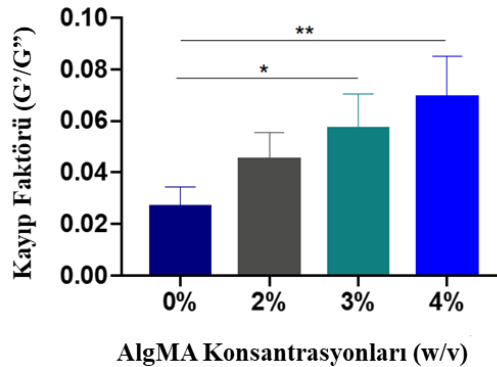
Şekil 4.15 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojelleri için depolama modülüne (G') ait bulgular.

Yöntem 3.2.6 da ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3 ve % 4 (w/v) AlgMA hibrid hidrojel için kayıp modülü (G'') (açısal frekans= 1rad / s ve gerilme = % 0.1) şartları altında değerlendirildi ve Şekil 4.16 da sonuçlar gösterildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



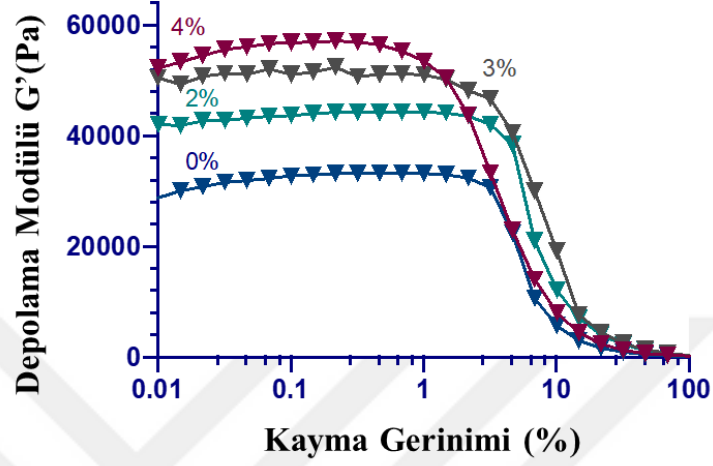
Şekil 4.16 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için kayıp modülüne (G'') ait bulgular.

Yöntem 3.2.6 da ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3 ve % 4 (w/v) AlgMA hibrid hidrojel için kayıp faktörü (G'/G'') (açısal frekans= 1rad / s ve gerilme = % 0.1) şartları altında belirlendi ve Şekil 4.17 de sonuçlar sunuldu. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



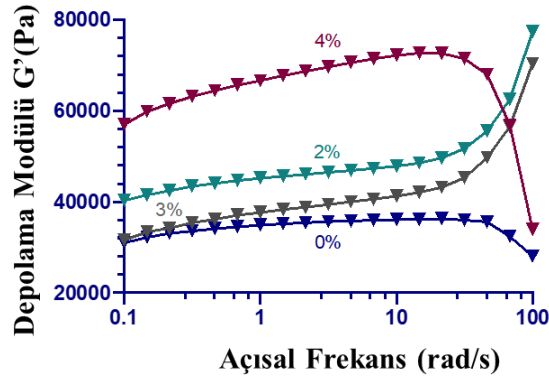
Şekil 4.17 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojel için kayıp faktörüne (G'/G'') ait bulgular.

Yöntem 3.2.6 da ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3 ve % 4 (w/v) AlgMA hibrid hidrojenleri için depolama modülü (G') sabit açısal frekansta ($\sim 1 \text{ rad s}^{-1}$) osilatör kayma gerinimine karşı çalışıldı ve sonuçlar Şekil 4.18 de gösterildi.



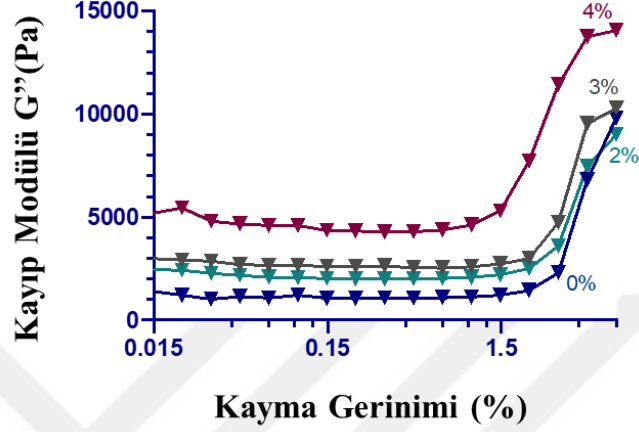
Şekil 4.18 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojenler için sabit açısal frekansta ($\sim 1 \text{ rad s}^{-1}$) depolama modülüne (G') ait bulgular.

Yöntem 3.2.6 da ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3 ve % 4 (w/v) AlgMA hibrid hidrojenleri için depolama modülü (G') sabit osilatör kayma geriniminde ($\sim 0.1\%$) açısal frekansa karşı çalışıldı ve sonuçlar Şekil 4.19 da sunuldu.



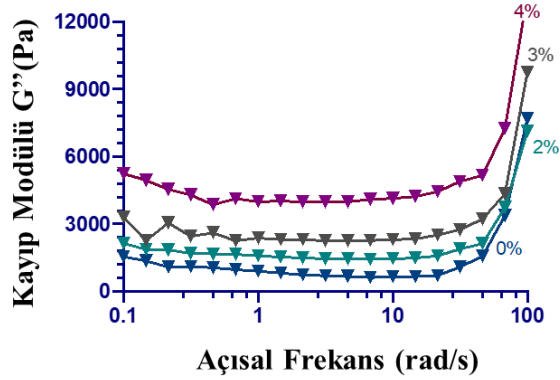
Şekil 4.19 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojenler için sabit osilatör kayma geriniminde ($\sim 0.1\%$) depolama modülüne (G') ait bulgular.

Yöntem 3.2.6 da ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3 ve % 4 (w/v) AlgMA hibrid hidrojelere için kayıp modülü (G'') sabit açısal frekansta ($\sim 1 \text{ rad s}^{-1}$) osilatör kayma gerinimine karşı çalışıldı ve sonuçlar Şekil 4.20 de sunuldu.



Şekil 4.20 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojelere için sabit açısal frekansta ($\sim 1 \text{ rad s}^{-1}$) kayıp modülüne (G'') ait bulgular.

Yöntem 3.2.6 da ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3 ve % 4 (w/v) AlgMA hibrid hidrojelere için kayıp modülü (G'') sabit osilatör kayma geriniminde ($\sim 0.1\%$) açısal frekansa karşı belirlendi ve sonuçlar Şekil 4.21 de gösterildi.

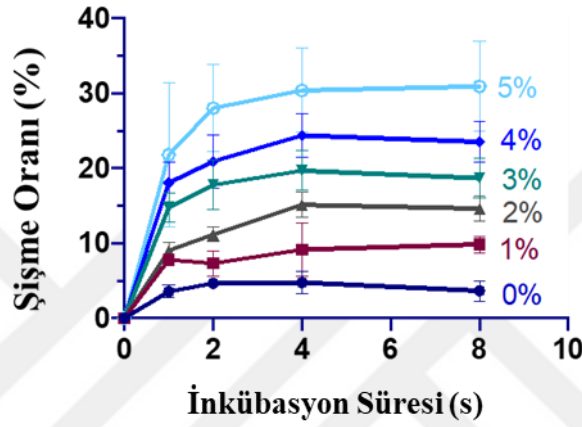


Şekil 4.21 : GelMA (ağırlıkça % 20) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojelere için sabit osilatör kayma geriniminde ($\sim 0.1\%$) kayıp modülüne (G'') ait bulgular.

4.4. GELMA / ALGMA HİBRİT HİDROJELLERİNİN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ

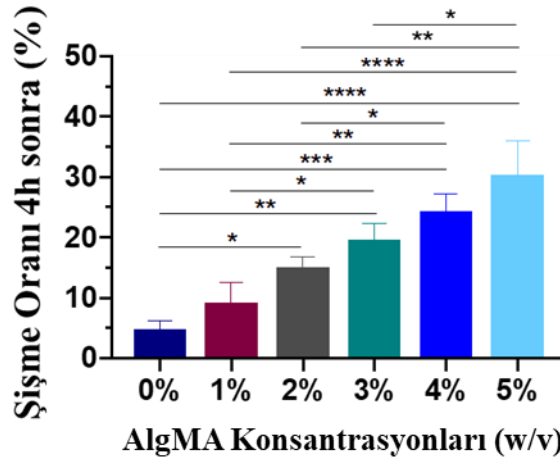
4.4.1. Şişme Testi

Yöntem 3.2.7.1 de ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v) AlgMA hibrid hidrojelleri için şişme oranları denklem 3.2 ile verilen % şişme oranı denklemi kullanılarak bulundu ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.22 de sunuldu.



Şekil 4.22 : GelMA'dan (% 20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için inkübasyon sürelerine bağlı % şişme oranlarına ait bulgular.

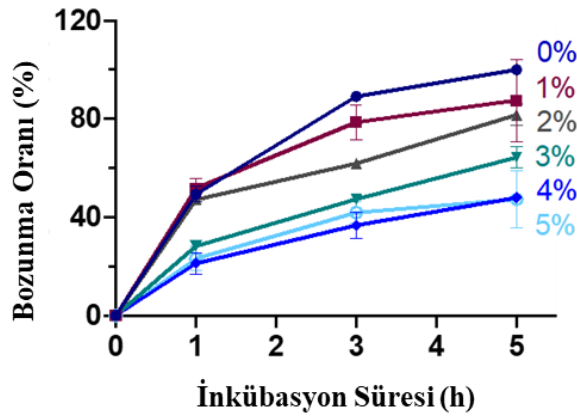
Yöntem 3.2.7.1 de ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v) AlgMA hibrid hidrojelleri için şişme oranları denklem 3.2 ile verilen % şişme oranı denklemi kullanılarak bulundu. Dört (4) saat sonra dengeye geldikleri Şekil 4.23 te gözlenen biyopolimerler için 4 saat sonraki şişme oranları da Şekil 4.23 te gösterildi. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.23 : GelMA'dan (% 20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojeller için DPBS'de 4 saatlik inkübasyondan sonrası % şişme oranlarına ait bulgular.

4.4.2. Degradasyon (Bozunma) Testi

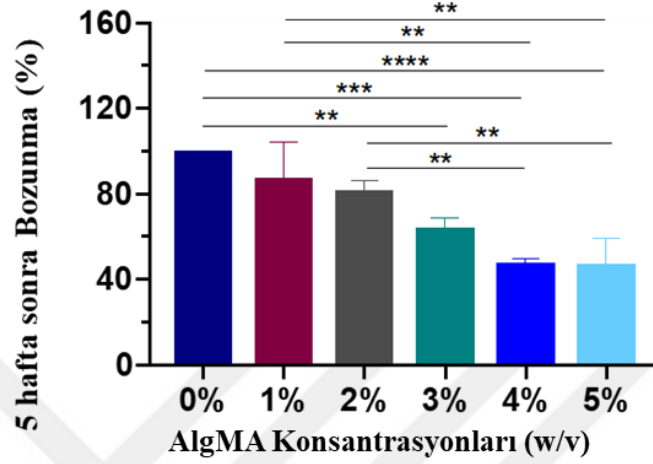
Yöntem 3.2.7.2 de ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v) AlgMA hibrid hidrojelleri için bozunma oranları denklem 3.3 ile verilen % bozunma oranı denklemi kullanılarak bulundu ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.24 te gösterildi.



Şekil 4.24 : GelMA'dan (% 20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojeller için 37 ° C'de kollajenaz (1.25 U / mL) içeren DPBS'ye batırılmış zamana bağlı bozunma sonuçlarına ait bulgular.

Yöntem 3.2.7.2 de ayrıntılı olarak açıklandığı gibi çalışılarak % 0, % 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5 (w/v) AlgMA hibrid hidrojelleri için bozunma oranları denklem 3.3 ile verilen % bozunma oranı denklemi kullanılarak bulundu. Beş (5) hafta sonra dengeye geldikleri Şekil 4.24 te

gözlenen biyopolimerler için 5 hafta sonraki bozunma oranları da Şekil 4.25 de sunuldu. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.25 : GelMA'dan (% 20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için 37 ° C'de kollajenaz içeren (1.25 U / mL) DPBS'de 5 haftalık inkübasyondan sonra hidrojellerin bozunmasına ait bulgular.

4.5. SIZDIRMAZLIK ÖZELLİKLERİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

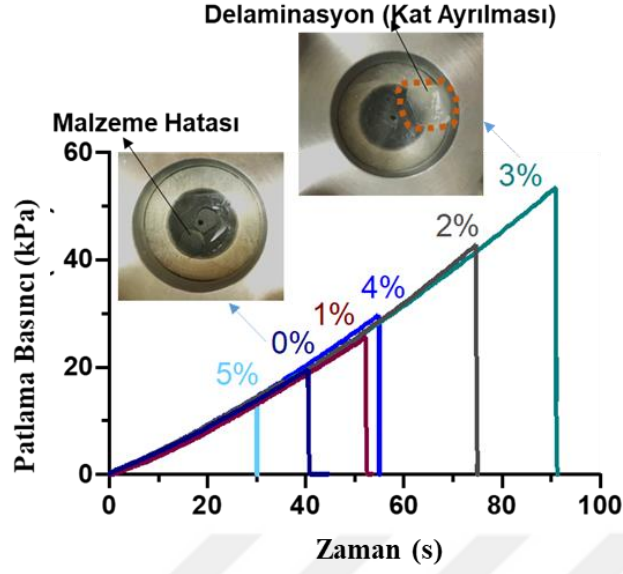
4.5.1. Patlama Basıncı Testi

Yöntem 3.2.8.1 de anlatıldığı gibi çalışılarak ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağırlı hibrid hidrojellerin patlama basınçları ile ilgili hazırlık aşamalarını içeren gösterim Şekil 4.26 da ayrıntılı olarak resmedildi.



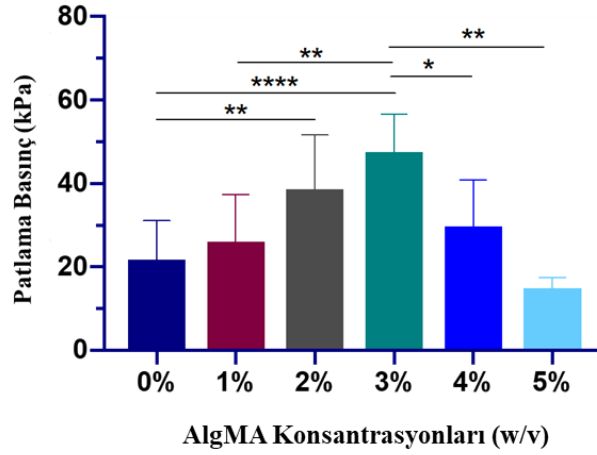
Şekil 4.26 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için patlama basıncı testi hazırlık aşamaları.

Yöntem 3.2.8.1 de anlatıldığı gibi çalışılarak ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağırlı hibrid hidrojellerin malzeme hatası ve kat ayrılması ile ifade edilen % 0 ve % 3 AlgMA konsantrasyonlarına karşı patlama basınçları ile ilgili bulgular Şekil 4.27 de verildi.



Şekil 4.27 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojelleri için patlama basıncı testlerinden elde edilen temsili basınç-zaman eğrileri.

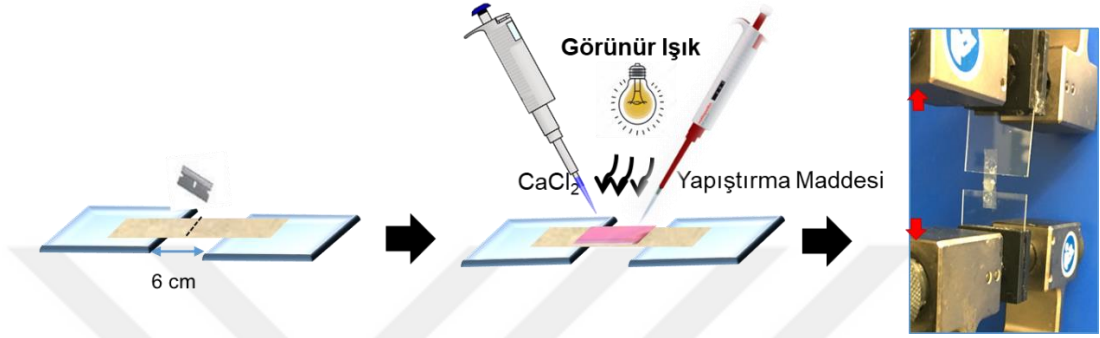
Yöntem 3.2.8.1 de anlatıldığı gibi çalışılarak değişken AlgMA konsantrasyonları içeren iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağırlı hibrid hidrojellerin patlama basıncı değerleri Şekil 4.28 de sunuldu. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



Şekil 4.28 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojeller için patlama basınçlarına ait bulgular.

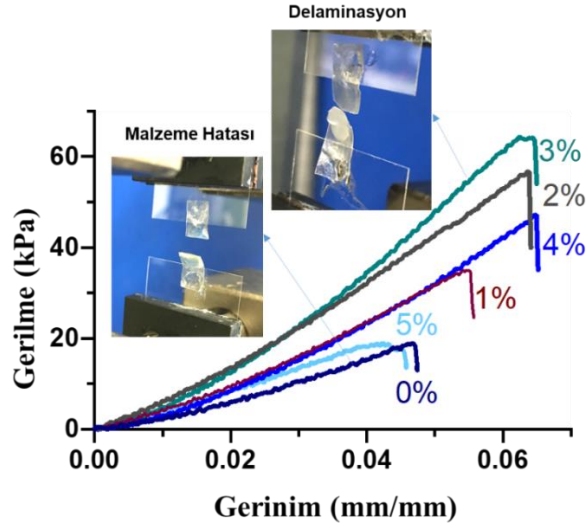
4.5.2. Yara Kapanma Dayanımı Testi

Yöntem 3.2.8.2 de anlatıldığı gibi çalışılarak ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağırlı hibrid hidrojellerin yara kapanma dayanımı ile ilgili hazırlık aşamalarını içeren gösterim Şekil 4.29 da ayrıntılı olarak resmedildi.



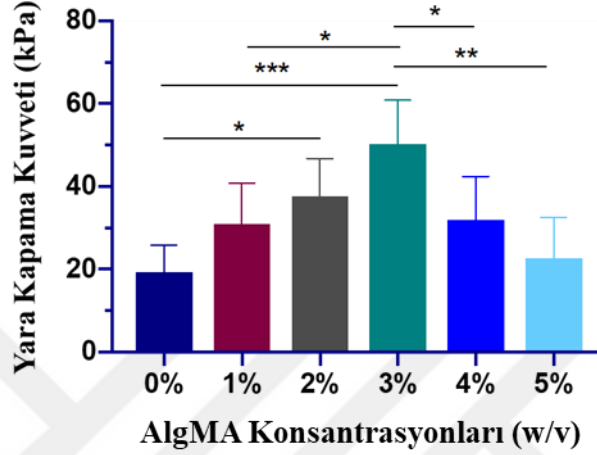
Şekil 4.29 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojeller için yara kapanması testi hazırlık aşamalarına ait gösterim.

Yöntem 3.2.8.2 de anlatıldığı gibi çalışılarak ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağırlı hibrid hidrojellerin malzeme hatası ve kat ayrılması ile ifade edilen yara kapanma dayanımı ile ilgili gerilme-gerinim eğrileri Şekil 4.30 da gösterildi.



Şekil 4.30 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojeller için yara kapama deneylerinden temsili gerilme-gerinim eğrilerine ait bulgular.

Yöntem 3.2.8.2 de anlatıldığı gibi çalışılarak ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağılı hibrid hidrojeller için yara kapanma dayanımı sonuçları Şekil 4.31 de sunuldu. Yıldız işaretleri, <0.05 (*), 0.01 (**), 0.001 (***) veya 0.0001 (****) p değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



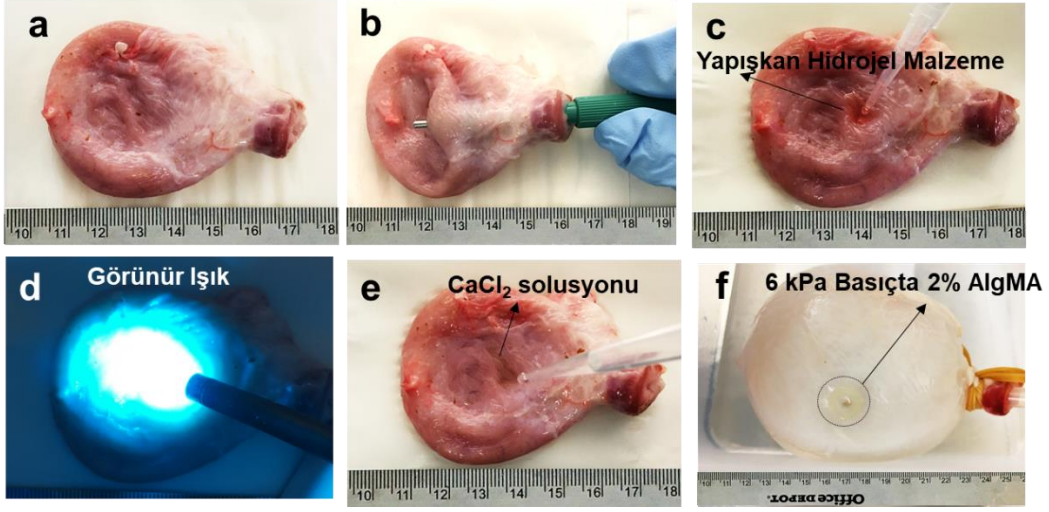
Şekil 4.31 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojeller için yara kapanma dayanımına ait bulgular.

4.6. EX VİVO SIZDIRMAZLIK TESTLERİ

Ex vivo deneyler için dokular, UCLA hayvan tesisi tarafından sağlanan hayvanlardan elde edildi. Dokular, deneylerden önce 4°C 'de buzdolabında en fazla 24 saat bekletildi. Bir domuz mesane insizyon modeli kullanarak GelMA / AlgMA hibrit hidrojelinin ex vivo sızdırmazlık kapasitesinin değerlendirilmesi yapıldı.

4.6.1. Ex vivo Patlama Basıncı Testi

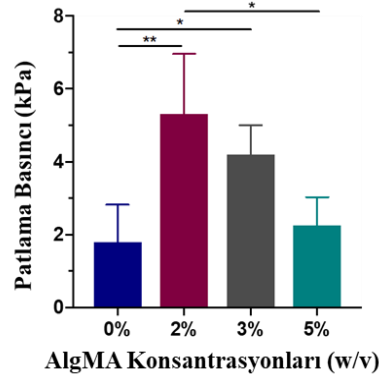
Yöntem 3.2.9.1 de anlatıldığı gibi çalışılarak ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağılı hibrid hidrojellerin ex vivo patlama basıncı ile ilgili hazırlık aşamalarını içeren gösterim Şekil 4.32 de ayrıntılı olarak resmedildi.



Şekil 4.32 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için ex vivo patlama basıncına ait gösterim.

Domuz mesanesi insizyon modeli görüntüleri şu şekilde açıklandı: (a) sağlıklı bir domuz kesesi, (c) hidrojel ile kaplanan yaranın (b) sızdırmaz hale getirilmeden önce mesanede oluşturulan yüzeysel bir yara, (d) sonraki hidrojin görünür ışıkla ve (e) bir CaCl_2 çözeltisi ile çapraz bağlanması ve (f) 6 kPa basınçta suyla dolu sızdırmaz mesanenin görüntüsü verildi.

Yöntem 3.2.9.1 de anlatıldığı gibi çalışılarak değişken AlgMA konsantrasyonlarında ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağılı biyo-yapışkan hibrit sızdırmazlık maddelerinin patlama basıncı ile ilgili bulgular Şekil 4.33 de gösterildi.



Şekil 4.33 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için ex vivo patlama basınçlarına ait bulgular.

4.6.2. Ex vivo Yara Kapama Testi

Yöntem 3.2.9.2 de anlatıldığı gibi çalışılarak ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağılı biyo-yapışkan hibrit sızdırmazlık maddelerinin ex vivo yara kapama testi ile ilgili hazırlık aşamalarını içeren gösterim Şekil 4.34 te ayrıntılı olarak resmedildi.



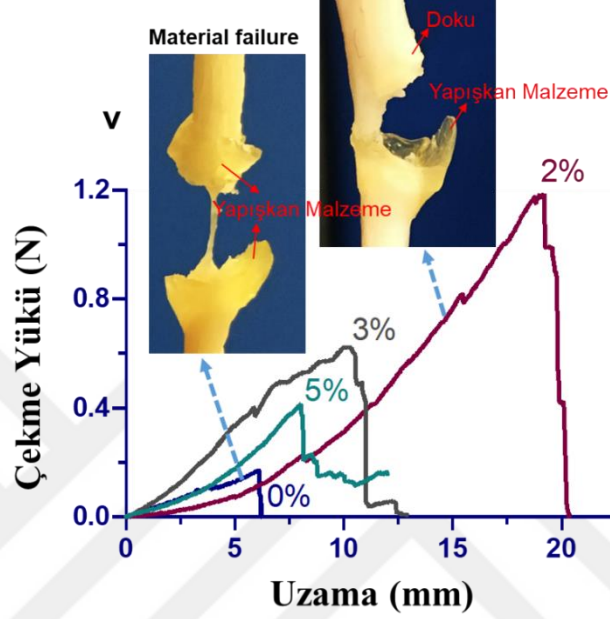
Şekil 4.34 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojel için ex vivo yara kapama testi gösterimi.

Domuz üreter anastomoz modeli Şekil 4.34 te verildi. Burada (a-c) tamamen yırtılmış bir domuz üreterinin sızdırmazlığında kullanılan yöntemi gösteren resimlerdir. Şekil 4.35 te yine biyo-yapışkan malzemenin yara kapatma kabiliyetini test etmek için dokunun gerilmesi gösterildi.

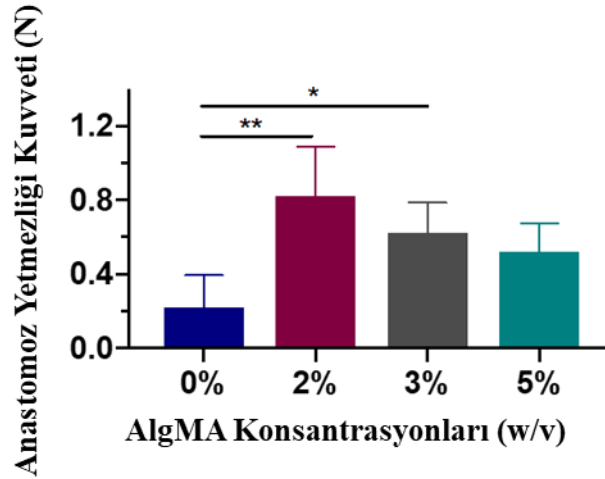


Şekil 4.35 : Biyo-yapışkan malzemenin yara kapatma kabiliyetini test etmek için dokunun gerilmesi.

Anastomoz gerilme, dokular arasındaki bağlantı veya açıklık olarak tanımlanmaktadır. Biyo-yapışkan olarak tasarlanan malzemelerin bazı başarısızlıkları Şekil 4.36 da ve anastomoz yetmezliği kuvvetlerine ait bazı bulgular ve enerji değerleri Şekil 4.37 de ve Şekil 4.38 de gösterildi.

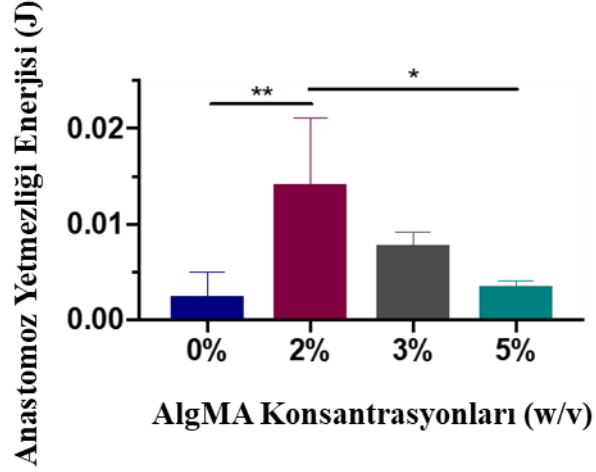


Şekil 4.36 : Gerilme-gerinim eğrileri ve anastomoz gerilme testleri sırasında bazı biyo-yapışkanlık şekilleri örnekleri.



Şekil 4.37 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlGMA'dan oluşan hibrid hidrojel için anastomoz yetmezliği kuvvetlerine ait bulgular.

Yıldız işaretleri, <0.05 (*) veya 0.01 (**) p-değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.



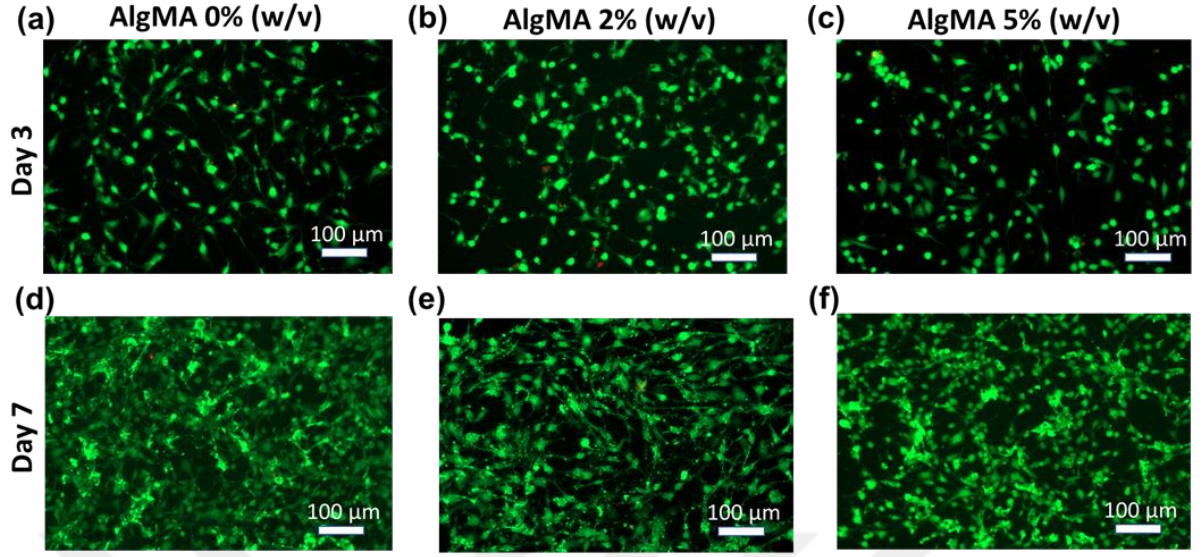
Şekil 4.38 : GelMA'dan (%20 w/v) ve değişen konsantrasyonlarda AlgMA'dan oluşan hibrid hidrojeller için anastomoz yetmezliği enerjilerine ait bulgular.

Yıldız işaretleri, <0.05 (*) veya 0.01 (**) p-değerleri ile istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları göstermektedir.

4.7. HÜCRE UYUMLULUK TESTLERİ

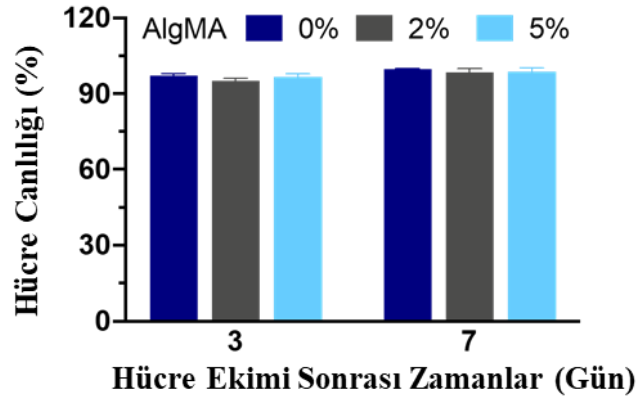
Yöntem 3.2.10 da anlatıldığı gibi çalışılarak ardışık fotokimyasal ve iyon aracılı çapraz bağlanma yoluyla hazırlanan çift ağılı biyo-yapışkan hibrit sızdırmazlık maddelerinin hücre uyumluluk testi sonuçları Şekil 4.39 da gösterildi.

Şekil 4.39 da (a-f) canlı ve ölü hücrelerin kompozit hidrojeller üzerinde kültürlendikten sonra sırasıyla yeşil ve kırmızı renklerle boyanmış floresan görüntüleri gösterildi.



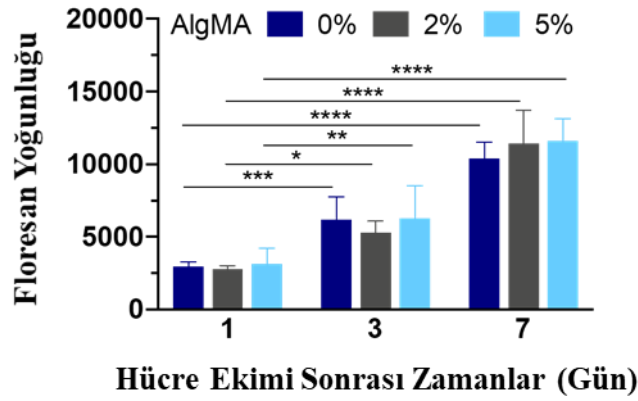
Şekil 4.39 : GelMA'dan (ağırlıkça% 20) ve değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrid hidrojellerin in vitro sitotoksiste değerlendirmesine ait bulgular.

Kompozit hidrojeller üzerinde kültürlenmiş fibroblast hücrelerinin canlılığı, hücrelerin malzemeler üzerine ekilmesinden sonra 3. ve 7. günler için değerlendirildi ve sonuçlar Şekil 4.40 da sunuldu.



Şekil 4.40 : GelMA'dan (ağırlıkça% 20) ve değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrid hidrojellerin in vitro sitotoksiste değerlendirmesine ait farklı günlerde % hücre canlılığına ait bulgular.

Floresan resorufine dönüştürülen resazurinin floresan yoğunluğu ile temsil edilen fibroblast hücrelerinin, hücre ekimi sonrası 1. 3. ve 7. günlerde metabolik aktivitesi Şekil 4.41 de sunuldu.

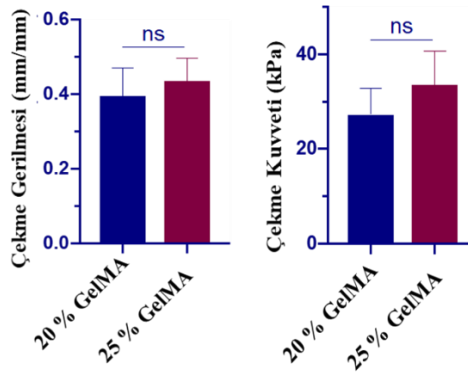


Şekil 4.41 : GelMA'dan (ağırlıkça% 20) ve değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrid hidrojenlerin in vitro sitotoksikite değerlendirmesine ait farklı günlerde floresan yoğunluğu bulguları.

Yıldız işaretleri, istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçları 0,05 (*), 0,01 (**), 0,001 (***) veya 0,0001'den (****) düşük p değerleri ile gösterir.

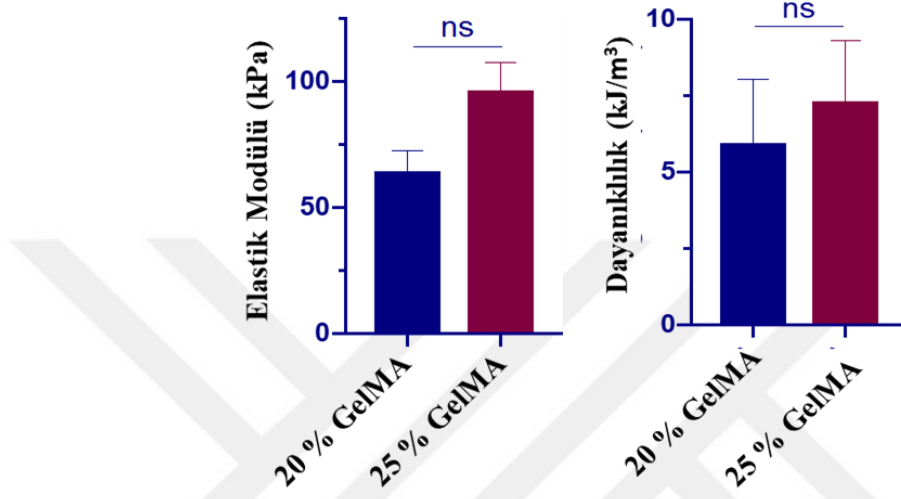
4.8. ÇEŞİTLİ BİYOPOLİMERİK SİSTEMLERİN MEKANİK VE YAPIŞKAN ÖZELLİKLERİ

Buraya kadar olan çalışmada % 20 (w/v) GelMA miktarına karşılık farklı konsantrasyonlarda AlgMA içeren biyo-yapışkan malzemelerin özellikleri karakterize edildi. Bu kısımda % 20 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA ile % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA hidrojenlerine ait mekaniksel test, çekme gerilmesi ve çekme kuvvetleri sonuçları kıyaslandı ve elde edilen veriler Şekil 4.42 de gösterildi.



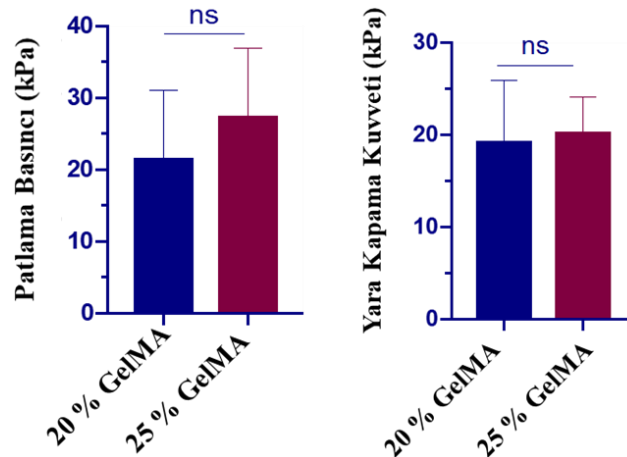
Şekil 4.42 : % 20 (w/v) foto çapraz bağlı hidrojel in kopma sırasındaki çekme gerilmesi ve çekme kuvvetleri, GelMA % 25 (w/v) foto çapraz bağlı hidrojel ile kıyaslanmasına ait bulgular.

% 20 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA ile % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA hidrojellerine ait mekaniksel test, elastik modülü ve dayanıklılık sonuçları kıyaslandı ve elde edilen veriler Şekil 4.43 te sunuldu.



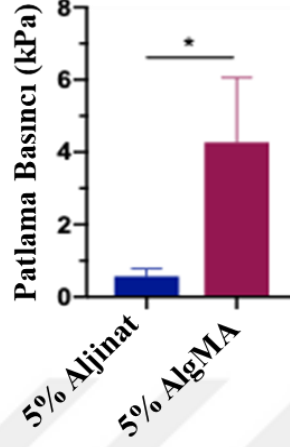
Şekil 4.43 : % 20 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA ile % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA hidrojellerine ait mekaniksel test kıyaslanmasına ait bulgular.

% 20 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA ile % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA hidrojellerine ait ex vivo patlama basıncı ve yara kapama kuvveti sonuçları kıyaslandı ve elde edilen veriler Şekil 4.44 de gösterildi.



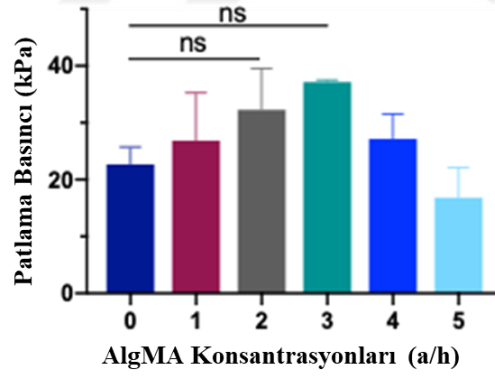
Şekil 4.44 : % 20 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA ile % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA hidrojellerine ait ex vivo patlama basıncı ve yara kapama kuvveti sonuçlarına ait bulgular.

% 5 (w/v) foto çapraz bağlı AlgMA ile % 5 (w/v) aljinat hidrojellerine ait patlama basıncı sonuçları kıyaslandı ve elde edilen veriler Şekil 4.45 de gösterildi.



Şekil 4.45 : Çapraz bağlanmış % 5 (w/v) AlgMA'ya kıyasla % 5 (w/v) aljinatın patlama basıncına ait bulgular.

% 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA ile değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojelere ait patlama basıncı sonuçları kıyaslandı ve elde edilen veriler Şekil 4.46 da sunuldu.



Şekil 4.46 : % 25 (w/v) foto çapraz bağlı GelMA'dan ve değişen AlgMA konsantrasyonlarından oluşan hibrit hidrojellerin patlama basınçlarına ait bulgular.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Rejeneratif tıp uygulamaları içerisinde doku spesifik hücreler, biyomateryaller ve doku oluşumunu destekleyici uygun çevre koşulları büyük bir önem arz etmektedir. Özellikle biyoyapıştırıcı uygulamalarında biyolojik malzemelerin seçimi doku spesifik hücrelerin yaşam ve çoğalma özelliklerini etkilemektedir. Cerrahi sızdırmazlık malzemeleri, yırtılmış veya hasar görmüş dokuların kapatılması veya yeniden bağlanması için kullanılmıştır, ancak biyolojik ortamlarda gösterdikleri düşük yapışma, uygun olmayan mekanik mukavemet, sitotoksikite endişeleri ve düşük performans gibi davranışları dolayısıyla yeni nesil malzemelere duyulan klinik ihtiyaç önem arz eder hale gelmiştir.

Foto-başlatıcı sistemler sızdırmazlık malzemeleri tasarımları için kullanılmış, özellikle kolajen bazlı yapıştırıcılar için sıklıkla tercih edilmiştir. Nakayama ve diğ. (Nakayama ve Matsuda 1999, Li ve ark 2003, Okino ve ark 2002) doku yapıştırıcıları ve ilaç verme sistemleri araştırmaları için jelatinler hazırlamışlar ve bu malzemeleri sadece UV radyasyonu ile değil aynı zamanda görünür ışıqla da aktive etmişlerdir. Foto-sertleştirilebilir yapıştırıcılar elde etmek için sığır kemiklerinden elde edilen jelatinler, poli (etilen glikol) diakrilat ve bir tuz çözeltisi ile kombinasyondan önce kısmen bir UV foto-reaktif grubu (benzofenon) ile türevlendirilmiştir. Bu jelatin tutkalları, kolajen filmlerin üzerine kaplanmış ve bir cıva lambası (puls $t = 60$ s, $P = 5$ mW cm^{-2}) veya bir eksimer lazer ($\lambda = 248$ nm) ile ışınlanmıştır. Bu yöntem ile oluşturulan tutkal malzeme, sırasıyla 1.5 ve 68 kPa'lık kuvvetlere ulaşan fibrin ve siyanoakrilat yapıştırıcılarına kıyasla tatminkar bir yapışma mukavemeti (12 kPa) göstermiştir. Histolojik inceleme karaciğer hemostazı üzerinde yapılmış ve tutkalın, enflamatuar hücrelerin infiltrasyonu ve çevresindeki dokuda nekrotik hasar olmadan yavaş yavaş bozunduğunu gösterilmiştir.

Aynı zamanda fosfat tampon çözeltisi kullanılarak stiren türevi jelatin ve poli (etilen glikol) diakrilat (PEGDA) gözle görülebilir bir ışık ile aktive edilmiş ve bu şekilde yapıştırıcı malzemeler hazırlanmıştır. Bu tutkal, insizyonlu karın aortalarına sıçanlarda uygulanmış ve görünür ışıqla (400 << 500 nm) 1 dakika ışınlama gerçekleştirilmiştir. Hemostaz komplikasyonsuz tamamlanmış ve jel, tedaviden sonraki 4 hafta içinde in vivo prosedürlere uygunluğunu gösteren kademeli olarak bozulmuştur.

2017 yılında cerrahi uygulamalar için oldukça elastik insan proteini bazlı bir sızdırmazlık maddesi geliştirmişlerdir. Bu çalışmalarında rekombinant insan proteini tropoelastini foto-çapraz bağlayarak ayarlanabilir yapışma özelliklerine sahip biyo-uyumlu ve oldukça elastik bir hidrojel sızdırmazlık maddesi tasarlamışlardır. Kemirgenlerde metakrilil ile ikame edilmiş tropoelastin (MeTro) sızdırmazlık maddesinin derialtı implantasyonu düşük toksisite ve kontrollü bozulma göstermiştir (Annabi ve diğ. 2017).

Yine aynı grup (Sani ve diğ. 2019) tarafından 2019 yılında yayınlanan bir çalışmada doğal olarak elde edilen biyo-yapışkan hidrojeller kullanılarak kornea yaralanmalarının dikişsiz onarımı açıklanmıştır. Bu çalışmada görünür ışık yardımı ile çapraz bağlanabilir, GelCORE (kornea rejenerasyonu için jel, GelMA) kullanılarak kornea rekonstrüksiyonu için oldukça biyo-uyumlu ve şeffaf bir biyo-yapışkan polimer geliştirilmiştir. GelCORE'un fiziksel özellikleri, prepolimer konsantrasyonunu ve foto çapraz bağlama zamanını değiştirerek hassas şekilde ayarlanabilmiştir. GelCORE, ticari yapıştırıcılara kıyasla daha yüksek doku adezyonu ortaya koymuştur.

Çalışmamızda hazırlanan hibrit biyopolimerler, her ikisi de metakrilik anhidrid ile yapılan kolay bir reaksiyon yoluyla vinil gruplarla modifiye edilmiş, yaygın olarak kullanılan iki biyo-uyumlu biyo-polimer, jelatin ve aljinattan oluşturulmuştur. Metakrilik / metakrilil grupları, biyopolimer çözeltisinin minimal invaziv çapraz bağlanması için foto-başlatıcılar gibi geniş bir başlatıcı yelpazesi kullanılarak aktive edilmiştir. Doku çevresindeki biyopolimerler arasındaki potansiyel etkileşimler, Şekil 5.1 de sunulmuştur. GelMA ve AlgMA, vinil grupların fotoaktif reaksiyonu yoluyla birbirlerine çapraz veya kovalent olarak bağlanabilirler; biyoyumlu bir mikro ortam sağlayabilirler. Bu biyopolimerler üzerindeki MA grupları ayrıca doku yapışmasını teşvik ederek kimyasal bağlar oluşturmak üzere dokudaki amin gruplarıyla da reaksiyona girebilirler. Doku-biyopolimer ara biriminde GelMA ve AlgMA arasında doku yapışmasını güçlendiren hidrojen bağları da oluşturulabilir. Önemli olarak, kalsiyum iyonları fiziksel olarak AlgMA'yı çapraz bağlarlar ve bu da yumurta kutusu adı verilen yapısını oluşturur (Li ve ark 2007).

Çapraz bağlanmış ön ve son hidrojellerin ^1H NMR spektrumu Şekil 4.1'de gösterilmiştir. GelMA ve AlgMA için metakrilasyon derecesi sırasıyla % ~ 64 ve % 19 olarak belirlenmiştir. Gölge alanındaki tepe noktaları, ana bileşenlerin, jelatin ve aljinatın metakrilasyonunu yansıtır. Aljinat için düşük konjugasyon derecesi jelatine kıyasla yapısal karmaşıklığına bağlanabilir.

GelMA ve AlgMA için MA gruplarının ~% 53 ve % 49 çapraz bağlanması, hidrojellerin görünür ışık ile 4 dakika boyunca kürlenmesi sonucu gözlenmiştir. ^1H NMR spektrumlarında, akrilik gruplarla ilgili normalleştirilmiş vinil hidrojen yoğunluğu, foto kaynaklı çapraz bağlama sebebi ile azaldığı gözlenmiştir. Çapraz bağlanma derecesi, referans olarak metil tepe noktaları dikkate alındığında çift bağ proton tepe noktalarının (vinil) birleştirilmesiyle hesaplandı (Wang ve diğ. 2017, Boddupalli ve Bratlie 2018). Yaklaşık % 65 olarak bulunan hibrid hidrojel için çapraz bağlanma yüzdesi farklı prosedür kullanılarak hesaplanmıştır.

Dünyanın en bol bulunan biyopolimerlerinden ikisinden gerilebilir, sert bir sızdırmazlık maddesi geliştirmek için GelMA ve AlgMA'yı sabit bir GelMA konsantrasyonunda (% 20 w/v) birleştirdik. GelMA, önceki çalışmalarımıza dayanarak seçildi ve enjekte edilebilir bir ön jel çözeltisi sağlarken en iyi sızdırmazlık performansını elde etmek için en iyi GelMA konsantrasyonunu belirlendi (Sani ve ark 2019). AlgMA konsantrasyonunun hibrid hidrojellerin fiziksel özellikleri üzerindeki etkisini inceledik. GelMA hidrojel ile çekme gerilmesi altında hibrid GelMA-AlgMA hidrojel arasındaki görsel fark Şekil 4.3 te gösterilmiştir. Gerilimin sadece % 40'ı orta panelde görülen GelMA hidrojelini kırabilir; bununla birlikte, GelMA'ya sadece % 2 AlgMA eklenmesi, foto çapraz bağlama ve ardından hibrid hidrojelin iyon aracılı fiziksel çapraz bağlanması ile, kırılma deformasyonunu % 40'dan % 80'e çıkarır. Hibrit hidrojeller için gerilme-gerinim eğrilerinin örnekleri, Şekil 4.4 de gösterilmiştir. Çekme gerilimi, hidrojel kırılana kadar gerilme arttıkça doğrusal olarak artar. Şekil 4.5 te kopma sırasındaki çekme gerilmesi, AlgMA konsantrasyonunun % 2-3'e (w/v) yükseltilmesi ile, hibrit hidrojellerin nihai gerilmesini (gerilebilirliği) % 100 arttırdığını göstermektedir. Daha fazla artan AlgMA konsantrasyonu, muhtemelen artan kırılma dayanıklılığın bir sonucu olarak gerilebilirliği azaltır. Artan kırılma dayanıklılığı, çapraz bağlanma düğümleri arasındaki polimer zincirlerinin uzunluğunu azaltarak artan kimyasal çapraz bağlanma yoğunluğunun bir sonucu olabilir. Kısaltılmış zincir büyüklüğü, kırılma enerjisinin azalmasına neden olur (Sun ve diğ. 2012).

Şekil 4.7 de gösterilen gerilme (Young) modülü, artan çapraz bağlanma yoğunluğunun bir sonucu olarak AlgMA konsantrasyonunu artırarak sürekli olarak artar. % 3 AlgMA'da, Young modülü, AlgMA yokluğunda modülün ~ 3 katıdır. Gerilme kuvveti, yani kopmadaki çekme gerilmesi, gerilme gerinimine benzer bir davranış sergiler. Şekil 4.6 da farklı AlgMA konsantrasyonları içeren hibrid hidrojellerin gerilme mukavemetini sunulmuştur. AlgMA

konsantrasyonunun artırılması, % 2-3'lük bir AlgMA konsantrasyonundaki gerilme kuvvetini 3 kat artırırken, yüksek AlgMA konsantrasyonları (>% 3) gerilme dayanımını önemli ölçüde azaltır. Şekil 4.8 de, çekme gerilmesi-gerinim eğrilerinin altındaki alandan elde edilen hibrit hidrojenlerin dayanıklılığını göstermektedir. İlginç bir şekilde, AlgMA konsantrasyonunu % 2-3'e yükselterek dayanıklılık önemli ölçüde artar. Bu AlgMA konsantrasyonunda, hibrit hidrojenlerin dayanıklılığı GelMA hidrojeninin % 300'ünden fazladır. AlgMA konsantrasyonunu % 3'ten daha fazla artırmak, hibrit hidrojenlerin dayanıklılığını önemli ölçüde azaltır. % 5 AlgMA'da, hibrit hidrojenler, hidrojenlerin artan kırılabilirliği ve zayıflatılmış gerilebilirliği nedeniyle AlgMA içermeyen bir hidrojenine çok benzer dayanıklılığa sahiptir.

Biyo-yapışkan malzemelerin bir diğer önemli özelliği de, sıkıştırmaya karşı dirençleridir. Uygun bir biyo-yapışkan basınç stresine karşı dayanmalı ve kırılmamalıdır. Stres koşma gibi günlük aktivitelerden veya bir nesneye vurmak gibi istenmeyen olaylardan kaynaklanabilir. Ayrıca, GelMA hidrojeninin mekanik özellikleri, GelMA konsantrasyonu ve görünür ışığa maruz kalma süresi değiştirilerek düzenlenebilir. Schuurman ve diğ. (2013), GelMA hidrojeninin sıkıştırma modülünün, GelMA konsantrasyonunun veya görünür ışığa maruz kalma süresinin artmasıyla daha büyük olduğunu, ancak sıkıştırma modülünün ve konsantrasyonunun, güç yasası ilişkilerinde olduğunu ve zamanla üstel bir ilişki içinde olacağını göstermişlerdir. Şekil 4.9 da, GelMA hidrojeninin ve hibrit GelMA-AlgMA hidrojeninin sıkıştırma sonrası görüntüleri sunulmuştur. GelMA hidrojen, sadece % 50 gerginlikte ağır mekanik hasara uğrar, oysa % 2 AlgMA içeren hibrit hidrojen, 3 kat daha yüksek sıkıştırma stresine dayanır ve bütünlüğünü % 80'den daha fazla gerginlikte tutabilir. GelMA'nın mekanik özelliklerinde dikkat çekici bir gelişme, özellikle rejeneratif, sert hücre yüklü iskeleler geliştirmek için geniş bir biyomedikal uygulama yelpazesinde ilgi çekici olabilir. Şekil 4.10 da, hibrit hidrojenler için sıkıştırma gerilimi eğrilerinin örnekleri sunulmuştur. Bu şekilde görülebileceği gibi, belirli bir türde, bir hibrit hidrojenin basınç stresi, AlgMA konsantrasyonu arttıkça artar. Şekil 4.11 de, hidrojenlerin kopmadan önce dayanabilecekleri maksimum gerilme olarak tanımlanan basınç dayanımını AlgMA konsantrasyonuna karşı gösterimi sunulmuştur. AlgMA konsantrasyonunu artırmak, basınç dayanımını sürekli olarak artırır. Benzer şekilde, hibrit hidrojenlerin sıkıştırma modülü, AlgMA konsantrasyonu arttıkça artar (Şekil 4.12). Hibrit hidrojenlerin artan sertliği esas olarak GelMA ve AlgMA biyopolimerleri arasında kovalent bağlanmanın bir sonucudur. Şekil 4.13 te, hibrit hidrojenlerin döngüsel sıkıştırılması gösterilmiştir. AlgMA konsantrasyonunun artırılması,

AlgMA'nın Ca^{2+} çapraz bağlı G bloklarının çözülmesinin ve yumurta kutusu yapısında fiziksel bağların yeniden kurulmasının bir sonucu olarak hidrojellerin basınç histerezini (zamana bağlı uzun süreli etkiler) arttırır. Sıkıştırma histerezis eğrisinin içindeki alandan elde edilen Şekil 4.14 de gösterilen enerji kaybı, AlgMA konsantrasyonu % 2-3 w/v olduğunda GelMA hidrojel için ~% 15 den % 45'e yükselir.

Şekil 4.15, 4.16 ve 4.17 de değişen AlgMA konsantrasyonlarını içeren hibrid hidrojellerin reolojik özellikleri gösterilmiştir. Osilasyon frekansında küçük açılı osilasyon reolojisi ile ölçülen hibrid hidrojellerin depolama modülü (G' , Şekil 4.15) ve kayıp modülü (G'' , Şekil 4.16) ve $\sim 1 \text{ rad s}^{-1}$ deki gerilme ve ~% 0.1 gerilme sürekli olarak artan AlgMA konsantrasyonunun bağlı olarak artmıştır. AlgMA'nın etkisi, büyük olasılıkla G blokları arasındaki Ca^{2+} aracılı fiziksel bağların geri dönüşümlü bir şekilde bozulmasının bir sonucu olarak geliştirilmiş enerji dağılımından dolayı, kayıp modülleri üzerinde daha belirgindir. $G'' - G'$ oranı olarak tanımlanan kayıp faktörü ya da sönümlleme faktörü (Şekil 4.17), hibrid hidrojellerin katı benzeri bir davranış sergilemesine karşın, örneğin kayıp faktörü $\ll 1$, AlgMA konsantrasyonunun arttırılması, düşük osilasyonlu bir gerilimde artan enerji dağılımı sonucu kayıp faktörünü sürekli olarak arttırır. Viskoelastik modüller, salınımlı kayma gerinimine (açısal frekansta $\sim 1 \text{ rad s}^{-1}$) ve GelMA'dan (% 20 w/v) oluşan hibrit hidrojeller için açısal sıklığa (salınımlı kayma geriliminde ~% 0,1) ve değişken AlgMA konsantrasyonlarından oluşur. Şekil 4.18, 4.19, 4.20 ve 4.21 de gösterilmiştir. Hibrit hidrojellerin mekanik özelliklerinde iyileşmenin katı içeriğin artmasının bir sonucu olmadığını bu sonuçlar ile desteklenmiştir.

Hibrit hidrojellerin fiziksel özellikleri, özellikle şişme ve bozulma davranışları, dokuları kapatma ve doku yenilenme sürecini destekleme potansiyellerini değerlendirmede önemlidir. Çapraz bağlanma sonrası yüksek bir şişme oranı doku-hidrojel arayüzüne uygulanan kaçınılmaz strese yol açarak yapışan jelin delaminasyonuna neden olabilir. Şekil 4.22 de, 37°C 'de DPBS'de inkübasyon süresine karşı hibrit hidrojellerin şişme kinetiğini gösterilmiştir. AlgMA konsantrasyonundan bağımsız olarak, hibrid hidrojeller çapraz bağlanma sonrası yaklaşık 4 saat içinde denge şişmelerine ulaşır. Şekil 4.23 te, DPBS'de 4 saatlik inkübasyondan sonra hidrojellerin denge şişme oranları gösterilmiştir. AlgMA konsantrasyonunun arttırılması, AlgMA konsantrasyonu yaklaşık % 3 olduğunda, AlgMA içermeyen GelMA için şişme oranını ~% 5'ten % 20'ye yükseltir. Hibrid hidrojellerin, in vivo olarak kolajen parçalanmasından sorumlu ana enzimlerden biri olan kolajenaz varlığında bozulması değerlendirilmiştir. Çapraz

bağlanma sonrası 5 hafta içinde hibrid hidrojellerin enzim aracılı bozunumunun kinetiği Şekil 4.24 te sunulmuştur. Kolajenaz varlığında (1.25 U / mL), tüm hidrojeller zamanla bozulmaya uğramaktadır. Düşük AlgMA konsantrasyonlarında ($\leq$ % 2), 1 haftada, hidrojellerin% 40'ından fazlası bozunmuş ve 5. haftada% 20'sinden azı kalmıştır. Kolajenaz çözeltisinde 5 haftalık inkübasyondan sonra hidrojellerin bozulması Şekil 4.25 te gösterilmiştir. AlgMA konsantrasyonunun arttırılması, % 4-5 AlgMA olduğunda, hidrojellerin bozulma oranını AlgMA yokluğunda ~% 90'dan % 40'a düşüğü gözlenmiştir. AlgMA konsantrasyonu % 2'den az olduğunda, hibrid hidrojellerin bozulmasında GelMA'nın bozulmasına kıyasla önemli bir değişiklik olmamaktadır.

Hibrid hidrojellerin yapışkan özellikleri, standart doku adezyon protokolleri kullanılarak değerlendirildi. Şekil 4.26 da, bir kolajen tabakasını örten iki özel yapım bölmeden oluşan in vitro patlama basıncı düzeneği sunulmuştur. Kolajen tabaka, bir yarayı taklit etmek için delikli hale getirilmiştir ve ön-jel çözeltisi, bu tabaka üzerine otomatik pipet yardımı ile konmuş, ardından yapay deliği kapatarak bir biyo-yapışkan jel oluşturmak için görünür ışığa maruz bırakılmıştır. Hidrojellerin deliği sızdırmaz hale getirme kabiliyeti, havanın girmesi ve sızdırmazlık maddesi zarar görene ve/veya ayrılncaya kadar basıncı ölçerek değerlendirilmiştir. Patlama basıncı deneylerinden elde edilen süreye karşı temsili basınç profilleri Şekil 4.27 de sunulmuştur. Hava, sızdırmaz deliğin altına girerken, sızdırmazlık maddesi zarar görene kadar basınç lineer olarak yükselmiş ve sonrasında ani bir basınç düşmesine neden olduğu gözlenmiştir. Basınç düşüşü, hibrit hidrojelin bileşimine bağlı olarak sızdırmazlık maddesi mekanik arızası ya da delaminasyonunun sonucu olup olmadığı ile ilgili bir sonuçtur. AlgMA içermeyen sızdırmazlık maddesi esas olarak mekanik hasar nedeniyle başarısız olmuş, AlgMA'nın % 3'ü GelMA'ya eklendiğinde, başarısızlık şekli delaminasyona uğradığı görülmüştür. GelMA'ya düşük bir AlgMA konsantrasyonu eklemek, hidrojellerin mekanik özelliklerini geliştirmiştir. AlgMA konsantrasyonuna karşı hibrid hidrojellerin patlama basıncı Şekil 4.28 de sunulmuştur. AlgMA konsantrasyonunu % 2-3'e çıkarmak, patlama basıncını sürekli olarak arttırmıştır. % 3 AlgMA içeren hibrid hidrojeller, AlgMA içermeyen jelden yaklaşık 2,5 kat daha yüksek patlama basıncına sahip olarak bulunmuştur. Önemli olarak, AlgMA konsantrasyonunu % 3'ün üzerine çıkarmak, patlama basıncını olumsuz yönde etkilemiş ve hibrid jellerin oluşturulan yaranın kapatılmasındaki performansını düşürdüğü görülmüştür. Çünkü hibrid hidrojellerin AlgMA içeriğindeki aşırı artış, gevrekliği arttırmış ve doku yapışmasını azaltmıştır.

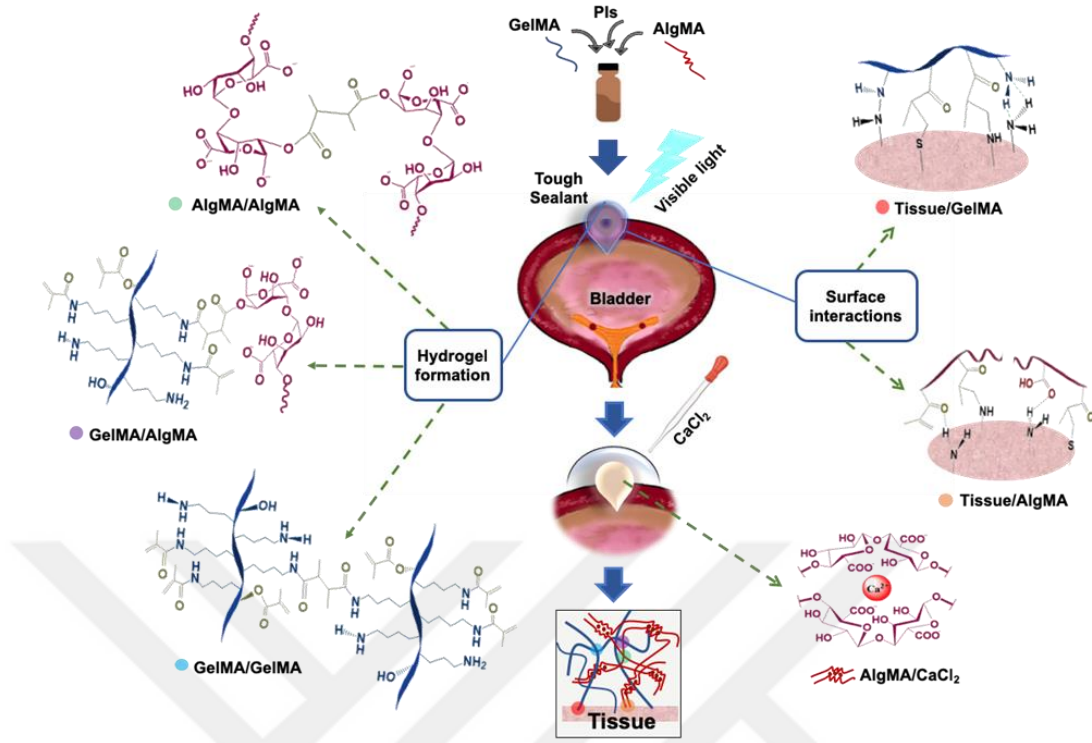
Sızdırmazlık maddesi hidrojjelleri kullanılarak yapıştırılan yırtık domuz derisi üzerinde gerilme deneyleri yapılarak gerçekleştirilen yara kapatma deneylerinin şematik gösterimi Şekil 4.29 da sunulmuştur. Temsili çekme gerilimi eğrileri, Şekil 4.40 da gösterilmiştir. Patlama basıncı deneylerine benzer şekilde, AlgMA yokluğunda veya bu biyopolimerin konsantrasyonu % 3'ten yüksek olduğunda, sızdırmazlık maddesi tipik olarak mekanik bir arızayı gösteren parçalanır (dökme malzeme); bununla birlikte, % 2-3 AlgMA'da, başarısızlık temel olarak domuz derisinden hidrojel ayrılmasından, yani arayüzey delaminasyonundan kaynaklanmaktadır. Sızdırmazlık maddesinin başarısızlıktan önce tolere edebileceği maksimum baskı olarak tanımlanan yara kapanma kuvveti, Şekil 4.31 de gösterilmektedir. AlgMA'nın hibrit hidrojjellerin yara kapanma kuvveti üzerindeki etkisi patlama basıncına benzer. Yara kapanma dayanımının maksimuma çıkarıldığı, tipik olarak % 2-3 aralığında olan ve yara kapanma gücünde % 250 den fazla iyileşme sağlayan optimum bir AlgMA miktarı vardır.

Gerilebilir organların sızdırmazlığını simüle etmek için domuz mesanesi ve üreter üzerinde ex vivo sızdırmazlık deneyleri yapıldı. Elle perforasyona tabi tutulan bir ex vivo domuz mesanesinde, hibrit ön-jel solüsyonlarının yara üzerine konmasını, görünür-ışık aracılı çapraz bağlanmasını, CaCl_2 eklenmesini ve DPBS ile doldurulmasını Şekil 4.33 te ayrıntılı olarak gösterdik. Kapalı mesanenin dayanabileceği basınç, Şekil 4.34 'de sunulmaktadır. Bu şekilde görülebileceği gibi, hibrit hidrojjellerin bileşimi patlama basıncı üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir. AlgMA içermeyen sızdırmazlık maddesi, AlgMA konsantrasyonunu % 2'ye yükselterek > 5 kPa'ya yükselen ~ 2 kPa bir patlama basıncı sağlar. AlgMA konsantrasyonundaki % 5'lik artış, patlama basıncını AlgMA içermeyen hidrojel ile karşılaştırılabilir bir değere düşürür. AlgMA'nın ex vivo patlama basıncı üzerindeki etkisi, gerilme dayanımı, tokluk ve yara kapama dayanımı üzerindeki benzerdir.

Ayrıca, hibrit hidrojjellerin üreter gibi iki yırtık doku parçasını birleştirmedeki yetenekleri de değerlendirilmiştir. Sütür gibi konvansiyonel üreter anastomoz teknikleri zor olsa da, hibrid hidrojjeller iki parça kesim üreteri bir araya getirmek ve bunları foto çapraz bağlama ve ardından Ca^{2+} ile yapıştırmak için kolayca kullanılabilir. Anastomozlu üreterler çekme testleri (Şekil 4.35) ile incelenmiş ve değişen miktarlarda AlgMA içeren hibrid hidrojjeller için çekme yüküne karşı uzama eğrileri elde edilmiştir (Şekil 4.36). AlgMA yokluğunda veya AlgMA konsantrasyonu % 3'ten yüksek olduğunda, sızdırmazlık maddesi zayıf mekanik özelliklere, örneğin kırılma dayanımına bağlı olarak gerilme baskısı altında yırtılmıştır. Optimum bir AlgMA

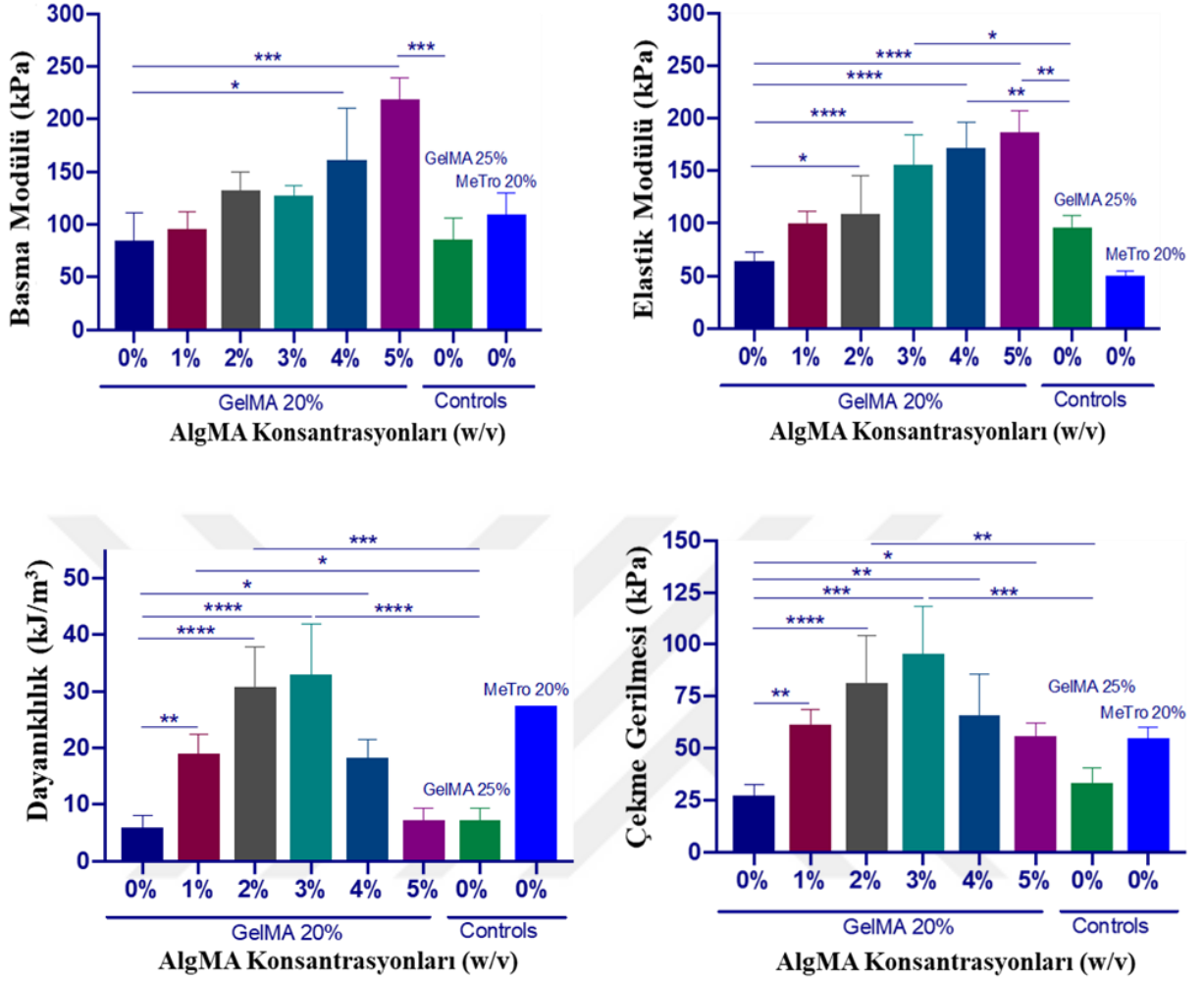
konsantrasyonunda (% 2), sızdırmazlık maddesi mekanik hasarlara maruz kalmaz ve gerilme kuvvetinde AlgMA içermeyen sızdırmazlık maddesinden 6 kat daha yüksek bir gerilme kuvvetinde, hibrit sızdırmazlık maddesi dokudan ayrılmaktadır. Arıza modu, fiziksel olarak çapraz bağlanmış AlgMA'dan kaynaklanan ve hidrojel dayanıklılığını arttıran az miktarda AlgMA eklendiğinde, GelMA hidrojelinin mekanik özelliklerinde önemli bir iyileşme göstermektedir. Şekil 4.37 de, AlgMA konsantrasyonuna karşı yapışma başarısızlık kuvvetini gösterilmiştir. AlgMA içermeyen sızdırmazlık maddeleri için başarısızlık kuvveti $\sim 0,2$ N iken, hibrit GelMA-AlgMA (% 2) sızdırmazlık maddesinin başarısızlığı ~ 0.8 N'de meydana gelmiş, gerilme bozulmasına karşı esnekliğinde dört kat artış olduğu gözlenmiştir (~ 0.4 N % 5 AlgMA). Gerilme yükü uzama eğrilerinin altındaki alana göre ölçülen hata enerjisi (Şekil 4.38), AlgMA içermeyen jel ve hibrid hidrojin başarısızlık enerjisine sahip olduğunu gösterirken <0.005 J, optimum AlgMA konsantrasyonuna sahip hibrit hidrojel (% 2) üreterden ayırmak için 0.01 J'den daha fazla enerjiye ihtiyaç duymaktadır. Hibrit hidrojellerin sızdırmazlık özelliklerinde meydana gelen gelişme, artan katı içeriğinden kaynaklanmamaktadır.

Yeni kompozit doku sızdırmazlık maddelerinin sitotoksitesisi, hidrojeller üzerindeki 2D NIH / 3T3 fibroblast kültürü kullanılarak değerlendirildi. Şekil 4.39 da (f-g), % 0, % 2 ve % 5 AlgMA içeren kompozit hidrojeller üzerinde 3 ve 7 gün boyunca kültürlenmiş canlı (yeşil) ve ölü (kırmızı) hücrelerin floresan görüntüleri sunuldu. Kontrole kıyasla (% 0 AlgMA), GelMA hidrojellerine AlgMA ilavesinin hücre canlılığı üzerinde önemli bir etkisi görülmedi. Fibroblast hücreleri kompozit hidrojellere başarılı bir şekilde yapıştı, çoğaldı ve kültür süresi boyunca yaşayabildi. Şekil 4.40 da, canlı/ölü görüntülerin ImageJ kullanılarak analiz edilmesiyle ölçülen hücre canlılığı gösterildi. Hücre canlılığı, kontrol hidrojeline benzeyen % 5 AlgMA'ya sahip kompozit hidrojeller için $> \% 90$ olarak kaldı. 1, 3 ve 7. günlerde kompozit hidrojeller üzerine tohumlanan hücrelerin metabolik aktivitesi, şekil 4.41'de sunuldu. Her bir gün birbiri ile kıyaslandığında, % 0-5 AlgMA içeren hidrojellere yapışan hücrelerin metabolik aktiviteleri arasında anlamlı bir fark görülmedi. 3. ve 5. günlerde, hücrelerin metabolik aktivitesi, hidrojel bileşiminden bağımsız olarak, sırasıyla 1. güne kıyasla > 2 ve > 4 'lük bir faktör kadar artar. Buna göre, sadece kompozit hidrojeller sitotoksik değildir, aynı zamanda yara iyileşme süreçleri sırasında iki önemli fenomen olan hücre yapışmasını ve büyümesini desteklerler.



Şekil 5.1 : Foto / iyonik çapraz bağlanma ve doku adezyonu geçiren GelMA-AlgMA hibrit hidrojelinin şeması.

Hem AlgMA hem de GelMA, foto-başlatılmış metakrilat/metakriloil (MA) gruplarının polimerizasyonu boyunca kovalent çapraz bağlanır. AlgMA'da, polimer zincirlerindeki G blokları, tersinir şekilde çapraz bağlanmış bir ağ temin eden Ca^{2+} ile iyonik bağlar oluşturur. Çapraz bağlanma hibrid GelMA / AlgMA hidrojelleri, AlgMA'nın Ca^{2+} aracılı fiziksel bağları ile takviye edilmiş kovalent bağlarla (MA grupları aracılığıyla) iç içe ve birbirine bağlanmış iki tip polimer ağı verir. GelMA, amin bakımından zengin biyolojik dokular ile hidrojen bağlarının oluşumu ve ayrıca amin-MA ve tiyol-MA gruplarının kovalent bağlanması yoluyla etkileşime girebilir. AlgMA, hidrojen bağı, kovalent bağı ve/veya karboksilat ve amino grupları arasındaki elektrostatik etkileşimler yoluyla doku ile etkileşime girebilir.



Şekil 5.2 : GelMA/AlgMA biyo-yapıştırıcı ile MeTro arasındaki mekaniksel farklar.

Rekombinant bir insan proteini olan, kimyasal olarak modifiye edilmiş tropoelastine (MeTro) dayanan bir başka elastik ve biyolojik olarak parçalanabilir sızdırmazlık maddesi sınıfı yakın zamanda geliştirilmiştir (Annabi ve diğ. 2017). Bu hidrojeller, çift ağ hidrojellerinin bir kısmına kıyasla daha düşük mekanik mukavemet ve elastikiyete sahip olmasına rağmen, Evicel®, Coseal® ve Progel® gibi ticari olarak temin edilebilen sızdırmazlık maddelerine kıyasla daha yüksek doku yapışma ve elastikiyet sergilemiştir. Standart yara kapama deneyleri, MeTro'nun (w/v % 20), kırılmadan önce başlangıç uzunluğunun 2 katı kadar gerilebildiğini gösterdi; bu, in vivo olarak akciğer ve kan damarları gibi elastik dokular üzerindeki kusurlu bölgeleri kapatabilecek bir doku yapışkan hidrojelini sağladı (Şekil 5.2). MeTro'nun son derece yüksek üretim maliyeti, klinik uygulamalar için çevirisini önemli ölçüde sınırlamıştır. Buna göre, şu anda nispeten düşük bir maliyette, tercihen doğal olarak elde edilen, biyolojik olarak

    nebilen malzemelerden   retilebilen biyolojik olarak yapışabilen, biyolojik olarak parçalanabilen ve sert doku sızdırmazlık maddelerine önemli bir tıbbi ihtiyaç vardır.

Enjekte edilebilir sert doku yapıştırıcı biyomalzemelerin geliştirilmesi, özellikle dikişler veya zımbaların uygun olmadığı durumlarda, hasarlı dokuların minimal invaziv sızdırmazlığı için karşılanmamış bir klinik ihtiyaçtır. Doku m hendisliğı ve rejeneratif tıp için yaygın olarak kullanılan bir biyomateryal olan GelMA'dan ve lezyona kolayca enjekte edilebilen/pipetlenebilen ve görünür ışı  aracılı çapraz bağılanma ile dokuya yapışabilen AlgMA'dan oluşan bir hibrit biyopolimer çözeltisi geliştirilmiştir. Kimyasal olarak foto çapraz bağılanmış hibrit hidrojeller, geri dönüşümlü bir yumurta kutusu benzeri G bloğı ağı oluşturmak için Ca^{2+} gibi iki değıerli iyonlar kullanılarak fiziksel çapraz bağılanır. Kimyasal olarak çapraz bağılanmış GelMA ve AlgMA MA grupları, hibrit hidrojelin yapısal bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunurken, fiziksel çapraz bağılanma, hibrit hidrojellere gerilebilirlik ve dayanıklılık kazandıran enerjiyi stres altında dağıtan bir polimer ağı sağılar. Bu hibrit hidrojellerin sınıfı protein-polisakarit bazlı doku yapıştırıcısıdır ve GelMA bazlı doku yapıştırıcılarının mekanik zayıflığının üstesinden gelen düşük AlgMA konsantrasyonlarında (% 2-3) m kemmek sızdırmazlık özellikleri sağılar. Bu yeni hibrit hidrojellerin, özellikle günlük aktiviteler sırasında ciddi mekanik stres yaşayan zorlu organlarda dikişsiz doku sızdırmazlığını kaldırabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Alge DL. and Anseth KS., 2013, Bioactive hydrogels: Lighting the way, *Nature Materials*, 12, 950–952.
- Alsberg E., 2001, Cell-interactive alginate hydrogels for bone tissue engineering, *J Dent Res*, 80 (11), 2025-2029.
- Annabi N., 2014, 25th Anniversary Article: Rational Design and Applications of Hydrogels in Regenerative Medicine, *Advanced Materials*, 26, 85–124.
- Annabi N., 2017, Engineering a highly elastic human protein–based sealant for surgical applications, *Sci. Transl. Med.*, 9, eaai7466.
- ASTM F2392-04, 2015, Standard Test Method for Burst Strength of Surgical Sealants, ASTM International, West Conshohocken, PA, www.astm.org.
- ASTM F2458-05, 2015, Standard Test Method for Wound Closure Strength of Tissue Adhesives and Sealants, ASTM International, West Conshohocken, PA, www.astm.org.
- Bahney, C.S., 2011, Visible Light Photoinitiation of mesenchymal stem cell-laden bioresponsive hydrogels, *Eur. Cells Mater.*, 22, 43–55.
- Benton JA., 2009, Characterization of valvular interstitial cell function in three dimensional matrix metalloproteinase degradable PEG hydrogels, *Biomaterials*, 30, 6593–603.
- Birnbaum S., 1981, Covalent stabilization of alginate gel for the entrapment of living whole cells, *Biotechnol Letter*, 3 (8), 393-400.
- Boddupalli A. and Bratlie K.M., 2018, Collagen organization deposited by fibroblasts encapsulated in pH responsive methacrylated alginate hydrogels, *J. Biomed. Mater. Res. Part A.*, 106, 2934–2943.
- Chen Y.C., 2012, Functional human vascular network generated in photocrosslinkable gelatin methacrylate hydrogels, *Adv. Funct. Mater.*, 22, 2027-2039.

- Coates E.E., 2013, Photocrosslinked alginate with hyaluronic acid hydrogels as vehicles for mesenchymal stem cell encapsulation and chondrogenesis, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, doi:10.1002/jbm.a.34499.
- Coviello T., 2007, Polysaccharide hydrogels for modified release formulations, *J Control Release*, 119 (1), 5-24.
- Dadsetan C.M., 2007, Characterization of photo-cross-linked oligo[poly(ethylene glycol) fumarate] hydrogels for cartilage tissue engineering, *Biomacromolecules*, 8 (5), 1702-1709.
- Donati I., 2005, New hypothesis on the role of alternating sequences in calcium-alginate gels, *Biomacromolecules*, 6, 1031–1040.
- Draye J.P., 1998, In vitro and in vivo biocompatibility of dextran dialdehyde cross-linked gelatin hydrogel films, *Biomaterials*, 19 (18), 1677-1687.
- Drury J.L. and Mooney D.J., 2003, Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications, *Biomaterials*, 24 (24), 4337-4351.
- Duarte, A.P., 2012, Surgical adhesives: Systematic review of the main types and development forecast, *Progress in Polymer Science*, 37 (8), 1031-1050.
- Dubruel P., 2007, Porous gelatin hydrogels: 2. In vitro cell interaction study, *Biomacromolecules*, 8, 338-344.
- Dusseault J., 2005, Microencapsulation of living cells in semi-permeable membranes with covalently cross-linked layers, *Biomaterials*, 26 (13), 1515-1522.
- Eiselt P., 1999, Rigidity of two-component hydrogels prepared from alginate and poly(ethylene glycol)-diamines, *Macromolecules*, 32 (17), 5561-5566.
- Fairbanks BD., 2009, Photoinitiated polymerization of PEG-diacrylate with lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate: polymerization rate and cytocompatibility, *Biomaterials*, 30, 6702–7.

- Fedorovich, N.E. The effect of photopolymerization on stem cells embedded in hydrogels, *Biomaterials*, 30, 344–353.
- Fisher J.P., 2001, Photoinitiated polymerization of biomaterials, *Ann Rev Mater Res*, 31, 171–181.
- Hoch E., 2012, Stiff gelatin hydrogels can be photo-chemically synthesized from low viscous gelatin solutions using molecularly functionalized gelatin with a high degree of methacrylation, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 23, 2607–2617
- Hoffman A.S., 2012, Hydrogels for biomedical applications, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 64, 18–23.
- Jeon O., 2009, Photocrosslinked alginate hydrogels with tunable biodegradation rates and mechanical properties, *Biomaterials*, 30, 2724–2734.
- Kong H.J. and Mooney D.J., 2003, The effects of poly(ethyleneimine) (PEI) molecular weight on reinforcement of alginate hydrogels, *Cell Transplant*, 12 (7), 779–785.
- Koshy S.T., 2014, Injectable, porous, and cell-responsive gelatin cryogels, *Biomaterials*, 35, 2477–87.
- Kuo C.K. and Ma P.X., 2001, Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties, *Biomaterials*, 22, 511–521.
- Lee K.Y., 2000, Controlling mechanical and swelling properties of alginate hydrogels independently by cross-linker type and cross-linking density, *Macromolecules*, 33 (11), 4291–4294.
- Lee K.Y., 2001, Degradable and injectable poly(aldehyde guluronate) hydrogels for bone tissue engineering, *J Biomed Mater Res*, 56 (2), 228–233.
- Lee Y., 2015, Photo-crosslinkable hydrogel-based 3D microfluidic culture device, *Electrophoresis*, 36, 994–1001.

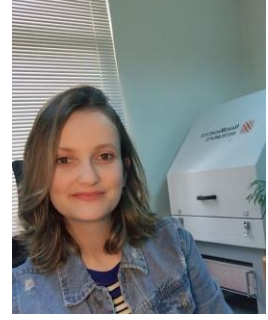
- Li C., 2003, Novel visible-light-induced photocurable tissue adhesive composed of multiply styrene-derivatized gelatin and poly(ethylene glycol) diacrylate, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 66 (1), 439–446.
- Li J., 2017, Tough adhesives for diverse wet surfaces, *Science*, 357, 378-381.
- Li L. And Fang Y., 2007, Reexamining the egg-box model in calcium– alginate gels with X-ray diffraction, *Biomacromolecules*, 8, 464–468.
- Liu Y., and Chan-Park MB., 2010, A biomimetic hydrogel based on methacrylated dextran-graft-lysine and gelatin for 3D smooth muscle cell culture, *Biomaterials*, 31, 1158–70.
- Ludwig, P.E., 2018, The potential role of bioengineering and three-dimensional printing in curing global corneal blindness, *J. Tissue Eng.*, 9, 2041731418769863.
- Luo Y. And Shoichet MS., 2004, A photolabile hydrogel for guided three-dimensional cell growth and migration, *Nature Materials*, 3, 249–253.
- Luo Y., 2000, Cross-linked hyaluronic acid hydrogel films: new biomaterials for drug delivery, *J Control Release*, 69 (1), 169-184.
- Montanaro L., 2000, Cytotoxicity, blood compatibility and antimicrobial activity of two cyanoacrylate glues for surgical use, *Biomaterials*, 22 (1), 59-66.
- Nakayama Y. and Matsuda T., 1999, Photocurable surgical tissue adhesive glues composed of photoreactive gelatin and poly(ethylene glycol) diacrylate. *J Biomed Mater Res*, 48, 511–521.
- Nguyen K.T. and West J.L., 2002, Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications, *Biomaterials*, 23 (22), 4307-4314.
- Nichol JW., 2010, Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels, *Biomaterials*, 31, 5536–44.
- Nicodemus G.D. and Bryant S.J., 2008, Cell encapsulation in biodegradable hydrogels for tissue engineering applications, *Tissue Eng Part B Rev*, 14 (2), 149-165.

- Okino H., 2002, In situ hydrogelation of photocurable gelatin and drug release, *J Biomed Mater Res*, 59, 233–245.
- Pepelanova I., 2018, Gelatin-Methacryloyl (GelMA) hydrogels with defined degree of functionalization as a versatile toolkit for 3D cell culture and extrusion bioprinting, *Bioengineering*, 5, 55.
- Ponce S., 2006, Chemistry and the biological response against immunoisolating alginate-polycation capsules of different composition, *Biomaterials*, 27 (28) (2006), 4831-4839.
- Rathi, S., 2019, Protein-based bioadhesives and bioglues, *Polymers for Advanced Technologies*, 30 (2), 217-234.
- Ribeiro C.C., 2004, Calcium phosphate-alginate microspheres as enzyme delivery matrices, *Biomaterials*, 25 (18), 4363-4373.
- Sani E.S., 2019, Sutureless repair of corneal injuries using naturally derived bioadhesive hydrogels, *Science Advances*, 5, eaav1281.
- Schmedlen R.H., 2002, Photocrosslinkable polyvinyl alcohol hydrogels that can be modified with cell adhesion peptides for use in tissue engineering, *Biomaterials*, 23 (22), 4325-4332.
- Schuurman W., 2013, Gelatin-methacrylamide hydrogels as potential biomaterials for fabrication of tissue-engineered cartilage constructs, *Macromol. Biosci.*, 13, 551–561.
- Simmons C.C.A., 2004, Dual growth factor delivery and controlled scaffold degradation enhance in vivo bone formation by transplanted bone marrow stromal cells, *Bone*, 35 (2), 562-569.
- Slaughter B.V., 2009, Hydrogels in Regenerative Medicine, *Advanced Materials*, 21, 3307–3329.
- Spotnitz, W.D. and Burks S., 2008, Hemostats, sealants, and adhesives: components of the surgical toolbox, *Transfusion*, 48 (7), 1502-1516.

- Sun, H., 2018, Architecture-transformable polymers: Reshaping the future of stimuli-responsive polymers, *Prog. Polym. Sci.*, 89, 61-75
- Sun M., 2018, Synthesis and Properties of Gelatin Methacryloyl (GelMA) Hydrogels and Their Recent Applications in Load-Bearing Tissue, *Polymers*, 10, 1290; doi:10.3390/polym10111290.
- Sun J.Y., 2012, Highly stretchable and tough hydrogels, *Nature*, 489,133.
- Thiele J., 2014, 25th Anniversary Article: Designer Hydrogels for Cell Cultures: A Materials Selection Guide, *Advanced Materials*, 26, 125–148.
- Van den Bulcke, A.I., 2000, Structural and rheological properties of methacrylamide modified gelatin hydrogels, *Biomacromolecules*, 1, 31–38.
- Wang Z., 2017, Comparative study of gelatin methacrylate hydrogels from different sources for biofabrication applications, *Biofabrication*, 9, 44101.
- Wei H.L., 2005, Gel formation and photopolymerization during supramolecular self-assemblies of alpha-CDs with LA–PEG–LA copolymer end-capped with methacryloyl groups, *Eur Polym J*, 41 (5), 948-957.
- West J.L., 2011, Protein-patterned hydrogels: Customized cell microenvironments, *Nature Materials*, 10, 727–729.
- Yang L., 2018, Progress in photo-responsive polypeptide derived nano-assemblies, *Micromachines*, 9, 296.
- YÄ rr A., 2006, Effect of Ca²⁺, Ba²⁺, and Sr²⁺ on Alginate Microbeads, *Biomacromolecules*, 7, 1471-1480.
- Young S., 2005, Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules, *J. Control. Release*, 109, 256–274.
- Zhao X., 2016, Photocrosslinkable gelatin hydrogel for epidermal tissue engineering, *Adv. Healthc. Mater.*, 5, 108–118.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Rumeysa TUTAR
Doğum Yeri	ÇAN/ÇANAKKALE
Doğum Tarihi	31.10.1985
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	05452709394
E-Posta Adresi	rumeysa.tutar@istanbul.edu.tr
Web Adresi	-



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Kimya(İngilizce)
Mezuniyet Yılı	2010

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Anabilim Dalı
Programı	Fizikselkimya
Mezuniyet Yılı	2014

Makale ve Bildiriler
MAKALELER 1. Tutar R., Motealleh A. , Khademhosseini A. , Kehr N.S., "Functional Nanomaterials on 2D Surfaces and in 3D Nanocomposite Hydrogels for Biomedical Applications", ADVANCED FUNCTIONAL MATERIALS, vol.29, pp.1-29, 2019 (Link) 2. Ashammakhi N., Darabi M.A., Saltik B.Ç., Tutar R., Hartel M.C., Lee J., Hussein S.M., Goudie M.J., Cornelius M.B., Dokmeci M.R., and Khademhosseini A., 'Microphysiological Systems: Next Generation Systems for Assessing Toxicity and Therapeutic Effects of Nanomaterials', SMALL METHODS, DOI: 10.1002/smt.201900589, 2019 3. Ocak E.M., Demirci E., Kabasakal L., Aygün A., Tutar R., Araman A.O., Kanmaz M.B., "Evaluation And Comparison Of Ga-68 Dota-Tate And Ga-68 Dota-Noc Pet/Ct Imaging In Well-Differentiated Thyroid Cancer", NUCLEAR MEDICINE COMMUNICATIONS, vol.34, pp.1084-1089, 2013 (Link)

BİLDİRİLER

1. Tavafoghi M., Sheikhi A., **Tutar R.**, Jahangiry J., Khademhosseini A. , "Stretchable adhesive hydrogels for sutureless sealing of tissues", UCLA David Geffen School of Medicine, Radiological Sciences 5th Annual Research Day, Los Angeles, ABD, 16-16 Mayıs 2019, pp.44-44
2. **Tutar R.**, Türker Acar E., Ortaboy S., Ocak Demirci E.M., Sönmezoğlu K., Kabasakal L., et al., "Electrochemistry of $^{99m}\text{Tc(III)}$ DMSA and $^{99m}\text{Tc(V)}$ MDP Complexes Used for Medical Diagnostic and Radiotracers", 2nd International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies, Üsküp, MAKEDONYA, 26-30 Ekim 2016, pp.67-67
3. Sönmezoğlu K., Vatankulu B., Ocak Demirci E.M., **Tutar R.**, Pehlivanoglu H., Karayel E. , et al., "18F-fluorocholine PET/CT imaging is useful in localization of hyperfunctioning parathyroid tissue in primary hyperparathyroidism: a comparative study with ^{99m}Tc -MIBI SPECT/CT and neck ultrasonography", Annual Congress of the European-Association-of-Nuclear-Medicine (EANM) , Barcelona, İSPANYA, 15-19 Ekim 2016, pp.384-384 (Link)
4. Pehlivanoglu H., Karayel E. , Aygün A., **Tutar R.**, Kurt A., Ocak Demirci E.M., et al., "Preparation of (18F)FDOPA in a fully automated radiochemical synthesizer: a tertiary university hospital experience", Annual Congress of the European-Association-of-Nuclear-Medicine (EANM) , Barcelona, İSPANYA, 15-19 Ekim 2016, pp.544-544 (Link)
5. Karayel E. , Pehlivanoglu H., Aygün A., **Tutar R.**, Kurt A., Ocak Demirci E.M., et al., "Preparation of 18F-Fluoromethylcholine in a fully automated radiochemical synthesizer: a tertiary university hospital experience", Annual Congress of the European-Association-of-Nuclear-Medicine (EANM) , Barcelona, İSPANYA, 15-19 Ekim 2016, pp.459-459 (Link)
6. **Tutar R.**, Shalgunov V., Elsinga P.H., Sönmezoğlu K., "Automated Microfluidic Synthesis Of N-Succinimidyl 4-[18f] Fluorobenzoate: A Protein Labelling Agent", Congress of Chemists and Chemical Engineers of Bosnia and Herzegovina with international participation, Sarajevo, BOSNA HERSEK, 10-12 Ekim 2014, op.16-16
7. Tanyıldızı H., Kabasakal L., **Tutar R.**, Yılmaz S., Yeyin N., Aygün A., Ocak E.M., Öktem Y., Akkuş B., Kanmaz M.B., "Comparison Of Different Tc- 99m Mebrofenin Liver Clearance Calculation Methods Using Hepatobiliary Scintigraphy In Y-90 Microsphere Therapy Planning", Annual Congress of the European-Association-of-Nuclear-Medicine (EANM) , LYON, FRANSA, 19-23 Ekim 2013, pp.305-305 (Link)
8. Kabasakal L., Ocak E.M., **Tutar R.**, Aygün A., Atun G., Araman A.O., Kanmaz M.B., "Tc- 99m Mebrophenin Hepatobiliary Scintigraphy For Assessment Of Lobar Functional Liver Status By Liver Mebrophenin Clearance Rate In Patients Who Will Undergo Y-90-Microsphere Treatmen", Annual Congress of the European-

Association-of-Nuclear-Medicine (EANM), LYON, FRANSA, 19-23 Ekim 2013, pp.497-497 (Link)

9. Tutar R., Kabasakal L., Demirci E., Aygün A., Ocak E.M., Kanmaz M.B., "Biological Stabilization Studies Of 68ga Dota-Noc Peptide Via In Vitro Blood And Urine Samples By Using Hplc Analysis", IUPAC 44th World Chemistry Congress, İSTANBUL, TÜRKİYE, 11-16 Ağustos 2013, pp.797-797

10. Tutar R., Aygün A., Ocak E.M., Kabasakal L., Atun G., Araman A.O., Kanmaz M.B., "A Pharmaceutical Radiochemical Agent Tc-99m Bromo-Hida Kit Preparation And Quality Control Via C-18 Sep-Pak Cartridges And Thin-Layer Chromatography For Radioimaging", IUPAC 44th World Chemistry Congress, İSTANBUL, TÜRKİYE, 11-16 Ağustos 2013, pp.798-798

11. Yılmaz S. , Ekmekçioğlu Ö., Tanyıldızı H., **Tutar R.**, Ocak E.M., Aygün A., Kabasakal L., Atun G., Araman A.O., Kanmaz M.B., "Assessment Of Lobar Functional Liver Status By Liver Mebrophenin Clearance Rate Using Tc-99m Mebrofenin Hepatobiliary Scintigraphy", SNMMI Annual Meeting, Vancouver, BC, KANADA, 8-12 Haziran 2013, pp.590-590

12. Yılmaz S., Tanyıldızı H., Ekmekçioğlu Ö., **Tutar R.**, Ocak E.M., Aygün A., Kabasakal L., Atun G., Araman A.O., Kanmaz M.B., "99mtc Mebrofenin Hepatobiliyer Sintigrafi Yardımıyla Mebrofenin Klirens Hızının Hesaplanarak Lobar Karaciğer Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi", 25. Ulusal Nükleer Tıp Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 6-10 Nisan 2013, ss.15-15

13. Tanyıldızı H., Kabasakal L., **Tutar R.**, Yılmaz S., Yeyin N., Aygün A., Ocak E.M., Öktem Y., Kanmaz M.B., "Hepatobiliyer Sistem Sintigrafisinde Tc-99m Mebrofenin Kullanılarak Farklı Klirens Hesaplama Metodlarının Karşılaştırılması", 25.Ulusal Nükleer Tıp Kongresi, ANTALYA, TÜRKİYE, 6-10 Nisan 2013, ss.96-97

14. Aygün A., **Tutar R.**, Ocak E.M., Kabasakal L., Atun G., Araman A.O., Kanmaz M.B., "Radyofarmasötik 99mtc-Hida Kit'i Hazırlanması Ve Kalite Kontrol Çalışmasının Yapılması", 25. Ulusal Nükleer Tıp Kongresi, Belek-ANTALYA, ANTALYA, TÜRKİYE, 6-10 Nisan 2013, ss.15-15

15. Demirci E., Kabasakal L., Ocak E.M., Aygün A., **Tutar R.**, Decristoforo C., Kanmaz M.B., "Initial Experience Of Biological Stability And Image Timing Of 68ga Dotanoc In Somatostatin Receptor (Sstr) Expressing Organ And Tumor", 9th Annual ENETS Conference for the Diagnosis and Treatment of Neuroendocrine Tumor Disease, Copenhagen, DANIMARKA, 7-9 Mart 2012, pp.80-80