

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL VE MODELLEME YÖNTEMLERİ İLE POLİÜRETAN
FİLMLERDEKİ PÜRÜZLÜLÜK VE KRİSTALİNİTENİN FİBRİNOJEN
ADSORPSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gizem KELEŞ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

HAZİRAN 2019

**DENEYSEL VE MODELLEME YÖNTEMLERİ İLE POLİÜRETAN
FİLMLERDEKİ PÜRÜZLÜLÜK VE KRİSTALİNİTENİN FİBRİNOJEN
ADSORPSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Gizem KELEŞ
(506151033)**

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Özge KÜRKÇÜOĞLU LEVİTAS

HAZİRAN 2019

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506151033 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Gizem KELEŞ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “DENEYSEL VE MODELLEME YÖNTEMLERİ İLE POLİÜRETAN FİLMLERDEKİ PÜRÜZLÜLÜK VE KRİSTALİNİTENİN FİBRİNOJEN ADSORPSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Özge KÜRKÇÜOĞLU LEVİTAS**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Seniha GÜNER**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Sevil YÜCEL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : 03 Mayıs 2019
Savunma Tarihi : 13 Haziran 2019





Aileme,



ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarına başvurduğum ve yürüttüğüm çalışmada kendimi geliştirmeme katkıları bulunan değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. F. Seniha GÜNER ve Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Özge KÜRKÇÜOĞLU LEVİTAS’a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, temas açısı analizine verdiği katkılardan dolayı, Prof. Dr. İ. Ersin SERHATLI ve Doç. Dr. Tuba ÇAKIR ÇANAK’a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sırasında destek ve görüşleriyle yanımda olan Mehdi MERAN, Dilek DALGAKIRAN ve Banu KOCAAĞA’ya teşekkür ederim. Laboratuvarıda birlikte çalıştığım Fulya GÜLMEZ, Serap GÜL DURAKOĞLU, Yeşim YENİYURT, Gamze BAĞIMSIZ, Aybüke TAVASLI ve Sıla KILIÇ’a teşekkür ederim.

Her anlamda benim yanımda olup bana her desteği veren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2019

Gizem KELEŞ
(Kimya Mühendisi)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xix
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ	1
2. POLİÜRETAN VE BİYOMALZEME OLARAK KULLANIMI.....	5
2.1 Poliüretanların Genel Özellikleri ve Sentez Yöntemleri.....	5
2.2 Poliüretanın Biyomedikal Alanındaki Kullanımı.....	9
3. POLİMER MALZEMELERE PROTEİN ADSORPSİYONU VE ETKİLEYEN FAKTÖRLER	13
3.1 Proteinin Yapısı.....	15
3.2 Protein Çözeltilisinin Özellikleri	18
3.3 Polimer Yüzeyinin Özellikleri.....	20
4. MODELLEME VE SİMÜLASYON YÖNTEMLERİ	23
4.1 Matematiksel Modeller	23
4.2 Simülasyon Teknikleri	25
4.2.1 Moleküler dinamik metodu	26
4.2.2 Monte Carlo metodu	28
5. KULLANILAN METOT VE MALZEMELER.....	29
5.1 DeneySEL Çalışma	29
5.1.1 Kullanılan kimyasallar	29
5.1.2 PU film sentezi.....	30
5.1.3 Karakterizasyon yöntemleri	33
5.1.3.1 Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi	33
5.1.3.2 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi	33
5.1.3.3 Polimer filmlerde suyla temas açısı ölçümü	33
5.1.3.4 Polimer filmlere şişme testi.....	34
5.1.3.5 Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)	34
5.1.4 Poliüretan filmlere protein adsorpsiyonu.....	34
5.2 Hesaplamalı Modelleme ve Simülasyon Çalışması	35
5.2.1 Brownian dinamiği metodu.....	35
5.2.2 Gaussian ağyapı modeli (GNM)	39
5.2.3 Adsorpsiyonda kullanılan PU yüzey tipleri	40
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	43
6.1 DeneySEL Sonuçlar	43
6.1.1 Poliüretan sentez reaksiyonunun izlenmesi	43
6.1.2 Poliüretan filmlerin karakterizasyonu	44

6.1.2.1 Poliüretan filmlerin fotoğrafları	44
6.1.2.2 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi	45
6.1.2.3 Su ile temas açısı analizleri	46
6.1.2.4 Poliüretan filmlerin şişme analizi.....	46
6.1.2.5 Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi.....	47
6.1.3 Protein adsorpsiyon sonuçları	52
6.2 Modelleme ve Simülasyon Sonuçları.....	60
6.2.1 Fibrinojenin menteşe hareketleri	60
6.2.2 Fibrinojen adsorpsiyon simülasyonu	61
6.2.2.1 Düz poliüretan yüzeylere fibrinojen adsorpsiyonu	61
6.2.2.2 Pürüzlü poliüretan yüzeylere fibrinojen adsorpsiyonu.....	64
6.2.3 Fibrinojen ile albümin adsorpsiyon simülasyonlarının karşılaştırılması ..	66
6.2.3.1 Adsorpsiyon hızlarının karşılaştırılması.....	67
6.2.3.2 Yüzeyin kaplanma oranlarının karşılaştırılması.....	68
7. GENEL SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR.....	73
EKLER.....	81
ÖZGEÇMİŞ.....	93

KISALTMALAR

PE	: Polietilen
PU	: Poliüretan
PTFE	: Politetrafloroetilen
PA	: Poliasetal
PMMA	: Polimetilmetakrilat
PET	: Polietilen tereftalat
PS	: Polisülfon
PEEK	: Polietetereterketon
PLA	: Poli(laktik asit)
PGA	: Poli(glikolik asit)
PVC	: Polivinilklorür
HY	: Hint yağı
TDI	: Toluen-2,4-diizosiyanat
DDI	: Dimeril diizosiyanat
IPDI	: izoforon diizosiyanat
HDI	: 1,6-hekzametilen diizosiyanat
TIVAD	: Tümüyle implante edilmiş venöz erişim cihaz
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
CG	: Kaba taneli
MD	: Moleküler dinamik
MC	: Monte Carlo
BD	: Brownian dinamiği
FTIR	: Fourier transform infrared
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetre
AFM	: Atomik kuvvet mikroskobu
NMA	: Normal mod analizi
GNM	: Gaussian ağ modeli
T_g	: Camı geçiş sıcaklığı
T_m	: Erime sıcaklığı
ANM	: Anizotropik ağ modeli



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 5.1 : PU film sentezinde kullanılan kimyasalların genel özellikleri.....	30
Çizelge 5.2 : Polimer filmlerin kodları.	32
Çizelge 6.1 : PU filmlerin camsı geçiş sıcaklıkları, erime sıcaklıkları ve % kristalinite değerleri.	45
Çizelge 6.2 : Sentezlenen PU filmler için kristalinite, temas açısı, şişme miktarı, yüzey pürüzlülüğü, pürüzlülükler arasındaki uzaklık ve protein adsorpsiyon hızı.....	55
Çizelge 6.3 : Fibrinojenin esnek bölgelerinin yapıdaki bulunduğu yerler.....	61
Çizelge 6.4 : Düz yüzeylerdeki mikrofaz ayrımının yüzey kaplanmasına etkisi.	63
Çizelge 6.5 : Yüzey pürüzlülüğünün yüzey kaplanmasına etkisi.	66
Çizelge 6.6 : Karşılaştırmalı olarak yüzey pürüzlülüğünün yüzey kaplanmasına etkisi.	69
Çizelge C.1 : PU filmlerin su ile temas açısı çizelgesi.....	90
Çizelge D.1 : PU filmlerin pürüzlülük ve pürüzlerin vadi giriş genişliği çizelgesi...	91



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Biyomalzemelerin genel özellikleri.....	1
Şekil 2.1 : Hint yağının kimyasal yapısı.....	6
Şekil 2.2 : Poliüretan sentezinde en yaygın kullanılan diizosiyanat reaktantlarının kimyasal yapısı. (A) toluen-2,4-diizosiyanat (TDI), (B) 1,5-naftalen diizosiyanat (NDI), (C) izoforon diizosiyanat (IPDI), (D) 4,4'-metilen-bis-(fenil izosiyanat) (MDI), (E) 4,4'-metilen-bis-(sikloheksil izosiyanat) (H ₁₂ MDI)	7
Şekil 2.3 : Hekzametilen diizosiyanatın (HDI) kimyasal yapısı.....	7
Şekil 2.4 : Poliüretan sentezinde en yaygın kullanılan zincir uzatıcı reaktantlarının kimyasal yapısı. (A) etilen glikol (EG), (B) 1,2-propandiol (1,2-PD), (C) 1,4-bütandiol (BDO), (D) 1,6-heksandiol (HD), (E) etanolamin (ETA) ve (F) etilenamin (EDA).....	7
Şekil 2.5 : Poliüretanın kimyasal yapısı. (A) Zincir uzatıcı olmadan sentezlenen poliüretan, (B) Zincir uzatıcı kullanılarak sentezlenen poliüretan	8
Şekil 2.6 : Poliüretanın yapısında bulunan hidrojen bağları	8
Şekil 2.7 : Farklı faz ayırma derecelerine sahip poliüretanların kristal bölgeleri. (A) düşük faz ayırmalı poliüretan, (B) yüksek faz ayırmalı poliüretan	9
Şekil 2.8 : Poliüretan boru iskelesi	10
Şekil 2.9 : Tümüyle implante edilmiş toplardamar (venöz) erişim cihazı. (A) 5.0-F SI kateter ile oluşturulan Cook Vital-Port Mini Titanium konik bağlantı göbeği, (B) 6.0-F PU kateter ile oluşturulan Cook Vital-Port Mini Titanium trapezoid (yamuk) bağlantı göbeği	11
Şekil 2.10 : Lohmann-Rauscher markasına ait olan Suprasorb P poliüretan yaraörtüsü	11
Şekil 3.1 : Provizyonel matriks	14
Şekil 3.2 : Peptid bağının oluşum reaksiyonu	15
Şekil 3.3 : Proteinlerin ikincil yapıları	15
Şekil 3.4 : Fibrinojen molekülünün yapısı. (A) Fibrinojen molekülünün şematik gösterimi, (B) Fibrinojenin kristalografik yapısının van der Waals gösterimi	17
Şekil 3.5 : Fibrinojen proteininin insan ve tavuklarda yapısının karşılaştırmalı gösterimi	17
Şekil 3.6 : İnsan kanındaki fibrinojen molekülünün FTIR spektrumu	18
Şekil 3.7 : Hidrofilik yüzeye adsorplanan fibrinojen proteininin çeşitli pH değerlerindeki konformasyon değişimi ve yönelimi	19
Şekil 3.8 : Pürüzlü yüzeylere protein adsorpsiyonu	20
Şekil 3.9 : Hidrofilik ve hidrofobik yüzeylere protein adsorpsiyonu	21
Şekil 4.1 : Cyt C – MPMN sistemi için en düşük enerji bağlanma konformasyonları. (A) OT Homo, (B) 1:2 MH:OT, (C) 1:1 MH:OT ince, (D) 1:1 MH:OT kalın, (E) 2:1 MH:OT ve (F) MHHomo MPMN yüzeyler	25
Şekil 4.2 : Atomlara uygulanan kuvvetlerin MD denklemindeki gösterimi	26

Şekil 4.3 : Proteinlerin altın yüzeyine adsorplanmadan önceki ve sonraki görüntüleri. (A) 3GBP, (B) 6GBP ve (C) 6NGBP	27
Şekil 5.1 : Tek kademe metoduyla PU sentezi reaksiyonu. (A) PEG ile HDI kullanılarak PU sentezi, (B) HY ile HDI kullanılarak PU sentezi.....	31
Şekil 5.2 : Brownian hareketi yapan taneciklerin gösterimi	36
Şekil 5.3: Bağ içeren ve içermeyen kuvvetlerin basitleştirilmiş gösterimi.....	38
Şekil 5.4 : Düz poliüretan yüzeyin modellenmiş görüntüsü (A) Adsorpsiyon bölgelerinin sıralı modellenmesi, (B) Adsorpsiyon bölgelerinin gelişigüzel modellenmesi	40
Şekil 5.5 : Pürüzlü poliüretan yüzeylerin kaba ölçekli modellenmiş görüntüleri (A) Tip 1, (B) Tip 2 ve (C) Tip 3	41
Şekil 5.6 : Poliüretan-fibrinojen sisteminin kaba-ölçekli modellenmesi	41
Şekil 6.1 : PU-3000-50 filmin reaksiyonun başındaki FTIR spektrumu	43
Şekil 6.2 : PU-3000-50 filmin reaksiyon tamamlandıktan sonraki FTIR spektrumu	44
Şekil 6.3 : Sentezlenen PU filmlerin fotoğrafları	44
Şekil 6.4 : PU filmlerin temas açısı değerleri	46
Şekil 6.5 : PU filmlerin 24'üncü saatteki şişme sonuçları.....	47
Şekil 6.6 : PU filmlerin topografya görüntüleri	48
Şekil 6.7 : PU filmlerin AFM'den elde edilen yüzey pürüzlülüğü grafiği	51
Şekil 6.8 : PU filmlerin AFM'den elde edilen pürüzlerin vadi giriş genişliği grafiği.....	51
Şekil 6.9 : Pürüzlü yüzeylere fibrinojen adsorpsiyonunun şematik gösterimi. (A) PU-3000-60 kodlu filmin vadi giriş genişliği, (B) PU-3000-60_p kodlu filmin vadi giriş genişliği.	52
Şekil 6.10 : PU yüzeye 80 dk'lık süreçte adsorplanan fibrinojen miktarları	53
Şekil 6.11 : Aşma (overshooting) adsorpsiyon kinetiği.....	54
Şekil 6.12 : PU yüzeylere 5 dakikada adsorplanan fibrinojen miktarları.	54
Şekil 6.13 : PEG400 kullanılarak sentezlenen filmlere fibrinojen adsorpsiyonu	57
Şekil 6.14 : PEG1500 kullanılarak sentezlenen filmlere fibrinojen adsorpsiyonu	58
Şekil 6.15 : PEG3000 kullanılarak sentezlenen filmlere fibrinojen adsorpsiyonu	58
Şekil 6.16 : Fibrinojenin esnek bölgeleri. (A) En yavaş ANM mod 1, (B) En yavaş ANM mod 2	60
Şekil 6.17 : Fibrinojenin menteşe hareketleri. (A) Bükülme hareketi yaptığı mod 1, (B) Burkulma hareketi yaptığı mod 2	61
Şekil 6.18 : Fibrinojen proteininin modellenmiş görüntüsü.	61
Şekil 6.19 : Düz poliüretan yüzeylerde mikrofaz ayrımının adsorplanan fibrinojen sayısına etkisi	62
Şekil 6.20 : Düz poliüretan yüzeylerde mikrofaz ayrımının yüzey kaplanma oranına etkisi	62
Şekil 6.21 : Mikrofaz ayrımının sıralı olduğu düz yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu.	63
Şekil 6.22 : Mikrofaz ayrımının gelişigüzel olduğu düz yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu	64
Şekil 6.23 : Pürüzlü poliüretan yüzeylerde mikrofaz ayrımının adsorplanan fibrinojen sayısına etkisi	64
Şekil 6.24 : Tip 1 pürüzlü yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu	65
Şekil 6.25 : Tip 2 pürüzlü yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu	65
Şekil 6.26 : Tip 3 pürüzlü yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu	65
Şekil 6.27 : Pürüzlü poliüretan yüzeylerde mikrofaz ayrımının yüzey kaplanma oranına etkisi	66
Şekil 6.28 : Albümin proteininin yapısal görünümü. (A) Albümin proteininin molekül yapısı, (B) Albümin proteininin modellenmiş görünümü.....	67

Şekil 6.29 : PU yüzeylerde mikrofaz ayrımının adsorplanan fibrinojen sayısına etkisi.	67
Şekil 6.30 : PU yüzeylerde mikrofaz ayrımının adsorplanan albümin sayısına etkisi	68
Şekil 6.31 : PU yüzeylerde mikrofaz ayrımının yüzeyin fibrinojenle kaplanma oranına etkisi	68
Şekil 6.32 : PU yüzeylerde mikrofaz ayrımının yüzeyin albüminle kaplanma oranına etkisi	69
Şekil A.1 : PU-100filmin FTIR spektrumu.	82
Şekil A.2 : PU-400-70 filmin FTIR spektrumu.	82
Şekil A.3 : PU-400-50 filmin FTIR spektrumu.	83
Şekil A.4 : PU-1500-70 filmin FTIR spektrumu.	83
Şekil A.5 : PU-1500-50 filmin FTIR spektrumu.	84
Şekil A.6 : PU-3000-70 filmin FTIR spektrumu.	84
Şekil A.7 : PU-3000-60 filmin FTIR spektrumu.	85
Şekil B.1 : PU-100 DSC spektrumu.	86
Şekil B.2 : PU-400-70 DSC spektrumu.	86
Şekil B.3 : PU-400-50 DSC spektrumu.	87
Şekil B.4 : PU-1500-70 DSC spektrumu.	87
Şekil B.5 : PU-1500-50 DSC spektrumu.	88
Şekil B.6 : PU-3000-70 DSC spektrumu.	88
Şekil B.7 : PU-3000-60 DSC spektrumu.	89
Şekil B.8 : PU-3000-50 DSC spektrumu.	89
Şekil C.1 : PU filmlerin şişme miktarları grafiği.	90
Şekil E.1 : Fibrinojen proteininin kalibrasyon eğrisi.	92



DENEYSEL VE MODELLEME YÖNTEMLERİ İLE POLİÜRETAN FİLMLERDEKİ PÜRÜZLÜLÜK VE KRİSTALİNİTENİN FİBRİNOJEN ADSORPSİYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Polimer malzemelerin kullanıldığı önemli uygulama alanlarından biri de biyomedikal alanıdır. Biyomalzemeler kanla temas ettiklerinde ilk gerçekleşen olay kan proteinlerinin katı (polimer) - sıvı (kan) arayüzeyinde adsorpsiyonu olduğundan, biyomedikal uygulamalarda tercih edilen biyomalzemelerin daha kullanışlı hale getirilebilmesi için polimer yüzeye protein adsorpsiyon mekanizmasının anlaşılması ve protein adsorpsiyonunun kontrol edilmesi oldukça önemli bir konudur. Protein adsorpsiyonunu birden fazla faktör etkilemektedir. Proteinin, çözeltinin ve adsorbent yüzeyinin özellikleri protein adsorpsiyonu üzerinde sinerjik bir etkiye sahip olduğundan protein adsorpsiyon olayını kontrol edebilmek zorlaşmaktadır. Proteinlerin büyüklüğü, esnekliği ve hidrofilikliği adsorpsiyonu etkileyen protein özellikleridir. Ayrıca, pH, sıcaklık, iyonik kuvvet, kimyasal bileşim ve konsantrasyon gibi çözelti özellikleri ile polimer yüzeyinin kimyasal, geometrik ve elektriksel özellikleri protein adsorpsiyonunu etkileyen etmenlerdendir. Bu çalışmada, biyoyumlu bir polimer olan poliüretan (PU) tercih edilmiş olup pürüzlülük ve kristalinitenin fibrinojen adsorpsiyonu üzerindeki etkileri hem deneysel hem de moleküler modelleme ve simülasyon yöntemleri ile belirlenmiştir.

Deneysel çalışma kapsamında, farklı yüzey özelliklerine sahip PU film sentezleri yapılarak karakterizasyon çalışmalarının tamamlanmasının ardından, fibrinojen proteininin PU yüzeylere adsorpsiyonu incelenmiştir. PU'nun mekanik özelliklerinin ve kan uyumluluğunun yüksek olması ile fiziksel ve kimyasal özelliklerinin esnek olmasının verdiği avantajların etkisiyle, biyomedikal alanındaki uygulamalarda biyomalzeme olarak kullanımı sıklıkla tercih edilmektedir. PU'nun özellikleri temel olarak reaktif grupların içeriğine, yapıdaki çapraz bağlanma derecesine ve reaksiyona giren monomerlerin birbirlerine dolanma seviyelerine bağlıdır. PU sentezinde petrol bazlı polioller kullanılabileceği gibi bitkisel yağlar da kullanılabilmektedir. Son zamanlarda, çevresel kaygı ve ekonomik sebeplerden dolayı sentezde bitkisel yağlar gibi yenilenebilir ham maddelerin kullanımına önem verilmektedir. Ayrıca, bitkisel yağların düşük toksisitede, yüksek saflıkta ve ucuz olmaları da tercih edilmelerini arttırmaktadır. Bitkisel bir polioller olan hint yağı, PU sentezinde çapraz bağlayıcı olarak kullanılırken, 1,4-bütandiol (BDO) zincir uzatıcı, polietilen glikol (PEG) polioller kaynağı ve hekzametilen diizosiyanat (HDI) izosiyanat kaynağı olarak kullanılmıştır. Temel kan proteinleri albümin, hemoglobin, gamma globulin, fibrinojen ve ferritindir. Yapılan önceki bir çalışmada, fibrinojenden daha küçük ve küresel bir yapıya sahip olan albümin proteininin çeşitli PU yüzeylere adsorpsiyon olayı incelenmiştir. Fibrinojenin anizotropik ve esnek yapısının adsorpsiyona etkisini ortaya çıkarmak için bu çalışmada fibrinojen proteininin çeşitli PU yüzeylere adsorpsiyon analizleri yapılmıştır. Sentezlenen PU filmlerin karakterizasyonları, FTIR, DSC, su ile temas açısı, şişme ve AFM analizleriyle yapılmıştır.

Deneyisel alışmalar sonucunda, polimerin hidrofilikliğinin, kristalinitesinin ve yüzey pürüzlülüğünün adsorpsiyonu belirleyen önemli etmenler olduğu anlaşılmıştır. Fibrinojen anizotropik ve esnek bir yapıya sahip olduğundan simülasyon çalışmasına fibrinojenin esnek bölgelerinin ve menteşe hareketlerinin belirlenmesiyle başlanmıştır. Fibrinojenin esnek kısımlarını ve menteşe hareketlerini belirlerken Gaussian ağ modelinden yararlanılmıştır. Esnek kısımlar fibrinojenin orta ve iki ucunda bulunduğu için yapı modellemesi yapılırken fibrinojen, birbirlerine yaylarla bağlı üç nodül şeklinde modellenmiştir. Fibrinojen modelinin belirlenmesinin ardından, yüzey pürüzlülüğü ve kristalinitenin adsorpsiyon üzerindeki etkileri Brownian dinamiği simülasyonu ile incelenmiştir. Yüzey kristalinitesinin protein adsorpsiyonuna etkisini araştırabilmek için adsorpsiyon bölgelerinin sıralı ve gelişigüzel yer aldığı iki çeşit düz yüzey modellenmiştir. Ayrıca, farklı pürüzlülük ve pürüz derinliklerine sahip adsorpsiyon bölgelerinin gelişigüzel dağılım gösterdiği üç tip pürüzlü yüzey modellenerek yüzey pürüzlülüğünün fibrinojen adsorpsiyonuna etkisi Brownian simülasyon yöntemi yardımıyla analiz edilmiştir. Simülasyon alışmaları sonucunda, kristalinitenin, yüzey pürüzlülüğünün ve adsorplanan fibrinojenin oluşturduğu sterik engelin adsorpsiyonu belirlediği anlaşılmıştır. Deneyisel çalışmadan elde edilen sonuçlarla simülasyon sonuçları karşılaştırıldığında, yüzey przllğnn artmasıyla fibrinojen adsorpsiyonunun artış gsterdiği ortak sonucuna varılmıştır.

DETERMINING THE EFFECTS OF ROUGHNESS AND CRYSTALLINITY ON FIBRINOGEN ADSORPTION ON POLYURETHANE FILMS WITH EXPERIMENTAL AND MODELING METHODS

SUMMARY

Since polymeric materials are synthesized from small molecules called monomers by creating chemical bonds, these materials have long chain structures. Polymers constitute a large part of the materials, and synthetic polymers as biomaterials are generally preferred in biomedical applications. There is a large variety of synthetic polymers, and some of them can be used as biomaterials including polyethylene (PE), polyurethane (PU), polytetrafluoroethylene (PTFE), polyacetal (PA), polymethylmethacrylate (PMMA), polyethylene terephthalate (PET), silicone rubber (SR), polysulfone (PS), polyetheretherketone (PEEK), poly (lactic acid) (PLA) and poly (glycolic acid) (PGA). Biomaterials can be used to increase tissue functions and also treat diseases and injuries. Therefore, biomaterials are in contact with biological systems. When biomaterials come into contact with blood, the first thing that happens is the adsorption of blood proteins in the solid (polymer) - liquid (blood) interface. It is crucial to understand the mechanism of protein adsorption and control protein adsorption process onto polymer surfaces in order to characterize polymeric biomaterials for different biomedical applications. Since protein adsorption directly affects biocompatibility, biological interaction and material performance *in vivo*, it is important to characterize protein adsorption onto polymer surfaces. There is a number of different factors affecting protein adsorption process, and controlling this process is crucial since the properties of protein, solution and adsorbent surface have a synergistic effect on protein adsorption. Protein properties including the size, flexibility and hydrophilicity affect protein adsorption rate onto polymer surfaces. In addition to chemical, geometric, and electrical properties of the polymer surface, properties of the solution such as pH, temperature, ionic strength, chemical composition, and concentration also affect the protein adsorption rate.

In this study, polyurethane (PU), a biocompatible polymer, was studied, and the effects of roughness and crystallinity on fibrinogen adsorption were determined by both experimental and mathematical modeling and simulation methods. In the experimental study, PU film synthesis with different surface properties were performed, and its properties were characterized. Accordingly, adsorption of fibrinogen protein onto PU surfaces was investigated. Due to the favorable physical and chemical properties and biocompatibility of PU, it is often used as a biomaterial in biomedical applications. For example, PU can be designed to provide structural scaffolding in tissue engineering. Pores in the structure of PU could provide cellular filtration and food transport to derive formation of new blood vessels. PU materials can be also used as a catheter or cardiac valve in the biomedical applications.

There are two methods to synthesize PU, and these are one shot and prepolymer methods. If the one shot method is preferred, all reactants are placed in the reaction

medium, and required reaction conditions like temperature are adjusted to complete PU synthesis reaction. When it is desired to synthesize using the prepolymer method, the diol and the diisocyanate are reacted to form PU prepolymer. Then, a chain extender is added to the reaction mixture to form PU polymers. Prepolymer method is generally preferred to control the PU structure. The properties of the PU mainly depend on the content of the reactive groups, the degree of cross-linking in the structure and the degree of entanglement of the reacting monomers. Petroleum-based polyols and vegetable oils can be used in PU synthesis. However, the use of renewable raw materials such as vegetable oils is preferred due to environmental concerns and economic reasons in the synthesis. Moreover, low toxicity, high purity and cheapness of vegetable oils increase their preference. Soybean oil, canola oil, palm oil, sunflower oil, corn oil and castor oil can be used for this purpose. In this study, castor oil is selected for PU synthesis. Castor oil provides better chemical and mechanical properties to PU since castor oil has amorphous structure and a hydrophobic character. Moreover, castor oil acts as a crosslinker in PU synthesis. Although the activity of aromatic isocyanates is higher than aliphatic isocyanates, usage of aromatic diisocyanates are not preferred in PU synthesis since aromatic diisocyanate compounds have toxic effect *in vivo* due to aromatic structures. Hexamethylene diisocyanate, an aliphatic diisocyanate, is used in the PU synthesis as isocyanate source. In the PU synthesis, 1,4-butane diol (BDO) is used as chain extender. The selected reactants determine the properties of the PU, so the reactants used in the synthesis cause the formation of hard and soft regions in PU. Short chain diols such as BDO and diisocyanates form the hard region of PU, while long chain diols such as polyethyleneglycol (PEG) form the soft region. The hard region determines the rigidity and tear strength of PU, while the soft region determines flexibility, softness, and resistance of PU to low temperatures.

Major blood proteins are albumin, hemoglobin, gamma globulin, fibrinogen and ferritin. In the previous study, albumin adsorption was investigated on various PU surfaces. Albumin is smaller than fibrinogen, and it has isotropic structure. In this study, the effect of anisotropic and flexible structure of fibrinogen on adsorption is investigated; hence, adsorption analysis of fibrinogen on various PU surfaces is conducted. When biomaterials are transplanted into the body, first they come into contact with blood, primarily with the blood proteins including fibrinogen. Fibrinogen adsorbs onto the surface of biomaterials and then catalyzed by thrombin in order to form fibrin, which can then initiate clot formation on the surface of the material. Therefore, fibrinogen adsorption onto PU surfaces needs to be characterized in order to optimize the surface properties of PU for biomedical applications.

The characterizations of synthesized PU films were made by FTIR, DSC, water contact angle, swelling and AFM analysis. The steps of polymerization reaction were observed by FTIR analysis.

In the beginning of the reaction, OH⁻ strain peak and free isocyanate peak were observed in the FTIR spectrum. When the reaction was complete, OH⁻ strain peak and the free isocyanate peak were disappeared, and the characteristic urethane peak was observed. Thermodynamic properties of materials can be determined by thermal analysis using DSC. DSC analysis shows that as the amount of cross-link in the films increases, the movement of the polymer chains becomes more difficult, and glass transition temperature (T_g) of the PEG-free PU film is getting higher. Water contact angle and swelling analysis give information on hydrophilicity of PU surfaces. When the PEG content of PU film increases, the PU film hydrophilicity increases.

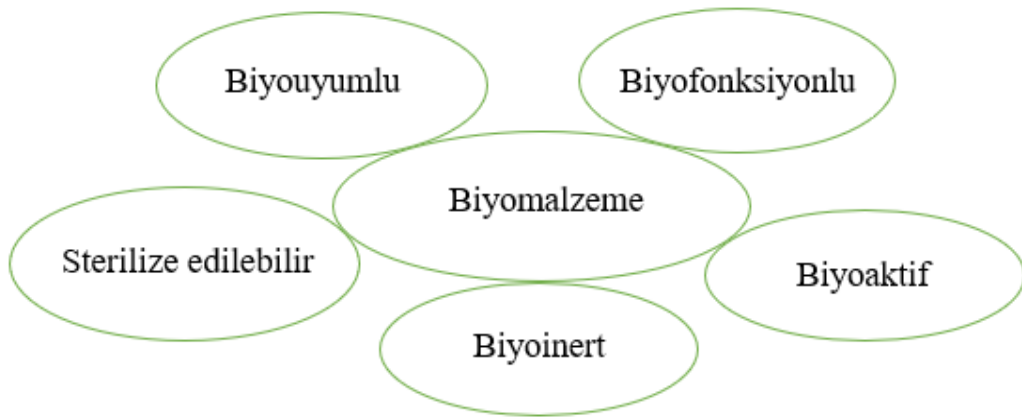
Accordingly, the surface properties of PU films are determined by AFM analysis. The surface roughness and roughness width of PU films were obtained by AFM analysis. It was found that the surface roughness tends to increase as the amount of PEG and the molecular weight of PEG increases. As a result of experimental studies, it was shown that the hydrophilicity, crystallinity, and surface roughness of the polymer determine the fibrinogen adsorption rate on PU surfaces. The surface roughness controls the fibrinogen adsorption onto PU-100 and PU-400 coded films. The surface roughness and film hydrophilicity control the adsorption onto PU-1500 coded films, while the main parameter controlling the adsorption is the film hydrophilicity for PU-3000 coded films. As the molecular weight of PEG increased, the effect of surface roughness on the adsorption decreased and the effect of hydrophilicity became dominant. As a result of the experimental study, it was shown that the factor controlling the fibrinogen adsorption was transmitted from the surface roughness to the hydrophilicity by increasing the molecular weight of PEG.

Since fibrinogen has an anisotropic and flexible structure, the simulation study was started by determining the flexible regions and hinge movements of the fibrinogen using the HingeProt internet server. Gaussian network model was used to determine the flexible parts of the fibrinogen and hinge movements. Fibrinogen makes the bending and twisting movements. The flexible parts are located in the middle and two ends of the fibrinogen, so the fibrinogen was modeled as three nodules connected to each other with springs. After the determination of the fibrinogen model, the effects of surface roughness and crystallinity on adsorption were investigated by Brownian dynamics simulation. In order to investigate the effect of surface crystallinity on protein adsorption, two types of flat surfaces in which the adsorption regions were arranged in random order were modeled. Three types of rough surfaces were modeled in a random distribution of adsorption regions with different roughness and roughness depths, and the effect of surface roughness on fibrinogen adsorption was analyzed by Brownian simulation method. As a result of the simulation study, it was shown that crystallinity and surface roughness due to the steric hindrance of fibrinogen determine the fibrinogen adsorption rate onto PU surfaces. When the results of the experimental study were compared with the results of the simulation study, it was concluded that fibrinogen adsorption increased onto PU surfaces with the increase of surface roughness.



1. GİRİŞ

Metaller, seramikler ve polimerler birçok yapıyı oluşturmak için kullanılan teknik üç temel malzemedir. Katı halde metalik bağlanma yapan malzemeler metal olarak adlandırılırken, farklı metallerin karışımları veya çözeltilerine alaşım denilmektedir. Seramik malzemeler ise, genellikle katı inorganik bileşiklerdir ve kovalent ile inorganik bağın çeşitli kombinasyonlarından meydana gelirler [1]. Polimer malzemeler, monomer adı verilen küçük moleküllerin birbirleriyle kimyasal bağ yapması sonucu oluşan uzun zincirli yapılardır ve malzemelerin geniş bir kısmını oluşturmaktadır. Ayrıca, günlük hayatta kullandığımız birçok ürün veya eşya polimer malzemelerden meydana gelmektedir [2]. Sentetik polimerler, biyomalzemelerin oldukça geniş bir sınıfını oluşturan hem ilaç alanında hem de medikal alandaki uygulamalarda çokça kullanılan malzemelerdir [3]. Biyomalzemeler, doku fonksiyonlarını arttırmak için kullanılabildikleri gibi, hastalıkların ve yaralanmaların tedavisinde de tercih edildiklerinden biyolojik sistemlerle temas halindedirler [1,4]. Bu nedenle, Şekil 1.1’den de görüldüğü gibi biyomalzemelerin vücut içinde herhangi bir toksik ve alerjik reaksiyon vermemesi, iltihaplanmaya neden olmaması, biyoyumlu, biyofonksiyonlu olması, biyoinert ve sterilize edilebilir olması gerekmektedir [5].



Şekil 1.1 : Biyomalzemelerin genel özellikleri [5].

Biyomalzeme olarak kullanılabilen sentetik polimerlere örnek olarak polietilen (PE), poliüretan (PU), politetrafloroetilen (PTFE), poliasetal (PA), polimetilmetakrilat (PMMA), polietilen tereftalat (PET), silikon kauçuk (SR), polisülfon (PS), polietetereterketon (PEEK), poli(laktik asit) (PLA) ve poli(glikolik asit) (PGA) gibi bir çok polimer verilebilir [6]. Poliüretanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin esnek olmasının verdiği avantajdan dolayı, spesifik uygulamalarda poliüretan malzemelerden yararlanılabilmektedir. Bu nedenle, poliüretanlar biyomalzemeler arasında araştırılan önemli gruplardan biridir [7].

Polimer malzemelerin kullanıldığı önemli uygulama alanlarından biri de biyomedikal alanıdır. Polimer malzemelerin biyomedikal uygulamaları başlıca üç temel kategoriden meydana gelmektedir. Bu kategorilerin ilki, vücut dışı (ekstrakorporeal) uygulamalardır ve yapay deri, kateterler, diyaliz membranları veya yapay böbrek, oküler cihazlar, tüpler ve yara örtüsü şeklinde örnekler verilebilmektedir. İkinci kategoride kardiyovasküler, diş, ortopedik ve algılayıcı cihazlar gibi kalıcı olarak implante edilmiş cihazlar bulunmaktadır. Üçüncü kategoride yer alan biyomalzemeler, geçici implantlardır. Örnek olarak, bozunabilen dikişler, implante edilebilen ilaç taşıyıcı sistemler, hücre veya doku nakli için polimerik iskeleler, geçici küçük kemik sabitleyici cihazlar, geçici vasküler graftlar ve atardamar stentleri verilebilir [8].

Biyomalzemelerin kullanıldığı biyomedikal uygulamaların başında kardiyovasküler medikal cihazlar, ortopedi ve diş uygulamaları, oftalmoloji (göz bilimi) uygulamaları, yanık pansumanları ve deri değişimi gibi uygulamalar bulunmaktadır [9]. Biyomalzemeler kanla temas ettiklerinde ilk gerçekleşen olay kan proteinlerinin katı (polimer) - sıvı (kan) arayüzeyinde adsorpsiyonu olduğundan, polimer yüzeye protein adsorpsiyon mekanizmasını anlamak ve kontrol etmek önemli bir konu haline gelmiştir [3,7]. Temel kan proteinleri albümin, hemoglobin, gamma globulin, fibrinojen ve ferritindir [10]. Protein adsorpsiyonu biyoyumumluluk, biyolojik etkileşim ve malzeme performansını doğrudan etkilediğinden biyomalzemeler açısından önemlidir [11]. Polimer yüzeye protein adsorpsiyonunu etkileyen başlıca üç faktör proteinin yapısı, protein çözeltisinin özellikleri ve polimer malzemenin yüzey özellikleridir. Protein adsorpsiyonu ile polimer yüzey özellikleri arasındaki ilişkiyi anlamaya yönelik yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar, hem deneysel hem de moleküler modelleme ve simülasyon yöntemleri kullanılarak

gerçekleştirilmektedir [7]. Moleküler modelleme çalışmalarında en çok kullanılan yöntemler moleküler dinamik, Monte carlo ve Brownian dinamiğidir [12].

Bu çalışmada, ilk olarak kan proteinlerinden biri olan fibrinojenin yapısı elastik ağ yapı modeliyle incelenerek yaptığı menteşe hareketleri belirlenmiştir. Sonrasında, fibrinojenin poliüretan yüzeye adsorpsiyonu hem deneysel hem de moleküler modelleme ve simülasyon yöntemiyle incelenerek çıkan sonuçlar birlikte değerlendirilmiştir. Protein özelliklerinin adsorpsiyonu etkilediği bilindiğinden esnek bir yapıya sahip olan fibrinojenin çeşitli yüzey özelliklerindeki poliüretana adsorpsiyonu araştırılmıştır. Bu çalışmada, biyomedikal uygulamalar için uygun olduğundan poliüretan polimeri tercih edilmiştir.

Bu tezde, poliüretanların genel özelliklerinden ve sentez yöntemlerinden bahsedildikten sonra, poliüretanın biyomedikal alanındaki kullanımı anlatılmaktadır. Ardından, polimer malzemelere protein adsorpsiyonunu etkileyen faktörler örneklerle açıklanmaktadır. Dördüncü bölümde ise, moleküler modelleme ve simülasyon yöntemleri anlatılmaktadır. Kullanılan yöntem ve malzemeler anlatıldıktan sonra, hem deneysel hem de modelleme ve simülasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlar açıklanmıştır.



2. POLİÜRETAN VE BİYOMALZEME OLARAK KULLANIMI

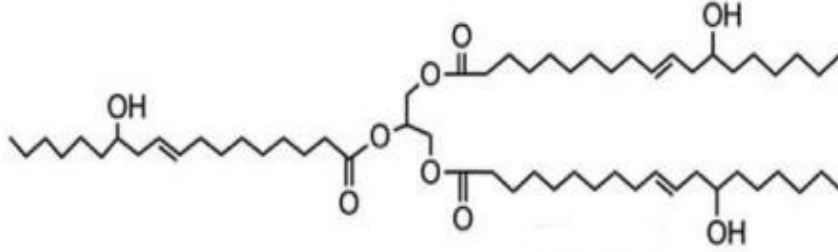
Poliüretanlar hem termoplastik hem de ısıyla sertleşen polimerlerdir. Poliüretanlar çok yönlü malzemeler olduklarından hem endüstride hem de günlük yaşamda sıklıkla kullanılmaktadır. Ayakkabılar, borular, endüstriyel makineler, kaplama ve boyalar, elastik fiberler, sert yalıtım malzemeleri, yumuşak esnek köpükler, medikal cihazlar gibi oldukça geniş bir yelpazede poliüretanlardan yararlanılmaktadır [13].

2.1 Poliüretanların Genel Özellikleri ve Sentez Yöntemleri

Poliüretanlar, 1937 yılında kauçuk yerine kullanılmak üzere yeni bir ürün bulma çalışmaları yapan Prof. Dr. Otto Bayer tarafından keşfedilmiştir [14,15]. Poliüretanlar temel olarak beş sınıfa ayrılabilir. Bu sınıflar, poliester bazlı poliüretanlar, polieter bazlı poliüretanlar, polikaprolakton bazlı poliüretanlar, polibütadien bazlı poliüretanlar ve hint yağı bazlı poliüretanlardan meydana gelmektedir [16]. Ayrıca, termoplastik, esnek, sert, poliüretan iyonmer ve su bazlı poliüretanlar olmak üzere beş çeşit poliüretan bulunmaktadır [17].

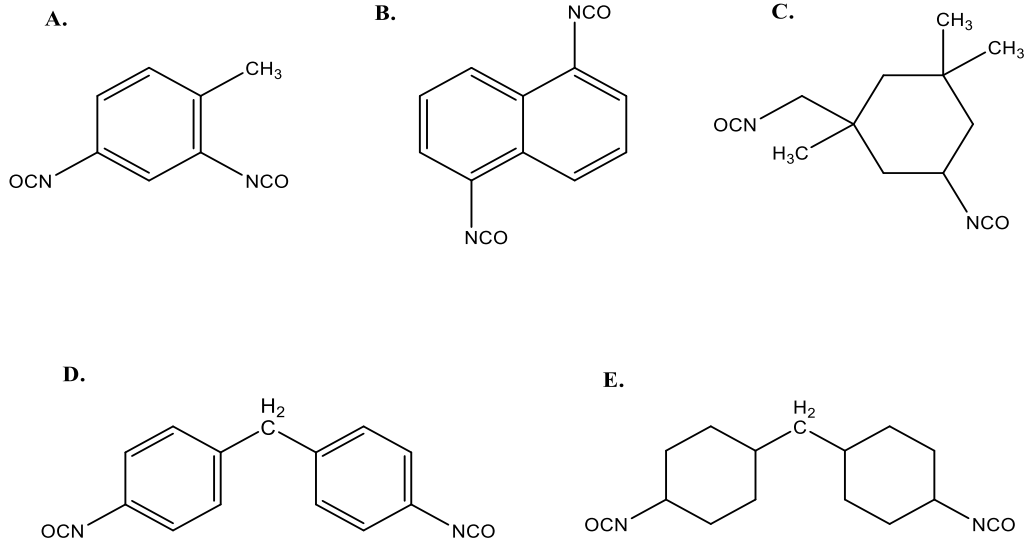
İlk olarak poliüretan sentezi, 1930'lu yıllarda diizosiyanat ile polioliün reaksiyonu sonucunda başarılmıştır ve İkinci Dünya Savaşı sırasında poliüretanlar sert köpükler, yapıştırıcılar, reçineler, elastomerler ve kaplamalar gibi birçok uygulamada kullanılmıştır [16]. Poliüretan sentezinde kullanılabilecek birçok farklı polioli ve izosiyanat seçeneği bulunduğundan uygulama alanına göre polimer dizaynı yapılabilmektedir. Poliüretanın özellikleri temel olarak reaktif grupların içeriğine, yapıdaki çapraz bağlanma derecesine ve reaksiyona giren monomerlerin birbirlerine dolanma seviyelerine bağlıdır. Poliüretan sentezinde petrol bazlı polioller kullanılabileceği gibi bitkisel yağlar da kullanılabilmektedir. Son zamanlarda, çevresel kaygı ve ekonomik sebeplerden dolayı sentezde bitkisel yağlar gibi yenilenebilir ham maddelerin kullanımına önem verilmektedir. Ayrıca, bitkisel yağların düşük toksisitede, yüksek saflıkta ve ucuz olmaları da tercih edilmelerini arttırmaktadır. Bu nedenle, soya fasulyesi yağı, kanola yağı, hurma yağı, ayçiçek yağı, mısır yağı, keten tohumu yağı ve hint yağı (Şekil 2.1) tercih edilen poliollerdendir [13,18,19]. Hint yağı

(HY), sütleğengiller (*Euphorbiaceae*) ailesinden olan hint yağı bitkisinden (*Ricinus communis*) elde edildiğinden doğal ticari bir yağdır. Hint yağının ana bileşeni, yapısında hidroksil içeren bir yağ asidi olan risinoleik asittir (12-hidroksi-cis-9-oktadekenoik asit). Poliüretanın kimyasal ve mekanik özelliklerinin daha iyi olmasını hint yağı sağlamaktadır [13,19]. Amorf yapıda olan hint yağı, hidrofobik karaktere sahiptir ve poliüretan sentezinde çapraz bağlayıcı olarak görev yapmaktadır [7].

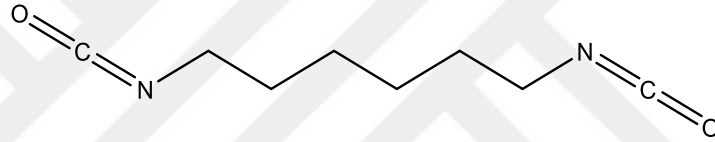


Şekil 2.1 : Hint yağının kimyasal yapısı [19].

Poliüretan sentezinde Şekil 2.2 ve Şekil 2.3'te kimyasal yapıları görülen tolüen-2,4-diizosiyanat (TDI), 1,5-naftalen diizosiyanat (NDI), izoforon diizosiyanat (IPDI), 4,4'-metilen-bis-(fenil izosiyanat) (MDI), 4,4'-metilen-bis-(sikloheksil izosiyanat) (H_{12} MDI) ve 1,6-hekzametilen diizosiyanat (HDI) gibi aromatik ve alifatik izosiyanat kaynakları kullanılabilmektedir [7,20]. Aromatik izosiyanatların aktifliği alifatiklere oranla daha fazla olmasına rağmen biyomalzeme olarak kullanılan poliüretanlarda aromatik yapı içeren diizosiyanat bileşikleri tercih edilmemektedir. Bunun sebebi de aromatik diizosiyanatlarda toksik aromatik aminlerin bulunmasının sonucunda *in vivo* çalışmalarda toksisitenin gözlenmesidir. Aromatik yapıların, fareler üzerinde denenen sitotoksikite analizlerinde mutajenik etkilere ve kansere neden oldukları görülmüştür. Farelerin böbreğinde, karaciğerinde ve tiroidinde tümör dokuları gözlenmiştir [21–23]. Aromatik yapı içeren diizosiyanatlardaki negatif etkilerden korunabilmek için, biyomalzeme olarak kullanılacak poliüretan sentezinde Şekil 2.3'te kimyasal yapısı görülen hekzametilen diizosiyanat gibi alifatik grup içeren diizosiyanatların kullanımı tercih edilmektedir [21].

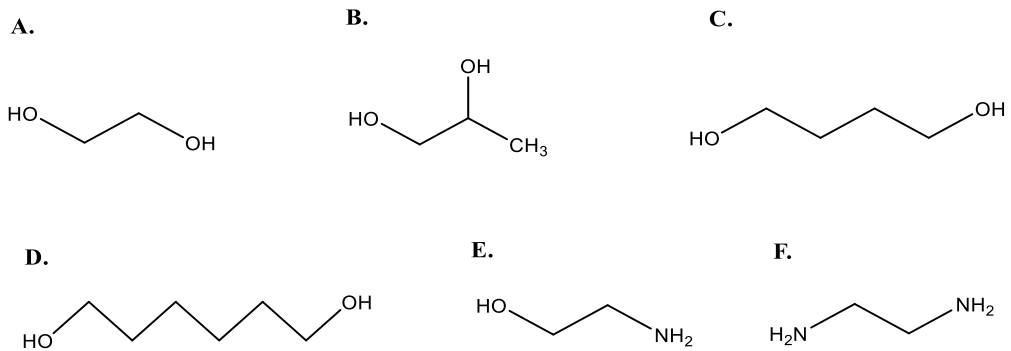


Şekil 2.2 : Poliüretan sentezinde en yaygın kullanılan diizosiyanat reaktantlarının kimyasal yapısı. (A) toluen-2,4-diizosiyanat (TDI), (B) 1,5-naftalen diizosiyanat (NDI), (C) izoforon diizosiyanat (IPDI), (D) 4,4'-metilen-bis-(fenil izosiyanat) (MDI), (E) 4,4'-metilen-bis-(sikloheksil izosiyanat) (H₁₂MDI).



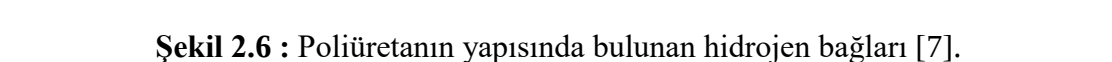
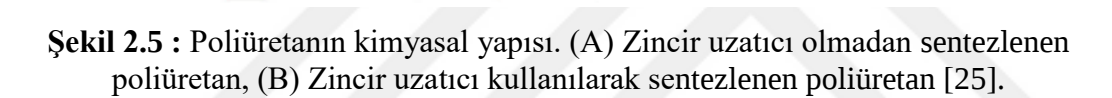
Şekil 2.3 : Hekzametilen diizosiyanatın (HDI) kimyasal yapısı.

Poliüretan sentezinde yaygın olarak kullanılan zincir uzatıcılar Şekil 2.4'te görüldüğü gibi, etilen glikol (EG), 1,2-propandiol (1,2-PD), 1,4-bütandiol (BDO), 1,6-heksandiol (HD), etanolamin (ETA) ve etilenamin (EDA) şeklinde sıralanabilir [7].



Şekil 2.4 : Poliüretan sentezinde en yaygın kullanılan zincir uzatıcı reaktantlarının kimyasal yapısı. (A) etilen glikol (EG), (B) 1,2-propandiol (1,2-PD), (C) 1,4-bütandiol (BDO), (D) 1,6-heksandiol (HD), (E) etanolamin (ETA) ve (F) etilenamin (EDA).

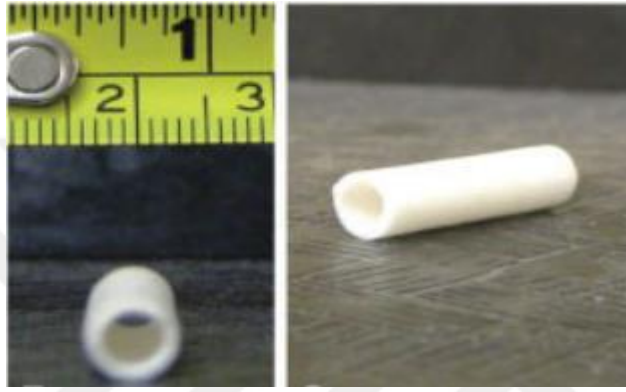
Sentezde kullanılan reaktantlar poliüretanda sert ve yumuşak bölgelerin (Şekil 2.5) oluşmasına neden olduğundan, seçilen reaktantlar poliüretanın özelliklerini



Poliüretan sentezi, tek kademe (one shot) ve prepolimer yöntemleri olmak üzere iki yöntemle gerçekleştirilebilmektedir. Tek kademede sentez yöntemi tercih edilirse, bütün reaktantlar reaksiyon ortamına konulur ve reaksiyonun gerçekleşmesi için gereken sıcaklık vb. ortam şartları ayarlanarak reaksiyonun tamamlanması sağlanır. Prepolimer yöntemi kullanılarak sentez yapılmak istendiğinde, diol ve diizosiyanat reaksiyona sokularak poliüretan prepolimeri oluşturulur. Ardından, reaksiyon karışımına zincir uzatıcı ilave edilerek sonuç ürün olan poliüretan elde edilmektedir. Prepolimer metodu, genellikle poliüretanın yapısını kontrol edebilmek amacıyla tercih edilmektedir [7,23].

Poliüretan sentetik bir biyomalzemedir. Poliüretanın mekanik özelliklerinin ve kan uyumluluğunun yüksek olması ile fiziksel ve kimyasal özelliklerinin esnek olmasının verdiği avantajların etkisiyle, poliüretanın biyomedikal alanındaki uygulamalarda biyomalzeme olarak kullanımı tercih edilmektedir [27]. Damarlı dokulara yapı iskelesi olması için tasarlanan poliüretan malzemelerin kullanımı örnek olarak verilebilmektedir. Basınç farkı / partikül liç tekniği ile bu amaç için tasarlanan poliüretan yapı iskeleleri (Şekil 2.8), kendi aralarında birbirleriyle bağlantılı porlara sahiptir. Porlu yapıyı elde edebilmek için yapı iskelelerini oluştururken amonyum

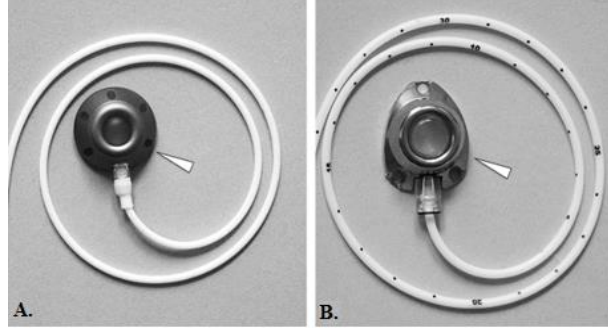
klorür ve parafin porojenlerinden yararlanılmıştır. Amonyum klorür öğütüldüğü zaman homojen partikül boyutuna sahip düzensiz şekilli parçacıklar oluştururken, parafin parçacıkları küresel ve homojen boyutludur. Damarlı dokulara yapı iskelesi olması için sentezlenen poliüretanın yapısında bulunan porlar sayesinde hücresel filtrelemeye ve besin taşınımına olanak sağlanmaktadır. Diğer biyomalzemelerle karşılaştırıldığında, poliüretan yapı malzemelerinin uyumluluğunun daha fazla olmasından dolayı poliüretanların potansiyel yapı malzemeleri olduğu görülmektedir [28].



Şekil 2.8 : Poliüretan boru iskelesi [28].

Poliüretan malzemeler, biyomedikal alanında kateter olarak da kullanılabilir. Laboratuvar testlerinde, kronik hastalığı olanlarda uzun süreyle kullanılacak merkezi toplardamar kateterleri sayesinde toplardamara ulaşım kolaylaştırılabilir, ilaç salınımı ve damardan beslenme sağlanabilmektedir [29]. Kateterler çeşitli malzemelerden yapılabilirler de yaygın olarak silikon ve poliüretan malzemelerin kullanımı tercih edilmektedir [30,31]. Ayrıca, kateterlerin gelişimi ile Şekil 2.9’da görülen tümüyle implante edilmiş venöz erişim cihazları (TIVADs) önem kazanmıştır [30].

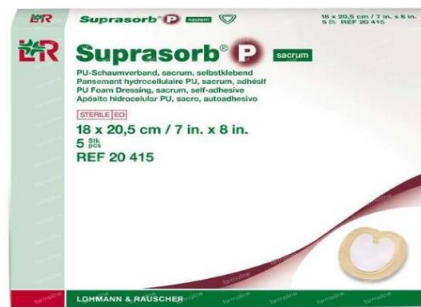
İmplant edilen poliüretan malzemede bir yıllık zaman diliminde ciddi bir kimyasal bozunma gözlenmemiştir. Ayrıca, gözlenen değişiklik faz morfoloji düzenlenmesiyle ilgili olup malzemedeki beklenen performans limitlerinin içinde yer almaktadır [31]. Silikon kateterlerde, malzeme kaynaklı başarısızlığa ve trombotik kateter tıkanmasına eğilim poliüretan kateterlere kıyasla daha fazladır [30].



Şekil 2.9 : Tümüyle implante edilmiş toplardamar (venöz) erişim cihazı. (A) 5.0-F SI kateter ile oluşturulan Cook Vital-Port Mini Titanium konik bağlantı göbeği, (B) 6.0-F PU kateter ile oluşturulan Cook Vital-Port Mini Titanium trapezoid (yamuk) bağlantı göbeği [30].

Poliüretan malzemeler, kardiyovasküler uygulamalarda da kullanılmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar en çok ölüme neden olan hastalıklar arasındadır ve World Health Organization’a göre 2008 yılında 17 milyondan fazla insanın kardiyovasküler hastalık kaynaklı öldüğü belirtilmektedir [32,33]. Kalp hastalığı (kalp krizi), serebrovasküler hastalık (felç), periferik arter hastalığı ve aort hastalığı olmak üzere dört temel kardiyovasküler hastalık tipi bulunmaktadır. Mekanik özelliklerinin ve kan uyumluluğunun yüksek olmasının verdiği avantajla hem doku değişimi hem de doku yenilenmesi için kullanılan kardiyovasküler cihazlar için poliüretan en tercih edilen malzemelerdendir. Örneğin, poliüretan malzemeler yapay kalp kapakçığı olarak kullanılmaktadır [32].

Ayrıca, poliüretanlardan yaraörtüsü olarak da faydalanılmaktadır. Lohmann-Rauscher markasına ait olan Suprasorb P ve Suprasorb F yaraörtüleri (Şekil 2.10) ticari olarak kullanılan ürünlerdir. Suprasorb P’de, poliüretan köpük tercih edilirken, Suprasorb F’de poliüretan film tercih edilmektedir. Suprasorb F transparandır ve yaranın üzerine konulduğunda bakteri ile dış ortamdan gelen suyun yara ile temasını önlediği gibi derideki nemin buharlaşmasına olanak sağlamaktadır [34].



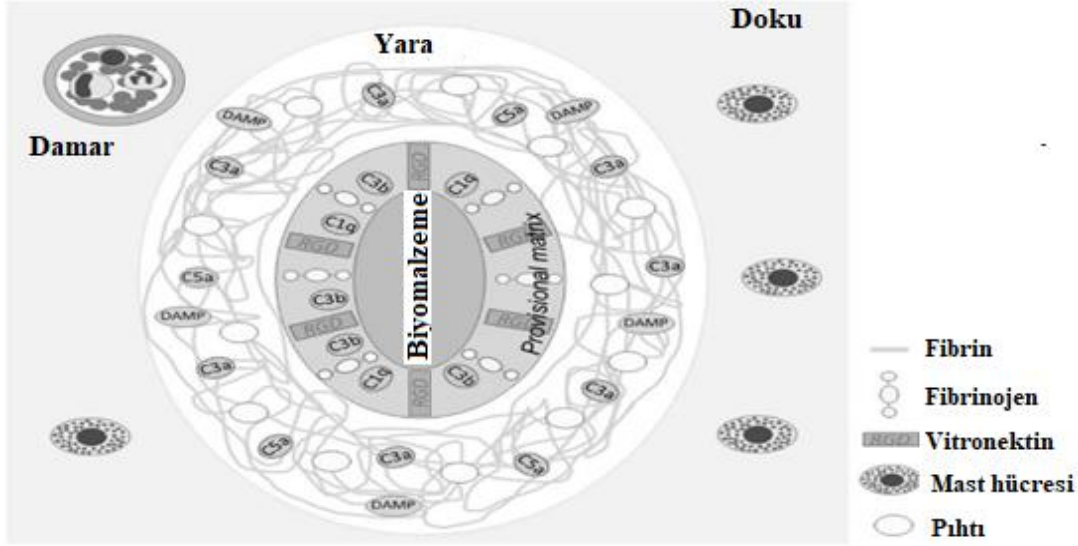
Şekil 2.10 : Lohmann-Rauscher markasına ait olan Suprasorb P poliüretan yaraörtüsü [34].



3. POLİMER MALZEMELERE PROTEİN ADSORPSİYONU VE ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Memeli bağışıklık sistemi, vücutta enfeksiyona neden olan ajanları ve vücuda yerleştirilen biyomalzeme gibi yabancı malzemeleri tespit eder ve elimine etmek için çeşitli mekanizmalar geliştirir. Örneğin, vücut dışı maddelerin yüzeyinde makrofaj birikmesi gerçekleşerek yabancı maddenin yok edilmesi amaçlanır. Ayrıca, diğer dokulara yayılmasını engellemek ve izole edebilmek için vücut tarafından fibröz kapsül oluşturulur. Bu nedenlerden dolayı, vücut dışı malzemelere verilen tepkileri anlamak biyomalzeme biliminde önemlidir. Vücuda implante edilen biyomalzemelere verilen spesifik tepkiler kullanılan malzemenin ve yüzeyin fiziksel ve kimyasal yapısıyla doğrudan ilgilidir [35]. Biyomalzeme mühendisliği, vücut dışı malzemelere verilen tepkilere neden olmadan dokularla entegre olabilen malzemelerin dizayn edilebilmesini amaçladığından, biyomalzeme yüzeyi ile dokular arasındaki moleküler etkileşimleri çözümlmek üzerine eğilmektedir. Biyomalzeme gibi vücut dışı malzemelere verilen tepkiler, protein adsorpsiyonu, akut iltihaplanma, kronik iltihaplanma, yabancı cisim tipi dev hücresinin oluşumu ve fibröz kapsül oluşumu olarak beş başlık altında toplanabilir [35,36].

Biyomalzeme vücuda implante edildiğinde ilk gerçekleşen olay, malzeme yüzeyi ile kan proteinleri arasındaki protein adsorpsiyonudur. Adsorpsiyon sonucunda, biyomalzeme üzerinde ve çevresinde Şekil 3.1’de görülen geçici provizyonel matriks oluşur [35,36].



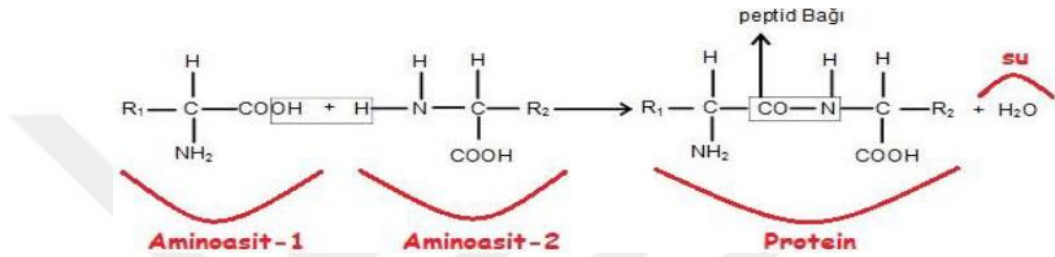
Şekil 3.1 : Provizyonel matriks [35,36].

Protein adsorpsiyonu tersinir olabildiği gibi tersinmez de olabilmektedir. Tersinmez proseste sadece protein adsorpsiyonu gerçekleşirken, tersinir proseste adsorplanan protein molekülünün desorpsiyonu da söz konusudur. Tersinir protein adsorpsiyon mekanizması temel olarak, protein moleküllerinin katı arayüzeyine taşınımı, proteinlerin arayüzeyde tabaka oluşturmaları, tabakanın içinde bulunan proteinlerin adsorplanması, adsorplanan proteinlerin daha organize olan arayüzeye birikmesi, adsorplanan proteinlerin arayüzeyden uzaklaşması ve proteinlerin sıvıya doğru taşınımı olaylarından meydana gelmektedir [7,11].

Protein adsorpsiyonunu etkileyen etmenler, proteinin yapısı, protein çözeltisinin özellikleri ve polimer yüzeyinin özellikleridir [7]. Ayrıca, yüzey-su-protein sistemindeki entropi ve entalpi değişimleri ile adsorpsiyon olayında artış gözlemlenebildiği gibi azalış da gözlemlenebilir. Bu değişimler, protein ve yüzeyin kısmi dehidrasyonu, arayüzeydeki yüklü grupların yeniden dağılımı ve protein moleküllerinde gerçekleşen konformasyonel değişikliklerdir. Birden fazla protein çeşidinin bulunduğu ortamlarda, proteinler adsorplanabilmek için yarış halindedirler ve yüzeye ilk ulaşan protein adsorplanır. Sonrasında, diğer proteinlerin de yüzeye ulaşmasıyla yüzeye ilgisi fazla olan proteinlerin adsorplanmış olan proteinlerle yer değiştirmesi sonucu ard arda adsorpsiyon ve desorpsiyon olayları meydana gelir. Bu olay, Vroman etkisi olarak adlandırılmaktadır. Vroman etkisi, hidrofobik yüzeylere kıyasla hidrofilik yüzeylerde daha ön plandadır. Fibrinogen ve fibronectin Vroman pikini gösteren proteinlerdir [35,37,38].

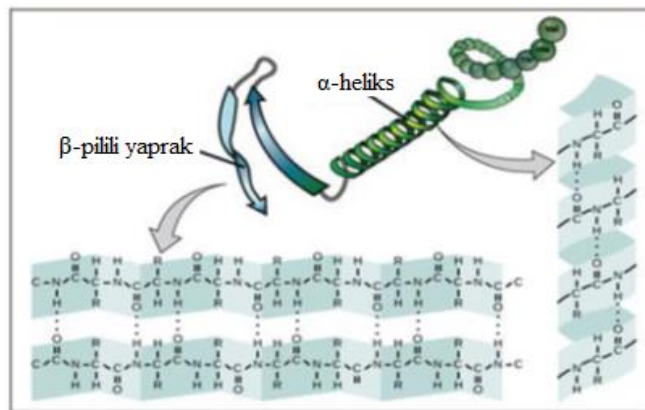
3.1 Proteinin Yapısı

Doğada 20 aminoasit çeşidi bulunmaktadır ve Şekil 3.2’de kimyasal reaksiyonu görüldüğü üzere aminoasitlerin peptid bağlarıyla birbirlerine bağlanması sonucu polipeptid zincirleri oluşur. Tek polipeptid zincirinden ya da birden fazla polipeptid zincirinin bir araya gelmesiyle protein yapısı meydana gelir. Polipeptid zincirlerinin katlanması sonucu her proteinin kendine özgü olan üç boyutlu yapısı ortaya çıkar. Proteinlerin yapısında aminoasitlerin yanı sıra fosfatlar, oligosakkaritler veya lipidler de yer alabilmektedir [39,40].



Şekil 3.2 : Peptid bağının oluşum reaksiyonu [41].

Proteinlerin yapısı, primer yapı, ikincil yapı, tersiyer yapı ve kuarterner yapı olmak üzere dört farklı şekilde tanımlanabilmektedir. Aminoasitlerin tek bir sıra halinde dizilimlerinin gösterilmesiyle tanımlanan protein yapısına primer yapı denilmektedir. Aminoasitler arasındaki hidrojen bağlarının etkisiyle ortaya çıkan geometrik şekillere proteinin ikincil yapısı denilmektedir ve en genel ikincil yapılar Şekil 3.3’te gösterilen α -heliks ve β -yaprak yapısıdır. Polipeptid zincirlerinin üç boyutlu gösterildiği yapıya tersiyer yapı denilmektedir. Proteinler genelde iki ya da daha fazla polipeptid alt birimlerinden meydana gelirler ve bu alt birimlerin hepsinin toplu olarak üç boyutlu gösterimi kuarterner yapı olarak adlandırılmaktadır [39].

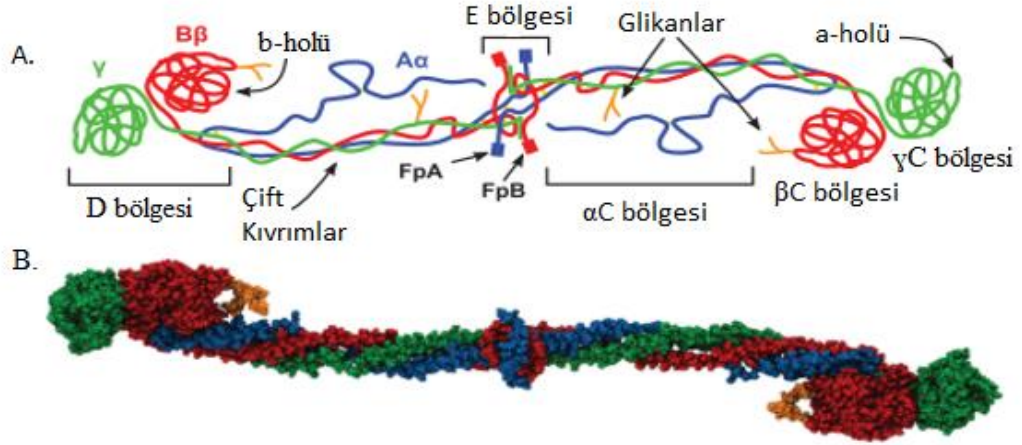


Şekil 3.3 : Proteinlerin ikincil yapıları [42].

Proteinin yapısı, adsorpsiyonu etkileyen etmenlerden biridir. Proteinler, büyüklüklerine, yapısal stabilitelerine ve bileşimlerine göre sınıflandırılabilir. Proteinlerin büyüklüğü, adsorplanan proteinlerin yapmış olduğu konformasyonel değişiklikler üzerinde etkili olduğundan adsorpsiyon olayında önemli bir faktördür. Örneğin, lizozim, β -laktoglobulin ya da α -kimotripsin gibi proteinler küçük ve esnek olmayan bir yapıya sahip olduklarından sert proteinler olarak adlandırılırlar ve yapısal düzenlenmelere eğilimleri azdır. Albümin, fibrinojen (Şekil 3.4), transferrin ve immunoglobulin gibi orta büyüklükteki plazma proteinleri, adsorplandıklarında Coulomb, van der Waals etkileşimleri ve hidrojen bağlarının etkisiyle konformasyonel değişime uğrayarak sahip oldukları serbet enerjiyi minimuma indirir ve sonuçta daha stabil bir forma geçerler. Konformasyonel değişikliğe uğrayan proteinler, desorplandıklarında proteinlerin sahip olduğu iç dengeleyici kuvvetlerin etkisiyle eski yapılarına geri dönerler [40,43]. Ayrıca, proteinlerin hidrofiliği de adsorpsiyon olayında etkili bir özelliktir [7,40].

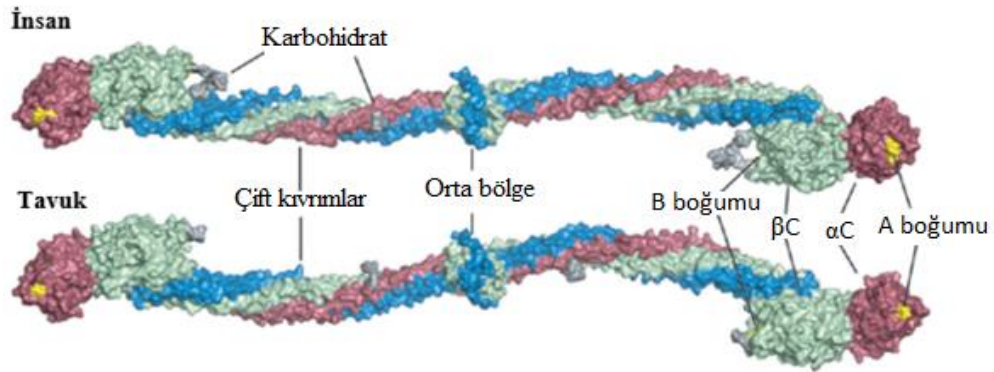
Kanda en çok bulunan proteinler, albümin, globulin ve fibrinojendir. Albümin kalp şeklinde iken, globulin y şeklinde ve fibrinojen çubuk şeklinde bir yapıya sahiptir [7]. Plazma proteinlerinden biri olan fibrinojenin, trombosit oluşumunda ve vücut dışı bir malzemenin yüzeyiyle etkileşim proseslerinde büyük rolü bulunmaktadır [44]. Vücuda yerleştirilen malzemeler kanla temas ettiklerinde, özellikle fibrinojen proteinleri malzeme yüzeyinde adsorplandıktan sonra trombinle katalizlenerek fibrine dönüşür ve fibrin, malzeme yüzeyinde pıhtı oluşmasına neden olmaktadır [45]. Bu nedenle, plazma proteinleri arasında fibrinojen önemli bir yere sahiptir.

Fibrinojen, bütün omurgalıların kan plazmasında bulunmaktadır ve Şekil 3.4'te görüldüğü gibi A α -, B β - ve γ - polipeptid zincirlerinden oluşan çok zincirli bir glikoproteindir. A α -zincirinde 610, B β -zincirinde 461 ve γ -zincirinde 411 amino asit bulunmaktadır. Fibrinojen molekülünün iki ucunda yer alan nodüller D bölgesi olarak adlandırılırken, molekülün ortasındaki nodül E bölgesi olarak adlandırılır ve bu iki bölgeyi birbirine 17 nm uzunluğundaki çift kıvrımlı (coiled-coil) uzun segmentler bağlamaktadır. Fibrinojen 340 kDa ağırlığındadır ve toplam uzunluğu 45 nm olup 2-3 nm çapa sahiptir [46–48]. Ayrıca, fibrinojen proteini fizyolojik ortam olan pH 7,4'te net negatif yüke sahip olup izoelektrik noktası 5,5'tir [49].



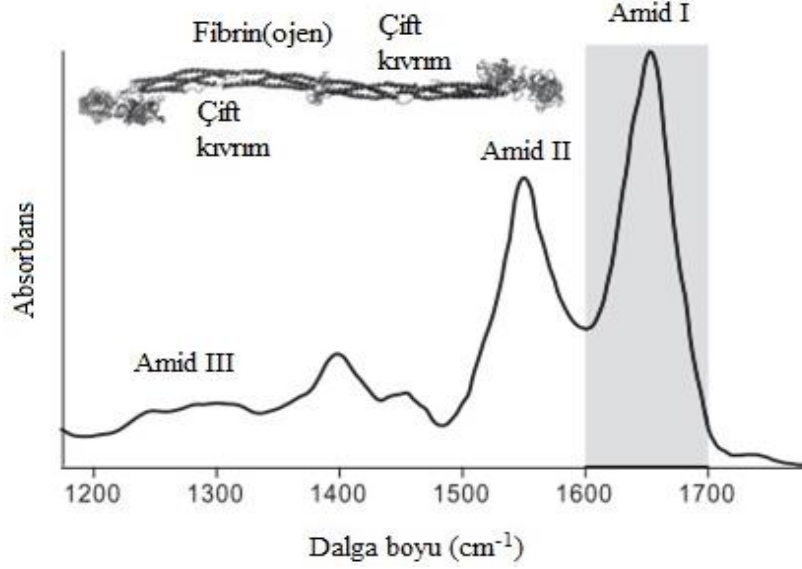
Şekil 3.4 : Fibrinojen molekülünün yapısı. (A) Fibrinojen molekülünün şematik gösterimi, (B) Fibrinojenin kristalografik yapısının van der Waals gösterimi [48].

Her bir canlı türündeki fibrinojen proteininde çeşitli farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin, insan ve tavuklardaki fibrinojen proteinlerinin (Şekil 3.5) yapısındaki farklılık şu şekilde açıklanabilir. İnsan fibrinojenindeki αC bölgesinde tekrarlayan 13 rezidü tavuk fibrinojeninde bulunmamaktadır. Şekil 3.5'teki yeşil renkli kısımlar α-zincirlerini, mavi renkli kısımlar β-zincirlerini, kırmızı renkli kısımlar γ-zincirlerini, sarı renkli kısımlar peptid nodüllerini ve gri renkli kısımlar karbonhidratları göstermektedir [45].



Şekil 3.5 : Fibrinojen proteininin insan ve tavuklardaki yapısının karşılaştırmalı gösterimi [45].

Fibrinojen proteininin karakteristik FTIR spektrumu Şekil 3.6'da görüldüğü gibidir. En yüksek absorbansın olduğu amid I piki 1600-1700 cm^{-1} bandında bulunurken, daha düşük absorbanslı amid II piki 1500-1600 cm^{-1} bandında bulunmaktadır. En düşük absorbans değeri amid III bandında görülmektedir [47,50].

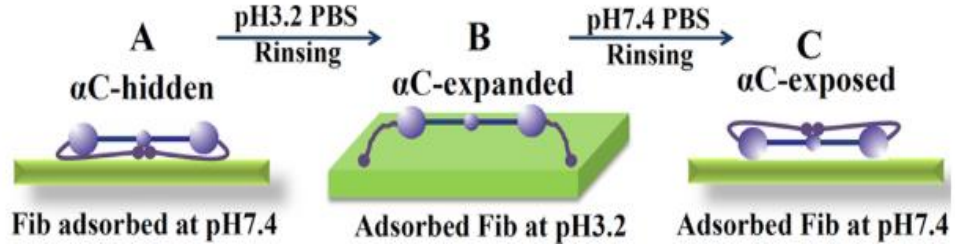


Şekil 3.6 : İnsan kanındaki fibrinojen molekülünün FTIR spektrumu [47].

3.2 Protein Çözeltilisinin Özellikleri

Proteinin bulunduğu ortamın yani protein çözeltisinin kimyasal ve fiziksel özellikleri, protein adsorpsiyonunu etkileyen etmenlerdendir. Bu özellikler pH, sıcaklık, iyonik kuvvet, kimyasal bileşim ve konsantrasyon olarak sıralanabilir. Protein çözeltisini hazırlayabilmek için Tris-HCl veya fosfat tampon çözeltisi (PBS) gibi çeşitli tampon çözeltiler kullanılmaktadır. Proteinler, çok dar bir pH aralığında stabil durumdadırlar ve PBS ile hazırlanan protein çözeltisinde pH 7 civarında protein yapısı stabildir. Bu nedenle, adsorpsiyonun gerçekleştiği ortamın pH aralığı 7'ye yakınsa, PBS en çok tercih edilen tampon çözeltilerdendir [7,51–53]. Yapılan bir çalışmada, pH'ın adsorpsiyona etkisi araştırılmak için değişik pH değerlerinde fibrinojenin adsorpsiyon davranışı incelenmiştir. Şekil 3.7'de görsel olarak ifade edilen bu çalışmada pH 7,4 iken, fibrinojenin αC 'unun molekülün iç kısımlarına doğru yönelim göstermekte olduğu anlaşılmış ve fibrinojen ile yüzey arasında integrin bağının oluşmadığı ve trombosit bağlanmasının az miktarda gerçekleştiği görülmüştür. Bunun sebebinin, αC 'un yöneliminden kaynaklandığı belirtilmektedir. pH'ı 3,2 olan bir çözeltide aynı inceleme yapıldığında ise, integrin ve trombosit bağlanmasının arttığı anlaşılmıştır. Bunun sebebinin de, düşük pH'ta fibrinojenin genişlemesi sonucunda αC 'un molekülün dış kısımlarında yer almasından kaynaklandığı söylenmektedir [49]. İntegrin bağını açıklamak gerekirse, adezyon reseptörlerine integrinler denir ve proteinler biyomalzeme yüzeyini integrin reseptörleri aracılığıyla tanıyıp adsorplanırlar [1]. Ayrıca, yapılan başka bir çalışmada, düşük pH'ta adsorplanan proteinlerin oluşturduğu

tabakanın ilk başta esnek olmadığı, zamanla viskoelastik bir tabakaya dönüştüğü fakat, yüksek pH'ta adsorplanan proteinlerin meydana getirdiği tabakanın en baştan viskoelastik bir yapıya sahip olduğu söylenmektedir [53].



Şekil 3.7 : Hidrofilik yüzeye adsorplanan fibrinojen proteininin çeşitli pH değerlerindeki konformasyon değişimi ve yönelimi [49].

Proteinlerin çözeltideki minimum çözünürlük seviyesi izoelektrik nokta (pI) ile belirlenmektedir ve pI ile pH arasında bir ilişki bulunmaktadır [54]. Örneğin, proteinin pI'sı çözeltinin pH'ından büyükse, proteinin sahip olduğu net pozitif yük fazla olacağından protein pozitif yüklü hale gelir ve negatif yüklü yüzeye ilgisi artar. Proteinin pI'sı çözeltinin pH'ından küçük olduğu durumda ise, protein negatif net yüke sahip olacağından pozitif yüklü yüzeye adsorplanmayı tercih eder. Eğer, proteinin pI'sı çözeltinin pH'ına eşit ise, protein nötrdür ve nötral yüzeye adsorplanma eğilimindedir [55].

Çözelti sıcaklığının da adsorpsiyonda etkili olduğu yapılan çalışmalarda ortaya çıkmaktadır. Sıcaklığın artırılması ile çözeltideki ve arayüzeydeki proteinlerin hareketliliği artar. Sıcaklığın artırılması her zaman adsorpsiyonu artırır gibi bir genelleme yapılamaz. Çünkü, proteinlerin yapısal stabiliteleri farklılık gösterdiğinden sıcaklık artışıyla yapacakları konformasyonel değişiklikler proteinlerin adsorpsiyon davranışını belirler. Örneğin, stabilitesi az olan proteinlerin konformasyonu sıcaklık artışı ile belirgin bir şekilde değiştiğinden bu proteinlerin adsorpsiyonu da artmaktadır [7,56]. Lizozim proteini ile yapılan bir çalışmada, sıcaklığın 20°C'den 80°C'ye artırılmasıyla silika/su arayüzeyine lizozim adsorpsiyonunun arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, endotermik adsorpsiyon proseslerinde sıcaklığın artırılması sonucu, adsorplanan protein miktarında artış gözlenirken, ekzotermik proseslerde tam tersi bir durum söz konusudur [57].

Polimer yüzeye protein adsorpsiyonunu etkileyen bir diğer etmen ise çözeltinin iyonik kuvvetidir. İyonik kuvvetin adsorpsiyon üzerindeki etkisini anlayabilmek için yapılan bir çalışmada, benzer büyüklük ve şekillere sahip fakat pH 7,4'te farklı yüklerde olan

lizozim, miyogloblin ve α -laktalbümin proteinleri kullanılmıştır. pH 7,4'te pozitif yüklü lizozim, nötral miyogloblin ve negatif yüklü α -laktalbümin proteinlerinin niyobyum oksit (Nb_2O_5) ile kaplanmış polimer yüzeye adsorpsiyon miktarları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan, sert yapıdaki lizozim adsorpsiyonunun iyonik kuvvet arttıkça azaldığı fakat, miyogloblin ve α -laktalbümin adsorpsiyonunun çözeltinin iyonik kuvvetinden bağımsız olduğu anlaşılmıştır. Hatta, Nb_2O_5 ile kaplanmış polimer yüzeye miyogloblin ve α -laktalbümin adsorpsiyon miktarı lizozime oranla daha az olunca iyonik kuvvetin adsorpsiyonda tek başına etkili olmadığı ve protein ile yüzey arasındaki elektriksel etkileşimin adsorpsiyonda daha etkili olabileceği veya arayüzeyde proteinlerin yapısal bozulmaya uğradıkları sonucuna varılmıştır [58].

3.3 Polimer Yüzeyinin Özellikleri

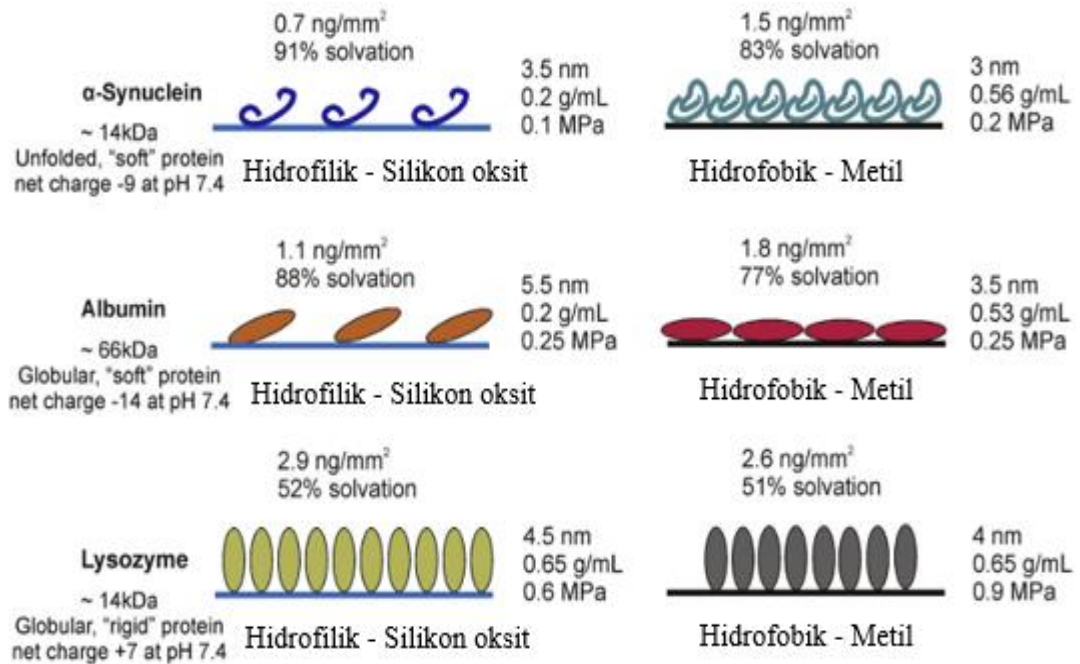
Polimer yüzeyinin kimyasal, geometrik ve elektriksel özellikleri protein adsorpsiyonunu etkileyen etmenlerdendir. Polimer yüzeyinde bulunan pürüzlülük ve porlar yüzeyin geometrik özelliklerini belirlemektedir. Pürüzlü yüzeyler, aynı boyutlardaki düz yüzeylere oranla daha fazla yüzey alanına sahip olduklarından, proteinin adsorplanabileceği aktif bölge miktarı daha fazladır. Bu nedenle, pürüzlü yüzeylere protein adsorpsiyonunun düz yüzeylere oranla daha fazla gerçekleştiği söylenebilmektedir [59,60]. Fakat, pürüzlülük arttıkça protein adsorpsiyonu da her zaman artar denilemez. Çünkü, Şekil 3.8'de de görüldüğü gibi pürüzlülüklerin derinlikleri ve genişlikleri aynı değildir ve protein gibi büyük boyutlu moleküller, yüzeydeki dar bölgelerde yer alan aktif kısımlara ulaşamadığından adsorplanan protein miktarında düşüş gözlenebilmektedir [61].



Şekil 3.8 : Pürüzlü yüzeylere protein adsorpsiyonu [61].

Yüzey pürüzlülüğü tek başına protein adsorpsiyonunu açıklamak için yeterli değildir ve hidrofiliklik gibi diğer etmenleri de hesaba katmak gerekmektedir. Polimerin kimyasal özelliği olan hidrofiliklik, adsorpsiyonda oldukça önemli bir faktördür ve hidrofobik yüzeylere proteinlerin ilgisinin daha fazla olduğu belirtilmektedir [59,60].

Şekil 3.9’da görülen çalışmada, hidrofilik ve hidrofobik yüzeylere lizozim, albümin ve α -Sinüklein (α -Syn) proteinlerinin adsorpsiyon miktarları incelenmiştir. Albümin ve α -Syn proteinlerinin yüzeye yöneliminin hidrofiliklikle değişim gösterdiği ve hidrofobik yüzeylerde bu proteinlerin miktarının daha yoğun olduğu görülmüştür. Sonuç olarak, lizozim gibi sert proteinlerin hidrofilik yüzeylere adsorpsiyon eğiliminin fazla olduğu anlaşılırken yumuşak, katlanmamış proteinlerin hidrofobik yüzeylere adsorpsiyon eğiliminin fazla olduğu anlaşılmıştır. Bunun sebebinin de yumuşak proteinlerin yapısal düzenlenme gerçekleştirerek hidrofobik yüzeylere daha yoğun bir şekilde bağlanması olarak açıklanmaktadır [62]. Ayrıca, arayüzeyde bulunan su moleküllerinin hidrofilik yüzeylerle güçlü etkileşimler yapması, hidrofilik yüzeye adsorplanan protein miktarında önemli oranda düşmeye yol açmaktadır. Çünkü, hidrofilik yüzeye bağlanan su molekülleri bariyer oluşturarak proteinlerin yüzeye erişimini engellemektedir. Arayüzeydeki su moleküllerinin oluşturduğu bariyeri kırmak için yüksek enerji gerekmektedir ve bu yaklaşım su bariyer teorisiyle desteklenmektedir [63].



Şekil 3.9 : Hidrofilik ve hidrofobik yüzeylere protein adsorpsiyonu [62].

Polimer yüzeyinin elektriksel özelliği de protein adsorpsiyonunda önemli bir etkiye sahiptir. Eğer polimer ile proteinin elektriksel yükleri zıt olursa, protein ile yüzey birbirlerini çekeceklerinden daha fazla etkileşime girerek protein adsorpsiyonunda artışa neden olmaktadır [7,63].



4. MODELLEME VE SİMÜLASYON YÖNTEMLERİ

Deneysel çalışmalar, makroskobik düzeyde bilgilere ulaşılmasını sağlamaktadır [40]. Moleküler düzeyde gerçekleşen olayların mekanizmasını tam olarak anlayabilmek ve proteinler gibi kompleks sistemlerin davranışlarını tahmin edebilmek her zaman deneysel çalışmalarla mümkün olmamakta, bu durumda da hesaplamalı modelleme ve simülasyon metodları kullanılmaktadır. Ayrıca, deneysel çalışmalara oranla, hesaplamalı modelleme ve simülasyon metodlarıyla daha ekonomik ve hızlı sonuçlar elde edilebilmektedir. Martin Karplus, Michael Levitt ve Arieh Warshel'in yapmış olduğu 'Development of Multiscale Models for Complex Chemical Systems' adlı çalışmada, deneysel sonuçlarla yüksek uyumluluk gösteren kompleks sistem modellemesini başardıklarından 2013 yılında Nobel Kimya ödülünü kazanmışlardır [12]. Nobel Kimya ödülünün, hesaplamalı modelleme ve simülasyon çalışmasına verilmesiyle simülasyonun önemi daha iyi anlaşılmıştır. Katı yüzeyler üzerine protein adsorpsiyonu, uzun zamandır hem deneysel hem de hesaplamalı modelleme ve simülasyon yöntemleri kullanılarak araştırılan biyokimyasal bir konudur.

4.1 Matematiksel Modeller

Protein adsorpsiyon mekanizması, adsorpsiyon kinetiğini etkilediğinden difüzyon ve reaksiyon modelleri gibi çeşitli matematiksel modeller geliştirilmiştir [40,64]. Adsorpsiyon difüzyon modelleri genellikle adsorbenti çevreleyen sıvıdaki difüzyon, adsorbent yüzeyinde bulunan porlardaki difüzyon ve adsorplanan madde ile aktif bölge arasında gerçekleşen adsorpsiyon-desorpsiyon olayları olmak üzere üç temel adım üzerine kurulmaktadır. Adsorpsiyon reaksiyon modelleri ise, adsorpsiyondaki kinetik proseslerin anlaşılabilmesi üzerine geliştirilmiştir [64].

Matematiksel modellerde Langmuir, Freundlich, Brunauer–Emmett–Teller, Redlich Peterson, Dubinin–Radushkevich, Temkin, Toth, Koble–Corrigan, Sips, Khan, Hill, Flory–Huggins ve Radke–Prausnitz izotermi gibi çeşitli izotermiye yararlanılmaktadır. Bu izotermiye bazıları iki parametrelili iken bazıları üç parametrelili izotermiye. İki parametrelili izotermiye, Langmuir, Freundlich, Dubinin–

Radushkevich, Temkin, Flory–Huggins ve Hill'dir. Diğer izotermeler ise üç parametreye sahiptir [65].

Protein adsorpsiyonu ve zamanla proteinlerin yüzeyi kaplama miktarları Langmuir izotermi kullanılarak incelenebilmektedir ve Langmuir adsorpsiyon izoterminde bir takım kabullerden yararlanır. Bu kabuller, yüzeye adsorpsiyonun tek tabakalı olduğu, adsorpsiyonun yüzeyde bulunan belirli sayıdaki bölgelerden gerçekleştiği, adsorplanan moleküller arasındaki yan etkileşimlerin ve sterik engelin olmadığı şeklindedir. Ayrıca, Langmuir izotermi ile her bir molekülün sabit entalpili olduğu ve adsorpsiyonun gerçekleşeceği yüzeye ilginin molekülün her tarafında aynı olduğu (homojen adsorpsiyon) kabulü yapılmaktadır [65,66]. Langmuir izoterminde kullanılan denklemlerin lineer olmayan (denklem 4.1) ve lineer (denklem 4.2) formları aşağıda görülmektedir.

Langmuir izoterminin lineer olmayan formu,

$$q_e = \frac{Q_0 b C_e}{1 + b C_e} \quad (4.1)$$

Langmuir izoterminin lineer formu,

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{b Q_0} + \frac{C_e}{Q_0} \quad (4.2)$$

Langmuir izoterm denklemindeki terimlerin açıklaması; q_e adsorplanan molekülün dengedeki miktarı (mg/g), C_0 adsorplanan maddenin ilk konsantrasyonu (mg/L), b Langmuir sabiti (dm^3/mg) ve C_e denge konsantrasyonudur (mg/L).

Ayrıca, adsorplanan moleküle gösterilen ilginin farklılık gösterdiği heterojen yüzeylere çok tabakalı ve tersinir adsorpsiyon olaylarında Freundlich adsorpsiyon izotermi kullanılabilmektedir [65]. Freundlich izoterminin lineer olmayan formu ve lineer formu denklem 4.3 ve denklem 4.4'te görülmektedir.

Freundlich izoterminin lineer olmayan formu,

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (4.3)$$

Freundlich izoterminin lineer formu,

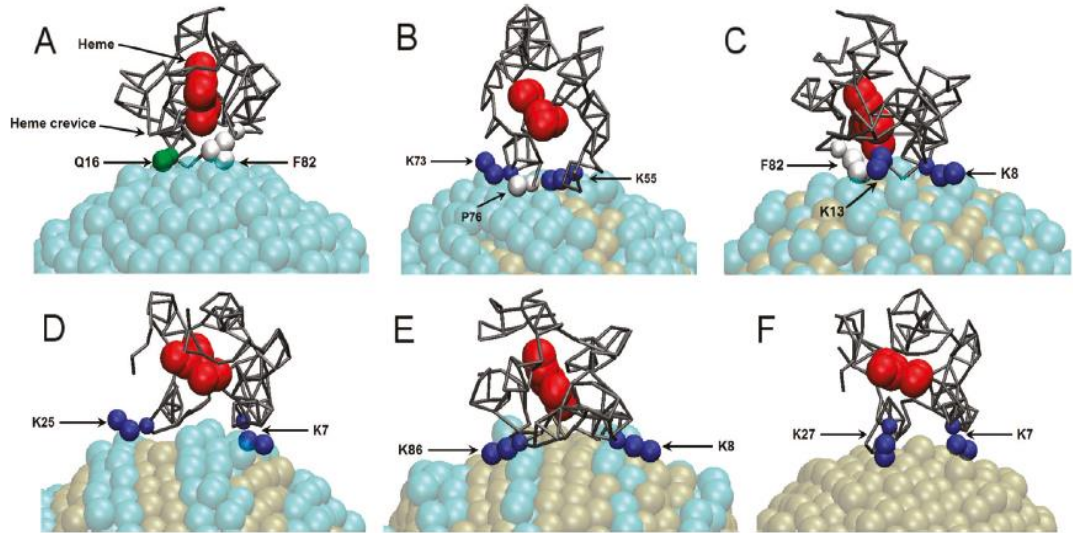
$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (4.4)$$

Denklem 4.3 ve denklem 4.4’te geçen K_F , Freundlich izoterm sabitidir $(\text{mg/g}) (\text{dm}^3/\text{g})^n$ ve adsorpsiyon kapasitesiyle ilgilidir [65].

4.2 Simülasyon Teknikleri

Protein adsorpsiyon olayını protein çözeltisinin, proteinin ve adsorbent yüzeyinin özellikleri belirlediğinden bu üç faktörün etki derecelerinin belirlenmesi gerekmektedir ve simülasyon yöntemleri kullanılarak bu işlem hızlı ve ekonomik bir şekilde gerçekleştirilebilir. Her bir faktör ayrı ayrı modellenerek simülasyon çalışmaları yapılır ve etki dereceleri belirlenir [7].

Yapılan bir çalışmada, adsorpsiyonun gerçekleşeceği yüzeyin özelliklerinden biri olan hidrofilikliğin protein adsorpsiyonuna etkisi incelenmiştir. Şekil 4.1’den görüldüğü üzere, farklı bileşimlerdeki tek tabakalı korumalı metal nanopartiküller (MPMN) modellenerek 6 farklı yüzeyde sitokrom C (Cyt C) proteininin adsorpsiyonu kaba ölçekli (CG) moleküler dinamik (MD) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, yüzey hidrofilikliğin artmasıyla adsorplanan Cyt C proteininin miktarında artış olduğu gözlenmiştir. Şekil 4.1’deki kırmızı küreler nanopartiküller ile etkileşime giren rezidüleri, mavi küreler temel rezidüleri, yeşil küreler yüksüz polar rezidüleri ve beyaz küreler hidrofobik rezidüleri göstermektedir [67].



Şekil 4.1 : Cyt C – MPMN sistemi için en düşük enerji bağlanma konformasyonları. (A) OT Homo, (B) 1:2 MH:OT, (C) 1:1 MH:OT ince, (D) 1:1 MH:OT kalın, (E) 2:1 MH:OT ve (F) MHHomo MPMN yüzeyler [67].

Polimer yüzeye protein adsorpsiyonunu simüle ederken MD, Monte Carlo (MC) ve Brownian dinamiği (BD) gibi çeşitli simülasyon metodlarından yararlanılmaktadır. Her bir yöntemin kendine özgü belirli özellikleri bulunmaktadır [7].

4.2.1 Moleküler dinamik metodu

1970'lerin sonunda geliştirilen MD simülasyon metodu ile atomik veya moleküler düzeydeki incelemeler yapılabilmektedir. Örneğin, atomik seviyede gerçekleştirilen simülasyonlar, gerçek sistemlerle oldukça iyi uyum sağlayabildiğinden, biyolojik sistemlerin incelenmesinde MD önemli bir yere sahiptir. MD'de inceleme yapılırken, atom ve moleküllerin hareketlerini anlayabilmek için kuvvet denklemlerinden yararlanılmaktadır. Çünkü, gerçek sistemlerde her bir atoma çeşitli kuvvetler uygulanmaktadır ve bu kuvvetler, birbirlerine bağlı ve bağlı olmayan atomlar arasında gerçekleşmektedir. Her bir atoma uygulanan net kuvvet, simülasyonda Şekil 4.2'deki gibi potansiyel enerji denklemleri vasıtasıyla hesaplanmaktadır. Birbirlerine bağlı olmayan atomların uyguladıkları kuvvetler, van der Waals ve elektrostatik etkileşimlerden kaynaklanmakta olup sırasıyla Lennard-Jones 6-12 denklemi ve Coulomb kanunu kullanılarak belirlenmektedir [68,69].

$$E_{\text{Toplam}} = \sum_{\text{bağlılar}} K_r (r - r_{eq})^2 + \sum_{\text{açılar}} K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{\text{dihedraller}} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \sum_{i < j} \left[\frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right]$$

Şekil 4.2 : Atomlara uygulanan kuvvetlerin MD denklemindeki gösterimi [69].

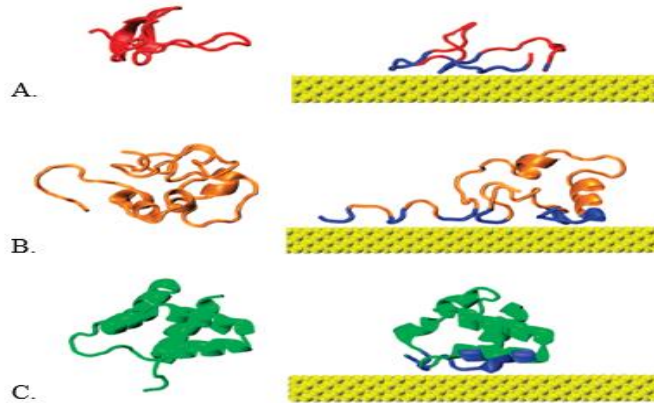
Atomlar, üzerlerine uygulanan kuvvetlerin etkisiyle farklı yönlerde hareket ederler ve zamanla yer değiştirirler. Yapılan hareketin ivmesi, hızı ve atomun yeni pozisyonu Newton'un hareket kanunundan (denklem 4.5) yararlanılarak bulunmaktadır. MD yöntemi kullanılarak simülasyon yapılırken, atom/moleküllerin başlangıç koordinatlarının ve hızlarının, potansiyel enerji ve yayılma algoritmalarının modellenmesi yapılırken belirtilmesi gerekmektedir. Atom/moleküllerin başlangıç koordinatları, deneysel çalışmalardan veya modellerden elde edilen sonuçlar

yardımıyla bulunabilirken, potansiyel enerji bilgisi koordinat boyunca proteinin yüzey enerjisinin parametrelenmesi olan kuvvet alan denklemleri ile belirlenir [68,70].

$$\frac{d^2x_i}{dt^2} = \frac{F_{x_i}}{m_i} \quad (4.5)$$

Atomların çok hızlı hareket ettikleri durumlar da olabildiğinden atomik seviyede simülasyon yapılırken kullanılan zaman aralıkları çok küçük tutularak çok hızlı hareket eden atomların da simülasyonda incelenebilmesine olanak sağlanır. Bu nedenle, simülasyon çalışmalarında zaman aralıkları 1-2 fs seviyesindedir [68]. MD yöntemiyle simülasyon yapılırken en çok kullanılan simülasyon paketleri AMBER, CHARMM, GROMACS ve NAMD şeklindedir. NAMD kolay bir programlama diline sahipken CHARMM oldukça komplekstir. NAMD'ın fonksiyonu CHARMM'a oranla daha az olmasına karşın, büyük protein ve protein komplekslerinin simüle edilmesinde NAMD'ın performansı çok iyidir. GROMACS ve AMBER, kapsam ve programlama dili açısından NAMD'a benzemektedir [68–70].

MD simülasyonu kullanılarak incelenen bir adsorpsiyon çalışmasında, altına bağlanan peptidler (GBP) ile altına bağlanmayan peptidlerin (NGBP) altın yüzeyine adsorpsiyonları CHARMM22 kuvvet alanı yardımıyla incelenmiştir (Şekil 4.3). Simülasyon çalışması sırasında Lennard-Jones potansiyelinden yararlanılmıştır ve etkili bir adsorpsiyonun olması için su moleküllerinin yer değiştirmesi gerektiği görülmüştür. Bunun için de proteinin konformasyonel değişikliğe kolayca uğrayabilmesi için esnek olması gerektiği sonucuna varılmıştır. Şekil 4.3'te sol tarafta adsorpsiyon öncesindeki konformasyon ve sağ tarafta adsorplanmış konformasyon görülmektedir [71].



Şekil 4.3 : Proteinlerin altın yüzeyine adsorplanmadan önceki ve sonraki görüntüleri. (A) 3GBP, (B) 6GBP ve (C) 6NGBP [71].

4.2.2 Monte Carlo metodu

Monte Carlo simülasyon yönteminde kullanılan denklemlerdeki sayılar rastgele atandığından atom/moleküllerin konumlarındaki değişiklikler rastgele gerçekleşmekte ve bunun sonucunda, olasılık değerlendirmesinin yapılması gerekmektedir. Bu nedenle, MC yöntemi ile kesin sonuçtan ziyade yaklaşık sonuçlar elde edilebilmektedir [72]. Protein adsorpsiyonu simülasyonlarında proteinler küre şeklinde modellenmektedir. MC simülasyon yönteminde, Canonical MC veya Grand Canonical MC toplulukları (ensembles) kullanılmakta ve Metropolis algoritmasından yararlanılmaktadır. Ayrıca, sistemin termodinamik dengeye ulaşabilmesi için en az $15 \cdot 10^6$ adım gerekmektedir [73].

Adsorplanan proteinlerin yönelimi MC simülasyon yöntemiyle belirlenebilmektedir. Örneğin, düşük molekül ağırlığına sahip elipsoid şeklindeki lizozim proteininin yüzeye adsorplanan en düşük enerjili yönelimi MC simülasyon metodu ile bulunabilmektedir. Lizozim, enzim kinetiği ve moleküler immünoloji çalışmalarında model protein olarak kullanıldığından önemli bir proteindir [74].

5. KULLANILAN METOT VE MALZEMELER

Bu çalışmada, plazma proteinlerinden biri olan fibrinojenin çeşitli poliüretan (PU) yüzeylere adsorpsiyonu ve protein adsorpsiyonunu etkileyen faktörler hem deneysel hem de moleküler modelleme ve simülasyon çalışmalarıyla incelenmiştir. Elde edilen deneysel sonuçlar ile simülasyon sonuçları beraber değerlendirilmiştir.

5.1 Deneysel Çalışma

Deneysel çalışma kapsamında, farklı formülasyonlara sahip PU filmlerin sentezlenmesi ve karakterizasyon çalışmaları tamamlandıktan sonra, fibrinojen proteininin, sentezlenen PU yüzeylere fizyolojik koşullardaki adsorpsiyonu incelenmiş ve polimer yapısının adsorpsiyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

5.1.1 Kullanılan kimyasallar

PU sentezinde polietilen glikol (PEG), hint yağı (HY) (Şekil 2.1), hekzametilen diizosiyanat (HDI) (Şekil 2.3) ve 1,4-bütandiol (BDO) (Şekil 2.4c) kimyasalları kullanılmaktadır ve bu kimyasallar Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Sentezde PEG poliol kaynağı, HY hem poliol kaynağı hem de çapraz bağlayıcı, HDI izosiyanat kaynağı ve BDO zincir uzatıcı olarak kullanılmaktadır. PU film sentezinde farklı molekül ağırlıklarına sahip 3 farklı PEG kullanılmıştır. PEG400 olarak gösterilen 400 g/mol molekül ağırlıklı, PEG1500 olarak gösterilen 1500 g/mol molekül ağırlıklı ve PEG3000 olarak gösterilen 3000 g/mol molekül ağırlıklı polietilen glikol kimyasalıdır. Kullanılan kimyasalların bazı özellikleri Çizelge 5.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.1 : PU film sentezinde kullanılan kimyasalların genel özellikleri.

İsim	Özellikler	Değer
PEG400	Molekül ağırlığı, g/mol	400,0
	Yoğunluk, g/cm ³	1,13
PEG1500	Molekül ağırlığı, g/mol	1500,0
	Yoğunluk, g/cm ³	1,20
PEG3000	Molekül ağırlığı, g/mol	3000,0
	Yoğunluk, g/cm ³	1,21
HY	Hidroksil değeri, mg KOH/g numune	161,01
	Asit değeri, mg KOH/g numune	1,47
HDI	Molekül ağırlığı, g/mol	168,2
	Yoğunluk, g/cm ³	1,047
	Kaynama noktası, °C	82-85
	Erime noktası, °C	-67
	Alev alma noktası, °C	135
BDO	Molekül ağırlığı, g/mol	90,12
	Yoğunluk, g/cm ³	1,02

5.1.2 PU film sentezi

PU film sentezi, tek kademe metoduyla gerçekleştirilmiş ve bütün reaktantlar reaksiyon ortamına konulup reaksiyonun tamamlanması sağlanmıştır. Ayrıca, sentez sırasında çözücü ve katalizör kullanılmamıştır. Şekil 5.1’de PU sentez reaksiyonu şematik olarak gösterilmektedir. Sadece HY kullanılarak yapılan sentez reaksiyonuna ait gösterim Şekil 5.1 (B)’dedir. Şekil 5.1 (A)’da ise, PEG ile HDI arasındaki reaksiyonun şeması görülmektedir. PEG ile HY’nın birlikte kullanıldığı reaksiyonlarda PEG ve HY molekülleri PU yapısında gelişigüzel yerleşmektedir.

bir karışım elde edilir. Daha sonra, reaksiyon karışımı üç boyunlu balona aktararak azot gazı beslemesi eşliğinde reaktantların hidroksil miktarına ekivalent miktarda izosiyanat grupları içeren HDI damla damla ilave edilir. Bu sırada, karıştırma hızı 300rpm'dir. Bu esnada, reaksiyonun hızlı gerçekleşmemesi ve kontrollü ilerleyebilmesi için reaksiyon ortamının sıcaklığı 50°C'ye ayarlanır. HDI'nın damla damla ilave edilmesinin sebebi ise, polimer zincirlerinin bir anda oluşmayıp, yavaş ve daha uzun zincirli olabilmesi içindir. Reaksiyon ortamına eklenen HDI havanın nemiyle de kolayca reaksiyon verebileceğinden azot atmosferinde çalışılmaktadır. HDI eklemesi bittikten sonra, homojen bir karışım elde edebilmek için 5 dakika daha 300rpm'de karıştırılan malzemeler cam Petri kaplarına aktarılır. Aynı kalınlıklara sahip film sentezinin sağlanabilmesi açısından Petri kaplarının her birine eşit miktarda reaksiyon karışımı konulur. Petri kaplarının ağızları kapatılarak reaksiyon karışımının havayla teması kesildikten sonra, 80°C'deki etüvde 20-24 saat polimerizasyon reaksiyonunun tamamlanması için bekletilir.

Polimerizasyon reaksiyonunun aşamaları Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi ile izlenebilmektedir. HDI ilavesinin hemen ardından yapılan FTIR analizi sonucunda, HDI kaynaklı serbest izosiyanat grubuna ait pikin 2260-2310 cm^{-1} aralığında gözlenmesi gerekmektedir. Polimerizasyon reaksiyonunun sonunda ise, serbest izosiyanat gruplarının tamamı reaksiyona gireceğinden 2260-2310 cm^{-1} aralığındaki pikin kaybolması beklenir. Ayrıca, reaksiyonun tamamlandığı üreanın karakteristik pikleri olan 3378 cm^{-1} civarında (N-H gerilme), 1682 cm^{-1} 'de üreanın C=O ve 1539 cm^{-1} 'de C-N bükülme piklerinin oluşmasıyla teyit edilmektedir [76]. Sentezlenen PU'ların kodları Çizelge 5.2'de görülmektedir.

Çizelge 5.2 : Polimer filmlerin kodları.

Kod	PEG Molekül Ağırlığı (g/mol)	HY/PEG Oranı
PU100	-	100/0
PU-400-70	400	70/30
PU-400-50	400	50/50
PU-1500-70	1500	70/30
PU-1500-50	1500	50/50
PU-3000-70	3000	70/30
PU-3000-60	3000	60/40
PU-3000-50	3000	50/50

5.1.3 Karakterizasyon yöntemleri

5.1.3.1 Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi

FTIR analizleri, malzemelerin hem kalitatif hem de kantitatif özellikleri hakkında bilgi vermektedir. Çalışma prensibi ise, gönderilen kızılötesi ışınının molekül tarafından absorbe edilerek en düşük elektronik enerji seviyesindeki elektronların dönme ve titreşimsel hareketlerinin spektrum olarak gösterilmesine dayanır [77].

Bu çalışmadaki FTIR spektrumları, Perkin Elmer markalı ATR modlu Spectrum One model Fourier transform infrared cihazı kullanılarak elde edilmiştir. Spektrum taraması 650-4000 cm^{-1} aralığında yapılmış ve polimerizasyon reaksiyonunun aşamaları gözlenmiştir.

5.1.3.2 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi

Malzemelerin termodinamik özellikleri DSC analizi ile termal işlem uygulanarak belirlenebilmektedir. Faz geçiş enerjileri, konformasyonel değişiklikler ve sıcaklıkla malzemedeki miktar değişimleri öğrenilebilmektedir. Ayrıca, DSC analizi sonucunda elde edilen eğrilerdeki erime pikinin altında kalan alanın integrali cihaz tarafından alınarak entalpi belirlenebilmektedir [78]. Elde edilen entalpi değerleri kullanılarak polimer malzemelerin % kristalinite değerleri denklem 5.1 yardımıyla hesaplanmıştır. % Kristalinite değerleri bulunurken, kristalin yapıya sahip PEG'in entalpi değerinden ($\Delta H_{PEG} = 202,41 \text{ J.g}^{-1}$) yararlanılır [79].

$$\text{Kristalinite (\%)} = \frac{\Delta H_{PU}}{\Delta H_{PEG}} * 100 \quad (5.1)$$

Bu çalışmadaki DSC verileri, azot atmosferinde Perkin Elmer markalı Diamond diferansiyel taramalı kalorimetre cihazı kullanılarak alınmıştır. Sentezlenen filmlerin DSC eğrileri -70°C ile 250°C arasında ve 10°C/dakika tarama hızında incelenmiştir.

5.1.3.3 Polimer filmlerde suyla temas açısı ölçümü

Temas açısı, katı-sıvı arayüzeyinde meydana gelen açıdır ve temas açısı analizinden elde edilen açı 90°'den büyükse malzeme düşük ıslanabilirliğe, 90°'den küçükse malzeme yüksek ıslanabilirliğe sahiptir. Malzemenin düşük ıslanabilirliğe sahip olması hidrofobik yüzeylerde meydana gelirken, yüksek ıslanabilirliğe sahip yüzey hidrofilik karakterlidir [80].

Polimer malzemelerin hidrofilik mi yoksa hidrofobik karaktere mi sahip olduklarını anlamak için temas açısı analiz yöntemi kullanılmaktadır. Bu çalışma kapsamında sentezlenen filmlerin hidrofiliteyi, KSV Attension Theta Lite marka temas açısı ölçüm cihazı yardımıyla distile su kullanılarak incelenmiştir.

5.1.3.4 Polimer filmlere şişme testi

Sentezlenen filmlere şişme testi, protein adsorpsiyonunun gerçekleştiği koşullarda yapılmıştır. 50°C’de vakum altında 24 saat kurutulan filmlerin fosfat tampon çözeltisindeki şişme davranışları 36°C’de 4 gün boyunca gözlenmiştir. PU yüzeye protein adsorpsiyonu ilk 40 dakikada hızlı gerçekleştiğinden ilk 40 dakika sık aralıklarla ölçümler alınmıştır. Filmlerin % şişme miktarları denklem 5.2’deki denklem yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{şişme miktarı (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} * 100 \quad (5.2)$$

W_1 : PU filmin ilk ağırlığı

W_2 : Şişmiş PU filmin ağırlığı

5.1.3.5 Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)

Sentezlenen PU filmlerin yüzey pürüzlülüğü ve pürüzlerin vadi girişlerinin genişlik değerleri gibi yüzey özellikleri Nanosurf markalı NaioAFM cihazıyla belirlenmiştir.

5.1.4 Poliüretan filmlere protein adsorpsiyonu

Farklı formülasyonlarda sentezlenen PU filmlerin yüzeyine protein adsorpsiyon çalışmaları, Sigma-Aldrich firmasından alınan fibrinojen proteini ile yapılmıştır. Kullanılan fibrinojen, sığır plazmasından ekstraksiyon sonucunda elde edilmiştir. Adsorpsiyon analizlerine başlamadan önce, fibrinojenin pH 7,4’teki PBS tamponu ile çeşitli konsantrasyonlarda (0 g/mL, 0,40 mg/mL, 0,50 mg/mL, 0,80 mg/mL, 1,0 mg/mL) protein çözeltileri hazırlanarak EK E’deki kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Homojen bir çözelti elde edebilmek amacıyla, protein çözeltisine 36 °C’de 3 saat karıştırma işlemi uygulanmıştır [81]. 1x1 cm²’lik alanlarda kesilen PU filmlere fibrinojen adsorpsiyonu, fizyolojik ortam koşulu olan 36 °C ve pH 7,4’lük PBS tampon çözeltisinde Perkin Elmer Lambda 35 markalı UV Spektrofotometre cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Fibrinojen 280 nm’de maksimum absorban piki

vermektedir. Adsorpsiyon analizinde, 1 mg/mL konsantrasyonlu 60mL'lik fibrinojen çözeltisine PU filmler daldırılarak belirli zaman aralıklarında UV Spektrofotometre cihazı ile çözelti absorbansındaki değişiklikler ölçülmüştür. Ölçülen absorbans değerlerinden, EK E'de verilen fibrinojen kalibrasyon eğrisi kullanılarak çözeltideki protein derişimi hesaplanmıştır. Her bir PU filme adsorplanan fibrinojen miktarı denklem 5.3 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$q = \left(\frac{C_0 - C_A}{A} \right) V \quad (5.3)$$

q : Adsorplanan protein miktarı (mg/cm²)

C_0 : Protein çözeltisinin ilk konsantrasyonu (mg/mL)

C_A : Analiz sırasındaki çözeltinin konsantrasyonu (mg/mL)

V : Protein çözeltisinin hacmi (mL)

A : PU filmin yüzey alanı (cm²)

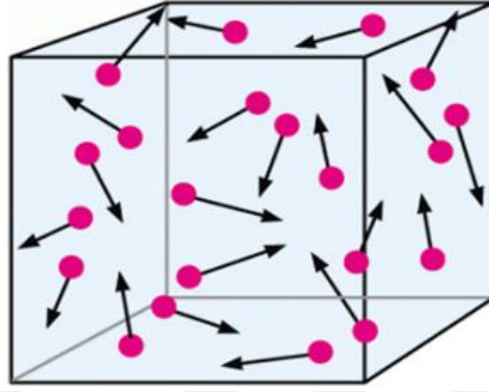
5.2 Hesaplamalı Modelleme ve Simülasyon Çalışması

Bu çalışmada, PU yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu incelenmeden önce, fibrinojenin esnek kısımları belirlenmiş ve yaptığı menteşe hareketleri HingeProt internet sunucusu kullanılarak gözlemlenmiştir [82,83]. Fibrinojenin esnek kısımlarını ve menteşe hareketlerini belirlerken Gaussian ağyapı modelinden yararlanılmıştır [84–86]. Fibrinojenin yapmış olduğu hareketlerin adsorpsiyonda etkili olduğu literatürden bilindiğinden bu hareketleri belirlemek önem arz etmektedir. Daha sonra, PU yüzeylere fibrinojen adsorpsiyon simülasyonu Brownian dinamiği metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Burada hem PU yüzeyi hem de protein kaba-ölçekli bir yaklaşımla tasvir edilmiştir. Farklı yüzey pürüzlülüklerine sahip PU yüzeyler modellenerek adsorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Bu sayede, fibrinojen adsorpsiyonuna etki eden parametreler tek tek incelenmiştir.

5.2.1 Brownian dinamiği metodu

Termoforetik hareket, osmoforetik hareket ve Brownian hareket olmak üzere üç temel hareket çeşidi bulunmaktadır. Termoforetik hareket sıcaklık farkından kaynaklanırken, osmoforetik hareket konsantrasyon farkından kaynaklanır. Brownian hareket ise taneciklere uygulanan kuvvetlerden kaynaklanmaktadır [87]. Brownian hareket, su içindeki polen tanelerinin yaptığı sürekli hareketlerin Robert Brown

tarafından gözlenmesi sonucunda bulunmuştur ve 1905 yılında Albert Einstein tarafından kapsamı genişletilerek Brownian hareket teorisi oluşturulmuştur [88]. Taneciklerin birbirleriyle rastgele çarpışmaları sonucunda oluşan harekete Brownian hareketi (Şekil 5.2) denilmektedir [87,88].



Şekil 5.2 : Brownian hareketi yapan taneciklerin gösterimi [87].

Brownian dinamik (BD) simülasyonları, moleküllerin konumlarına ve zamana bağlı prosesler olduğundan biyomoleküllerin aralarındaki etkileşimler ve hangi yöne ne kadar yer değiştirdikleri BD simülasyonları ile belirlenebilmektedir. BD simülasyonu yapılırken Langevin denkleminin kullanılması yararlıdır. Langevin denklemi ile simüle edilen sistemlere örnek olarak kolloidler, polimerler ve biyomoleküler sistemler gibi birçok proses verilebilir. Mezoskopik sistemlerin Langevin denklemiyle modellenmesi yapılırken bazı varsayımlarda bulunulur. Örnek olarak, partiküllerin sahip oldukları ağırlıkların küçük olması nedeniyle eylemsizlik etkilerinin ihmal edilmesi, partiküller arasındaki ve partikül ile yüzey arasındaki itici temas kuvvetlerinin güçlü olduğu varsayımlarının yapılması verilebilmektedir [89–91].

BD oluşturulurken, sistemdeki partiküllerin ağırlıkları küçük olduğundan ivmeleri ihmal edilir. İvmenin ihmal edilmesiyle, Newton'un ikinci kanunundaki toplam net kuvvet (denklem 5.4) sıfır olmaktadır [90].

$$F_i^{\text{tot}} = F_i^d + F_i^B + F_i^{\text{nh}} \cong 0 \quad (5.4)$$

F_i^d : Sürüklenme gücü

F_i^B : Brownian kuvveti

F_i^{nh} : Hidrodinamik olmayan kuvvetler

Partiküllere dıştan uygulanan kuvvetler ile yay kuvveti gibi etkileşimler, hidrodinamik olmayan kuvvetleri meydana getirmektedir. Sürüklenme gücü ise, denklem 5.5'teki şekilde ifade edilmektedir [90].

$$F_i^d = -\zeta \left(\frac{dr_i}{dt} - u^\infty(r_i) \right) \quad (5.5)$$

ζ : Sürüklenme sabiti

$u^\infty(r_i)$: Çekilme hızı

$\frac{dr_i}{dt}$: Molekülün hareketi

Denklem 5.6, denklem 5.7 ve denklem 5.8 faz alanı olasılık yoğunluğu için ifade edilen difüzyon denklemi olan Fokker-Plank denkleminin eş denklemleridir [90].

$$\frac{dr_i}{dt} = u^\infty(r_i) + \frac{1}{\zeta} \left(F_i^{nh}(\{r_j\}) + F_i^B(t) \right) \quad (5.6)$$

$$\langle F_i^B(t) \rangle = 0 \quad (5.7)$$

$$\langle F_i^B(t) F_j^B(t') \rangle = 2k_B T \zeta \delta_{ij} \delta(t - t') \delta \quad (5.8)$$

k_B : Boltzmann sabiti

T : Mutlak sıcaklık

δ_{ij} : Kronecker delta

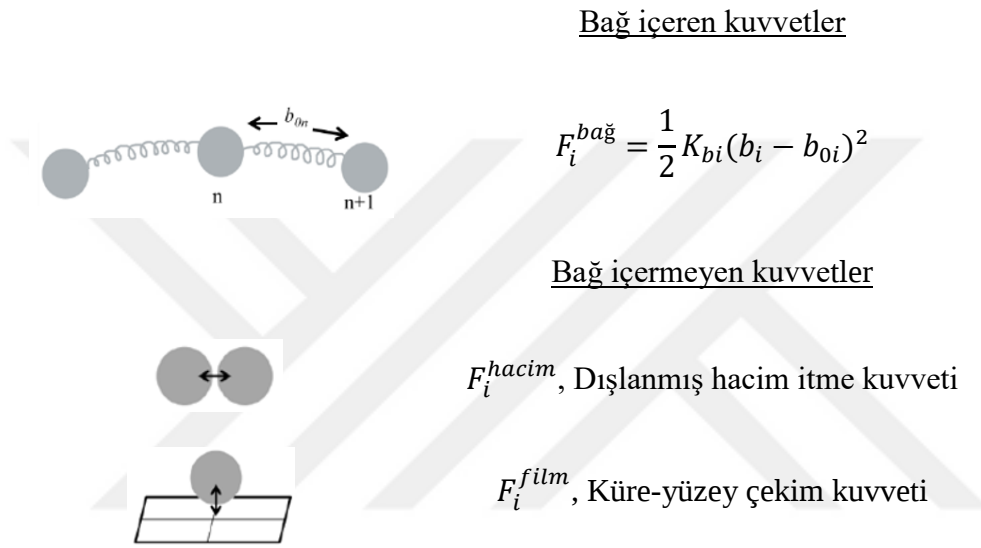
$\delta(t - t')$: Dirak delta fonksiyonu

δ : ikinci derece birim tensör

BD simülasyon metodu ile birbirlerinden bağımsız bir çok yol (trajectory) üretilir ve bu yolların ortalamaları alınarak topluluk (ensemble) özelliklerinde meydana gelen değişiklikler belirlenebilmektedir [90]. Topluluk tanımı şu şekilde açıklanabilir; asıl incelenmek istenen sistemle tamamen aynı özelliklere sahip alt sistemlere topluluk adı verilir. Topluluklarda meydana gelen değişiklikler belirlenip ortalamaları alınarak asıl sistem hakkında bilgi sahibi olunmaktadır.

Brownian dinamiğine ait genel denklemlerden yola çıkarak geri dönüşümsüz adsorpsiyon varsayımının ardından, bu çalışmada kullanılacak denklemler oluşturulmuştur. Brownian dinamiği yöntemiyle simülasyon yaparken, her bir taneciğe etkiyen net kuvvetlerin hesaplanması ve etkiyen kuvvetler sonucunda

taneciklerin bir sonraki zaman adımındaki koordinatlarının belirlenmesi gerekmektedir. Fibrinojenin yapısında bulunan iki uçtaki ve ortadaki kürelere etki eden net kuvvetler birbirlerinden farklıdır ve her bir net kuvvet, denklem 5.9 kullanılarak hesaplanmaktadır. Simülasyon yöntemiyle adsorpsiyon analizi esnasında, dışlanmış hacim etkisiyle kürelerin birbirlerinin içlerinden geçmesi engellenmektedir. Ayrıca, sistemdeki diğer bir önemli kuvvet polimerik yüzey ile küreler arasındaki çekme kuvvetidir. Bu kuvvetin sayesinde, proteine ait küreler yüzeye belli bir mesafeye kadar yaklaştıklarında adsorplanma gerçekleşir [92].



Şekil 5.3: Bağ içeren ve içermeyen kuvvetlerin basitleştirilmiş gösterimi [92].

$$F_i^{toplamlam}(t) = F_i^B(t) + F_i^{bağ}(t) + F_i^{film}(t) + F_i^{hacim}(t) \quad (5.9)$$

Orta nokta algoritması ile i indeksli kürenin zamana bağlı Kartezyen koordinatı r_i iki adımda (1/2 ve 1) denklem 5.10 ile hesaplanır.

$$(r_i)_{\frac{1}{2}} = (r_i)_0 + \frac{dt}{2} (F_{i,0}^B + F_{i,0}^{bağ} + F_{i,0}^{film} + F_{i,0}^{hacim})$$

$$(r_i)_1 = (r_i)_0 + \frac{dt}{2} (F_{i,0}^B + F_{i,1/2}^{bağ} + F_{i,1/2}^{film} + F_{i,1/2}^{hacim}) \quad (5.10)$$

Burada, “0” başlangıç noktası, dt zaman adımı olarak tanımlanır. Simülasyon kutusuna periyodik sınır şartları uygulanır.

5.2.2 Gaussian ağyapı modeli (GNM)

Moleküllerdeki yapı-dalgalanma-fonksiyon arasındaki ilişkiyi modellemek için normal mod analizi (NMA) ve Gaussian ağyapı modeli (GNM) kullanılabilir. Normal mod, osilasyon yapan moleküllerin hareket modelidir ve osilasyon yapan sistemlerdeki her bir parçacığın aynı frekansla sinüzoidal hareketler yaptığı varsayılmaktadır. Ayrıca, osilasyon yapan bir sistemin birden fazla normal modu bulunmaktadır. Örneğin, proteinler yapısal dalgalanma hareketleri yaptığından normal mod analizi ile değerlendirilebilmelerine rağmen, normal mod analiziyle yaklaşık bir sonuç elde edilmektedir. GNM yöntemi NMA'ya oranla daha kolay bir yöntemdir ve GNM yöntemiyle protein yapılarının hareketleri başarılı bir şekilde tahmin edilebilmektedir. Ayrıca, GNM kullanılarak proteinin menteşe hareketleri ile yapıdaki esnek kısımların yerleri belirlenebilmektedir. GNM yönteminde proteinler kaba-ölçekli modellenmekte ve proteinleri oluşturan aminoasit rezidüleri nodül olarak gösterilirken, aminoasitler arasındaki bağlar yay şeklinde gösterilmektedir [84–86]. Komşu rezidüleri belirlemek için kesme uzaklığı kullanılmaktadır ve GNM için genellikle bu değer 7 Å alınır. Eğer rezidüler arasındaki uzaklık 7 Å'dan fazlaysa, ağyapıda rezidü çiftleri arasındaki yay kuvveti denklem 5.11'de gösterildiği gibi sıfır olmaktadır. GNM modelinin matematiksel ifadesi denklem 5.11'deki Kirchhoff matrisiyle yapılabilmektedir. GNM metoduyla elde edilen yavaş modlar, aminoasitlerin beraber yaptıkları hareketler hakkında doğru sonuçlar vermektedir [85,86].

$$\Gamma_{ij} = \begin{cases} -1 & \text{if } i \neq j \text{ and } d_{ij} \leq 7 \text{ Å}, \\ 0 & \text{if } i \neq j \text{ and } d_{ij} > 7 \text{ Å}, \\ -\sum_{j=1, j \neq i}^m \Gamma_{ij} & \text{if } i = j. \end{cases} \quad (5.11)$$

i, j : Rezidüler

d_{ij} : i ve j rezidüleri arasındaki uzaklık

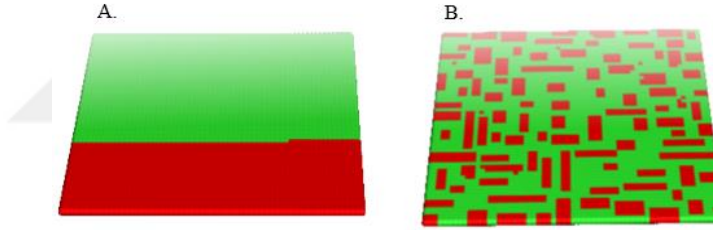
m : Rezidü sayısı

HingeProt internet sunucusuyla fibrinojenin menteşe hareketleri incelenirken hem GNM hem de ANM için kesme uzaklıklarının belirlenmesi gerekmektedir. GNM için kesme uzaklığı genellikle 7-8 Å olarak seçildiği ve en iyi sonucun 7,3 Å'da alındığı

literatürden öğrenilmektedir [93]. Ayrıca, GNM için kesme uzaklığının 8 Å - 12 Å arasında alındığında deneysel ve teorik β -faktörlerinin uyumlu olduğu belirtilmektedir [94]. Bu nedenle, HingeProt ile fibrinojenin menteşe hareketleri incelenirken GNM için kesme uzaklığı 8 Å olarak seçilmiştir. ANM için optimum kesme uzaklığı 13-15 Å arasında olduğu belirtildiğinden fibrinojenin menteşe hareketleri incelenirken ANM için kesme uzaklığı 13 Å olarak alınmıştır [93].

5.2.3 Adsorpsiyonda kullanılan PU yüzey tipleri

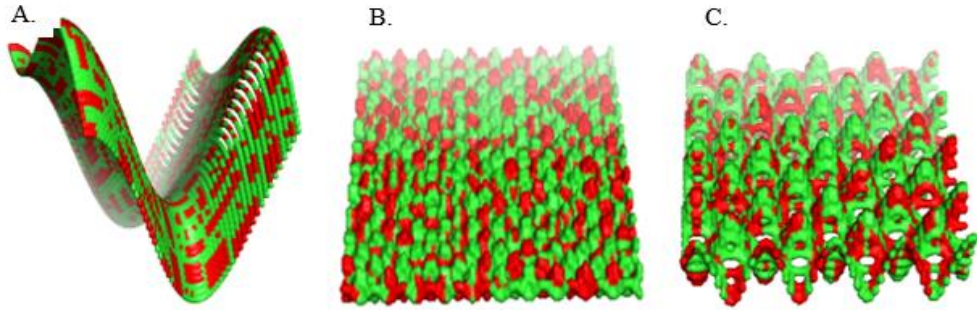
Fibrinojen anizotropik ve elastik bir yapıya sahip olduğundan, adsorbentin yüzey pürüzlülüğünün ve adsorbent yüzeyinde bulunan mikrofaz ayrımlarının adsorpsiyon üzerinde büyük etkisi bulunmaktadır. Bu nedenle, PU yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu kendi içlerinde çeşitlilik gösteren düz (Şekil 5.4) ve pürüzlü (Şekil 5.5) yüzey olmak üzere iki tip yüzey modellenerek gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, proteinlerin adsorplanabileceği bölgeleri gelişigüzel ve sıralı bir şekilde modelleyerek PU yüzeylerinde bulunan mikrofazların dağılımının adsorpsiyona etkisi incelenmiştir.



Şekil 5.4 : Düz poliüretan yüzeyin modellenmiş görüntüsü (A) Adsorpsiyon bölgelerinin sıralı modellenmesi, (B) Adsorpsiyon bölgelerinin gelişigüzel modellenmesi.

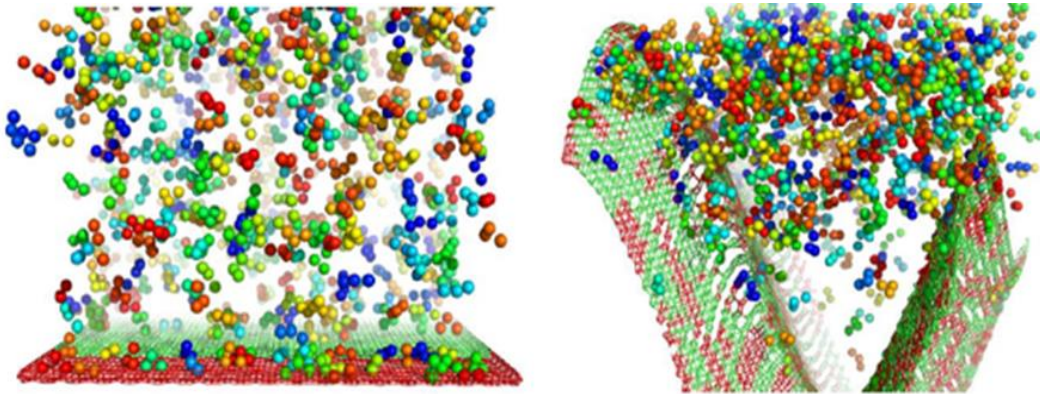
Buna göre, Şekil 5.4 ve Şekil 5.5'te görülen yüzeylerdeki kırmızı renkli kısımlar, mikrofaz ayrımının (yumuşak/sert segment) olduğu bölgeleri temsil etmektedir ve fibrinojen mikrofaz ayrımının bulunduğu bölgelere adsorplanmaktadır. Adsorpsiyon bölgeleri, Şekil 5.4 (A)'da sıralı, Şekil 5.4 (B)'de gelişigüzel olarak modellenmiş ve adsorpsiyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, yüzey pürüzlülüğünün adsorpsiyona etkisini belirleyebilmek için PU yüzeyi pürüzlü (Şekil 5.5 (A, B ve C)) olacak şekilde ve kırmızı renkle gösterilen adsorpsiyon bölgelerinin gelişigüzel dağıtılmasıyla modellenmiştir. Fibrinojen esnek ve anizotropik bir yapıya sahip olduğundan 3 tip pürüzlü yüzey modellenmiştir. Pürüzlülük genişliği ve derinliği en fazla olan yüzey, tip 1 yüzeyken en düşük olan yüzey, tip 2 yüzeydir. Tip 3 yüzey ise,

yumurta konulan kartonların yapısına benzemektedir ve pürüzlülük derinliği ile genişliği tip 2 yüzeyden büyük fakat tip 1 yüzeyden daha küçüktür.



Şekil 5.5 : Pürüzlü poliüretan yüzeylerin kaba ölçekli modellenmiş görüntüleri (A) Tip 1, (B) Tip 2 ve (C) Tip 3.

Bu bilgilere ek olarak, PU-fibrinojen sistemi modellenirken, Şekil 5.6'daki gibi kaba-ölçekli tanımlamadan yararlanılmıştır. Şekil 5.6'daki aynı renkli küçük küreler fibrinojenin üç küresel bölgesini (nodül) temsil etmekte ve her bir fibrinojen molekülü farklı renkte gösterilmektedir. Simülasyon kodu yazılırken, 666 tane fibrinojen molekülünün ortamda bulunduğu ve her bir molekülde 3 nodül bulunduğundan ortamda 1998 nodülün var olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, düz yüzeydeki fibrinojenin adsorplanabileceği bölgelerin sayısı 1296 olarak belirlenirken, pürüzlü yüzeylerdeki adsorpsiyon bölgelerinin sayısı 1560 olarak belirlenmiştir. Bu şekilde, farklı kristallik derecelerinde çalışılarak kristallik derecesinin adsorpsiyona etkisi incelenmiştir.



Şekil 5.6 : Poliüretan-fibrinojen sisteminin kaba-ölçekli modellenmesi.

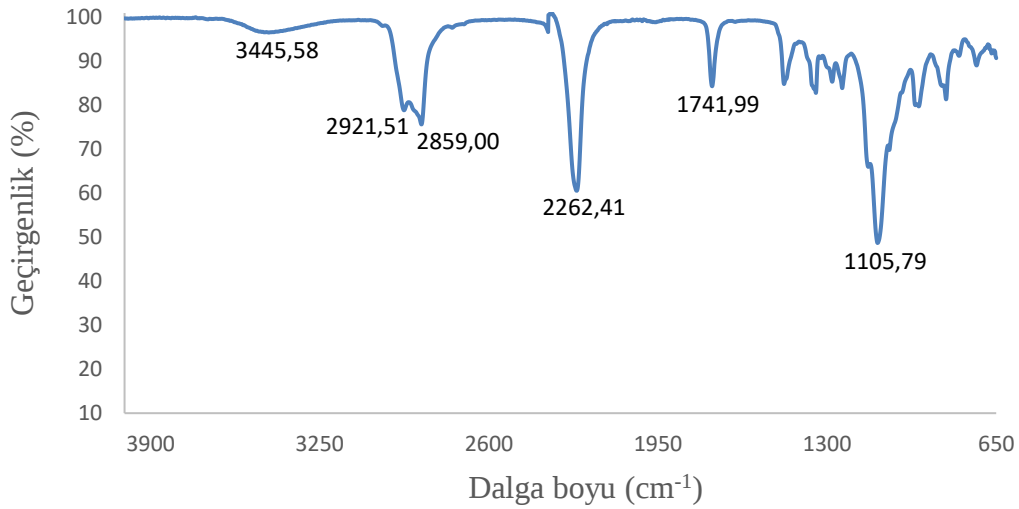


6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

6.1 Deneysel Sonuçlar

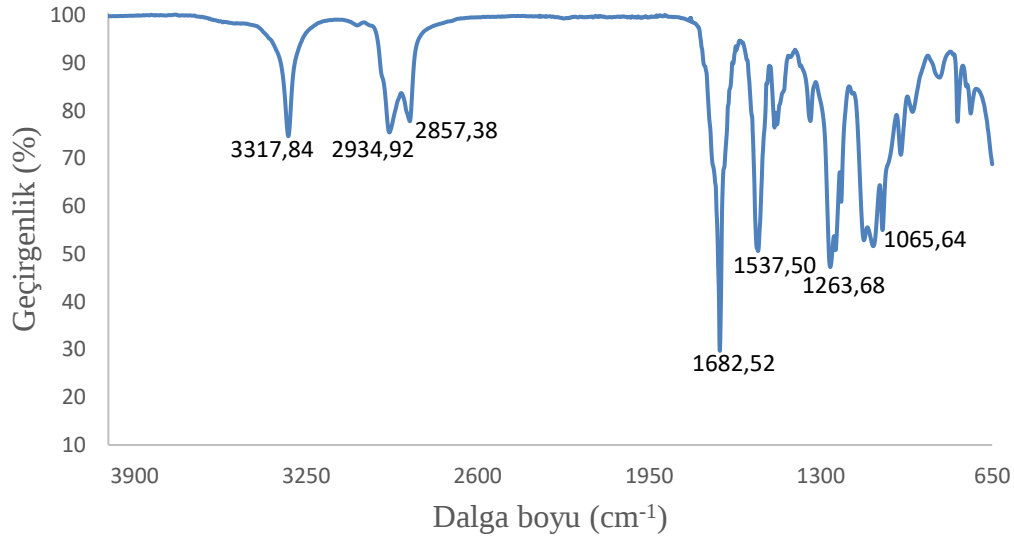
6.1.1 Poliüretan sentez reaksiyonunun izlenmesi

PU sentezi FTIR spektroskopisiyle izlenmiştir. Örnek olarak PU-3000-50 kodlu poliüretanın sentezi sırasında elde edilen spektrumlar Şekil 6.1 ve Şekil 6.2’de verilmiştir. Şekil 6.1’de görüleceği üzere, sentezlenen bütün filmlerde reaksiyonun başında 3445 cm^{-1} ’de OH^- gerilme piki ve 2262 cm^{-1} ’de serbest izosiyanat piki belirlenmiştir.



Şekil 6.1 : PU-3000-50 filmin reaksiyonun başındaki FTIR spektrumu.

Reaksiyon tamamlanınca (Şekil 6.2), serbest izosiyanat pikinin kaybolduğu ve karakteristik üretan pikinin 3317 cm^{-1} civarında oluştuğu görülmüştür. Ayrıca, 1682 cm^{-1} ’de üretanın $\text{C}=\text{O}$ ve 1537 cm^{-1} ’de $\text{C}-\text{N}$ bükülme pikleri de görülmektedir. Bu verilere göre, PU film sentezinin başarıldığı söylenebilir. Sentezlenen tüm filmlerin FTIR spektrumları EK A’da verilmiştir.



Şekil 6.2 : PU-3000-50 filmin reaksiyon tamamlandıktan sonraki FTIR spektrumu.

6.1.2 Poliüretan filmlerin karakterizasyonu

6.1.2.1 Poliüretan filmlerin fotoğrafları

Sentezlenen PU filmlerin fotoğraflarında (Şekil 6.3) PU100 film dışında gözle görülür bir fark belirlenmemiştir. PU100 dışındaki filmler sarımsı renge sahiptir. PU100 film, diğer filmlere oranla daha saydamdır ve bunun sebebi de PU100 filmin PEG içermemesi olabilir.



Şekil 6.3 : Sentezlenen PU filmlerin fotoğrafları.



Şekil 6.3 (Devam) : Sentezlenen PU filmlerin fotoğrafları.

6.1.2.2 Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi

Sentezlenen PU filmlerin camsı geçiş sıcaklıkları (T_g), erime sıcaklıkları (T_m) ve % kristalinite değerleri DSC yardımıyla incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 6.1’de verilmiştir.

Çizelge 6.1 : PU filmlerin camsı geçiş sıcaklıkları, erime sıcaklıkları ve % kristalinite değerleri.

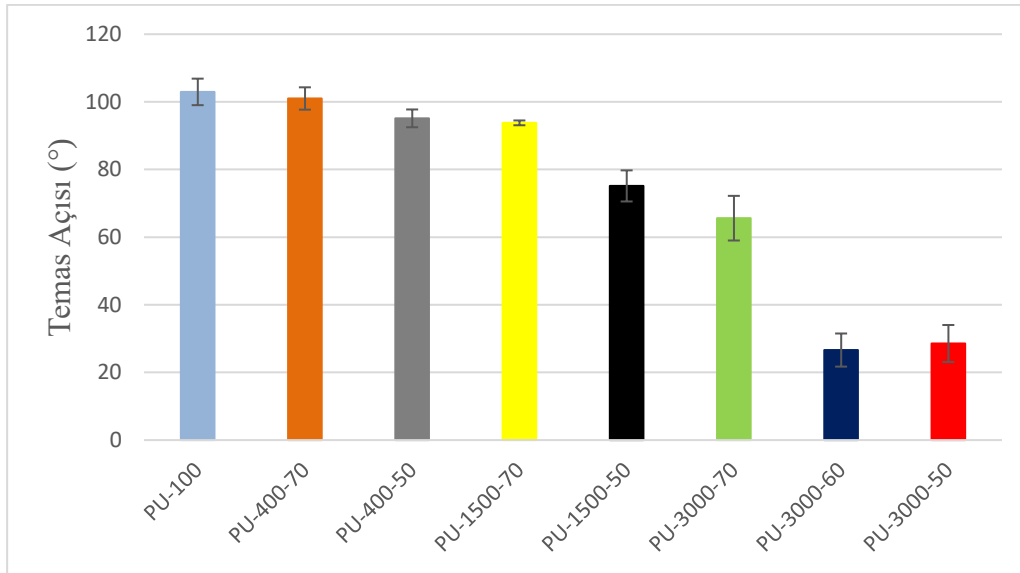
Kod	HY/PEG	T_g (°C)	T_m (°C)	Kristalinite (%)
	Ağırlık Oranı			
PU-100	100/0	-27,81	-	-
PU-400-70	70/30	-33,71	-	-
PU-400-50	50/50	-37,98	-	-
PU-1500-70	70/30	-48,36	17,16	1,4
PU-1500-50	50/50	-49,7	16,97	3,94
PU-3000-70	70/30	-49,49	31,65	6,31
PU-3000-60	60/40	-49,36	32,96	10,56
PU-3000-50	50/50	-49,16	33,47	12,89

Aynı molekül ağırlıklı PEG kullanılarak sentezlenen PU filmler kendi aralarında değerlendirildiklerinde, PU-3000 kodlu filmler dışındaki filmlerde HY/PEG oranı arttıkça T_g ’nin arttığı görülmüştür. 400 molekül ağırlıklı ve 1500 molekül ağırlıklı PEG içeren filmler kıyaslandığında PEG’in molekül ağırlığı arttıkça T_g ’nin azaldığı görülmektedir. 3000 molekül ağırlıklı PEG içeren filmlerde ise, PEG’in molekül ağırlığıyla T_g değeri değişmemektedir. PEG içermeyen PU filmin T_g değeri diğer filmlere oranla daha yüksektir. Bunun sebebi, çapraz bağ miktarı arttıkça, yani HY

miktarı arttıkça, polimer zincirlerindeki hareketin zorlaşmasıyla açıklanabilir. Ayrıca, PEG'in lineer yapısı polimer zincirlerinin daha kolay hareket etmesine olanak sağlamaktadır. PEG3000 ile hazırlanan filmlerde PEG miktarı arttıkça polimerin erime sıcaklığında artış olmuştur. Çünkü, PEG kristalin yapıda olduğu için polimer yapısında kristaliniteyi sağlamaktadır ve PEG miktarı arttıkça kristalinite arttığından erime sıcaklığı (T_m) artış göstermektedir. Sentezlenen filmlere ait DSC grafikleri EK B'de verilmiştir.

6.1.2.3 Su ile temas açısı analizleri

Su ile temas açısı analizi ile polimer malzemenin hidrofilikliği hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Polimer malzemenin hidrofilikliği arttığında yüzeyin suyu itme gücü azalacağından temas açısı düşer. Bu çalışmada sentezlenen filmlerin temas açıları Şekil 6.4'te verilmiştir. Temas açısının en fazla olduğu film yani en hidrofobik karakterli filmin PU-100 film olduğu analiz sonuçlarından görülmektedir. Temas açısı analizlerinden varılan nihai sonuç, PU formülasyonundaki PEG'in molekül ağırlığının ve kullanılan PEG miktarının artırılmasıyla temas açısının düştüğü ve hidrofilitenin arttığıdır. PU filmlerin temas açısı ve standart sapma değerlerinin çizelgesi EK C'de verilmiştir.

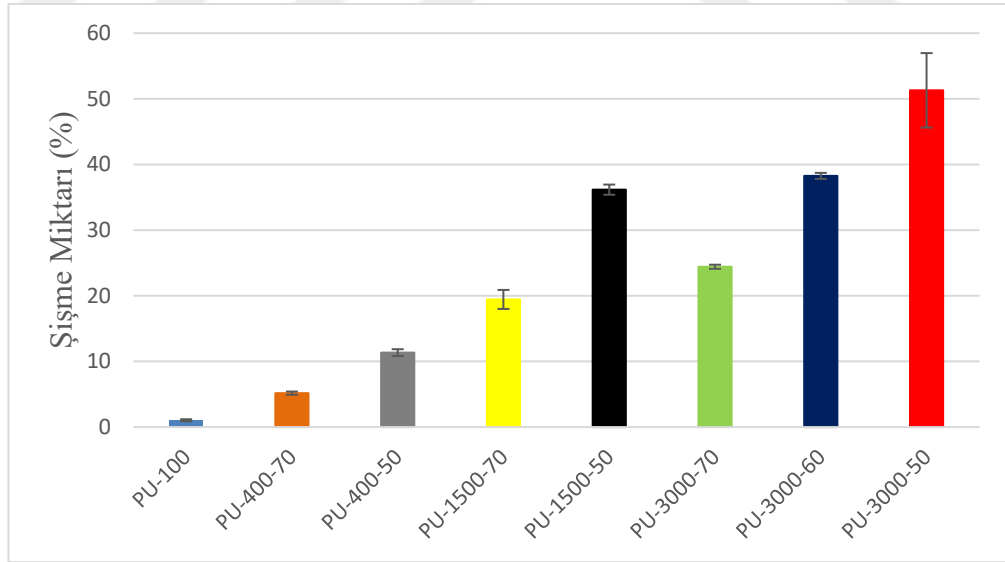


Şekil 6.4 : PU filmlerin temas açısı değerleri.

6.1.2.4 Poliüretan filmlerin şişme analizi

Sentezlenen PU filmlerin şişme analizlerinden elde edilen sonuçlar incelendiğinde, 24 saatte maksimum şişme platosuna ulaşıldığı görülmüştür. Analize 4 gün devam

edilmiş ve değişim olmamıştır. 4 günlük şişme kinetiği Ek C’de verilmiştir. Şekil 6.5’te 24 saat sonundaki şişme değerleri görülmektedir. Veriler değerlendirildiğinde, en az şişmenin PU-100 filmde olduğu görülmüştür. PU-100 filmin çok az şişmesindeki nedenler şu şekilde açıklanabilir, PU-100 film hiç PEG içermemekte fakat yüksek miktarda HY içermektedir ve HY hidrofobik karakterli olduğundan, su moleküllerini itmektedir. Ayrıca, HY miktarı ne kadar fazla olursa çapraz bağ yoğunluğu da o kadar artacağından su moleküllerinin bağların arasına girmesi zorlaşır ve şişme miktarı düşer. PU filmlerde PEG miktarı arttıkça HY miktarı düşmektedir ve PEG miktarı arttıkça şişmenin de arttığı analiz sonuçlarından anlaşılmaktadır. PEG hidrofilik karakterli olduğundan yapıdaki PEG içeriği arttıkça su molekülleriyle yapılan hidrojen bağı da artar ve filme tutunan su molekülü miktarı artacağından filmin şişme miktarı da artış gösterir. HY miktarının azalması da yapıdaki çapraz bağ yoğunluğunun azalmasına neden olacağından su moleküllerinin bağların arasına girmesi daha kolay hale gelir ve sonuç olarak daha fazla şişme meydana gelir. Ayrıca, PEG’in molekül ağırlığının artması da yapıdaki hidrofilik karakterin artmasına neden olur. Şişme analizinde PEG’in molekül ağırlığının artmasıyla şişmenin de artması hidrofilikliğin artmasıyla açıklanabilir.

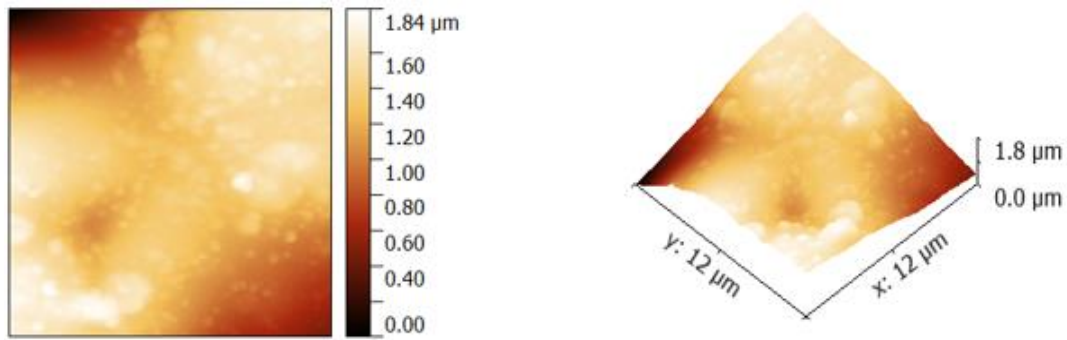


Şekil 6.5 : PU filmlerin 24’üncü saatteki şişme sonuçları.

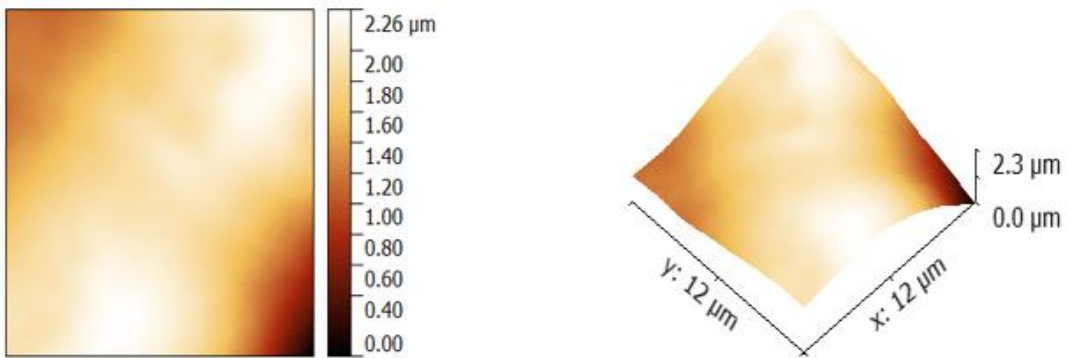
6.1.2.5 Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi

Sentezlenen PU filmlerin yüzey pürüzlülüğü ve pürüzlerin vadi giriş genişlikleri AFM kullanılarak analiz edilmiştir. AFM görüntüleri, her bir filmde 12.5 x 12.5 μm^2 boyutlarında alan taranarak alınmıştır. Filmlerin AFM görüntüleri Şekil 6.6’da

verilmiştir. PU-3000-60 filmin yüzeyi ile aynı filme protein adsorlandıktan sonraki yüzeyin görüntüsü de aynı şekilde verilmiştir. Topografya görüntülerindeki (Şekil 6.6) parlak kısımlar yüksek yerleri gösterir ve parlaklık arttıkça yüksekliğin de arttığı bilinmelidir. Ayrıca, topografya görüntülerindeki parlak kısımlar, faz görüntülerinde koyu renkli görünmektedir. PU'nun yapısındaki sert ve yumuşak kısımlardan dolayı yapıda mikrofaz ayrımı bulunmaktadır. PU'nun yapısındaki izole olmuş sert bölgelerin etkisiyle topografya görüntülerindeki parlak noktalar gözlenmektedir [95]. AFM görüntülerinin analizinden elde edilen veriler Şekil 6.7 ve Şekil 6.8'de verilmiştir. PEG miktarı ve PEG'in molekül ağırlığı arttıkça yüzey pürüzlülüğü artma eğilimindedir. Şekil 6.7 ve Şekil 6.8'deki PU-3000-60_p kodu, fibrinojen adsorplanmış PU filmi tanımlamaktadır. Fibrinojen adsorplanmamış PU-3000-60 filmin pürüzlülük miktarı ile adsorpsiyonun gerçekleştiği aynı film yüzeyinin pürüzlülük değerleri arasında ciddi bir farklılık gözlenmektedir. Bu farkın sebebinin de, yüzeyde bulunan pürüzlerin vadi girişlerinin fibrinojen molekülleri tarafından doldurularak adsorpsiyonun gerçekleştiği yüzeyde daha düz bir zemin oluşturması olarak açıklanabilmektedir.

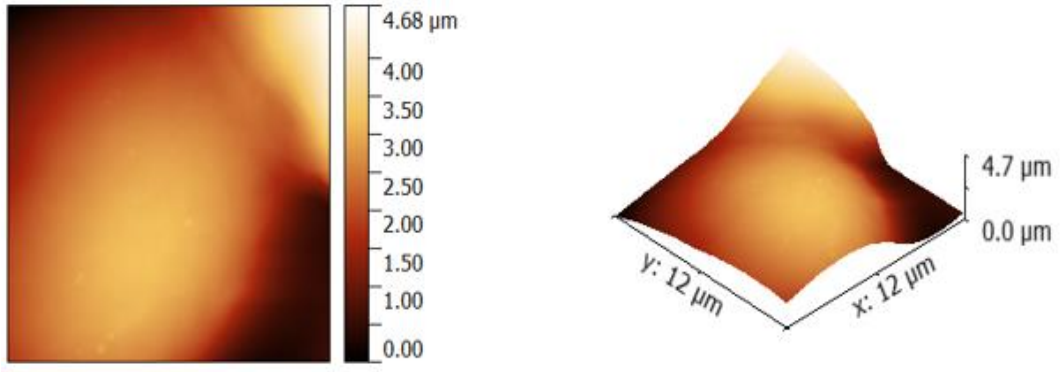


PU-100

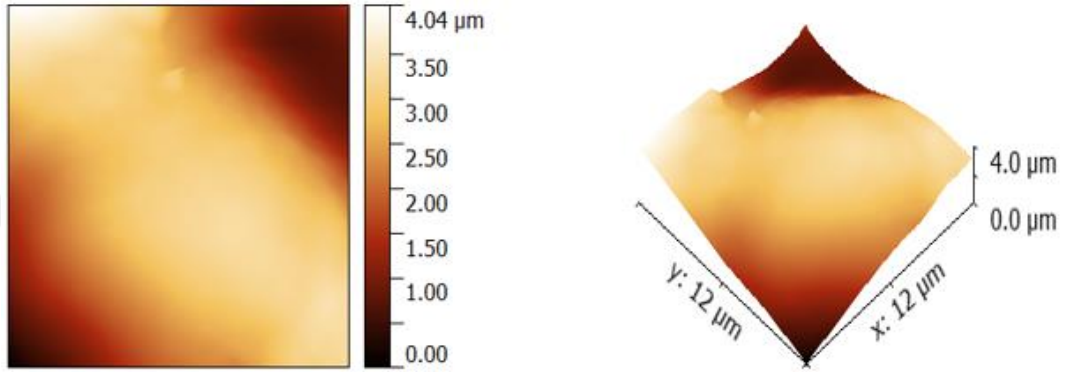


PU-400-70

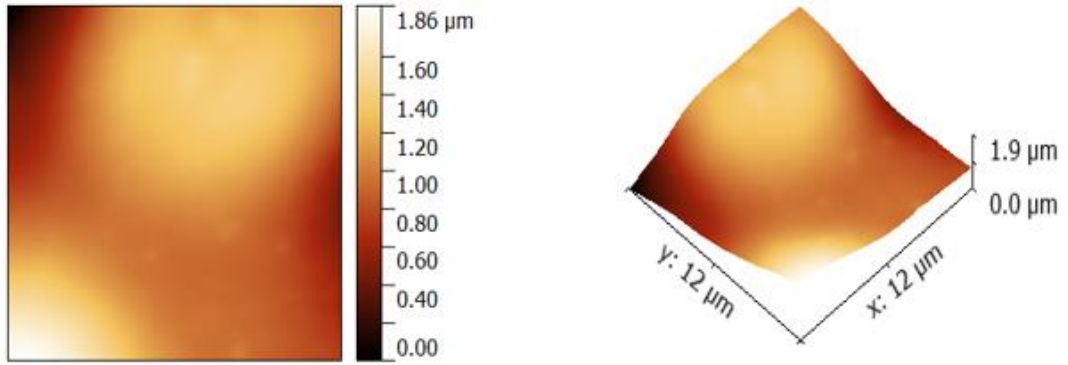
Şekil 6.6 : PU filmlerin topografya görüntüleri.



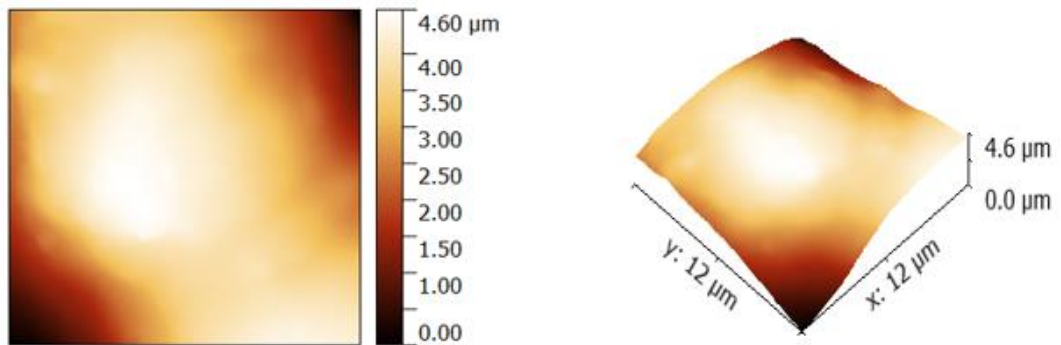
PU-400-50



PU-1500-70

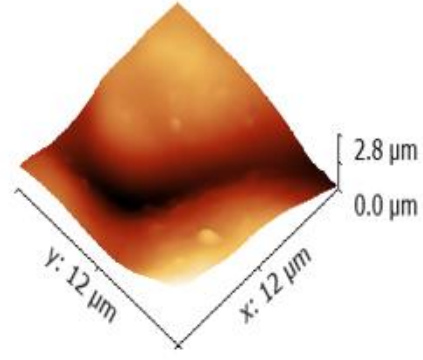
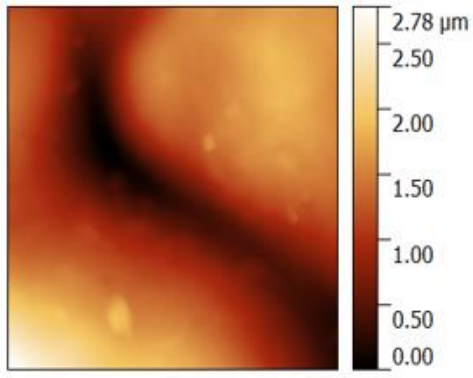


PU-1500-50

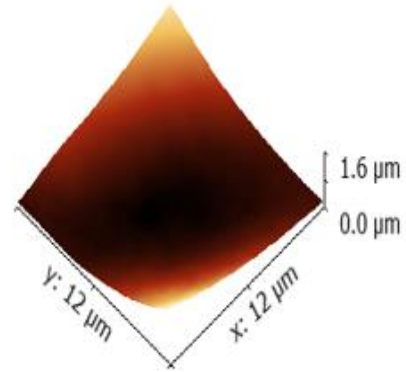
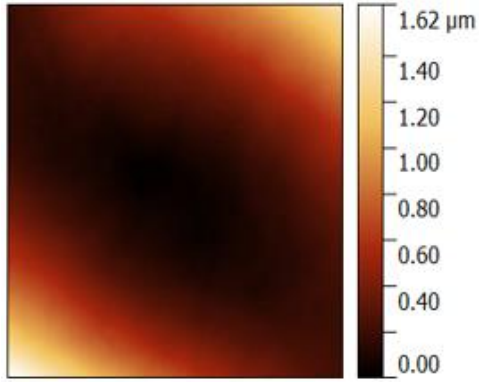


PU-3000-70

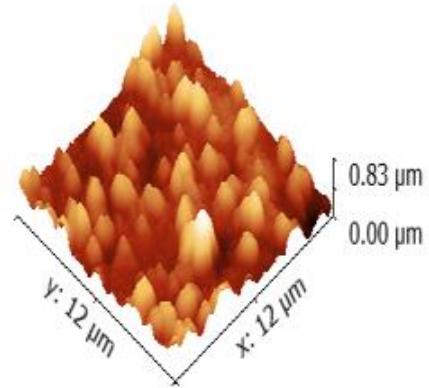
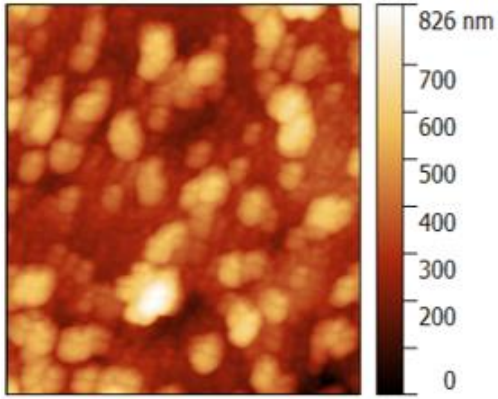
Şekil 6.6 (Devam): PU filmlerin topografya görüntüleri.



PU-3000-60

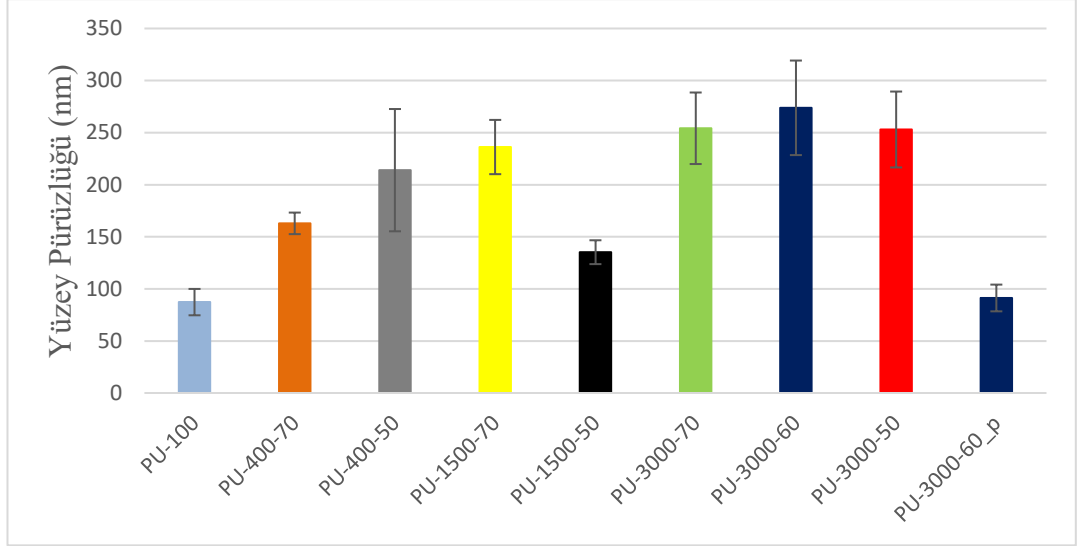


PU-3000-50



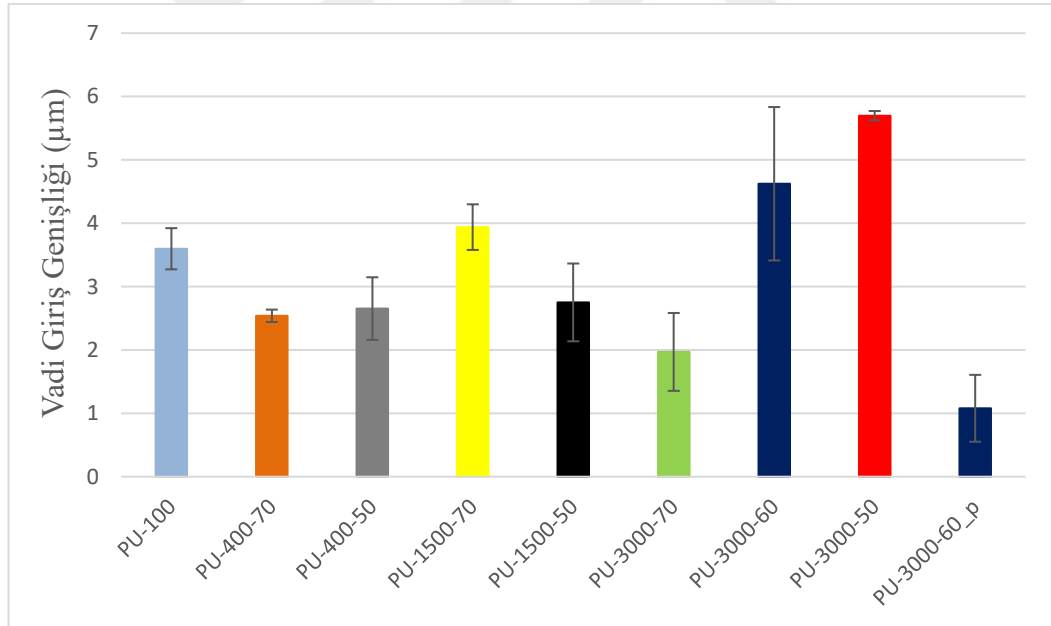
PU-3000-60_p

Şekil 6.6 (Devam): PU filmlerin topografya görüntüleri.



Şekil 6.7 : PU filmlerin AFM’den elde edilen yüzey pürüzlüğü grafiği.

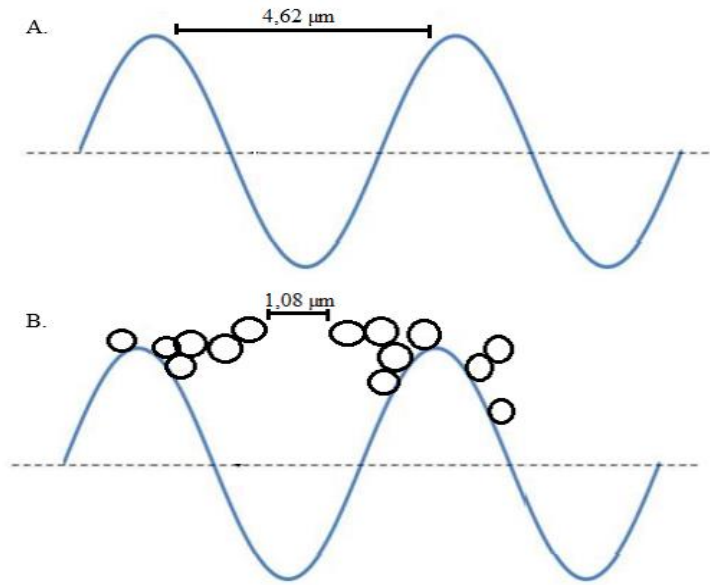
Şekil 6.8’de film yüzeyindeki pürüzlerin vadi giriş genişlikleri gösterilmektedir. Fibrinojen proteinleri, yüzeyde bulunan pürüzlerin tepe bölgelerine ve pürüzlerin içlerine doğru ilerleyerek bağlanabileceği aktif bölgelere adsorplanmaktadır.



Şekil 6.8 : PU filmlerin AFM’den elde edilen pürüzlerin vadi giriş genişliği grafiği.

PU filmlere protein adsorpsiyonu olduktan sonra pürüzlerin vadi giriş genişliklerinin nasıl değiştiğini anlamak için AFM’den elde edilen PU-3000-60 kodlu filmin vadi giriş genişliği ile aynı filme protein adsorplandıktan sonraki filmin (PU-3000-60_p) vadi giriş genişliği verileri karşılaştırılmıştır (Şekil 6.8 ve Çizelge 6.2). PU-3000-60 filmin vadi giriş genişliği 4,62 µm iken, fibrinojen adsorpsiyonu tamamlandıktan sonra 1,08 µm’ye düştüğü görülmüştür. Fibrinojenin toplam uzunluğu 45 nm’dir ve ortadaki

nodülünün çapı 5 nm iken, iki uçtaki nodülün çapları 6 nm'dir [96]. Fibrinojen molekülü, PU filmlerin vadi giriş genişliklerinden oldukça küçük olduğundan, fibrinojenin sterik engelinin etkisi olmadan kolayca pürüzlerin içlerine doğru ilerleyebilir. Şekil 6.9 B'de şematik olarak gösterildiği şekilde, fibrinojen, film yüzeyine doğru difüzlenirken yüzeye ilk temas ettiği bölgeler, yüzeydeki pürüzlerin tepe noktalarıdır. Bu nedenle, pürüz tepelerindeki adsorpsiyon olayı, pürüzlerin iç kısımlarına oranla daha erken başlar. Fibrinojen molekülleri, pürüzlerin giriş kısımlarına adsorplanarak pürüz girişlerinin daralmasına neden olur ve bu nedenle protein adsorplanmış filmin vadi giriş genişliği AFM'de azalmış olarak gözlenir. Çünkü, AFM ile yüzey taraması yapılırken, pürüz girişlerine adsorplanan fibrinojen molekülleri yüzeyin bir parçası gibi algılanarak vadi giriş genişliğinin daha dar çıkmasına neden olmaktadır. Şekil 6.9'daki siyah küreler fibrinojen proteinini temsil ederken, mavi rekte çizilen yüzey PU film yüzeyini temsil etmektedir.

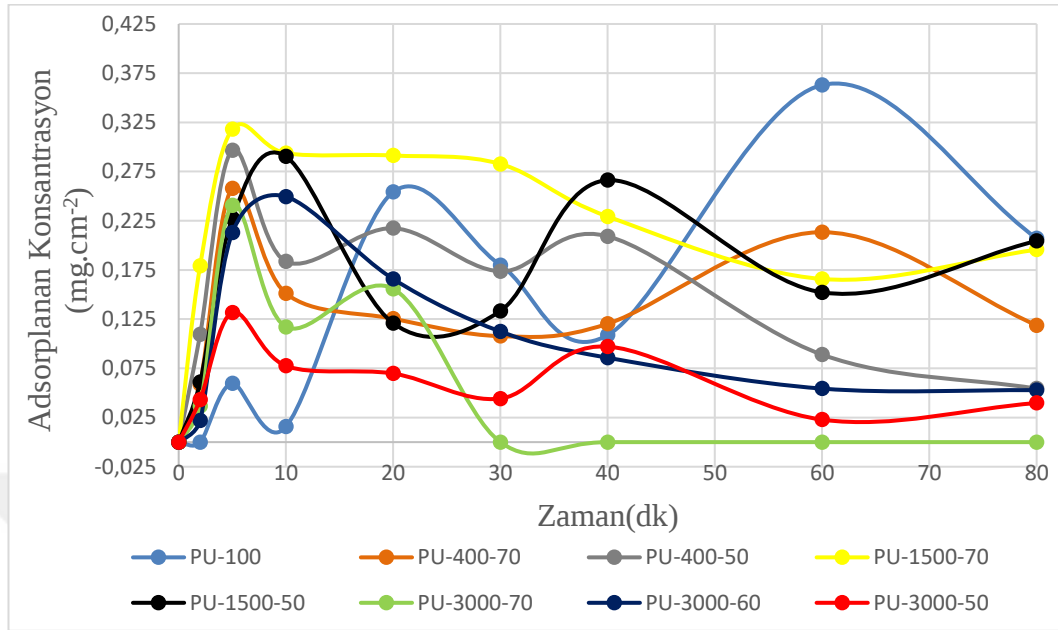


Şekil 6.9 : Pürüzlü yüzeylere fibrinojen adsorpsiyonunun şematik gösterimi. (A) PU-3000-60 kodlu filmin vadi giriş genişliği, (B) PU-3000-60_p kodlu filmin vadi giriş genişliği.

6.1.3 Protein adsorpsiyon sonuçları

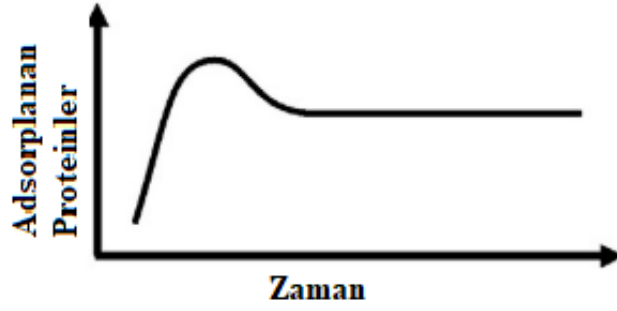
Farklı yüzey özelliklerine sahip PU filmlere adsorplanan fibrinojen miktarları Şekil 6.10'da verilmektedir. Adsorpsiyon 0-130 dakika aralığında kinetik açıdan incelenmiştir ve ilk 80 dakikalık incelemenin fibrinojenin PU yüzeye adsorpsiyonunu açıkladığı anlaşılmıştır. Grafiğin karışmasını engellemek için Şekil 6.10'daki verilere

ait standart sapmalar, Şekil 6.13, Şekil 6.14 ve Şekil 6.15'teki grafiklerde gösterilmiştir.

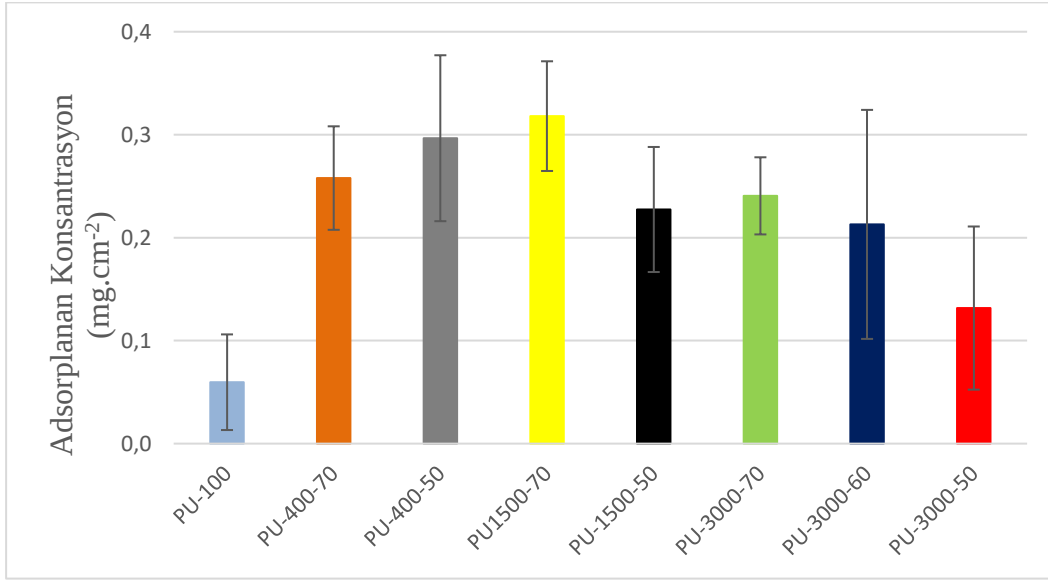


Şekil 6.10 : PU yüzeye 80 dk'lık süreçte adsorplanan fibrinojen miktarları.

Şekil 6.10'dan görüldüğü üzere, adsorpsiyonun yaklaşık 5. dakikasında, fibrinojen moleküllerinin adsorpsiyon hızı yüksektir. Maksimum adsorpsiyondan sonra desorpsiyon olayı gerçekleşerek adsorplanan fazla fibrinojen molekülleri yüzeyden uzaklaşır. Bu davranış literatürde çeşitli şekillerde açıklanmaktadır. Şekil 6.11'de şematik olarak gösterilen zamana bağlı protein adsorpsiyonu/desorpsiyonu davranışında meydana gelen bu olayın, Vroman etkisinden veya protein adsorpsiyonu sonrasında proteinlerin konformasyonlarındaki değişimden kaynaklandığı belirtilmiştir. Ortamda birden fazla protein çeşidi bulunduğu yarışmalı protein adsorpsiyonu olacağından, difüzyonu hızlı gerçekleşen fakat yüzeye ilgisi az olan protein, yüzeye daha hızlı ulaşarak adsorplanır. Difüzyon hızı az fakat yüzeye ilgisi fazla olan protein ise, yüzeye ulaştığında adsorplanarak aşırı adsorpsiyon kinetiğine neden olur. Bu olay da literatürde Vroman etkisi olarak adlandırılmaktadır [40]. Bu çalışmada, fibrinojen proteininin tek başına adsorpsiyonu araştırıldığından, meydana gelen aşırı adsorpsiyon kinetiğinin Vroman etkisinden kaynaklandığı söylenemez. Bu nedenle, Şekil 6.10'da 5. dakikada görülen aşırı adsorpsiyon kinetiğinin fibrinojen proteininin adsorplandıktan sonra konformasyon değişikliğine uğramasının sonucunda olduğu söylenebilir. Filmlerin 5 dakika sonunda adsorpladığı fibrinojen miktarları, Şekil 6.12'deki grafikte verilmiştir.



Şekil 6.11 : Aşma (overshooting) adsorpsiyon kinetiği [40].



Şekil 6.12 : PU yüzeylere 5 dakikada adsorplanan fibrinojen miktarları.

PU filmlerin kristalinite, temas açısı, şişme miktarı, yüzey pürüzlülüğü ve pürüzler arasındaki uzaklıklarına ait bilgiler Çizelge 6.2’de toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 6.2 : Sentezlenen PU filmler için kristalinite, temas açısı, şişme miktarı, yüzey pürüzlülüğü, pürüzlülükler arasındaki uzaklık ve protein adsorpsiyon hızı.

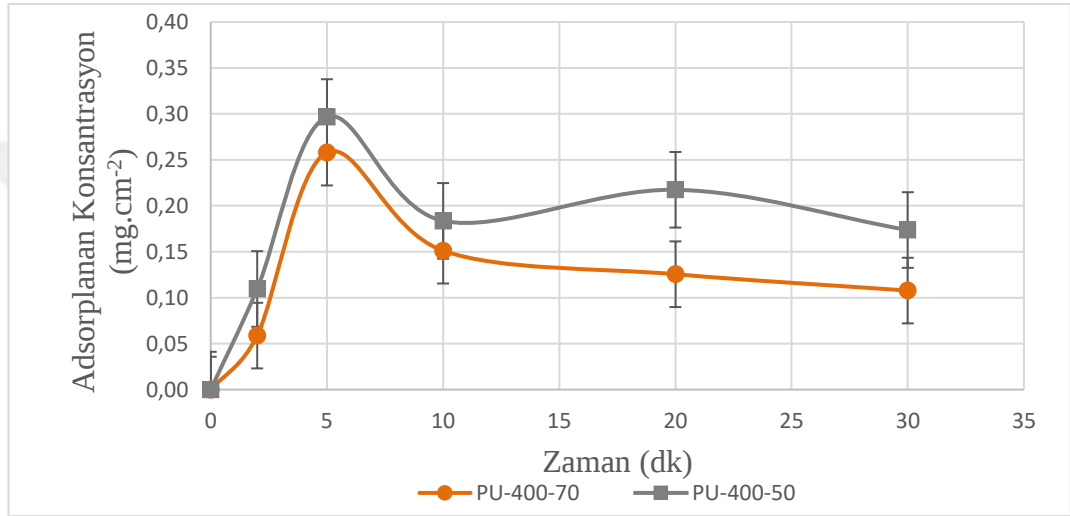
Kod	Kristalinite (%)	Temas Açısı Θ (°)	Şişme Miktarı ¹ (%)	Yüzey Pürüzlülüğü (nm)	Vadi Giriş Genişliği (μm)	Adsorplanan Protein Miktarı ² (mg.cm^{-2})	Protein Adsorpsiyon Hızı ³ ($\text{mg.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$)
PU-100	-	102,9	1	87,3	3,6	$0,06 \pm 0,05$	0,012
PU-400-70	-	101	5,2	162,9	2,5	$0,26 \pm 0,05$	0,052
PU-400-50	-	95,1	11,3	214,0	2,7	$0,3 \pm 0,08$	0,059
PU-1500-70	1,4	93,8	19,4	236,2	3,9	$0,32 \pm 0,05$	0,064
PU-1500-50	3,9	75,2	36,2	135,2	2,8	$0,23 \pm 0,06$	0,045
PU-3000-70	6,3	65,6	24,4	254,2	2,0	$0,24 \pm 0,04$	0,048
PU-3000-60	10,6	25,3	38,3	273,8	4,6	$0,21 \pm 0,11$	0,043
PU-3000-50	12,9	27,1	51,3	253	5,7	$0,13 \pm 0,08$	0,026

¹ 24 saat sonunda, ² 5. dakikadaki adsorpsiyon değerleri, ³ 0-5 dakika arasındaki verilerle elde edildi.

İlk olarak, PU-100 kodlu filme fibrinojen adsorpsiyonu analizi değerlendirilmiştir. PU-100 kodlu filmin yapısında PEG yoktur ve PU sentez reaksiyonu HY ile HDI kullanılarak gerçekleştirilir. PEG hidrofilik karaktere sahipken, HY hidrofobik karakterlidir. PU-100 kodlu film PEG içermediği, yüksek miktarda HY içerdiğinden film oldukça hidrofobiktir. Fibrinojenin hidrofobik yüzeylere adsorplanmayı tercih ettiği literatürden bilinmektedir [97]. Bu nedenle, PU-100 kodlu filme fibrinojen adsorpsiyonunun diğer filmlere oranla daha fazla olması beklenmiştir. Fakat, deneysel çalışmanın sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde, en az adsorpsiyonun bu filmde olması başka bir faktörün baskın olduğu düşüncesine neden olmuştur. Şekil 6.12 ve Çizelge 6.2'deki veriler karşılaştırıldığında, PU-100 kodlu filme fibrinojen adsorpsiyonu olayında, film hidrofilitesinin değil yüzey pürüzlülüğünün baskın faktör olduğu anlaşılmıştır. Çünkü, en düşük yüzey pürüzlülüğüne sahip film PU-100 kodlu filmidir ve fibrinojen adsorpsiyonu da en düşük olan film bu filmidir. Yüzey pürüzlülüğü, fibrinojenin adsorplanabileceği bölgelerin sayısı ile doğrudan ilişkilidir. Yüzey pürüzlülüğü azaldıkça, film boyutu ($1 \times 1 \text{ cm}^2$) aynı kalsa dahi filmin etkin yüzey alanı küçüleceğinden fibrinojenin adsorplanabileceği bölgelerin sayısı azalır ve adsorpsiyon da buna bağlı olarak azalma gösterir.

PU-400, PU-1500 ve PU-3000 kodlu filmlerde daha detaylı değerlendirme yapabilmek için sentezde kullanılan PEG'in molekül ağırlığı esas alınarak filmlerin protein adsorpsiyon davranışları standart sapma verileriyle birlikte Şekil 6.13 – 6.15'te tekrar verilmiştir. PEG400 kullanılarak sentezlenen filmlerin fibrinojen adsorpsiyonu Şekil 6.13'te görülmektedir. PEG miktarı fazla olan PU-400-50 kodlu film, PU-400-70 kodlu filme kıyasla daha hidrofiliktir. Fibrinojen proteininin, hidrofobik yüzeylere ilgisinin hidrofilik yüzeylerden daha fazla olduğu literatürden bilinmektedir [97]. Bu nedenle, PU-400-50 kodlu filme daha az fibrinojen adsorplanması beklenir. Beklenenin aksine, PU-400-50 kodlu filme daha fazla protein adsorplandığı görülmüştür. Bu nedenle, PU-400 kodlu filmlere fibrinojen adsorpsiyonunu kontrol eden faktörün film hidrofilitesi değil başka bir faktör olduğu sonucuna varılmıştır ve diğer bir faktör olan yüzey pürüzlülüğü ile adsorpsiyon arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. PU-400-50 kodlu filmin yüzey pürüzlülüğü, PU-400-70 kodlu filminden daha yüksektir (Çizelge 6.2). Şekil 6.13 ile Çizelge 6.2 birlikte değerlendirildiğinde, yüzey pürüzlülüğünün PU-400 kodlu filmlerdeki adsorpsiyonu kontrol ettiği anlaşılmıştır. Çünkü, yüzey pürüzlülüğü arttıkça, adsorplanan fibrinojen

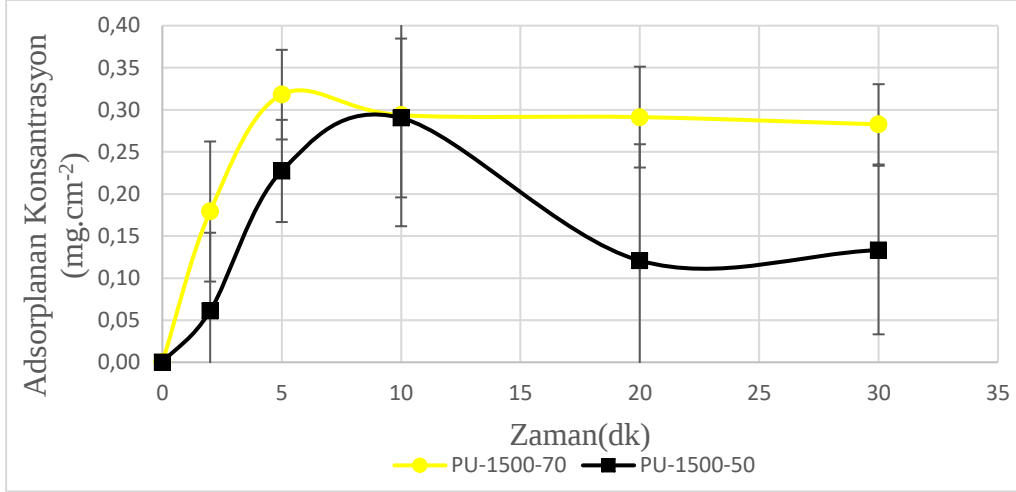
sayısında artış olmuştur. Bir diğer faktör ise pürüzler arasındaki genişliktir. Çizelge 6.2’de verilen pürüzlerin vadi girişlerinin genişlik değerleri, her bir film için de yaklaşık aynıdır. Bu uzaklığın, fibrinojenin uzunluğundan (45nm) kat ve kat büyük olması nedeniyle, fibrinojenin sterik engelinin adsorpsiyon olayını etkilemediği sonucuna varılmıştır. Polimer hidrofilikliği, kristalinite ve pürüzlerin vadi giriş genişlikleri gibi parametrelerin, PU-400 kodlu filmlerdeki adsorpsiyona etkisinin yüzey pürüzlülüğü kadar etkili olmadığı Şekil 6.13 ile Çizelge 6.2’deki sonuçlar karşılaştırıldığında anlaşılmıştır.



Şekil 6.13 : PEG400 kullanılarak sentezlenen filmlere fibrinojen adsorpsiyonu.

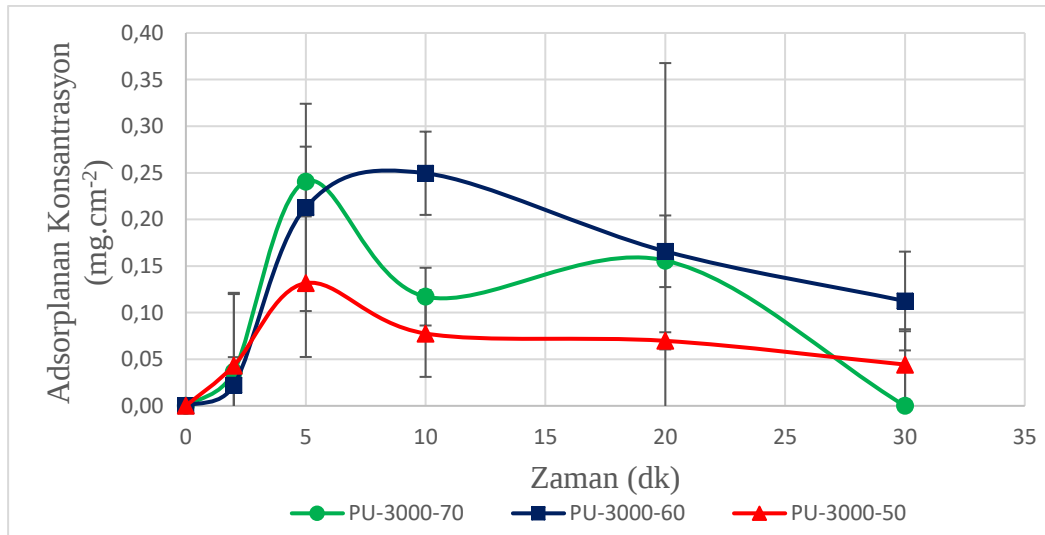
PEG1500 kullanılarak sentezlenen filmlere fibrinojen adsorpsiyonu Şekil 6.14’te verilmiştir. Çizelge 6.2’de verilen şişme analizi sonuçlarına bakıldığında, PU-1500-50 kodlu filmin PU-1500-70 kodlu filminden daha fazla şiştiği görülmüştür. PU-1500-50 kodlu filmin formülasyonundaki PEG miktarının fazla olması, filmin hidrofilikliğini artırdığından şişmenin de fazla olduğu karakterizasyon çalışmalarında detaylı bir şekilde açıklanmıştır. Filmlere adsorplanan fibrinojen miktarları ile hidrofilite verileri karşılaştırıldığında (Çizelge 6.2), hidrofobik olan filme (PU-1500-70) daha fazla protein adsorplandığı görülmüştür. Çünkü, hidrofilikliğin çok yüksek olduğu yüzeylere su moleküllerinin ilgisinin fibrinojenden daha fazla olmasının verdiği etkiyle, su molekülleri hidrofilik yüzeylere daha çabuk adsorplanarak fibrinojen adsorpsiyonunu azaltmıştır ve literatürle paralel bir sonuç elde edilmiştir. Ayrıca, Çizelge 6.2’den çıkarılacak bir diğer önemli bilgi ise, PU-1500 kodlu filmlerin yüzey pürüzlülüğü ile adsorpsiyon arasındaki ilişkidir. PU-1500-50 kodlu filmin yüzey pürüzlülüğü, PU-1500-70 kodlu filme oranla daha düşük olduğundan fibrinojenin

bağlanabileceği yerlerin miktarı da düşüktür. Bu nedenle, PU-1500-50 kodlu filme adsorplanan fibrinojen miktarı, PU-1500-70 kodlu filminden daha düşüktür. Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde, hidrofilite ve yüzey pürüzlüğünün PU-1500 kodlu filmlere fibrinojen adsorpsiyonunu kontrol eden ana faktörler olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 6.14 : PEG1500 kullanılarak sentezlenen filmlere fibrinojen adsorpsiyonu.

PEG3000 kullanılarak sentezlenen filmlerin fibrinojen adsorpsiyonu Şekil 6.15'teki gibi kendi içlerinde değerlendirilmek üzere çizdirilmiştir. Çizelge 6.2 incelendiğinde, PU-3000 kodlu filmlerde adsorpsiyonu film hidrofilitesinin kontrol ettiği, yüzey pürüzlüğünün etkisinin az olduğu düşünülmüştür.



Şekil 6.15 : PEG3000 kullanılarak sentezlenen filmlere fibrinojen adsorpsiyonu.

Yapılan karakterizasyon analizlerinden anlaşıldığı üzere, PU filmlerdeki PEG miktarı ve molekül ağırlığı arttıkça filmlerin hidrofilitesi de artmaktadır.

Hidrofilite;

PU-100 < PU-400 < PU-1500 < PU-3000

Protein adsorpsiyonu ile polimerin yüzey özellikleri birlikte değerlendirildiğinde, PU-100 ve PU-400 kodlu filmlerdeki fibrinojen adsorpsiyonunu yüzey pürüzlülüğü kontrol ederken, PU-1500 kodlu filmlerde yüzey pürüzlülüğünün ve film hidrofilitesinin birlikte kontrol ettiği anlaşılmıştır. PU-3000 kodlu filmlerde ise, adsorpsiyonu kontrol eden parametrenin film hidrofilitesi olduğu düşünülmektedir. PEG'in molekül ağırlığı arttıkça yüzey pürüzlülüğünün adsorpsiyona etkisi azalmış ve hidrofilitenin etkisi baskın hale gelmiştir. Deneysel çalışmaların sonucunda, PEG'in molekül ağırlığının artmasıyla fibrinojen adsorpsiyonunu kontrol eden faktörün yüzey pürüzlülüğünden, hidrofiliteye geçtiği anlaşılmıştır.

Çizelge 6.2'den de görülebileceği gibi, PU filmlere adsorplanan fibrinojen miktarları $0,06 \text{ mg.cm}^{-2}$ ile $0,32 \text{ mg.cm}^{-2}$ değerleri arasında değişmektedir. Biyomedikal alandaki PU malzemeler (yapay kalp kapakçığı vb.) vücut içinde kullanıldığından adsorpsiyon çalışması vücut sıcaklığı olan 36°C 'de yapılmıştır. DSC analizinden elde edilen verilere göre (Çizelge 6.1), PU-100 film PEG içermediğinden PEG'in kristalin yapısından kaynaklanan erime piki (T_m) gözlenmemiştir. PU-400 kodlu filmlerin içerdiği PEG'in molekül ağırlığı düşük olduğundan, filmler erime pikinin gözlenebileceği kadar kristalin yapıya sahip değildir. Bu nedenle, erime piki gözlenmemiştir. PU-1500 ve PU-3000 kodlu filmlerin erime pikleri 36°C 'nin altındadır (Çizelge 6.1). Adsorpsiyon çalışmasının yapıldığı sıcaklık olan 36°C 'de PU filmlerdeki PEG'in yapısından kaynaklanan kristalin bölgeler erimeye başlamıştır. Çünkü, kristalin bölgelerin erime sıcaklığı olan T_m değeri, PU-1500 ve PU-3000 kodlu filmler için 36°C 'nin altında gözlenmiştir. Proteinlerin, PU'nun yapısında bulunan kristalin bölgelere adsorplandığı literatürden bilinmektedir [75,98]. PU filmlerdeki kristalin bölgelerin olmaması ve erimiş durumda bulunması, fibrinojen adsorpsiyonunun düşük miktarlarda gerçekleşmesini sağlamaktadır. Kristalin bölgelerin erimeye başlaması, PU'nun bozunduğu anlamına gelmemektedir. Çünkü, literatürde PU malzemelerin bozunma sıcaklıklarının 100°C 'nin üzerinde olduğu belirtilmektedir [99]. PU malzemeler uzun ömürlü olduklarından, kardiyovasküler uygulamalarda, yapay kalp kapakçığı olarak kullanılmaktadır [100]. Kardiyovasküler uygulamalarda kullanılacak PU biyomalzemeler için adsorplanan fibrinojen

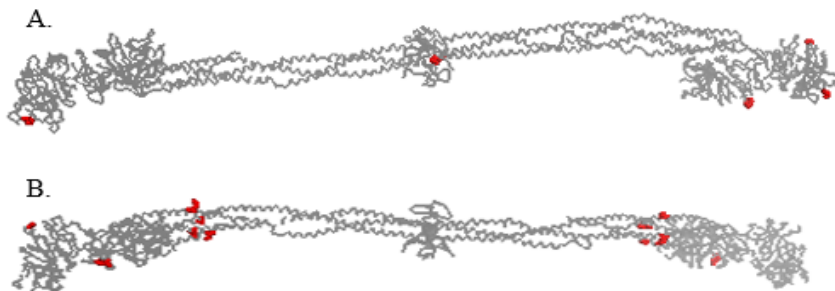
miktarının düşük olması avantajlıdır. Çünkü, biyomalzemenin üzerinde adsorplanan fibrinojen trombinle katalizlenerek fibrine dönüşür ve malzeme yüzeyinde pıhtılaşmaya, malzemenin kalınlığının artmasına ve işlevini yitirmesine dahi neden olabilir. Bu durum da istenmediğinden, kardiyovasküler uygulamalarda kullanılacak PU malzemelere fibrinojen adsorpsiyonu tercih edilmeyen bir durumdur. Bu çalışmada da kardiyovasküler uygulamalarda kullanılmak üzere PU sentezi düşünüldüğünden fibrinojen adsorpsiyonun az olması avantajlı bir durumdur. Aynı adsorpsiyon koşullarında, literatürdeki farklı bir PU filme adsorplanan fibrinojen miktarı $1.67 \cdot 10^{-5} \text{ mg.cm}^{-2}$ dir [101].

PU filmlerin kristalinitesi, hidrofilikliği, yüzey pürüzlülüğü ve pürüzlerin vadi giriş genişlikleri gibi polimer malzemenin özellikleri, adsorpsiyon üzerinde etkilidir. Fakat, her bir parametrenin adsorpsiyon olayına etkilerinin farklı baskınlıkta oldukları unutulmamalıdır. Örneğin, PU yüzeye fibrinojen proteininin adsorpsiyon olayında, yüzey pürüzlülüğü ve hidrofilite baskın parametrelerdir. Her bir parametre adsorpsiyona tek tek etki etmediğinden ve sinerjik etkilerinin olmasından dolayı, PU yüzeye fibrinojenin adsorpsiyonuyla ilgili daha doğru sonuçlar, bütün parametreler birlikte değerlendirildiğinde bulunmuştur.

6.2 Modelleme ve Simülasyon Sonuçları

6.2.1 Fibrinojenin menteşe hareketleri

Fibrinojen proteininin esnek bölgeleri ve yaptığı menteşe hareketleri HingeProt internet sunucusu kullanılarak incelenmiştir. Fibrinojenin esnek rezidüleri (bölgeleri) menteşe hareketlerinin meydana geldiği yerlere denk gelmektedir ve bu bölgeler Şekil 6.16 (A) ve Şekil 6.16 (B)'de görülmektedir. Şekil 6.16'da fibrinojen proteininin kendisi gri renkte gösterilirken, esnek kısımlar kırmızı renkte gösterilmektedir.

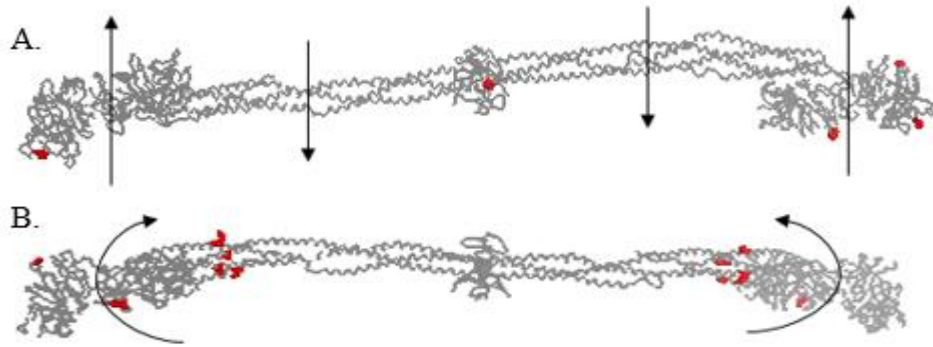


Şekil 6.16 : Fibrinojenin esnek bölgeleri. (A) En yavaş ANM mod 1, (B) En yavaş ANM mod 2.

Çizelge 6.3 : Fibrinojenin esnek bölgelerinin yapıdaki bulunduğu yerler.

Mod	Esnek Bölgeler (Zincir)	Menteşe Rezidüleri
1	K	76-77
1	L	19-20
1	L	21-22
1	I	11-16
1	K	63-78

HingeProt sunucusundan elde edilen bir diğer bilgi ise, fibrinojenin yapmış olduğu hareketlerdir. Bu hareketler, Şekil 6.17’de görülen bükülme ve burkulma hareketleridir. Fibrinojenin yapısında bulunan esnek kısımlar, yapının ortasında ve iki ucunda yer aldığından PU yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu simülasyon çalışmalarında fibrinojen molekülü Şekil 6.18’deki gibi yaylar ile bağlı 3 nodül olarak modellenmiştir.



Şekil 6.17 : Fibrinojenin menteşe hareketleri. (A) Bükülme hareketi yaptığı mod 1, (B) Burkulma hareketi yaptığı mod 2.



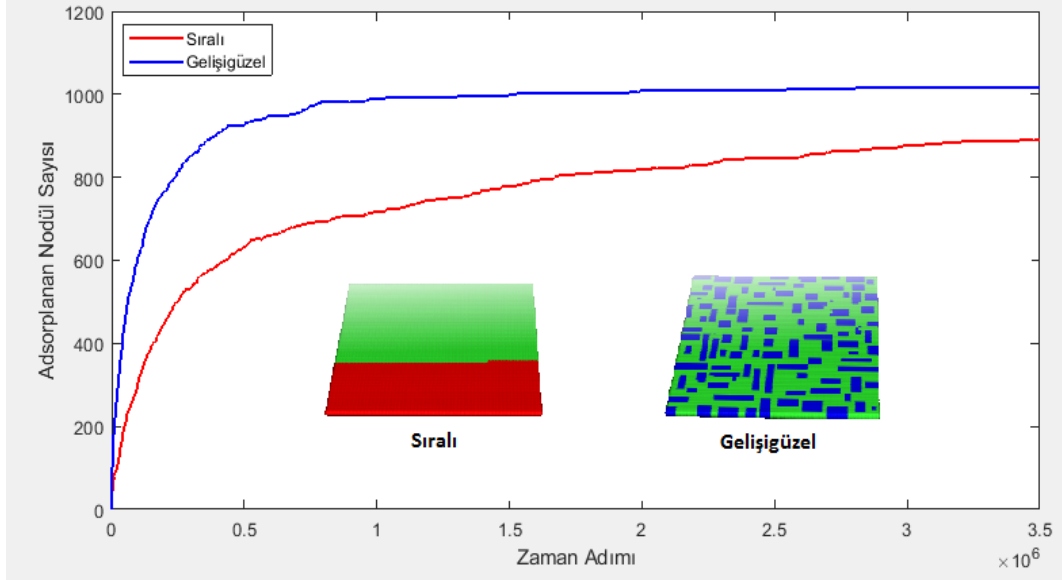
Şekil 6.18 : Fibrinojen proteininin modellenmiş görüntüsü.

6.2.2 Fibrinojen adsorpsiyon simülasyonu

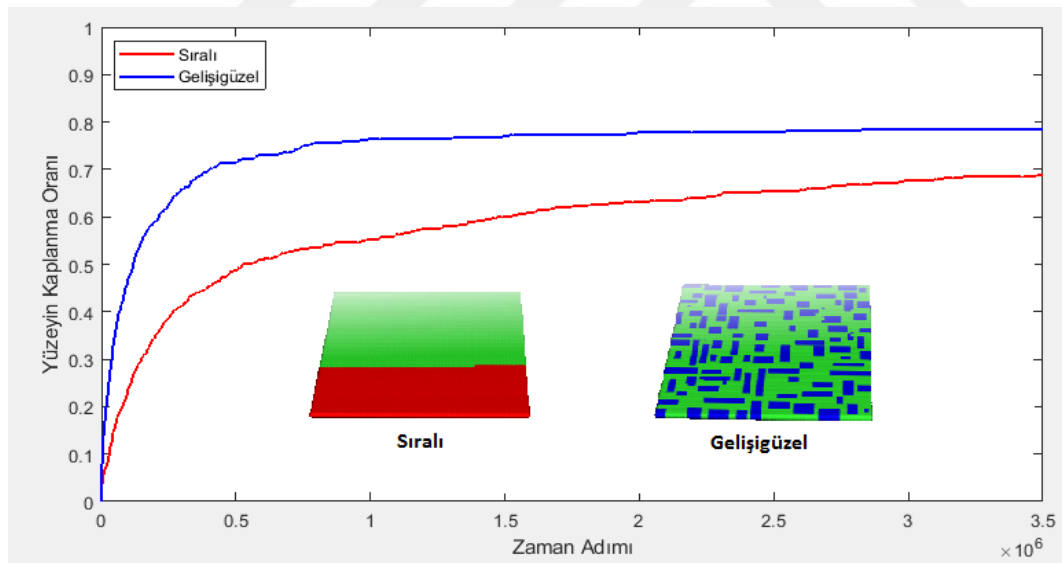
6.2.2.1 Düz poliüretan yüzeylere fibrinojen adsorpsiyonu

Mikrofaz ayrımının (yumuşak/sert bölge) fibrinojen adsorpsiyonu üzerindeki etkisini araştırmak için mikrofaz ayrımlarının sıralı ve gelişigüzel dağıldığı düz yüzeylerde incelemeler yapılmıştır. Düz yüzeylerde fibrinojenin adsorplanabileceği 1296 tane

mikrofaz ayrımı bulunmaktadır ve düz yüzeylerle yapılan simülasyon çalışmaları sonucunda MATLAB yardımıyla Şekil 6.19 ve Şekil 6.20'deki grafikler elde edilmiştir.



Şekil 6.19 : Düz poliüretan yüzeylerde mikrofaz ayrımının adsorplanan fibrinojen sayısına etkisi.



Şekil 6.20 : Düz poliüretan yüzeylerde mikrofaz ayrımının yüzey kaplanma oranına etkisi.

Şekil 6.20'de gösterilen yüzeyin kaplanma oranı eğrileri, MATLAB kullanılarak çizdirilmiştir. Yüzeye adsorplanan fibrinojen nodüllerinin sayısı, adsorpsiyon bölgelerinin toplam sayısına bölünerek yüzeyin kaplanma oranına geçiş yapılmıştır.

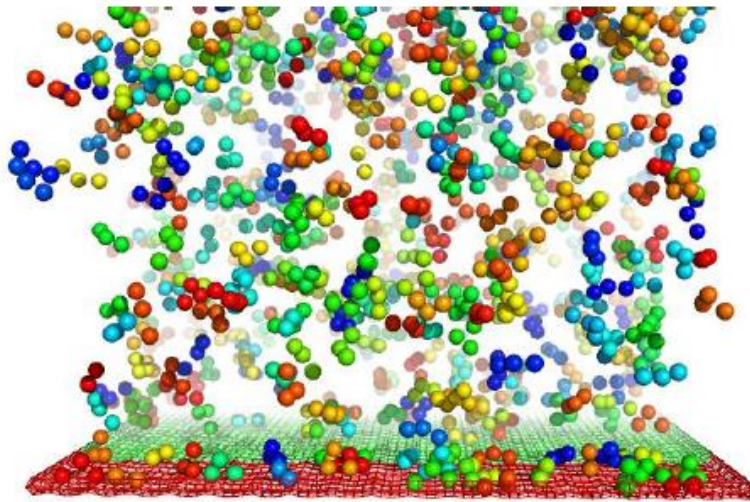
Mikrofaz ayrımının (sert/yumuşak bölge) sıralı olduğu düz yüzeylere fibrinojen proteininin daha az adsorplandığı Şekil 6.19'daki eğrilerden anlaşılmıştır. Düz

poliüretan yüzeyler için çizdirilen zamanla yüzeyin kaplanması grafiğine (Şekil 6.20) bakıldığında, sıralı düz yüzeyde yüzeyin %68'i fibrinojen tarafından kaplanırken, gelişigüzel mikrofaz ayrımının bulunduğu düz yüzeyde yüzeyin %78'ine adsorpsiyonun gerçekleştiği görülmektedir.

Çizelge 6.4 : Düz yüzeylerdeki mikrofaz ayrımının yüzey kaplanmasına etkisi.

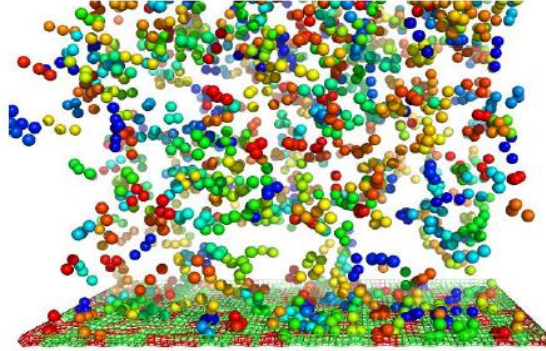
Mikrofaz Ayrımı	Yüzeyin Kaplanması (%) ($3,5 \cdot 10^6$ Adım)
Sıralı	68
Gelişigüzel	78

Şekil 6.19 ve Şekil 6.20'deki eğriler değerlendirildiğinde, fibrinojen moleküllerinin birbirlerine sterik engel uyguladıkları sonucuna varılmıştır. Fibrinojen, Şekil 6.18'deki gibi 3 nodüllü bir yapıya sahip olmasından dolayı esnektir ve kapladığı hacim fazladır. Bu nedenle, mikrofaz ayrımının sıralı olduğu düz yüzeye adsorpsiyon başladıktan sonra fibrinojen molekülleri birbirlerini Şekil 6.21'deki gibi sterik olarak engelleyerek moleküllerin yüzeye yaklaşmasına engel olmuşlar ve adsorplanan protein miktarında azalma gözlenmiştir. Gelişigüzel dağıtılan mikrofaz ayrımının bulunduğu düz yüzeye bakıldığında ise, adsorpsiyonun gerçekleşebileceği bölgeler birbirlerine çok yakın olmadığından sterik engelin etkisi daha az görülmüştür ve fibrinojen adsorpsiyonunda artış meydana gelmiştir.



Şekil 6.21 : Mikrofaz ayrımının sıralı olduğu düz yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu.

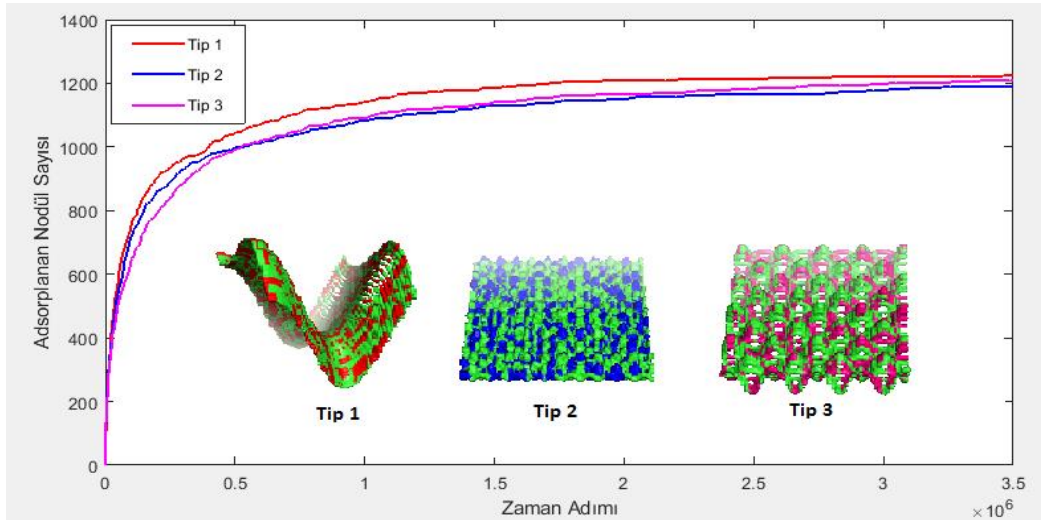
Şekil 6.21 ve Şekil 6.22'deki küçük küreler fibrinojen moleküllerini temsil etmekte ve her bir molekül farklı renkle gösterilmektedir. Yüzeyde görülen kırmızı renkli kısımlar ise mikrofaz ayrımının olduğu bağlanma bölgelerini belirtmektedir.



Şekil 6.22 : Mikrofaz ayrımının gelişigüzel olduğu düz yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu.

6.2.2.2 Pürüzlü poliüretan yüzeylere fibrinojen adsorpsiyonu

Pürüzlü yüzeylerde, fibrinojenin adsorplanabileceği 1560 tane bölge vardır; bu bölgeler yüzeye gelişigüzel olacak şekilde ayrı ayrı modellenenerek (Tip 1, Tip 2, Tip 3) yüzey pürüzlülüğünün adsorpsiyon üzerine etkisi incelenmiştir. Pürüzlü yüzeylerle yapılan simülasyon çalışmaları sonucunda MATLAB yardımıyla Şekil 6.23 ve Şekil 6.27'deki grafikler elde edilmiştir.

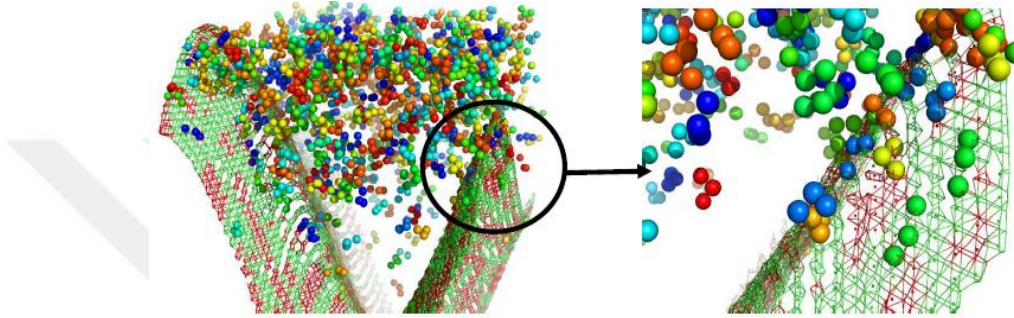


Şekil 6.23 : Pürüzlü poliüretan yüzeylerde mikrofaz ayrımının adsorplanan fibrinojen sayısına etkisi.

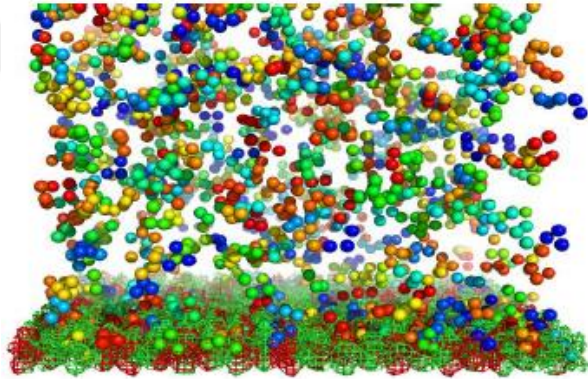
Şekil 6.23'teki eğriler incelendiğinde, pürüzlü yüzeylere adsorplanan fibrinojen miktarının şu şekilde sıralanabileceği görülür.

Tip 1 > Tip 3 > Tip 2

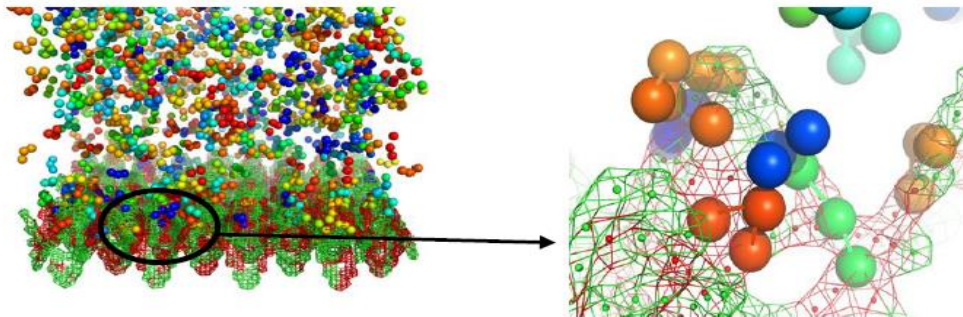
Şekil 5.11 ve Şekil 6.24'ten de görülebileceği gibi Tip 1 yüzey en fazla pürüzlülüğe sahip olan yüzeydir ve yüzeyde bulunan girintilerin genişliği diğer iki yüzey (Tip 2 ve Tip 3) çeşidine oranla daha geniş olmasının sonucunda fibrinojen moleküllerinin birbirlerine yapacağı sterik engelin etkisi (Şekil 6.24) daha azdır. Bu nedenle, Tip 1'deki fibrinojen adsorpsiyonu en fazla olandır. Girinti genişliğinin en az olduğu Tip 2 yüzey çeşidinde ise, Şekil 6.25'ten de görülebileceği gibi fibrinojen moleküllerinin sterik olarak birbirlerini engellemelerinin sonucunda yüzeye yaklaşan protein sayısı azalır ve en az adsorpsiyon bu yüzeyde gerçekleşir.



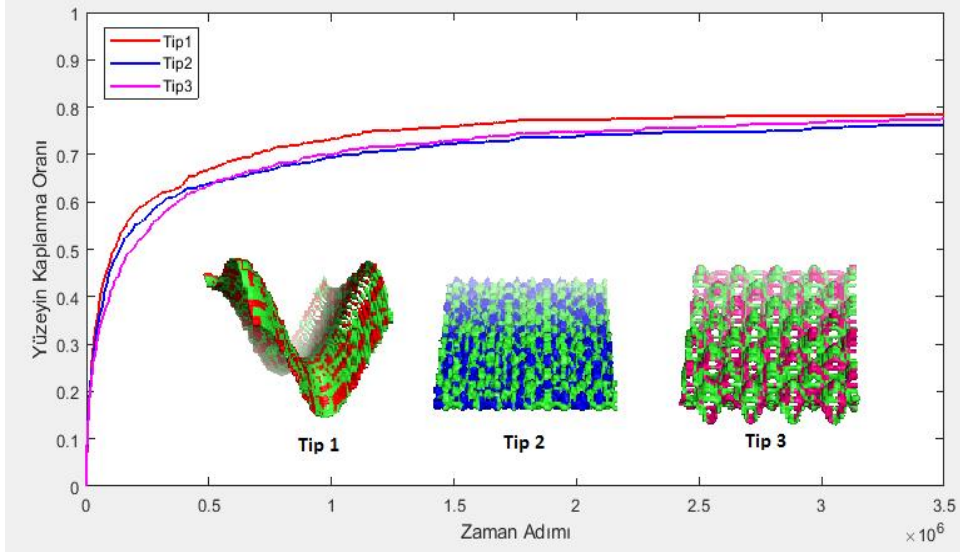
Şekil 6.24 : Tip 1 pürüzlü yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu.



Şekil 6.25 : Tip 2 pürüzlü yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu.



Şekil 6.26 : Tip 3 pürüzlü yüzeye fibrinojen adsorpsiyonu.



Şekil 6.27 : Pürüzlü poliüretan yüzeylerde mikrofaz ayrımının yüzey kaplanma oranına etkisi.

Ayrıca, pürüzlü poliüretan yüzeyler için çizdirilen zamanla yüzeyin kaplanması grafiğine (Şekil 6.27) bakıldığında, Tip 1 yüzeyde yüzeyin %78'i fibrinojen tarafından kaplanırken, Tip 2 yüzeyde %76 ve Tip 3 yüzeyde %77'sinin kaplandığı görülmüştür. PU yüzeylere fibrinojen adsorpsiyonu hızları Şekil 6.27'ye bakılarak değerlendirildiğinde, Tip 1 yüzeye adsorpsiyon hızının diğer iki yüzeyden daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Bunun nedeni, Tip 1 yüzeyin pürüz genişliğinin diğer iki yüzeye oranla daha geniş olmasıdır. Şekil 6.27'deki grafikten elde ettiğimiz sonuçlar ile zamanla adsorplanan fibrinojen nodül sayısı grafiğindeki (Şekil 6.23) sonuçlar birbirlerini desteklemektedir.

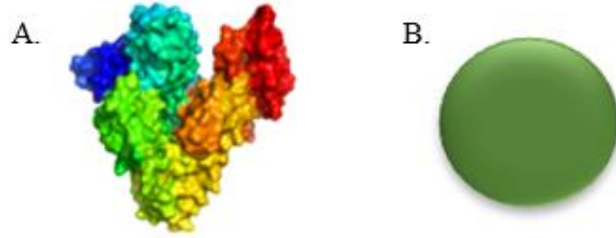
Çizelge 6.5 : Yüzey pürüzlülüğünün yüzey kaplanmasına etkisi.

Yüzey Pürüzlülüğü	Yüzeyin Kaplanması (%) (3,5*10 ⁶ Adım)
Tip 1	78
Tip 2	76
Tip 3	77

6.2.3 Fibrinojen ile albümin adsorpsiyon simülasyonlarının karşılaştırılması

Bir önceki çalışmada, aynı tip PU yüzeyler kullanılarak albümin proteininin (Şekil 6.28) PU yüzeylere adsorpsiyonu moleküler modelleme ve simülasyon yöntemleriyle araştırılmıştır [75,97]. Bu çalışmada ise, simülasyon yöntemi tamamen aynı tutularak sadece kullanılan protein farklılaştırılmış ve fibrinojen proteininin PU yüzeylere adsorpsiyonu incelenmiştir. Önceki çalışmadan elde edilen sonuçlarla bu çalışmanın

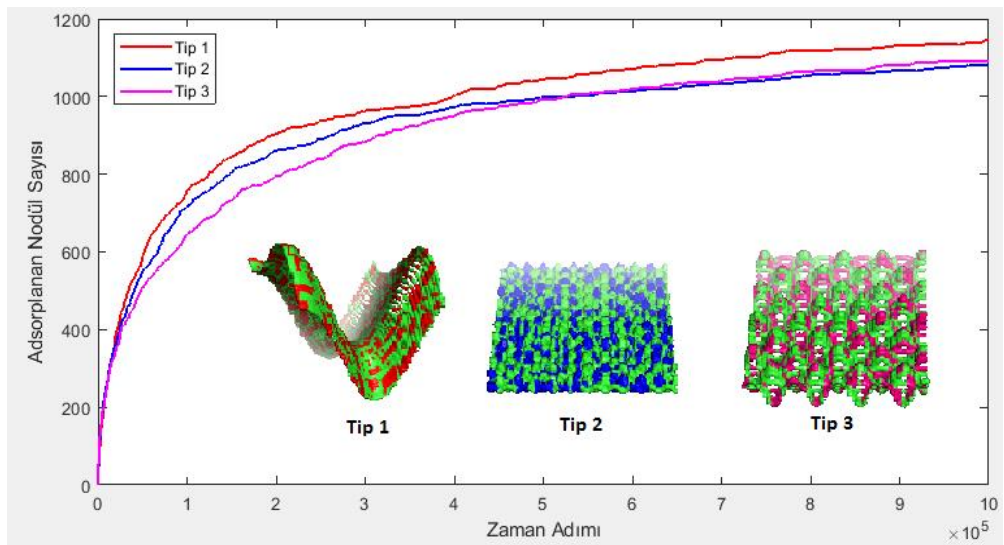
sonuçları karşılaştırıldığında önemli çıkarımlar yapılabilmektedir. Albümin tek nodüllü ve izotropik bir yapıya sahipken, fibrinojen 3 nodüllü ve anizotropik bir yapıya sahip olduğundan adsorpsiyon davranışlarında farklılıklar gözlenmektedir. Farklılık gözlenen davranışlar, adsorpsiyon hızı ve PU yüzeylere adsorplanan protein miktarı şeklinde sıralanabilmektedir. Fibrinojen, simülasyon çalışmalarında 3 nodüllü olarak modellenmiş, albümin tek nodüllü modellenmiştir.



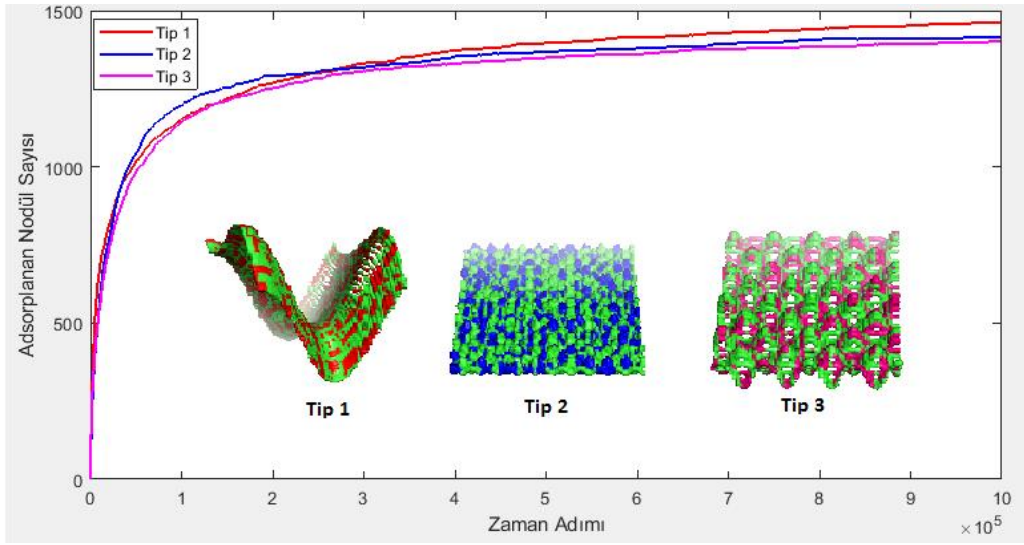
Şekil 6.28 : Albümin proteininin yapısal görünümü. (A) Albümin proteininin molekül yapısı, (B) Albümin proteininin modellenmiş görünümü.

6.2.3.1 Adsorpsiyon hızlarının karşılaştırılması

Simülasyon çalışmalarından elde edilen fibrinojen (Şekil 6.29) ve albüminin (Şekil 6.30) adsorpsiyon grafikleri incelendiğinde, albümin adsorpsiyonunun fibrinojene oranla daha hızlı gerçekleştiği görülmektedir. Albümin izotropik bir yapıya sahip olduğu ve tek nodülden meydana geldiği için sterik engeli fibrinojene oranla daha azdır. Bu nedenle, albümin yüzeydeki aktif bölgelere daha çabuk ulaşarak adsorplanmaktadır. Sonuç olarak da, albüminin PU yüzeylere adsorpsiyon hızının fibrinojene kıyasla daha fazla olduğu sonucuna varılmaktadır.



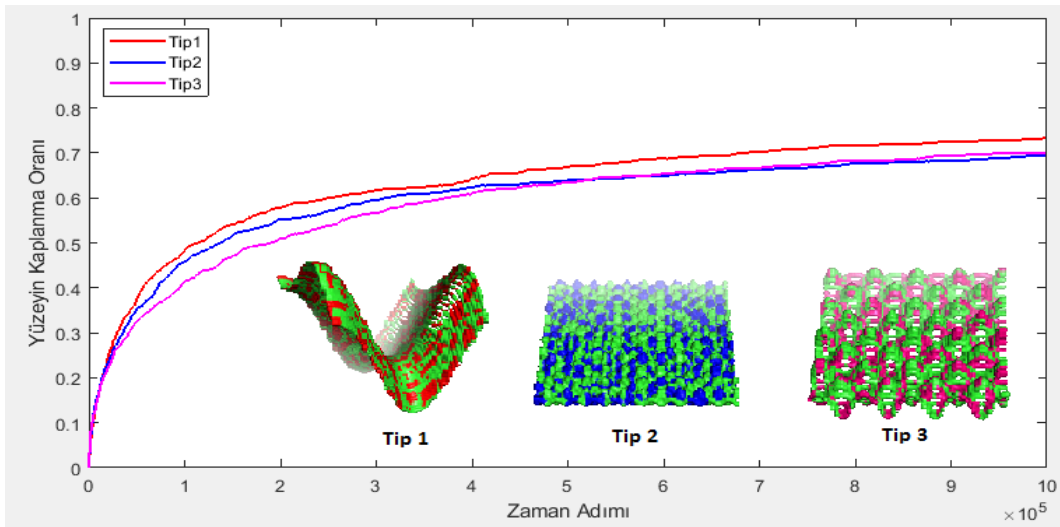
Şekil 6.29 : PU yüzeylerde mikrofaz ayrımının adsorplanan fibrinojen sayısına etkisi.



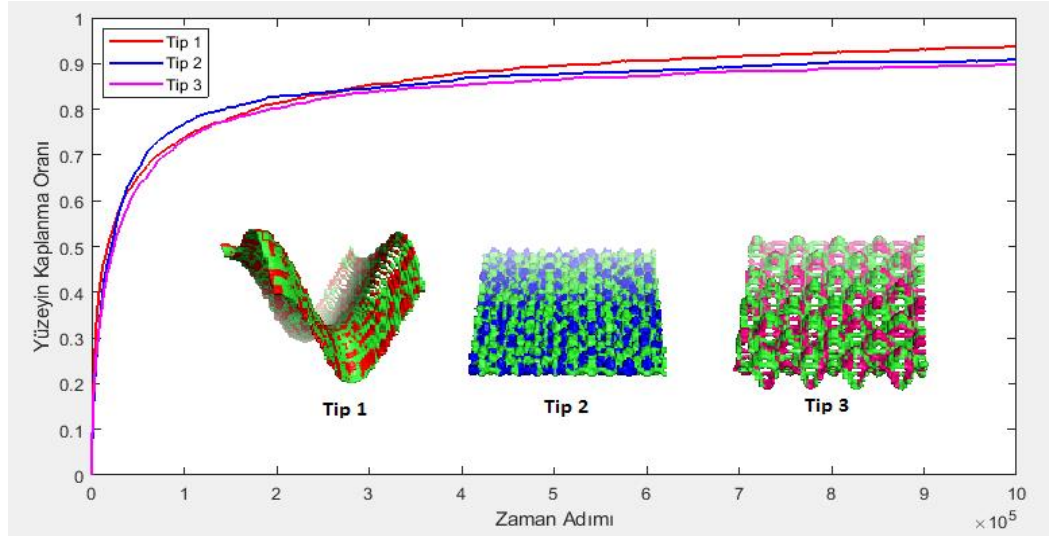
Şekil 6.30 : PU yüzeylerde mikrofaz ayrımının adsorplanan albümin sayısına etkisi [75,98].

6.2.3.2 Yüzeyin kaplanma oranlarının karşılaştırılması

PU yüzeylerinin fibrinojen (Şekil 6.31) ve albümin (Şekil 6.32) ile kaplanma oranı grafikleri incelendiğinde, albüminin PU yüzeyini daha fazla kapladığı görülmektedir. Bu sonuç da, albüminin PU yüzeyinde bulunan aktif bölgelere fibrinojene oranla daha fazla sayıda bağlandığını belirtmektedir. Albüminin PU yüzeyini daha fazla kaplaması, yüzey modelinden kaynaklanmaktadır. Çünkü, fibrinojenin sterik engelinin etkisiyle pürüzlü yüzeylerdeki çukurlarda yer alan aktif bölgelere ulaşamamasının sonucunda yüzeye adsorplanamadığı ve yüzeyin kaplanma oranında düşmeye neden olduğu görülmektedir.



Şekil 6.31 : PU yüzeylerde mikrofaz ayrımının yüzeyin fibrinojenle kaplanma oranına etkisi.



Şekil 6.32 : PU yüzeylerde mikrofaz ayrımının yüzeyin albüminle kaplanma oranına etkisi [75,98].

Çizelge 6.6 : Karşılaştırmalı olarak yüzey pürüzlülüğünün yüzey kaplanmasına etkisi.

Yüzey Pürüzlülüğü	Yüzeyin Fibrinojenle Kaplanması (%) ($1 \cdot 10^6$ Adım)	Yüzeyin Albüminle Kaplanması (%) ($1 \cdot 10^6$ Adım)
Tip 1	73	93
Tip 2	69	90
Tip 3	70	89



7. GENEL SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, farklı yüzey özelliklerine sahip PU filmlere fibrinojen proteininin adsorpsiyonu hem deneysel hem de moleküler modelleme ve simülasyon yöntemleri kullanılarak analiz edilmiştir.

Deneysel çalışma kapsamında, PU filmler, tek kademe polimerizasyon metoduyla sentezlenmiştir ve bu filmler farklı hidrofilite, yüzey pürüzlülüğü, vadi giriş genişliği ve kristaliniteye sahiptir. Sentezde dikkat edilmesi gereken başlıca koşullar, reaktantların ve reaksiyon ortamının nemli olmamasıdır. Bu nedenle, reaktantlar uygun koşullarda kurutulduktan sonra kullanılmıştır ve PU sentez reaksiyonu azot atmosferinde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen PU filmlerin karakterizasyonu, FTIR, DSC, su ile temas açısı, şişme ve AFM analizleriyle yapılmıştır.

Karakterizasyon çalışmaları kapsamında, PU sentezi FTIR spektroskopisiyle izlenmiştir. Reaksiyonun başında alınan FTIR spektrumunda gözlenen OH⁻ gerilme piki ve serbest izosiyanat pikinin reaksiyon tamamlanınca alınan FTIR spektrumunda kaybolduğu ve karakteristik üretan pikinin oluştuğu görüldüğünden PU sentez reaksiyonunun başarılı olduğu anlaşılmıştır. DSC analizinden varılan sonuç, filmlerdeki çapraz bağ miktarı arttıkça, yani HY miktarı arttıkça, polimer zincirlerindeki hareketin zorlaştığı ve buna bağlı olarak PEG içermeyen PU filmin T_g değerinin diğer filmlere oranla daha yüksek çıktığıdır. Ayrıca, PEG3000 ile hazırlanan filmlerde PEG miktarı arttıkça polimerin erime sıcaklığında artış gözlenmiştir. Çünkü, PEG kristalin yapıda olduğu için polimer yapısında kristaliniteyi sağlamaktadır ve PEG miktarı arttıkça kristalinite arttığından erime sıcaklığında (T_m) artış olmuştur. PU formülasyonundaki PEG'in molekül ağırlığının ve kullanılan PEG miktarının arttırılmasıyla su ile temas açısının düştüğü ve hidrofilitenin arttığı temas açısı analizlerinden anlaşılmıştır. Şişme analizlerinde maksimum şişme platosuna 24 saatte varılmıştır. PEG hidrofilik, HY ise hidrofobik karaktere sahiptir. PU filmlerde PEG miktarı arttıkça HY miktarı düştüğünden filmlerin içerdiği PEG miktarı artışıyla şişme de artış göstermiştir. Su ile temas açısı analiziyle şişme analizi sonuçları birbirini desteklemektedir. AFM analizleriyle, PU filmlerin yüzey pürüzlülüğü ve vadi giriş genişliği bilgileri elde edilmiştir. PEG miktarı ve PEG'in molekül ağırlığı arttıkça yüzey pürüzlülüğünün

artma eğiliminde olduğu anlaşılmıştır. Protein adsorplanmış filmin yüzey pürüzlülüğünün adsorplanmamışa oranla daha az olmasının sebebi, fibrinojen difüzyonla yüzeye yaklaştığında, yüzeye ilk temas ettiği yerlerin pürüzlerin tepe noktası olmasından dolayı pürüzlerin girişlerinin fibrinojen tarafından doldurulması sonucunda yüzeyin olduğundan daha düz bir zeminmiş gibi davranmasıdır. Vadi giriş genişliğinin protein adsorplanmış filmde protein adsorplanmamışa göre daha az olmasının nedeni de aynı durumdur.

DeneySEL çalışma sonucunda, polimer hidrofilitesinin, kristalinitesinin ve yüzey pürüzlülüğünün adsorpsiyonu belirleyen önemli etmenler olduğu anlaşılmıştır. PU-100 ve PU-400 filmlerde yüzey pürüzlülüğünün artmasıyla PU yüzeye fibrinojen adsorpsiyonunun arttığı, PU-1500 kodlu filmlerde ise hidrofilikliğin artmasıyla, adsorpsiyon miktarının düştüğü görülmüştür. Adsorpsiyon analizinin yapıldığı sıcaklıkta (36°C) PU'nun kristalin bölgeleri eridiğinden adsorpsiyon miktarının bütün filmlerde düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

Simülasyon çalışması iki aşamalı olarak yapılmıştır. İlk aşamada, fibrinojenin esnek bölgelerinin molekülün iki ucu ve orta bölgesinde olduğu tespit edilmiştir. İlk aşamadaki sonuçlar yardımıyla modellenen fibrinojen molekülü, ikinci aşamada kullanılmıştır. İkinci aşamada, kristalinitenin ve yüzey pürüzlülüğünün adsorpsiyona etkisi araştırılmıştır. Kristalin bölgelerin sıralı olduğu yüzeyde fibrinojenin sterik engelinin etkisi daha fazla gözlendiğinden adsorpsiyonda düşme olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, yüzey pürüzlülüğünün ve vadi giriş genişliğinin artmasıyla, fibrinojen adsorpsiyonunun arttığı sonucuna varılmıştır. DeneySEL çalışmadan elde edilen sonuçlarla simülasyon sonuçları karşılaştırıldığında, yüzey pürüzlülüğünün artmasıyla fibrinojen adsorpsiyonunun artış gösterdiği ortak sonucuna varılmıştır.

Fibrinojen, esnek bir proteindir ve adsorplandıktan sonra konformasyonel değişikliğe uğrama olasılığı mevcuttur. İleriki çalışmalarda, circular dichroism (CD) analiziyle fibrinojenin ikincil ve üçüncül yapılarında meydana gelebilecek konformasyonel değişiklikler belirlenebilir. Bu tezdeki simülasyon çalışmasında, kaba ölçekli modelleme yapılarak PU yüzeylere fibrinojen adsorpsiyonu incelenmiştir. İleriki çalışmalarda, moleküler dinamik simülasyon yöntemi kullanılarak atomik seviyede incelemeler yapılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Schacker, C. E.** (2004). An Introduction to Materials in Medicine, 2nd Edition. *Elsevier Academic Press*.
- [2] **Namazi, H.** (2017). Polymers in our daily life, *BioImpacts*, 7 (2), 73–74.
- [3] **Kayirhan, N., Denizli, A. & Hasirci, N.** (2001). Adsorption of Blood Proteins on Glow-Discharge-Modified, *Polymer*, 81, 1322–1332.
- [4] **Tibbitt, M. W., Rodell, C. B., Burdick, J. A. & Anseth, K. S.** (2015). Progress in material design for biomedical applications, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 112 (47), 14444–14451.
- [5] **dos Santos, V., Brandalise, R. N. & Savaris, M.** (2017). Engineering of Biomaterials, *Springer*, 5-15.
- [6] **Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E. & Leong, K. W.** (2001). Biomedical applications of polymer-composite materials: a review, *Compos. Sci. Technol.*, 61 (9), 1189–1224.
- [7] **Kurkcuoglu, O. & Güner, F. S.** (2016). Polyurethanes: Surface Protein Adsorption, *Encycl. Biomed. Polym. Polym. Biomater.*, 6724–6742.
- [8] **Sobczak, M.** (2015). Biodegradable Polyurethane Elastomers for Biomedical Applications – Synthesis Methods and Properties, *Polym. - Plast. Technol. Eng.*, 54 (2), 155–172.
- [9] **Bashir, S. & Liu, J. L.** (2015). Nanomaterials and Their Application, *Adv. Nanomater. Their Appl. Renew. Energy*, 1–50.
- [10] **Marshall, J., Bowden, P., Schmit, J. C. & Betsou, F.** (2014). Creation of a federated database of blood proteins: A powerful new tool for finding and characterizing biomarkers in serum, *Clin. Proteomics*, 11 (1), 1–21.
- [11] **Patterson, K., Lisal, M. & Colina, C. M.** (2011). Adsorption behavior of model proteins on surfaces, *Fluid Phase Equilib.*, 302 (1–2), 48–54.
- [12] **Ozboyaci, M., Kokh, D. B., Corni, S. & Wade, R. C.** (2016). Modeling and simulation of protein–surface interactions: achievements and challenges, *Q. Rev. Biophys.*, 49 (e4), 1-45.
- [13] **Ibrahim, S., Ahmad, A. & Mohamed, N. S.** (2015). Synthesis and characterization of castor oil-based polyurethane for potential application as host in polymer electrolyts, *Bull. Mater. Sci.*, 38 (5), 1155–1161.
- [14] **Url-1**, (2000). Poliüretan’ın Tarihçesi, *Purtek*. <<http://www.purtek.com.tr/flas-haberler/poliuretanin-tarihcesi.html>>, erişim tarihi: 02.03.2019.

- [15] **Basu, A., Farah, S., Kunduru, K. R., Doppalapudi, S., Khan, W. & Domb, A.** (2016). Polyurethanes for Controlled Drug Delivery, *Advances in Polyurethane Biomaterials*, 217-246.
- [16] **Hasirci N. & Hasirci, V.** (2004). Biomaterials: From Molecules to Engineered Tissues, 83-105.
- [17] **Akindoyo, J. O., Beg, M. D. H., Ghazali, S., Islam, M. R., Jeyaratnam, N. & Yuvaraj, A. R.** (2016). Polyurethane types, synthesis and applications-a review, *RSC Adv.*, 6 (115), 114453–114482.
- [18] **Fridrihsone, A., Stirna, U., Lazdiņa, B., Misane, M. & Vilsone, D.** (2013). Characterization of polyurethane networks structure and properties based on rapeseed oil derived polyol, *Eur. Polym. J.*, 49 (6), 1204–1214.
- [19] **Gurunathan, T., Mohanty, S. & Nayak, S. K.** (2015). Isocyanate terminated castor oil-based polyurethane prepolymer: Synthesis and characterization, *Prog. Org. Coatings*, 80, 39–48.
- [20] **Bocchio, J., Wittemberg, V. & Quagliano, J.** (2017). Synthesis and characterization of polyurethane/bentonite nanoclay based nanocomposites using different diisocyanates: relation between mechanical and thermal properties, *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, 195, 1-12.
- [21] **Shoaib, M., Bahadur, A., Saeed, A., ur Rahman, M. S. & Naseer, M. M.** (2018). Biocompatible, pH-responsive, and biodegradable polyurethanes as smart anti-cancer drug delivery carriers, *React. Funct. Polym.*, 127, 153–160.
- [22] **Cherng, J. Y., Hou, T. Y., Shih, M. F., Talsma, H. & Hennink, W. E.** (2013). Polyurethane-based drug delivery systems, *Int. J. Pharm.*, 450 (1–2), 145–162.
- [23] **Reghunadhan, A. & Thomas, S.** (2017). Polyurethanes: Structure, Properties, Synthesis, Characterization, and Applications, in *Polyurethane Polymers Blends and Interpenetrating Polymer Networks*, S. Thomas, J. Datta, J. T. Haponiuk, and A. Reghunadhan, Eds. Elsevier, 1–16.
- [24] **Rogulska, M., Kultys, A. & Pikus, S.** (2017). The effect of chain extender structure on the properties of new thermoplastic poly(carbonate–urethane)s derived from MDI, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 127 (3), 2325–2339.
- [25] **Pielichowska, K., Nowak, M., Szatkowski, P. & Macherzyńska, B.** (2016). The influence of chain extender on properties of polyurethane-based phase change materials modified with graphene, *Appl. Energy*, 162, 1024–1033.
- [26] **Xiao, Y., Jiang, L., Liu, Z., Yuan, Y., Yan, P., Zhou, C. & Lei, J.** (2017). Effect of phase separation on the crystallization of soft segments of green waterborne polyurethanes, *Polym. Test.*, 60, 160–165.
- [27] **Lamba, N. M. K., Woodhouse, K. A. & Cooper, S. L.** (2013). *Polyurethanes in Biomedical Applications*, 2009, CRC Press.

- [28] **Grenier, S., Sandig, M. & Mequanint, K.** (2007). Polyurethane biomaterials for fabricating 3D porous scaffolds and supporting vascular cells, *J. Biomed. Mater. Res.*, 82, 802–809.
- [29] **Baskin, J. L., Pui, C. H., Reiss, U., Wilimas, J. A., Metzger, M. L., Ribeiro, R. C. & Howard, S. C.** (2009). Management of occlusion and thrombosis associated with long-term indwelling central venous catheters, *Lancet*, 374 (9684), 159–169.
- [30] **Busch, J. D., Vens, M., Mahler, C., Herrmann, J., Adam, G. and Ittrich, H.** (2017). Complication Rates Observed in Silicone and Polyurethane Catheters of Totally Implanted Central Venous Access Devices Implanted in the Upper Arm, *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 28 (8), 1177–1183.
- [31] **Braun, U., Lorenz, E., Weimann, C., Sturm, H., Karimov, I., Ettl, J., Meier, R., Wohlgemuth, W. A., Berger, H. & Wildgruber, M.** (2016). Mechanic and surface properties of central-venous port catheters after removal: A comparison of polyurethane and silicon rubber materials, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, 64, 281–291.
- [32] **Boffito, M., Sartori, S., Mattu, C. & Ciardelli, G.** (2016). Advances in Polyurethane Biomaterials. In S. L. Cooper, J. Guan (Eds.), *Polyurethanes for Cardiac Applications* (1st ed., pp. 387–416). Woodhead Publishing.
- [33] **Federation, H.** (2011). Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control. In S. Mendis, P. Puska, B. Norrving (Eds.), the World Health Organization in collaboration with the World Heart Federation and the World Stroke Organization, 1–156.
- [34] **Url-2, Lohmann-Rauscher, Lohmann-Rauscher.** <<https://www.lohmann-rauscher.com/en/>>, erişim tarihi: 02.03.2019.
- [35] **Klopfleisch R. & Jung, F.** (2017). The pathology of the foreign body reaction against biomaterials, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, 105 (3), 927–940.
- [36] **Anderson, J. M., Rodriguez, A. & Chang, D. T.** (2008). Foreign body reaction to biomaterials, *Semin. Immunol.*, 20 (2), 86–100.
- [37] **Wilson, C. J., Clegg, R. E., Leavesley, D. I. & Percy, M. J.** (2005). Mediation of Biomaterial–Cell Interactions by Adsorbed Proteins: A Review, *Tissue Eng.*, 11 (1–2), 1–18.
- [38] **Hirsh, S. L., McKenzie, D. R., Nosworthy, N. J., Denman, J. A., Sezerman, O. U. & Bilek, M. M. M.** (2013). The Vroman effect: Competitive protein exchange with dynamic multilayer protein aggregates, *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 103, 395–404.
- [39] **Walsh, G.** (2014). Proteins Biochemistry and Biotechnology, In G. Walsh (Eds.), *Protein Structure and Bioengineering*, (2nd ed., pp. 25–64). John Wiley & Sons, Incorporated.
- [40] **Rabe, M., Verdes, D. & Seeger, S.** (2011). Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 162 (1–2), 87–106.

- [41] **Url-3**, (2015). Canlıların Temel Bileşenleri: Proteinler. <<https://bikifi.com/biki/canlilarin-temel-bilesenleri-proteinler>>, erişim tarihi: 04.02.2019.
- [42] **Zedalis J. & Eggebrecht, J.** (2018). *Biology for AP® Courses*. Texas: OpenStax, 1-1793.
- [43] **Norde, W.** (2008). My voyage of discovery to proteins in flatland ...and beyond, *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 61 (1), 1–9.
- [44] **Helbing, C., Stoeßel, R., Hering, D. A., Arras, M. M. L., Bossert, J. & Jandt, K. D.** (2016). PH-Dependent Ordered Fibrinogen Adsorption on Polyethylene Single Crystals, *Langmuir*, 32 (45), 11868–11877.
- [45] **Kollman, J. M., Pandi, L., Sawaya, M. R., Riley, M. & Doolittle, R. F.** (2009). Crystal structure of human fibrinogen, *Biochemistry*, 48 (18), 3877–3886.
- [46] **Mosesson, M. W.** (2009). Structure and Functions of Fibrinogen and Fibrin, *Recent Adv. Thromb. Hemost.* 3–26.
- [47] **Litvinov, R. I., Faizullin, D. A., Zuev, Y. F. & Weisel, J. W.** (2012). The α -helix to β -sheet transition in stretched and compressed hydrated fibrin clots, *Biophys. J.*, 103 (5), 1020–1027.
- [48] **Köhler, S., Schmid, F. & Settanni, G.** (2015). The Internal Dynamics of Fibrinogen and Its Implications for Coagulation and Adsorption, *PLoS Comput. Biol.*, 11 (9), 1-19.
- [49] **Hu, Y., Jin, J., Liang, H., Ji, X., Yin, J. & Jiang, W.** (2016). pH Dependence of Adsorbed Fibrinogen Conformation and Its Effect on Platelet Adhesion, *Langmuir*, 32 (16), 4086–4094.
- [50] **Boix, M., Eslava, S., Costa Machado, G., Gosselin, E., Ni, N., Saiz, E. & De Coninck, J.** (2015). ATR-FTIR measurements of albumin and fibrinogen adsorption: Inert versus calcium phosphate ceramics, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, 103 (11), 3493–3502.
- [51] **Wang, W.** (1999). Instability, Stabilization, and Formulation of Liquid Protein Pharmaceuticals, *Int. J. Pharm.*, 185, 129–188.
- [52] **Wei, T., Kaewtathip, S. & Shing, K.** (2009). Buffer Effect on Protein Adsorption at Liquid / Solid Interface †, *J. Phys. Chem. C*, 113, 2053–2062.
- [53] **Parkes, M., Myant, C., Cann, P. M. & Wong, J. S. S.** (2014). The effect of buffer solution choice on protein adsorption and lubrication, *Tribology Int.*, 72, 108–117.
- [54] **Kirkwood, J., Hargreaves, D., O’Keefe, S. & Wilson, J.** (2015). Using isoelectric point to determine the pH for initial protein crystallization trials, *Bioinformatics*, 31 (9), 1444–1451.
- [55] **Ghosh, A. K. & Bandyopadhyay, P.** (2012). Polysaccharide-Protein Interactions and Their Relevance in Food Colloids, *The Complex World of Polysaccharides*, 395-408.

- [56] **Kiesel, I., Paulus, M., Nase, J., Tiemeyer, S., Sternemann, C., Rüster, K., Wirkert, F. J., Mende, K., Büning, T. & Tolan, M.** (2014). Temperature-driven adsorption and desorption of proteins at solid-liquid interfaces, *Langmuir*, 30 (8), 2077–2083.
- [57] **Jackler, G., Steitz, R. & Czeslik, C.** (2002). Effect of temperature on the adsorption of lysozyme at the silica/water interface studied by optical and neutron reflectometry,” *Langmuir*, 18 (17), 6565–6570.
- [58] **Pasche, S., Vörös, J., Griesser, H. J., Spencer, N. D. & Textor, M.** (2005). Effects of ionic strength and surface charge on protein adsorption at PEGylated surfaces, *J. Phys. Chem. B*, 109 (37), 17545–17552.
- [59] **Khampieng, T., Yamassatien, V., Ekabutr, P., Pavasant, P. & Supaphol, P.** (2018). Protein adsorption and cell behaviors on polycaprolactone film: The effect of surface topography, *Adv. Polym. Technol.*, 37 (6), 2030–2042.
- [60] **Dee, K. C., Puleo, D. A. & Bizios, R.** (2002). An Introduction to Tissue-Biomaterial Interactions, *Wiley Online Library*, 37–52.
- [61] **Rechendorff, K.** (2006). The influence of surface roughness on protein adsorption, University of Aarhus, Denmark.
- [62] **Ouberai, M. M., Xu, K. & Welland, M. E.** (2014). Effect of the interplay between protein and surface on the properties of adsorbed protein layers, *Biomaterials*, 35 (24), 6157–6163.
- [63] **Nagasawa, D., Azuma, T., Noguchi, H., Uosaki, K. & Takai, M.** (2015). Role of Interfacial Water in Protein Adsorption onto Polymer Brushes as Studied by SFG Spectroscopy and QCM, *J. Phys. Chem. C*, 119 (30), 17193–17201.
- [64] **Qiu, H., Zhang, Q., Lv, L., Pan, B., Zhang, W. & Zhang, Q.** (2009). Critical review in adsorption kinetic models, *J. Zhejiang Univ. A*, 10 (5), 716–724.
- [65] **Foo, K. Y. & Hameed, B. H.** (2010). Insights into the modeling of adsorption isotherm systems, *Chem. Eng. J.*, 156 (1), 2–10.
- [66] **Kastantin, M., Langdon, B. B. & Schwartz, D. K.** (2014). A Bottom-Up Approach to Understanding Protein Layer Formation at Solid-Liquid Interfaces, *Adv Colloid Interface Sci.*, 207, 240–252.
- [67] **Stellacci, F., Stevens, M. M., Kuna, J. J., Hung, A., Yarovsky, I., Mwenifumbo, S. & Mager, M.** (2011). Ordering Surfaces on the Nanoscale: Implications for Protein Adsorption, *J. Am. Chem. Soc.*, 133 (5), 1438–1450.
- [68] **Hospital, A., Goñi, J. R., Orozco, M. & Gelpí, J. L.** (2015). Molecular Dynamics Simulations and Flow, 37–47.
- [69] **Durrant J. D. & McCammon, A. J.** (2011). Molecular dynamics simulations and drug discovery, *Expert Opin. Drug Discov.*, 9 (71), 1–9.
- [70] **Salsbury, F. R.** (2011). Relevance To Drug Discovery, 10 (6), 738–744.

- [71] **Verde, A. V., Acres, J. M. & Maranas, J. K.** (2009). Investigating the specificity of peptide adsorption on gold using molecular dynamics simulations, *Biomacromolecules*, 10 (8), 2118–2128.
- [72] **Yatskou, M. M., Kavalenka, A., Apanasovich, V. V. & Calzaferri, G.** (2004). Principles of Monte Carlo simulations in physical chemistry: Luminescence of organized dye molecules, *MS'2004 - Int. Conf. Model. Simul.*, no. September, 368–372.
- [73] **Zehl, T., Wahab, M., Schiller, P. & Mögel, H. J.** (2009). Comment on Monte Carlo simulation of surfactant adsorption on hydrophilic surfaces., *Langmuir*, 25 (13), 7766–7.
- [74] **Xie, Y., Zhou, J. & Jiang, S.** (2010). Parallel tempering Monte Carlo simulations of lysozyme orientation on charged surfaces, *J. Chem. Phys.*, 132 (6), 65-101.
- [75] **Kurkcuoglu, S. S.** (2015). Determining The Effect of Roughness and Crystallinity on Protein Adsorption For Polyurethane Films, Istanbul Technical University.
- [76] **Ibrahim, S., Ahmad, A. & Mohamed, N. S.** (2015). Characterization of novel castor oil-based polyurethane polymer electrolytes, *Polymers (Basel)*, 7 (4), 747–759.
- [77] **Ismail, A. A., van de Voort, F. R. & Sedman, J.** (1997). Chapter 4 Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications, *Tech. Instrum. Anal. Chem.*, 18 (C), 93–139.
- [78] **Prenner, E. & Chiu, M.** (2011). Differential scanning calorimetry: An invaluable tool for a detailed thermodynamic characterization of macromolecules and their interactions, *J. Pharm. Bioallied Sci.*, 3 (1), 1-24.
- [79] **Çakmak, E. G., Dalgakıran, D. & Güner, F. S.** (2018). Castor oil and PEG-based shape memory polyurethane films: effect of chain extender amount on some polymer properties and performance, *Turkish J. Chem.*, 42 (4), 1161–1173.
- [80] **Yuan, Y. & Lee, T. R.** (2013). Surface Science Techniques. In G. Bracco, B. Holst (Eds.), *Contact Angle and Wetting Properties* (pp. 3-34). Springer.
- [81] **Wideman, T. H., Zautra, A. J. & Edwards, R. R.** (2014). NIH Public Access, 154 (11), 2262–2265.
- [82] **Url-4**, An Algorithm For Protein Hinge Prediction Using Elastic Network Models. <<http://www.prc.boun.edu.tr/appserv/prc/hingeprot/>>, erişim tarihi: 14.03.2019.
- [83] **Emekli, U., Schneidman-Duhovny, D., Wolfson, H. J., Nussinov, R. & Haliloglu, T.** (2008). By Simulations, *Proteins*, 70, 1219–1227.
- [84] **Haliloglu, T., Gul, A. & Erman, B.** (2010). Predicting Important Residues and Interaction Pathways in Proteins Using Gaussian Network Model : Binding and Stability of HLA Proteins, *PLOS Comput. Biol.*, 6 (7), 1–11.

- [85] **Park, J. K., Jernigan, R. & Wu, Z.** (2013). Coarse Grained Normal Mode Analysis vs . Refined Gaussian Network Model for Protein Residue-Level Structural Fluctuations, *Soc. Math. Biol.*, 75, 124–160.
- [86] **Kundu, S., Sorensen, D. C. & Phillips, G. N.** (2004). Automatic Domain Decomposition of Proteins by a Gaussian Network Model, *PROTEINS Struct. Funct. Bioinforma.*, 57, 725–733.
- [87] **Das, P. K.** (2017). A review based on the effect and mechanism of thermal conductivity of normal nanofluids and hybrid nanofluids, *J. Mol. Liq.*, 240 (December), 420–446.
- [88] **Mallick, K.** (2018). Thermodynamics and Information, *Semin. Poincare XXIII*, 1–42.
- [89] **Erban, R.** (2014). From molecular dynamics to Brownian dynamics, *Proc. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.*, 470 (2167), 1-20.
- [90] **Doyle P.S. & Underhill P.T.** (2005). Brownian Dynamics Simulations of Polymers and Soft Matter. In Yip S. (Eds.), *Handbook of Materials Modeling*. Springer, Dordrecht.
- [91] **Behringer, H. & Eichhorn, R.** (2012). Brownian Dynamics Simulations with Hard-Body Interactions: Spherical Particles, *J. Chem. Phys.*, 137 (6), 108–164.
- [92] **Hilkat, S. S., Güner, F. S. & Kurkcuoglu, O.** (2012). Protein Adsorpsiyonuna Film Pürüzlülüğü ve Protein Esnekliğinin Etkilerinin Brownian Dinamik Simülasyonu ile Belirlenerek Poliüretan Filmlerin Özelliklerinin Geliştirilmesi, 1-25.
- [93] **Yang, L., Song, G. & Jernigan, R. L.** (2009). Protein elastic network models and the ranges of cooperativity, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 106 (30), 12347–12352.
- [94] **Zheng, W.** (2008). A unification of the elastic network model and the gaussian network model for optimal description of protein conformational motions and fluctuations, *Biophys. J.*, 94 (10), 3853–3857.
- [95] **Kojio, K., Kugumiya, S., Uchiba, Y., Nishino, Y. & Furukawa, M.** (2009). The Microphase-separated Structure of Polyurethane Bulk and Thin Films, *Polym. J.*, 41 (2), 118–124.
- [96] **Gonzalez, X. G.** (2018). Influence of the nature of fibrinogen on the structure and mechanics of fibrin clots, *Université Grenoble Alpes*, 1-161.
- [97] **Liu, M., Zhang, Y., Wang, M., Deng, C., Xie, Q. & Yao, S.** (2006). Adsorption of bovine serum albumin and fibrinogen on hydrophilicity-controllable surfaces of polypyrrole doped with dodecyl benzene sulfonate-A combined piezoelectric quartz crystal impedance and electrochemical impedance study, *Polymer (Guildf)*, 7 (10), 3372–3381.
- [98] **Kurkcuoglu, S. S., Kurkcuoglu, O. & Güner, F. S.** (2018). A multiscale investigation on controlling bovine serum albumin adsorption onto polyurethane films, *J. Appl. Polym. Sci.*, 135 (2), 1–14.

- [99] **Ketata, N., Sanglar, C., Waton, H., Alamercery, S., Delolme, F., Raffin, G. & Grenier-Loustalot, M. F.** (2005). Thermal degradation of polyurethane bicomponent systems in controlled atmospheres, *Polym. Compos.*, 13 (1), 1–26.
- [100] **Kütting, M., Roggenkamp, J., Urban, U. & Steinseifer, U.** (2011). Polyurethane heart valves : past , present and future, 8 (2), 227–233.
- [101] **Martins, M. C. L., Wang, D., Ji, J., Feng, L. & Barbosa, M. A.** (2003). Albumin and fibrinogen adsorption on PU-PHEMA surfaces, *Biomaterials*, 24 (12), 2067–2076.



EKLER

EK A : FTIR spektrumları

EK B : DSC spektrumları

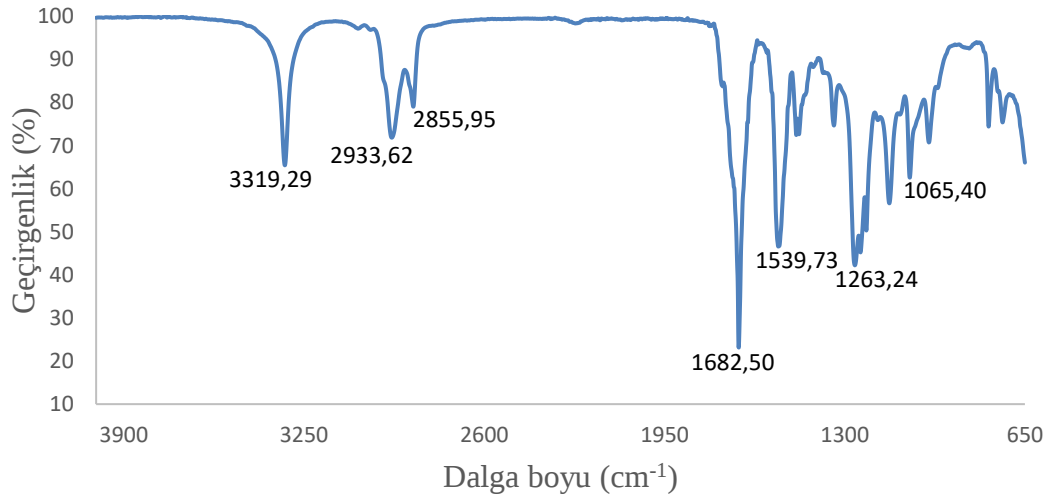
EK C : Su ile temas açısı çizelgesi ve şişme analizi grafiği

EK D : Pürüzlülük ve pürüzlerin vadi giriş genişliği çizelgesi

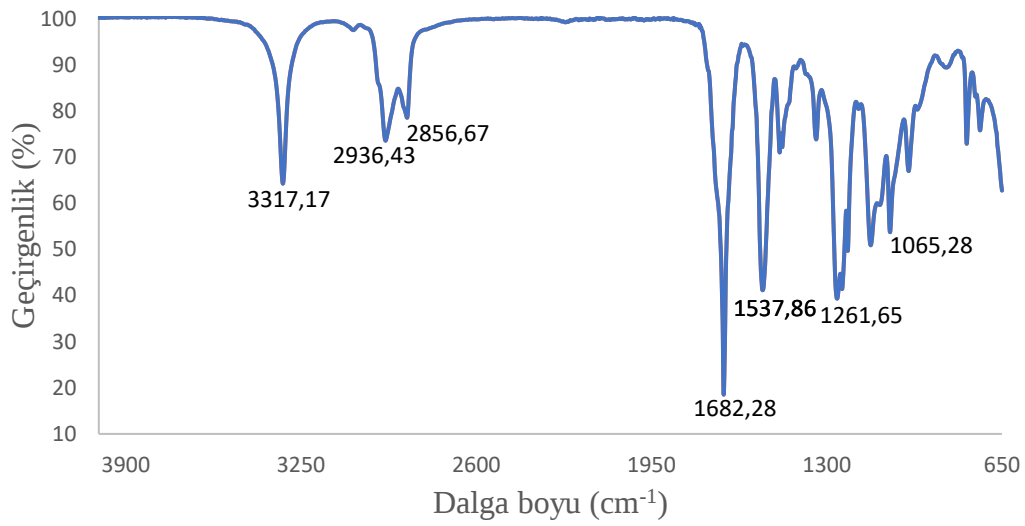
EK E : Kalibrasyon eğrisi



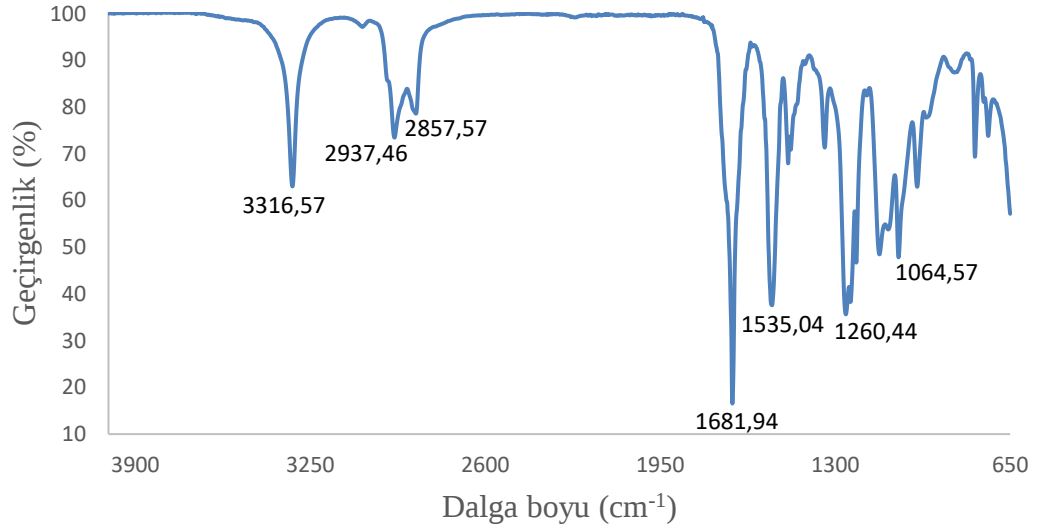
EK A



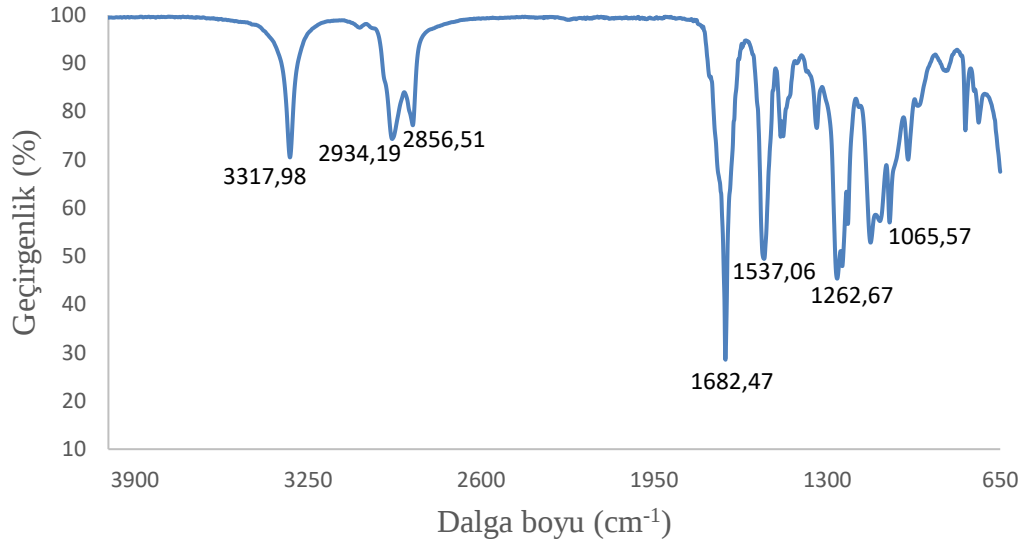
Şekil A.1 : PU-100filmin FTIR spektrumu.



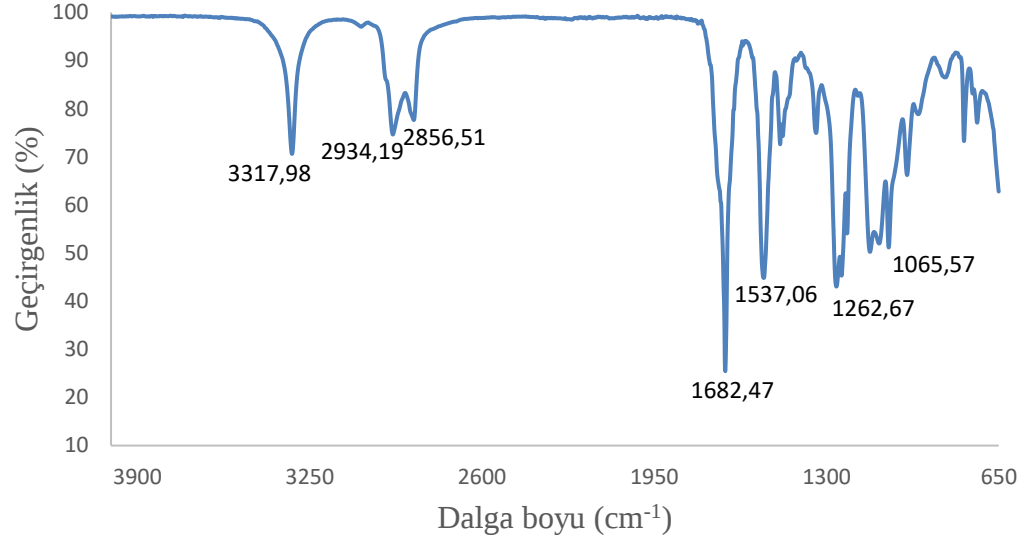
Şekil A.2 : PU-400-70 filmin FTIR spektrumu.



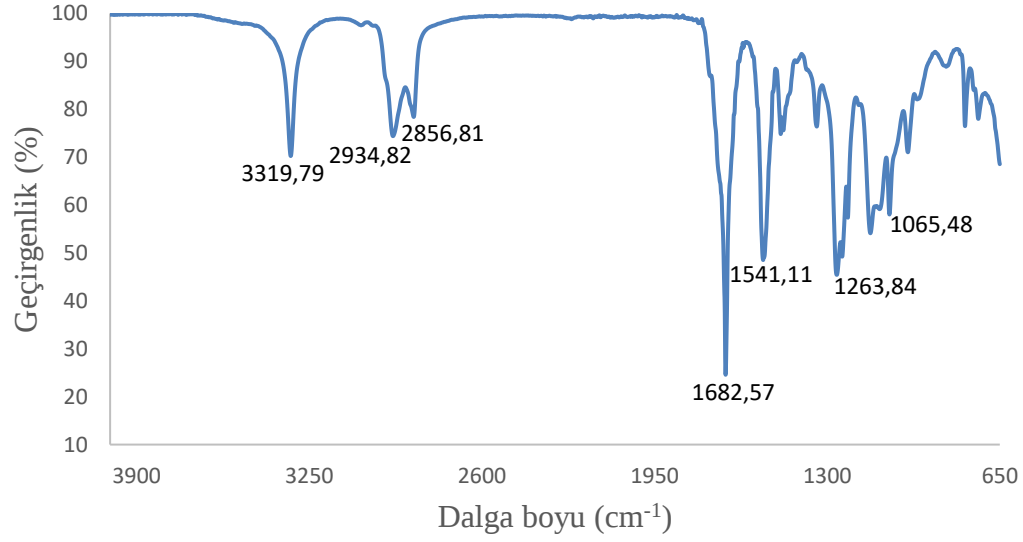
Şekil A.3 : PU-400-50 filmin FTIR spektrumu.



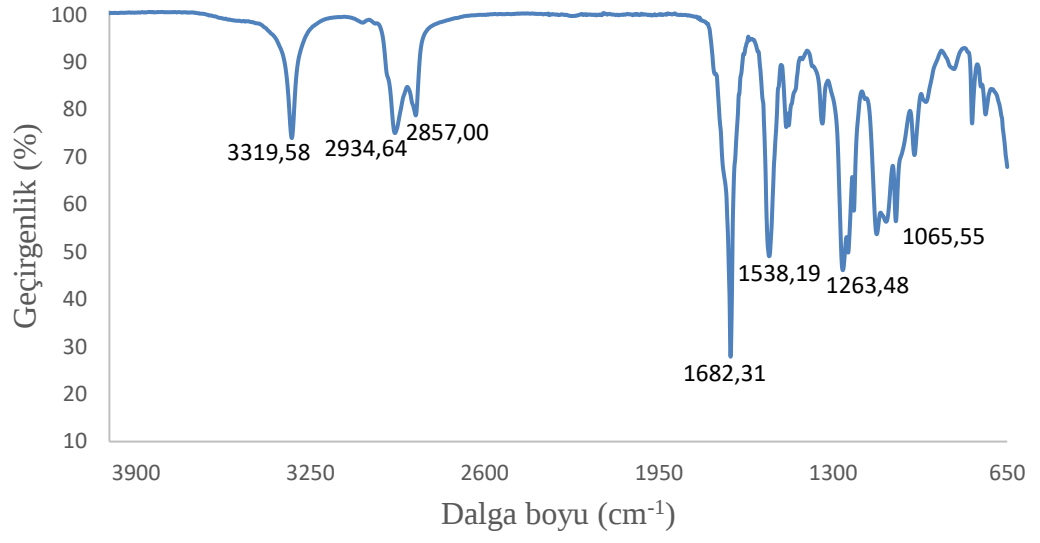
Şekil A.4 : PU-1500-70 filmin FTIR spektrumu.



Şekil A.5 : PU-1500-50 filmin FTIR spektrumu.

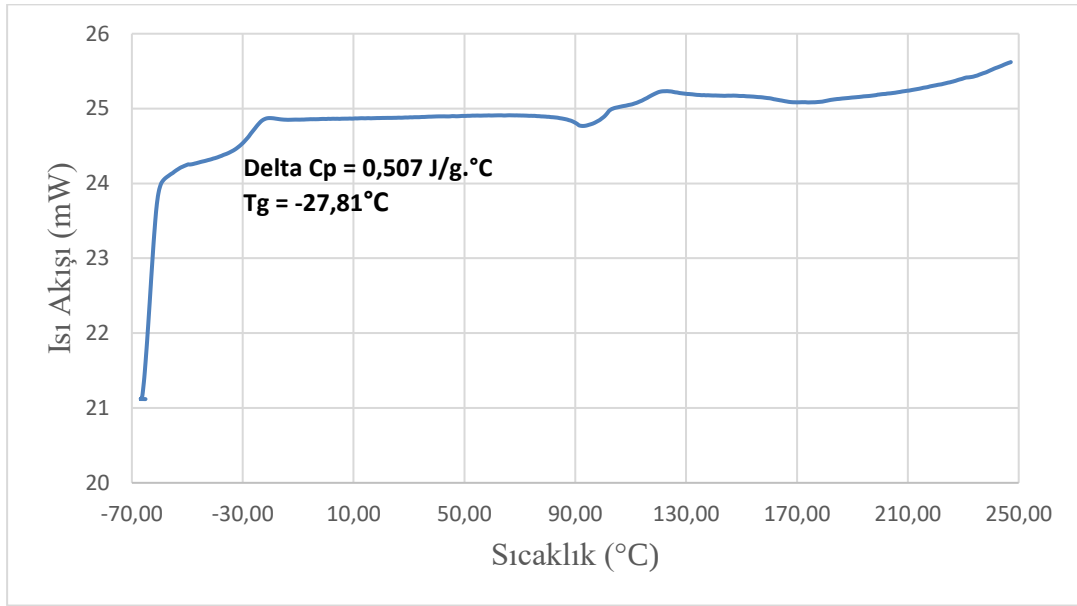


Şekil A.6 : PU-3000-70 filmin FTIR spektrumu.

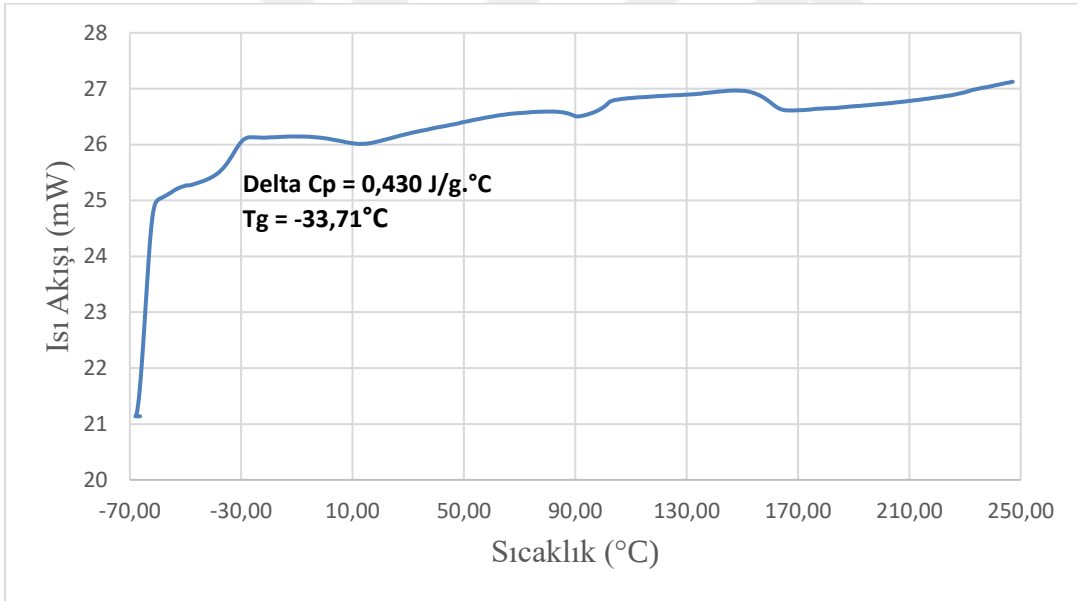


Şekil A.7 : PU-3000-60 filmin FTIR spektrumu.

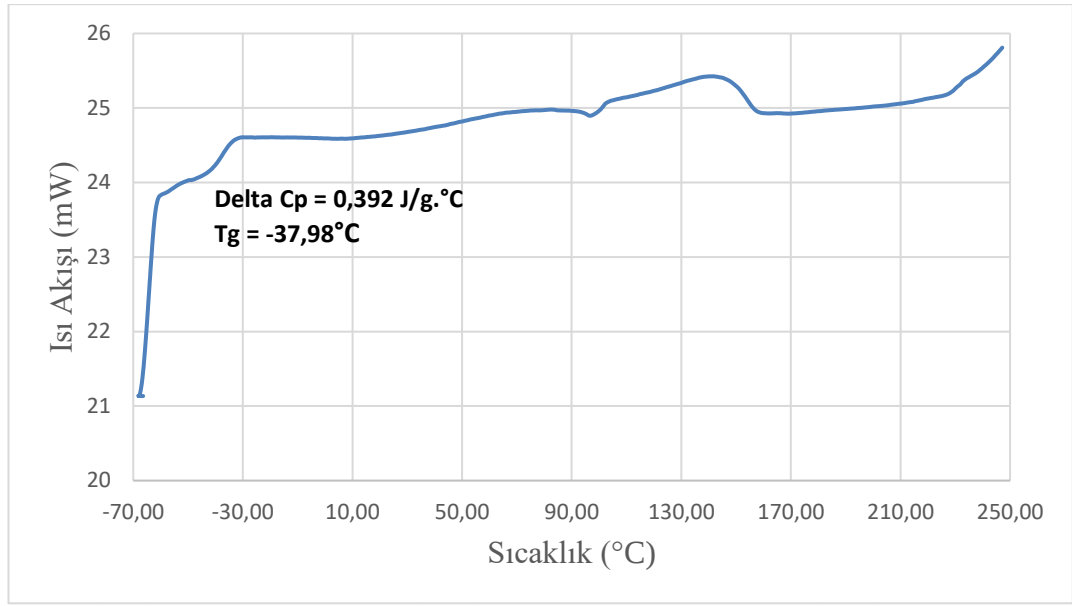
EK B



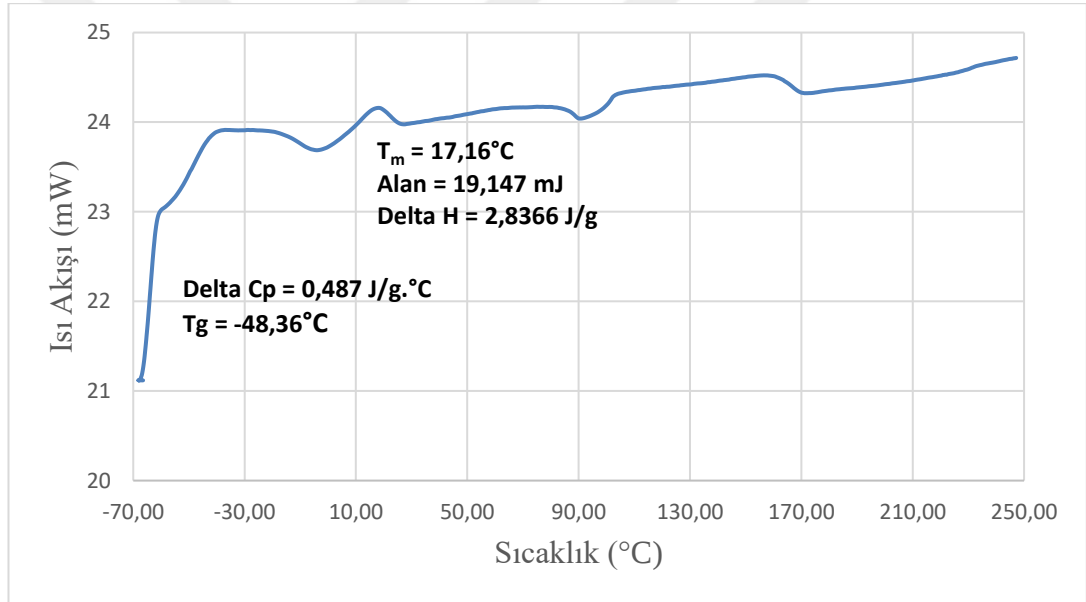
Şekil B.1 : PU-100 DSC spektrumu.



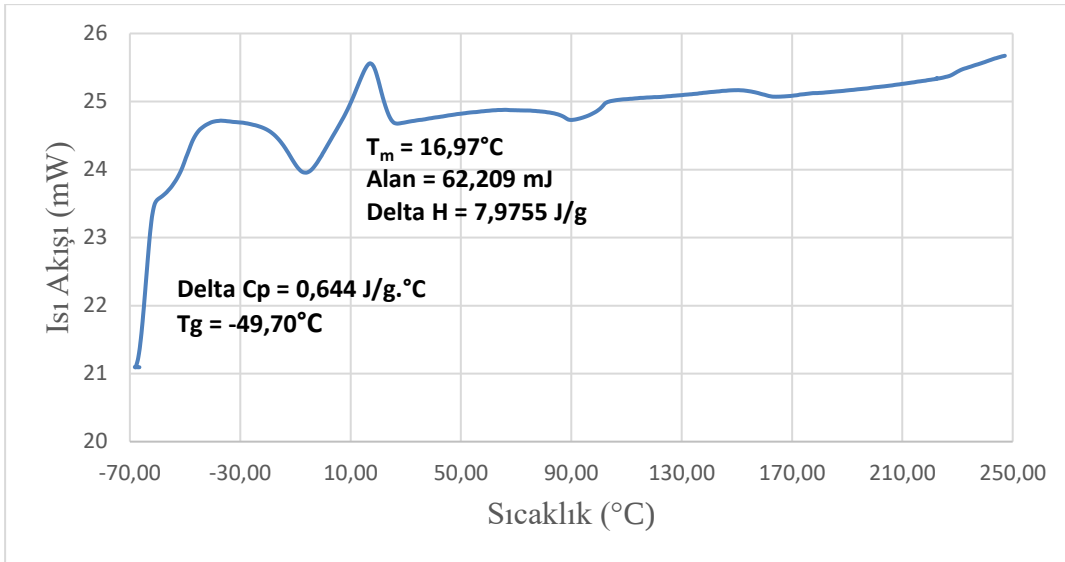
Şekil B.2 : PU-400-70 DSC spektrumu.



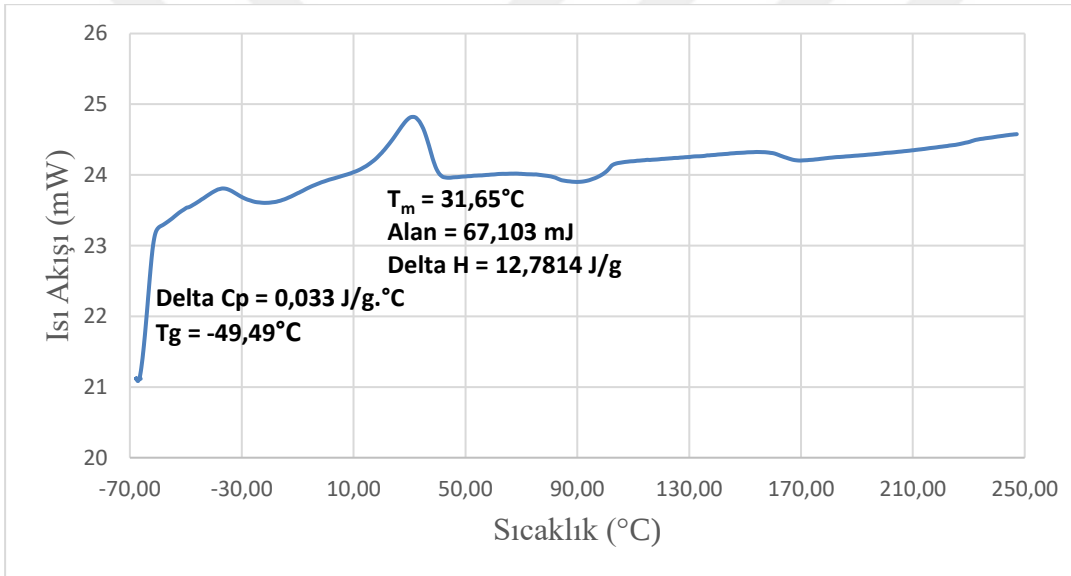
Şekil B.3 : PU-400-50 DSC spektrumu.



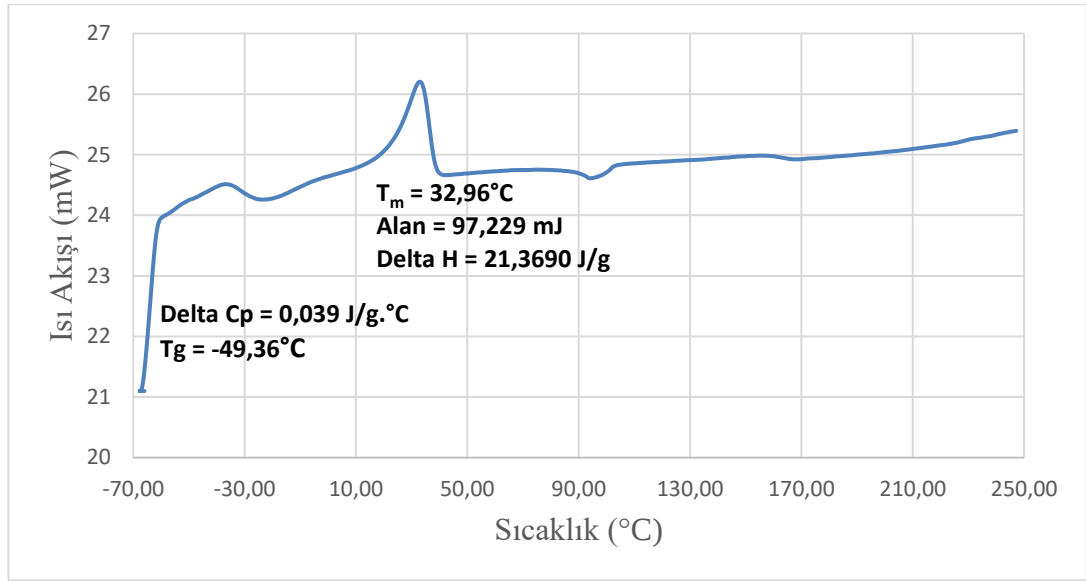
Şekil B.4 : PU-1500-70 DSC spektrumu.



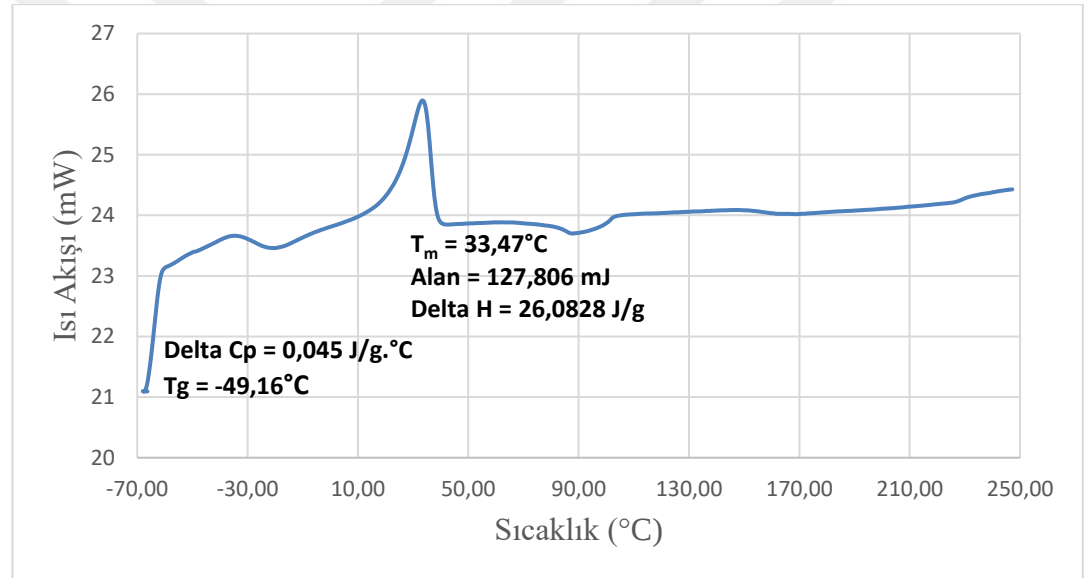
Şekil B.5 : PU-1500-50 DSC spektrumu.



Şekil B.6 : PU-3000-70 DSC spektrumu.



Şekil B.7 : PU-3000-60 DSC spektrumu.

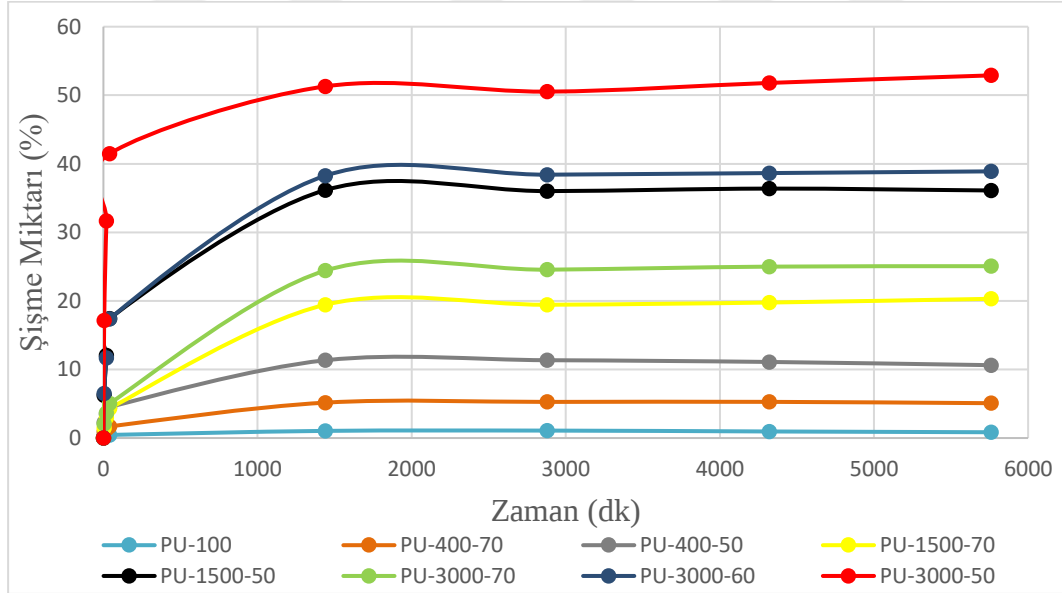


Şekil B.8 : PU-3000-50 DSC spektrumu.

EK C

Çizelge C.1 : PU filmlerin su ile temas açısı çizelgesi.

Kod	$\Theta (^{\circ})$
PU-100	$102,94 \pm 3,92$
PU-400-70	$101,00 \pm 3,30$
PU-400-50	$95,12 \pm 2,63$
PU-1500-70	$93,79 \pm 0,71$
PU-1500-50	$75,15 \pm 4,60$
PU-3000-70	$65,61 \pm 6,60$
PU-3000-60	$25,29 \pm 4,62$
PU-3000-50	$27,05 \pm 6,29$



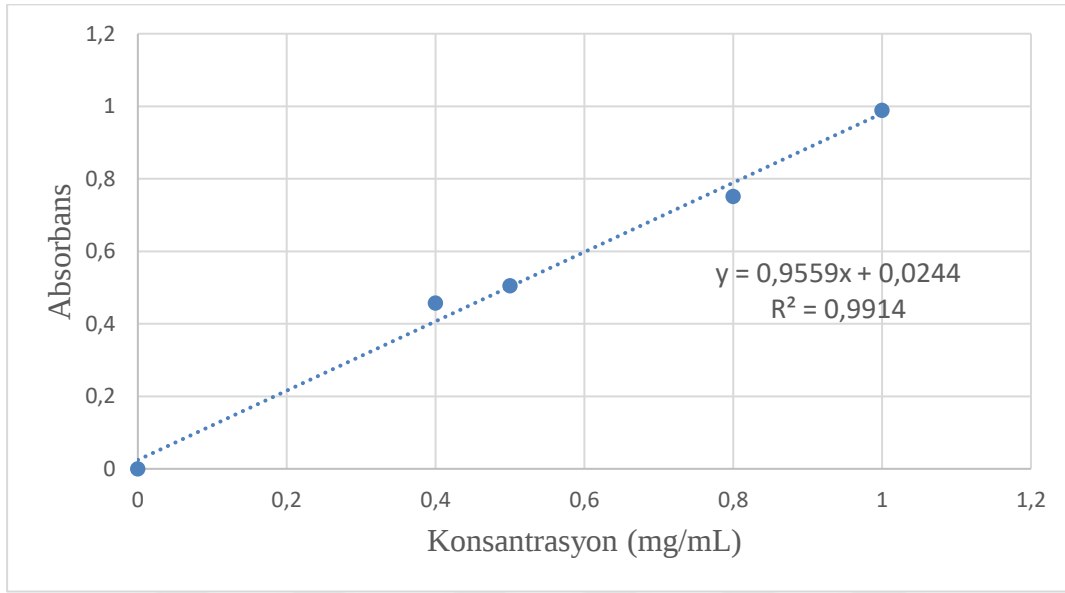
Şekil C.1 : PU filmlerin şişme miktarları grafiği.

EK D

Çizelge D.1 : PU filmlerin pürüzlülük ve pürüzlerin vadi giriş genişliği çizelgesi.

Kod	Pürüzlülük (nm)	Vadi giriş Genişliği (μm)
PU-100	$87,27 \pm 12,66$	$3,60 \pm 0,33$
PU-400-70	$162,88 \pm 10,34$	$2,54 \pm 0,10$
PU-400-50	$213,96 \pm 58,71$	$2,65 \pm 0,49$
PU-1500-70	$236,18 \pm 26,05$	$3,94 \pm 0,36$
PU-1500-50	$135,20 \pm 11,46$	$2,75 \pm 0,61$
PU-3000-70	$254,19 \pm 34,33$	$1,97 \pm 0,61$
PU-3000-60	$273,82 \pm 45,38$	$4,62 \pm 1,21$
PU-3000-50	$253,01 \pm 36,45$	$5,70 \pm 0,07$
PU-3000-60_p	$91,24 \pm 12,83$	$1,08 \pm 0,53$

EKE



Şekil E.1 : Fibrinojen proteininin kalibrasyon eğrisi.

ÖZGEÇMİŞ



Ad-Soyad : Gizem KELEŞ
Doğum Tarihi ve Yeri : 19.12.1991
E-posta : kelesgi@itu.edu.tr

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2015, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
- **Lisans** : 2017, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
- **Yükseklisans** : 2019, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü

