



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HYALURONİK ASİT ve ALJİNAT İÇEREN HİDROJEL DOKU
YAPIŞTIRICILARININ HAZIRLANMASI ve KARAKTERİZASYONU**

Simay Yağmur RIVAS RODRIGUEZ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU**

Kimya Anabilim Dalı

Fiziksel Kimya, Tezli Yüksek Lisans Programı

Aralık, 2024

TEZ KABUL VE ONAYI

Simay Yağmur RIVAS RODRIGUEZ tarafından, Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU danışmanlığında hazırlanan "HYALURONİK ASİT ve ALJİNAT İÇEREN HİDROJEL DOKU YAPIŞTIRICILARININ HAZIRLANMASI ve KARAKTERİZASYONU" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 23/12/2024 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU	<input checked="" type="checkbox"/>
	İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa	Kabul <input type="checkbox"/>
	Kimya Anabilim Dalı	Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ali DURMUŞ	<input checked="" type="checkbox"/>
	İstanbul Üniversitesi	Kabul <input type="checkbox"/>
	Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı	Ret
ÜYE	Doç. Dr. Melih Beşir ARVAS	<input checked="" type="checkbox"/>
	İstanbul Üniversitesi	Kabul <input type="checkbox"/>
	Kimya Anabilim Dalı	Ret



Aileme ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

HYALURONİK ASİT ve ALJİNAT İÇEREN HİDROJEL DOKU YAPIŞTIRICILARININ HAZIRLANMASI ve KARAKTERİZASYONU

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon

Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: FYL-2024-37579

TEŞEKKÜR

Lisans dönemimden bu yana yüksek lisans öğrenimim boyunca her zaman yanımda hissettiğim bana güvenen, beni her zaman motive eden, zaman ve mekan fark etmeden her zaman çalışmalarımda yardımcı olan, yol gösteren çok değerli danışman hocam **Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU**'na sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Engin bilgi ve tecrübelerini, zaman ve mekan gözetmeden her koşulda paylaşan, bana yol gösteren, hatalarımı gösterip daha iyi olmam için yönlendiren, destek veren, her zaman beni sıkılmadan dinleyen kıymetli hocam **Prof. Dr. Yasemin ÇİMEN MUTLU**'ya sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans sürecimin her anında hep yanımda olan, pozitif bakış açısı ve enerjisiyle beni her zaman düştüğüm yerden kaldıran, bana hem yol arkadaşı hem de bir hoca olan canım arkadaşım **Dr. Elif YÜCE**'ye çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında mekanik analizlerimi yürütebilmem için bana laboratuvarını açan ve deneylerimi tamamlamamı sağlayan **Dr. Öğr. Üyesi Esra SU**'ya, hücre kültürü deneylerim için bana bilgilerini aktaran ve deneylerimde destek olan **Alime SARIKAYA**'ya, antimikrobiyal aktivite analizlerim için bana destek veren **Prof. Dr. Mehmet Burçin MUTLU** ve **Suat SEZEN**'e, çalışmalarım süresince maddelerimi kurutmam için laboratuvar altyapısını kullanmama olanak sağlayan **Dr. Banuay COŞKUN**'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her alanında sevgilerini ve desteklerini hissettiğim, bana her zaman inan ve güvenen, beni bugünlere getiren, hayatı öğreten, isteklerime ve hayallerime ulaşmaya çalışırken yanımda olan **canım annem Şenay TATLİCAN KÖKEN**'e, **babam Mahir KÖKEN**'e ve **biricik kardeşim Ali Rüzgar KÖKEN**'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Desteğini her zaman hissettiğim, bana sevgi ve anlayışını esirgemeyen her zaman yanımda olan kıymetli eşim **Pedro RIVAS RODRIGUEZ**'e sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimimde 24 ay boyunca 2210-A kapsamında eğitim bursu sağlayarak beni destekleyen *Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBİTAK)*'a desteği için teşekkür ederim. Tez sürecimi FYL-2024-37579 numaralı BAP projesi kapsamında mali olarak destekleyen *İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü*'ne teşekkür ederim.

Aralık 2024

Simay Yağmur RIVAS RODRIGUEZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TABLO LİSTESİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE.....	3
2.1. DERİ	3
2.1.1. Deri Kayıpları ve Yaralar	4
2.2. YARA İYİLEŞMESİ	6
2.2.1. Hemostaz	7
2.2.2. İnflamasyon	8
2.2.3. Proliferasyon.....	8
2.2.4. Dokunun Yeniden yapılanması	9
2.3. YARA ÖRTÜLERİ.....	9
2.3.1. Geleneksel Yara Örtüleri	10
2.3.2. Modern Yara Örtüleri	10
2.3.3. İdeal Yara Örtülerinin Sahip Olması Gereken Özellikler.....	11
2.4. HİDROJELLER	12
2.4.1. Hidrojellerin Yara Örtüsü Olarak Kullanımı	13
2.4.2. Hidrojellerin Hazırlanması	17
3. YÖNTEM	19
3.1. KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER VE CİHAZLAR	19

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	19
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	19
3.2. DENEYSEL YÖNTEM	19
3.2.1. Aljinat Metakrilat (AlgMA) Sentezi	19
3.2.2. Hyaluronik Asit Metakrilat (HAMA) Sentezi	20
3.2.3. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Hazırlanması	20
3.2.4. AlgMA ve HAMA Biyopolimerlerinin Kimyasal Karakterizasyonu	22
3.2.5. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Kimyasal Karakterizasyonu	23
3.2.6. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Yapısal Karakterizasyonu	23
3.2.7. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Fiziksel Karakterizasyonu.....	23
3.2.8. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Antibakteriyel Aktivitelerinin İncelenmesi	24
3.2.9. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Toksikite Özelliklerinin İncelenmesi	25
3.2.10. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin <i>In Vitro</i> Yara İyileştirme Özelliklerinin İncelenmesi	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. AlgMA ve HAMA BİYOPOLİMERLERİNİN KARAKTERİZASYON BULGULARI	27
4.1.1. ¹ H NMR Analizi Sonuçları	27
4.1.2. FTIR Analizi Sonuçları	28
4.2. AlgMA-HAMA HİBRİT HİDROJELLERİNİN KARAKTERİZASYON BULGULARI.....	29
4.2.1. FTIR Analizi Sonuçları	29
4.2.2. Mekanik Dayanım Testi Sonuçları	30
4.2.3. Şişme Kapasitesi Sonuçları	32
4.2.4. Yüzey Özellikleri Sonuçları	32
4.2.5. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	35
4.2.6. Sitotoksikite Analizi Sonuçları	36
4.2.7. <i>In Vitro</i> Yara İyileşmesi Analizi Sonuçları	37
5. TARTIŞMA.....	39
5.1. AlgMA ve HAMA BİYOPOLİMERLERİNİN YAPISAL KARAKTERİZASYON SONUÇLARI.....	39
5.1.1. FTIR ve ¹ H NMR Analizleri Sonuçları	39
5.2. AlgMA-HAMA HİBRİT HİDROJELLERİNİN KARAKTERİZASYON SONUÇLARI.....	40
5.2.1. FTIR Analizleri Sonuçları	40

5.2.2. Mekanik Dayanım Analizleri Sonuçları	40
5.2.3. Şişme Kapasitesi Sonuçları	41
5.2.4. Yüzey Özelliklerinin İncelenmesi	42
5.2.5. Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi	42
5.2.6. Toksikite Özelliklerinin İncelenmesi	42
5.2.7. <i>In Vitro</i> Yara İyileştirme Özelliklerinin İncelenmesi	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
KAYNAKLAR	46
EKLER	51
EK 1. Şişme Kinetiğinin İncelenmesi	51
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	52
ETİK KURUL İZİN YAZISI	53
KURUM İZİN YAZILARI	54
ÖZGEÇMİŞ	55

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1 Akut Yaraların İyileşme Süreci (BioRender ile hazırlanmıştır)	4
Şekil 2.2 Kronik Yaraların İyileşme Süreci (BioRender ile hazırlanmıştır)	5
Şekil 2.3 Yara İyileşme Süreçlerinin Şematik Olarak Gösterimi. (BioRender ile hazırlanmıştır.)	8
Şekil 2.4 Yara Örtüsü Uygulamasının Şematik Gösterimi. (Biorender ile hazırlanmıştır.).....	12
Şekil 2.5 Sodyum Aljinatın metakrilik anhidrit (MA) ile esterifikasyon reaksiyonu gösterimi (Chemsketch ile hazırlanmıştır)	15
Şekil 2.6 Sodyum hyaluronatın metakrilik anhidrit (MA) ile esterifikasyon reaksiyonu gösterimi (Chemsketch ile hazırlanmıştır)	16
Şekil 3.1 Jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojelin hazırlanma aşamaları (BioRender ile hazırlanmıştır)	20
Şekil 3.2 AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin sistematik olarak hazırlanma şeması (Chemsketch ile hazırlanmıştır)	21
Şekil 4.1 Sodyum Aljinat (SA) ve AlgMA'ya ait ¹ H NMR spektrumu.	27
Şekil 4.2 Sodyum Hyaluronat (HA) ve HAMA'ya ait ¹ H NMR spektrumu.....	28
Şekil 4.3 Sodyum Aljinat ve AlgMA'ya ait FTIR analizi sonuçları	28
Şekil 4.4 Sodyum Hyaluronat ve HAMA'ya ait FTIR analizi sonuçları.....	29
Şekil 4.5 Çapraz bağlanmış AlgMA-HAMA hibrit hidrojellerinin FTIR analizi sonuçları	30
Şekil 4.6 Çapraz bağlanmış AlgMA-HAMA hibrit hidrojellerinin çekme analizi sonuçları ...	30
Şekil 4.7 AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin Zwick Roell 20.5 TH test cihazı ile çekme testi uygulama gösterimi.....	31
Şekil 4.8 Çapraz bağlanmış AlgMA-HAMA hibrit hidrojellerinin sıkıştırma analizi sonuçları.	31
Şekil 4.9 AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin Zwick Roell 20.5 TH test cihazı ile sıkıştırma testi uygulama gösterimi.	32
Şekil 4.10 AlgMA-HAMA hibrit hidrojellerinin şişme kapasiteleri	32

Şekil 4.11 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin yan kesitine ait SEM görüntüleri. A)2.5AlgMA, B)2.5A/1H, C)2.5A/2H, D)5AlgMA, E)5A/1H, F)5A/2H.....	33
Şekil 4.12 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin yüzeylerine ait farklı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri. A)2.5AlgMA, B)2.5A/1H, C)2.5A/2H, D)5AlgMA, E)5A/1H, F)5A/2H...	33
Şekil 4.13 HAMA ile farklı oranlarda katkılanan %2.5AlgMA hibrit hidrojenlerinin BET analizi N ₂ adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrileri.....	34
Şekil 4.14 HAMA ile farklı oranlarda katkılanan %5AlgMA hibrit hidrojenlerinin BET analizi N ₂ adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrileri	34
Şekil 4.15 <i>S.Aureus</i> bakterisinin AlgMA/HAMA hibrit hidrojenleri ile inhibasyon çapının incelenmesi. A)pozitif kontrol, B)2.5AlgMA, C)2.5A/1H, D)2.5A/2H, E) Antibiyotik (Metisilin), F)5AlgMA, G)5A/1H, H)5A/2H.....	35
Şekil 4.16 <i>E.coli</i> bakterisinin AlgMA/HAMA hibrit hidrojenleri ile inhibasyon çapının incelenmesi. A)pozitif kontrol, B)2.5AlgMA, C)2.5A/1H, D)2.5A/2H, E) Antibiyotik (Metisilin), F)5AlgMA, G)5A/1H, H)5A/2H.	35
Şekil 4.17 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin hücre canlılığı	36
Şekil 4.18 CCD-986SK insan deri fibroblast hücreleri ile yapılan <i>in vitro</i> yara çizik deneyinin 0.,24. ve 48. saatlerde alınan mikroskopik görüntüleri.....	37
Şekil 4.19 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin yara çizik deneyi ile yara kapatma oranları.	38

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3.1 Hibrit hidrojellerin formülasyonu.	22
Tablo 4.1 AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin 24 ve 48 saat sonrasındaki hücre canlılık oranları	36



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
w/v	: Ağırlık/hacim
kDa	: Kilo dalton
U/mL	: Unit/mililitre
BET	: Brauner-Emmet-Teller

Kısaltmalar	Açıklama
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
PBS	: Fosfat tuz tamponu
FTIR	: Fourier dönüşümlü kırmızı ötesi spektroskopisi
PI	: Fotobaşlatıcı
ECM	: Hücre dışı matrisi
HA	: Hyaluronik Asit
LAP	: Lityum fenil-2,4,6-trimetil benzoilfosfinat
MA	: Metakrilik Anhidrit
AlgMA	: Metakrile aljinat
HAMA	: Metakrile hyaluronik asit
MTT	: Metiltiazoldifeniltetrazolyum bromür
¹ H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
SA	: Sodyum Aljinat

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HYALURONİK ASİT ve ALJİNAT İÇEREN HİDROJEL DOKU YAPIŞTIRICILARININ HAZIRLANMASI ve KARAKTERİZASYONU

Simay Yağmur RIVAS RODRIGUEZ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Fiziksel Kimya, Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman : Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU

Travmatik yaralar, cerrahinin neden olduğu kontrolsüz ve yoğun kanamalar günümüzün önde gelen tıbbi problemlerinden olmaktadır. Travmatik yaralar yalnızca cilt dokusu üzerinde değil, patlamalar ve ateşli silahlar yoluyla iç organlarda yırtılmalar gibi nedenlerle de karşımıza çıkmaktadır. Bu noktada şiddetli kanamalar hipotermi, hemorajik şok, organ yetmezliği ve kanın %40'ından fazlasının hacimsel olarak kaybıyla ölümler gerçekleşebilmektedir. Bu nedenle hızlı bir şekilde kanamanın durdurulması gerekmektedir. Doku hasarlarının bu kadar ciddi sonuçları göz önüne alındığında doku mühendisliği, işlevsiz veya hasar görmüş dokuların onarımını sağlamak ve yaşam beklentisini artırmak amacıyla hastaları tedavi etmek için umut verici nitelikte ortaya çıkmış bir alandır. Bu konu kapsamında günümüze kadar birçok biyomateryalin hazırlanması üzerine çalışmalar yapılmıştır. Ancak ıslak dokulara uyumlu, anjiyogenezi ve trombosit agregasyonunu destekleyen biyomateryale rastlanmamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında trombosit agregasyonunu destekleyen aljinat türevi ve ıslak dokuya uygun yapışma özelliği gösteren ve anjiyogenezi indükleyerek damarlanmayı arttıran hyaluronik asit türevi hazırlandı. Aljinat ve hyaluronik asidin türevleri serbest radikal foto polimerizasyona maruz bırakılarak görünür ışık varlığında çapraz bağlanması sağlandı. Sunulan çalışma ile üretilen sodyum aljinat ve hyaluronik asit grupları içeren biyomalzemenin iyi mekanik dayanım göstermesi, yüksek şişme kapasitesine sahip olmasıyla ortamdaki kanaması stabilize edebilmesi ve kanamayı durdurucu etki göstermesiyle kullanım alanına hizmet edecek yeni bir biyomalzeme kazandırılması amaçlanmıştır. Bu sayede dünya çapında büyük etkiye sahip kanama nedeni ölümlerin önüne geçilebilecektir. Biyopolimerlerin kimyasal karakterizasyonları FTIR ve NMR analizleri ile araştırıldı. Görünür ışık ile çapraz bağlanabilen hibrit hidrojellerin mekanik özellikleri, şişme ve bozunma davranışları incelenmiştir. Hazırlanan hibrit hidrojellerin biyoyumlulukları MTT ve yara çizik deneyleri

ile incelendi. |

Aralık 2024 , | 72 | sayfa.

Anahtar kelimeler: |Biyomalzeme, doku yapıştırıcıları, yara örtüsü, hidrojel |



ABSTRACT

M.Sc. THESIS

**PREPARATION and CHARACTERIZATION OF HYDROGEL TISSUE ADHESIVES
CONTAINING HYLURONIC ACID and ALGINATE**

Simay Yağmur RIVAS RODRIGUEZ

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Physical Chemistry, Thesis Master's Program

Supervisor : Prof. Dr. Cemal ÖZEROĞLU

Traumatic injuries and uncontrolled, intense bleeding caused by surgery remain among today's leading medical problems. Traumatic wounds are not only observed on the skin but also result from internal organ ruptures caused by explosions and firearms. At this point, severe hemorrhaging can lead to hypothermia, hemorrhagic shock, organ failure, and even death due to the loss of more than 40% of blood volume. Therefore, it is crucial to halt bleeding rapidly. Considering the serious consequences of tissue damage, tissue engineering has emerged as a promising field to repair dysfunctional or damaged tissues and improve life expectancy. Within this context, numerous studies have been conducted on the preparation of various biomaterials to date. However, there hasn't yet been a biomaterial that is compatible with wet tissues and supports both angiogenesis and platelet aggregation.

In this thesis, an alginate derivative that supports platelet aggregation and a hyaluronic acid derivative that adheres to wet tissues and induces angiogenesis, thereby promoting vascularization, have been prepared. The derivatives of alginate and hyaluronic acid were subjected to free radical photopolymerization, allowing them to crosslink in the presence of visible light. The study aims to introduce a new biomaterial featuring sodium alginate and hyaluronic acid groups that demonstrates good mechanical strength, a high swelling capacity to stabilize bleeding in the environment, and effective hemostatic properties. This development could help prevent bleeding-related deaths, which have a significant impact worldwide. The chemical characterization of biopolymers was analyzed using FTIR and NMR techniques. The mechanical properties, swelling, and degradation behaviors of hybrid hydrogels, which can be cross-linked with visible light, were examined. The biocompatibility of the prepared hybrid

hydrogels was assessed through MTT and scratch wound assays. |

December 2024, | 72 | pages.

Keywords: | Biomaterial, tissue adhesives, wound dressing, hydrogel |



1. GİRİŞ

Yara pansumanları konusunda tıbbın karşılaştığı en büyük zorluk, yara iyileşmesini destekleyecek etkiye sahip olmamasıdır. Günümüzde kullanılan pansumanların tedavisi zor olan yaraların iyileşmesini geciktirmesi, ekonomik kaygıların yanı sıra birçok küresel sağlık riskini de ortaya çıkarmaktadır [1]. Yara iyileşme süreci sosyal ve psikolojik sorunlara ek olarak, karmaşık ve dinamik süreçler içermesi nedeniyle dünya çapındaki sağlık sistemleri için büyük bir zorluktur. Geleneksel yara pansumanlarının yara iyileşmesini desteklememesi nedeniyle doku rejenerasyonunu uyarabilen ortamı teşvik eden modern yara iyileştirici pansumanlar geliştirilmektedir [2]. Geliştirilen modern yara örtüleri sadece doku yenilenmesini sağlamakla kalmamalı, yara ortamında yara sıvısı kaynaklı veya çevresel nedenlerle oluşabilecek bakteriyel enfeksiyonlara karşı korumalı, yaralı bölgeyi nemli tutarak kurumayı önlemeli, hava ile teması önlemeden oksijen difüzyonu sağlamak için gözenekli yapıda olmalıdır. Ek olarak, kolay pansumanın yanı sıra biyolojik olarak bozunabilir özellikte olmalıdır. Bu nedenle, günümüzde aljinat, jelatin, kitosan, selüloz, ipek fibroin, hyaluronik asit gibi doğal biyopolimerler bu alanda sıklıkla tercih edilmektedir. Hyaluronik asit ve aljinat gibi doğal polimerler, hücre çoğalması ve hücre göçüne elverişli nemli bir ortam sağlamaktadır. Sağladıkları nemli ortam sayesinde yara üzerinde kabuk oluşumunu önlemeye yardımcı olarak daha hızlı iyileşmeyi desteklemektedirler. Hyaluronik asit, yara dokusunda fibroblast göçünü desteklemesiyle ortamda kolajen salınımının artmasını sağlaması nedeniyle doku mühendisliği uygulamalarında sıklıkla tercih edilmektedir. Ek olarak hyaluronik asit, güçlü bir anjiyogenez indükleyicisi olması nedeniyle yaralı dokuda damarlanmanın desteklenmesini sağlamaktadır. Aljinat biyopolimerinin trombosit agregasyonunu artırarak trombositlerin ve eritrositlerin yapışmasını desteklemesi nedeniyle yara örtüsü olarak kullanımı ideal bulunmaktadır. Biyopolimerlerin biyoyumluluklarına ek olarak kullanım amaçlarına göre mekanik özelliklerini geliştirmek ve kararlılıklarını arttırmak amacıyla türevlendirilmiş yapılarının kullanımı oldukça yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır. Polimerlerin ultraviyole (UV) ve görünür ışıkla polimerizasyonu doku mühendisliği uygulamalarında hidrojenlerin geliştirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. UV kullanım aralığında hücre ve dokular için zararlı etkiler görülebileceğinden günümüzde görünür ışık ile çalışan fotobaşlatıcılar geliştirilmiştir. Foto çapraz bağlanabilir polimerler genellikle akrilat türevi olarak karşımıza çıkmaktadır [3].

Bu bilgiler doğrultusunda, tez çalışmasında hyaluronik asit ve aljinat biyopolimerlerinin görünür ışık ile çapraz bağlanabilir akrilat türevleri üzerinde çalışılmıştır. Tasarlanan hibrit hidrojellerinin özelliklerinin iyileştirilmesi ve doku uyumluluğunun sağlanması üzerine odaklanılmıştır.



2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. DERİ

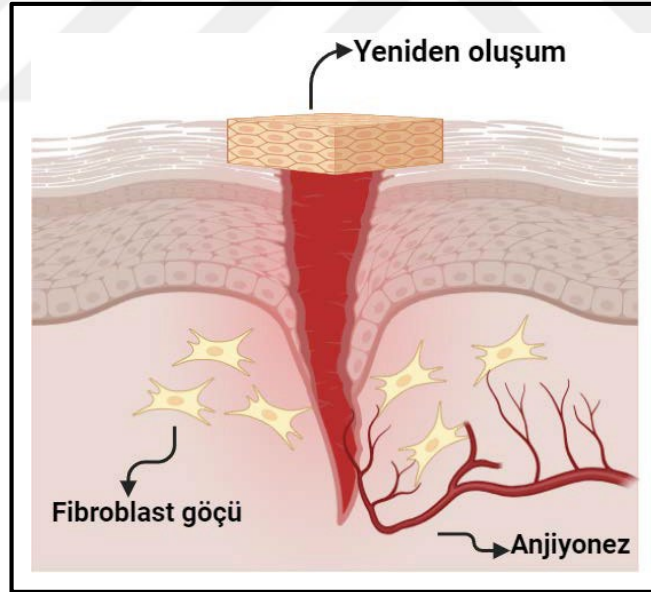
Deri, insan yaşamının sürdürülmesinde önemli rol oynayan, vücudun en büyük organıdır. Vücut ısısının düzenlenmesini, vücut içi sıvılarını tutmayı ve insan vücudunu dış etkenlerden korumayı sağlamaktadır. Deri, sadece iç ortamın stabilitesini korumakla kalmaz, su, elektrolit ve vücut sıvılarının kaybını önlemektedir. Aynı zamanda fizyolojik dinamik dengeyi de korumaktadır. Ek olarak, patojenlere karşı direnç oluşturmak ve enfeksiyonu önlemek için insan vücudu ile dış çevre arasında etkili ve koruyucu bir bariyer olarak görev yapmaktadır [4]. İnsan vücudu üzerine yapılan çalışmalar, cildin yaklaşık 2.0 m²'lik bir yüzey alanına sahip olduğunu ve toplam vücut ağırlığının yüzde 10'undan fazlasını oluşturduğunu göstermiştir [5, 6].

Deri, başlıca epidermis, dermis ve deri altı tabakasını içeren üç karmaşık katmandan oluşmaktadır. Kütikül olarak da bilinen epidermisin dış tabakası, dış saldırıların cilde nüfuz etmesini etkili bir şekilde önleyen bariyer görevi görmektedir. Kalınlığı yaklaşık olarak 0.1-0.2 mm'dir. Epidermis başlıca, farklılaşmanın farklı aşamalarındaki keratinositlerden oluşmaktadır. Epidermis bakterilerin girişini önlemekte ve vücuttaki su ve elektrolit kaybını önleyerek vücudu dış hasarlardan korumaktadır. Epidermis yapısında bulunan melanositler, cildi ultraviyole radyasyonundan korumak için çevredeki keratinositlere geçen melanin üreten hücrelerdir. Epidermise bağlı olan dermis tabakası, büyük su kaybını önlemeye yardımcı olmaktadır. Dermis, yukarıdan aşağıya doğru papiller dermis ve retiküler dermis olmak üzere iki bölgeye ayrılmaktadır. Esas olarak kolajen, elastin, hyaluronik asit ve proteoglikan açısından zengin hücre dışı matrisi (ECM) oluşturmaktadır. Bağ dokusundan oluşan dermis tabakası, içeriğindeki hyaluronik asit ve elastin sayesinde cilt için elastikiyet sağlamakla birlikte deformasyona karşı fiziksel güç de sağlamaktadır. Dermis tabakası aynı zamanda sürekli olarak beslenme ve oksijen sağlayabilen geniş bir kan damarı ağını desteklemektedir. Epidermis ve dermişin altında yatan hipodermis, deri altı yağ dokusu tabakası görevi görerek insan vücudu için ısı yalıtımı ve mekanik koruma sağlamaktadır [4, 5].

2.1.1. Deri Kayıpları ve Yaralar

Deri, insan vücudunun en büyük organı ve vücut ağırlığının yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır. Dış ortam ile doğrudan teması nedeniyle hasara karşı oldukça hassastır. Yaralar genel olarak; travma, cerrahi işlemler, diyabet, yanık gibi farklı nedenlerle kaynaklanan cilt bütünlüğünün ve fonksiyonunun bozulması olarak tanımlanmaktadır. Hasar tiplerine göre oluşan yaraların iyileşme süresi değişebilmektedir [4, 6]. Bazı yaralar derinliğine, aşırı inflamatuvar özellik göstermesine ve yavaş iyileşme sürelerine bağlı olarak karakterize edilmektedir [7]. Bu sürelerle ilgili olarak yaralar genellikle akut ve kronik yaralar olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Kazaların ve kesiklerin neden olduğu akut yaralar, büyüme faktörleri, sitokinler ve matriks proteinleri nedeniyle nispeten hızlı iyileşmektedir. Yanıklar, enfeksiyonlar ve diyabetten kaynaklanan kronik yaralar, 12 haftadan fazla devam eden ve akut yaralardan çok daha yavaş iyileşen yaralar olarak tanımlanmaktadır. Çeşitli nedenlerle oluşan yaraların iyileşme süreci hücresel yapıların ve doku katmanlarının onarımını içeren karmaşık ve dinamik bir süreçtir [6, 8].

2.1.1.1. Akut Yaralar



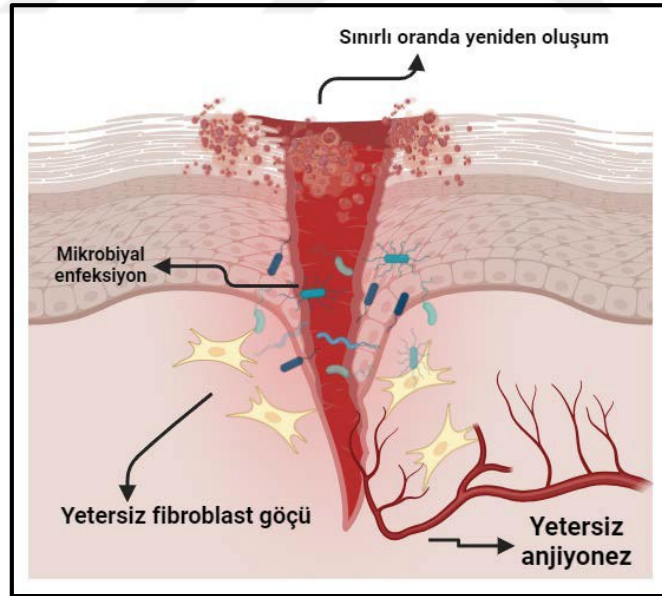
Şekil 2.1 Akut Yaraların İyileşme Süreci (BioRender ile hazırlanmıştır).

Akut yaralar iyileşme süreci sonucunda yapısal bütünlüğün geri kazanımını içermektedir. Akut yaraların iyileşme süreci cildin epidermis ve dermis tabakasındaki hasarın boyutuna, derinliğine ve derecesine bağlı olarak 8-12 hafta olarak öngörülmektedir [9]. Genel olarak akut yaraların iyileşme süreci dört aşamadan oluşmaktadır. Bunlar; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve dokunun yeniden şekillenmesi olarak ifade edilmektedir. Akut

bir yara meydana geldiğinde ilk olarak kanamanın sonlanmasını ve kan kaybının önlenmesini sağlayan aşama hemostazdır. İnflamasyon aşamasında, deride oluşan yaralanma, yaraya giren patojenleri yok eden ve dokunun anatomik yapısının korunmasının sağlanması için bağışıklık sürecini aktive etmektedir. Proliferasyon aşamasında granülasyon dokusunun oluşumu ve neovaskülarizasyon ve sonrasında yeniden epitelizasyonun gerçekleşmesini içermektedir. Son olarak akut yaranın iyileşmesi, granülasyon dokusunun yara izine dönüşmesi ve epidermisin yeniden şekillenmesiyle sonlanmaktadır [10].

2.1.1.2. Kronik Yaralar

Kronik yaralar, yaranın zamanında veya hızlı bir süreçte iyileşmediği durumlarda sürekli olarak iltihap oluşturması, kalıcı enfeksiyon süreçlerini içermektedir [7]. Kronik yaraların iyileşme süreci, bu yaralarda oluşan sürekli iltihabın kontrol edilmesinin zor olması nedeniyle günümüzde dünya çapında hala bir sorun teşkil etmektedir. Oluşan sürekli iltihabın başlıca nedeni yara yüzeyinde bakteriyel bir film oluşması ve yaranın bu film ile beslenmesinden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle kronik yaraların iyileştirilmesi amacıyla çeşitli çalışmalar devam ettirilmektedir. Bu çalışmalar genel olarak biyolojik ajanlar, biyomalzemeler ve hücre tabanlı uygulamalar olarak karşımıza çıkmaktadır [10].



Şekil 2.2 Kronik Yaraların İyileşme Süreci (BioRender ile hazırlanmıştır).

Yara iyileşme süreçleri iyi koordine edilmediği takdirde cilt dokusunun iyileşme süreci gecikir ve bu durumda enfeksiyon tekrarlanır. İyileşmeyen yaraların ortak özellikleri genellikle eksüdasyon, tekrarlanan enfeksiyon, yeniden epitelizasyonun kusurlu olması (yara kabuğunun

soyulması gibi), azalan anjiyogenez ve aşırı reaktif oksijen (ROS) üretimidir. Genel olarak bilinen kronik yaralar; diyabetik ayak ülseri, vasküler ülserler ve bası ülserleridir. Bu yaralar genellikle diyabetik rahatsızlıklardan, obezite ve bağışıklık sistemi bozukluğundan muzdarip olan yaşlı bireylerde görülmektedir [10].

Kronik yaraların tedavi edilememesi durumunda elde edilen sonuçlar oldukça ciddidir. Özellikle kronik yaranın neden olduğu hastalığa bağlı olarak enfeksiyonu tekrarlaması ve bu nedenle yaranın iyileşmemesi, amputasyona ve hayati tehlikeye neden olabilmektedir. Ayrıca, yaranın devam eden enfeksiyon oluşumu durdurulmadığı durumda enfeksiyonun vücuda yayılması ve bu nedenle vücut direncinin azalması gibi birçok komplikasyona neden olabilmektedir [11].

2.2. YARA İYİLEŞMESİ

Kan; eritrositler, lökositler, trombositler ve plazmadan oluşur ve toplam vücut ağırlığının yaklaşık %7-8'i kandan oluşmaktadır. Oksijen ve diğer besin maddelerinin farklı organlara taşınması, aşırı kan kaybının önlenmesi ve vücut sıcaklığının düzenlenmesi dahil olmak üzere birçok temel yaşamsal süreçte kan büyük rol oynamaktadır [12]. Küresel ölçekte artan ölümlerin başlıca nedeni olan şiddetli travma, dünya çapında her yıl 5.8 milyondan fazla insanın can kaybına neden olmaktadır. Bu can kayıplarına neden olan travmaların yaklaşık %40'ı kontrol edilemeyen kanamalardan kaynaklanmaktadır. Kontrolsüz kanamalar özellikle acil durumlarda ve savaş alanlarında ölüme büyük ölçüde katkı sağlamaktadır. Ayrıca, omurga, karaciğer, kalp-damar ve ortopedik prosedürler içeren ameliyatlarda ciddi kanamalar teşkil edebilmektedir. Prosedür doğru yönetilemezse kan kaybının artması ile çok sayıda olumsuz yan etki ortaya çıkabilmektedir [13]. Aşırı kanama, hemorajik şok, hipotermi, hipotansiyon, çoklu organ yetmezliği, asidoz gibi ciddi hasarlara yol açabilmektedir [12].

Tanı konulduktan sonra belirli önlemler arasında temizleme, pansuman, enfeksiyon ve oluşan enfeksiyonun kontrolü, basınç dağıtımı, doku perfüzyon yapılması ve gelişmiş hücre terapileri yer almaktadır. Bu yaklaşımlar tek başlarına veya iyileşme sürecini hızlandırmak amacıyla birleştirilerek uygulanabilmektedir [7].

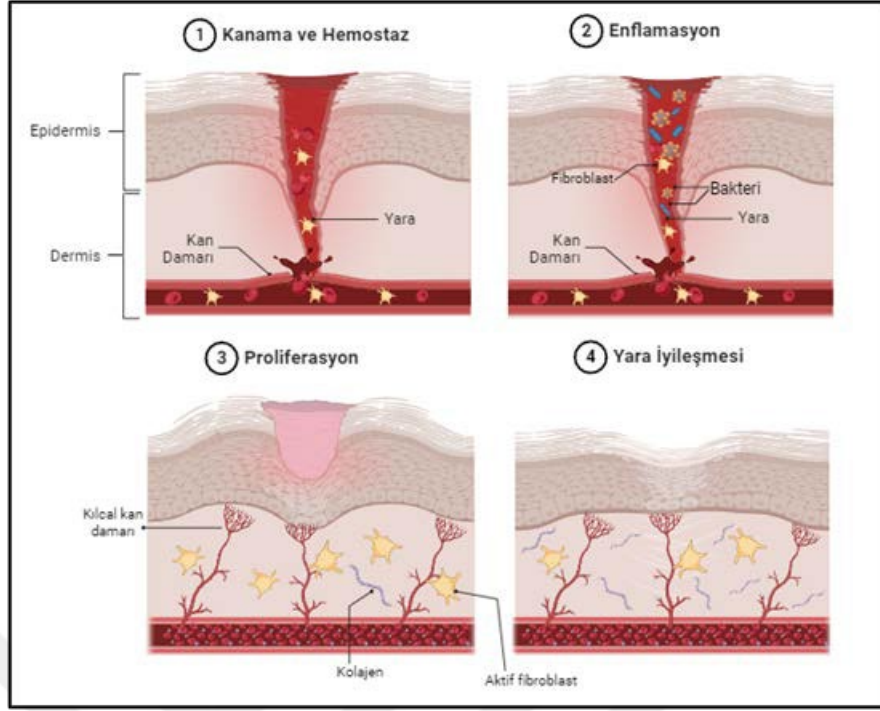
Cilt yaralandığında, uygun yara bakımı bakteriyel enfeksiyondan kaçınmada ve yara iyileşme sürecinin hızlandırılmasında önemli rol oynamaktadır [4]. Yara örtüleri, kullanılacağı dokuların doğal hareketlerini desteklemek için yeterince güçlü ve elastik olmalıdır. Bu tür yara

örtüleri ideal olarak 8 haftadan daha fazla süren yeterli iyileşme sürecinin ardından bozunmalıdır. Ek olarak, bazı klinik uygulamalar için yara örtülerinin yerinde hızlı bir şekilde çapraz bağlanması beklenmektedir. Bu durum yara çevresinde optimum kapaticılığın sağlanmasına neden olur [14].

Geleneksel olarak yara iyileşme süreçleri, hücre dışı matriks, kan hücreleri ve bağışıklık hücreleri arasında karmaşık ve dinamik bir süreçten oluşmaktadır [5]. . Esas olarak; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden doku oluşumu olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır (Şekil 2.3) [6].

2.2.1. Hemostaz

Hemostaz, trombositlerin ve inflamatuvar hücrelerin yara bölgesinde toplandığı ve hücre dışı matriste açıkta kalan kolajene bağlandığı, kanın pıhtılaşmasını ve vazokonstriksiyonu teşvik eden fibronektin gibi pıhtılaşma faktörlerini serbest bıraktığı vücut tepkisinin ilk aşamasıdır. Cilt kesiği oluşum anında hızlı bir şekilde büyük miktarda kanama görülebilir ve bu da kanamanın başlangıcı olarak ifade edilir. Kan pıhtıları yarayı geçici olarak kapatır, daha fazla kan kaybı oluşumunu önler ve bir dizi moleküler ve hücrel olayları tetikler. Hücre adhezyonu ve proliferasyonu destekleyen geçici bir hücre dışı matris oluşturur. Yarayı geçici olarak kapatan kan pıhtıları ve hasarlı epitel ve endotel hücreleri de çevre dokulardan inflamatuvar hücreleri almak için çeşitli kemokinler salgılar [5, 6]. Kan pıhtılarının ana bileşenleri, proteinlerin ve hücrelerin aktivitesini ve dinamik matrisi temsil eden trombositler ve fibrindir. Trombosit ve fibrin hücreleri kanamayı durdurmaya yardımcı olurlar. Bu nedenle uygulanacak pansumanın, trombositlerin yara çevresinde birikmesinin hızlandırması ve fibrin üretimini desteklemesi beklenmektedir [15].



Şekil 2.3 Yara İyileşme Süreçlerinin Şematik Olarak Gösterimi. (BioRender ile hazırlanmıştır.)

2.2.2. İnflamasyon

İnflamasyon aşaması, hemostaz aşaması ile aynı anda meydana gelmektedir. Yarayı geçici olarak kapatan kan pıhtısı oluştuğunda kompleman sistemi aktive olur ve vazodilatasyon nötrofillerin yaralanma bölgesine göç etmesine izin verir. Kan monositleri ve lenfositler, yara bölgesindeki doku makrofajlarına farklılaşarak, hasarlı kan damarlarını onarmak için fibroblastları, endotel hücrelerini ve keratinositleri toplayan büyüme faktörleri ve sitokinleri serbest bırakırlar [6].

2.2.3. Proliferasyon

Proliferasyon aşaması yaralanmadan 2-3 gün sonra başlamaktadır ve yaranın kapanmasına kadar devam eden süreçtir. Fibroblast çoğalması ve kolajen birikmesi bu dönemde meydana gelen ana olaylardır. Endotel hücreleri, granülasyon dokusu metabolizması için besin sağlayan yeni kılcal damarlara farklılaşır. Fibroblastlar miyofibroblastlara farklılaşır ve yara kenarlarını birbirine çekerek yaralı bölgeyi kapatır. Fibroblastlar ayrıca yeni bir cilt tabakası oluşturmak için yara yüzeyini kaplayacak ve orijinal tip III kolajenin yerini yavaş yavaş tip I kolajen olarak organize bir ağ oluşturacak ve bu kademeli bir olgunlaşma veya yeniden şekillenme aşaması olmaktadır [6].

2.2.4. Dokunun Yeniden yapılanması

Yaranın iyileşmesi ve dokunun yeniden şekillenmesi aşaması hücre indirgenmesi ile karakterizedir. Keratinositler, yaranın yeniden epitelizasyonunun tamamlanmasından sonra yavaş yavaş göçü durdurur. Bu aşamada doku epidermal bütünlüğü yeniden sağlamak amacıyla farklılaşmaya uğrar. Aynı zamanda miyofibroblastların ölümü gerçekleşir, anjiyogenez inhibe edilir ve granülasyon dokusu yavaş yavaş aselüler bir yara izine dönüşür. Miyofibroblastların ölmeyip dokuda varlığını koruması Hipertrofik yara izlerinin ve keloidlerin oluşumuna yol açılmaktadır. Bunlar yara dokusunda fazla kolajen birikmesine kırmızı ve kabarık belirgin yara izine sebep olur [5].

2.3. YARA ÖRTÜLERİ

Yara örtüleri cilt yaralanmalarında kullanılan en etkili ve en eski tedavi yöntemlerinden biridir. Yara tedavisi zaman zaman çeşitli değişikliklerden geçmiştir. Tarihin ilk dönemlerinde yaprak, bal, örümcek ağları, sirke gibi doğadan toplanan malzemeler yara tedavilerinde kullanılmıştır. MÖ. 400 yılında Hipokrat, yara temizliği için ballı şarap veya sirke kullanmıştır. Ayrıca benzer dönemlerde bandaj olarak su veya şarap ile kaynatılmış yün kullanmışlardır. Araştırmalar geliştikçe 19.yy'da antiseptik yöntemler ve antibiyotiklerde önemli gelişmeler elde edilmiş ve artık günümüzde 20.yy'da modern yara örtüleri geliştirilmiştir. Böylece yaranın sadece dış etkilerden korunmasını sağlamakla kalmayarak yaranın iyileşme sürecini hızlandırmayı destekleyen yara örtüleri geliştirilmektedir [16].

Kronik yaralar sıklıkla pansuman değişimi, uzun vadeli hastanede kalmayı ve fiziksel kısıtlamaları beraberinde getirmesi nedeniyle hastaların yaşam kalitesini düşürmektedir. Bununla birlikte sağlık sistemi üzerine ekonomik yükü arttırmaktadır. Dünya çapında yaklaşık 20 milyon hastanın kronik yaraya sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, karmaşık süreçlere sahip olmayan ve iyileşme sürecini destekleyen pansuman teknolojilerinin geliştirilmesinin küresel bir etkiye sahip olması beklenmektedir [17]. Yaranın enfeksiyondan korunması, ağrının azaltılması, hücre göçü ve çoğalmasının uyarılması ve desteklenmesini sağlamaktadır. Cilt yaralarında kullanılan geleneksel gazlı bez, bandaj ve pamuk gibi yara örtüleri açık yaralarda etkili olamamaktadır. Bu tip yara örtüleri yaranın iyileşme sürecine negatif etkide bulunmaktadır. Bu nedenle son yıllarda özellikle çalışmalara konu olan biyomateryallerin geliştirilmesiyle rejeneratif tıpta hidrojel yara örtülerine olan ilgi giderek artmaktadır [18].

2.3.1. Geleneksel Yara Örtüleri

Geleneksel yara örtüleri, kuru ve iyi temizlenmiş yaralar üzerine gazlı bez ve bandajlarla uygulanan pansumanlar olarak tanımlanmaktadır. Gazlı bezler, dokuma ve dokuma olmayan pamuk lifleri, viskon ve poliesterden oluşmaktadır. Bu tür pansumanların başlıca işlevi, lifli yapısı sayesinde açık yaradan eksüda ve sıvı emilimidir. Bandajlar, doğal pamuk, yün, selüloz, suni ipek, poliester veya poliamidden yapılmış ikincil yara örtüleri olarak tanımlanmaktadır. Pamuklu bandajlar yara temizliği için kullanılmaktadır ancak eksüdanın pıhtılaşması yara bölgesine ve yeni doku veya kan pıhtılarının liflere sarılması nedeniyle pansuman belirli aralıklarla değiştirildiğinde yeni oluşan dokulara zarar vermektedir ve böylece yara iyileşme süreci gecikmektedir. Bu nedenle geleneksel yara örtüleri, yaraların dış ortamdan pasif olarak korunmasını sağlamaktadır ancak yaraların iyileşme sürecini aktif olarak hızlandırmamaktadır [4]. Rayon, poliester ve poliamid bandajlar, yara yüzeyine yapışmayan sıvı ve su buharı geçirgenliğine sahip ve bu nedenle hafif ve orta dereceli eksüdalı yaralar için uygun emici ikincil yara örtüleridir [19]. Ancak belirtilen geleneksel yara örtüleri, yaralı bölgeyi nemli tutamaması ve yaranın rejenerasyonu aşamasında pamuk ve lifli pansumana doğru ağsı bir yapı oluşturabilmesiyle yaraya yapışma özelliği gösterdiğinden yara iyileşmesini geciktirdiği bilinmektedir [20].

2.3.2. Modern Yara Örtüleri

Geleneksel örtülerinin sınırlamalarının üstesinden gelmek amacıyla cilt yaralarını tedavi etmek için fiziksel koruma ve yara dokusunun rejenerasyonunu hızlandırma işlevi sağlayabilecek yeni nesil yara örtüleri geliştirilmiştir. Modern yara örtüleri, sadece yarayı çevresel etkilerden korumakla kalmayan, yara çevresinde önemli olan nemli bir ortamı yaratmaktadır ve dokunun oluşumunu hızlandırarak epitel hücrelerinin yara çevresinden merkeze göçünü kolaylaştırmaktadır ve anjiyogenezi teşvik etmektedir [5,16,19]. Modern yara örtülerinin temel özellikleri; (1) yaranın etrafında nemli ortamın korunması, (2) etkili oksijen değişimini ve iletimi kolaylaştırmak, (3) kirliliğe ve mikrobiyal enfeksiyona karşı koruma sağlamak, (4) aşırı yara eksüdasının emilmesi ve (5) hasta ağrısının hafiflemesini sağlamaktır [5]. Modern yara örtüleri poliakrilamid kaynaklı sentetik polimerlere dayanırlar ve öncelikle hidrokolloidler, hidrojeller, filmler ve köpükler olarak kategorize edilebilmektedirler.

Köpük yara örtüleri hidrofobik ve hidrofilik köpüklerden oluşmaktadır. Dış katmanı hidrofobik köpükten oluşur böylece sıvılara karşı koruma sağlamaktadır. Bununla birlikte gaz

ve su buharı geçişine izin vermektedir. Köpük yara örtüleri, yara kalınlığına bağlı olarak değişen miktarlarda yara drenajını absorbe etme kapasitesine sahiptir. Köpük yara örtülerinin dezavantajı sık pansuman gerektirmesidir. İyileştirme kapasitesi eksüdaya bağlı olması nedeniyle az eksüdalı yaralar veya kuru yaralar için uygun değildir [9].

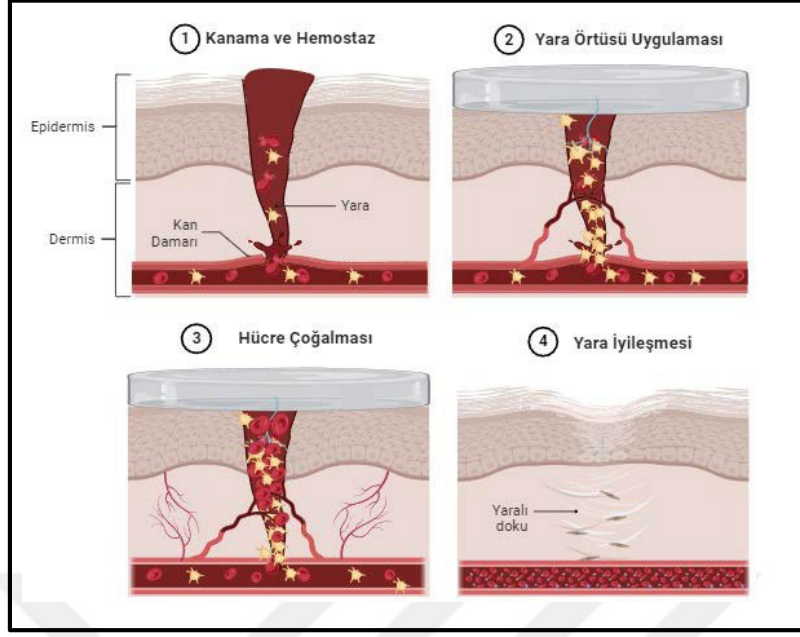
Hidrokolloid yara örtüleri, tarihsel olarak en yaygın kullanılan yara örtülerinden biridir. İç kolloidal tabaka ve dış su geçirimsiz tabaka olmak üzere iki katmandan oluşmaktadır. Yara örtüsü, yara eksüdası ile temas ettiğinde, hidrokolloidler sıvıyı yapı içerisinde hapsederek bir örtü jel oluşturur. Kısmi emici özelliklere sahip olmaları nedeniyle su geçirgendirler, ancak bakterilere karşı daha az geçirgendirler. Yara örtüsü altında oluşturulan nemli ortam, kolajen sentezini ve fibroblast proliferasyonunu ve hızlı epitelizasyonu arttırarak yara iyileşmesini uyarmaktadır [16] Hidrokolloidlerin dezavantajı, nöropatik ülserler veya yüksek dereceli eksüdaya sahip yaralarda uygun değildir ve çoğunlukla ikincil pansuman görevi görmektedir [9].

Hidrojel, son yıllarda oldukça fazla gelişime uğrayan modern pansumanlar olarak büyük ilgi görmektedir. Yapılarının %70-90'a kadar su içeriğine sahip olması nedeniyle ortamın nemli kalmasını sağlayan doğal veya sentetik polimerlerden oluşan hidrofilik bir üç boyutlu çapraz bağlı sistemlerdir [4]. Hidrojel yara örtüleri, kolay uygulamaya katkıda bulunan yumuşak elastik özelliklere sahiptir ve yara iyileştikten sonra kolayca dokudan ayrılabilir [16].

2.3.3. İdeal Yara Örtülerinin Sahip Olması Gereken Özellikler

İdeal yara örtülerinin sahip olması gereken birtakım özellikler bulunmaktadır. Bu özellikler başlıca iltihaplanmaya neden olmadan doku uyumluluğu göstermesi, yara yüzeyinde nemli ortam sağlayarak hücre hidrasyonunu teşvik etmek ve yara eksüdansını absorbe etmek, cilt yüzeyinin simüle edilmesiyle benzer mekanik özelliklerin sağlanması ve ikincil bakteriyel enfeksiyonun önlenmesini sağlamalıdır [18].

Ayrıca, epitel doku granülasyonunu sağlayarak ortam hücre büyümesini, anjiyogenezi ve bağ dokusu sentezini teşvik etmelidir. İyileşme sonrasında yeni doku oluşumunu destekleyerek ortamdaki kolayca ayrılabilir ve bu nedenle biyobozunabilir özelliğe sahip olmalıdır [9, 18].



Şekil 2.4 Yara Örtüsü Uygulamasının Şematik Gösterimi. (Biorender ile hazırlanmıştır.)

Arzu edilen hemostatik yara örtüsünün genel olarak hızlı ve sürdürülebilir hemostatik etkinliğe, biyouyumluluğa ve biyobozunabilirliğe sahip olması gerekmektedir. Bunların yanı sıra sitotoksikite göstermemesi ve nemli ortamda kuvvetli yapışma özelliği göstermesi gerekmektedir [12].

2.4. HİDROJELLER

Hidrojeller; içeriğindeki üç boyutlu çapraz bağ yapısı sayesinde sulu ortamda yüksek şişme özelliği gösteren, yüksek molekül ağırlıklı üç boyutlu polimerik malzemelerdir. Ağ yapısında yüksek miktarda su tutabilen bu malzemeler, şişme sonrasında yapısal formunu koruyabilmektedir. Biyomimetik uygulamalarda oldukça sık tercih edilen hidrojeller, doğal doku elastikiyeti benzerliği, nemli ortam sağlayabilmesi ve yara eksüdasının absorbe etme ayrıca gözenekli yapısı sayesinde gaz difüzyonunu sağlayarak anaerobik bakterilerin büyümesini önlemektedir [21]. Tüm bu özellikleri ile hücre dışı matris ile yapısal benzerlik göstermesi, hidrojelleri biyolojik uygulamalar için uygun kılmaktadır [22].

Hidrojellerin biyomedikal uygulamalardaki kullanımı uzun yıllardır incelenmektedir. Bu malzemelerin mühendislik potansiyeli günümüzde kimya ve biyoloji biliminin keşifleriyle büyümeye devam etmektedir. Yeni yaklaşımlarla elde edilen hidrojeller hem sentetik hem de doğal polimerleri ve fonksiyonel alanlarını içeren karmaşık hidrojellerin atmasına ve bu sayede biyomedikal uygulamalarda klinik ve araştırma uygulamalarında özellikle rejeneratif tıpta sıkça

kullanılmasına yol açmıştır [22].

Doğal ve sentetik polimerlerden hazırlanan enjekte edilebilir hidrojellerin hem avantaj hem de dezavantajları geniş çapta incelenmektedir. Örneğin, hyaluronik asit, kitosan, aljinat, gibi doğal polisakkaritlerden elde edilen hidrojeller, biyouyumlulukları ve biyobozunurlukları nedeniyle rejeneratif tıp uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak doğal polimerlerden elde edilen hidrojellerin, poli(etilen glikol) (PEG), poli(vinil alkol) (PVA) gibi sentetik polimerlerden elde edilen hidrojellere göre bozunma hızlarındaki ayarlamaların zorluğu ve düşük mekanik özellik göstermeleri nedeniyle uygulamaları sınırlı kalmıştır. Bu nedenle hem doğal hem sentetik polimerlerin özelliklerini taşıyabilen hidrojellerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır [23].

2.4.1. Hidrojellerin Yara Örtüsü Olarak Kullanımı

Hidrojeller, yapısal bütünlüğü polimer zincirleri arasındaki fiziksel ve kimyasal moleküller arası çapraz bağlarla sağlanan yüksek oranda hidratlı polimerler ya da önemli miktarda su tutma yeteneğine sahip, bununla birlikte suda çözünmeyen üç boyutlu polimer ağları olarak tanımlanmaktadır [19]. Bu üç boyutlu polimerik ağ gözenekleri büyük miktarda su veya sulu çözelti tutabilmektedir. Bununla birlikte yapısının %90'ından fazlasının sudan oluşması nedeniyle yara yüzeyinde nemli bir ortamın yaratılmasını mümkün kılmaktadır. Böylece doku onarımına fayda sağlayabilmektedir. Hidrojeller doğal hücre ortamını simüle edebildikleri, yumuşak ve sert dokulara uyum sağlayabildikleri ve kontrol edilebilir biyolojik, fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip oldukları için biyomalzemelerin tercih edildiği çeşitli uygulama alanlarında birincil tercih haline gelmiştir [24, 25].

İdeal hemostatik hidrojeller hızlı iyileşmeye, iyi biyouyumluluğa, mükemmel mekanik özelliklere, yeterli yapışma, şekil uyumluluğu ve yarayı yeterli oranda kapatma gibi özelliklerine sahip olmalıdır [24].

Yara iyileşme süreci bir matris üzerinde hücrelerin temas yüzeyinin artırılarak çoğalmasını içermektedir. Matris, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar tarafından hücresel süreçlere verilen tepkiyi güçlendirmek için doğal olarak üretilen moleküllerden türetilmektedir. Bu alanda polimerlerden elde edilen hidrojel yapıları pansumanlar antibakteriyel, hücre çoğalmasını ve anjiyogenezi destekleyen, immün modülatör özelliklerin iyileşme süreci için oldukça uygun olduğu düşünülmektedir [25, 26].

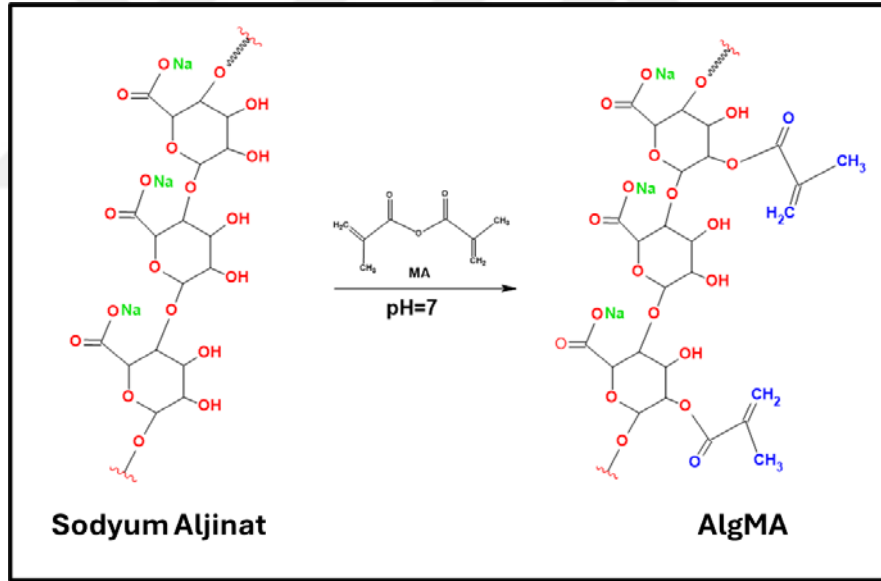
2.4.1.1. Aljinat

Kahverengi alglerden elde edilen aljinat, β -1,4-glikosidik bağlarla düzensiz bir şekilde bağlanan α -L-gluronik asit (G bloğu) ve β -D-mannuronik asitten (M bloğu) oluşan bir tür polianyonik polisakkarittir [27]. Aljinatın elde edildiği doğal kaynağı, G ve M birimlerinin göreceli olarak sayısını ve bu birimlerin sayısına bağlı olarak polimer zinciri boyunca sıralı düzenini ve buna bağlı olarak fiziksel özelliklerini de etkilemektedir. Ticari olarak aljinat çoğunlukla Laminaria, Acophyllum, Sargassum, Macrocystis gibi su yosunlarından elde edilir. Aljinat, su tutma, düşük konantrasyonlarda çözelti oluşturma ve çeşitli koşullar altında jel oluşturma kapasitelerinden dolayı stabilizatör, kıvam artırıcı ve film oluşturucu ajan olarak oldukça tercih edilmektedir [26].

Aljinat, trombositlerin ve eritrositlerin yapışmasına izin verme ve yara iyileşme tepkilerini artırma özelliğine sahip olması nedeniyle, hücre, enzim ve peptit immobilizasyonunu içeren doku onarım uygulamaları ve ayrıca ilaç dağıtım sistemleri için destekleyici matrislerin imalatı için tercih sebebi olmaktadır. Bununla birlikte hidrofilik olması nedeniyle yara oluşumunu ve bakteriyel enfeksiyonu azaltmaya yardımcı olan ortam sağlar. Aljinatlar, birçok biyomedikal uygulama için önemli bir polisakkarit sınıfındandır. Biyoyumlu olmalarına rağmen, biyomakromoleküllerin biyolojik olarak yavaş parçalandıkları bilinmektedir [28]. Aljinat polimeri G bloklarındaki karboksilat anyonları ile iki değerlikli kationlar arasında (örneğin Ca^{2+} , Mg^{2+} gibi) yumurta kabuğu şeklinde koordinasyon sağlayabilmektedir. Ca^{2+} çapraz bağlı aljinat bazlı hidrojeller, kan ile etkileşime girdiğinde Na^+ iyonlarının değişimi yoluyla bol miktarda Ca^{2+} iyonları açığa çıkmaktadır, böylece pıhtılaşma faktörleri VII, IX ve X ve trombosit agregasyonunu hızlandırır [24] ve kalsiyum iyonları pıhtılaşma kademesinde bir kofaktör olarak çalıştığı için pıhtılaşma basamaklarını etkinleştirerek yara iyileşme sürecini hızlandırabilmektedir [29, 30]. Ayrıca Ca^{2+} ile oluşturulan fiziksel bağ, kimyasal olarak bağlanmış polimerik moleküle gerilebilirlik ve mekanik dayanıklılık özellikleri kazandırarak stres altında enerjiyi dağıtabilen bir polimer ağı sağlamaktadır [31]. Aljinat polimerlerinin özellikleri, M/G bloklarının bileşimi, aljinatın molekül ağırlığı, aljinat kaynağı, çapraz bağlı iyon türleri ve iyonik kuvvet ile ilgilidir. Aljinat polimer zincirinin sertliği, $MG < MM < GG$ 'nin değişimini göstermektedir. Bu nedenle, molekül ağırlığı, iyonik kuvvetindeki artış, çözelti viskozitesindeki artışa yol açarak jel özelliklerini etkilemektedir [24].

Aljinat hidrojenleri oldukça higroskopik (atmosferik nemi absorbe etme kapasitesi), nemlendirici ve kanamayı etkili bir şekilde kontrol etme özelliklerine sahiptir. Böylece yara iyileşmesini destekleyebilmektedir [24].

Aljinat hidrojenlerinin kararlılığını arttırmak ve çözünmesini önlemek amacıyla, Ca^{2+} çapraz bağlı aljinat hidrojenlerinden daha kararlı olan karboksil veya hidroksil yan gruplarının modifikasyonu ile elde edilen metakrilat grupları eklenerek (Şekil 2.5) foto-çapraz bağlanabilir hidrojenler elde edilebilmektedir. Bu esterifikasyon reaksiyonu glisidil metakrilat, 2-aminoetil metakrilat ve metakrilik anhidrit ile oluşturulabilmektedir. Elde edilen metakrile aljinat hidrojenleri UV-VIS alanda ışın ile çapraz bağlanabilmektedir [32]. Çift bağ foto polimerizasyonu, toksik özellikleri düşük uygun yapışma mukavemetli hidrojenlerin hazırlanmasında sıklıkla tercih edilmektedir. Ayrıca sodyum aljinatın (SA) metakrilasyonu ile elde edilen metakrile aljinat (AlgMA) ve fotobaşlatıcı kullanarak sentezlenen aljinat içeren hidrojenler doku mühendisliği uygulamalarında tercih edilmektedir [33].

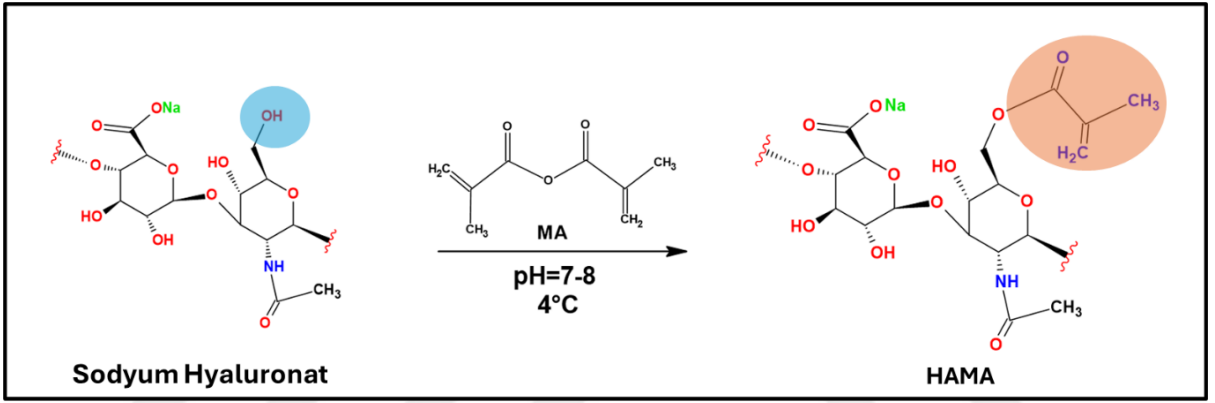


Şekil 2.5 Sodyum Aljinatın metakrilik anhidrit (MA) ile esterifikasyon reaksiyonu gösterimi (Chemsketch ile hazırlanmıştır).

2.4.1.2. Hyaluronik Asit

Endojen bir polisakkarit olan hyaluronik asit, sülfat içermeyen bir glikozaminoglikandır. Hyaluronik asit (HA) yapısında çok sayıda karboksil ve hidroksil grubu bulunur. Bu gruplar yüksek düzeyde hidrofilitik özellik sağlar. Bu özellik HA'nın hücre yapışmasını artırırken uygulanan doku üzerinde oluşan kanamayı da absorbe etmesini, nemli ortam oluşumunu, yaralı doku yüzeyinin kurumasını önleyerek iyileşmesini destekleyen bir yapı olmasını ve yüksek su depolama kapasitesine sahip olmasını sağlar [26, 29]. Ek olarak,

doğal şişme özelliği nedeniyle, hücre yapışmasını ve göçünü sağlamasıyla fibroblast proliferasyon etkisi yoluyla yara yüzeylerinden kolajen üretimini sağladığı için yara iyileşmesi için en uygun polisakkaritlerden biridir [30]. Ayrıca HA'nın biyoyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği, kimyasal modifikasyon kolaylığı ve immünolojik olarak nötr olması nedeniyle hemostaz, inflamasyonun azaltılması ve yaralı dokunun yeniden şekillenmesini teşvik ederek yara iyileşmesini desteklemesi bakımından biyomedikal ve farmasötik uygulamalarda sıklıkla tercih edilen bir polimer olmaktadır. Hyaluronik asidin epitel dokuda epitelizasyonu sağlaması ve fibroblast proliferasyonu yoluyla yara bölgesinde kolajen sekresyonunu artırması nedeniyle doku mühendisliği uygulamalarında ve ilaç dağıtım sistemlerinde kullanımı araştırılmaktadır [26, 34].



Şekil 2.6 Sodyum hyaluronatın metakrilik anhidrit (MA) ile esterifikasyon reaksiyonu gösterimi (Chemsketch ile hazırlanmıştır).

HA, güçlü bir anjiyonez indükleyicisidir [35]. Mevcut mikrodamarlardan büyüme yoluyla yeni kılcal damarlarının oluşumu olan anjiyogenez, doku ve organ gelişimi, yara iyileşmesi gibi normal fizyolojik süreçlerin ve patolojik gelişimlerin merkezidir. Böylece yaralı dokularda HA, anjiyogenezi tetikleyerek yaralı bölgede kılcal damarların oluşumunu sağlamaktadır. Bu uygulamalar için türevlendirilmemiş hyaluronik asidin yanısıra türevleri de kullanılmaktadır. Hyaluronik asidin modifikasyonu, hidroksil ve karboksi gruplarının kimyasal türevlendirilmesi ile gerçekleştirilmektedir [36]. Hyaluronik asidin birçok kimyasal modifikasyonu literatürde yer almaktadır. HA'in en yaygın modifikasyonu, birincil alkol grubunun metakrilik anhidrit ile esterifikasyonudur (Şekil 2.6) [37]. Zhang ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada [38] metakrilasyon yolu ile türevlendirilmiş hyaluronik asidin in vitro çalışmalar süresince 3 gün içerisinde anjiyogenezi indüklediği gözlemlenmiştir. Foto-başlatılmış serbest radikal polimerizasyonu için metakrilat grupları ile elde edilen modifikasyonu doku mühendisliği uygulamalarında son yıllarda sıklıkla tercih edilmektedir.

Ayrıca hyaluronik asit bazlı hidrojeller nemli bir ortam sağlama ve enfeksiyonlara karşı koruma sağlayabildikleri ve bununla birlikte yara akıntılarını ortadan kaldırma, cilt yenilenmesini sağlayarak yara izini kapatma gibi özelliklerinin de olması nedeniyle [38] doku mühendisliği uygulamaları içerisinde yara örtüleri uygulamaları konusunda sıklıkla tercih edilebilmektedir.

2.4.2. Hidrojellerin Hazırlanması

Hidrojeller, sulu çözeltilerde molekül zincirlerinin farklı mekanizmalar yoluyla çapraz bağlanmasıyla oluşturulurlar [39]. Termal ve iyonik jelleşme, kendi kendini tamamlama ve elektrostatik çapraz bağlama gibi yöntemlerle fiziksel metotlar jelleşmeyi kolaylıkla sağlayabilmektedir. Yara tedavilerinde kullanılmak üzere hidrojeller, fiziksel çapraz bağlama veya kimyasal çapraz bağlama ile sentezlenebilmektedir. Çapraz bağlama yöntemi, hidrojellerin jelleşme hızlarını ve mekanik özelliklerini etkileyen önemli bir faktördür. Ayarlanabilir özelliklere sahip hidrojeller, farklı çapraz bağlama yöntemlerine dayanmaktadır ve böylece farklı cilt yaralarının ihtiyaçlarını karşılamayı amaçlamaktadır. Çapraz bağlanma mekanizmalarının ayarlanmasıyla hem tersinir hem de geri döndürülemez çapraz bağlar elde edilebilmektedir. Genel olarak polimerler fiziksel ve kimyasal olarak çapraz bağlanabilmektedir [4, 40].

2.4.2.1. Fiziksel Çapraz Bağlama

Fiziksel olarak çapraz bağlanma; hidrojen bağı, iyonik bağlar ve bunun yanısıra hidrofobik ve supramoleküler etkileşimleri içermektedir [40]. Fiziksel olarak çapraz bağlanan hidrojeller genellikle çevresel duyarlılık ve kendi kendini iyileştirme ve enjekte edilebilirlik özelliklerini sağlamaktadır. Bununla birlikte, düşük mekanik özellikleri ve zayıf stabiliteleri nedeniyle klinik uygulamaları sınırlı kalmaktadır. Mekanik özelliklerini iyileştirmek amacıyla, çeşitli çapraz bağlama yöntemleri üzerine çalışmalar artmaktadır [4, 40].

2.4.2.2. Kimyasal Çapraz Bağlama

Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojellerle karşılaştırıldığında, kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojeller güçlü mekanik özelliklere ve yüksek stabiliteye sahip olmaktadır. Ancak, kimyasal başlatıcıların ve çapraz bağlama ajanlarının kullanımı sitotoksitesiyi arttırmaktadır ve kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojellerin biyouyumluluğunu bozmaktadır. Bu nedenle, yeşil ve toksik olmayan çapraz bağlama ajanlarının ve başlatıcıların tasarımı yeni çalışmaların odak noktası olmaktadır [4].

Foto-polimerizasyon yöntemi ile kimyasal çapraz bağlama; polimer çözeltisinin UV veya görünür ışığa maruz bırakılmasıyla foto-başlatıcının serbest radikaller oluşturması ve polimerizasyonu radikaller üzerinden başlatması sağlanmaktadır. Bu şekilde çapraz bağlanan polimerler genellikle ışıkla etkileşime giren akrilat veya metakrilat grupları içermektedir [41]. Görünür ışık (dalga boyu: 400–700 nm), hücre yüklü hidrojellerin çapraz bağlanmasını başlatmak için UV ışığından daha uyumlu bir ışık kaynağıdır [42]. UV ışığına kıyasla görünür ışığın dokulara daha yüksek derinliklerde ve daha düşük enerjiyle nüfuz ettiği gösterilmiştir. Bu özellik, görünür ışığı minimal invaziv prosedürler için yerinde enjekte edilebilir materyaller geliştirmek için uygun hale getirir [23]. Bu anlamda, son yıllarda en çok çalışılan foto polimerize polimerleri akrilat veya metakrilatlanmış poli(etilen glikol) (PEG) gibi modifiye edilmiş biyouyumlu polimerlerden veya metakrilatlanmış dekstran, hyaluronik asit, aljinat gibi modifiye edilmiş doğal polisakkaritlerden türetilen polimerlerdir [3]. Metakrilik/metakriloil (MA) grupları, biyopolimer çözeltilerinin foto çapraz bağlanması için foto başlatıcılar gibi çok çeşitli başlatıcılar kullanılarak etkinleştirilebilir [31]. Örneğin, tip I (bölünme tipi) fotobaşlatıcı lityum fenil-2,4,6-trimetil benzoilfosfinat (LAP), uygun suda çözünürlüğü, hücre uyumluluğu ve LAP'ın düşük dozlarla sağladığı hızlı ve verimli başlatma nedeniyle canlı hücrelerin varlığında tiyolen hidrojellerinin oluşumu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Tip I fotobaşlatıcı sistemler tek başına foto polimerizasyonu başlatmak için yeterli olmaktadır. Tip II başlatıcı sistemler (Eosin Y, Rutenyum gibi) jelleşme kinetiğini sağlamak için yardımcı ajanlara ihtiyaç duymaktadır.

3. YÖNTEM

3.1. KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER VE CİHAZLAR

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- Aljinik Asit Sodyum Tuzu, Sigma&Aldrich, ABD
- Hyaluronik Asit, ACROS
- Metakrilik Anhidrit (MA, %94), Sigma&Aldrich, Almanya
- Sodyum Hidroksit (%99.0), ISOLAB, Almanya
- Fosfat Tuz Tamponu (Phosphate Buffer Saline (PBS)), Biowest
- Lityum Fenil-2,4,6-trimetilbenzoilfosfinat, Sigma&Aldrich, Almanya
- Kalsiyum Klorür (%96.0), Sigma&Aldrich, Almanya
- Etanol (%99.9), ISOLAB, Almanya
- Dimetil Sülfoksit (DMSO), Sigma&Aldrich, ABD

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Liyofilizatör, Labconco, -60°C
- UV-VIS Light, Valo Cordless, ABD
- Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR), Perkin Elmer Spectrum 200-ATR
- Scanning Electron Microscope (SEM), Carl Zeiss, Ultra Plus
- BET Yüzey Alanı ve Gözenek Boyutu Analiz Cihazı, Anton Paar, NOVA 2200e
- ZwickiLine 20.5 TH Mekanik Test Cihazı, Zwick Roell, Almanya
- Etüv, MMM Grup Ecocell, Almanya

3.2. DENEYSEL YÖNTEM

3.2.1. Aljinat Metakrilat (AlgMA) Sentezi

AlgMA sentezi için sodyum aljinattan (SA) 2,5g tartıldı. 50 mL distile su reaksiyon kabına alındı. Üzerine tartılan 2,5g SA eklenip tekrar 50 mL distile su eklendi. Manyetik karıştırıcı ve balık ile SA tamamen dağıtılarak homojen bir çözelti elde edildi. Bu aşamadan sonra reaksiyon karanlık ortamda gerçekleştirilmesi gerekiyordu. Bunun için alüminyum

folyo ile reaksiyon ortamı kapatıldı ve reaksiyona 37,5 mL MA damla damla ilave edildi. MA ilavesi tamamlandıktan sonra reaksiyon 15dk karışmaya bırakıldı. Daha sonra pH kontrolü yapıldı. MA'nın oldukça asidik bir ortam oluşturması nedeniyle reaksiyonun 3 gün boyunca 5M NaOH ile pH'ı 7-8 aralığında sabitlendi. Bu reaksiyon sistematik olarak Şekil 2.5'te gösterildi.

3.günün sonunda reaksiyon 200mL EtOH ile çöktürüldü. Çöken madde süzülerek ortamdaki alandı ve 100mL distile su ile karıştırıcı üzerinde tekrar çözünmesi sağlandı. Çözünen madde 12-14 kDa selüloz membran ile diyaliz alındı. Diyaliz 7 gün boyunca karanlık ortamda manyetik balık eşliğinde gerçekleştirildi. Diyaliz sonunda malzeme -80°C 'de dondurulduktan sonra Labconco marka liyofilizatörde dondurarak kurutma yöntemiyle kurutuldu.

3.2.2. Hyaluronik Asit Metakrilat (HAMA) Sentezi

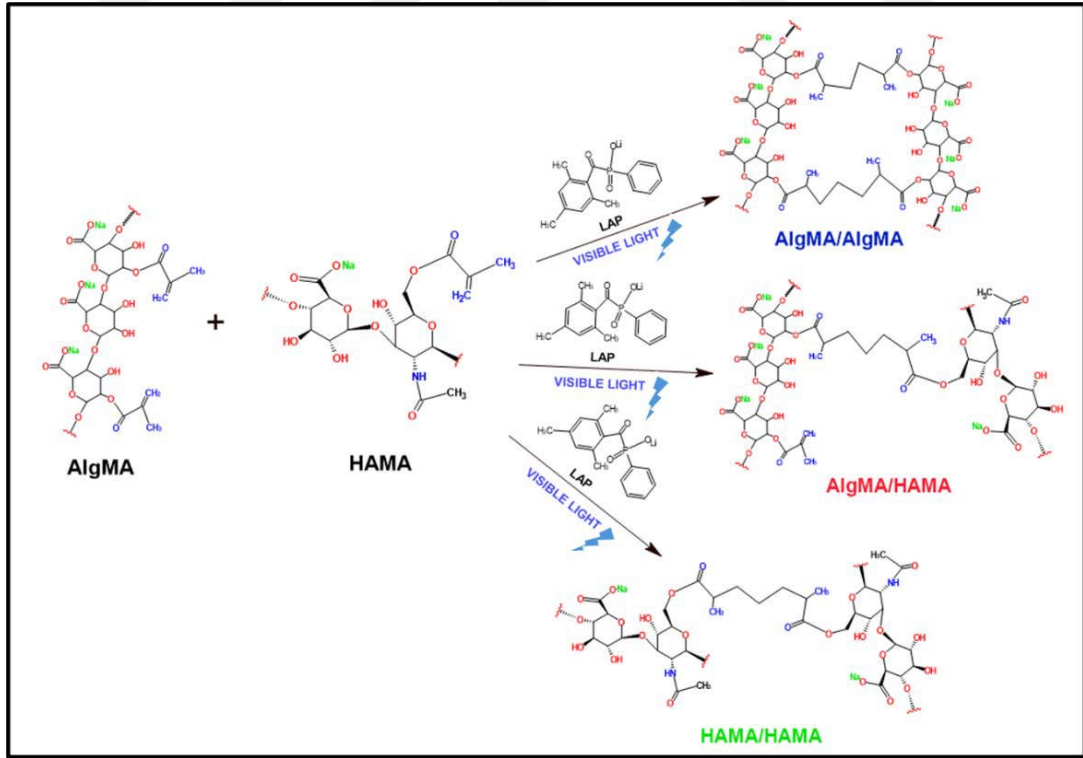
HAMA sentezi için öncelikle 1g sodyum hyaluronat (SH), 100mL distile suda manyetik karıştırıcı ile dağıtılması sağlandı. Bunun için 24 saat beklendi. Tamamen homojen bir çözelti elde edildikten sonra reaksiyon karanlık ve buz banyosu ortamına alındı. Hyaluronik asit yoğun ve viskoz bir madde olması ve soğuk ortamda viskozitesinin azalması nedeniyle reaksiyon buz banyosunda gerçekleştirilmektedir. Buz banyosuna ve karanlık ortama alındıktan sonra 8mL MA damla damla ilave edildi. MA ilavesi sonrasında reaksiyon buz banyosunun kontrolü ve reaksiyonun pH değerinin 10M NaOH kullanılarak 7-8 aralığında kontrolü ile devam etti. Reaksiyon sistematik olarak Şekil 2.6'te gösterildi. Reaksiyon 24 saat sürdürüldü. 24 saat sonrasında pH'ın sabitlendiği görüldükten sonra 12-14 kDa selüloz membranlar ile diyalize alındı. Diyaliz karanlık ortamda ve +4 derecede 7 gün boyunca sürdürüldü. Diyaliz sonrasında elde edilen malzeme -80°C 'de dondurulduktan sonra Labconco marka liyofilizatörde dondurarak kurutma yöntemi ile kurutuldu [43].

3.2.3. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Hazırlanması



Şekil 3.1 Jel çözeltileri ve çapraz bağlanmış hidrojelini hazırlanma aşamaları (BioRender ile hazırlanmıştır).

Hibrit hidrojjeller katı oranı %2.5 AlgMA / (%1/%2) HAMA ve %5 AlgMA / (%1/%2) HAMA olacak şekilde tasarlanmıştır. İlk olarak %2.5 AlgMA çözeltisi için PI-PBS çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için %0.1 (w/v) PI olacak şekilde %5 AlgMA çözeltisi 50°C’de 1 saat ısıtıcı-manyetik karıştırıcı ile manyetik balık yardımıyla karıştırdı. HAMA çözeltisi için katı oranı %1 ve %2 HAMA (20 mg/1mL PBS ve 40mg/ 1mL PBS) olacak şekilde PBS ortamında iki çözelti hazırlandı. Çözeltiler 50°C’de 2 saat ısıtıcı-manyetik karıştırıcıda manyetik balık yardımıyla karıştırdı. Hazırlanan çözeltiler eşit hacimlerde karıştırdı. Çözeltinin karışması için 2 dakika vorteks kullanıldı. Karışan çözeltilerden 200 µL alınarak hazır olan PDMS kalıba (en uzunluğu= 10 mm, kalınlığı 2 mm) alındı. Kalıp içerisine alınan çözelti 240 saniye boyunca görünür ışık ışınması (dalga boyu= 385-515nm, intensity=900-1300 mW/cm², Valo™ Cordless Curing Light) ile kovalent olarak çapraz bağlanması gerçekleştirildi. Numuneler kalıptan çıkarıldıktan sonra AlgMA biyopolimerinin iyonik çapraz bağlanması için 5 dakika boyunca 3mL CaCl₂ çözeltisi içerisine bırakıldı. 5 dakika sonunda çözelti içerisinden alınan hidrojel aşamalı yıkama prosesine tabii tutularak reaksiyon sonrası açığa çıkan artık kimyasalların ayrılması sağlandı. Hazırlanan hidrojel -80°C’de dondurulduktan sonra liyofilizatör cihazı ile dondurarak kurutma yöntemi kurutuldu.



Şekil 3.2 AlgMA/HAMA hibrit hidrojjellerinin sistematik olarak hazırlanma şeması (Chemsketch ile hazırlanmıştır).

Tablo 3.1 Hibrit hidrojellerin formülasyonu.

Formülasyon	AlgMA %(w/v)	HAMA %(w/v)	LAP %(w/v)	PBS (μ L)	CaCl ₂ (M)
1	%2,5	%0	%0.1	1000	1
2	%2,5	%1	%0.1	1000	1
3	%2,5	%2	%0.1	1000	1
4	%5	%0	%0.1	1000	1
5	%5	%1	%0.1	1000	1
6	%5	%2	%0.1	1000	1

3.2.4. AlgMA ve HAMA Biyopolimerlerinin Kimyasal Karakterizasyonu

3.2.4.1. AlgMA ve HAMA Biyopolimerlerinin ¹H NMR Analizi

AlgMA ve HAMA biyopolimerlerinin yapısına çifte bağ eklenmesinin belirlenmesi amacıyla AlgMA ve HAMA biyopolimerlerinin ayrı ayrı proton nükleer manyetik rezonans (¹H NMR) spektroskopisi sodyum aljinat ve sodyum hyaluronat ile karşılaştırmalı analizi şeklinde gerçekleştirildi. Bu analiz ile polimerlerin üzerindeki fonksiyonel grupların metakrilat grupları ile yer değiştirmesi ve süstitüsyon derecesi değerlendirildi.

Tüm NMR analizleri Anadolu Üniversitesi Doping ve Narkotik Maddeler Analizi (DOPNA) Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2.4.2. AlgMA ve HAMA Biyopolimerlerinin FTIR Analizi

AlgMA ve HAMA biyopolimerlerinin analizi Fourier Transform Infrared (FTIR) spektrumuyla belirlenmiştir. FTIR analizi Perkin Elmer Spectrum FTIR 200-ATR model spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirildi. Modifiye edilen AlgMA ve HAMA biyopolimerlerinin liyofilize formlarının spektrumları sodyum aljinat ve sodyum hyaluronat polimerlerinin FTIR spektrumları ile karşılaştırılarak grafik üzerinde karakteristik pikler belirlendi.

3.2.5. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Kimyasal Karakterizasyonu

3.2.5.1. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin FTIR Analizi

AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin yapısal analizi Fourier Transform Infrared (FTIR) spektrumuyla belirlendi. FTIR analizi Perkin Elmer Spectrum FTIR 200-ATR model spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirildi. Çapraz bağlanan AlgMA/HAMA hidrojelleri -80°C’de dondurulduktan sonra liyofilize edildi. Liyofilize AlgMA/HAMA çapraz bağlı hibrit hidrojellerinin çapraz bağlanma durumu analiz sonucu elde edilen FTIR spektrumları ile belirlendi.

3.2.6. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Yapısal Karakterizasyonu

3.2.6.1. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin SEM Analizi

AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin morfolojik özellikleri Eskişehir Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi’nde Carl Zeiss marka Ultra Plus model Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) kullanılarak 5kV hızlandırma geriliminde gerçekleştirildi. Liyofilize edilmiş hidrojellerin yüzeyleri elektriksel iletkenlik sağlamak için altın/paladyum ile kaplanmıştır. Elde edilen SEM görüntüleri Şekil 4.11 ve 4.12’de sunuldu.

3.2.6.2. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin BET Analizi

BET analizi, maddelerin özgül yüzey alanlarını, gözenek hacimlerini, ortalama gözenek çaplarını ve azot adsorpsiyon/desorpsiyon eğrilerini ölçmek için kullanılmaktadır [44]. AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin yüzey alanları Brunauer-Emmet-Teller (BET) yöntemi ile Quantachrome, Nova 2200e Surface Area & Pore Size Analyzer cihazı ile analiz edildi. Liyofilize edilen hibrit hidrojeller 3 saat oda sıcaklığında vakum etüvünde kurutulduktan sonra 2 saat oda sıcaklığında içerisinde bulunan nemi uzaklaştırmak için degaz işlemine tabii tutuldu. Yüzey alanı ölçümü için 77 K’de azot gazı adsorpsiyonu ve desorpsiyonu incelenmiştir. Elde edilen N₂ adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrileri Şekil 4.13 ve 4.14’te sunuldu.

3.2.7. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Fiziksel Karakterizasyonu

3.2.7.1. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Şişme Testi

Hidrojellerin şişme davranışlarını belirlemek için farklı oranlarda AlgMA ve HAMA biyopolimerleri ile pre-polimer solüsyonları hazırlanarak tek tek kalıplara alındı. Çapraz bağlanmaları için görünür ışığa maruz bırakıldı. İkincil çapraz bağlanma için 1M CaCl₂ çözeltisi içerisinde 10dk tutulduktan sonra yıkanmıştır. Daha sonra dondurularak kurutuldu.

Ölçüm için hazır hale getirilen hidrojellerin kuru ağırlıkları tartılarak 37°C’de PBS çözeltisine daldırıldı. Ölçümler 1,3,5,7 ve 24. saatlerde tartımları alınarak gerçekleştirildi. Örnekler 3’er adet olacak şekilde hazırlandı ve deney sonucu elde edilen sonuçların ortalamaları sunuldu. Örneklerin yüzde şişme oranı aşağıdaki eşitlik (3.1) kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Şişme Oranı (\%)} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad (3.1)$$

Burada W_0 kuru ağırlığı belirtirken, W_t ise örneklerin ıslak ağırlığını belirtmektedir.

3.2.7.2. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Sıkıştırılma ve Çekme Testleri

Tek eksenli sıkıştırma testleri, 500N yük hücresi kullanılan Zwick Roell 20.5 TH test cihazı ile İstanbul Teknik Üniversitesi’nde yapıldı. Analizler silindirik yapıdaki çapı 8-10mm ve yüksekliği 10mm olan örnekler ile gerçekleştirildi. Tek eksenli sıkıştırma ölçümleri için, hidrojel numuneleri çeşitli gerinim oranlarında sıkıştırıldı. Ölçümler hidrojellerin mekanik dayanımını hesaplamak için 3 kere tekrar edildi. Test öncesinde, jel ile plakalar arasında tam temasın sağlanması amacıyla 0,01N’luk bir başlangıç sıkıştırma teması uygulandı. Bütün ölçümler sabit sıkıştırma hızında gerçekleştirildi.

Tek eksenli çekme testleri için 20N’luk pnömatik çene ve 6 bar basınçla çalışıldı. Analizler plaka şeklinde 2×10mm boyutlarında hidrojellerin hazırlanmasıyla gerçekleştirildi. Tek eksenli uzama ölçümleri için numune uzunluğu ve gerinim hızı sırasıyla 10±1mm ve 1dakika olarak ayarlandı.

3.2.8. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Antibakteriyel Aktivitelerinin İncelenmesi

AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin antibakteriyel aktiviteleri *S. aureus* (gram pozitif bakteri) ve *E. coli* (gram negatif bakteri) bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi inhibisyon bölgesi yöntemi ile değerlendirildi [45]. 200 µL *E.coli* ve *S. Aureus* bakteri süspansiyonu (10^6 CFU mL) katı kültür ortamına (Mueller Hinton Agar, Mast Diagnostics) yayıldı. Kültür ortamı bakteri süspansiyonunu çektikten sonra AlgMA/HAMA hibrit hidrojelleri nazikçe yerleştirildi. Bakteri içermeyen kültür ortamı boş grup olarak ayarlanmış ve pozitif kontrol grubu olarak belirlendi. Kültür ortamları 37 °C’de ve 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda inhibisyon bölgesi incelendi. Karşılaştırma grubu olarak pozitif kontrol ve antibiyotik etkisi ayrı ayrı değerlendirildi.

3.2.9. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin Toksikite Özelliklerinin İncelenmesi

Hibrit hidrojellerin biyouyumluluklarının tayini için sitotoksosite testi Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi-Hücre Kültürü Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Sitotoksosite testi, insan derisi fibroblast hücreleri CCD-986SK (ATCC CRL-1947) kullanılarak yapıldı. Hücre kültürü ortamı, %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin içerecek şekilde DMEM/F12 (Gibco) hazırlandı. CCD hücreleri, %10 FBS ve %1 antibiyotik solüsyonu (streptomisin 100mg/mL ve penisilin 100 U/mL) ile desteklenmiştir. DMEM/F12 büyüme ortamında yetiştirildi. Ortam koşulları %5 CO₂ ve %95 hava nemi olan bir nemli atmosfer ortamı ile standart koşullarda 37°C'de sağlandı.

CCD hücreleri markanın önerdiği prosedürlere göre kültürlenip pasajlandıktan sonra istenilen sayıda hücre plakalara ekildi. Hibrit hidrojellerin sitotoksitesi, malzemelerin direkt olarak hücre besiyerinin bulunduğu ortama bırakılması ve ardından uygun koşullarsa inkübasyonun sağlanması için doğrudan temas testi kullanılarak değerlendirildi. Çalışma boyunca sterilizasyonun önemli bir etken olduğu dikkate alındı. Bu nedenle, deneyden önce tüm liyofilize edilmiş hidrojeller ve ekipmanlar UV sterilizasyonuna tabi tutuldu.

CCD hücreleri, 25 cm² hücre kültürü flaskına, hücre besiyeri içeren ortama inkübasyon şartlarında ekildi. Hücrelerin yapışması ve birbirine karışması için 48-72 saat aralığında kültürlendi. Hücreler, %0.25 Tripsin/EDTA yardımıyla yapışan tabandan kaldırılıp 24 kuyucuklu hücre flaskına yaklaşık 1.5×10^5 sayıda ekildi. Hücrelerin çoğalma hızı incelenerek çoğalma eğrisine ulaştığı gözlemlendikten sonra, ortamdaki besiyeri alınıp, taze besiyeri ortama eklendi. Bu işlem, hidrojellerin doğrudan temas testinde, ortamdaki etkileneceği negatif parametrelerin analizi etkilememesini sağlamak amacıyla yapıldı. İnkübasyon, 37°C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde 24 ve 48 saat boyunca gerçekleştirildi. Her örnek için üç tekrar yapılmıştır. Kontrol için örnek içermeyen kuyular bırakıldı.

İnkübasyon sonrasında CCD hücrelerinin canlılığı MTT testiyle tespit edildi. Bu testte, inkübe edilen örnekler ortamdaki uzaklaştırıldı. Ardından her kuyucuğa MTT solüsyonu içeren reaktif (0,5 mg/mL) ortama eklendi. MTT reaktifinin ışık hassasiyeti olması nedeniyle plakalar alüminyum folyo ile sarıldı. MTT içeren kuyular 37°C'de 2-3 saat inkübe edildi. Test sonrasında reaktif ortamdaki uzaklaştırıldı. Çöken formazan kristallerini çözmek için 150µL dimetil sülfoksit (DMSO, Sigma, ABD) çözeltisi eklendi. Bir süre daha inkübe edildikten sonra hücre metabolizmasını değerlendirmek amacıyla spektrofotometrik yöntem kullanıldı.

Absorbans/optik yoğunluk (OD) bir mikro plaka okuyucu (BioTek Synergy H1, ABD) kullanılarak 570 nm'de ölçüldü [46]. Sonuçlar %100 hücre canlılığına sahip olduğu kabul edilen kontrol hücrelerine karşılık incelenerek canlılık yüzdeleri olarak belirtildi.

3.2.10. AlgMA/HAMA Hibrit Hidrojellerinin *In Vitro* Yara İyileştirme Özelliklerinin İncelenmesi

Hibrit hidrojellerin yara iyileştirme özelliği *in vitro* çizik testi ile incelendi. Bu test *in vitro* hücre göçünü incelemek için basit ve ekonomik bir yöntemdir. *In vitro* çizik testi, hücre tek katmanı üzerinde yara olarak adlandırılan yapay bir çizik/boşluğun yaratılmasıyla oluşan çizik kenarındaki hücrelerin bu çizik kapatmak amacıyla yeni hücre-hücre bağlantılarını tekrar kurana kadar açıklığa doğru hareket edeceği gözlemine dayanmaktadır [47].

Hibrit hidrojellerin yara iyileştirme özelliklerinin incelenmesi için her bir etken madde pozitif ve negatif kontrol olarak ikişer adet gruplandırıldı. CCD-986SK hücreleri 24 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Yöntem P200 pipet ucuyla çizik şeklinde hücre tek katmanında düz bir şekilde bir yara oluşturulmasını ve hücrelerin bir kez 1 mL büyüme ortamıyla yıkanarak kalıntıların giderilmesini içermektedir. Hazırlanan ortam 37°C'de %5 CO₂ içeriğiyle 24, 48 ve 72 saat inkübe edildi. Mikroskopta yara açıklığı ölçülüp, görüntülemesi yapıldı. Çizik 0.saat görüntüsü ilk görüntü olarak kaydedilip inkübasyona devam edildi.

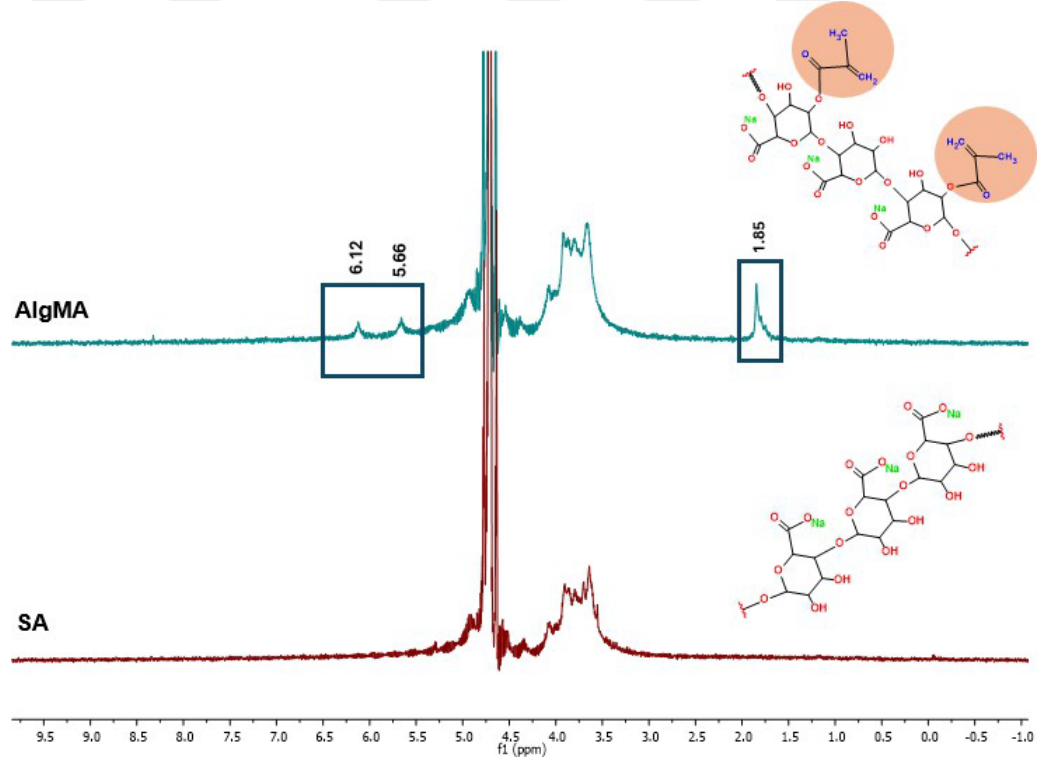
Bu çalışma ile, çizik oluşumu sonrasında iyileştirici hidrojellerin uygulanmasıyla, ciltteki hücrelerin *in vitro* olarak çoğalması ve yarayı kapatmak için bölgeye göç etmesi beklenmektedir. Çalışma sonucunda iyileştirici özellik göstermesi hedeflenen hidrojellerin insan fibroblast hücreleri üzerinde ne oranda etkili tedavi etkisi sunduğuna dair ön fikir oluşturup, gelecek çalışmalar için aday ürün olmasına katkı sağlayacaktır.

4. BULGULAR

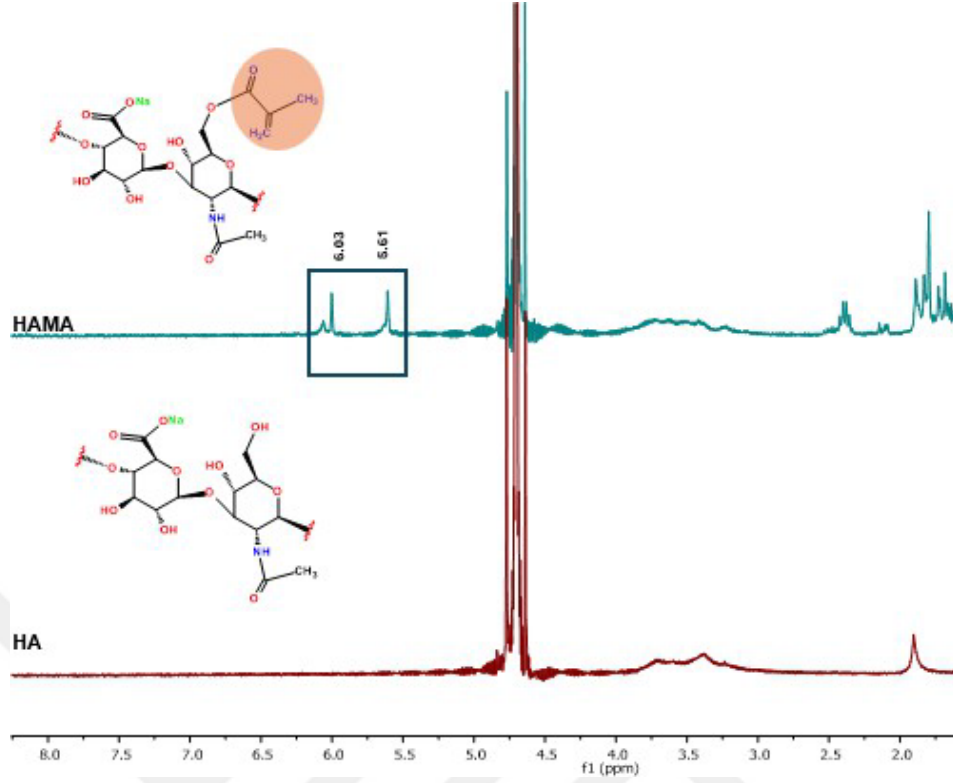
4.1. AlgMA ve HAMA BİYOPOLİMERLERİNİN KARAKTERİZASYON BULGULARI

4.1.1. ^1H NMR Analizi Sonuçları

Modifiye edilen AlgMA ve HAMA biyopolimerlerinin ^1H NMR analizi sonuçları Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de reaksiyon öncesi SA ve HA ile karşılaştırmalı olarak sunuldu.



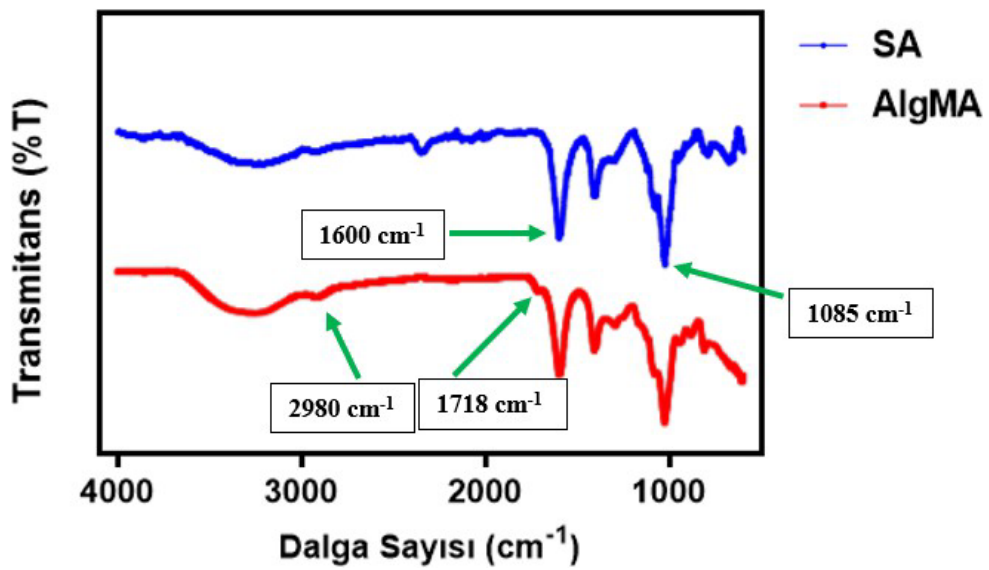
Şekil 4.1 Sodyum Aljinat (SA) ve AlgMA'ya ait ^1H NMR spektrumu.



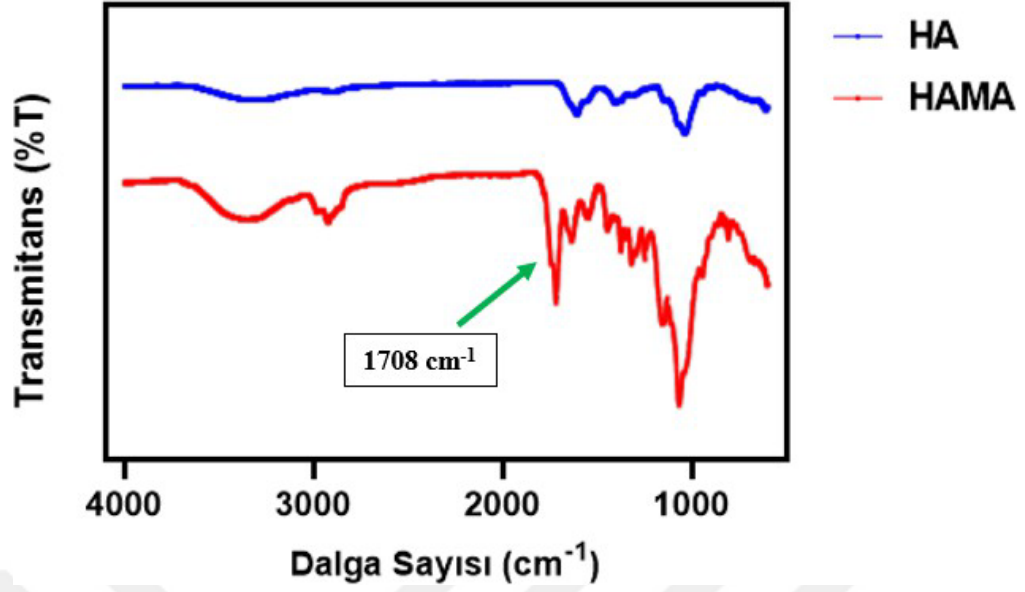
Şekil 4.2 Sodyum Hyaluronat (HA) ve HAMA'ya ait ¹H NMR spektrumu.

4.1.2. FTIR Analizi Sonuçları

Bölüm 3.2.1. ve 3.2.2.'de belirtildiği gibi sentezlenen AlgMA ve HAMA biyopolimerlerinin FTIR analizi bölüm 3.2.4.2'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Karakteristik piklerin belirtildiği FTIR spektrumları Şekil 4.3 ve 4.4'te sunuldu.



Şekil 4.3 Sodyum Aljinat ve AlgMA'ya ait FTIR analizi sonuçları.

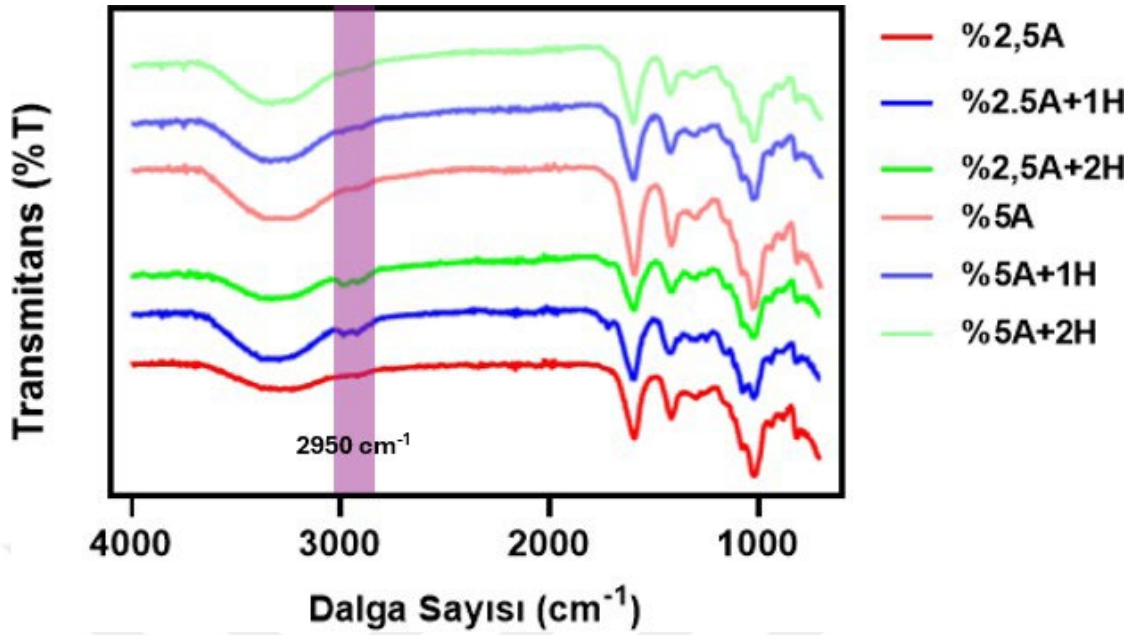


Şekil 4.4 Sodyum Hyaluronat ve HAMA'ya ait FTIR analizi sonuçları.

4.2. AlgMA-HAMA HİBRİT HİDROJELLERİNİN KARAKTERİZASYON BULGULARI

4.2.1. FTIR Analizi Sonuçları

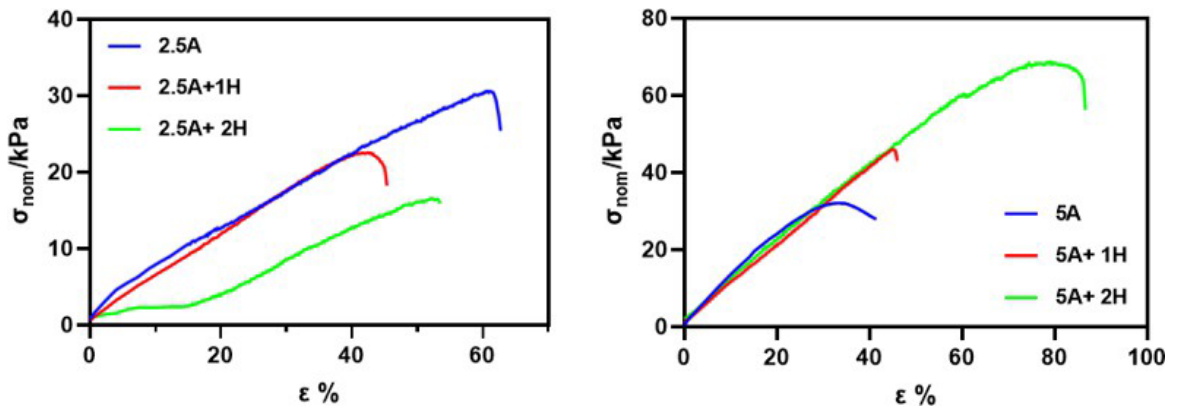
AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin hazırlanması ayrıntılı bir şekilde bölüm 3.2.3'te anlatıldı. Elde edilen yapının aydınlatılması amacıyla bölüm 3.2.5.1'de belirtilen FTIR analizi prosedürüne göre analiz gerçekleştirildi. Analiz sonucunda elde edilen FTIR spektrumları Şekil 4.5'te sunuldu. Çapraz bağlanmış hidrojellerin karakteristik pikleri işaretlendi.



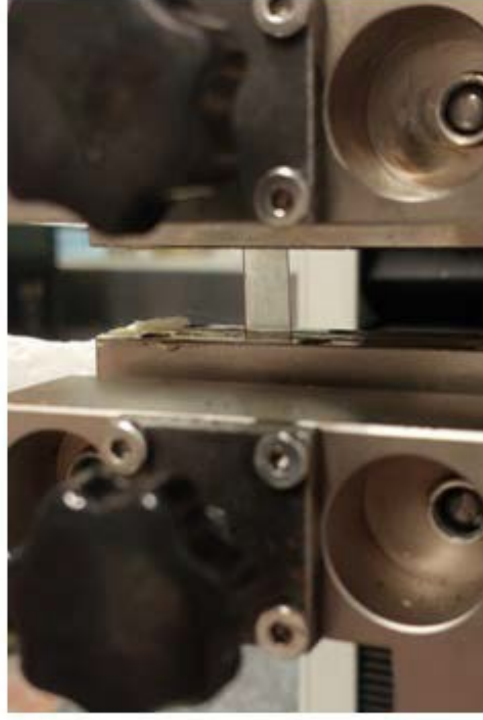
Şekil 4.5 Çapraz bağlanmış AlgMA-HAMA hibrit hidrojellerinin FTIR analizi sonuçları.

4.2.2. Mekanik Dayanım Testi Sonuçları

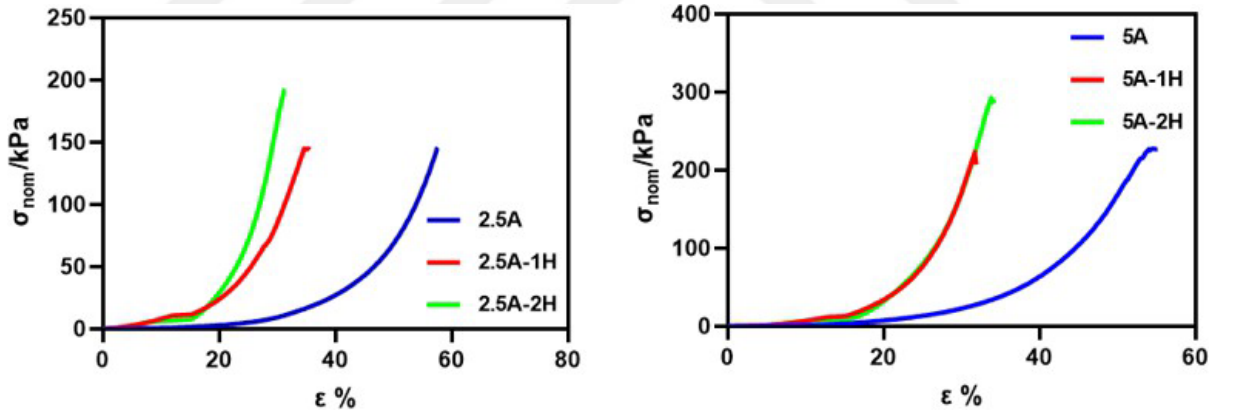
Elde edilen AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin mekanik dayanımını incelemek amacıyla Bölüm 3.2.7.3'te belirtilen sıkıştırma ve çekme testleri gerçekleştirildi. Elde edilen çekme testlerine ait sonuçlar Şekil 4.6'da ve sıkıştırma testlerine ait sonuçlar Şekil 4.8'de sunuldu.



Şekil 4.6 Çapraz bağlanmış AlgMA-HAMA hibrit hidrojellerinin çekme analizi sonuçları.



Şekil 4.7 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin Zwick Roell 20.5 TH test cihazı ile çekme testi uygulama gösterimi.



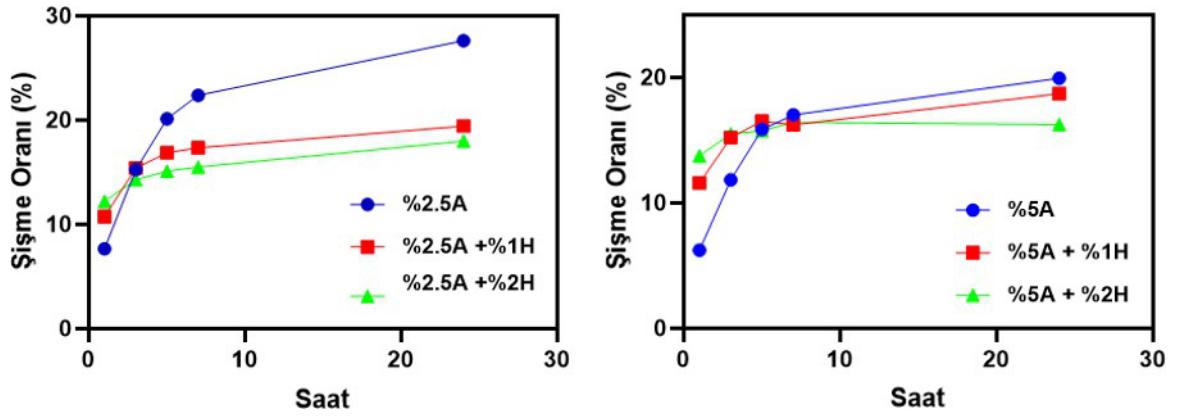
Şekil 4.8 Çapraz bağlanmış AlgMA-HAMA hibrit hidrojenlerinin sıkıştırma analizi sonuçları.



Şekil 4.9 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin Zwick Roell 20.5 TH test cihazı ile sıkıştırma testi uygulama gösterimi.

4.2.3. Şişme Kapasitesi Sonuçları

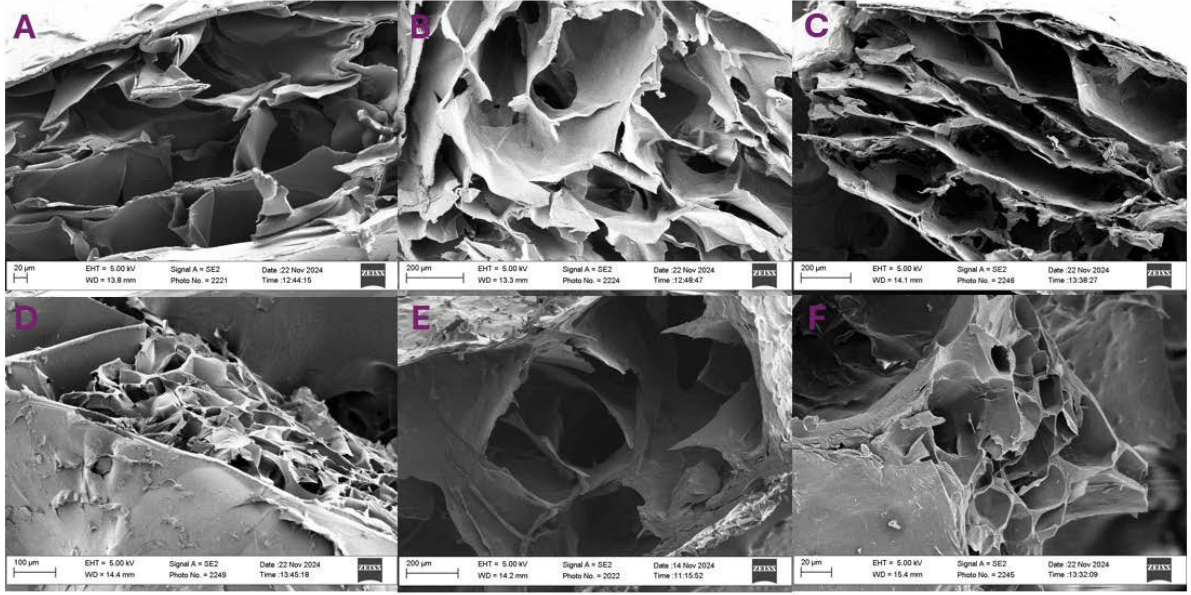
AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin şişme kapasiteleri Bölüm 3.2.7.1’de açıklandığı şekilde incelendi. Eşitlik 1 kullanılarak elde edilen sonuçlara ait şişme kapasitesi grafikleri Şekil 4.10’da sunuldu.



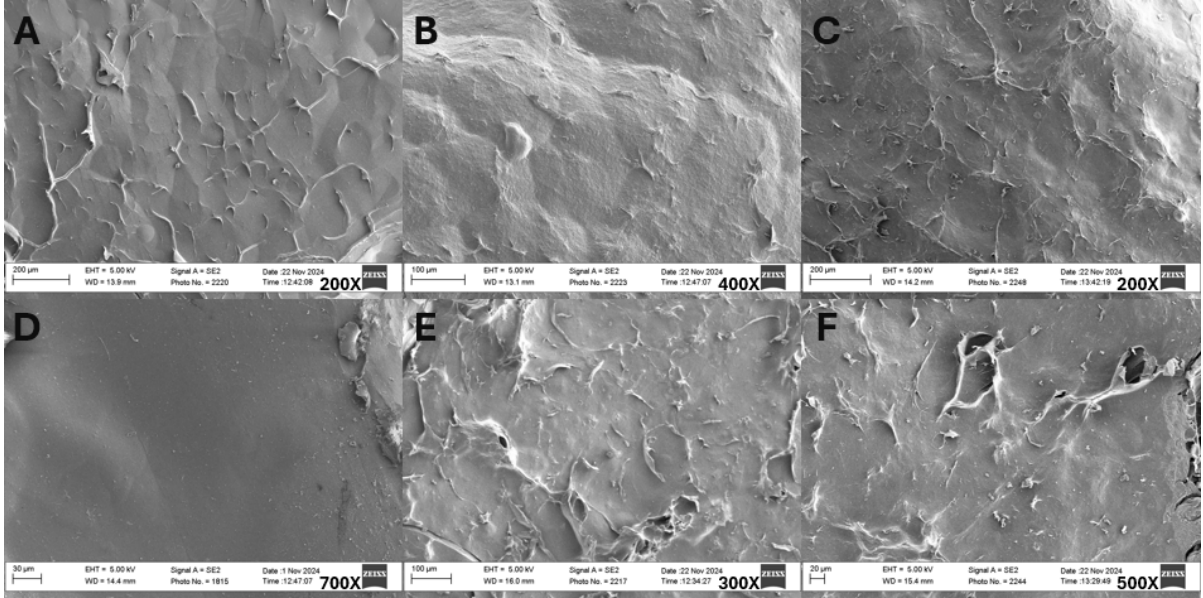
Şekil 4.10 AlgMA-HAMA hibrit hidrojenlerinin şişme kapasiteleri.

4.2.4. Yüzey Özellikleri Sonuçları

Şekil 4.11 ve 4.12’de AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin SEM analizi sonuçları sunuldu.

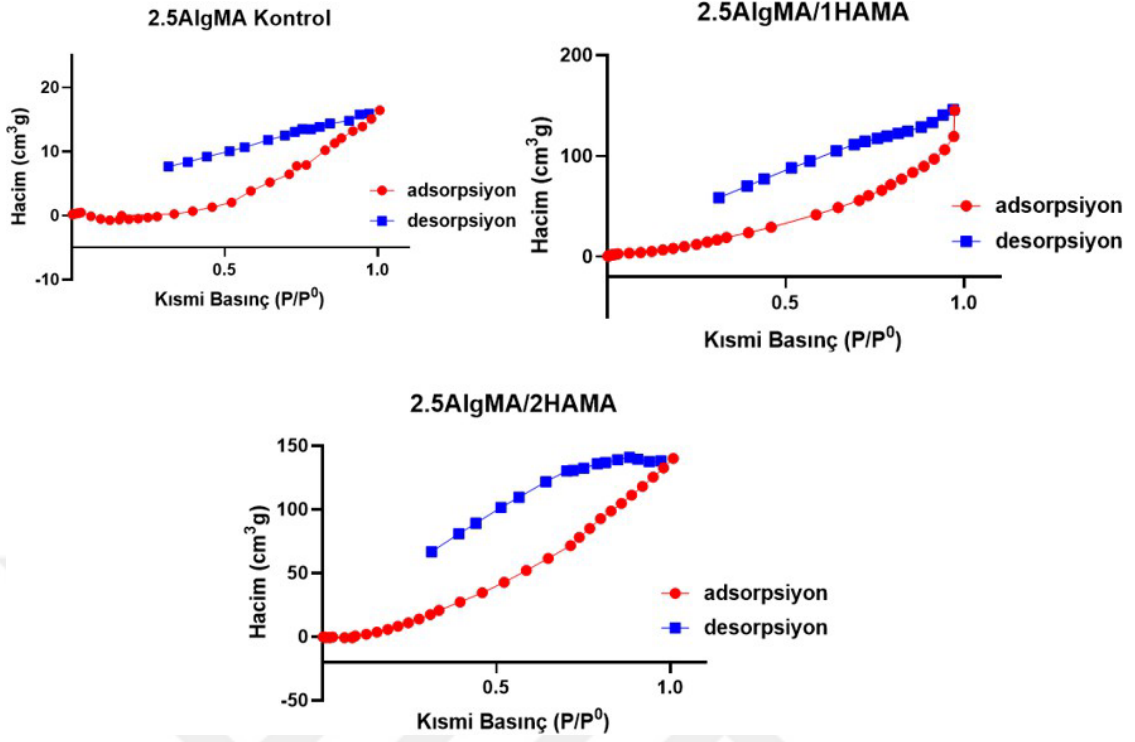


Şekil 4.11 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin yan kesimine ait SEM görüntüleri. A)2.5AlgMA, B)2.5A/1H, C)2.5A/2H, D)5AlgMA, E)5A/1H, F)5A/2H.

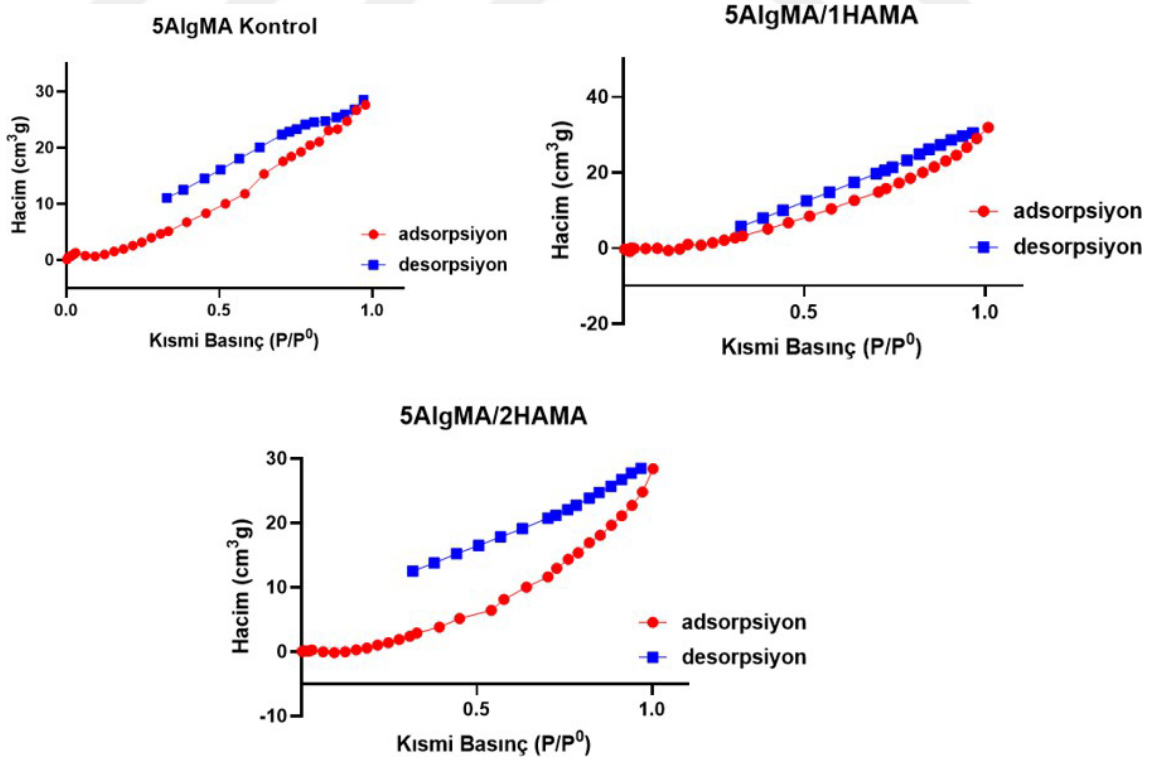


Şekil 4.12 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin yüzeylerine ait farklı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri. A)2.5AlgMA, B)2.5A/1H, C)2.5A/2H, D)5AlgMA, E)5A/1H, F)5A/2H.

Şekil 4.13 ve 4.14'te verilen grafikte AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin BET yüzey alanı analizi sonucunda elde edilen N_2 adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrileri sunuldu.



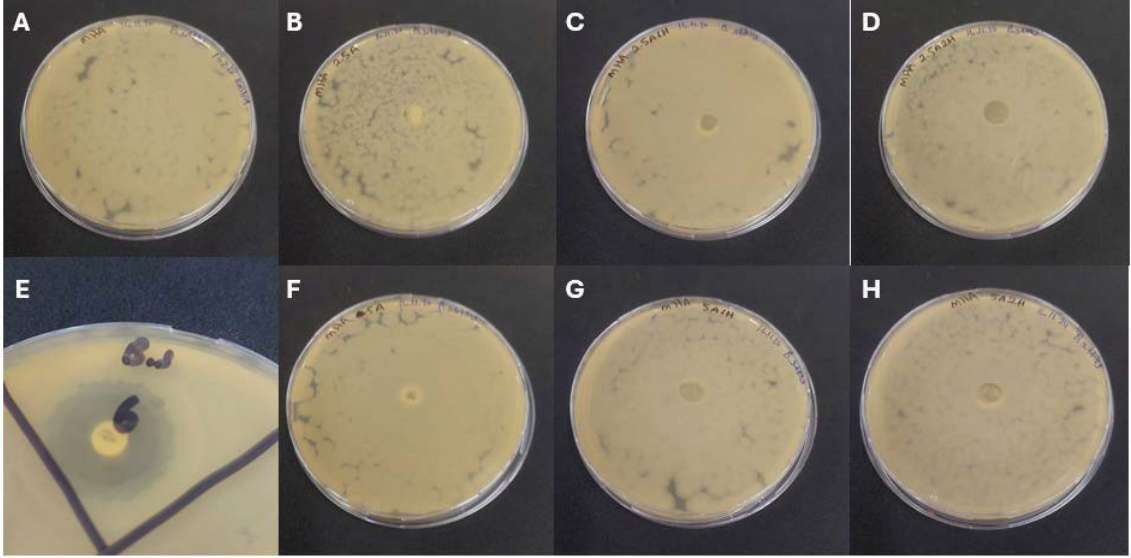
Şekil 4.13 HAMA ile farklı oranlarda katkılanan %2.5AlgMA hibrit hidrojenlerinin BET analizi N_2 adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrileri.



Şekil 4.14 HAMA ile farklı oranlarda katkılanan %5AlgMA hibrit hidrojenlerinin BET analizi N_2 adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrileri.

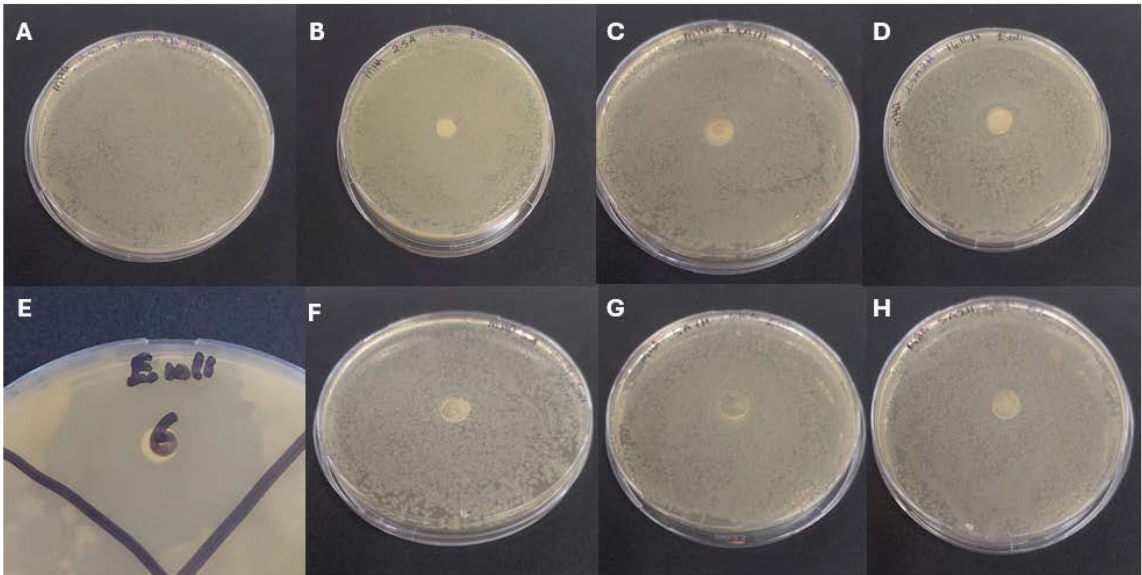
4.2.5. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Şekil 4.15'te gram pozitif bakteri *S.aureus*'a karşı incelenen örneklerin sonuçları sunulmaktadır.



Şekil 4.15 *S.Aureus* bakterisinin AlgMA/HAMA hibrit hidrojelleri ile inhibasyon çapının incelenmesi. A)pozitif kontrol, B)2.5AlgMA, C)2.5A/1H, D)2.5A/2H, E) Antibiyotik (Metisilin), F)5AlgMA, G)5A/1H, H)5A/2H.

Şekil 4.16'da gram negatif bakteri *E.coli*'ye karşı incelenen örneklerin sonuçları verilmektedir.

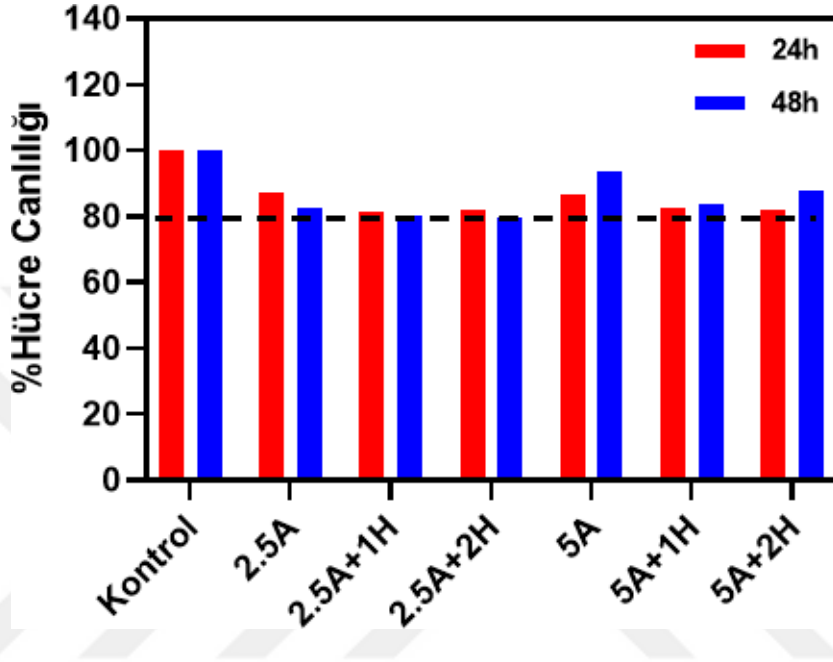


Şekil 4.16 *E.coli* bakterisinin AlgMA/HAMA hibrit hidrojelleri ile inhibasyon çapının incelenmesi. A)pozitif kontrol, B)2.5AlgMA, C)2.5A/1H, D)2.5A/2H, E) Antibiyotik (Metisilin), F)5AlgMA, G)5A/1H, H)5A/2H.

4.2.6. Sitotoksosite Analizi Sonuçları

Hibrit hidrojellerinin sitotoksosite analizi bölüm 3.2.9’da anlatıldığı gibi gerçekleştirilmiştir.

Bunun sonucunda elde edilen veriler Şekil 4.17’de sunuldu.



Şekil 4.17 AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin hücre canlılığı.

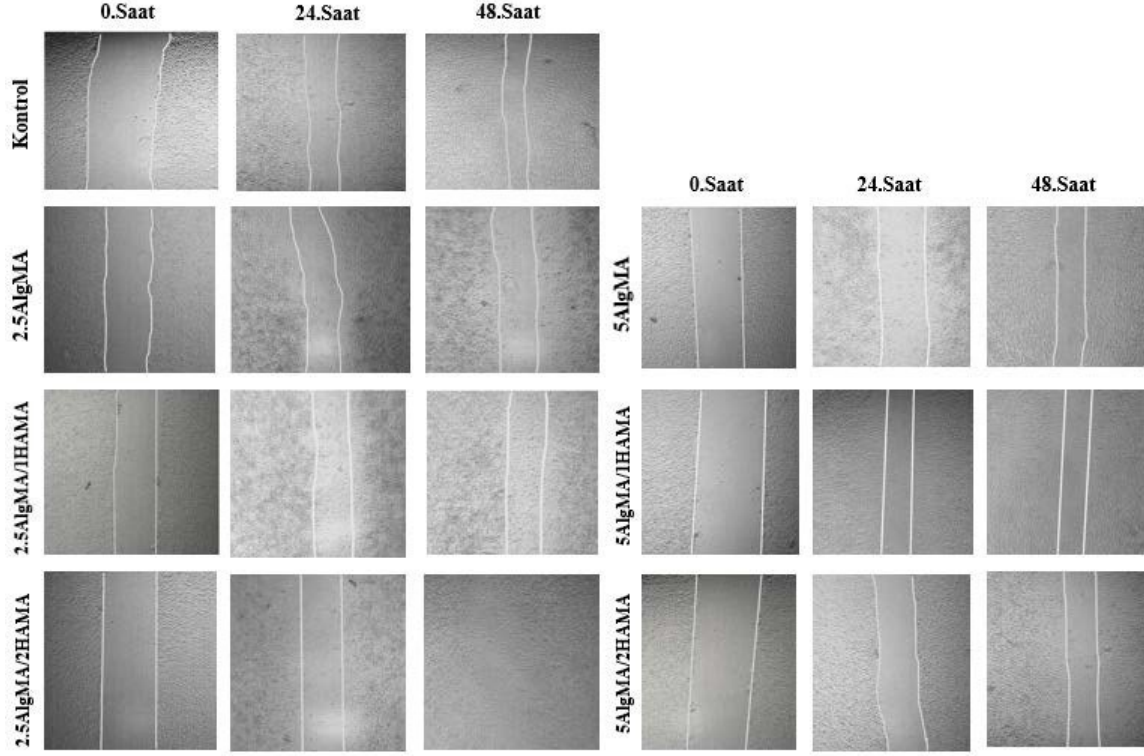
Tablo 4.1 AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin 24 ve 48 saat sonrasındaki hücre canlılık oranları.

Hibrit Hidrojel Konsantrasyonları (%)	24 Saat İnkübasyon Sonrası Hücre Canlılığı	48 Saat İnkübasyon Sonrası Hücre Canlılığı
Kontrol	100	100
2.5 AlgMA	87,17	82,78
2.5AlgMA/1HAMA	81,55	80,40
2.5AlgMA/2HAMA	81,80	79,49
5AlgMA	86,44	93,33
5AlgMA/1HAMA	82,53	83,98
5AlgMA/2HAMA	81,77	87,91

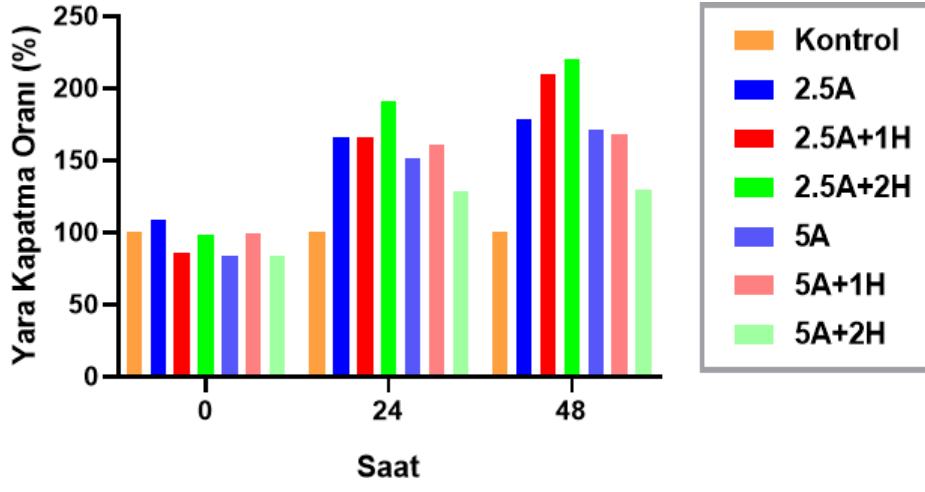
4.2.7. *In Vitro* Yara İyileşmesi Analizi Sonuçları

Hibrit hidrojellerinin yara iyileştirme analizi Bölüm 3.2.10’da detaylı bir şekilde anlatıldığı gibi yara çizik deneyi ile analiz edildi. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.19’da verilmektedir.

Yara kapatma bölgeleri Şekil 4.18’de mikroskopik görüntüler ile sunuldu.



Şekil 4.18 CCD-986SK insan deri fibroblast hücreleri ile yapılan *in vitro* yara çizik deneyinin 0.,24. ve 48. saatlerde alınan mikroskopik görüntüleri.



Şekil 4.19 AlgMA/HAMA hibrit hidrojenlerinin yara çizik deneyi ile yara kapatma oranları.

5. TARTIŞMA

5.1. AlgMA ve HAMA BİYOPOLİMERLERİNİN YAPISAL KARAKTERİZASYON SONUÇLARI

5.1.1. FTIR ve ¹H NMR Analizleri Sonuçları

Bu tez çalışmasında mekanik dayanım özelliklerini iyileştirmek amacıyla biyopolimerler metakrilik anhidrit ile modifiye edildi. Bu kapsamda, biyopolimerlerin yapısına çifte bağların katıldığını göstermek amacıyla FTIR ve ¹H NMR analizleri gerçekleştirildi. Şekil 4.3'te verilen SA'ya ait FTIR spektrumlarına bakıldığında 3650-3000 cm⁻¹ ve 2950-2830 cm⁻¹ aralığında bulunan bantlar sırasıyla polisakkarit birimlerine ait -OH ve -CH gerilmelerini ifade etmektedir. Bu spektrumda geriye kalan pikler parmak izi bölgesini belirttiği için piklerin aljinatın iskelet yapısına ait olan karakteristik pikleri olduğu anlaşılmaktadır. Bu pikler, 1590 cm⁻¹ bandındaki karboksilik anyon gerilme piki (COO⁻), 1410 cm⁻¹ bandında karboksilat gruplarının O-C-O simetrik gerilmesinden kaynaklanan ve bu gerilmelerin neden olduğu C-OH deformasyonuna dayanmaktadır. 1090 ve 1040 cm⁻¹ civarında görülen pikler piranoz halkasından kaynaklanan C-O ve C-C gerilme titreşimleri, 800 ve 680 cm⁻¹ civarındaki pikler ise mannuronik asit birimlerine ait C-H deformasyonu ve C-H eğilme titreşimlerini belirtmektedir. AlgMA biyopolimerine ait FTIR spektrumları incelendiğinde ise SA spektrumundan farklı olarak 2980 cm⁻¹ civarında -CH gerilme bantlarının oluşturduğu ve 1718 cm⁻¹ civarında bir omuz olduğu görülmektedir. Oluşan bu pik ve omuzun varlığı metakrilat birimlerinin biyopolimer ana zincirine modifikasyon kaynaklı alifatik zincirin -CH gruplarını ve esterlerin C=O gruplarını ifade etmektedir [48]. Elde edilen bu spektrum sonucunda SA'ın başarılı bir şekilde modifiye edilmesiyle AlgMA'nın sentezlendiği kanıtlanmıştır. Şekil 4.1'de görüldüğü gibi aljinatın metakrilasyonu ¹H NMR ile incelendi. ~ 3.60 ve 5.20 ppm civarında aljinatın ana zincirini oluşturan sakkarit birimlerine ait sinyaller görülmektedir. Metakrilasyon reaksiyonu ile elde edilen AlgMA'ya ait spektrum incelendiğinde ~ 6.10 ve 5.65 ppm'de keskin pik görülmektedir. Bu sinyaller ana zincire bağlanan vinil gruplarını belirtmektedir. Ek olarak 1.83 ppm'de görülen pik ise MA yapısındaki metil grubunun varlığını belirtmektedir.

Şekil 4.4'te hyaluronik asidin ve HAMA'nın FTIR spektrumları görülmektedir. Bu spektrumlar incelendiğinde $1708-1717\text{ cm}^{-1}$ civarında görülen pikler metakrilasyon reaksiyonundan sonra görülmekte olup metakrilat gruplarındaki ester C=O bağlarının hyaluronik asidin ana zincirine bağlandığını göstermektedir. Şekil 4.2'de hyaluronik asit ve HAMA'nın ^1H NMR spektrumu karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Hyaluronik asidin metakrilasyonu ^1H NMR spektroskopisi ile incelendiğinde HAMA yapısında ~ 6.0 ve 5.60 ppm civarında keskin MA yapısından gelen vinil grubuna ait pikler görülmektedir. Bu alken yapısına bağlı oluşan pikler metakrilasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini ifade etmektedir.

5.2. AlgMA-HAMA HİBRİT HİDROJELLERİNİN KARAKTERİZASYON SONUÇLARI

5.2.1. FTIR Analizleri Sonuçları

AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin çapraz bağlanmış bir yapıya sahip olduğunu kanıtlamak amacıyla elde edilen hibrit hidrojellerin FTIR spektrumları incelenmiştir. Şekil 4.5'te sonuçlar sunulmuştur. AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin FTIR spektrumları incelendiğinde C-C bağına ait 2950 cm^{-1} 'de görülen pikin şiddetinde, AlgMA ve HAMA biyopolimerleri ile karşılaştırıldığında azalma görülmektedir. Bu sonuç foto polimerizasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini ve hedeflenen hidrojel yapısının sağlandığını göstermektedir.

5.2.2. Mekanik Dayanım Analizleri Sonuçları

Hidrojellerin mekanik özellikleri uygulama alanları için önem arz etmektedir. Yara yüzeyine uygulanacak yara örtüsünün insan hareketine uyum sağlayabilmesi için uygun mekanik özelliklere sahip olması gerekmektedir [49].

Şekil 4.6 ve Şekil 4.8'de verilen mekanik analizlerinden elde edilen grafiklere bakıldığında ortamdaki %5 AlgMA ile eklenen HAMA miktarlarıyla birlikte polimer konsantrasyonu arttıkça malzemenin mukavemetinin ve kopma uzamasının arttığı görülmektedir. Çekme ile stres-şekil değiştirme eğrileri göz önüne alındığında %5AlgMA konsantrasyonunda HAMA konsantrasyonlarının artışı ile basınç modülleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür. Aynı durum daha düşük olan %2.5 AlgMA konsantrasyonunda görüldü. Buna karşılık %5AlgMA konsantrasyonlarında eklenen HAMA miktarı ile basıncın 30kPa 'dan 70kPa 'a kadar değişebildiği görülmüştür. Bunun durum HAMA miktarıyla

ortamda artan çapraz bağ yoğunluğundan kaynaklanmaktadır.

Sıkıştırma ile stres-şekil değiştirme eğrilerine bakıldığında her iki AlgMA konsantrasyonunda da artan HAMA konsantrasyonuyla hibrit hidrojelin daha sert ve kırılğan bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Bu değerler göz önüne alındığında uzama miktarının %50-60 oranlarından %30-40 miktarına düşmesi yara iyileştirici malzemeler için uygun kabul edilmektedir [14]. Uzama oranlarına karşılık mukavemetin %2 oranında HAMA eklenmesiyle her iki AlgMA ortamında da arttığı görülmektedir. Bu sonuç çapraz bağ yoğunluğuyla ilişkilendirilebilmektedir.

Tavafoghi ve diğ. (2020) yaptıkları çalışmada [31], jelatin ve aljinat biyopolimerlerinin foto polimerizasyonu ile mekanik özelliklerinin incelenmesi amacıyla metakrilat monomeri ile türevlendirilmiştir. Çalışmada sabit tutulan GelMA konsantrasyonu ile değişken oranlarda AlgMA biyopolimerinin artırılmasıyla mekanik özellikleri incelenmiştir. Çapraz bağlanma yoğunluğunun artmasının sonucunda çekme mukavemetinin arttığı gözlemlenmiştir. AlgMA konsantrasyonlarında belirli oranlarda bir artış ile mukavemetin arttığı gözlemlenirken bu oranın üzerinde AlgMA içeren hibrit hidrojellerin daha düşük mukavemet gösterdiği görülmüştür. Bu çalışma ile tasarlanan malzemenin tokluk derecesine dikkat çekilebilir durumdadır. Yaptığımız tez çalışmasına baktığımızda örnek verilen çalışmada olduğu gibi

%2.5 AlgMA oranına katılan HAMA miktarlarının düşük mukavemete neden olduğu görülmektedir. %5 AlgMA oranına katılan HAMA miktarlarına bakıldığında ise mukavemetin ve uzama miktarının arttığına dikkat çekilebilir. Bunun nedeninin %2.5 AlgMA oranlarında ortama eklenen HAMA miktarlarının tokluk derecesini arttırmasından söz edilebilir.

5.2.3. Şişme Kapasitesi Sonuçları

Yara örtüsü olarak tasarlanan hidrojeller için şişme derecesi önemli parametrelerden birini oluşturmaktadır. Bunun sebebi, hedeflenen yara örtüsünün yara ortamında uygun bir nem seviyesi sağlaması ve oluşan eksüdanın ortamdaki uzaklaştırılmasına yardımcı olması beklenmektedir [50]. Ayrıca, çapraz bağlı hidrojellerde çapraz bağ yoğunluğu arttıkça şişme derecesinde azalma görülmesi beklenmektedir. Şekil 4.10'da hibrit hidrojellerin, 37°C'de PBS ortamında Bölüm 3.2.7.1'de belirtilen sürelerle karşılık şişme kinetiği sunulmuştur. Şişme kapasitesi testi sonuçları incelendiğinde 5.saatte çapraz bağlı hidrojellerin denge şişme değerine

ulaştıkları görülmektedir. Çapraz bağ yoğunluğu daha az olan aljinat hidrojellerinde daha hızlı ve yüksek oranda şişme davranışı gözlenirken, çapraz bağ yoğunluğunu arttıran HAMA biyopolimeri ortama eklendiğinde şişme kinetiğinin yavaşladığı ve daha stabil bir şekilde dengeye ulaştığı görülmektedir. Elde edilen bu sonuç foto polimerizasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini desteklemektedir.

5.2.4. Yüzey Özelliklerinin İncelenmesi

Şekil 4.11 ve 4.12’de AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin SEM analizi sonuçları görülmektedir. Yüzey morfolojisine göre, malzemenin gözenekli bir yapıya sahip olması, yara yatağının yüzeyinden yara eksüdasının emilmesine izin verirken, hücrel metabolitlerin ve besinlerin geçişini kolaylaştırmaktadır. Böylece yara iyileşme sürecini hızlandırmaktadır [51]. SEM görüntülerinde yan kesit alanı incelendiğinde hibrit hidrojellerinin gözenekli bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Düz bir yüzeye sahip olmalarının ana nedeninin CaCl_2 ile çapraz bağlanma sonucunda oluşan yumurta kabuğu yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Şekil 4.13 ve 4.14’te verilen grafikte AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin BET yüzey alanı analizi sonucunda elde edilen N_2 adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrileri görülmektedir. Elde edilen bu eğriler hibrit hidrojellerin gözenekliliğini belirtmek için önemli bulunmaktadır. SEM görüntülerinin sonucunda BET yüzey alanı analizi ile elde edilen N_2 adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrilerinden hibrit hidrojellerinin gözenekli yapıya sahip olduğu bir kez daha kanıtlanmaktadır.

5.2.5. Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi

Hibrit hidrojellerinin antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi için iki suş kullanıldı. Uygulama alanı deri üzerine yara örtüsü olarak belirlendiği için deri florasında bulunan ve yara enfeksiyonlarından sorumlu en yaygın patojenik bakteri suşları oldukları için [52] temsili model olarak gram pozitif *S. Aureus* ve gram negatif *E. coli* bakteri suşları tercih edildi. Şekil 4.15 ve 4.16’da sunulduğu üzere jellerin bakteri kültür ortamında 24 saatlik inkübasyonu sonrasında hiçbir jel örneğinde inhibasyon çapı gözlenmemektedir.

5.2.6. Toksikite Özelliklerinin İncelenmesi

Hücreler ve hidrojeller arasındaki etkileşim, çeşitli hücrel süreçlerin ilerlemesi için önemli etkiye sahiptir. Özellikle yara iyileştirici özellikte olarak değerlendirilen hidrojellerin, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve yapışmasını teşvik etmesi gerekmektedir [53].

Çapraz bağlanmış AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin sitotoksosite sonuçları Şekil 4.17’de sunuldu. AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin sitotoksitesi, CCD-986SK insan fibroblastı hücre kültürü kullanılarak değerlendirildi. Hücre canlılığı 24 ve 48 saat sürelerle incelendi.

%2.5, %5 AlgMA konsantrasyonları ile %1 ve %2 HAMA konsantrasyonlarıyla hazırlanan hibrit hidrojelilerin %100 uyum gösterdiği kabul edilen kontrol ortamı ile kıyaslandığında hücre canlılığının %80 oranında sağladığı görüldü. Elde edilen bu sonuçlar ile in vitro toksik etki göstermediği ve kontrol ile karşılaştırıldığında hücre çoğalmasını desteklediği gözlemlendi.

5.2.7. *In Vitro* Yara İyileştirme Özelliklerinin İncelenmesi

Hücre göçünün desteklenmesi yara rejenerasyonunda önemli rol oynamaktadır. Yara örtüsünün hücre göçünü destekleyici rol oynaması, iyileşme sürecini kısaltacak bir etkidir [54]. İnsan fibroblast hücreleri hem biyouyumluluk hem de insan vücudundaki birçok dokuda bulunması açısından oldukça önemlidir [55]. Şekil 4.18’de sunulan yara kapatma bölgeleri incelendiğinde, hazırlanan hibrit hidrojellerinin ilk 24 saatte deri fibroblast hücreleri üzerinde hücre göçü etkisine neden olup yarayı kapattığı görülmektedir. Fibroblast hücrelerinin çoğalması cilt yara iyileşmesi için son derece önemlidir [56] ve hibrit hidrojelilerin yara iyileşmesini büyük oranda desteklediği sonucuna varıldı. Kontrol ile karşılaştırıldığında ilk 24 ve 48 saatte 2.5A/2H hibrit hidrojelinin diğer formülasyonlara göre daha çok fibroblast göçünü sağladığı görüldü.

Bu sonuçlara doğrultusunda, hazırlanan hibrit hidrojelilerin açık yaralar için uygun ortam sağlayabileceği kanıtlanmaktadır. Hibrit hidrojelilerin yara çizik testinde hücre göçünü sağladıkları ve yara bölgesinde hücre oluşumuna katkı sağladığı görüldü. Yara bölgesinde hücre gelişimine katkı sağlamasıyla birlikte yaranın hızlı bir şekilde iyileşmesini destekleyecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışması kapsamında hemostatik olarak tasarlanmış aljinat ve hyaluronik asit temelli hidrojel yara örtüleri sentezlendi. Gerçekleştirilen çalışmalar ve elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmektedir.

- Aljinat ve hyaluronik asit sodyum tuzları esterifikasyon reaksiyonlarına tabii tutulmuş ve metakrilat fonksiyonel grupları bu maddelere bağlandı. Elde edilen ürünler FTIR ve ¹H-NMR spektroskopisi ile karakterize edildi. Bu karakterizasyonlar sonucunda reaksiyonların başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği gösterildi.
- AlgMA/HAMA hibrit hidrojelleri foto-polimerizasyon başlatıcı yöntemi ile sentezlendi. Sentezlenen hibrit hidrojellerin yapıları FTIR spektroskopisi ile karakterize edildi.
- AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin şişme özellikleri 37°C’de PBS ortamında gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar ile çapraz bağlanmanın sağlandığı ve foto polimerizasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği gösterildi.
- AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin mekanik dayanım özellikleri çekme ve sıkıştırma testleri ile incelendi. Bu testler sonucunda çapraz bağ yoğunluğunun artmasıyla hidrojinin kırılma özelliklerinin arttığı gözlemlendi.
- Hibrit hidrojellerin antibakteriyel özellikleri *S. Aureus* (gram-pozitif) ve *E. Coli* (gram- negatif) bakterilerine karşı incelendi. Hibrit hidrojellerin bileşimini oluşturan karbon, hidrojen, oksijen ve azot atomlarının bakterilerin gelişimi için elverişli bir besin ortamı oluşturması nedeniyle ve herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösteren nanoparçacık içermemeleri nedeniyle antibakteriyel etkileri saptanmamıştır.
- Hibrit hidrojellerin biyouyumlulukları MTT yöntemi ile analiz edildi. Sitotoksite analizi için CCD-986SK insan fibroblastı hücre hattı kullanıldı. Elde edilen sonuçlarda AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin kontrol ortamına karşı %80 oranında hücre canlılığı gösterdiği tespit edildi.
- İyileştirici yara örtüsü olarak tasarlanan hibrit hidrojellerin yara iyileştirme özellikleri in vitro yara çizik deneyi ile incelendi. Sonuçlar doğrultusunda hazırlanan hibrit

hidrojellerinin hücre göçünü desteklediği ve yaralar için uygun ortam sağlayarak iyileşme sürecini hızlandırdığı sonucuna varıldı.

- Hibrit hidrojellerinin 48 saate kadar şişmeyi desteklediği yapılan ek deneyler doğrultusunda (EK-1) tespit edildi. Bu nedenle yara çizik deneyini destekleyerek bozunmadan 48 saatlik süre içerisinde yara iyileşmesini sağlayacağı sonucuna varıldı.

- AlgMA/HAMA hibrit hidrojelleri foto-çapraz bağlanma sonrasında CaCl_2 ile çapraz bağlandıktan sonra yumurta kabuğu yapısına benzer bir yapıya sahip olduğundan dokuya yapışması mümkün olan fonksiyonel grupların kapandığı düşünülmektedir. Bu nedenle yapışma özelliği incelenememiştir. Ancak adhezyon kuvvetine bağlı olarak ıslak ortama yapışma özelliği göstermesi gözlemlendi.

- Elde edilen SEM ve BET yüzey alanı analizleri doğrultusunda elde edilen hidrojelin oksijen geçirgenliğine elverişli oranda gözenekliliğe sahip olduğu saptandı. Böylece yara ortamında oksijen difüzyonu sağlayarak yaranın hava almasını sağlayacak ve iyileşme sürecini hızlandıracaktır.

- Hazırlanan hibrit hidrojellerin termal kararlılığını analiz etmek amacıyla DSC ve TGA analizlerinin tez çalışmasının devamında yapılması planlanmaktadır.

Tez kapsamında gerçekleştirilen deneylerin sonuçları bütünüyle değerlendirilmektedir. Tasarlanan hemostatik yara iyileştirici AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin literatüre alternatif bir yara örtüsü olarak katılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1]. Michalicha, A., Belcarz, A., Giannakoudakis, D.A., Staniszewska, M., Barczak, M., 2024, Designing Composite Stimuli-Responsive Hydrogels for Wound Healing Applications: The State-of-the-Art and Recent Discoveries. *Materials*, *Materials*, 17, 278. <https://doi.org/10.3390/ma17020278>.
- [2]. da Silva, C.M., Reis, R.L., Correlo, V.M., Jahno, V.D., 2024, The efficient role of sodium alginate-based biodegradable dressings for skin wound healing application: a systematic review, *Journal of biomaterials science, polymer edition*, 35(3), 397-414, DOI: 10.1080/09205063.2023.2289247.
- [3]. Maiz-Fernández S., Pérez-Álvarez L., Silván U., Vilas-Vilela J., Lanceros-Mendez S., 2022, Photocrosslinkable and self-healable hydrogels of chitosan and hyaluronic acid, *International journal of biological macromolecules*, 216, 291-302.
- [4]. Qi, L., Zhang, C., Wang, B., Yin, J., Yan, Shifeng, 2022, Progress in Hydrogels for Skin Wound Repair, *Macromolecular bioscience*, 22:2100475. <https://doi.org/10.1002/mabi.202100475>.
- [5]. Yang, X., Li, J., Chen, X., Wang, T., Li, G., Zhang, K., Yin, J., Cui, H. 2024, Multifunctional hydrogels for wound healing. *Journal of polymer engineering*, 44 (3), 173-194. <https://doi.org/10.1515/polyeng-2023-0148>.
- [6]. Miao Zhang ve Xia Zhao, 2020, Alginate hydrogel dressings for advanced wound management, *International journal of biological macromolecules*, 162, 1414-1428. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.311>.
- [7]. Gonçalves, R.R., Peixoto, D., Costa, R.R., Franco, A.R., Castro, V.I.B., Pires, R.A., Reis, R.L., Pashkuleva, I., Maniglio, D., Tirella, A., Motta, A., Alves, N.M., 2024, Antibacterial properties of photo-crosslinked chitosan/methacrylated hyaluronic acid nanoparticles loaded with bacitracin, *International journal of biological macromolecules*, 277(4), 2024, 134250, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134250>.
- [8]. Arif, M.M., Khan, S., Gull, N., Tabish, T.A., Zia, S., Khan, R.U., Awais, S.M., Butt, M.A., 2021, Polymer-based biomaterials for chronic wound management: Promises and challenges, *International journal of pharmaceuticals*, 598, 120270 <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120270>.
- [9]. Dhivya S, Padma V.V., Santhini E., 2015, Wound dressings - a review, *Biomedicine (Taipei)*, 5(4), 24-28. doi: 10.7603/s40681-015-0022-9.
- [10]. Raziyeva, K., Kim, Y., Zharkinbekov, Z., Kassymbek, K., Jimi, S., Saparov, A., 2021, Immunology of Acute and Chronic Wound Healing, *Biomolecules*, 11(5), 700. <https://doi.org/10.3390/biom11050700>.

- [11]. Xu, Z., Han, S., Gu, Z., Wu, J., 2020, Advances and Impact of Antioxidant Hydrogel in Chronic Wound Healing, *Advanced healthcare materials*, 9(5), e1901502. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901502>.
- [12]. Yu, P., Zhong, W., 2021, Hemostatic materials in wound care, *Burns & trauma*, 9, <https://doi.org/10.1093/burnst/tkab019>.
- [13]. Pourshahrestani, S., Zeimaran, E., Kadri, N. A., Mutlu, N., Boccaccini, A. R., 2020, Polymeric Hydrogel Systems as Emerging Biomaterial Platforms to Enable Hemostasis and Wound Healing, *Advanced healthcare materials*, 9(20), e2000905. <https://doi.org/10.1002/adhm.202000905>.
- [14]. Zhao, X., Lang, Q., Yildirimer, L., Lin, Z. Y., Cui, W., Annabi, N., Ng, K. W., Dokmeci, M. R., Ghaemmaghami, A. M., Khademhosseini, A., 2016, Photocrosslinkable Gelatin Hydrogel for Epidermal Tissue Engineering, *Advanced healthcare materials*, 5(1), 108–118. <https://doi.org/10.1002/adhm.201500005>.
- [15]. Zhou, L., Min, T., Bian, X., Dong, Y., Zhang, P., Wen Y., 2022, Rational Design of Intelligent and Multifunctional Dressing to Promote Acute/Chronic Wound Healing, *ACS Applied bio materials* 5 (9), 4055-4085. DOI: 10.1021/acsabm.2c00500.
- [16]. Borda, L.J., Macquhae, F.E., Kirsner, R.S., 2016, Wound Dressings: A Comprehensive Review, *Current dermatology reports*, 5, 287–297. <https://doi.org/10.1007/s13671-016-0162-5>.
- [17]. Koehler, J., Brandl, F.P., Goepferich, A.M., 2018, Hydrogel wound dressings for bioactive treatment of acute and chronic wounds, *European polymer journal*, 100, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.12.046>.
- [18]. Chang, C.-T., 2023, The hemostatic effect and wound healing of novel collagen-containing polyester dressing, *Journal of biomaterials science, polymer edition*, 34(15), 2124-2143. DOI: 10.1080/09205063.2023.2230842.
- [19]. Brumberg, V., Astrelina, T., Malivanova, T., Samoilov, A., 2021 Modern Wound Dressings: Hydrogel Dressings, *Biomedicines*, 9, 1235. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9091235>
- [20]. Peng, W., Li, D., Dai, K., Wang, Y., Song, P., Li, H., Tang, P., Zhang, Z., Li, Z., Zhou, Y., Zhou, C., 2022, Recent progress of collagen, chitosan, alginate and other hydrogels in skin repair and wound dressing applications, *International journal of biological macromolecules*, 208, 400-408. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.002>.
- [21]. Asadi, N., Pazoki-Toroudi, H., Bakhshayesh, A.R.D., Akbarzadeh, A., Davaran, S., Annabi, N., 2021, Multifunctional hydrogels for wound healing: Special focus on biomacromolecular based hydrogels, *International journal of biological macromolecules*, 170, 728-750. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.202>.
- [22]. Palmese, L.L., Thapa, R.K., Sullivan, M.O., Kiick, K.L., 2019, Hybrid hydrogels for biomedical applications, *Current opinion in chemical engineering*, 24, 143-157. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2019.02.010>.

- [23]. Noshadi, I., Hong, S., Sullivan, K.E., Shirzaei, E.S., Portillo- Lara, R., Tamayol, A., Ryon Shin, S., Gao, A.E., Stoppel, W. L., III Black, L. D., Khademhosseini, A., Annabi, N., 2017, In Vitro and In Vivo Analysis of Visible Light Crosslinkable Gelatin Methacryloyl (GelMA) Hydrogels *Biomaterial science*, 5(10), 2093–2105. DOI: 10.1039/C7BM00110J.
- [24]. Xie, Y., Gao, P., He, F., Zhang, C., 2022, Application of Alginate-Based Hydrogels in Hemostasis, *Gels*, 8(2), 109. <https://doi.org/10.3390/gels8020109>.
- [25]. Gounden, V., Singh, M., 2024, Hydrogels and Wound Healing: Current and Future Prospects. *Gels*, 10(1), 43. <https://doi.org/10.3390/gels10010043>.
- [26]. Sasmal, P.K., Ganguly, S., 2023, Polymer in hemostasis and follow-up wound healing, *Journal of applied polymer science*, 140(9), e53559. <https://doi.org/10.1002/app.53559>
- [27]. Tan J., Luo Y., Guo Y., Zhou Y., Liao X., Li D., Lai X., Liu Y., 2023, Development of alginate-based hydrogels: Crosslinking strategies and biomedical applications, *International journal of biological macromolecules* 239, 124275.
- [28]. Liang, Y., Liu, W., Han, B., Yang, C., Ma, Q., Song, F., Bi, Q., 2011. An in situ formed biodegradable hydrogel for reconstruction of the corneal endothelium, *Colloids and surfaces. B, biointerfaces*, 82(1), 1–7.
- [29]. Wu, L., He, Y., Mao, H., Gu, Z., 2022, Bioactive hydrogels based on polysaccharides and peptides for soft tissue wound management, *Journal of materials chemistry B*, 10, 7148.
- [30]. Mecwan, M., Li, J., Falcone, N., Ermis, M., Torres, E., Morales, R., Hassani, A., Haghniaz, R., Mandal, K., Sharma, S., Maity, S., Zehtabi, F., Zamanian, B., Herculano, R., Akbari, M., John, J.V., Khademhosseini, A., 2022, Recent advances in biopolymer-based hemostatic materials, *Regenerative biomaterials*, 9, rbac063. <https://doi.org/10.1093/rb/rbac063>.
- [31]. Tavafoghi M., Sheikhi A., Tutar R., Jahangiry J., Baidya A., Haghniaz R., Khademhosseini A., 2020, Engineering Tough, Injectable, Naturally Derived, Bioadhesive Composite Hydrogels, *Advanced healthcare materials*, 9(10), 1901722.
- [32]. Wang, Y., Zhang, S., Wang, J., 2021, Photo-crosslinkable hydrogel and its biological applications, *Chinese chemical letters*, 32(5), 1603-1614. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2020.11.073>.
- [33]. Liu J., Huang Y., Yang W., Sun X., Xu Y., Peng Y., Song W., Yuan J., Ren L., 2022, Sutureless transplantation using a semi-interpenetrating polymer network bioadhesive for ocular surface reconstruction, *Acta biomaterialia*, 153, 273-286.
- [34]. Mohandas A., Anisha B., Chennazhi K., Jayakumar R., 2015, Chitosan-hyaluronic acid/VEGF loaded fibrin nanoparticles composite sponges for enhancing angiogenesis in wounds, *Colloids and surfaces B: biointerfaces*, 127, 105-113.
- [35]. Peattie R., Nayate A., Firpo M., Shelby J., Fisher R., Prestwich G., 2004. Stimulation of in vivo angiogenesis by cytokine-loaded hyaluronic acid hydrogel implants, *Biomaterials*, 25(14) 2789–2798.

- [36]. Oudshoorn M., Rissmann R., Bouwstra J., Hennink W., 2007. Synthesis of methacrylated hyaluronic acid with tailored degree of substitution, *Polymer*, 48(7), 1915-1920.
- [37]. Schuurmans C.C.L., Mihajlovic M., Hiemstra C., Ito K., Hennink W.E., Vermonden T., 2021. Hyaluronic acid and chondroitin sulfate (meth)acrylate-based hydrogels for tissue engineering: Synthesis, characteristics and pre-clinical evaluation, *Biomaterials*, 268, 120602.
- [38]. Zhang L., D'Amora U., Ronca A., Li Y., Mo X., Zhao F., Yuan M., Ambrosio L., Wu J., Raucci M.G., 2020. In vitro and in vivo biocompatibility and inflammation response of methacrylated and maleated hyaluronic acid for wound healing, *RSC Advances*, 10, 32183.
- [39]. Gomez-Florit, M., Pardo, A., Domingues, R. M. A., Graça, A. L., Babo, P. S., Reis, R. L., Gomes, M. E., 2020, Natural-Based Hydrogels for Tissue Engineering Applications. *Molecules*, 25(24), 5858. <https://doi.org/10.3390/molecules25245858>
- [40]. Fan F, Saha S., Hanjaya-Putra D., 2021, Biomimetic Hydrogels to Promote Wound Healing, *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9:718377. doi: 10.3389/fbioe.2021.718377
- [41]. Chamkouri, H., Chamkouri. M., A Review of Hydrogels, 2021, Their Properties and Applications in Medicine, *American journal of biomedical science & research*, 11(6). DOI: 10.34297/AJBSR.2021.11.001682.
- [42]. Greene T., Lin T., Andrisani O., Lin C., 2017, Comparative study of visible light polymerized gelatin hydrogels for 3D culture of hepatic progenitor cells, *Journal of applied polymer science*, 134(11), 44585.
- [43]. Yüce-Erarslan, E., İzbudak, B., Kızılkurtlu, A. A., Topal, M., Akpek, A., Bal-Öztürk, A., 2023, Eggshell integrated GelMA/CSMA/HyMA hybrid hydrogels for cell therapy/tissue engineering, *Journal of applied polymer science*. 140(34), e54310. <https://doi.org/10.1002/app.54310>
- [44]. Deng, Y., Chen, J., Huang, J., Yang, X., Zhang, X., Yuan, S., Liao, W., 2020, Preparation and characterization of cellulose/flaxseed gum composite hydrogel and its hemostatic and wound healing functions evaluation, *Cellulose*, 27, 3971–3988. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03055-3>.
- [45]. Wu, T., Cui, C., Fan, C., Xu, Z., Liu, Y., Liu, W., 2021, Tea eggs-inspired high-strength natural polymer hydrogels, *Bioactive Materials*, 6(9), 2820-2828. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.02.009>.
- [46]. Franco, R. A., Min, Y. K., Yang, H. M., Lee, B. T., 2013, Fabrication and biocompatibility of novel bilayer scaffold for skin tissue engineering applications, *Journal of biomaterials applications*, 27(5), 605–615. <https://doi.org/10.1177/0885328211416527>.
- [47]. Chen, S., bin Abdul Rahim, A.A., Mok, P., Lui, D., 2023, An effective device to enable consistent scratches for in vitro scratch assays, *BMC Biotechnol*, 23:32. <https://doi.org/10.1186/s12896-023-00806-5>.
- [48]. Araiza-Verduzco, F., Rodríguez-Velázquez, E., Cruz, H., Rivero, I. A., Acosta-Martínez, D. R., Pina-Luis, G., Alatorre-Meda, M., 2020, Photocrosslinked Alginate-Methacrylate

Hydrogels with Modulable Mechanical Properties: Effect of the Molecular Conformation and Electron Density of the Methacrylate Reactive Group, *Materials*, 13(3), 534. <https://doi.org/10.3390/ma13030534>.

[49]. Dong, L., Han, Z., Zhang, H., Yang, R., Fang, J., Wang, L., Li, X., Li, X., 2022, Tea polyphenol/glycerol-treated double-network hydrogel with enhanced mechanical stability and anti-drying, antioxidant and antibacterial properties for accelerating wound healing, *International journal of biological macromolecules*, 208, 530-543. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.128>.

[50]. Elangwe, C.N., Morozkina, S.N., Podshivalov, A.V., Uspenskaya, M.V., 2024, Evaluation of composition effects on the tissue-adhesive, mechanical and physical properties of physically crosslinked hydrogels based on chitosan and pullulan for wound healing applications, *International journal of biological macromolecules*, , 276(1), 133857. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133857>.

[51]. Khaliq, T., Sohail, M., Minhas, M. U., Mahmood, A., Munir, A., Qalawlus, A.H. M., Jabeen, N., Kousar, M., Anwar, Z., 2023, Hyaluronic acid/alginate-based biomimetic hydrogel membranes for accelerated diabetic wound repair, *International journal of pharmaceutics*, 643, 123244. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123244>.

[52]. Lin, Z., Wu, T., Wang, W., Li, B., Wang, M., Chen, L., Xia, H., Zhang, T., 2019, Biofunctions of antimicrobial peptide-conjugated alginate/hyaluronic acid/collagen wound dressings promote wound healing of a mixed-bacteria-infected wound, *International journal of biological macromolecules* 140, 330-342. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.087>.

[53]. Yang, P., Li, Z., Fang, B., Liu, L., 2023, Self-healing hydrogels based on biological macromolecules in wound healing: A review, *International journal of biological macromolecules*, 253(8), 127612. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127612>.

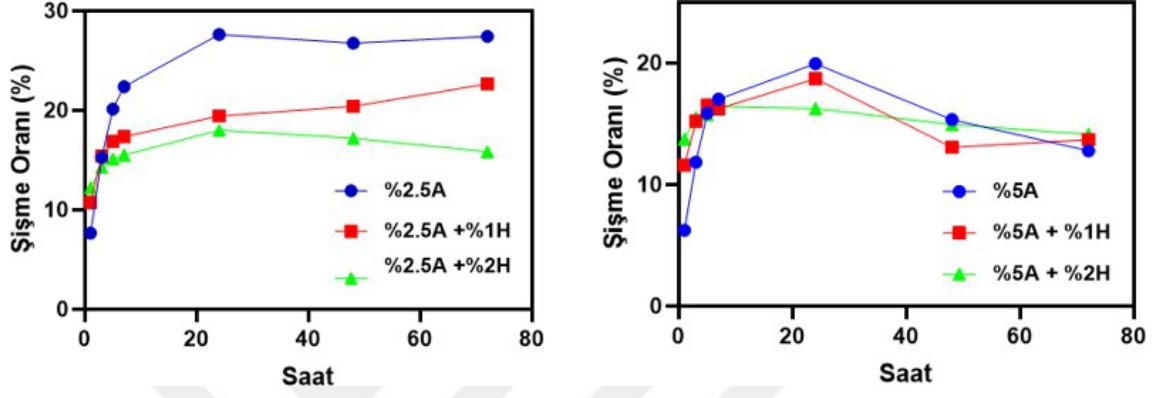
[54]. Yang, L., Liang, F., Zhang, X., Jiang, Y., Duan, F., Li, L., Ren, F., 2022, Remodeling microenvironment based on MOFs-Hydrogel hybrid system for improving diabetic wound healing, *Chemical engineering journal*, 427, 131506. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131506>.

[55]. Moran Bozer, B., Özkahraman, B., Mert, H., 2024, Photocrosslinked methacrylated pectin and methacrylated hyaluronic acid wound dressing loaded with oleuropein as bioactive agent, *International journal of polymeric materials and polymeric biomaterials*, 73(11), 961-973, DOI: 10.1080/00914037.2023.2235875.

[56]. Zhao, N., Yuan, W., 2022, Highly adhesive and dual-crosslinking hydrogel via one-pot self-initiated polymerization for efficient antibacterial, antifouling and full-thickness wound healing, *Composites part B: engineering*, 230, 109525. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2021.109525>.

EKLER

EK 1. Şişme Kinetiğinin İncelenmesi



Şekil EK 1 AlgMA/HAMA hibrit hidrojellerinin 48 ve 72 saatlik şişme durumu.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Simay Yağmur RIVAS RODRIGUEZ

ORJİNALLİK RAPORU

% **10**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **8**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **4**

YAYINLAR

% **5**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 3
2	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 2
3	avesis.hacettepe.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
4	avesis.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	acikerisim.istinye.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	openaccess.hacettepe.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Fırat Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
9	Submitted to Anadolu University Öğrenci Ödevi	<% 1