

BİR LOKAL ANESTEZİK MADDE OLAN LİDOKAİN'in (2-DIETHYLAMINO-N-(2,6 DIMETHYLPHENYL) ACETAMIDE) ETKİ SÜRESİNİ UZATMAK İÇİN POLİ AKRİLAT BAZLI HİDROJEL MİKROKÜRELERİN KULLANIMI VE DENENMESİ

ADMINISTRATION AND EXPERIMENTATION OF POLYACRYLATE BASED HYDROGEL MICROSPHERES FOR PROLONGING THE ACTIVITY PERIOD OF LIDOCAINE (2-DIETHYLAMINO-N-(2,6 DIMETHYLPHENYL) ACETAMIDE) AS A LOCAL ANAESTHETIC

ENİSE TUĞBA KOŞKA

Prof. Dr. MEHMET ALİ ONUR

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

BİYOMÜHENDİSLİK Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2013

ENİSE TUĞBA KOŞKA' nın hazırladığı “bir lokal anestezi madde olan lidokainin (2-diethylamino-n-(2,6 dimethylphenyl) acetamide) etki süresini uzatmak için poli akrilat bazlı hidrojel mikrokürelerin kullanımı ve denenmesi” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI'**nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

(Prof. Dr. Tülin KUTSAL)

Danışman

(Prof. Dr. Mehmet Ali ONUR)

Üye

(Prof. Dr. Süleyman Ali TUNCEL)

Üye

(Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU)

Üye

(Doç. Dr. Mustafa KOCAKULAK)

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

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ

Fen Bilimleri Enstitü Müdürü

ETİK

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

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

.../.../2013

Enise Tuğba Koşka

ÖZET

BİR LOKAL ANESTEZİK MADDE OLAN LİDOKAİN'NİN (2-DIETHYLAMINO-N-(2,6 DIMETHYLPHENYL) ACETAMIDE) ETKİ SÜRESİNİ UZATMAK İÇİN POLİ AKRİLAT BAZLI HİDROJEL MİKROKÜRELERİN KULLANIMI VE DENENMESİ

ENİSE TUĞBA KOŞKA

Yüksek Lisans, Biyomühendislik Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. MEHMET ALİ ONUR

İkinci Tez Danışmanı: Prof.Dr.SÜLEYMEN ALİ TUNCEL

Temmuz 2013, 72 sayfa

Lokal anestezikler birçok alanda, özellikle küçük alanlara yapılan cerrahi müdahalelerde kullanılırlar. Ancak etki süreleri kısadır ve sürekli olarak tekrarlanması gerekmektedir. Bu da toksisiteye yol açabileceğinden sorun yaratmaktadır. Mikroküreler ise kontrollü salınım sağlayan mekanizmalardır. Bu çalışmada bir lokal anestezik madde olan lidokaini mikroküreye yükleyerek etki süresini uzatmak amaçlanmıştır.

Mikrokürelerin etki süresini hesaplamak amacıyla sıçanlarda yürüme testi yapılmıştır. Sprague Dawley sıçandan rastgele seçilerek; kontrol grubu (n=6), ve deney grubu (n=6) oluşturulmuştur. Hem deney hem kontrol grubunda sağ arka bacağa siyatik sinir üzerine enjeksiyon yapılmıştır. Mikroküre verilen gruba serbest ilaç verilen sıçanların arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir.

Daha sonra bileşik aksiyon potansiyeli ölçümü yapılmıştır. Bunun için de Sprague Dawley sıçanlardan; rastgele seçilerek; kontrol grubu (n=3) ve deney grubu (n=3) oluşturulmuştur. Siyatik sinir çıkarılarak sinir banyosunda bileşik aksiyon potansiyeli ölçülmüştür. Deney grubuna mikroküre verilirken, kontrol grubuna lidokain verilmiştir. Mikroküre ve Lidokain verilen gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Lidokain, mikroküre, lokal anestezik, yürüme testi.

ABSTRACT

ADMINISTRATION AND EXPERIMENTATION OF POLYACRYLATE BASED HYDROGEL MICROSPHERES FOR PROLONGING THE ACTIVITY PERIOD OF LIDOCAINE (2-DIETHYLAMINO-N-(2,6 DIMETHYLPHENYL) ACETAMIDE) AS A LOCAL ANAESTHETIC

ENİSE TUĞBA KOŞKA

Master of Science, Department of Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. MEHMET ALİ ONUR

Co-Supervisor: Prof. Dr. SÜLEYMAN ALİ TUNCEL

July, 2013, 72 pages

Local anaesthetics are used in many space, especially surgical operation in small areas. However, their effect time is short, they need to be repeated continuously and this may cause toxicity that results in many problems. Microspheres are mechanisms that provide controlled release. In this study, prolonging the activity period of lidocaine as a local anaesthetic is purposed.

For the calculation of effect time of microspheres, walking track analysis was made on the rats. Sprague Dawley rats were chosen randomly and they were separated into two groups as control group (n=6) and experimental group (n=6). Both control and experimental groups were injected to their sciatic nerves on their right back legs. As a result, there were significant differences between two groups.

After that, Compound Motor Action Potentials were quantified. Also for this, Sprague Dawley rats were chosen randomly and they were separated into two groups again as control group (n=3) and experimental group (n=3). Compound Motor Action Potential was measured by vomiting sciatic nerve. While experimental group was exposed to microspheres, control group was exposed to lidocaine and substantial results were observed between these two separate groups.

Key Words: Lidocaine, microsphere, local anaesthetic, walking track analysis.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bana verdiği kıymetli bilgiler için, bana hep destek olduğu ve bana sabırla katlandığı için danışman hocam sayın **Prof. Dr. Mehmet Ali Onur'** a teşekkürlerimi ve sonsuz saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamda takıldığım her noktada yardımcı olan ve yaptığı katkılardan dolayı eş danışmanım **Prof. Dr. Süleyman Ali TUNCEL'** e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca yardımını hiç esirgemeyen gece gündüz yanımda olan **Arş. Gör. Esin AKBAY'** a, deneylerimde yardımcı olan **Arş. Gör. Handan SEVİM'** e, deneylerime verdikleri emek ve zaman için **Arş. Gör. Çiğdem GÖLGELİOĞLU**, **Arş. Gör. Aslıhan BAYRAKTAR**, **Arş. Gör. Bilginur MARAŞ** ve **Arş. Gör. Erdem ALP'** e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda istatistiksel analizleri yapmamda bana yardımcı olan **Handan ÖZCAN'** a çok teşekkür ederim.

Büyük bir sabırla beni destekleyen yanımda olan **ANNEM'** e ve her an yanımda olan benden hiçbir şeyini esirgemeyen **Güvenç ŞAHİN'** e sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ETİK	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER	ix
ÇİZELGELER	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kontrollü Salım Sağlayan Sistemler	3
2.1.1. Kontrollü Salım Yapan Sistemlerin Sınıflandırılması	6
2.1.1.1. Difüzyon kontrollü sistemler	7
2.1.1.1.1. Membran sistemler	7
2.1.1.1.2. Matriks sistemler	8
2.1.1.2. Kimyasal kontrollü sistemler	9
2.1.1.2.1. Vücutta aşınan sistemler	9
2.1.1.2.2. Zincire takılı sistemler	10
2.1.1.3. Çözücünün harekete geçirdiği sistemler	11
2.1.1.3.1. Şişme kontrollü sistemler	11
2.1.1.3.2. Ozmotik kontrollü sistemler	12
2.1.2. Kontrollü Salım Sistemlerinin Kullanım Alanları	16
2.1.3. Kontrollü salım yapan sistemlerin avantaj ve dezavantajları	17
2.1.3.1. Avantajlar	17
2.1.3.2. Dezavantajlar	18

2.2. Mikroküreler	19
2.2.1. Mikrokürelerin Tanım ve Özellikleri	19
2.2.2. Mikroküre Hazırlama Yöntemleri.....	21
2.2.2.1. Çözücü buharlaştırma yöntemi	21
2.2.2.2. Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi	22
2.2.3. Mikrokürelerden Etkin Maddenin Salımı	22
2.3. Kullanılan Kimyasallar.....	24
2.3.1. Lidokain (Xylocaine):.....	24
2.3.2. Poli (vinil alkol) (PVA).....	25
2.4. Elektrofizyolojik Çalışma	26
2.4.1. Bileşik Aksiyon Potansiyeli.....	26
2.4.2. Bileşik Aksiyon Potansiyelinin Kaydedilmesi.....	27
2.4.2.1. Ekstraselüler Kayıt Yöntemi.....	28
2.5. Yürüme Analizi	28
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	31
3.1. Mikrokürelerin Hazırlanması	31
3.2. Mikrokürelerin denenmesi.....	33
3.3. Bileşik Aksiyon Potansiyeli Ölçümü	33
3.4. Yürüme Analizi	35
3.5. İstatistiksel Analiz.....	38
3.5.1. SPSS İstatistik Programı.....	38
3.5.2. Mann-Whitney U Testi.....	39
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	41
4.1. Mikrokürelerin Denenmesi.....	41
4.2. Yürüme Analizi	46
4.3. Bileşik Aksiyon Potansiyeli	47
5. KAYNAKLAR.....	51

ÖZGEÇMİŞ	56
----------------	----

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Klasik ilaç doz şekillerinde etkin madde plazma derişiminin zamanla değişimi	2
Şekil 2.1. Etkin madde kan düzeyi-zaman eğrileri ile kontrollü salım yapan, uzatılmış etkili klasik salım yapan sistemler arasındaki farklar	5
Şekil 2.2. Kontrollü salım yapan sistemlerin/araçların tipleri, veriliş yolları ve etkisürelerinin şematik diyagramı	6
Şekil 2.3. Difüzyon kontrollü matriks sistemlerin şematik görünümü	8
Şekil 2.4. Vücutta aşınan sistemlerin şematik görünümü	10
Şekil 2.5. Zincire takılı sistemlerin şematik görünümü	10
Şekil 2.6. Şişme kontrollü sistemlerin şematik görünümü	11
Şekil 2.7. Ozmotik kontrollü sistemlerin şematik görünümü	12
Şekil 2.8. Çeşitli transdermal ilaç salım sistemlerinin kesit yapılar ı.....	16
Şekil 2.9 Lidokainin kimyasal yapısı	24
Şekil 2.10. Ekstraselüler kayıt (monofazik) yönteminin şematik gösterimi	28
Şekil 2.11. Sıçan ayak tabanı ve SFI ölçüm parametrelerinin gösterilmesi	30
Şekil 3.1. Mikrokürenin hazırlandığı düzenek	31
Şekil 3.2. Mikrokürelerin mikroskop görüntüsü	33
Şekil 3.3. Sinir banyosu	35
Şekil 3.4. Yürüme testi düzeneği	37
Şekil 4.1. F1, F2 ve F9 formülasyonlarının süreye karşı absorbens değerleri	42
Şekil 4.2. F3, F4, F8 ve F9 formülasyonlarının süreye karşı absorbens değerleri	42
Şekil 4.3. F5, F6, F8 ve F9 formülasyonlarının zamana karşı okunan absorbens değerleri	43
Şekil 4.4. F1 ve F10 formülasyonlarının zamana karşı okunan asorbans değerleri	44
Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış lidokain çözeltilerine göre hazırlanmış kalibrasyon eğrisi	45
Şekil 4.6. Sıçanın arka ayaklarından alınan ayak izleri	46
Şekil 4.7. Lidokain ile mikrokürenin yürüme analizi ile anestezi süreleri	47

Şekil 4.8. Lidokain ile mikrokürenin siyatik sinir üzerinde anesteziik etki bırakma süreleri	48
Şekil 4.9. F7 formülasyonuyl hazırlanmış mikrokürenin zamana karşı absorbands değeri	49

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1. Mikroküre formülasyonları	32
Çizelge 3.2. Tyrod solüsyonu içeriği	34
Çizelge 3.3. Mikroküre verilerek yürüme analizi yapılan sıçanların dakikaya karşı SFI değerleri	36
Çizelge 3.4. Lidokain verilerek yürüme analizi yapılan sıçanların dakikaya karşı SFI değerleri	37
Çizelge 4.1. Mikrokürelerin zamana karşı absorbans değerleri	41
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlardaki lidokain çözeltilerinin absorbans değerleri	44
Çizelge 4.3. 7 numaralı mikrokürenin enstrümental analiz sonucu	45

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

O: Oksijen

H: Hidrojen

C: Karbon

Ag: Gümüş

CL: Klor

Kısaltmalar

bGH: Büyüme hormonu

PVA: Polivinil alkol

FDA: Food and Drug Administration

BAP: Bileşik Aksiyon Potansiyeli

TLAP: Tek lif aksiyon potansiyeli

US: United States

°C: Santigrat derece

RİVA: Rejyonel intravenöz anestezi

UV: Ultra Viyole

mg: Miligram

kg: Kilogram

g: Gram

nm: Nanometre

µg: Mikrometre

DNA: Deoksiribonükleik asit

vb: Ve benzeri

pH: Power of Hydrogen

mL: Mililitre

cm: Santimetre

SFI: Sciatic Function Index

MEGX: Monoetilglisin ksilidi

PL: Topuk ile orta parmak arasındaki uzaklık

TS: Birinci parmak ile beşinci parmak arasındaki uzaklık

ITS: İkinci parmak ile dördüncü parmak arasındaki uzaklık

SPSS: Statistical Packages for the Social Science

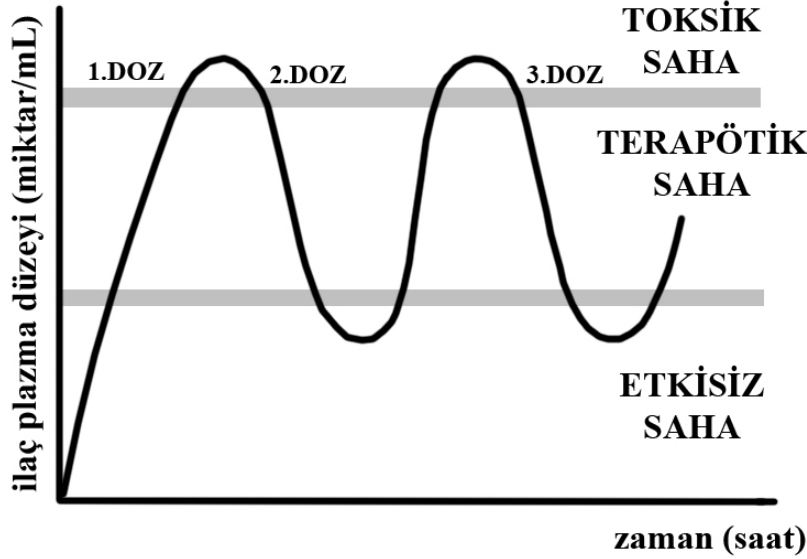
1. GİRİŞ

İlaç alanındaki çalışmaların asıl hedefi çeşitli hastalıkları tedavi edici yeni moleküller geliştirmek olsa da bu çalışmaların uzun yıllar sürmesi, ekonomik yükü ve her zaman beklenen sonuçlara ulaşamaması araştırmacıları alternatif arayışlara yöneltmiştir. Son yıllarda artan bu çalışmaların amacı ilaç dozunu minimuma indirmek, dozlama aralığını uzatmak, hastanın yan ve zararlı etkilerden etkilenmemesini sağlayarak yaşam kalitesini arttırmak olmuştur. Bu beklentilere en iyi yanıt veren sistemler “*kontrollü salım sistemleri*” dir. Her etkin maddenin etkili olduğu bir plazma aralığı vardır ki, buna *terapötik saha* denir. Kan düzeyleri bu alan içerisinde kaldığı sürece tutarlı ve yararlı bir tedavi söz konusudur. İlaç maksimum kan derişimi üzerinde (toksik düzey) toksik etki gösterirken, minimum kan derişimi altında (en düşük etkin düzey) ise gerekli etki için yetersiz kalabilir. İşte bu etkin düzeyin altındaki ve toksik düzeydeki bölgeler boşa harcanmış ilaç miktarını ifade eder. Ayrıca ilaç derişiminin etkin düzeyin altına düşmesi ya da toksik düzeyin üstüne çıkması hastada istenmeyen yan etkilere sebep olabilir [1].

Klasik ilaç kullanım şekilleri etkin maddeyi hemen salıveren sistemlerdir. Bu ilaç şekilleri kısa sürede maksimum kan derişimi düzeyine ulaşır ve hemen plazma düzeyi düşmeye başlar. Düzenli bir dozlama aralığı ile ilacın uygulanması sırasında sürekli olarak terapötik aralıkta kalması sağlanır. Fakat her doz uygulaması ile kan derişiminde dalgalanmalar meydana gelir. Bu dalgalanmaların ortadan kaldırılması için etkin maddenin hazırlanan ilaç şeklinden serbestleşme hızının yavaşlatılmasına çalışılır [2].

Klasik ilaç kullanım şekillerinde ortaya çıkan sorunlar göz önüne alındığında, kontrollü ilaç salın polimerlere ilginin son yıllarda önemli ölçüde artmasının nedeni kolaylıkla anlaşılabilir. İlaç alımında sıklıkla kullanılan klasik yöntemler, tablet ya da kapsüllerin oral yolla alımı ya da enjeksiyonu şeklindedir ve bu yöntemler de sık ve tekrarlanan dozlarda ilaç alımını gerektirmektedir. Bu tür uygulamalarda plazmadaki ilaç düzeyinin zamanla değişimini gösteren grafik Şekil 1.1’de gösterilmiştir. Kontrollü salım sistemleri geliştirilmeden önce, uzun etki sağlayan, ilaç salımları birbirinden farklı olan ve değişik isimlerle ifade edilen birçok sistem vardı. Örneğin uzatılmış salım sistemleri, sürekli salım sistemleri, tekrarlanan doz içeren ve geciktirilmiş salım sistemleri gibi. Bu sistemler birbirlerinden farklı olsalar

da etkin maddeyi klasik ilaç şekillerine göre daha yavaş saliverilmesi ortak paydasında birleşirler ve hepsi modifiye salım sistemleri içerisinde incelenebilirler [3].



Şekil 1.1. Klasik ilaç doz şekillerinde etkin madde plazma derişiminin zamanla değişimi

Bu tez çalışmasında, bir lokal anestezi madde olan lidokaini mikrokürelere yükleyerek kontrollü salım gerçekleşmesi amaçlanmıştır. Böylece klasik ilaç alım yollarına göre daha uzun aralıklarla ilaç alınması, daha uzun süre terapötik sahada ilaç konsantrasyonunun sağlanması gibi avantajlar sağlanması hedeflenmiştir. Bunun için çözücü buharlaştırma yöntemi ile farklı formölasyonlarla mikrokürelere sürekli salım sistemi oluşturularak hazırlanmıştır. Bunların UV-Spektrofotometrede salımı karşılaştırılmış ve buna göre uygun formölasyon seçilmiştir. Seçilen mikrokürenin etki süresini denemek için sıçanlarda yürüme analizi ve in vitro ortamda Bileşik Aksiyon Potansiyeli ölçölmüştür. Elde edilen sonuçlar istatistiksel analizle incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kontrollü Salım Sağlayan Sistemler

Uzun süren çalışmalar neticesinde klasik ilaç şekillerinin kullanımında görülen bazı aksaklıkların giderilmesi için araştırmalar ve çalışmalar yapılmış, hastaya daha az miktarda etkin madde verilerek ve daha uzun aralıklarla ilaç salımı sağlayarak tedavilerin gerçekleştirilmesine çalışılmış ve bu alanda çok önemli adımlar atılmıştır. Konvansiyonel ilaç şekilleri, etkin maddeyi aniden salıveren sistemlerdir. Bu ilaç şekilleri kanda kısa sürede maksimum düzeyine ulaşır ve hemen plazma düzeyine düşmeye başlar. Bu kısa zaman etken maddenin metabolize edilme, parçalanma veya etki alanından uzaklaşma hızına da bağlıdır. Bu yüzden geleneksel ilaçların, ilacın yarı ömrüne bağlı olarak sık aralıklarla uygulanması gerekir. Bu şekilde hastanın günde birkaç kez ilaç alma gereksinimi, ilacın toksik düzeylere ulaşması ile bir takım yan etkilere karşı etkiyi, ilacı daha az sıklıkta ve daha az dozda alarak sağlamak üzere etken maddenin serbestleştirilmesinin yavaşlatılması yoluna gidilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda geliştirilen farmasötik şekillere “Kontrollü Salım Yapan Sistemler” olarak adlandırılmıştır.

Genelde kontrollü salım yapan sistemlerde şu özelliklerin bulunması gereklidir:

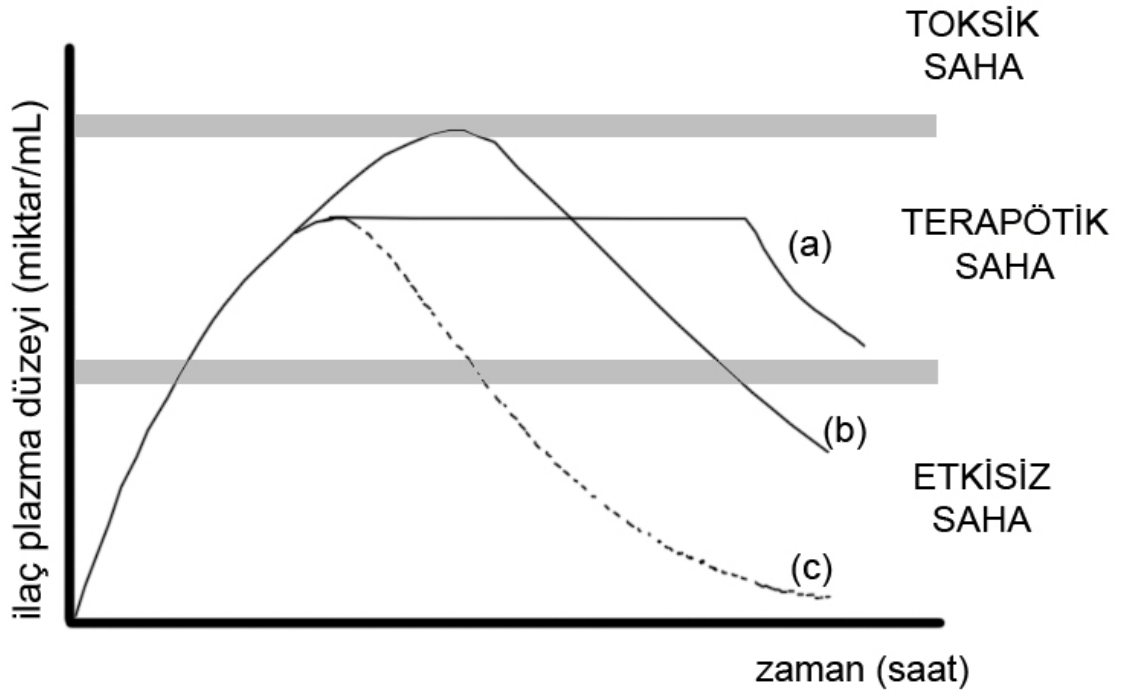
- Sabit etkin madde düzeyi ve buna bağlı olarak ilacın etkisinin sürekli olabilmesi için, önceden belirlenen hızda, istenilen süre kadar etkin madde salımı gerçekleştirilebilmelidir.
- İlacın etkisini lokalize etmek için, kontrollü salım yapan sistemlerin hastalıklı dokuya yerleştirilebilir olmalıdır.
- Uygun taşıyıcıların kullanımı ile etkin madde hedef bölgelere ulaştırılabilmelidir.

Kontrollü salım yapan sistemlerden etkin madde salımının uzatılmış etkili ve klasik ilaç şekillerine göre farkı Şekil 2.1’de verilmiştir.

Tekrarlanan doz içeren sistemler (repeat action systems): Tek bir dozaj şekli içinde etkin maddenin birden fazla dozu vardır ve bu dozlar belli zaman aralıkları ile salınırlar.

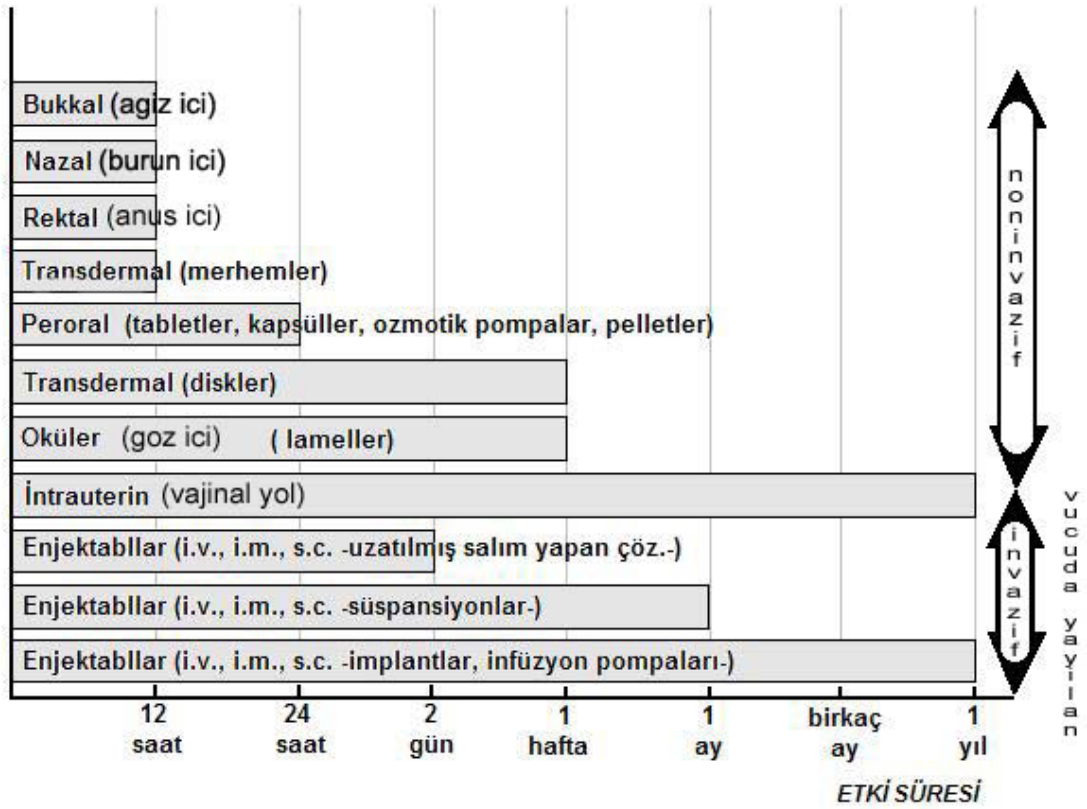
Geciktirilmiş salım sistemleri (delayed release systems): Etkin maddenin sistemden salımı belli bir bölgede olmaktadır. Genellikle enterik kaplı tabletler için kullanılmaktadır.

Sürekli salım sistemleri (sustained release systems): Bu sistemler etkin maddenin plazma veya doku düzeyini alışılmış şekillere göre daha uzun süre devam ettirebilirler. Ancak sistem bulunduğu ortam şartlarından etkilenebildiği için salım mekanizmasını önceden belirlemek güçtür. Yavaşlatılmış salım sistemleri ile derişime bağı yan etkiler azaltılabilir. Bu sistemler doz aralığında artışa neden olmazlar. Kontrollü salım sistemleri ideal olarak istenen farmakolojik etkiyi mümkün olduğu kadar hızlı bir şekilde oluşturmak üzere etkin maddeyi vücuda veren yükleme dozu kısmı ile etkin maddeyi daha yavaş ve sabit hızda vücuda veren, farmakolojik etkinin uzun süre devamını sağlayan sürdürme dozu kısmını içerir. Sürdürme dozunun salım hızı, etkin maddenin eliminasyonu ile vücuttan atılan miktarını yeniden sağlayacak şekilde düzenlenmiştir. Günümüzde kontrollü salım sistemleri denildiğinde, etki süresinin uzun olmasının yanında salım hızını önceden belirlenmiş ve tekrarlanabilir olduğu sistemler anlaşılmalıdır [4-5].



Şekil 2.1. Etkin madde kan düzeyi-zaman eğrileri ile kontrollü salım yapan, uzatılmış etkili klasik salım yapan sistemler arasındaki farklar

Kontrollü salım sağlayan preparatlar, etkin maddenin fizikokimyasal, farmakolojik ve farmakokinetik özelliklerine bağlı belirli terapötik hedeflere özgül tasarlanırlar. Değişik salım karakterlerinin gözlendiği kontrollü salım sistemlerinin farklı tipleri ve etki süreleri Şekil 2.2’de gösterilmektedir.



Şekil 2.2. Kontrollü salım yapan sistemlerin/araçların tipleri, veriliş yolları ve etki sürelerinin şematik diyagramı [6]

2.1.1. Kontrollü Salım Yapan Sistemlerin Sınıflandırılması

Salım mekanizmalarına göre sistemler:

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

1- Difüzyon kontrollü sistemler

-Membran (rezervuar) sistemler

-Matriks (monolitik) sistemler

2- Kimyasal kontrollü sistemler

-Vücutta aşınan sistemler

-Zincire takılı sistemler

3- Çözücünün harekete geçirdiği sistemler

-Şişme kontrollü sistemler

-Ozmotik kontrollü sistemler

4- Difüzyon ve kimyasal kontrollü sistemler [6]

2.1.1.1. Difüzyon kontrollü sistemler

Difüzyon kontrollü sistemler en yaygın olarak kullanılan sistemlerdir. Bu sistemlerde etkin maddenin salım hızı, etkin maddenin suda çözünmeyen bir polimerden difüzyonu ile kontrol edilir. Membran ve matriks sistemler olmak üzere iki şekilde hazırlanırlar.

2.1.1.1.1. Membran sistemler

İlaç taşıyıcı sistemin etrafı suda çözünmeyen polimer bir membranla kaplanmıştır.

Etkin madde, membran içinde dağılır. Sonra membrandan sistemi çevreleyen ortama difüze olur.

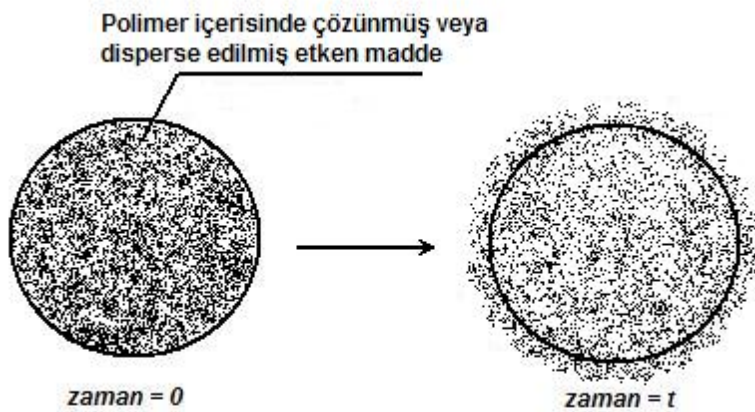
Kontrollü salım sağlayan membrandan difüzyonla etkin madde salımının kontrol edildiği bu sistemlerde; etkin maddenin dağılma ve difüzyon katsayıları, membranın kalınlığı saptanarak salım hızı önceden belirlenebilir. Membrandan difüzyonla salım kontrol eden sistemler sıfırıncı dereceden salım sağlarlar. Sıfırıncı dereceden salımdan sapmanın iki nedeni vardır. Birinci neden; etkin maddenin membran yüzeyinde birikmesidir. Etkin maddenin membran yüzeyinden uzaklaştırılması yavaş olup, etkin madde derişimi zamanla membran yüzeyinde artar. Suda çözünürlüğü sınırlı olan etkin maddeler membran yüzeyinde doyunluk derişimine ulaşarak bu noktada difüzyonu durdururlar. Difüzyonun durduğu andan itibaren etkin madde salımı çözünme ortamının membran yüzeyinden etkin maddeyi uzaklaştırma hızı tarafından kontrol edilir. İkinci neden ise; ani salımdır. Etkin madde, membranı doyunluk derişimine yaklaştırdığında, farmasötik dozaj şekli veya aygıt aniden çözünme ortamına konulduğunda, etkin madde membrandan hızla çözünme ortamına geçer. Bu olaya ani ilaç salımı veya “burst

effect” denir. Ani salının büyüklüğü etkin maddenin membran içindeki derişiminin artışı, membranın kalınlığı ve membrandaki birikme süresine bağıdır. Membran sistemlerde doğal, yarı sentetik ve sentetik çeşitli polimerler kullanılmaktadır. Multipartiküler membran sistemler tablet, kapsül veya süspansiyon tipi preparatlar haline getirilebilir [7-8].

2.1.1.1.2. Matriks sistemler

Bu sistemlerde etkin madde çözünmeyen bir polimerin oluşturduğu iskelet yapı içerisinde Şekil 2.3’ deki gibi çözünmüş veya dağılmıştır. Matriks sistemler genellikle tablet şeklinde hazırlanır. Etkin madde toz halindeki çözünmeyen polimer ile karıştırılıp doğrudan veya granülasyondan sonra veya polimer ile katı dispersiyonu hazırlandıktan sonra tablet basılır. Granülasyonda bilinen bağlayıcı maddeler veya polimerin çözündüğü fakat etkin maddenin çözünmediği çözücüler kullanılır. Tablet basma sırasında partiküller veya granüller basınçla birbirine kaynar ve homojen (gözeneksiz) bir matriks oluşur. Matriks materyaline hidrofil maddeler eklenerek heterojen (gözenekli) matriksler oluşur.

Sisteme sıvı girdiğinde hidrofil maddeler hızla çözünüp uzaklaşarak matriksin içinde boşluklar oluşur ve etkin maddenin difüzyonu bu kanallardan olur.



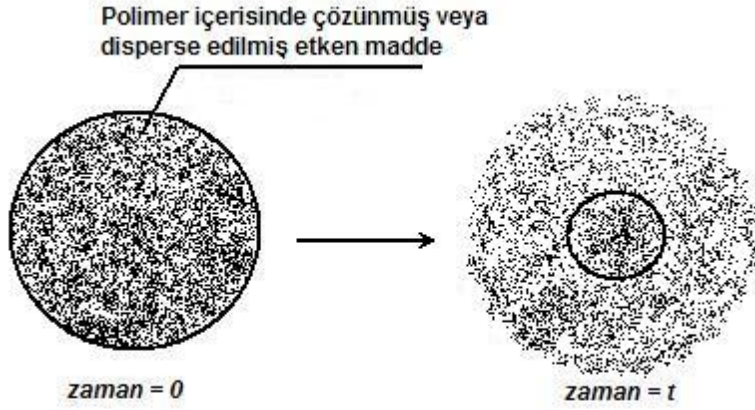
Şekil 2.3. Difüzyon kontrollü matriks sistemlerin şematik görünümü

Maliyetin düşük olmasına karşılık sıfırıncı dereceden salım hızı elde edilememesi bu sistemlerin dezavantajıdır [9]. Zamanla salım hızının azalmasının sebebi ise, önce membran yüzeyine yakın kısımdaki etkin madde moleküllerinin kolayca dışarı difüzenmesi, bunların bitimi ile iç taraftaki moleküllerin daha uzun bir yol katederek difüzenmeleridir. Bu sebeple salım boyunca sabit bir salım hızı elde edilemez [10].

2.1.1.2. Kimyasal kontrollü sistemler

2.1.1.2.1. Vücutta aşınan sistemler

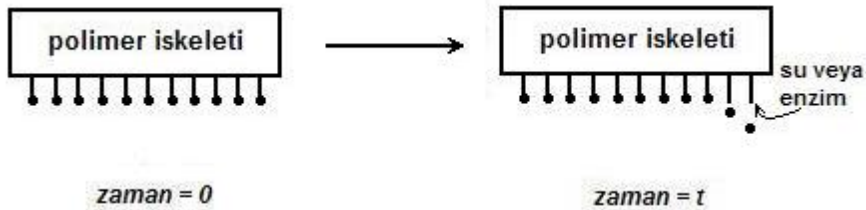
Etkin madde polimer içinde homojen olarak dağıtılmıştır. Şekil 2.4’de görüldüğü gibi etkin madde difüzyonla salınırken polimer faz kütlesi erozyon nedeniyle azalmaktadır. Eğer polimerin biyolojik olarak parçalanma tepkimesinin kinetiği biliniyorsa, bu tür sistemler için matematiksel eşitlikler elde edilebilmektedir. Etkin madde salımının oluşması için tek faktör olarak yüzey (heterojen) erozyonu sağlanabilirse, bu durum ideal bir durum olarak belirtilmektedir. Ancak pratikte nadiren gözlenmektedir. Çoğunlukla homojen (bulk) erozyon oluşmaktadır. Ayrıca erozyon işlemine ilaveten difüzyon ile de etkin madde salımının olması yorumu güçleştirmektedir. Bununla birlikte; aşınmaya uğrayan polimer matriks vücut tarafından absorbe edildiğinden, bu tür implantların kullanımında cerrahi işlem gerekmez. Ancak, parçalanma ürünlerinin toksik, immunojenik veya kanser yapıcı olabileceği göz önünde tutulmalıdır.



Şekil 2.4. Vücutta aşınan sistemlerin şematik görünümü

2.1.1.2.2. Zincire takılı sistemler

Bu sistemlerde Şekil 2.5' te şematik olarak gösterildiği gibi, etkin madde bir polimer zincirine kimyasal olarak bağlanmıştır ve aradaki bağın hidrolitik veya enzimatik olarak kopması ile etkin madde salınır. Toksisiteyi azaltabilmek, terapötik etkinliği arttırabilmek veya etkin maddeyi belli bir organa ya da hücreye hedeflemek amacıyla kısa süreli kullanıma yönelik kontrollü salım yapan implantlarda kullanılmaktadır. Kullanılan polimer çözünen veya çözünmeyen olabilir. Çözünen polimerler genelde hücrelere hedeflendirme gibi taşıyıcı amaçla; çözünmez olanlar ise daha uzun süreli kullanımlar için hazırlanan kontrollü salım yapan implantlarda kullanılmaktadır. Zincire takılı sistemlerin diğer kontrollü salım sistemlerine göre bir avantajı; sistemin ağırlıkça %80'inin etkin madde olmasıdır. Klasik taşıyıcı sistemlerinde yapının ağırlıkça %70-90'ının polimer olduğu göz önünde tutulursa, bunun ekonomik yönden önemli bir üstünlük olduğu düşünülmelidir.

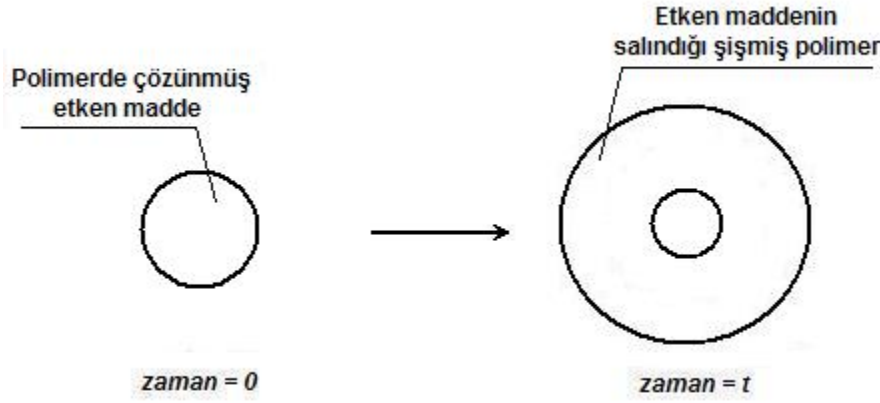


Şekil 2.5. Zincire takılı sistemlerin şematik görünümü

2.1.1.3. Çözücünün harekete geçirdiği sistemler

2.1.1.3.1. Şişme kontrollü sistemler

Bu sistemlerde salım, polimerin bir çözücü varlığında camsı durumdan kauçuğumsu duruma geçişi ve bu durumda ortaya çıkan makromoleküler gevşeme sonucu gerçekleşir. Çözücü moleküllerinin camsı bölge içinde neden olduğu baskı sonucu, polimer moleküllerinin uçtan uca uzaklığında ve dönme yarıçapında artış meydana gelmekte ve böylece çözücü molekülleri camsı bölge içine girmektedir [11].

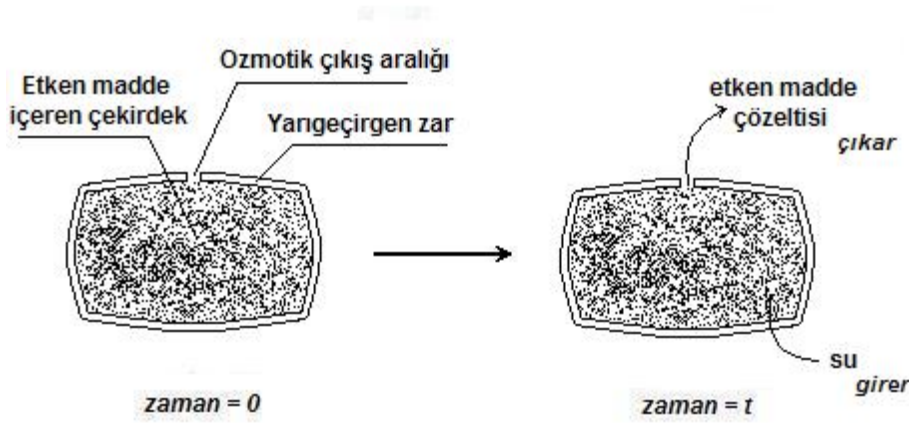


Şekil 2.6. Şişme kontrollü sistemlerin şematik görünümü

Bu sistemlerde Şekil 2.6'da gösterildiği gibi, etkin madde bir polimer çözeltisinde çözülür veya dağıtılır. Daha sonra çözücü uzaklaştırılarak çözücüsüz camsı polimer matriks elde edilir. Bu polimer-etkin madde bileşimi çözünme ortamına (genelde sudur) konulunca çözücünün polimer matriks içine girişi başlar. Polimer şişer ve camsı geçiş sıcaklığı ortam sıcaklığının altına düşer. Şişmiş polimer kauçuğumsu durumdadır ve etkin madde bu durumdaki polimer içinde difüze olarak dışarı doğru salınır. Şişmenin neden olduğu camsı ve kauçuğumsu bölgeleri ayıran hareketli yüzeyin yakınındaki jelimsi bölgede görülen makromoleküler gevşeme ve salım ortamının polimer içindeki derişimi, bu sistemlerde salım hızını kontrol eder.

2.1.1.3.2. Ozmotik kontrollü sistemler

Bu sistemlerde difüzyonla membrandan sistemin içine giren sıvının yarattığı ozmotik basınç etkin maddenin dışarı çıkmasını kontrol eder (Şekil 2.7). Etkin madde yarı geçirgen bir membran içindedir ve genellikle derişimi, doygunluk sınırının üstündedir. Sistemde ozmotik işlemi yürüten bir tuz da bulunabilmektedir. Ozmotik sistem su veya biyolojik sıvı ile temas ettiğinde, su yarı geçirgen membranın gözeneklerinden içeriye girmekte ve böylece etkin madde çözünmektedir. Etkin madde, bu membrandan difüze olamayacağı için lazer ile açılmış olan delikten salıverilmektedir.



Şekil 2.7. Ozmotik kontrollü sistemlerin şematik görünümü

Ozmotik sistemlerdeki yarı geçirgen membranın kalınlığına, alanına ve bileşimine bağlı olarak sıvının tablet içine giriş hızı dolayısıyla da etkin madde çözeltisini çıkış hızı değişir. Salım hızı difüzyon kontrollü sistemlerden yüksektir, genellikle etkin maddenin özelliklerinden bağımsızdır ve biyolojik ortamdan (pH, enzim aktivitesi gibi) etkilenmez. Bu sistemlerden etkin madde salımı sıfırıncı derece kinetikle gerçekleşmektedir. Son yıllarda porozitesi kontrollü membranlarla kaplı sistemler de geliştirilmiştir. Kaplama materyaline suda çözünen maddeler eklenerek su ile temas ettiğinde belli sayıda çıkış deliği oluşması ve ozmotik ajanların etkisiyle bu

gözeneklerden salım hedeflenmiştir. Asimetrik membran kaplanarak da hız kontrol edilebilmiştir [12].

Veriliş yollarına göre sistemler: İlacın veriliş yolu terapötik sonucu doğrudan etkiler [13]. Kontrollü salım sistemleri için en fazla kullanılan veriliş yolları oral ve parenteral yollar olup son yıllarda transdermal yol da her geçen gün önem kazanmaktadır. Son zamanlarda biyoteknoloji ürünü pek çok terapötik peptit ve proteinin biyofiziksel ve biyokimyasal özellikleri, veriliş yolu ve ilaç tasarımı göz önünde tutulmaktadır. Bu bölümde ilaç veriliş yolları ve ilgili ticari olarak piyasada bulunan kontrollü salım sistemlerinden de bazı örnekler verilmiştir [14].

Parenteral: Parenteral yolla kullanılan kontrollü salım sistemlerinde, ilaçların salım mekanizmaları çözünmeyle kontrol edilen depo formülasyon, adsorpsiyon tipi depo formülasyon, mikrokapsüllenmiş depo preparat veya esterleştirmeyle hazırlanan depo preparat şeklinde olabilir. Depo tipi parenteral kontrollü salım sistemlerinin hazırlanmasında değişik teknikler kullanılır. Bunlar arasında viskoz taşıyıcılar kullanılması, süspansiyon hazırlama, etkin maddelerin az çözünür türevlerinin hazırlanması, biyoparçalanır mikrokürelerin hazırlanması sayılabilir. Biyoparçalanır mikroküreler özellikle peptit, protein gibi kolay bozunur yapıdaki ilaçları da koruduğu için her geçen gün önem kazanmaktadır.

Oküler (göz içi): Gözün korneası üzerine veya kenar boşluklarına sürme ya da yerleştirme yoludur. 1970'li yıllarda yapılan ilk çalışmalardan sonra, gözde ilacın etki süresini uzatmak, sık uygulama gereksinimini azaltmak, gece tedavisini düzenli hale getirmek, ilacın yan etkilerini önlemek ve istenilen biyoyararlanımı sağlamak amacı ile yeni oküler sistemler geliştirilmektedir. Oküler sistemler, ilacı serbestleştirme mekanizmalarına göre difüzyon kontrollü ve kimyasal kontrollü sistemler olarak sınıflandırılabilir. Oküler yolla konvansiyonel göz damlaları kullanıldığında etki süresi çok kısa olup oküler biyoyararlanım çok düşüktür.

Glokom tedavisi için bir hafta süre ile yavaş bir şekilde Pilocarpine adlı etkin maddeyi salan ve etilenvinil asetat kopolimerlerinden oluşan Ocusert® isimli kontrollü salım cihazı örnektir. Fakat hasta uyumunun düşük olması ve potansiyel sistemik yan etkilerin görülmesi söz konusudur.

Bukkal (ağız içi): Yanak içine uygulanan bu sistemler küçük disk veya küre şeklindedir ve mukus ile temas ettiklerinde yerel olarak taşıdıkları ilacı

serbestleştirirler. Diş eti hastalıkları ve ağız yaralarında kullanılır. Genelde bu yolla hızlı absorpsiyon sağlanır. Absorpsiyon sonrası etkin madde sistemik dolaşıma geçer. Böylece bukal yolla ilaç uygulamada ilk geçiş etkisi ortadan kaldırılmış olur. Ticari olarak piyasada nikotin, melatonin, lorazepam, floroglusinol bulunmaktadır. Bu ilaçların ticari dozaj şekilleri tablet, çiğneme tableti, çözelti, sakız ve yama şeklindedir.

Nazal (burun içi): Burun mukozasına yapıştırma yoludur. Özellikle parenteral yolla salıma alternatif oluşturur. Nazal yolla absorplanan bir ilacın sistemik etkisi oral yola göre daha fazla bulunmuştur. Bu durum özellikle gastrointestinal sistemden zor absorplanan etkin maddeler için geçerlidir. Nazal mukozasının pH'sı 7,2 civarındadır ve yalnızca bu pH'da iyonize olmayan etkin maddeler bu yolla absorbe olabilir. Etkin maddenin etkili olabilmesi için ilacın nazal boşlukta belli bir süre kalması gerekir. İlaç; toz veya çözelti halinde uygulandığında mukus sıvısı ile 5 mm/dak hızla boğaz yoluna akar. Bu sebeple formülasyonlara nazal boşlukta kalma süresini arttırma amaçlı viskozite arttırıcı, absorpsiyonu arttırmak için yüzey etkin maddeler ilave edilir. Nazal yolla ilaç verildiğinde karaciğerden ilk geçiş etkisi ortadan kaldırılarak absorpsiyon profili elde edilir. Desmopresin, lipresin, oksitosin ve nafarelinasetat içeren dört preparatı mevcuttur.

Oral: En fazla kullanılan ilaç verilme yolu olmasına rağmen; ilaçların absorpsiyon mekanizmaları ile ilgili bilgi henüz tam olarak belli değildir. Ayrıca oral ilaç kullanımında; midede ilaçların kimyasal parçalanması gastrik boşalma, bağırsak hareketliliği, spesifik absorpsiyon bölgeleri oral ilaç kullanımını sınırlayan faktörlerdir. Bu sınırlayıcı faktörler ilaçların biyoyararlanımında birey içi ve bireyler arası değişikliklere neden olabilir. Bundan dolayı kullanım alanı sınırlanmaktadır. Oral yolla ilaç verildikten sonra ilacın etkisi; dozaj şekillerinin özelliklerine, ilacın eliminasyon hızına, gastrointestinal kanalda kalış süresine bağlıdır. Absorpsiyon bölgesinde ilaç derişimini arttırarak, etki yerindeki ilaç derişimini arttırmak şeklindeki varsayımından yola çıkarak kolona hedeflendirilmiş dozaj şekilleri geliştirilmiştir.

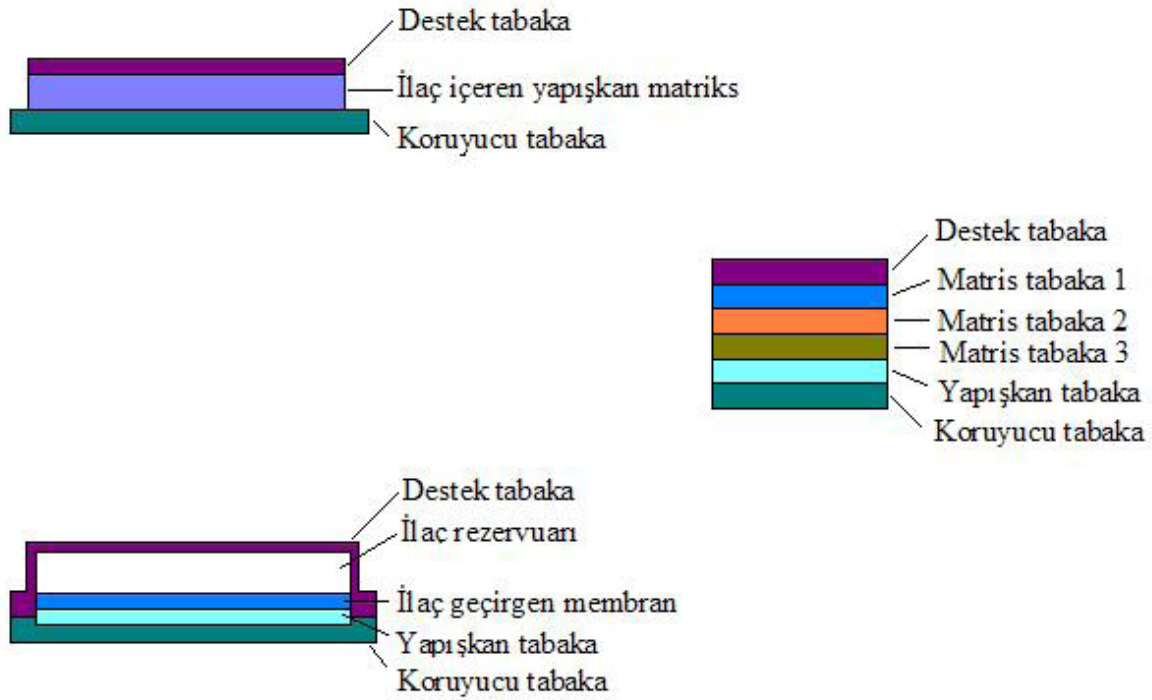
Pulmoner yol: Akciğerlere ağız veya burundan püskürtme yolu. Astım gibi solunumla ilgili hastalıkların tedavisinde akciğere yerel salım gerçekleştirilmektedir.

Akciğerlerin alveol içeren kısmı, geniş yüzey alanı, ince doku tabakası ve sınırlı miktarda proteolitik (protein parçalayıcı) enzim içermesi gibi avantajları nedeniyle ilaç salımı için son derece uygun bir bölgedir.

Rektal: Anüs yoluyla kalın barsağın en alt bölgesine uygulama. Genelde gastrointestinal yan etkiler nedeniyle oral yolun kullanılamadığı durumlarda alternatif bir yoldur. Rektal yolla ilaç verilmesinde karaciğerin ilk geçiş etkisi ortadan kaldırılır veya çok azaltılır. Bu yolla etkin maddenin biyoyararlılığının yüksek olması için maddenin sudaki çözünürlüğünün az olması gerekir. İndometasin, diklofenak sodyum, naproksen gibi maddelerin bu yolla biyoyararlılığı oral yola göre daha iyi olduğu ve plazma düzeyindeki sapmaların da oral yola göre daha az olduğu bulunmuştur. Bunun sebebi rektum pH'sının daha sabit olması gösterilebilir. Kontrollü salım sistemleri için rektal yolun kullanımının sakıncaları da vardır. Rektum sıvısının azlığı, absorpsiyon için yüzey alanının küçük olması ve defekasyon (dışkı yapma) şeklinde sıralanabilir.

Vajinal ve Intrauterin: Vajina içinde kullanılan kontrollü salım sistemleri, steroidal yapıda spermisit maddeler içerir ve doğum kontrolü amacıyla kullanılır. Pek çok steroidin intravajinal yolla absorpsiyonu oral yoldan daha yüksektir.

Transdermal sistemler: Kol ve kulak arkası derisi üzerine yapıştırma yoluyla uygulama. Deri çoğu ilaçlar için geçirgen değildir. Ancak küçük lipofilik (yağimsı) ilaçlar düşük hızlarda deriden geçebilirler. Transdermal sistemlerde intravenöz infüzyonla ilaç verildiğinde, karaciğerin ilk geçiş etkisi ortadan kalkar ve uzun süreli sabit ilaç düzeyi sağlanır. Sigara bağımlılığının tedavisinde kullanılan nikotin salan transdermal sistemlerin 12 haftalık kullanım süresi sonunda kişilerin sigarayı bırakmasında etkili olduğu görülmüştür [15]. Şekil 2.8.'de çeşitli transdermal ilaç salım sistemlerinin kesit yapıları gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Çeşitli transdermal ilaç salım sistemlerinin kesit yapıları

2.1.2. Kontrollü Salım Sistemlerinin Kullanım Alanları

Kontrollü salım; tıp, eczacılık, kimya, kozmetik, çevre, tarım ve hayvancılık alanlarında uygulamaları olan ve giderek üzerinde daha fazla çalışılmakta olan bir konudur. En yaygın ve eski uygulamaları tıp ve eczacılık alanlarında görülmekte olup polimer teknolojisi geliştikçe uygulama alanlarının da gelişeceği görülen bir gerçektir. Tıp alanındaki uygulamalarda tanı, tedavi ve cerrahi amaçlı kontrollü salım sistemlerinden faydalanılmaktadır. Tanı amaçlı uygulamada; polimeraz zincir reaksiyonu artık monoklonal antikor yapısındaki tanı kitleri ile yaygın biçimde çalışmalar sürdürülmektedir. Tedavi amacı ile şu anda piyasada mevcut olan ve rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmiş olan çok sayıda peptit veya protein yapısında ilacın parenteral şekli kullanılmaktadır. Cerrahi uygulamalarda ise biyomedikal malzemeler kullanılarak doku ve organlardaki hasarların giderilmesine çalışılmaktadır. Tarım ve çevre alanında da kontrollü salım sistemleri pestisitlerin ve diğer biyoetkin maddelerin etkinliğini arttırmak ve çevreye olumsuz etkilerini azaltmak üzere yaygın biçimde kullanılır. Veteriner alanında besi hayvanlarının

daha fazla süt ve et verebilmesi, büyüme hızının artması ve vücut yağlarının azalarak et/yağ oranını arttırılması için sığır büyüme hormonu (bGH) kontrollü salım sistemleri ile verilmekte ve bu çalışmalar geliştirilmeye devam etmektedir. Günümüzde nemlendiriciler, güneş losyonları, yaşlanmayı önleyici kremler gibi birçok cilt bakım preparatı formülasyonları bakımından klasik kozmetiklerden farklıdır. Bu preparatlar kozmetik alandaki çalışmalara örnektir. Bunlara ek olarak; uzun süreli doğum kontrolü sağlayan preparatlar, şeker hastalığı ve pıhtılaşmayı önleme gibi daha birçok uygulama alanı söz konusudur [16].

2.1.3. Kontrollü salım yapan sistemlerin avantaj ve dezavantajları

2.1.3.1. Avantajlar

- Sürekli olarak terapötik sahada kalan ve bu alandaki iniş ve çıkışları minimize edilen bir etkin madde salımı sağlanmaktadır. Bu şekilde önceden planlanan süre boyunca vücutta etkin maddenin plazma düzeyi etkinli alanda sabit tutulabilmektedir.
- Uzun süre sabit terapötik plazma düzeyi sağlanabildiği için farmakolojik cevap da uzun ve tekdüze olmaktadır. Etkin madde salımı kontrollü olduğu için, yüksek derişimlerde mide barsak mukozasında tahriş yapabilecek maddelerin bu zararlı etkileri azaltılabilmekte veya önlenebilmektedir.
- Düşük dozlarda tedavi sağlanabildiğinden etkin maddenin (örneğin antikanser ilaçlarında) yan ve toksik etkilerinin çok azalması veya tamamen ortadan kalkması söz konusudur.
- Hasta uyumu klasik ilaç kullanım şekillerine göre daha iyidir. Günde birkaç dozda ilaç alma gereksinimi ortadan kalkmakta, hastanın gece ilaç alımı veya ilaç almayı unutması gibi ihtimallerin önüne geçilebilmektedir.
- Hastaneler açısından ilaç dağıtımı ve süresi minimuma indirilmekte, reçete hazırlama işlemleri azalmakta ve dolayısıyla ekonomik avantajlar sağlamaktadır.
- Etkin madde; tedavisi istenilen bölgeye, organa, dokuya veya hücreye gönderilebilmektedir. Bu sayede kullanılan etkin maddenin sistematik yan etkileri azaltılmış, sistemik verişe göre de doz azalmış olur [17-18-19].

- Hastanın yaşam kalitesinin artması ve hasta bakımının kolaylaşması sağlanmıştır.

Tedavi sırasında etkin maddenin yan ve toksik etkilerinin görülmemesi, sık sık ilaç alınmasına gereksinim olmaması hastaya ve hasta bakımını yapan kişilere büyük kolaylıklar sağlar. Çoğu kez hasta kendi bakımını sağlayabilir. Özellikle az gelişmiş bölgelerde kontrollü salım sağlayan sistemlerinin kullanımı, tedavinin kolay ve düzenli olmasını sağlar. Böylece sağlık hizmetleri daha ucuz ve verimli olur [20-21].

2.1.3.2. Dezavantajlar

Kontrollü salım sistemleri bugün birçok hastalığın tedavisinde başarı ile uygulanmaktadır. Ancak bu sistemlerin önemli avantajlarının yanı sıra bazı sakıncaları da vardır.

- Üretim sırasında veya sonradan oluşmuş çatlaklar sebebiyle sistemin güvenilirliğinin garanti edilememesi gibi durumlarda, sistem vücuda verildikten veya yerleştirildikten sonra istenildiği an ilaç salımının durdurulamaması klasik ilaç kullanım şekillerine göre bir dezavantajdır.
- Doz seçimi limitlidir. Kırılmaz, toz haline getirilemez, suda çözünemez olduklarından belirli bir dozda hazırlanan tek bir ilaç şeklinin diğer bazı konvansiyonel ilaçlarda olduğu gibi kişiye göre daha alt birimlerdeki dozlara bölünmesi mümkün olmayabilir.
- Formülasyonlarda kullanılan etkin madde dozu yüksek olduğundan, kullanım sırasında herhangi bir sebeple (ilacın mekanik dayanıksızlığı, ilacın çiğnenmesi, ezilmesi, alkolle alımı vb.) hızlı salım olduğunda etkin madde miktarı vücutta toksik düzeylere ulaşabilir.
- İlacın hasta tarafından alınmasının unutulması, tedavi sırasında etkide azalma riskinin diğer ilaç şekillerine göre daha fazla olmasına neden olmaktadır.
- Kontrollü salım sistemlerinin birçoğunun yapıtaşı olan polimerlerin ve bu polimerlerin parçalanma ürünlerinin toksik etki veya biyolojik uyumsuzluk göstermeleri ihtimali de vardır.

- Kompleks formülasyon yapıları nedeniyle, bazı stabilite sorunları ile karşılaşılabilir ve bu sorunlar etkin maddenin planlanandan daha yavaş ya da daha hızlı salımına neden olabilir.
- Her ilacın kontrollü salım sistemi hazırlanamayacağı gibi her ilaca uygun tek bir hazırlama yönteminin olmaması da bir dezavantajdır. Örneğin; dozu fazla olan etkin maddelerin (sülfamitler) kontrollü salım sistemleri, sistem büyüklüğü sebebiyle hazırlanamaz. Aynı şekilde yarılanma ömrü çok kısa ilaçlar (penisilin) da uygun bir doz değildir. Ayrıca yarılanma ömürleri çok uzun olan ilaçların (diazepam) zaten kontrollü salım sistemlerinin hazırlanmasına gerek yoktur.
- Formülasyonların geliştirilmesi ve üretimi diğer ilaç şekillerine göre çok daha pahalıdır [22].

2.2. Mikroküreler

2.2.1. Mikrokürelerin Tanım ve Özellikleri

Mikroküreler; içerdikleri etkin maddenin moleküler düzeyde veya makroskobik partiküller halinde disperse edildiği, çapları birkaç mikrometreden birkaç yüz mikrometreye kadar değişebilen, vücutta parçalanabilen veya parçalanamayan, farklı yüzey ve yığın yapılarında hazırlanabilen, monolitik yapıda, katı, küresel partiküller şeklindeki mikro taşıyıcılardır. Bu mikro taşıyıcıların uygulama alanları oldukça geniştir. Mikro taşıyıcıların kullanım amacına göre; boyut ve boy dağılımı, yoğunluğu, yüzey veya yığın yapısı, gözenekliliği ve biyouyumluluğu uygulama alanı seçiminde önemli ölçütlerdir [23].

Mikrokürelerin kullanım alanlarına örnekler;

- Ayırma işlemleri
- Biyolojik etkinliğe sahip maddelerin immobilizasyonu
- Hücre çalışmalarında işaretleyici
- Kontrollü salım sistemleri
- Kromatografi kolonlarında kolon dolgu maddesi
- Plastik malzemelerde dolgu maddesi

- Radyoimmunassay ve diğer immunolojik test ve araştırmalar

Mikrokürelerin önemli kullanım alanlarında biri kontrollü salım sistemleridir. Yapı olarak; etkin madde çekirdeğini çevreleyen membran sistemlerinden farklıdır ve mikromatriksler şeklindedir. İlaç salım sistemlerinde mikroküreler, genellikle dispersiyonlar şeklinde uygulanır. Bu sistemler, ağızdan alınarak geciktirilmiş ilaç serbestleşmesinde, deri altına, kas dokusuna veya periton boşluğuna enjeksiyonla implante edilerek bölgesel kontrollü ilaç serbestleştirilmesinde veya kan dolaşımına verilerek hedeflenmiş ilaç dağıtımında kullanılırlar. Bu *in vivo* uygulamalarda mikroküreler, kullanım sonrası taşıyıcıların vücuttan uzaklaştırılma zorluğu nedeniyle biyolojik sistemde parçalanabilen polimerlerden üretilir. Bu polimer matrikslerin hem kendileri hem de parçalanma ürünleri toksik olmamalıdır. Bu uygulamalarda bir diğer önemli özellik mikrokürelerin biyolojik sistemle uyusabilirliğidir. Doku ile iyi uyuşmayan polimer matriksler implant şeklinde uygulandıkları zaman mikroküreler hemen bir kapsül tabakasıyla çevrilir ve bunun sonucu ilaç difüzyonu durur. İleri derecede uyuşmazlıkta şiddetli inflamator cevap ve doku ölümü gözlenir. İlaç salım sistemlerinde ilaç taşıyıcı partiküllerden biri olan mikrokapsüller, mikroküreler ile üretim şekilleri ve sonuç ürün özellikleri açısından farklılıklar gösterir. Mikroküreler; etkin maddenin içinde çözündüğü ya da disperse edildiği bir matriks yapısında iken, mikrokapsüller; sıvı-katı-gaz-süspansüyon-emülsiyon olabilen çekirdek maddenin, çeper maddesi olarak değişik polimerlerle kaplandığı, sıfıncı dereceden salım kinetiğine sahip depo veya membran sistemlerdir. Klinik uygulamalarda oldukça önemli bir yerde bulunan mikroküreleri matriks materyali ve mikroküre açısından sahip olması gereken özelliklerini incelemek mümkündür [24]:

Matriks materyali açısından sahip olması gereken özellikler

- Organizmada parçalanabilmeli
- Salım hızını denetleyebilmeli; etkin maddeyi kontrol edebilen bir hızda salmalı.
- Antijenik etkiye sahip olmamalı,
- Biyolojik yıkılma ile vücuttan uzaklaştırılabilmeli ve yıkılma ürünlerinin toksik etkisi olmamalı veya çok az olmalı.
- Biyolojik yarılanma ömrü yeterince uzun olmalı

- İlacın klinik olarak uygun miktarlarda dağıtımına izin verecek yeterli bir ilaç taşıyabilme kapasitesine sahip olmalı, farklı özellikler içeren geniş bir ilaç çeşidini taşıyabilmeli,
- Enkapsülasyon ve bağlanma sırasında ilacın özelliklerini ve aktivitelerini değiştirmemeli.

Mikroküre açısından sahip olması gereken özellikler

- Sadece istenen hedef dokuya veya organa özgü bir ilaç dağıtımına olanak sağlamalı,
- Kapiler içinden geçmeye uygun partikül şekil ve iriliğine sahip olmalı,
- Hedef bölgeye ulaşmadan önce önemli bir ilaç sızıntısına yok açmamalı, yeterince ilaç taşıma kapasitesine sahip olmalı,
- İlacın plazma enzimleri tarafından inaktive edilmesini önleyebilmeli,
- İlacın doku parankimasına girmesine yardımcı olmalı,
- Etkin madde/maddeler ile uyumlu olmalı,
- Kolay hazırlanabilmeli, hazırlanan ürünün saklanması sırasında etkin madde ve taşıyıcı açısından dayanıklı yani, raf ömrü uzun olmalı.

2.2.2. Mikroküre Hazırlama Yöntemleri

Mikroküre formülasyonları yapılırken, etkin maddenin ve polimerin özellikleri, mikrokürenin tanecik büyüklüğü dağılımı, etkin maddenin mikroküreden etkin madde ve mikrokürenin stabilitesi, etkin madde ve polimer ilişkisi vb. farmasötik değişkenlerin göz önünde bulundurulması gerekir. Mikrokürelerin hazırlanmasında kullanılan pek çok yöntem vardır. Çeşitli kaynaklardan derlenen bu yöntemler aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir.

2.2.2.1. Çözücü buharlaştırma yöntemi

Poliester kökenli polimerler ile mikroküre hazırlanmasında sıklıkla kullanılan bu yöntem iki aşamada gerçekleştirilir. 1.aşamada; etkin madde, polimerin organik

çözeltilisinde dağıtılır. Daha sonra bu karışım yüzey aktif madde içeren ve polimer çözeltisi ile karışmayan sıvı fazda dağıtılır. Böylece emülsiyon oluşur. 2.aşamada; etkin madde içeren polimer damlacıklarından ısıtma, vakum veya oda sıcaklığında, organik çözücünün uzaklaşması sağlanarak sistem bir süspansiyon şekline dönüşür. Çözücünün buharlaşması ile oluşan katı, küresel partiküller şeklindeki mikroküreler santrifüj veya filtrasyon ile ayrılır, yıkanır ve kurutulur. Farklı etkin maddelerin mikrokürelerinin hazırlanmasında bu yöntem sıklıkla kullanılmaktadır [25].

2.2.2.2. Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi

Bu yöntem çözücü buharlaştırma yöntemi ile benzer olmasına rağmen bazı farklılıkları nedeniyle ayrı bir isim almıştır. Yöntemde etkin madde ve polimerin etanolde çözülmesi, bu çözeltinin sulu ortama karıştırılarak ilave edilmesi ve bu karıştırma sırasında etanolün, oluşan damlacıklardan su fazına doğru difüzyonu ile damlacıkların sertleşerek mikroküre haline gelmesinden ibarettir. Emülsiyon çözücü difüzyon yönteminde mikroküre oluşumunda en etkin faktör, etanolün emülsiyon damlacıklarından (yağ fazı) su fazına doğru difüzyon oranıdır.

Çözücü difüzyonu çok hızlı olduğunda stabil Y/S emülsiyon damlaları oluşmazken, difüzyonun çok yavaş olması da işlem sırasında mikrokürelerin agregasyonuna sebep olur. Kullanılacak bazı emülgatör maddelerin (şeker esterleri) etanollü çözeltiliye ilavesi ile etanol difüzyonu arttırılmaktadır [26].

2.2.3. Mikrokürelerden Etkin Maddenin Salımı

Mikroküre ve mikropartiküllerden ilaçların kontrollü bir hızla salımı aşağıdaki mekanizmalarla gerçekleşir ve ilaç salınımında etkili olan parametreler aşağıda belirtilmiştir.

- İlacın polimerik yardımcı maddede dağılımı,
- Polimer aşındıkça hapsedilmiş ilacın salımı,
- İlacın polimerik yardımcı maddenin gözeneklerinden salımı.

Etken maddenin mikrokürelerden salımı yüzey aşınması, toplam küre dağılması, mikroküre hidratasyonu, etkin maddenin difüzyonu ve dezorpsiyonu, sızma, iyon değiştirici reçineler için partikül difüzyonu ve filtrasyonu olayları ile gerçekleşir.

İlacın mikrokürelerden salımı ile ilgili genel prensipler vardır:

- Partikül büyüklüğü azaldıkça yüzey alanı arttığı için salım hızı artar.
- İlacın mikroküreye yüklenme oranı arttıkça salım hızında artış eğilimi görülür.

Gözenekli mikrokürelerden ilaç salınımı genellikle bifazik salımdır. Buna göre, ilk salım fazı hızlı, takiben daha yavaş birinci derece salım görülür. Suda çözünürlüğü yüksek ilaçlarda ilk salım beşinci (Burst effect) dakikada ilacın %95'ine kadar ilerleyebilir [27].

Mikrokürelerin ilaç salımını etkileyen faktörleri:

1-İLAÇ

- i. Mikroküredeki pozisyonu
- ii. Molekül ağırlığı
- iii. Fizikokimyasal özellikler
- iv. Konsantrasyon
- v. İlaç ve matriks arasındaki etkileşim

2-MİKROKÜRE

- i. Matriks materyalinin tipi ve miktarı
- ii. Kürenin büyüklüğü ve yoğunluğu
- iii. Çapraz bağlamanın, denatürasyon ve polimerizasyonun doğası ve süresi

3-ORTAM

- i. PH
- ii. Polarite
- iii. Enzim varlığı

İlaç genellikle iki bölgede bulunmaktadır:

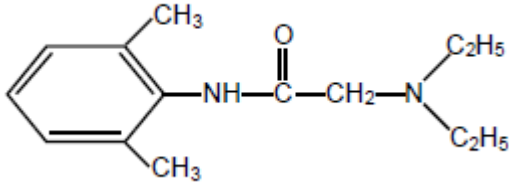
- a) Yüzeyde bulunanlar başlangıçtaki hızlı faza neden olur,

b) Matriks içine hapsedilenlerde salım yavaşır ve difüzyon yoluyla yapılmaktadır [28].

2.3. Kullanılan Kimyasallar

2.3.1. Lidokain (Xylocaine):

Lidokain aminoamid grubu lokal anesteziklerden klinik uygulamaya ilk giren ilaçtır [18]. Kimyasal ismi N-diasetilaminoasetil-2,6 ksidilin hidroklorür olup, kimyasal yapısı Şekil 2.11’de görölmektedir [29].



Şekil 2.9 Lidokainin kimyasal yapısı

Suda serbesçe çözünebilir ve % 0.9 NaCl içindeki % 1’lik solüsyonun pH’sı 6.5-7’dir. Stabilitesi yüksek bir ajandır. Hazırlanmış solüsyonlar ışıktan korunmalıdır [30]. % 8’lik konsantrasyonunda bile dokularda irritasyon yaratmaz. Prokainden 3 kat kuvvetli ve 1.5 kat toksiktir. Klinik özellikleri açısından orta kuvvette ve etki süresine sahip lokal anesteziklerdendir. İnfiltrasyon, periferik sinir blokları ve peridural blok uygulamaları için % 0.5, % 1, % 1.5 ve % 2’lik solüsyonları mevcuttur. Ayrıca % 7.5 glukoz ile kombine % 5’lik lidokain solüsyonu 30-60 dk’lık spinal anestezi uygulamalarında kullanılmaktadır [30]. Topikal anestezi uygulamalarında kullanılmak üzere merhem, jel, visküz, süpozituar ve sprey formları hazırlanmıştır [31].

Çok yaygın olarak kullanılması ve farklı klinik uygulama alanlarının olması sayesinde, insandaki etkileri açısından diğer tüm lokal anesteziklerden daha ayrıntılı bilgiler mevcuttur. Etki süresinin çoğu reyonel anestezi uygulaması için birkaç saat ile sınırlı olması, günübirlik anestezi uygulamaları açısından bir avantaj oluştururken, uzun anestezi uygulamalarında ya da ağrı tedavisinde daha az tercih

edilmektedir. Vazokonstrüktif bir ajan ilavesi ile klinik etki süresi % 50'lere varan oranlarda uzatılabilir [32].

Lidokain, karaciğerde, mikst fonksiyonlu mikrozomal oksidazlar ve amidazlar tarafından metabolize edilirler. Karaciğer lidokain biyotransformasyonunda ana organ olduğu için metabolizma karaciğer kan akımına bağımlıdır. Yine de sadece çok ileri karaciğer yetmezliklerinde metabolizması etkilenmektedir [33]. Lidokainin iki metaboliti monoetilglisin ksilidid (MEGX) ve glisin ksilidid'tir. Lidokainin metabolize olmamış şekilde idrar ile atılımı çok azdır. Ancak metabolitlerinin tümü vücuttan idrar aracılığı ile uzaklaştırılmaktadır [34]. Bununla birlikte, böbrek fonksiyonlarının azalması çok ciddi böbrek fonksiyonlarındaki bozulma birikme oranını daha da arttıracaktır. MEGX lidokaine benzer kardiyovasküler özelliklere sahiptir ve konvülsiyonlara da yol açabilir. Glisin ksilidid lidokaine benzer şekilde kardiyak sodyum kanallarını bloke edebilir ve lidokain ile bu açıdan kompetitif bir yarış içerisine girer. Glisin ksilidid tek başına konvülsiyona yol açmasa da lidokain ve MEGX'in bu yöndeki etkilerini arttırmaktadır [35].

Lidokainin yüksek doz in vitro uygulamaları sonrasında belirlendiği üzere, ortaya çıkan sistemik toksik belirti ve reaksiyonlar ile venöz ilaç konsantrasyonu arasında yakın bir ilişki söz konusudur [36]. Akut lidokain toksikasyonunda başlangıçta eksitasyondan çok SSS depresyonuna ait belirtiler görülür. Zehirlenmenin ileri döneminde konvülsiyonlar belirir [37]. Lidokain malign hipertermi riski olan hastalarda kullanılmamalıdır [38].

2.3.2. Poli (vinil alkol) (PVA)

Poli(vinil alkol); hidrokarbon çözücülere oldukça dayanıklı olan film, tüp ve lif olarak şekillendirilebilen, beyazımsı sert bir polimerdir. Zincirinde hidrofilik gruplar bulunduğu için suyun ve sulu çözeltilerin etkisi büyüktür. Bu yüzden PVA suda çözünebilen ve su ile tamamıyla karışan çözücülerde de nispeten çözünebilen bir polimerdir. Su ile karışmayan solventlere de dikkate değer bir şekilde dirençlidir. Hidrokarbon çözücülerden ve yağlardan etkilenmez. PVA çözeltileri non-Newtonian sıvılardır. Shear etkisi molekül ağırlığındaki artma ile artar. Bütün organik tuzlar, özellikle sülfat ve fosfatlar PVA çözeltilerinde çöktürücü olarak rol oynarlar. Metal tuzları; hidroksil grupları arasındaki molekül içi ve moleküller arası

hidrojen bağlarını arttırarak ya da azaltarak görünür bir şekilde çözünürlüğü etkilerler.

PVA'nın vücuda alınmasının etkileri FDA tarafından (US Food Drug Administration) henüz tam aydınlatılmamış olmasına rağmen fazla toksik bir madde olmadığı görülmektedir [39]. Fareler üzerindeki beslenme çalışmalarında, düşük molekül ağırlıklı PVA'nın yüksek molekül ağırlıklı PVA'dan daha fazla karaciğer ve böbrekler tarafından absorplandığı ortaya çıkmıştır. Kozmetiklerde, bakteri üremesini engelleyen ajan olarak ve haricen uygulanan ilaçların bileşiminde kullanılmaktadır.

2.4. Elektrofizyolojik Çalışma

Yüzlerce sinir hücresinin aynı anda uyarılması ile elde edilen aksiyon potansiyelleri birleşimine Birleşik Aksiyon Potansiyeli (BAP) adı verilir.

Siyatik siniri kesilerek dışarı alındığında doku, sinir hüceleri bağlantılarını, afferent, efferent sinirleri ve reseptörleri içermektedir. Eğer doku eşik değeri ya da eşik değerinin üzerinde bir şiddetle uyarılırsa hücrelerde aksiyon potansiyeli oluşabilecektir.

Aksiyon potansiyelini oluşturmak üzere stimülatör aracılığı ile dışarıdan verilen elektrik sinyali kayıt sırasında BAP'ın hemen önünde gözlenecektir. Bu sinyal uyarı sinyali olarak adlandırılır. Uyarı sinyali ile BAP başlaması arasındaki süre uyarılma süresi (gecikme) olarak adlandırılır.

2.4.1. Bileşik Aksiyon Potansiyeli

Belirgin bir efektör organı hedef alan sinirler, birçok sinir hücresine ait aksonların bir araya toplanarak oluşturduğu ve kılıfla sarılı bir demet yapısındadır. Bu demet yapılarının içeriği sinirin kontrol ettiği hedef organın fonksiyonel özelliğine göre farklılık göstermektedir. Bir sinirin içerisindeki lifler çapları ve miyelin kılıflarının kalınlıkları bakımından farklılıklar gösterebilirler [40]. Bu farklılıklar her bir lifin iletim hızının ve oluşturduğu aksiyon potansiyelinin genliğinin farklı olması anlamına gelir [41].

Eğer sinir demetine yeteri şiddette uyaran tatbik edilirse, demeti oluşturan tüm sinir liflerinin aktiviteleri gözlenir. Gözlenen bu toplam aktivite her bir sinir lifine ait tek lif aksiyon potansiyellerinin (TLAP) toplamından oluşur ve bu potansiyel bileşik aksiyon potansiyeli (BAP) olarak adlandırılır. BAP eğrileri TLAP' nin sahip olduğu özelliklerinden çok farklı özelliklere sahip olmasının yanında oldukça farklı bir şekle sahiptir. Farklı eşik değerlerine sahip liflerin aktiviteleri içerdiğinden TLAP gibi ya hep ya hiç özelliği göstermez. Uyaran şiddeti arttıkça genliği artmaktadır. Eğer uyaran şiddeti, siniri oluşturan tüm sinir liflerini uyarabilecek kadar büyükse BAP'ın genliği sabit bir değere ulaşır. Bu durumda BAP sinyali tüm sinir liflerinin aktivitesini içermektedir. Bu şiddet değerinden itibaren uyaran büyüklüğü ne kadar artırılırsa artırılсын BAP genliğinde bir değişiklik olmaz. BAP'ın mutlak refrakter dönemi, siniri içerisindeki en büyük çaplı, yani en büyük iletim hızına sahip lif grubunun mutlak refrakter dönemine eşit olmalıdır [42].

Kayıt uzaklığı artıldıkça BAP genliğinde azalma ve süresinde artma gözlenirken, gittikçe birbirinden ayrılan tepeler de belirginleşmeye başlar. Bu tepeler farklı iletim hızlarına sahip lif gruplarının oluşturduğu tepeciklerdir. Tepelerin birbirinden ne kadar oranda ayrıştığı (veya uzaklaştığı), lif gruplarının hızlarının ne kadar birbirinden farklı olduğu ile direkt olarak ilgilidir. Bununla birlikte kayıt mesafesinin uzaması ile genliğin azalmasına rağmen ideal koşullarda BAP eğrisi altında kalan alanın sabit kalması beklenir [43].

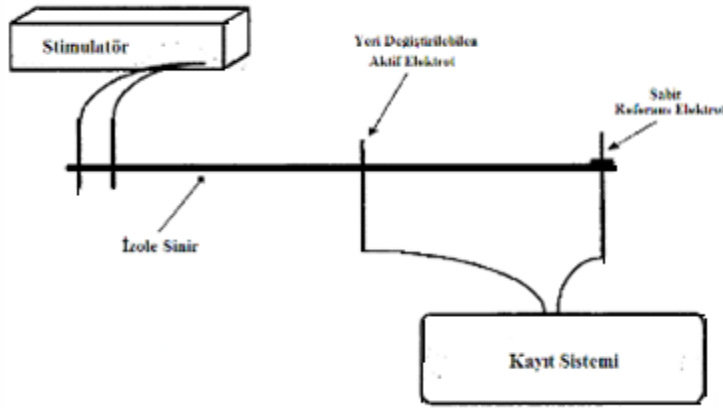
2.4.2. Bileşik Aksiyon Potansiyelinin Kaydedilmesi

Gelişen teknikler sayesinde günümüz teknolojisiyle tek hücreden hücre içi (intraselüler) kayıt alınabilmesi oldukça kolay ve kullanışlı hale gelebilmiş olsa dahi hücre dışı (ekstraselüler) kayıtlar birçok hücrenin bir arada göstermiş olduğu aktiviteyi yansıttığından oldukça büyük öneme sahiptir [44].

İzole periferik sinir deneysel çalışmalarda BAP kayıtları iki temel yöntem kullanılarak yapılmaktadır. Bunlar ekstraselüler ve suction kayıt yöntemleridir [45-46]. Tez çalışması kapsamında BAP kayıtları ekstraselüler kayıt yöntemi ile kaydedilmiştir.

2.4.2.1. Ekstraselüler Kayıt Yöntemi

Bu yöntemde hacim iletken etkilerini en aza indirmek için izole sinir kullanılır. İzole sinir, sinir kutusu içerisine yerleştirilmiş uyarıcı ve kaydedici elektrotlar üzerine yatırılır. Stimülatöre bağlı olan uyarıcı elektrotlar aracılığı ile sinir uyarılır, oluşan BAP sinyalleri istenilen mesafeden kayıt elektrotları aracılığı ile kaydedilir. Kayıt elektrotları elektrot potansiyelini ve gürültüyü en aza indirmek için genellikle Ag/AgCL elektrotlarından yapılır. Şekil 2.10'da ekstraselüler kayıt yönteminin şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 2.10. Ekstraselüler kayıt (monofazik) yönteminin şematik gösterimi [43]

Bazı ekstraselüler kayıt yöntemlerinde hacim iletkeni direncini artırmak ve sinirin dış ortamdan etkilenmesini azaltmak için sükröz, sıvı vazelin vb. gibi yalıtkan akışkanlar kullanılır [47]. İzole sinir bu akışkanın içerisine yatırılır ya da belirli bir bölgesinin bu akışkanın içinden geçmesi sağlanır [48-49].

2.5. Yürüme Analizi

Yürüme analizi ilk olarak Medinaceli et al. tarafından 1982'de tanımlanmıştır. Tanımlamadaki amaçları giderek artan nöroloji bilimiyle ilgilenen araştırmacılara yardımcı olmaktır. Bu analiz yürüyüş şekli, yürüyüş sırasındaki geçici ve yüzeysel arasındaki ilişkiyi kapsamaktadır. Data analizleri; karmaşık bir matematik formülü,

deneysel veriler, deneysel ve normal taraflar arasındaki dört ölçümle kıyaslanır. Formülün sayısal verileri siyatik fonksiyonun göstergesi ile belirlenir (Sciatic Function Index SFI). Bu fonksiyonel iyileşme göstergesi çok sayıda araştırmada kullanılmıştır [50].

Ayak izlerinden birçok ölçüm alınmaktadır. Bunlar:

PL (Print Length) = Topuk ile orta parmak arasındaki uzaklık,

TS (Toe Spread) = Birinci parmak ile beşinci parmak arasındaki uzaklık,

ITS (Intermediary Toe Spread) = İkinci parmak ile dördüncü parmak arasındaki uzaklıktır.

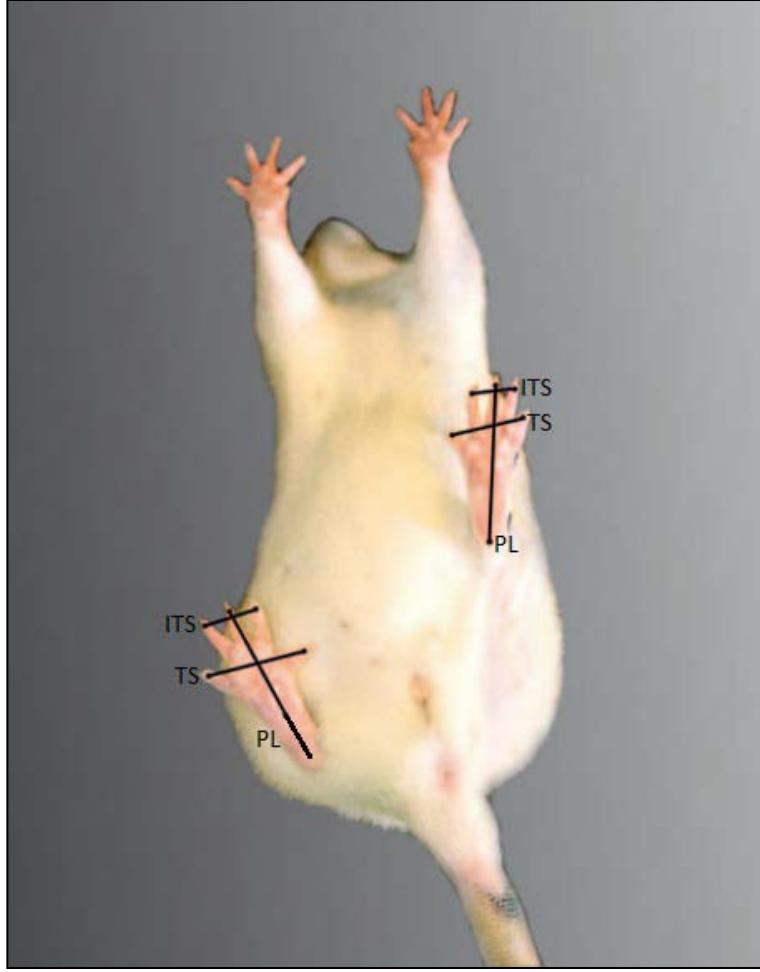
Bu üç ölçüm Şekil 2.11.'de gösterildiği gibi normal ve yüklü ayaktan alınır.

Formül;

$$SFI = [-38,3 \times (EPL-NPL)/NPL] + [109,5 \times (ETS-NTS)/NTS] + [13,3 \times (EITS-NITS)/NITS] - 8,8 \quad [51]$$

Yapılan ölçümler ile sayısal olarak 0 ile -100 arasında değerler elde edilir. Sıfıra yaklaşan değerler hasarsız veya iyileşmiş siyatik sinir fonksiyonunu, -100' e yaklaşan değerler ise hasarlı ve iyileşmemiş siyatik sinir fonksiyonunu ifade eder. 0 normal, -100 tamamen hasarlı SFI'yi gösterir. Normal değerler +11 ve -11 değerleri arasındadır [52].

Hayvan çalışmaları Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarı' nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 8 haftalık, 300-400 g Sprague Dawley ırkı erkek sıçanlar kullanılmıştır. 6 deney grubu ve 6 kontrol grubu olarak çalışılmıştır.



Şekil 2.11. Sıçan ayak tabanı ve SFI ölçüm parametrelerinin gösterilmesi [53]

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Mikrokürelerin Hazırlanması

Mikroküreler hazırlanırken en uygun salınının bulunması için 10 farklı formülasyonda mükroküreler hazırlanmış ve UV-Spektrometrede ölçümleri alınmıştır. Optimum sonuç alınan formülasyonla deneylere devam edilmiştir.

20 mL saf su içerisine 0,2 g PVA eklenir ve tamamen çözündürülür. Şekil 3.1.' deki ısıtıcı ve karıştırıcı bulunan düzenekte sıcaklık 85°C'ye getirilir. İçerisine hazırlanan çözelti eklenir ve 4 saat boyunca karıştırma hızı 250 rpm olacak şekilde karıştırılır [54].



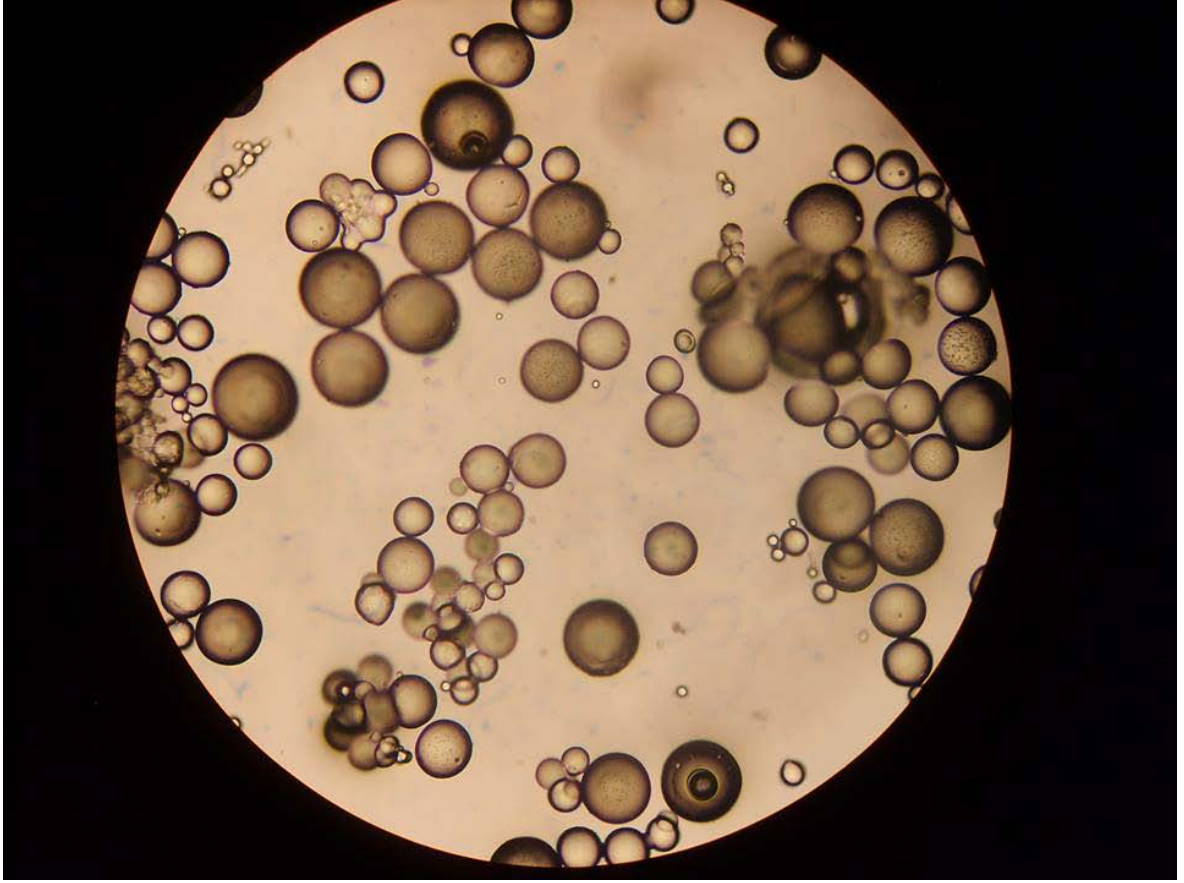
Şekil 3.1. Mikrokürenin hazırlandığı düzenek

4 saatin sonunda çözelti filtre kagidından geçirilerek süzülür ve bir kere su ile yıkanır. Süzüldükten sonra etüvde kurumaya bırakılır. Mikrokürelerin formülasyonları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Mikroküre formülasyonları

Formül no	GDMA (mL)	GDGDA (mL)	MAA (mL)	Cyc-OH (mL)	Lidokain (g)	BPO (g)
F1	3,0	-	1	4	0,1	0,08
F2	0,5	2,5	1	4	0,1	0,08
F3	1,5	1,5	-	4	0,1	0,08
F4	1,5	1,5	2	4	0,1	0,08
F5	1,5	1,5	1	4	0,05	0,08
F6	1,5	1,5	1	4	0,20	0,08
F7	1,5	1,5	1	4	0,40	0,08
F8	1,5	2,5	1	4	0,1	0,08
F9	1,5	1,5	1	4	0,1	0,08
F10	1,5	-	1	4	0,1	0,08

Hazırlanmış olan mikrokürelerin mikroskopta çekilmiş görüntüsü Şekil 3.2.' de verilmiştir. Elde edilen optik mikroskop fotoğraflarının değerlendirilmesi ile ortalama partikül boyutu yaklaşık 120 mikron, boy dağılımı için değişim katsayısı değeri ise yaklaşık % 35 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Mikrokürelerin mikroskop görüntüsü

3.2. Mikrokürelerin denenmesi

Hazırlanan mikrokürelerin absorbens değeri ölçülmesi için öncelikle 0,05M fosfat tamponu hazırlanmıştır. Bunun için 1,6 g Sodium dihydrogenphosphate -2-hydrate 200 mL saf su içerisinde çözülmüş, pH 7,4' e ayarlanmıştır. 0,1 g partikül bu tampon çözeltide Çözüldüğü andan itibaren 2., 4., 8., 15., 30., 45., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalarda UV-Spektrofotometrede 263 nm'de absorbens değerleri ölçülmüştür. Ölçülen değerlerin yorumlanabilmesi için belli konsantrasyonlardaki lidokain çözeltileri hazırlanarak da yine 263 nm' de absorbens değerleri kaydedilmiştir.

3.3. Bileşik Aksiyon Potansiyeli Ölçümü

Deneyde 6 Sprague Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Anestezik madde deneyi etkilememesi için karın boşluğundan verilmiştir. Kas dokusunu dikkatlice yırtarak

ilerlenmelidir. Siyatik sinir etrafı kas tabakasından çok dikkatlice ayrılır. Siyatik sinirin bir pensle tutulması gereken durumlarda; kesinlikle plastik pens kullanılmalıdır. Bu esnada sürekli olarak tyrode solüsyonu ile kası ve siniri ıslatmak, siniri besler ve sinirin kuruyup fonksiyon kaybına uğramasını engeller. Tyrod solüsyonunun içeriği Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Tyrod solüsyonu içeriği

Madde	Miktar (g/1 L)
NaCL	8,00
KCL	0,20
MgCL ₂	0,10
NaHCO ₃	1,00
CaCL ₂	0,20
NaH ₂ PO ₄	0,05
C ₆ H ₁₂ O ₆	1,00

Kesilecek olan siyatik sinir mümkün olduğunca uzun olmalıdır. Çıkarılan siyatik sinir tyrod solüsyonu içinde bekletilmelidir. Ayrıca tyrode solüsyonunun içerisine oksijen verilerek sinirin canlılığını yitirmesi engellenmelidir.

Siyatik sinirin alınacağı düzenek üç odacıktan oluşur. Uçlardaki odacıklar izolasyonu sağlayan bir ortam içermelidir. Bu uçlardaki odacıklar sıvı vazelin ile doldurulur. Ortadaki odacıkta ise deney sırasında sinirin beslenmesini sağlayacak olan tyrod solüsyonu konulur. Ayrıca ince bir tüp yardımıyla da sürekli (saniyede bir baloncuk olmak üzere) oksijen takviyesi yapılır.

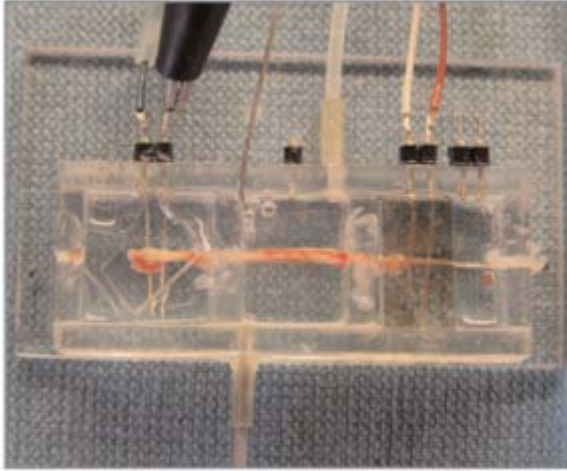
Elektrik potansiyelini sinire aktaracak olan odacıktaki tellerin stimülatöre; sinirdeki elektrik potansiyelini alıp bilgisayara aktaracak olan tellerin de MP30'a bağlı olduğunun kontrol edilmesi gerekir. Yanlış bağlantılar deneyin devamını engeller.

Ayrıca her iki odacıktaki tellerin de birbirine veya odacıkların kenarlarına değmiyor olması gerekir.

Düzenek hazırlandıktan sonra kalibrasyon yapılmalıdır.

Petri kabındaki tyrod solüsyonu içerisinde beklemekte olan siyatik siniri iki ucu uç odacıklardaki tellerin her ikisine de değecek şekilde ve orta kısmı da orta odacık içerisinde olacak şekilde odacıklar arasındaki girintilerden de yararlanarak düzeneğe boylu boyunca omurgadan çıkarılan ucu uyarıcı kısma yerleştirilir. Daha sonra siyatik sinirin tellerle temas halinde olan uçlarının üzerine küçük lameller yerleştirilerek hem siyatik sinirin yerinden oynamaması hem de izolasyonun daha kesin bir biçimde olması sağlanır. Odacıkların tam orta hizasında bulunan dört girinti izolasyon amaçlı olarak katı vazelin ile kapatılır. Böylece sıvıların birbirine karışması engellenir [55-56]. Düzenek Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.

Düzenek hazırlandıktan sonra "Start"a basılarak sistem çalıştırılır. Önce bir saat normal kayıt alınmıştır. Daha sonra serbest lidokain ya da mikroküreler verilerek kayıt alınmış ve etki süresi gözlemlenmiştir.



Şekil 3.3. Sinir banyosu

3.4. Yürüme Analizi

Analizde 6 Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Yürüme analizi için 10 cm genişliğinde ve 60 cm uzunluğunda koridor şeklinde tahta platform kullanılmıştır. Düzenek Şekil 3.3.'de gösterilmiştir. Platformun sonuna bir kapalı bir kutu kullanılarak farenin o tarafa yürümesi sağlanmıştır. Farelerin sağ siyatik siniri üzerine enjeksiyon yapıldıktan sonra 4., 8., 15., 30., 45., 60., 90, 120., 150. ve

180. dakikalarda yürütülerek etki süresi gözlemlenmiştir. Analizde kontrol grubu olarak sağ ayak kullanılmıştır ve buna göre SFI değerleri hesaplanmıştır. Mikroküre verilerek ölçüm alınan ve hesaplanan SFI değerleri Çizelge 3.3.'de, lidokain verilerek ölçüm alınan ve hesaplanan SFI değerleri ile Çizelge 3.4.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Mikroküre verilerek yürüme analizi yapılan sıçanların dakikaya karşı SFI değerleri

Mikroküre	1.hayvan	2.hayvan	3.hayvan	4.hayvan	5.hayvan	6.hayvan
4. dakika	-23,5	-60	-37,208	-19,687	-14,678	-26,969
8.dakika	-18,92	-60	-45,5	-28,675	-13,036	-28,907
15.dakika	-34,044	-41,599	-48,463	-37,887	-14,131	-33,617
30.dakika	-30,081	-27,646	-63,16	-35,133	-17,96	-29,055
45.dakika	-33,832	-28,75	-58,964	-41,765	-25,772	-32,246
60.dakika	-32,512	-26,81	-50,65	-42,281	-25,772	-39,819
90.dakika	-14,016	-22,33	-51,74	-38,611	-28,277	-42,354
120.dakika	-13,656	-17,855	-56,76	-42,926	-30,81	-42,354
150.dakika	-12,336	-11,01	-51,45	-30,819	-23,838	-44,829
180.dakika	-8,8	-4,485	-48,84	-21,946	-16,866	-41,29

Çizelge 3.4. Lidokain verilerek yürüme analizi yapılan sıçanların dakikaya karşı SFI değerleri

Lidokain	1.hayvan	2.hayvan	3.hayvan	4.hayvan	5.hayvan	6.hayvan
4. dakika	-42,77	-31,869	-47,44	-40,55	-32,89	-48,34
8.dakika	-52,179	-32,89	-44,06	-52,79	-32,89	-44,06
15.dakika	-40,14	-30,073	-62,197	-40,104	-30,073	-62,197
30.dakika	-35,709	-29,835	-34,72	-36,70	-29,835	-36,72
45.dakika	-26,29	-15,87	-26,15	-26,92	-15,87	-26,185
60.dakika	-24,966	-10,78	-19,965	-24,96	-10,78	-19,95
90.dakika	-11,11	-8,8	-11,25	-11,11	-8,8	-10,25
120.dakika	-9,96	-8,8	-8,8	-9,96	-8,8	-8,8
150.dakika	-8,8	-8,8	-8,8	-8,8	-8,8	-8,8
180.dakika	-8,8	-8,8	-8,8	-8,8	-8,8	-8,8



Şekil 3.4. Yürüme testi düzeneği

3.5. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasında alınan verilerin istatistiksel analizi SPSS yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Analizdeki bağımsız değişkenler hayvanlara ait deney ve kontrol grupları, bağımlı değişkenler ise yürüme analizi ve bileşik aksiyon potansiyeli ölçümü ile elde edilen verilerdir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde sayısal olarak ifade edilmişlerdir.

3.5.1. SPSS İstatistik Programı

Bilimsel araştırma sürecinde, çeşitli yöntemler ile toplanan verilerin analiz edilmesi, araştırmacılar için önemli bir aşamadır. Diğer alanlarda olduğu gibi istatistik alanında da yeni yazılımların piyasaya sürülmesi araştırmacılara, veri analizi sürecinde zaman, maliyet ve enerji tasarrufu sağlanması ,sonuçların belli bir düzen içerisinde alınması ve en önemlisi hesaplamalardan kaynaklanan hata payının ortadan kaldırılması gibi birçok yönden yararlar sağlamaktadır. SPSS programı, araştırmacıların istatistiksel veri analizinde tercih ettikleri programların en başında gelmektedir. Windows tabanlı bir program olan SPSS'in, diğer Office programlarına benzer menü özellikleri taşıması ve daha kullanışlı olması bu programa olan talebi artırmakta ve gün geçtikçe daha ileri sürümleri üretici firma tarafından piyasaya sürülmektedir. SPSS programı sadece bilimsel araştırmalarda değil sektörel bazda özellikle Sağlık, Gıda, Bankacılık, Finans, Sigorta, Pazar araştırmaları ve insan kaynakları gibi alanlarda kullanıcılara ve ilgili kurum ve kuruluşlara stratejik karar desteği sağlayan analitik çözümler sunmaktadır. SPSS programı; araştırmaya ilişkin değişkenlerin tanımlanması, verilerin kodlanarak veri sayfasına girilmesi, girilen veriler üzerinde düzeltmeler yapılması, verilerin birleştirilmesi, çeşitli ölçütlere göre gruplanması, veriler üzerinde istatistiksel analizlerin yapılması, grafik oluşturma, çıktı özellikleri ile sonuçların düzenli tablolar halinde çıkarılması ve diğer programlara aktarılması gibi veri analizi sürecine ilişkin birçok konuda, kullanıcılara önemli imkanlar sağlamaktadır. SPSS programı; verilerin tanımlandığı, veri girişinin ve analizinin yapıldığı, grafiklerin çizildiği, analize ilişkin kodların yazılabildiği ve veri analiz raporlarının alınabildiği Base; doğrusal regresyon modellerine uymayan veriler için ileri analiz

tekniklerinin yer aldığı Regression Models, veriler arasındaki karmaşık ilişkilerin ileri analiz teknikleri ile çözümlendiği ve özellikle ileri düzeydeki deneysel ve biyoistatistik araştırmalarında sıklıkla kullanılan tekniklerin yer aldığı Advanced Models, ileri tabloları seçenekleri ile kaliteli sunum imkanı yaratan Tables, güçlü zaman serileri analizi yapmak çoklu eğrisel uygunluk modelleri yaratmak için kullanılabilecek Trends, kategorik-benzeşikveriler arasındaki zor olan ilişkilerin tespit edildiği Categories, ortak analiz teknikleri sağlayan ve özellikle ürün geliştirme ve fiyatlandırma alanında kullanılabilecek conjoint, küçük hacimli örneklem -30'dan veri ile çalışırken güvenli nonparametrik testlerin yapılabilirdiği ve genel testlerin hatalarını p istatistiğinin tam olarak hesaplanması ile ortadan kaldıran Exact Tests ve kayıp verilerin niteliklerini belirleyerek uygun değerlerle boşlukları doldurmak amacıyla kullanılabilen Missing Value Analysis modüllerinin yanı sıra, verileri, birçok arka plan kombinasyonu kullanarak yüksek kaliteye sahip haritalara dönüştürebilen Maps ve özellikle sosyal bilimler alanındaki araştırmalarda karmaşık örneklem grubu üzerinde yapılan anket analizi için kullanılan Complex Samples modüllerini içermektedir [57].

3.5.2. Mann-Whitney U Testi

Bu test iki bağımsız grup için elde edilen puanların birbirinden anlamlı bir şekilde farklılık gösterip göstermediğini test etmek için uygulanır. Mann Whitney U-Testi grupların ortanca değerlerini karşılaştırır. Sürekli değişkenlerin, iki grup içerisinde değerlerini sıralı hale dönüştürür. Böylece iki grup arasındaki sıralamanın farklı olup olmadığını değerlendirir [58].

Mann-Whitney U testi iki örneklem verilerini ele alıp bu verilerin aynı anakütleden mi yoksa değişik iki anakütleden mi geldiği sorunu inceler. Ama bu test için şekil biraz değişik problem şartları ve on varsayımlar bulunması imkânı vardır.

Mann-Whitney testi için en geniş kullanışı için sıfır hipoteze veri olan iki örneklemin tek bir anakütleden geldiğidir ve bu nedenle bu anakütle tek bir eğilim gösterir veya dağılımlar aynene eşittir. Bu sınama için iki örneklemin istatistiksel olarak birbirinden bağımsız olması gerekir. Örneklem verileri için ölçme ölçeği en zayıf şekilde sırasal ölçekli ya da niceliksel olarak aralıklı ölçekli veya orantılı

ölçekli olmalıdır. Bu varsayım yapılmasının nedeni hiç olmazsa iki gözölmin birbiriiyle karşılaştırınca hangisinin daha büyük olduğunu bilmek mümkün olmasıdır. Bu şekilde parametrik olmayan istatistik sınamanın parametrik istatistik sınama analoğu iki ortalama arasındaki fark için t-sınamasıdır. Eğer bu t-sınaması için iki örneklem de sıralama şekilde sırasal ölçekli veri kullanılıyorsa Mann-Whitney testi ile parametrik ortalamalar arasındaki fark için t-sınaması arasında neredede ise hiç fark olmayacaktır [59-60-61].

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

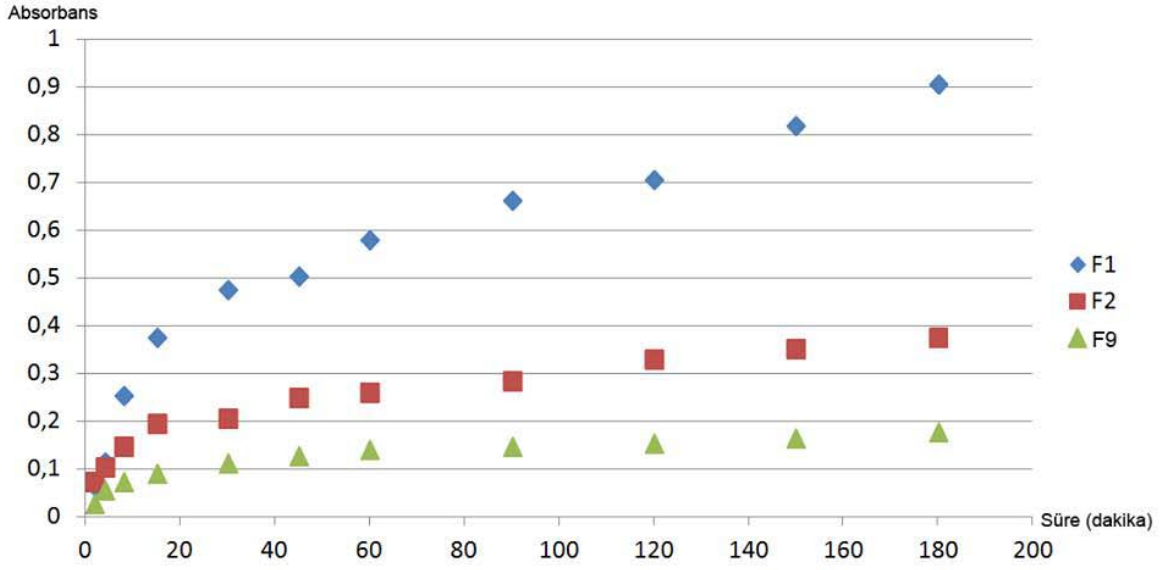
4.1. Mikrokürelerin Denenmesi

Hazırlanan mikrokürelerin denenmesi için UV-Spektrofotometre'de 263 nm'de absorbands değerleri ölçülmüştür. Mikrokürelerin zamana karşı absorbands değerleri Çizelge 4.1.' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Mikrokürelerin zamana karşı absorbands değerleri

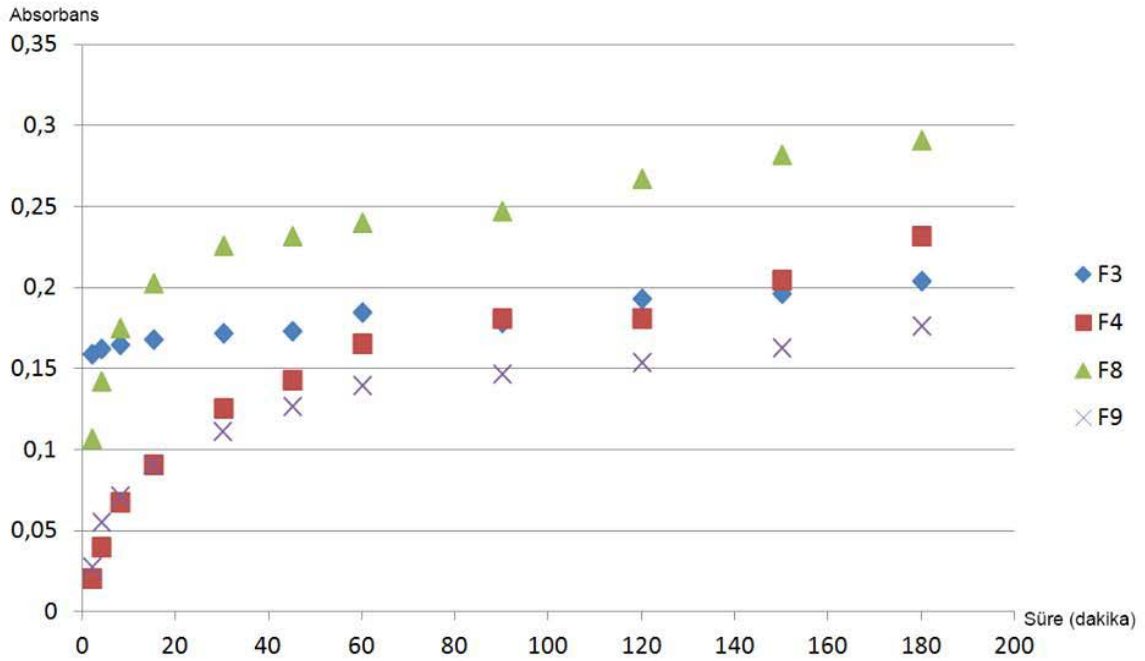
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
2	0,065	0,075	0,159	0,021	0,019	0,011	0,045	0,107	0,028	0,253
4	0,115	0,104	0,159	0,04	0,03	0,023	0,135	0,142	0,056	0,555
8	0,255	0,147	0,185	0,068	0,038	0,093	0,183	0,175	0,072	0,69
15	0,376	0,196	0,18	0,091	0,054	0,147	0,245	0,203	0,091	0,885
30	0,476	0,207	0,172	0,126	0,07	0,165	0,298	0,226	0,112	0,997
45	0,504	0,251	0,173	0,143	0,084	0,198	0,309	0,232	0,127	1,208
60	0,579	0,261	0,185	0,166	0,094	0,225	0,333	0,24	0,14	1,337
90	0,663	0,285	0,178	0,181	0,106	0,246	0,364	0,247	0,147	1,533
120	0,705	0,33	0,193	0,181	0,118	0,271	0,381	0,267	0,154	1,681
150	0,819	0,352	0,196	0,205	0,14	0,282	0,383	0,282	0,163	1,841
180	0,906	0,376	0,204	0,232	0,15	0,287	0,398	0,291	0,177	1,984

Mikroküre formülasyonları değişkenlere göre gruplanmış ve absorbands değerleri grafiğe aktarılmıştır. F1, F2 ve F9 absorbands değerleri Şekil 4.1'de verilmiştir.



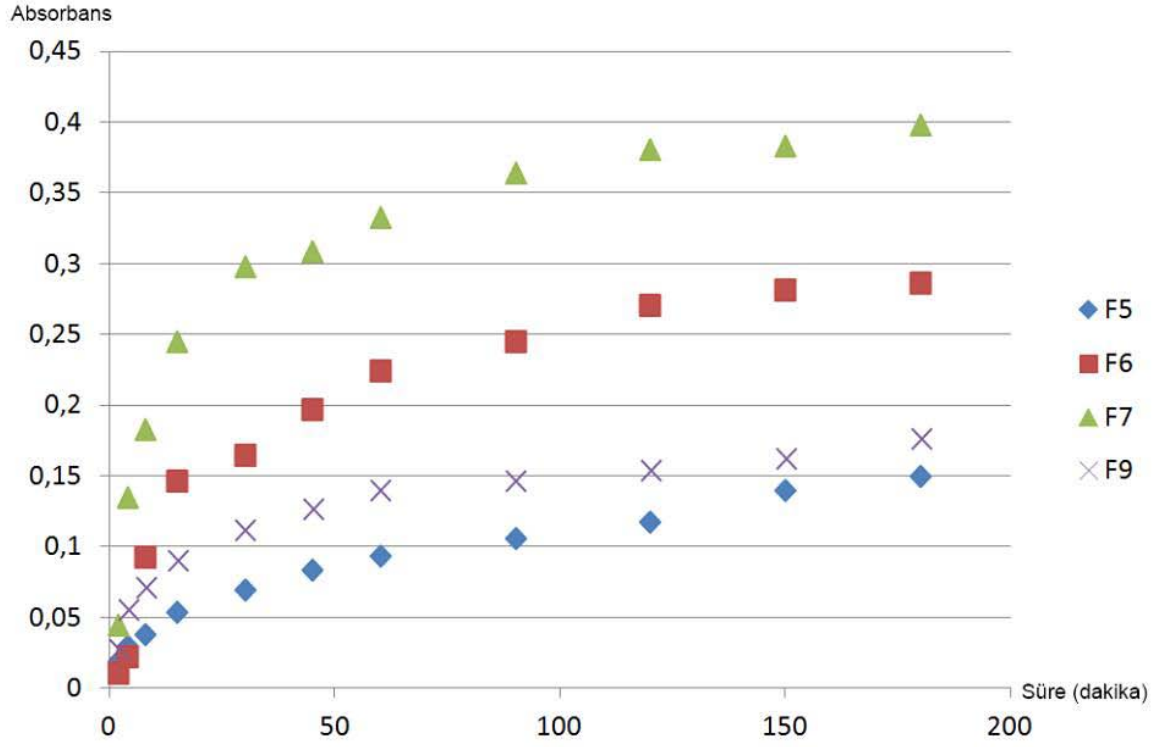
Şekil 4.1. F1, F2 ve F9 formülasyonlarının süreye karşı absorbans değerleri

Metakrilik asitin farklı ölçülerde hazırlanmasıyla elde edilen F3, F4, F8 ve F9 formülasyonlarının absorbans değerleri Şekil 4.2.'de verilmiştir.



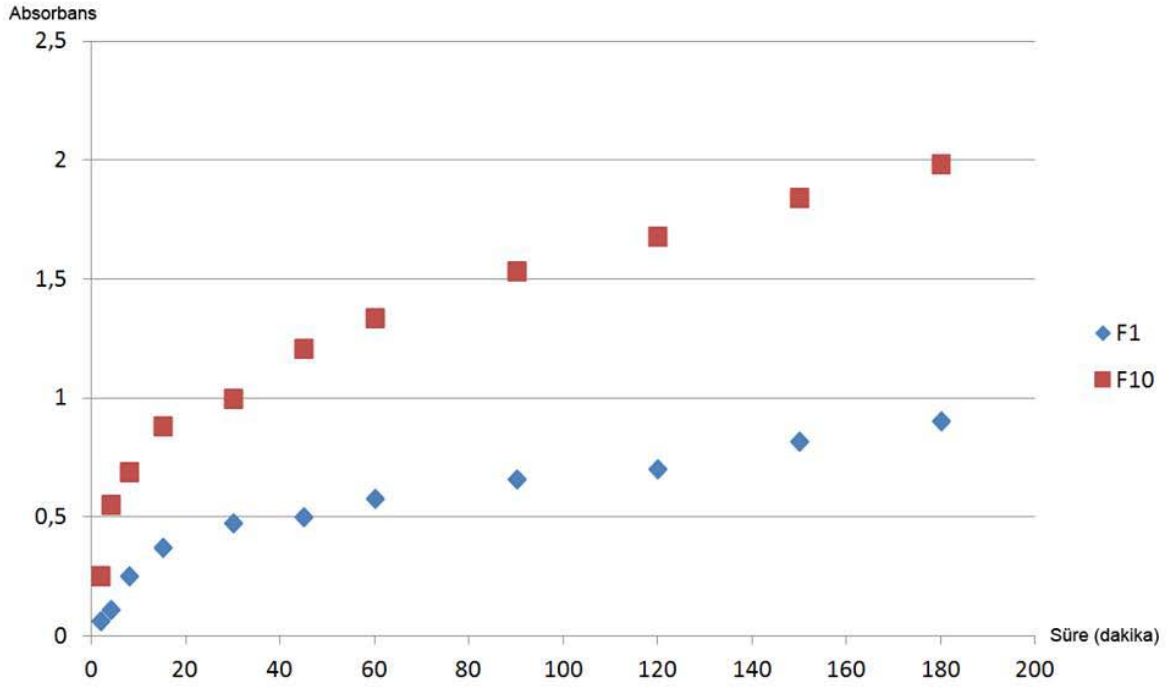
Şekil 4.2. F3, F4, F8 ve F9 formülasyonlarının süreye karşı absorbans değerleri

Lidokainin farklı oranlarda hazırlanmasıyla elde edilen F5, F6, F7 ve F9 formülasyonlarının süreye karşı okunan absorbans değerleri Şekil 4.3.'de verilmiştir.



Şekil 4.3. F5, F6, F7 ve F9 formülasyonlarının zamana karşı okunan absorbans değerleri

GDMA'nın farklı ölçülerde kullanılmasıyla hazırlanan F1 ve F10 formülasyonlarının zamana karşı okunan absorbans değerleri Şekil 4.4.'de verilmiştir.

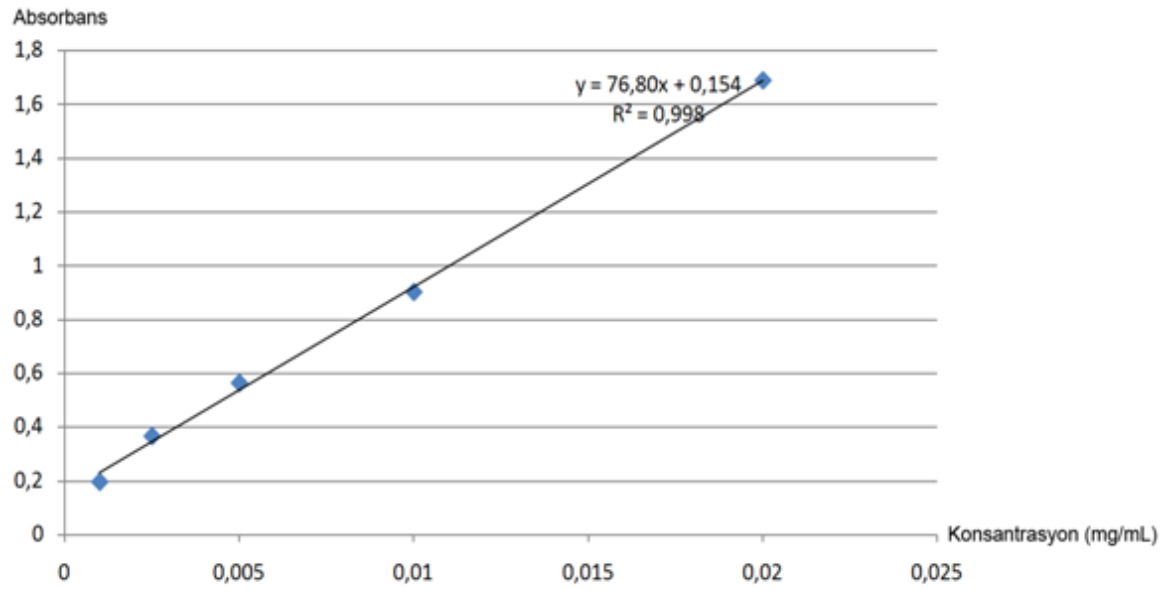


Şekil 4.4. F1 ve F10 formülasyonlarının zamana karşı okunan absorbans değerleri

Ölçülen absorbans değerlerinin yorumlanabilmesi için belirli konsantrasyonlarda lidokain çözeltileri hazırlanmış ve 263 nm’de içerisinde aynı koşullarda hazırlanmış ancak içerisinde mikroküre bulunmayan çözeltiden alınan örneğe karşı okunmuştur. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ve absorbans değeri ölçülen lidokain çözeltileri ise Çizelge 4.2’ de verilmiştir. Daha sonra ölçülen absorbans değerlerine göre kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Hazırlanan grafik Şekil 4.5.’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlardaki lidokain çözeltilerin absorbans değerleri

Konsantrasyon (mg/mL)	Absorbans
0,001	0,198
0,0025	0,368
0,0050	0,566
0,010	0,904
0,020	1,691



Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış lidokain çözeltilerine göre hazırlanmış kalibrasyon eğrisi

Tablolara bakılarak deneyde kullanılmak için seçilen formülasyon 7 numaralı formülasyondur. Daha sonraki aşamalarda 7 numaralı formülasyonla hazırlanan mikroküreler analizlerde kullanılmıştır.

Hazırlanan mikrokürede ne kadar lidokain tutulduğunu tespit etmek için 7 numaralı mikroküre enstrümental analize gönderilerek içindeki azot miktarı tayin edilmiştir. Analiz sonucu Çizelge 4.3.' de verilmiştir.

Çizelge 4.3. 7 numaralı mikrokürenin enstrümental analiz sonucu

	%N
F7	0,486

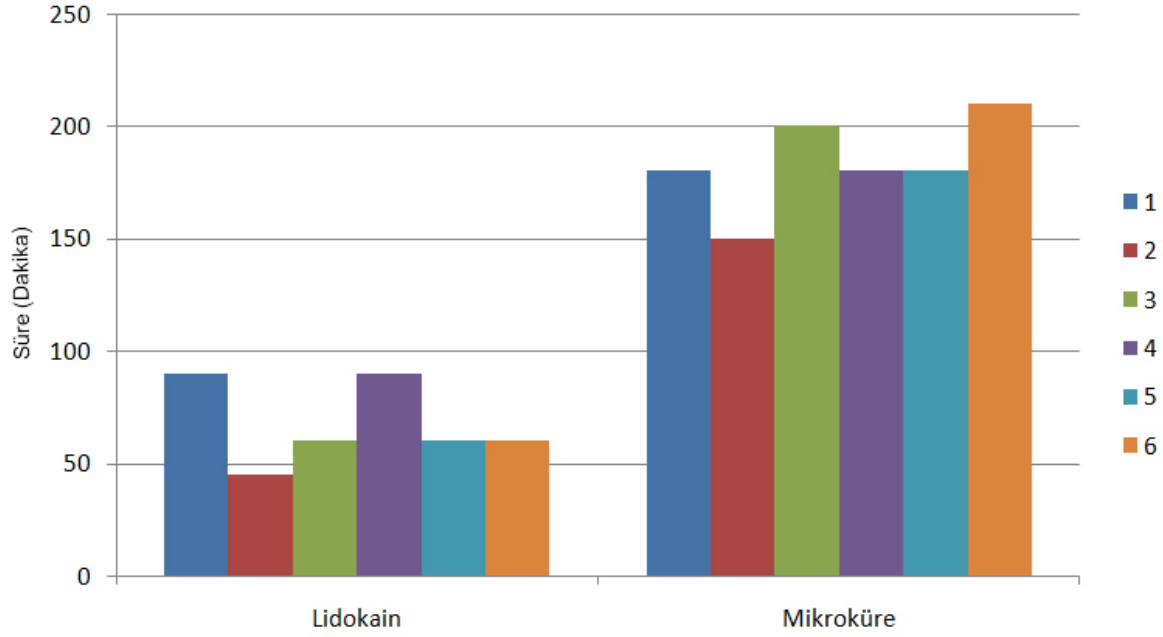
Bu sonuca göre mikrokürenin içerdiği lidokain miktarı 41 mg/g partiküldür. Yani 0,01 g lidokaine karşılık olarak 0,25 g partikül aynı miktarda lidokain içermektedir.

4.2. Yürüme Analizi

Sıçanlarda yürüme analizi için deney ve kontrol grubu oluşturulmuştur. Her grupta rastgele seçilen 6 sıçanla analiz yürütülmüştür. Yürütülen sıçanların sağ arka ayaklarından alınan ayak izleri ölçülüp SFI değerleri hesaplanmıştır. Sıçandan alınan ayak izi örneği Şekil 4.6.'de gösterilmiştir. Elde edilen değerlerle önce normal dağılıp dağılmadığına bakılması için normallik testi yapılmıştır. P değeri $< \alpha$ olduğu için H_0 hipotezi reddedilir. % 95 güven düzeyinde verilerin normal dağılıma uygun olmadığı söylenebilir. Veriler normal dağılıma uymadığı için mikroküre ve lidokain alan hayvanların SFI değerleri arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığını test ederken parametrik olmayan yöntemlerden Mann Whitney U istatistiği kullanılır. Buna göre p değeri 0,001 bulunmuştur. p değeri $< \alpha$ H_0 hipotezi % 95 güven düzeyinde red edilir. Mikroküre ve lidokain kullanımı arasında anlamlı bir fark vardır. Mikroküre ve lidokainin her bir sıçan üzerindeki etki süreleri Şekil 4.7.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Sıçanın arka ayaklarından alınan ayak izleri



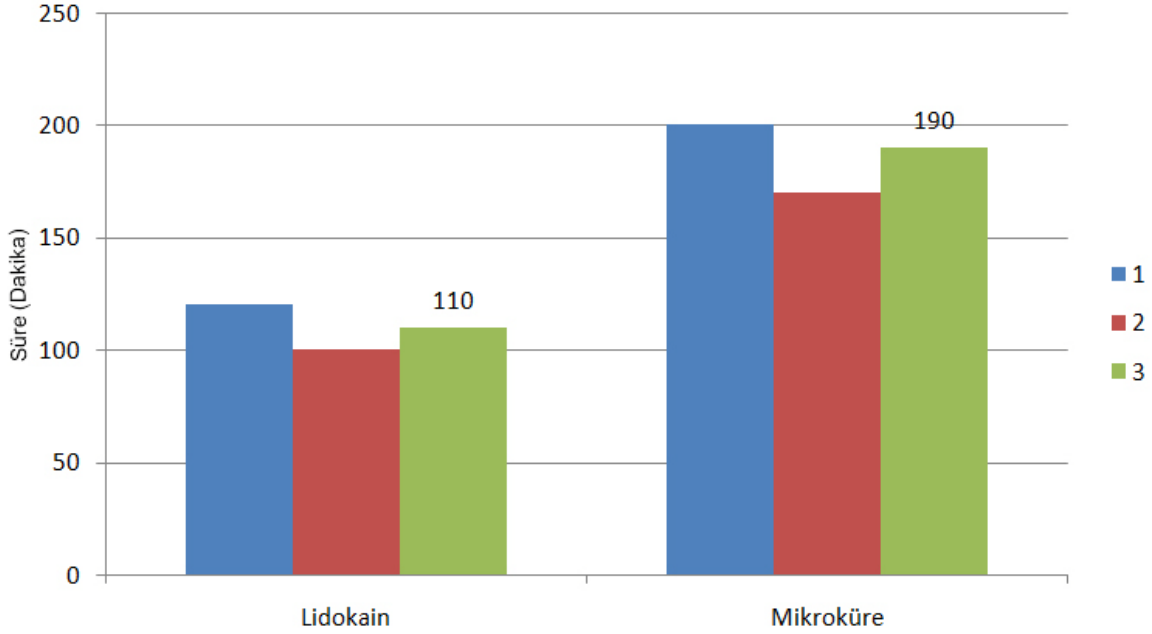
Şekil 4.7. Lidokain ile mikrokürenin yürüme analizi ile anestezi süreleri

4.3. Bileşik Aksiyon Potansiyeli

Hazırlanan düzeneğe yerleştirilen siyatik sinirlere 0,2 mV uyarı verilerek kayıt alınmıştır. Önce bir saat kayıt alındıktan sonra partiküller düzeneğe verilmiş ve kayıt alınmaya devam edilmiştir. Mikroküre verilerek kayıt alınan verilerle lidokain verilerek kayıt alınan sinirler arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için istatistiksel analiz yapılmıştır.

Elde edilen değerlerle önce normal dağılıp dağılmadığına bakılması için normallik testi yapılmıştır. P değeri α olduğu için H_0 hipotezi reddedilir. % 95 güven düzeyinde verilerin normal dağılıma uygun olmadığı söylenebilir. Veriler normal dağılıma uymadığı için mikroküre ve lidokain alan hayvanların BAP değerleri arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığını test ederken parametrik olmayan yöntemlerden Mann Whitney U istatistiği kullanılır. Buna göre p değeri 0,002 bulunmuştur. p değeri $<\alpha$ H_0 hipotezi % 95 güven düzeyinde red edilir. Mikroküre

ve lidokain kullanımı arasında anlamlı bir fark vardır. Lidokain ve mikrokürenin her bir sinir üzerindeki etki süreleri Şekil 4.8.'de verilmiştir.



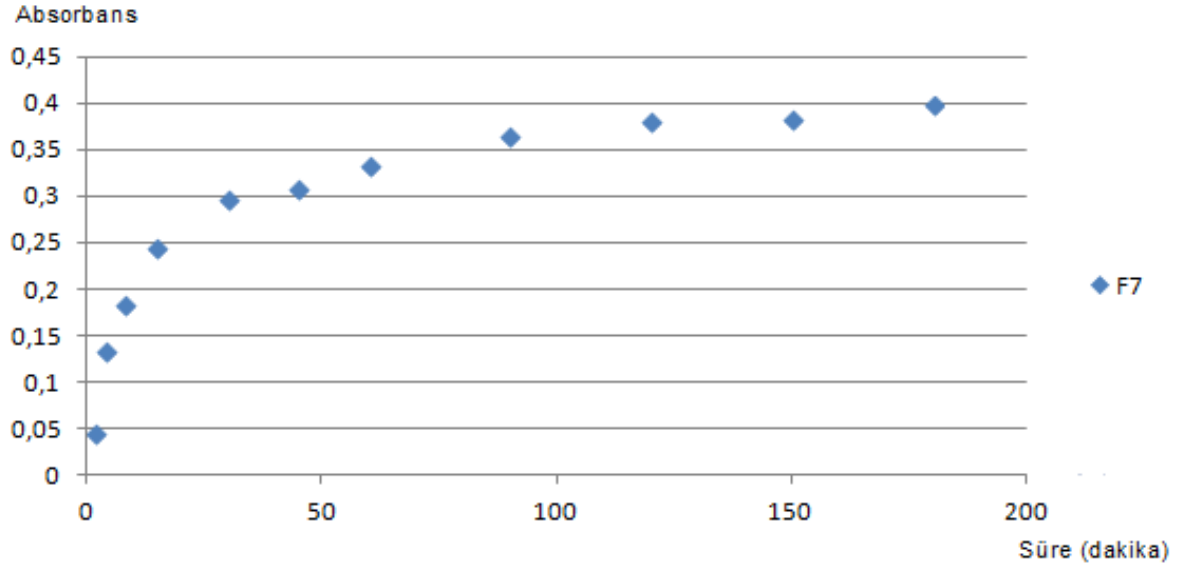
Şekil 4.8. Lidokain ile mikrokürenin siyatik sinir üzerinde anesteziik etki bırakma süreleri

Hazırlanacak olan mikroküreler için en uygun yöntemin seçilmesi için farklı araştırmalardan yararlanılmıştır. Karaca İ, PVA/Na-Alg ve PVA/CS polimer karışımlarıyla mikroküreleri hazırlamışlardır. En uygun mikroküreyi belirlemek için 19 farklı formülasyonda hazırlanmış ve denenmiştir [62].

Tez çalışması kapsamında mikroküre hazırlama yöntemi olarak çözücü buharlaştırma yöntemi uygun bulunmuştur.

İstenilen formülasyonun bulunması için 10 farklı formülde mikroküreler hazırlanmıştır. Bunların salım mekanizmasını test etmek için UV-Spektroskopisinde dakikaya karşılık gelen absorbans değerleri saptanmıştır. Okunan absorbans değerlerini anlamlı kılabilmek için kendi hazırladığımız konsantrasyonu bilinen lidokain içeren çözeltiler de Spektrofotometrede ölçülmüştür. Buna göre bir kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. İstenilen salımı veren mikroküre formülasyonu *in vitro* deneylerde kullanılmak üzere seçilmiştir.

Seçilmiş olan F7 formülasyonunun zamana karşı absorbands değerini gösteren grafik Şekil 4.9.'da verilmiştir.



Şekil 4.9. F7 formülasyonu ile hazırlanmış mikrokürenin zamana karşı absorbands değerleri

Pen-Chung Chen ve ark. [63], farklı formülasyonlarla lidokaini mikrokürelere yüklemiştir. Etki süresi siyatik sinir üzerinde test edilmiştir ve etki sürelerini 2-8 saate kadar çıkarmışlardır. Buna ilaveten uygulamaların hiçbirinde herhangi bir toksisite olmamıştır.

El cerrahisi geçiren hastalarda, rejyonel intravenöz anestezide (RİVA) lidokaine deksmedetomidin eklenmesinin etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur. Memiş ve ark. [64] RİVA'da lidokaine eklenen 0.5 µg/kg deksmedetomidin ile tek başına lidokaini karşılaştırdıkları çalışmada lidokain-deksmedetomidin grubunda sensoryal ve motor blok başlama zamanında kısalma, sensoryal ve motor blok derlenme süresinde uzama ve daha iyi anestezi koşulları saptamıştır. Yine Esmaoğlu ve ark. [65] RİVA'da lidokaine eklenen 1 µg/kg deksmedetomidin ile tek başına lidokaini karşılaştırdıkları çalışmada, bir önceki çalışmanın aksine lidokaine eklenen deksmedetomidinin sensoryal ve motor blok başlama ve derlenme süresini etkilemediğini bulmuştur.

İntravenöz rejyonel anestezide lidokaine eklenen deksmedetomidinin (0.5g/kg) tek başına lidokain uygulanması (40 mL %0.5'lik) ile karşılaştırıldığı ve sensoryal ve motor blok başlangıcı, süresi, anestezi kalitesi, intraoperatif ve postoperatif hemodinamik değişiklikler, ağrı ve sedasyon skorlarının değerlendirildiği çalışmada deksmedetomidin grubunda sensoryal ve motor blok başlama zamanında kısalma, uzamış sensoryal ve motor blok derlenme süresi, turnike toleransında artma ve daha iyi anestezi koşulları sağlandığı belirtilmektedir. Analjezik gereksinimi lidokain-deksmedetomidin grubunda daha azdır [66]. İntravenöz rejyonel anestezide başka bir çalışmada lidokaine eklenen deksmedetomidinin sensoryal ve motor blok başlama ve derlenme süresini etkilemediği; ancak daha iyi anestezi koşulları sağlandığı ve analjezik ihtiyacının kontrol grubuna göre daha az olduğu belirtilmektedir [67].

Lidokain etkin anesteziyi sağlayacak en az dozda kullanılmalıdır. Verilecek olan miktar 6,6 mg/kg 'ı ya da 300 mg'ı aşmamalıdır. Buna göre analizde kullanılacak sıçanların vücut ağırlıklarına göre uygun doz hesaplanmıştır. Mikroküre enjekte edilerek yapılan yürüme analizinde anestezinin ortalama 7 dakika kadar daha geç etki ettiği gözlemlenmiştir. Bunun yanında etki süresinin uzamasında önemli farklılıklar yarattığı kaydedilmiştir.

Siyatik sinir üzerinde bileşik aksiyon potansiyelinin ölçümünde de mikroküre lidokaine oranla daha geç etki ettiği gözlemlenmiştir ancak önemsencek ölçüde bir farklılık bulunmamıştır. Lidokain ile mikroküre arasında etki süreleri kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda elde edilen veriler doğrultusunda lidokainin mikroküreye yüklenmesinin etki süresini uzatmada önemli bir etken olduğu, toksisiteye neden olmadan sürekli enjeksiyon gerekmeden daha sağlıklı bir anestezi sağladığı söylenebilmektedir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Mantripragada, S., "Depofoam technology far sustainedrelease injectable drug delivery", *Drug Delivery and System Science*, 1: 13-16, **2001**.
- [2] Langer, R., "New Methods of drug delivery", *Science*, 249: 1527-1533, **1990**.
- [3] Çapan, Y., "Kontrollü salım sağlayan oral katı dozaj şekilleri. I. Temel Kavramlar.", *Posyon*, 5(4): 117-124, **1996**.
- [4] Abdou, H.M., "Dissolution, bioavailability and bioequivalence", *Mack Publishing Company*, Easton, Pennsylvania, **1989**.
- [5] Welling, P.G., "Oral controlled drug administration, pharmacokinetic consideration", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 9 (7): 1185-1225, **1983**.
- [6] Yüksel, N., Baykara, T., "*Nikapdipin hidroklorürün kontrollü salım yapan mikrokürelerinin hazırlanması*", Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 225-245 **1995**.
- [7] GÜRSOY, A. *Kontrollü Salım Sistemleri*. İstanbul: Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti. **2002**.
- [8] Gürsoy, A., *Oral Sistemler*, Dortunç B.,E. Pişkin, N.A. Peppas, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, İstanbul, 248-271 **1989**.
- [9] Siepmann, J., and Peppas, N.A., "Hydrophilic matrices for controlled drug delivery: An improved mathemaical model to predict the resulting drug release kinetics (The " Sequential Layer" model)" *Pharmaceutical Research*, 17 (10), 1290-1298 **2000**.
- [10] Hui, H.W., Robinson, J., Lee, V.H.L., "*Desing and fabrication for oral controlledrelease drug delivery systems*" Controlled Drug Delivery, Eds.: J.R. Robinson,V.H.L. Lee, Marcel Dekker Inc., New York, 373, **1987**.
- [11] Gökçe, M., "*Hidrofilik polimer jellerde tutuklanmış biyomoleküllerin (MMC ve 5-FU) salım kinetiğinin incelenmesi ve oftalmolojik uygulamaları*" Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara, **1994**.
- [12] Verma R. K., Mishra B., Garg S., "Osmotically controlled oral drug delivery", *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 26: 695-708, **2000**.
- [13] Benet, L.Z., "Effect of route of administration and distribution on drug action", *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 6: 559, **1978**.
- [14] Mcgilvary, I.J., "Modified release dosage forms: Drug rugulatory concerns", *Pharmaceutical Industry*, 48: 647, **1986**.
- [15] Fix, J.A., "Oral controlled release technology for peptides: status and future prospects", *Pharmaceutical Research*, 13: 1760-1764, **1996**.

- [16] Gürsoy, A. Z., "Kontrollü Salımın Farmakokinetik Özellikleri", Kontrollü Salım Sistemleri, Ed.: Gürsoy A.Z., Kontrollü Salım Derneği Yayınları, İstanbul, 7-20, **2002**.
- [17] Kılıçarslan, M., "Verapamil HCl'in kontrollü salım yapan çok birimli oral ilaç şekillerinin hazırlanması.", Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 35-47, **1999**.
- [18] Rishchel, W. A., "Biopharmaceutic and pharmacokinetic aspects in the desing ofcontrolled release peroral drug delivery system", *Drug Development and Industrial Pharmacy*,15 (687): 1073-1103, **1989**.
- [19] Read, N. W. And Sugden, K., "Gastrointestinal dynamics and pharmacology for the optimum desing of controlled release oral dosage forms", *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 4: 221-263, **1987**.
- [20] Foster N.R., Tandy A., mammucari R., Dehghani, F. Dense gas processing of polymetric controlled release formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 328:1-11, **2007**.
- [21] Ordu, Ş., Özdemir, N., "Yüzen dozaj formlerinin İnvitro İnvivo İncelenmesi", Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, **1994**.
- [22] Steward, A.P. "Review of pharmaceutical controlled release methods an devices". Nottingham Trent University PhD Thesis, **1995**.
- [23] Gürsoy A., "Dortunç B.," Kolona İlaç Taşıyıcı Sistemler" Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti., İstanbul, s:151,175, **2002**.
- [24] Veluraja, K., Atkins, E.D.T., "Electron microscopic study of guluronate-rich alginate", *Carbohydrate Research*, 187: 313-316, **1989**.
- [25] Gabor, F., Ertli, B., Wirth, M., Mallinger, R.,: *Journal of Microencapsulation*, vol.16, no:1, 1-12, **1999**.
- [26] Daugherty, A.L., Cleland, J.L., Duenos, E.M., Randall J. Mrsny: *European Journal of pharmaceutics and biopharmaceutics* 44(1637) 89-102, **1997**.
- [27] Ramiez, L., Pastoriza P., Herrero-Vanrell R.,: *Journal of Microencapsulation*, vol.16, no:1, 105-115, **1999**.
- [28] Garcia, J.T., Farnia, J.B., Munguia, O., Llabres, M.,: *Journal of Microencapsulation*, vol.16, no:1, 83-94, **1999**.
- [29] Collins, V.J. Principles governing regional anesthesia. *Principles of Anesthesiology*. 3rd Edition (Ed.Collins VJ), p:1199-231, **1993**.
- [30] Covino, B.G., Wildsmith, J.A.W.: Clinical pharmacology of local anesthtetic agents: Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Management of Pain. 3rd ed. Cousins MJ, Bridenbaugh PO (eds) Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. p:97-128 **1998**.
- [31] Vickers, M.D., Morgan, M., Spencer, P.S.J. *Drugs In Anaesthetic Practice* (Butterworth-Heinemann, Cornwall), p: 213, **1991**.
- [32] Veering, B.T. *Local anesthetics In Regional Anesthesia and Analgesia*. 1st ed. Brown DL (ed) WB Saunders, Philadelphia, p:188-207, **1996**.

- [33] De Jong, R.H.: *Local anesthetic pharmacology: Regional Anesthesia and Analgesia*. 1st ed. Brown DL (ed) WB Saunders, Philadelphia, p:124-42, **1996**.
- [34] Williams, M.J. *Local anesthetics: Pain Medicine: A Comprehensive Review*. 1st ed. Raj PP (ed) Mosby-Year Book, USA, p:162-75, **1996**.
- [35] Tucker, G.T., Mather, L.E. *Properties, absorption and disposition of local anesthetic agents. Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Management of Pain*. 3th ed. Cousins MJ, Bridenbaugh PO (eds) Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, p: 55-95, **1998**.
- [36] Pinnock, C.A., Fischer, H.B.C., Jones, R.P.: *Principles and practice: Peripheral Nerve Blockade*. 1st ed. Churchill Livingstone, Singapore, p:1-22, **1998**.
- [37] Kayaalp, O. Lokal anestezipler. *Tıbbi Farmakoloji*. 5. baskı. s:1691-714, **1990**.
- [38] Kayhan, Z: Santral Bloklar (Spinal ve epidural anestezi): *Klinik Anestezi*. Genişletilmiş 3. Baskı. Logos Yayıncılık, İstanbul. p:552-89, **2004**.
- [39] Ünlü, A., "Sulu poli(vinil alkol) ve poli(N-vinil piroolidon) çözeltilerinde, potasyum klorür iletkenliğinin iç (lokal) viskozitesinin ve asosiyasyonun incelenmesi", Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 34-40, **1987**.
- [40] Von Düring, M., Fricke, B. Organization of peripheral nerves in skin, musculoskeletal system and viscera. *Prog Exp Tumor Res.*;39:30-44. Review. **2007**.
- [41] Leondes, C.T., *Computational methods in biophysics, biomaterials, biotechnology and medical systems*. 1st ed, Springer, Pollak VA eds, Chapter 5, **2003**.
- [42] McNeill, J.H., *Experimental models of diabetes*. 1st ed, Informa Healthcare; 3-14, **1999**.
- [43] Dalkılıç, N., Pehlivan, F. *Derivatives and integrals of compound action potential of isolated frog sciatic nerve*. *J of Ankara Medical School*; 16:634-646, **1994**.
- [44] Poulter, M.O., Hashiguchi, T., Padjen, A.L. An examination of frog myelinated axons using intracellular microelectrode recording: the role of voltage-dependent and leak conductances on the steady-state electrical properties. *J Neurophysiol*;70(6):2301-12, **1993**.
- [45] Masson, E.A., Veves, A., Fernando, D., Boulton, A.J. Current perception thresholds: a new, quick and reproducible method for the assessment of peripheral neuropathy in diabetes mellitus. *Diabetologia* ;32(10):724-8, **1989**.
- [46] Gokin, A.P., Philip, B., Strichartz, G.R., "Preferential block of small myelinated sensory and motor fibers by lidocaine: in vivo electrophysiology in the rat sciatic nerve." *Anesthesiology*. S;95(6):1441-54, Dec **2001**.
- [47] Pooler, J.P., Valenzo, D.P., Reexamination of the double sucrose gap

- technique for the study of lobster giant axons. *Theory and experiments. Biophys J.*;44(2):261-9, **1983**.
- [48] Gurney, A.M. Electrophysiological recording methods used in vascular biology. *J pharmacol Toxicol methods.*;44(2):49-20. Review, **2000**.
- [49] Ayaz, M., Kızıltan, E., Tuncer, S., Dalkılıç, N., Demirel, I., Barışkaner, H., Pehlivan, F. Sexual dependency of rat sciatic nerve fiber conduction velocity distributions. *Int J Neurosci*, 117(11):1537-49, **2007**.
- [50] de Medinaceli, L., Freed, W.J., Wyatt, R.J. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Experimental Neurology*, 77: 634–643, **1982**.
- [51] Durmaz, S., Okay, O. Acrylamide/2-acrylamido-2-methylpropane sulfonic acid sodium salt-based hydrogels: synthesis and characterization. *Polymer*; 41:3693–3704 **2000**.
- [52] Park, T.G., Hoffman, A.S. Estimation of temperature dependent pore size in poly(N-isopropyl acrylamide) hydrogel beads. *Biotechnology Progress* 10:82–86 **1994**.
- [53] Costa, L., Simoes, M., Mauricio, A, Varejao, A. S. P., Methods and protocols in peripheral nerve regeneration experimental research: part IV – Kinematic gait analysis to quantify peripheral nerve regeneration in the rat. *International Review of Neurobiology* Vol. 87: p. 127-139, **2009**.
- [54] Ma, L., Zhang, L., Yang, J.C. Xie XM Improvement in the water-absorbing properties of superabsorbent polymers (acrylic acid-co-acrylamide) in supercritical CO₂. *Journal of Applied Polymer Science*; 86:2272–2278, **2002**.
- [55] Bhardwaj, P., Singh, V., Aggarwal, S., Mandal, U.K. Poly (acrylamide-co-2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic Acid) Nanogels made by Inverse Microemulsion Polymerization. *Journal of Macromolecular Science Part A: Pure and Applied Chemistry*. 46:1083–1094 **2009**.
- [56] Nart, Z., Kayaman, N. Apohan Preparation, characterization and drug release behavior of poly(acrylic acid-co-2-hydroxyethyl methacrylate-co-2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid) microgels. *Journal of Polymer Research* 18:869–874, **2011**.
- [57] Gürel, A., SPSS Tarihi, <http://www.gurelali.com/2011/12/spss-nedir/>, Mayıs **2013**.
- [58] Doymuş, K., Non-Parametrik Testler, <http://kemaldoymus.files.wordpress.com/2009/12/non-parametrik-testler1.ppt>, **2013**.
- [59] Wilcoxon, F. "Individual comparisons by ranking methods". *Biometrics Bulletin*, C.1, say.80-83 **1945**.
- [60] Mann, H.B., Whitney, D.R., "On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other". *Annals of Mathematical Statistics*, C.18 Say.50-60, **1947**.
- [61] Conover, W.J., *Practical Nonparametric Statistics (3ncu Ed.)*, New York: Wiley, **1999**.

- [62] Akçay, M. *Sinir Sistemi Fizyolojisi*. Yargıçoğlu Matbaası, Ankara, 5-47, **1979**.
- [63] Chapman, R.A., Howard, L., Tunstall, J.: *Compound Action Potentials In Frog Sciatic Nerve*. In a Course, **1999**.
- [64] Karaca, İ., *Poli (Vinil Alkol) / Sodyum aljinat ve Poli (Vinil Alkol) /Kitosan Mikrokürelerden Salisik Asitin kontrollü salımı*, DoktoraTezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Ocak **2006**.
- [65] Chen, P.C., Daniel, S Park, K.Y.J., Bartlett, R.H., Langer, R., Victor, C. Injectable microparticle– gel system for prolonged and localized lidocaine release. II. In vivo anesthetic effects *Published online*, 1 July **2004**.
- [66] Memis, D., Turan, A., Karamanlioglu, B., Adding dexmedetomidine to lidocaine for intravenous regional anesthesia. *Anesthesia & Analgesia* ; 98: 835-40, **2004**.
- [67] Esmoğlu, A., Mizrak, A., Akin, A., Addition of dexmedetomidine to lidocaine for intravenous regional anaesthesia. *European Journal of Anaesthesiology*; 22:447-51, **2005**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Enise Tuğba Koşka

Doğum Yeri : Ankara

Medeni Hali : Bekar

E-posta: tugbakoska@hotmail.com

Adresi: İvedik Caddesi No:83/20 Demetevler/ ANKARA

Eğitim:

Lise:1999-2004 Ankara Çağrıbey Anadolu Lisesi

Lisans: 2004-2009 Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil ve Düzeyi : İngilizce - İyi

İş Deneyimi:

Deneyim Alanları:

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi:

Tezden Üretilmiş Yayınlar:

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar: