

**İKİ AŞAMALI TOTAL EKLEM PROTEZİ AMELİYATLARI
İÇİN ANTİBİYOTİK YÜKLÜ BOŞLUK
DOLDURUCULARIN GELİŞTİRİLMESİ**

**DEVELOPMENT OF ANTIBIOTIC LOADED SPACERS
FOR TWO STAGE TOTAL JOINT REPLACEMENT
SURGERY**

MESUT KAPLAN

DOÇ. DR. EYLEM GÜVEN

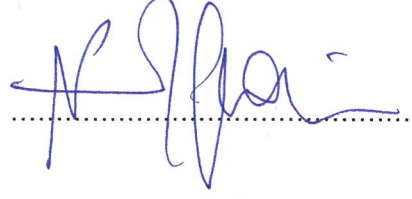
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı için öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2018

MESUT KAPLAN'ın hazırladığı “İki Aşamalı Total Eklem Protezi Ameliyatları için Antibiyotik Yüklü Boşluk Doldurucuların Geliştirilmesi” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **NANOTEKNOLOJİ VE NANOTİP ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

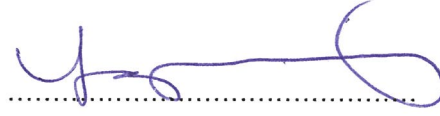
Prof. Dr. Necdet SAĞLAM
Başkan



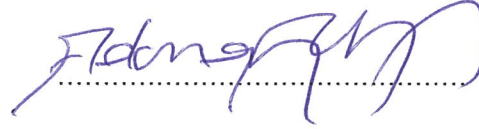
Doç. Dr. Eylem Güven
Danışman



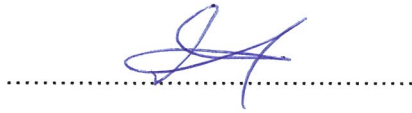
Prof.Dr. Murat BOZKURT
Üye



Doç. Dr. Lokman UZUN
Üye



Yrd. Doç. Dr. Hakan KAYI
Üye



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

Prof. Dr. Menemşe Gümüşderelioğlu
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

o Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

o Tezimin/Raporumun 1 Ocak 2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.

o Tezimin/Raporumun.....tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

o Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

15.01/2018

Mesut KAPLAN

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 sunduğumu,
- Başlakarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka üniversitede başka tez çalışması olarak sunmadığımı

Beyan ederim.

15.01.2018

MESUT KAPLAN

ÖZET

İKİ AŞAMALI TOTAL EKLEM PROTEZİ AMELİYATLARI İÇİN ANTİBİYOTİK YÜKLÜ BOŞLUK DOLDURUCULARIN GELİŞTİRİLMESİ

Mesut KAPLAN

Yüksek Lisans, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Eylem GÜVEN

Ocak 2018, 82 Sayfa

Nanoteknoloji alanındaki çalışmaların hız kazanması ile nanoteknolojik malzemeler ve bu malzemelerin kullanımı; her alanda olduğu gibi biyomedikal ve tıp alanında da artmıştır. Malzemenin nano boyutta incelenmesi ve dizayn edilebilmesi, tıp alanında da bir takım yenilikçi düşünceleri beraberinde getirmiştir. Bunlar arasında en çok kullanılan ve üzerinde çalışılan konu ise, ilaç hedefleme ve kontrollü ilaç salım sistemleridir. İlaç hedefleme sistemleri; belirli bir etken maddenin özel yapılarla donanımlaştırılarak, hedeflenen doku veya organa taşınmasını sağlayan sistemlerdir. Kontrollü salım sistemleri ise; uygun ilacın yönlendirildiği veya uygulandığı bölgede, uzun süreli olarak ve etkin değer aralığında ortama ilaç salınan sistemlerdir. Günümüzde bu çalışmalar yoğun şekilde devam etmekte ve bu çalışmalar da ilaçların etkin dozda ayarlanması ve uygulanan tedavilerin sonuçlarının sağlıklı olması açısından oldukça büyük önem taşımaktadır. Yeni ilaç salım sistemleri ve yöntemlerinin geliştirilmesi, tıp ve biyomedikal alanda birden fazla sorunu çözebilecek yeni teragnostiklerin bu alana kazandırılmasında öncü çalışmalar olacaktır.

Bu tez çalışmasında; ortopedi alanında kullanılmak üzere, antibiyotik salım sürelerini uzatmak ve salınan antibiyotiğin etkin doz aralığında kalmasını sağlamak amacıyla, total eklem protezi ameliyatlarında sıklıkla kullanılan “antibiyotik yüklü spacer” ların (boşluk doldurucu kemik çimentoları) geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Günümüzde kullanılan boşluk doldurucuların hammaddesi polimetilmetakrilat olup aynı zamanda kemik çimentosu olarak da bilinmektedir. Bu malzeme biyomedikal alanda ticari olarak satılmakta olan, ameliyat esnasında pratik bir şekilde

hazırlanabilen, sadece monomeri ve başlatıcısına ek olarak içine antibiyotik ilave edilebilen ve yaklaşık 15 dakikada polimerize olarak verilen şekli koruyabilen bir malzemedir. Bu malzemenin mekanik dayanımı ve biyouyumluluğu gibi olumlu özellikleri bulunmaktadır. Ancak poröz olmayan yapısı nedeniyle içeriğinde bulunan ilacın salımının istenilen düzeyde olmaması önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır. Bu durum cerrahları daha etkili bir malzeme arayışına yönlendirmektedir. Nanoyapılı ilaç taşıyıcı sistemlerin kullanılması bu durumda uygun bir yaklaşım olmaktadır. Bu amaçla; cerrahide kullanılan boşluk doldurucuların ilaç salım sürelerini uzatmak ve etkin doz aralığında kontrollü ilaç salımını sağlamak için, ortopedide sıklıkla kullanılan bir antibiyotik olan “vankomisin”, aljinat nanopartiküllere yüklenmiş olup hazırlanan antibiyotik yüklü nanopartiküller kitosanla kaplanmıştır. Daha sonra antibiyotik yüklü aljinat-kitosan nanopartiküller; antibiyotik içeren aljinat jel içerisinde homojenize edilerek, antibiyotik ve antibiyotik yüklü nanopartikül ihtiva eden aljinat jel çözeltisi elde edilmiştir ve antibiyotik içeren boşluk doldurucular hazırlanmış olan bu çözelti ile kaplanmıştır.

Elde edilen malzemeleri karakterize etmek amacıyla *in vitro* ilaç salım analizleri yapılmıştır. Boyut analizi için Zeta Sizer, morfolojik inceleme amacıyla ise geçirimli elektron mikroskobu (TEM) kullanılmıştır. Kimyasal özelliklerin belirlenmesi için FT-IR spektrumları incelenmiştir. Hücre canlılığı testi için ise MTT metodu kullanılmıştır.

Anahtar sözcükler: Aljinat-kitosan nanopartikül, ilaç taşıyıcı sistemler, vankomisin, iki aşamalı total eklem cerrahisi, boşluk doldurucu, ortopedi.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF ANTIBIOTIC LOADED SPACERS FOR TWO STAGE TOTAL JOINT REPLACEMENT SURGERY

Mesut KAPLAN

**Master of Science, Department of Nanotechnology and
Nanomedicine**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Eylem GÜVEN

January 2018, 82 Pages

Nanotechnological materials and the use of these materials are increasing in all areas as well as biomedical and medicine field. With decreasing the size of material up to nano scales and designing of them, the new ideas has been brought concededly in medical field. One most using and being interested in studies is 'drug targeting and controlled releasing system '.Drug targeting is the attachment of the desired drug to specified structures with ability of the controlled releasing to the desired location such as organ or tissue. Furthermore Controlled releasing system is defined to extended releasing of the drug with efficient intermittent dose in nanostructure medium. Nowadays these kinds of studies is developing very fast with concern of the titration of effective dosage to gain the best treatment results. By developing of drug releasing systems and discovering the new methods the problem solving and new tergnostics studies in medical and biomedical field would be appear furtherer.

In this thesis study, elongation of the antibiotic releasing time with conservation of effective dosage which is used in the antibiotic spacer in orthopedics total joint replacement surgeries has been concerned.

Nowadays the raw material of making spacers is Polymethyl methacrylate. This Polymer has been known as the bone cement also. This material has been marketed in biomedical field and should be practically prepared during the surgery only with mixing of its monomer and specified antibiotic following of 15 minutes resting in room temperature which results to getting the hard material afterward. Beside of mechanical stability and biologic capability properties of this material, because of lacking porous structure in it the substance releasing procedure would not be sufficient which makes

the surgeons to go toward the apply better structural formation in this manner. And its exactly the point that nanotechnologic controlled drug releasing system would found to resolve the problem. In this study Vancomycin which is one of the most useful antibiotics in orthopedics field is loaded on one natural polimer in the name of alginate-kitosan nanoparticle for aim of elongation and reaching to effective releasing dosage intervals in spacers which is used in surgeries in this structure alginate made nucleus is encapsulated with kitosan coat. These drug loaded nanoparticles (which is coated by kitosan) is been achieved by homogenization of drug in to alginate gel following of intruding the drug and drug loaded alginate solvent. Afterward the side of antibiotic loaded spacers as usual is coated with stretched film as its hugging the inside material. At trials steps of study all different combinations of these structure is examined and with optimization of scale is shown together on a graph chart.

The final prepared side coated product is left in 37°C of water bath for releasing. Near to these products designed mechanism included with dialyze membrane is adjusted only for measuring amount of release, then the products are returned to 37°C water bath to release monitoring.

Zeta-sizer was used for defining the dimension, Transmission electron microscopy (TEM) was used for looking to morphologic properties as material characterization studying. FT-IR spectrometry was used for chemical properties determination and MTT method was used for cell viability tests.

Keywords: Alginate-chitosan nanoparticle, drug delivery systems, vancomycin, two-stage total joint surgery, spacer, orthopedics.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübeleri ile beni destekleyen ve tıkağım her noktada beni bir adım daha ileri götüren, rehberliği ile daima yol gösterici olan sayın Hocam Doç. Dr. Eylem GÜVEN'e;

Bu süreçte beni maddi ve manevi olarak destekleyip, çalışmalarım için laboratuvar imkânlarını seferber edip ve hiçbir noktada yardım etmekten kaçınmayan ve bana daima rehberlik ederek akademide ilerlemem için fırsatlar sunan, sayın büyüğüm Prof. Dr. Murat BOZKURT'a;

Lisans hayatımdan yüksek lisansıma kadar bana hem öğretmenlik hem ağabeylik eden, tüm bilgi ve birikimini benden esirgemeyen, tecrübeleri ile bana yardımcı olan sevgili ağabeyim Dr. Mehmet Doğan AŞIK'a;

Tez çalışmam süresince tüm dertlerime ortak olup hayalleri ile beni umutlandıran, yardımlarını benden esirgemeyen dostum Dr. Ali TORABI'ye;

Çalışmalarım boyunca manevi olarak daima yanımda bulunan çalışma arkadaşlarım Emin Yusuf AYDIN'a, Sümeyye YÜKSEL'e, Büşra KARPUZ'a, Servan Bilgeç'e, Mustafa Emin AKSOY'a;

Beni büyüten, bu zamanlara getiren ve sahip olduğum herşeyin benimle olmasını sağlayan, hayatımın herdaim koruyucusu olan canım anneme, babama ve ablama;

Hayatımın her anında yanımda olan ve beni şefkatiyle saran, cesaretlendiren dayım Duran ÇOBAN'a;

Benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, vefakâr dostlarım Hüseyin BALTACI ve Volkan ERKUT'a;

ve en çok da lisans hayatımda karşıma çıkan en büyük şansım olan ve hayatımı her daim çekip çeviren, varlığı ile hayatıma renk katan hayatımın anlamı biricik sözlüme;

Sonsuz Teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER	viii
ÇİZELGELER	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Nanoteknoloji	2
1.1.1. Polimer nano parçacıklar	4
1.1.2. Kuantum noktalar	4
1.1.3. Dendrimer	5
1.1.4. Nanokabuk	5
1.1.5. Karbon Nanotüp	6
1.1.6. Lipozomlar	7
1.1.7. Nanotel	8
1.1.8. Manyetik Nanoparçacıklar	8
1.2. Nanotıp	8
1.2.1. Ortopedide Nanoteknoloji	11
1.3. İlaç Salım Sistemleri	13
1.3.1. Kontrollü İlaç Salımı	14
1.3.2. Hidrojelden İlaç Salımı	15
1.3.3. Mikrokürelerden İlaç Salımı	16
1.3.4. Nanopartiküllerden İlaç Salımı	17
1.3.5. Sıralı İlaç Salım Sistemleri	20
1.4. Aljinat	21
1.5. Kitosan	22
1.6. Artroplastisi	24
1.6.1. Total Diz Protezi Ameliyatı	24
1.6.2. Total Kalça Protezi Ameliyatı	25
1.7. Enfeksiyon	25
1.7.1. Biyofilm	26
1.8. Tek Aşamalı Revizyon	28
1.8.1. İki Aşamalı Revizyon	29

1.9. Boşluk Doldurucu (Spacer).....	29
1.9.1. Polimetilmetakrilat	31
1.9.1.1. Polimetilmetakrilat (PMMA) sentezi	33
1.10. Vankomisin	34
2. Deneysel Çalışmalar	37
2.1. Kimyasallar	37
2.2. Boşluk Doldurucuların Hazırlanması.....	37
2.3. Aljinat-Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması	37
2.4. Aljinat-Kitosan Nanopartikül içeren Aljinat Jel ile Kaplanmış Boşluk Doldurucuların Hazırlanması	38
3. Karakterizasyon Çalışmaları	41
3.1. Morfolojik Karakterizasyon.....	41
3.2. Kimyasal Analiz	41
3.3. Nanopartiküllerin Boyut Analizi	41
3.4. İlaç Yükleme Verimi	41
3.5. <i>İn vitro</i> İlaç Salım Testi.....	42
3.6. Sitotoksosite Testleri	43
4. Deneysel Bulgular ve Tartışma	45
4.1. Morfolojik Karakterizasyon.....	45
4.2. Kimyasal Analiz.....	46
4.3. Nanopartiküllerin Boyut Analizi	49
4.4. İlaç Yükleme Verimi	50
4.5. <i>İn vitro</i> İlaç Salım Testi.....	51
4.5.1. Aljinat-Kitosan Nanopartiküllerden Vankomisin Salımı	51
4.5.2. Boşluk doldurucuların (Spacer) İlaç Salım Grafikleri	54
4.6. Sitotoksosite Testleri (MTT)	71
5. Sonuç.....	72
KAYNAKLAR.....	74
ÖZGEÇMİŞ	81
EKLER	82

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1.1. Boyutlarına göre nano yapıların şekilsel gösterimi [4]	4
Şekil 1.2. Farklı dendrimer yapıları [12].	5
Şekil 1.3. Silika bazlı nanokabukların taramalı elektron mikroskop görüntüleri [13]6	6
Şekil 1.4. Çok duvarlı karbon nanotüpler [18]	7
Şekil 1.5. Bazı polimerik yapıların SEM görüntüleri.	12
Şekil 1.6. Nanofiber yapıların içinde hücre kültürü çalışması.....	13
Şekil 1.7. 1) Kontrollü Salım Grafiği 2) Klasik İlaç Salım Grafiği.	15
Şekil 1.8. İlaç salımı ve hedeflenmesinde kullanılan nano yapılar [56]	18
Şekil 1.9. Nanoteknolojik olarak tasarlanmış kemik kanserine duyarlı yapılar.	19
Şekil 1.10. Çoklu ilaç salım sisteminden bir örnek [60].	20
Şekil 1.11. Çapraz bağlanmış aljnat polimerinin egg-box gösterimi [61].	21
Şekil 1.12. a) Aljnat monomerinin iki ayrı birimi, b) aljnat polimerin zincir hali [62].	22
Şekil 1.13. Doğada en çok bulunan doğal polimerlerden, kitin ve kitinden elde edilen kitosanın kimyasal yapılarının gösterimi [73].	24
Şekil 1.14. Bir biyofilm tabakası [90].	27
Şekil 1.15. 1. Dönüşümlü tutunma 2. Dönüşümsüz tutunma 3.Koloni oluşumu ...	27
Şekil 1.16. Fikse edilmiş diz spacerları [77].	30
Şekil 1.17. Monomeri ve polimerinin kimyasal yapısı.....	31
Şekil 1.18. Metilmetakrilatın akrilamitten sentezlenebildiğinin gösterimi.	32
Şekil 1.19. Metilmetakrilatın polimerleşme reaksiyonunun basit gösterimi [108]..	32
Şekil 1.20. Vankomisin kimyasal- yapısal formülü [120].	35
Şekil 1.21. Vankomisin hücre içi etkinlik mekanizması [121].....	36
Şekil 2.1. Boşluk doldurucuların hazırlanma prosedürü.	39
Şekil 2.2. Sodyum aljnatın metil alkol ile esterleşme reaksiyonu mekanizması. .	40
Şekil 3.1. Nanopartiküllerden ilaç salım düzeneği.....	42
Şekil 4.1. Aljnat-kitosan nanopartiküller TEM görüntüsü. Ölçek 100nm.	45
Şekil 4.2. Aljnat ve Kitosanın FT-IR spektrumları.	47
Şekil 4.3. Aljnat ve boş aljnat-kitosan nanopartiküllerin FT-IR spektrumları.	47
Şekil 4.4. Vankomisin antibiyotiğinin FT-IR spektrumu.	48
Şekil 4.5. Boş aljnat-kitosan nanopartiküllerinin ve vankomisin yüklü aljnat- kitosan nanopartiküllerinin FT-IR spektrumları.	48
Şekil 4.6. İlaç yüklü aljnat-kitosan-nanopartiküllerin boyut analizi.	49
Şekil 4.7. Nanopartiküllere yüklemek için kullanılan ve yüklenen ilaçların miktarı.	50
Şekil 4.8. Nanopartiküllerin ilk 12 saat kümülatif ilaç salım grafiği.	51
Şekil 4.9. Nanopartiküllerin 504 saat boyunca kümülatif ilaç salımını gösterir grafik.	52
Şekil 4.10. Nanopartiküllerden alınan salım numunelerinin spektrum taraması (30.dk).	53
Şekil 4.11. Gru-1 vankomisinin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	54
Şekil 4.12. Grup-2 vankomisinin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	55
Şekil 4.13. Grup-3 vankomisinin kümülatif salım grafiği(Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	56

Şekil 4.14. Grup-4 vankomisinin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	57
Şekil 4.15. Grup-5 vankomisinin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	58
Şekil 4.16. Grup-6 vankomisinin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	59
Şekil 4.17. Grup-7 vankomisinin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	60
Şekil 4.18. Grup-8 vankomisinin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	61
Şekil 4.19. Grup-3 ile grup-2 ilaç salım değerlerinin arasındaki farkı gösterir grafik(Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz)..	62
Şekil 4.20. Spacer grup-7 ve grup-6 ilaç salım değerleri arasındaki farkı gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).	63
Şekil 4.21. Grup-7 ile grup-8 ilaç salım miktarları arasındaki farkı gösterir grafik(Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).	64
Şekil 4.22. Grup-7 ile grup-3 ilaç salım miktarları arasındaki farkı gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).	65
Şekil 4.23. Grup-2, grup-3, grup-6 ve grup-7 kümülatif ilaç salım grafikleri(Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).	66
Şekil 4.24. Grup 2, 3, 6 ve 7'nin ilk 120 saat kümülatif ilaç salımını gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	67
Şekil 4.25. Grup 2, 3, 6 ve 7'nin 120. saat ve 360. saat arasında kümülatif ilaç salımını gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).	68
Şekil 4.26. Grup 2, 3, 6 ve 7'nin 360.saat ve 504. saat arasındaki kümülatif ilaç salımını gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).	69
Şekil 4.27. Tüm grupların kümülatif ilaç salımlarını gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).....	70
Şekil 4.28. 24. Saatin sonunda hücrelerin canlılık yüzdeleri (1:1, 1:10, 1:100 :dilüsyon oranları, AntNP: Antibiyotikli Nanopartikül, NP:Antibiyotiksiz Nanopartikül).....	71

ÇİZELGELER

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1. Ülke ve bölgelerin nanoteknoloji alanındaki akademik çalışmalarının yoğunluğunu gösterir [3].	3
Çizelge 1.2. Ortopedik alanda kullanılan nanoteknolojik ilaçlar [35]	12
Çizelge 1.3. Mikroküre sentezinde kullanılan sentetik ve doğal polimerler [55]. ..	17
Çizelge 1.4. Vankomisin'in farklı pH ortamlarındaki çözünürlülüğü [119].	35
Çizelge 2.1. İlaç salımı için hazırlanan yapılar ve içerikleri	39
Çizelge 3.1. Tüm saatleri temsilen, hücre canlılığı testi için, sıfırıncı (0.) saat plate kullanım şekli.....	44



SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

PMMA: Poli Metil Metakrilat

Sapcer: Boşluk Doldurucu Kemik Çimentosu

TDP: Total Diz Protezi

TKP: Total Kalça Protezi

Ant: Antibiyotik

NP: Nanopartikül

KNP: Kitosan Nanopartikül

ALNP: Aljinat Nanopartikül

PLL: Polilizin

PLGA: Poli laktik-ko-glikolik asit

BPs: Bifosfotanz

EPS: Ekzo Polisakkarit

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

TEM: Geçirimli Elektron Mikroskobu

FT-IR: Fourier Donüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre

1. GİRİŞ

Bu tez çalışmasında, iki aşamalı revizyon cerrahisinde, total eklem artroplastisi sonrası oluşabilecek, hastanın yaşam kalitesini düşüren ve hayati riskler oluşturabilecek enfeksiyonların önlenmesi için, nanoteknolojik olarak tasarlanmış kontrollü ilaç salım sisteminin geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

Eklem artroplastisi, ileri derece artroz olgularında kullanılan en başarılı tedavi yöntemlerinden biridir. Ancak, doğru cerrahi yaklaşımlar, uygun antibiyotik profilaksileri ve diğer tüm önlemlere rağmen; periprostetik eklem enfeksiyonları, operasyon sonrası en ciddi komplikasyonlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Enfekte komponentlerin çıkarıldığı ve protezsiz bir dönemin ardından revizyon komponentlerin reimplante edildiği iki seanstan oluşan revizyon cerrahisi, uygun hastalarda, enfeksiyonun tedavisinde en başarılı seçenek olarak kabul edilmektedir. İmplantsız geçen ara dönemde hastaya, antibiyotik yüklenmiş polimetil metakrilat (PMMA) spacer uygulamaları yapılmaktadır. Bu uygulamalardaki antibiyotik salımının yetersiz olduğu ise yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışma ile hedefimiz periprostetik eklem enfeksiyonunun, iki aşamalı tedavisinin birinci aşamasında kullanılan antibiyotikli spacer uygulamasında, 6-8 haftalık uygulama süresi boyunca, istenilen eklem içi antibiyotik konsantrasyonunu sağlayacak, kontrollü bir ilaç salım sistemi tasarlamaktır.

Tasarlanan bu sistemde, antibiyotiğin sıralı salımının yapılması planlanmaktadır. Periprostetik eklem enfeksiyonlarında sıklıkla tespit edilen septikler için kullanılacak bir antibiyotiğin, doğal ve biyouyumlu polimerler ile enkapsüle ederek, boşluk doldurucuların etrafına kaplanması tasarlanmaktadır. Nanoteknolojik yöntemler ile tasarlayacağımız bu sistemde, glikopeptit grubu antibiyotiği olan vankomisin, aljinat çekirdeğe sahip kitosan ile kaplanmış nanopartiküllere, aljinat jele ve PMMA spacer'a yüklenerek, sıralı ilaç salım sisteminin oluşturulması planlanmaktadır. Nano yapıların ve hidrojelin karakterizasyon çalışmalarını takiben, in vitro koşullarda 30 gün süreyle ilaç salımı çalışmaları yapılacaktır. Bu şekilde, PMMA spacer, PMMA spacerın dışına kaplanmış hidrojel ve PMMA'in dışına kaplanmış nanopartikül katkılı hidrojelin salım profilleri karşılaştırılabilecektir.

Bu tezin sonucunda, iki aşamalı revizyon cerrahisinde en sık karşılaşılan komplikasyonlardan olan ve sadece antibiyotik yüklü PMMA spacer ile giderilemeyen enfeksiyon problemine karşı yeni bir nanoteknolojik yöntem geliştirilerek, eklem içi antibiyotik konsantrasyonunu belirli bir zaman aralığında devamlı ve gerekli düzeyde tutabilecek bir kontrollü ilaç salım sistemi geliştirilecektir. Bu tez, benzer hastalıklar için yapılacak çalışmalar için bir örnek teşkil edecektir.

1.1. Nanoteknoloji

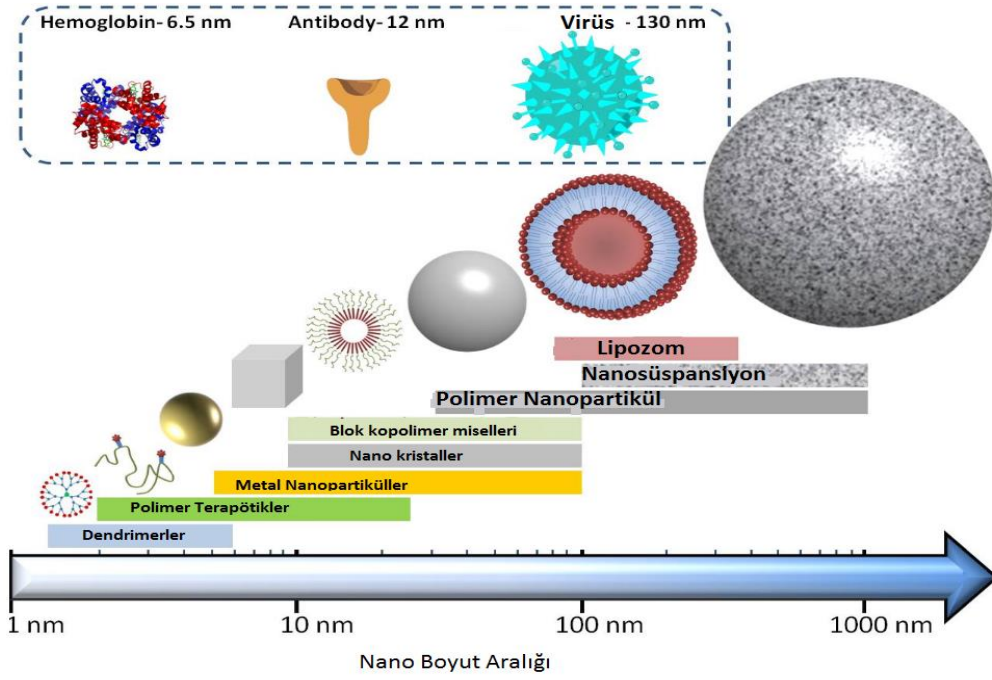
Nanoteknoloji malzemelerin nanometre düzeyinde gözlenmesi, incelenmesi, üretilmesi veya manipüle edilmesidir [1, 2]. ABD Patent Kurumu (USPTO) ise, nanoteknoloji tanımını, nano ölçekte, yapıların kontrollü bir şekilde işlenmesi, üretilmesi ve bu malzemelerin manipüle edilerek, büyük bileşenlere, sistemlere ve mimari yapılara entegrasyonunu kapsamaktadır şeklinde yapmıştır. Bunun yanında, ABD Ulusal Nanoteknoloji Birimi Danışmanı Dr.Mihail C.Roco ise nanoteknolojiyi, maddenin, 1 atom ile 100 molekül çapı arasında (1-100 nm) arasında bir nano ölçek seviyesinde kontrolü ve yeniden yapılandırılması olarak tanımlamıştır. Nanometre ölçeği ise Uluslararası Birimler Sistemine (SI) göre metrenin milyarda biri (10⁻⁹) olarak belirtilmiştir [1]. Nanoteknolojide, malzeme klasik mekaniğin etkisinden kurtulup, kuantum mekaniğinin etkisine girer buda materyalin makro haldeyken sahip olduğu birtakım özelliklerin(optik, elektrik, kimyasal ve biyolojik) değişmesine neden olur. Malzemeler bu boyutlarda, makro yapılarına göre tahmini güç olan, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler kazanmaktadır. Birçok nanoteknolojik çalışmalar hala araştırma ve geliştirme evresinde olmasına rağmen, biyomedikal ilaç salım sistemlerinden elektroniğe, çevre kirliliği iyileştirmeden savunma sanayine kadar geniş alanlarda nanoteknolojik çalışmalar kullanılmaktadır ve gün geçtikçe bu bilim dalına yapılan yatırımlar artmaktadır[2]. Amerika Ulusal Nanoteknoloji Girişimi (NNI), içinde, Yiyecek ve İçecek İdaresi, Savunma Departmanı, Ulusal Bilim Kurulu, Doğal Çevreyi Koruma Ajansı ve İçişleri Bakanlığının bulunduğu 25 kuruluşla işbirliği içinde araştırma ve geliştirme çalışmalarını koordine etmektedir ve NNI'nın programının 2007 bütçesi, toplam devlet bütçesinin 1.2milyar dolarını kullanmıştır. Nanoteknolojiye yapılan toplam yatırım ise 2001-2007 arasında toplamda 6.5milyar dolardır. Bu rakamın küresell ihtiyaçlar doğrultusunda 2016 yılının sonlarında 1 trilyon doları bulacağı öngörülmektedir. Nanoteknolojik çalışmalar Çin, Amerika ve

Hindistanda hızla devam etmekte ve hatırısayılır bir bütçe bu bilim dalına ayrılmaktadır. Gün geçtikçe yapılan yatırımların artması ile verimlerde artmıştır. Çin özellikle tekstil alanında çok hızlı büyüme kaydetmiştir. Nanoteknoloji hızlı, güvenilir, ucuz, temiz ve geri kazanımı finansal olarak hayli yüksektir. Bu nedenle nanoteknoloji, teknolojinin ve bilimin öncülüğünü yüklenmiş uygulamalar bütünüdür [3]. Bununla ilgili 2003-2013 makale yayın sayıları çizelge1.1’de belirtilmiştir. Lider Ülkelerin(Amerika, Çin, Rusya vb) yaptığı akademik çalışmaların 2003-2013 analizlerinde en çok nanoteknolojik çalışmalara rastlanmıştır.

Çizelge 1.1. Ülke ve bölgelerin nanoteknoloji alanındaki akademik çalışmalarının yoğunluğunu gösterir [3].

Ülke-Bölge	Yayın Sayısı
Amerika	160870
Çin	154946
Almanya	47585
Japonya	51952
Kore	41624
Fransa	33848
Birleşik Krallık	28688
Hindistan	34040
İtalya	21769
İspanya	19885
Tayvan	20472
Kanada	16517
Rusya	19975
Avustralya	13596
Singapur	11888
İsviçre	9767
Hollanda	8941
İran	15629
Brezilya	9138
Polonya	8757

Nanoteknolojik çalışmaların ilerlemesi ile nano malzeme çeşitleride doğru orantılı olarak artmış ve nanotıp alanında sayısızca malzeme kullanılmıştır. En çok üzerinde çalışmaların olduğu bu mazlemeleri kısaca sıralayacak olursak; kuantum noktalar, dendrimerler, nanokabuklar, karbon nanotüpler, lipozomlar, fulerenler, nanoteller, nanobarkodlar, polimer nanoparçacıklar, nükleik asit bazlı nanoparçacıklar ve manyetik nano parçacıklardır.



Şekil 1.1. Boyutlarına göre nano yapıların şekilsel gösterimi [4]

1.1.1. Polimer nano parçacıklar

Polimerler günümüz materyallerinin en önemli ve en geniş sınıflarını oluştururlar. Bu malzemeler birçok alt birimlerinin birleşmesiyle makro yapılarını oluştururlar. Bu nedenle polimerler birçok tekrar eden alt birimlerinden oluşurlar. Endüstride kullanılan polimerler, polietilen, polipropilen, polivinilklorid, politetrafloraetilen, polistiren, polilaktidglikolikasit, polimetilmetakrilat (PMMA) gibi malzemelerden oluşurlar. Bunların yanında doğal polimerler olarak, nişasta, selüloz, Aljinat, kitosan, polisakkaridler ve polipeptidlerde kullanılmaktadır. Biyolojik uyumlu polimerlerin kullanımı, rejeneratif tıp ve doku mühendisliği gibi medikal alanlardaki ilerlemeler ile artmıştır. Vücut içerisinde degrade olduklarında kolaylıkla tölere edilen bu malzemeler sayesinde, nano boyutlarda işlenmiş polimer malzemeler, ilaç salım sistemlerinde de yüksek verimle kullanılmaktadırlar [5-7].

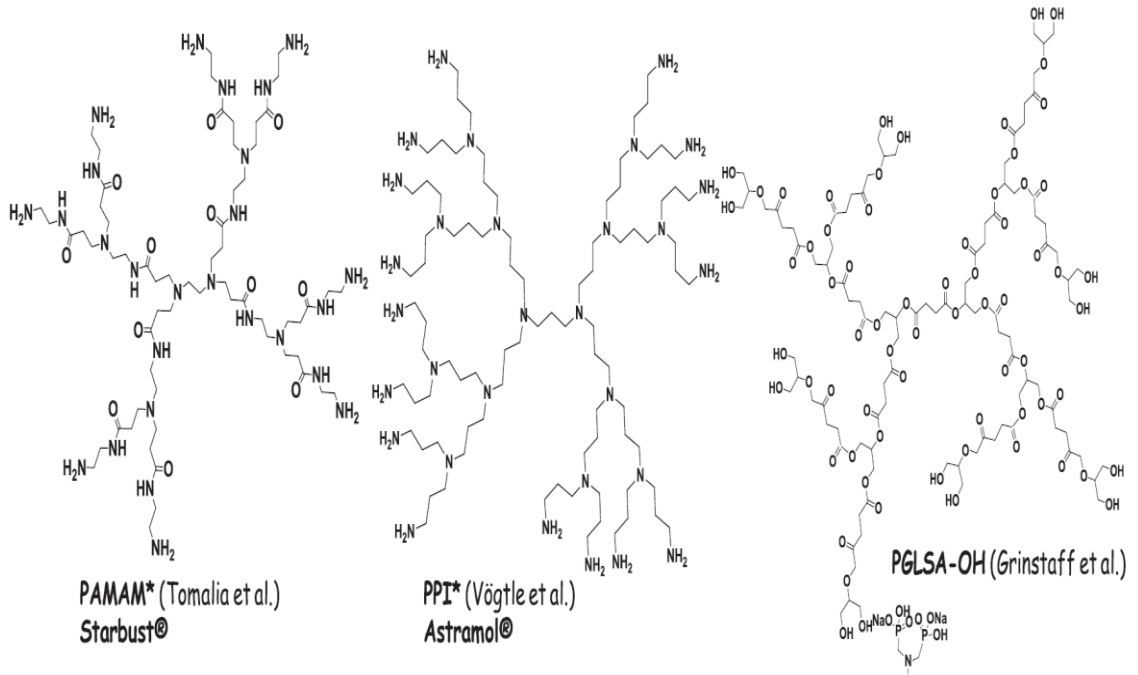
1.1.2. Kuantum noktalar

Kuantum noktaları, yarı iletken nanokristaller olarak tanımlanabilir, boyutları 1-20 nanometre arasında değişir ve periyodik cetvelin II-VI, III-V grubunda bulunan elementlerin bileşiklerinden elde edilirler [8]. Bu durumda yarı-iletkenler sınıfı ile metallerin bileşiklerinden kuantum nokta elde etmek mümkündür. Günümüzde;

optik ve elektriksel özelliklerinden kaynaklı en çok üretilen malzeme çeşidi kuantum noktalar [8, 9].

1.1.3. Dendrimer

Nanotıp alanında ilaç taşınımını sağlamak için hazırlanan nanopartiküller üzerine birçok çalışma gerçekleştirilmektedir. Hem tedavi hem de teşhis amaçlı kullanılabilen dendrimerler bunlara örneklerdir. Dendrimerler ortalama protein boyutuna ve dallanmış yapıya sahip doğal olmayan moleküllerdir. Dallanma şekillerine göre jenerasyon sayısı alırlar. Dendrimerler daha çok hedefleme ve ilaç salımı sistemlerinde kullanılan, ilaç yüklenme verimi hayli yüksek olan sentetik malzemelerdir. Bunların arasında en yaygın olan çeşitleri, poliamidoaminler, polilisin, poliesterler, polipropiliminler vb. [10-12].

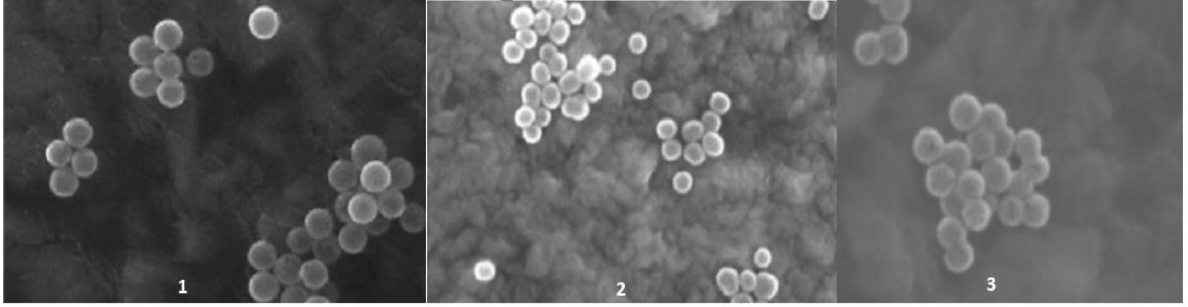


Şekil 1.2. Farklı dendrimer yapıları [12].

1.1.4. Nanokabuk

Nanokabuklar, çoğunlukla altın ile kaplanmış, etrafı elektrik iletkenliği iyi olan bir metal ile kaplanmış, merkezinde silika bir çekirdeğe sahip olan çok küçük kürelerdir [13, 14]. Nanotıp alanında tereagnostik olarak kullanılırlar ve görüntüleme ajanları olarak üzerinde yaygın çalışmalar yapılmaktadır [14]. Yakın infrared ışığını absorplayıp ısı açığa çıkarmaları, onlara tümörlere karşı savunucu ve tedavi edici

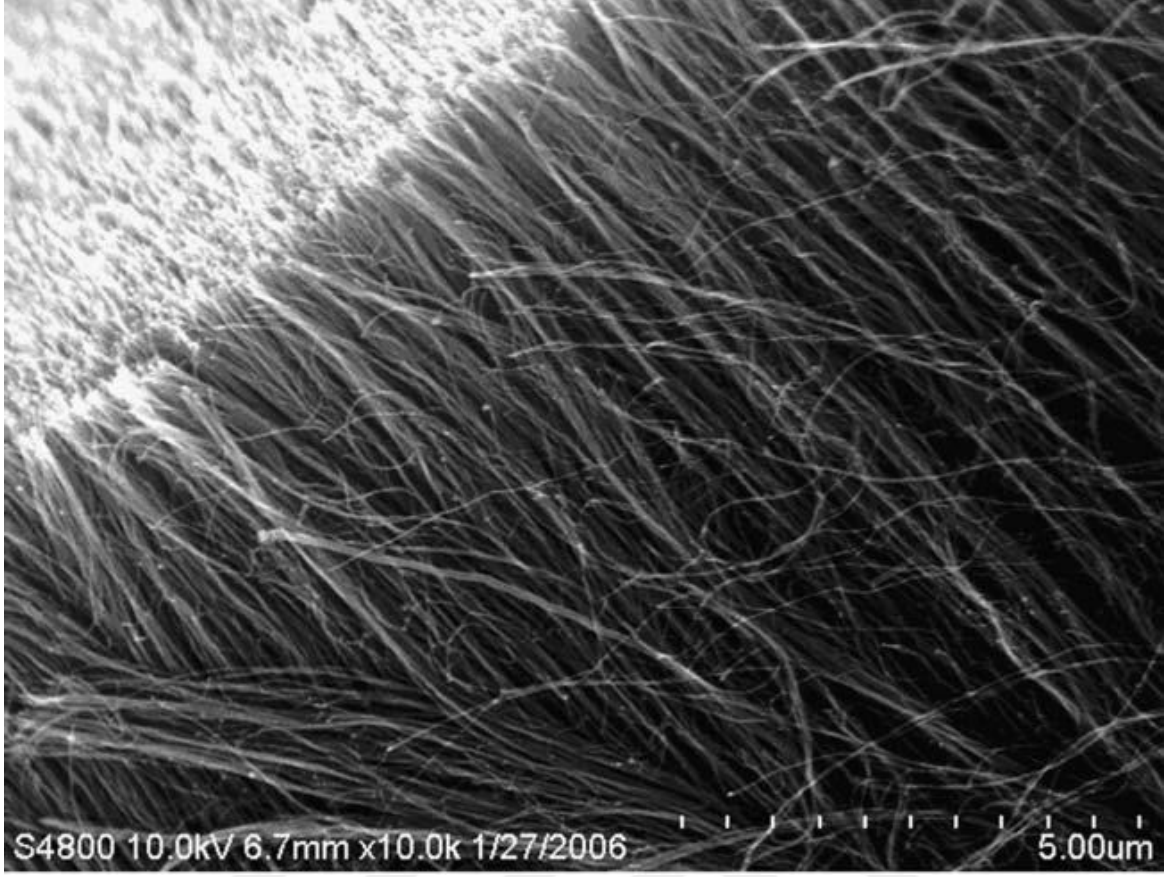
özelliik katmaktadır. Bu absorplama sayesinde açığa çıkan ısı, tümörler için toksik etki yaratmaktadır [13]. Nanokabuklar üzerindeki bu çalışmalar bu nedenle daha çok kanser alanında nanoonkoloji bünyesinde yapılmakta ve fototermal denemelerin tümör üzerine etkilerine bakılmaktadır [14, 15]. Şekil1.3'te silika bazlı nanokabukların farklı duvar kalınlıklarında SEM görüntüleri verilmiştir. Ölçek 1 ve 2 numaralı resimde 1um iken 3 numaralı resimde 500um'dir.



Şekil 1.3. Silika bazlı nanokabukların taramalı elektron mikroskop görüntüleri [13]

1.1.5. Karbon Nanotüp

Karbon nanotüpler, 1991 yılında Lijima tarafından, fulleren sentezi sırasında keşfedilmiştir. Grafitin hegzagonal geometride düzenli bir şekilde kendi etrafında kıvrılmasıyla oluşur. Nanotüplerin çapları 1nm ile bundan daha fazla nanometre değerleri arasında olabilirken, boyundan da çok çok azdır ve boyu mikrometre seviyesine çıkabilir. Birden fazla üretim prosesi mevcuttur ve bu proseslere göre çok duvarlı ya da tek duvarlı karbon nanotüpler sentezlenir. Bunların arasından tek duvarlı karbon nanotüpler naoteknolojik alanda en çok üzerinde çalışmaların olduğu ve gelecek vadede çeşididir. Karbon nanotüpler, alışılmadık bir şekilde fotokimyasal, elektronik, termal ve mekanik özellikler bakımından hayli fonksiyoneldirler. Bu özellikler daha çok tek duvarlı karbon nanotüplerde gözlemlenmektedir. Karbon nanotüpler daha çok elektronik ve mukavemet gerektiren mekanik alanlarda kullanılmaktadır [16].



Şekil 1.4. Çok duvarlı karbon nanotüpler [18]

1.1.6. Lipozomlar

Koloidal taşıyıcı sistemlerden biri olan lipozomlar ,tek veya iç içe geçmiş yaklaşık 0.02-3.5 mikrometre çapında küresel veziküllerdir. Bu malzemeler toksik olmayan fosfolipid ve kolesterol yapılarından sentezlenirler. En yaygın olarak ilaç salımları ve gen tedavisinde hedeflemede kullanılırlar. Gen tedavisinde kullanılmaya daha yatkındırlar çünkü; lipozomlar kendi yapılarından ötürü hücre duvarından çok kolay geçebilmektedirler. Lipozomlar üzerindeki çalışmalar oldukça yaygındır, çok eşitli fonksiyonelliği arttırılmış lipozom, literatürde bulunmaktadır. Amaca yönelik üretilen lipozomlar, anyonik ve katyonik olarak genel gruplara ayrılabilirler. Lipozomların bu çoklu seçenekleri ve kimyasal yapısındaki fosfolipid bağlar endozomlardan ve lizozomlardan kaçışı kolaylaştırırken, iç içe katmanlarının oluşuda ona harika bir ilaç deposu veya gen deposu özelliği sunmaktadır [17].

1.1.7. Nanotel

Nanoteller metalik, yarı-iletken, manyetik, oksit ve polimer bileşikleri şeklinde olabilen ultra küçük ölçeklerde kimyasal ve biyolojik sensör oluşturulmasını sağlayan nanomalzemelerdir [18]. Metal atomlarından, silikondan yada elektrik iletken özelliği olan malzemelerden üretilir. Nanoteller, hem metallerden hem de yarı iletken malzemelerden oluşur [19]. Nanoteller aynı zamanda nanoçubuklar veya kuantum teller olarakta bilinirler. Nanoteller daha çok elektrik devrelerinde potansiyel komponent olarakta görülmektedir [18, 19].

1.1.8. Manyetik Nanoparçacıklar

Manyetik nanopartiküller, tanı ve teşhiste olmak üzere nanotıp alanında hayli kullanılan, potansiyelleri ve yenilenebilir yapılarından ötürü, nano ölçekli malzemelerin ana sınıfındadırlar [20]. Benzersiz fiziksel özellikleri ve biyolojik, hücresel seviyelerdeki etkileşim fonksiyonları onları özel kılmaktadır [19, 20]. Manyetik rezonans görüntüleme sistemlerinde, kontrast ajan olarak ve aynı zamanda ilaç hedefleme sistemlerinde kullanılırlar [21]. Daha çok demir (Fe), altın (Au) ve kobalt (Co) bileşikleriyle elde edilirler. Manyetik nanopartiküller, tanılama uygulamaları, teşhis ve kanser gibi hastalıkların iyileştirilmesi, kardiyovasküler hastalıklarda ve nörolojik hastalıklarda kullanılmaktadır [19-21].

1.2. Nanotıp

Nanotıp hastalıkların tedavisinde ya da fonksiyonlarını yerine getiremeyen organ ve dokuların onarılmasında kullanılan moleküler düzeydeki nanoteknolojik çalışmaların tamamına karşılık gelen bilim dalıdır [22]. Nanotıp, nano düzeyde malzemelerin kuantum etkisindeki özelliklerini kullanarak teşhis ve tedavi için malzemeler üretir, araştırır ve kullanır. Nanotıp teknolojisinden hayli umutlu olan yatırımcılar bu konuda devlet destekli çalışmalar yürütmektedir. Ulusal Sağlık Enstitüsü 2004 yılında 70 milyon dolar yatırım yapmışken bu çalışmaların ilerleyen zamanlarda yatırım miktarları 3.8 milyar doları bulacağı düşünülmektedir [23].

Günümüzde nanotıp, sayısız çalışmalarına rağmen, ürüne dönüştürülmüş kullanımı nadirde olsa var olan birkaç malzemeye sahiptir. Bu çalışmaların çoğu elimizde akademik çalışmalar şeklinde kalmaktadır. Ürün olarak kullanılan malzemelerden kuantum noktacıklar, ilaç sektöründe Pfizer, GSK, Astra Zeneca ve Genetech şirketlerinin, ilaç performansını izlemeler için analizlerde kullandıkları yapılarıdır.

Akademik Merkez Enstitüsü ve Harvard araştırma grubu nanotelleri, yeni bir teragnostik olarak kullanılması için geliştirmeye çalışmaktadırlar [23]. Başka bir çalışmada ise biyosensör olarak, hücre içi protein analizi hatta virüs teşhisi için ürün geliştirmektedirler. Bu çalışmalar yeni nesil teragnostiklerin gelişmesi için öncü olacaklardır.

Günel çalışmalar ve araştırmalar şu altı kategoriye odaklanmıştır [24]:

1) Antimikrobiyal özellikli malzemeler

Çalışmalar bu alanda güçlü antimikrobiyal malzemelerin araştırılması ve geliştirilmesine odaklanmıştır. Nanokristal gümüş malzemeler özellikle yara iyileşmesinde kullanılan örnek malzemelerdir.

Biyofarmosötik

Enkapsüle edilmiş ilaç salım düzenekleri ve malzemeleri geliştirmeye odaklanmış alandır. Nanoteknolojik olarak tasarlanmış sistemleri içerir.

2) İmplant malzemeleri;

Hasarlı ya da hastalıklı organ ya da dokuları tedavi etmek için geliştirilen nanomateryalleri amaç edinir. Bu malzemeler, biyolojik ortama kolay penatüre olan, degradasyonu iyi ve degrede sonucu malzemler organizmaya zarar vermeyen malzemelerdir.

3) İmplant edilebilir cihazlar;

Hasarlı ya da işlevini yitirmiş organ veya dokuların yerine kullanılmak üzere geliştirilen cihaz ya da malzemelerdir.

4) Tanı-teşhis araç-gereçleri üretimi;

Bu çalışma alanı lab-on-a-chip cihazlar üzerinde odaklanmıştır. Bu çalışmalar, ilaç keşfi, analizi veya hastalık teşhislerinde hızlı kimyasal sonuçlar alınmasını sağlamaktadır. Bunun yanında, nanopartikül proplar, minyatür görüntüleme araçları, görüntüleme sistemlerinde erken tanı veya teşhislerde oldukça kullanışlı olmaktadır.

5) Temel yaşam faaliyetlerinin anlaşılır hale getirmek;

Nano ölçekte materyallerin kullanılarak, moleküler düzeyde biyolojik sistemlerin işleyişi ve devam süreçlerini irdeler.

Nanoteknolojik çalışmaların, tıp alanındaki uygulamalarına baktığımızda yukarıda bulunan altı ana madde ile ilgili çalışmalara sıklıkla rastlamaktayız. Nanotıp günümüzün en tehlikeli veya tedavisi güç olan, kanser, kardiyovasküler ve diyabet hastalıkları üzerine yoğunlaşarak bu alandaki bilinmeyenlere ve yetersiz tedavilere ışık tutmaya çalışmaktadır [25].

Nanoteknoloji kendisi gibi multidisipliner olan rejeneratif tıp bilim dalı ile tıp alanında oldukça yakın çalışmaktadır. Rejeneratif tıp, disiplinler arası geniş çalışma skalası olan, işlevselliğini yitirmiş, hasar görmüş veya hiç olmayan organların tedavisinde veya teşhisinde oldukça yaygın çalışma alanına sahiptir. Nanotıp bu alandaki çalışmalarını, hücre tabanlı, biyomalzeme tabanlı ve karmaşık doku mühendisliği olarak üç ana başlıkta inceler. Son 20 yılda kök hücre çalışmaları, nanoteknolojik çalışmalar ve biyomühendislik çalışmaları oldukça ilerlemiş ve bu ilerleme disiplinler arası bilimsel çalışmaları hızlandırmıştır. Bunun yanında nanoteknoloji üzerine artan meraklar sayesinde, nanotıp alanındaki gelişmeler tıp alanında da yeni bir perspektife ve aynı zamanda klinik pratiklerin yenilenmesine zemin hazırlamıştır [26]. Bugüne kadar yaklaşık otuz nanoteknolojik tabanlı ürün klinik uygulamalar için onaylanmıştır ki bu ürünler çoğunlukla lipozomal ilaç taşıyıcı sistemlerden ve polimer konjugatlardan oluşmaktadır [26, 27]. Nanotıp, organizmaları, hücre adhezyonu, hücre göçü ve hücre farklılaşması gibi temel hücre fonksiyonlarını, doğal hücre çevresini, yüzeyini ve her türlü bileşenlerini inceleyerek taklit eder [27].

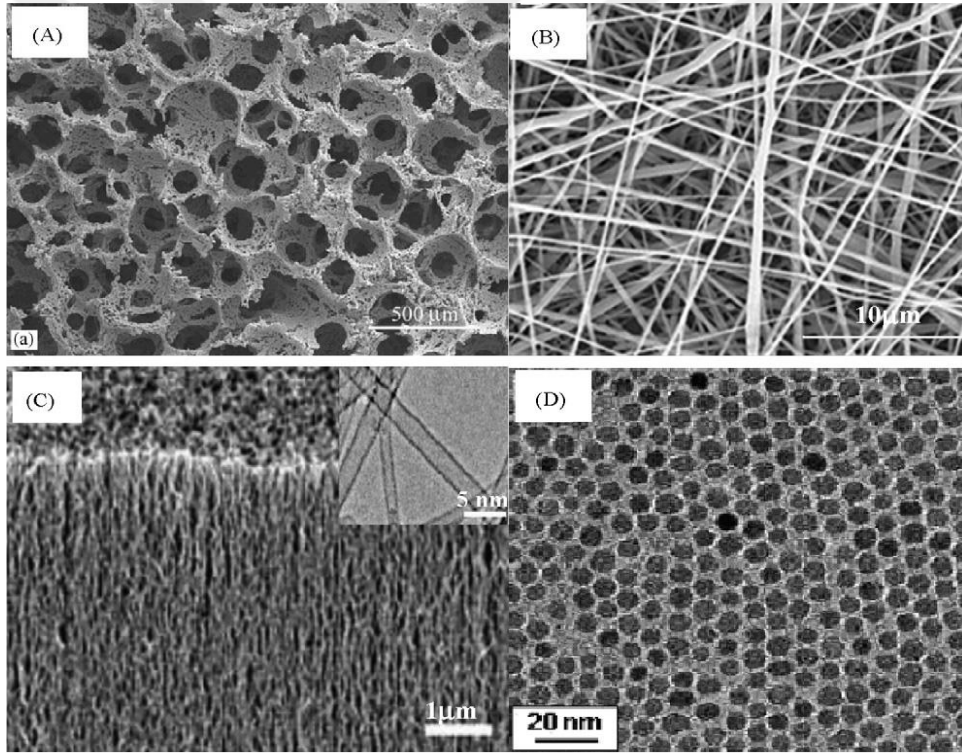
Langer ve Vacanti 1993'te ilk defa doku mühendisliğinin temeli olarak, kompleks bir çalışma yapmışlar ve kök hücre, hücre iskeleti ve indüktif faktörleri kombine ederek günümüzde çeşitli durumlarda hala kullanılabilecek kompleks doku-organ çalışmalarını başlatmışlardır [28]. Hücre iskeleleri yada yapı iskeleleri, hücrenin 3 boyutlu bir olgu kazanması için ve aynı zamanda da düzgün bir şekli, mimarisi, fiziksel özelliklerini rahat sağlayacağı bir ortam oluşturmak için sentezlenir. Buradan hareketle, yapı iskeleleri biyoyumluluk, kontrol edilmiş porozite, geçirgenlik, mekaniksel davranış ve uygun degradasyon kinetiği bakımından, hedef dokuya uygun olmalı [32]. Hücre proliferasyonu için malzemelerin nanotopografisi uygun ve hücrenin tutunacağı şekilde olması gerekir [28]. Nanotıp bu alandaki çalışmaları sayesinde, yapay organ, kök hücre çalışmaları ve kanser tedavilerinde hücrelerin farklılaşmasını, çoğaltılmasını ve işlenmesini sağlamaktadır [29].

1.2.1 Ortopedide Nanoteknoloji

Nanoteknoloji gündelik hayatımızın içinde her alanda etkin olduğu gibi ortopedi alanında da pek çok çalışmalara sahiptir. Neredeyse tüm implantlar ve biyomedikal malzemelerin çoğu nanoteknolojik prosesler ile üretilmektedir. Nanotıp alanı, bu anlamda bizlere tanı ve tedavi için ve bunların görüntülenmesi için nanomateriyaller sunmaktadır [30, 31]. Daha da önemlisi, ilaç dağıtım araçları olarak kullanılıp, teragnostik uygulamalarda eskiye göre çok başarılı ve güvenilir sonuçlar vermektedir [32]. Buna ek olarak, nanomateriyaller doku rejenerasyonu için kullanışlı yapı iskeletleri sunmaktadırlar [33]. Kemik hastalıkları iskelet ile alakalı, içinde yara ve defektlerinde olduğu, hasta hareketini önleyen ve hatta ölüme bile yol açan hastalıkların tamamını içerir [34]. Hala efektif tedavisi olmayan ve günümüzde hala yaygın olarak devam eden, artrit, osteoartrit, osteosarkoma ve metastatik kemik kanseri gibi hastalıkların acil bir şekilde, güvenilir ve efektif bir klinik tedavi için yeni ilaçlara ve ilaç dağıtım sistemlerine ihtiyacı vardır [34, 35]. Nanomalzemeler kemik hastalıklarının iyileştirilmesi için, ilaç dağıtım sistemlerinde eşsiz özellikler sunmaktadır [35]. Bu kemik hastalıkları için araştırılan ilaç sistemleri iki ana başlıkta tanımlanır ve üretilir. Bunlar, polilaktidoglokolik asit vb. organik veya silika bazlı inorganik yapılardır [32]. Bu yapılar geleneksel yöntemdeki gibi antibiyotik, ilaç dağıtım yapmaya yarayan, kemik hastalıkları için antibiyotik, kemoterapötik ve siRNA-miRNA veya DNA gibi nükleik asitler ile gen terapisi yapan molekülleri içerirler. Güncel olarak kullanılan ilaçlara bakacak olursak, bifosfotanz olarak adlandırılan BPs kemik hastalıklarında başarılı olarak kullanılmaktadır [36]. Bu ilaçlar nanopartiküller sayesinde hasarlı dokuya tutunarak orada ilaç salımı yapar ve tedavi eder [37]. Multifonksiyonel yapıların araştırılması ve tasarlanması hala devam etmektedir [38]. Fonksiyoneli yüksek olan yapı iskeletlerinin, yeni kemik doku oluşumu ve işlev kazandırması gibi çalışmalarda hali hazırda uygulanmakta ve yapılmaktadır ki bu yapı iskeleti barındırdığı büyüme faktörleri, sitokinler ve gerekli kimyasallar açısından bir hücrenin yeniden oluşması ve dokulaşması için harika bir ortam sağlamaktadır [35]. Tümör metastazları kanserde ana ölüm sebepleridir ve kemikler birçok kanser metastazı için uygun bir bölgedir. Bunun için üç farklı jenerasyon şeklinde üretilmiş olan BPs kemiklere karşı olan yüksek afinitesinden dolayı oldukça işe yaramaktadır. Bu özelliği onu kullanışlı yapar, nanomateriyalleri kemiğe taşımada yardımcı olur ve bu özelliklerinden ötürü kanserleşmiş tümörlerin tedavisinde başarılar kaydedilmiştir [35].

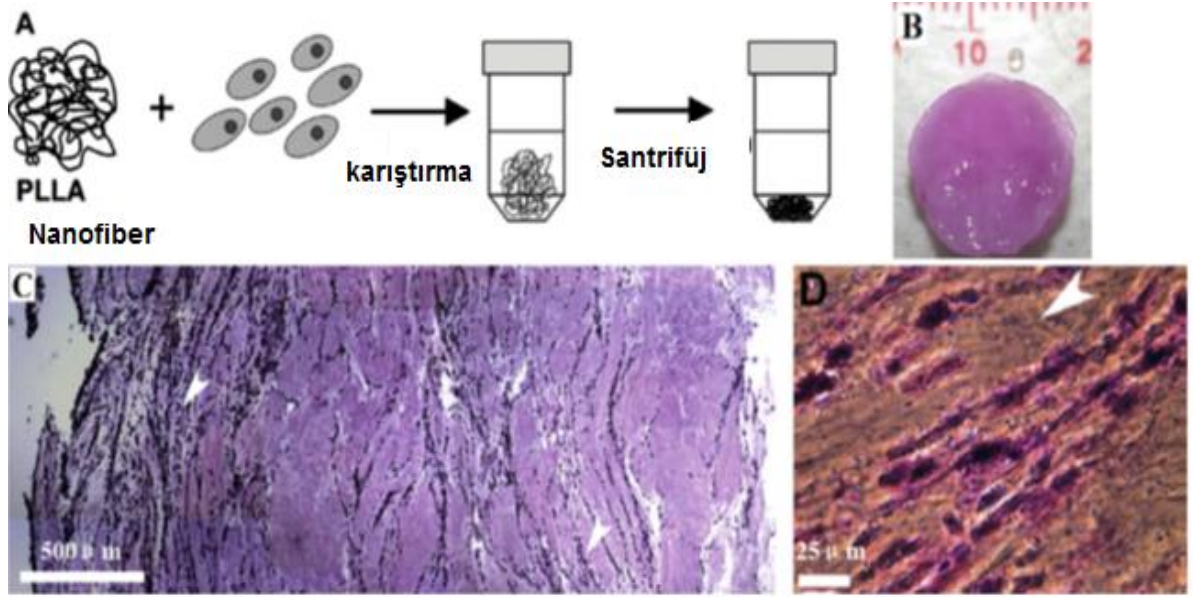
Çizelge 1.2. Ortopedik alanda kullanılan nanoteknolojik ilaçlar [35]

Jenerasyon	İlaç	Nanopartikül Çeşidi	Antikanser Ajanı	Etkisi
1	Bp klodronat	Lipozom	Klodronat	Hücre büyümesini inhibe eder, metastazı azaltır
2	Zoledronik asit	PLGA	Docetaxel	Hücre yenilenmesini artırır ve yarı ömrü uzatır
3	Risedronat	PLL-CD	Siklodekstrin	Kemik metastazını önler



Şekil 1.5. Bazı polimerik yapıların SEM görüntüleri.

Şekil 1.5'te, (A) Taramalı elektron mikroskobu ile görüntülenmiş, faz ayırma metodu ile yapılmış bağlar arası kürelerin oluşturulduğu polilaktikasin yapısı. (B) Osteoblastlar için geliştirilmiş kemik doku uygulamaları, elektro eğirme yöntemiyle yapılmış, polikaprolakton-hidroksiapatit-jelatin (1:1:2). (C) Yoğun şekilde sıralanmış tek duvar karbon nanotüpler ortopedik uygulamalar için geliştirilmiş. (D) Monodispersif magnetit nanopartiküller (Fe_3O_4) gösterilmiştir. [30].



Şekil 1.6. Nanofiber yapıların içinde hücre kültürü çalışması.

Şekil 1.6'da, a, kıkırdak doku kültürü için geliştirilmiş nano fiber yapıların içine ekilmiş hücrelerin şematik gösterimi. B, 42 gün sonra kıkırdak benzeri dokuların nanokompozit içindeki görüntüsü. C, hücre kültüründen 1 gün sonra nanofiber boyunca iyi dağılım göstermiş kondrosit hücrelerinin uzaktan görüntüsü. D, hücre kültüründen 1 gün sonra nanofiber boyunca iyi dağılım göstermiş kondrosit hücrelerinin yakından görüntüsü [30].

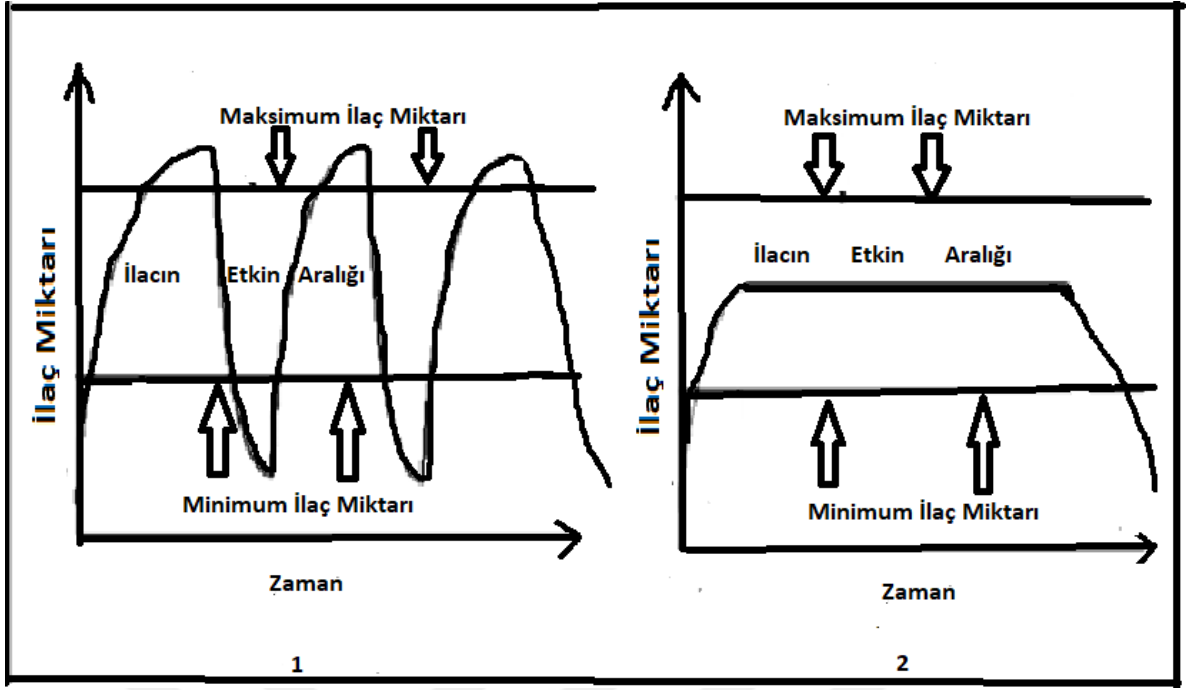
1.3. İlaç Salım Sistemleri

İlaç salım sistemleri, ilacın belirli bir malzemenin içine hapsedilip ya da ona tutturulup, istenilen bölgeye zaman ve miktar açısından ilacın düzenli bir muamele ile verildiği sistemlerdir [39]. Bu sistemler ilaç salımını yapmaya yarayan mekanik sistemlere (persitaltik pompa vb.) göre daha basittir. Bununla birlikte, ilaç, polimer matriks içerisinde çözünmemiş olarak da depolanabildiği için, daha küçük sistemlerdir. Gelişen biyomedikal ve biyoteknolojik çalışmalar sayesinde piyasada birden fazla ilaç salım sistemleri bulunmaktadır [40, 41]. Eski yöntemlerde, ilaçlar hastanın zaman kontrolü ile belirli aralıklarda tekrarlayan bir süreçle devamlı ilaç alması ile olurdu. Ancak, günümüzdeki teknoloji ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi, güncel ilaç uygulamalarının gelişmesi, uzun ömürlü ürünler olması,

performanslarının iyileştirilmesi etki süresinin uzatılması için çalışır [42]. Polimer tabanlı ilaç dağıtım sistemleri, konvansiyonel yöntemlere ek olarak pek çok uygulama şeklinde kullanılabilmektedir. Güncel yapılan çalışmalarda, polimerik nano yapılarının moleküler ilaçlar için daha elverişli sistemler olduğu gösterilmiştir [38, 43]. Çevresel koşullardaki değişikliklere (pH, sıcaklık, elektriksel alan, UV-görünür ışık, bazı kimyasallar vb.) cevap verebilen yeni kontrollü ilaç salım sistemleri keşfedilmektedir [43]. Amaca yönelik kontrollü ilaç salım sistemleri, literatürde pek çok şekilde denenmiştir. İlaç salım sistemleri arasında en çok öne çıkan türler ise nanopartiküller olurken, bunları mikropartiküller ve hidrojelers izlemektedir.

1.3.1. Kontrollü İlaç Salımı

Kontrollü salım sistemlerinin geliştirilmesindeki amaç; gerekli olan dozda ilaç salımının sağlanması, ilaçların salım miktarı aralığının uzatılması, toksik etkinin ve yan etkilerin minimum seviyeye getirilmesi ve ilacın sadece ilgili bölgeye hedeflenerek (organ, doku ya da hücreye vb.) o bölgeye ulaşmasının sağlanmasıdır. Kontrollü salım sistemleri, insan hayatının bir çok evresinde hastalıkların tedavi edilmesi, bu hastalıkların önleyicisi ve hastalık semptomlarının gidericisi olarak ihtiyaç duyulan ilaçların, vücuda optimum seviyede verilmesini sağlar. Yani, doğru dozda, doğru zamanda ve doğru hücreye ulaşım bu sistemlerle yapılır. İlacın, etkin doz aralığından sapmadan, aynı zamanda da toksik doz seviyesine ulaşmadan ilacın vücuda verilmesi sağlanır. Kontrollü salım sistemlerinde kullanılacak olan ilaç taşıyıcı sistemler, hedef hücrenin veya dokunun yapısına uygun olarak seçilir. Ortama verilmek istenen ilaç aktif maddesine göre süreç uygulanır ve bu sistemler sentezlenir. İlaç taşıyıcı sistemler partiküller tipi olanlar, çözünür ve hidrofilik yapıda olanlar ve hücresel taşıyıcılar olarak üç gruba ayrılır. Araştırmalarda en çok konu olan ilaç taşıyıcı yapılar; dendrimerler lipozomlar, polimerik nanopartiküller, lipoproteinler, hücresel taşıyıcılar, çözünür polimerler, mikroküreler, nanoparçacıklar ve polimerik misellerdir [44-46].



Şekil 1.7. 1) Kontrollü Salım Grafiği 2) Klasik İlaç Salım Grafiği.

1.3.2. Hidrojelden İlaç Salımı

Monomerlerden oluşan uzun zincirlerin çapraz bağlarla bağlanarak bir üç boyutlu ağ yapısı oluşturduğu polimerik yapılara jel denir. Jelleşme olayı polimerizasyon esnasında, monomer yapılarının sürekli olarak jelleşmeyi tetiklemesi ile oluşan polimerlerin üç-boyutlu bir şekilde bir ağ yapısı oluşturarak birbirlerine bağlanması ile oluşmaktadır [47, 48]. Polimer jellerin temel bileşenleri; polimer ağları ve ortam sıvısıdır [48]. Jeldeki polimer ağları ki bu ağlar düzensiz veya çapraz bağlanmış ağlardır, sıvıyı tutarlar ve dış ortama kaçmasını önleyen bir kafes rolü oynarlar. Jel kurutulup içindeki sıvı dışarı alındığında geriye kalan şey, bir miktar kuvvetle şekli değiştirilebilecek katı bir maddedir [48, 49]. Kuvvetli bir şekilde kimyasal bağlarla bağlanmış bir jel, çözelti içinde asla tam olarak çözünemez. Bu özellikleri jelleri pek çok uygulama alanında kullanışlı ve vazgeçilmez bir malzeme haline getirmiştir [49]. İnsan vücudunda, iskelet birleşim yerlerini kayganlaştıran sinovial sıvı, kan damarlarının çeperleri, bağ dokularıda jel içerir. Mide ve bağırsak gibi iç organların yüzeyleri de jellerle kaplıdır [50]. Jellerin en önemli özellikleri dış uyaranlara göre(sıcaklık, pH, çözücü, manyetik alan, elektriksel alan, ışık v.b) hacimlerini değiştirebilmeleridir. Bu uyaranlar jeldeki polimer zincirleri arasındaki çekme ve itme kuvvetlerinin dengesini değiştirir ve hacim değişimleri meydana gelir [51].

Hidrojeller, çok miktarda su ve biyolojik sıvıları absorplayabilen üç boyutlu ağ yapıda özel polimerlerdir. Bu üç boyutlu yapı polimer zincirleri arasındaki kimyasal ya da fiziksel çapraz bağlanmadan kaynaklanmaktadır. Hidrojel zincirleri arasındaki çapraz bağlanma; kovalent bağlar, hidrojen bağları, Van der Waals etkileşimleri veya fiziksel geçişler şeklinde olabilir. Hidrojellerin su absorplama yetenekleri yapılarında bulunan OH, CONH₂ ve SO₃H gibi hidrofilik gruplardan kaynaklanır [49, 51].

Hidrojeller, yüksek su tutma kapasitelerine rağmen suda çözünmezler, çapraz bağlı yapılarına ve çevre koşullarına bağlı olarak şişme davranışı gösterirler. Hem doğal hem de sentetik yapıda çok sayıda hidrojel vardır. Dekstran, nişasta, kollojen, kitosan ve aljinat doğal hidrojellere örnek olarak gösterilirken; poli(akrilamid), poli(etilen oksit), poli(vinil alkol) de sentetik hidrojel olarak sıralanabilir. Hidrojellerin yapılarında bulunan ve sensör olarak adlandırılan yan gruplar sayesinde, çevre koşullarında meydana gelen çeşitli değişikliklere hacimsel değişimler göstererek çok kısa sürelerde yanıt verirler. Bu özelliklerinden dolayı literatürde kullanılan pek çok hidrojel ilaç salım sistemleri mevcuttur [48].

1.3.3. Mikrokürelerden İlaç Salımı

Mikroküre yapılar, çapları birkaç mikrometre ile yüz mikrometre arasında değişen, homojen yapıda, genelde, kontrollü salım yapan ve hedeflendirilmiş sistemlerin hazırlanmasında kullanılan mikro taşıyıcı sistemlere denir. Mikroküreler, homojen ve küresel bir yapıya sahip yüzeyleri pürüzsüzdür [52]. Bu sistemlerin avantajlarına değinecek olursak; ilacın hedef bölgeye kontrollü salımını sağlarlar. Salım yaparken yapısının ve aktivitesinin değişmemesi, etken maddeyi hedef organa, dokuya veya hücrelere taşıyabilmesi, hedefe ulaşana kadar etken maddenin mikroküreden sızma yapmaması, in vitro ve in vivo koşullarda makro yapılara oranla dayanıklı olması, düşük dozlarda terapötik etkinlik sağlayabilmesi, buna bağlı olarak toksisitenin az olması, biyouyumlu ve biyobozunur olmaları, parçalanma ürünlerinin toksik olmamasıdır [53]. Mikroküre formülasyonunda yararlanılan polimerler, biyobozunur veya biyobozunmaz özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Sentetik veya doğal kaynaklı olan biyobozunur polimerler, parenteral uygulamalar için idealdir. Bu polimerler, enzimatik veya farklı bozunma yolları ile vücutta hedeflenen bölgede, etken madde salımını istenen sürede gerçekleştirdikten sonra, degrade olup biyouyumlu ve toksik

olmayan, daha sonra normal fizyolojik yollarla vücuttan atılan yapılara dönüşürler [54].

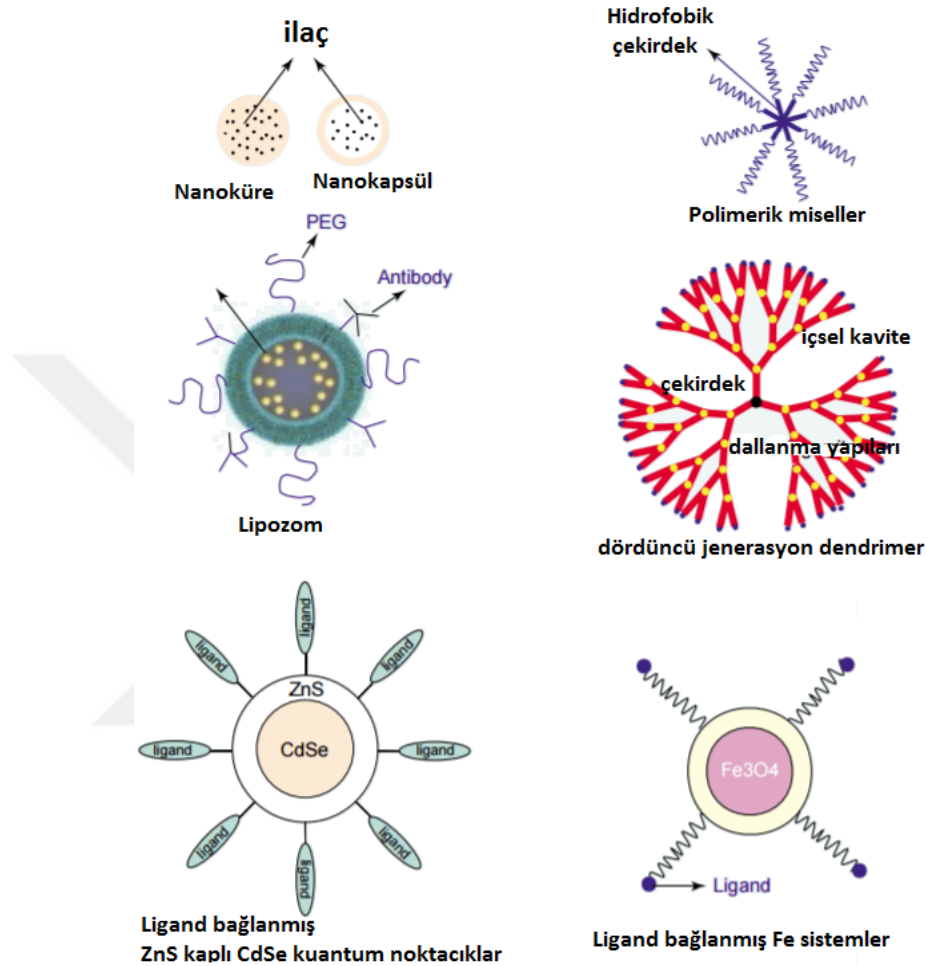
Çizelge 1.3. Mikroküre sentezinde kullanılan sentetik ve doğal polimerler [55].

Doğal Biyobozunur Polimerler	Proteinler • Albumin • Globulin • Jelatin • Kolajen • Kazein • Polisakkaritler • Nişasta • Selüloz • Kitosan • Aljinat • Dekstran
Sentetik Biyobozunur Polimerler	• Polifosfazenler • Psödopoliaminoasitler • Poliesterler • Poliamidler • Polianhidridler

1.3.4. Nanopartiküllerden İlaç Salımı

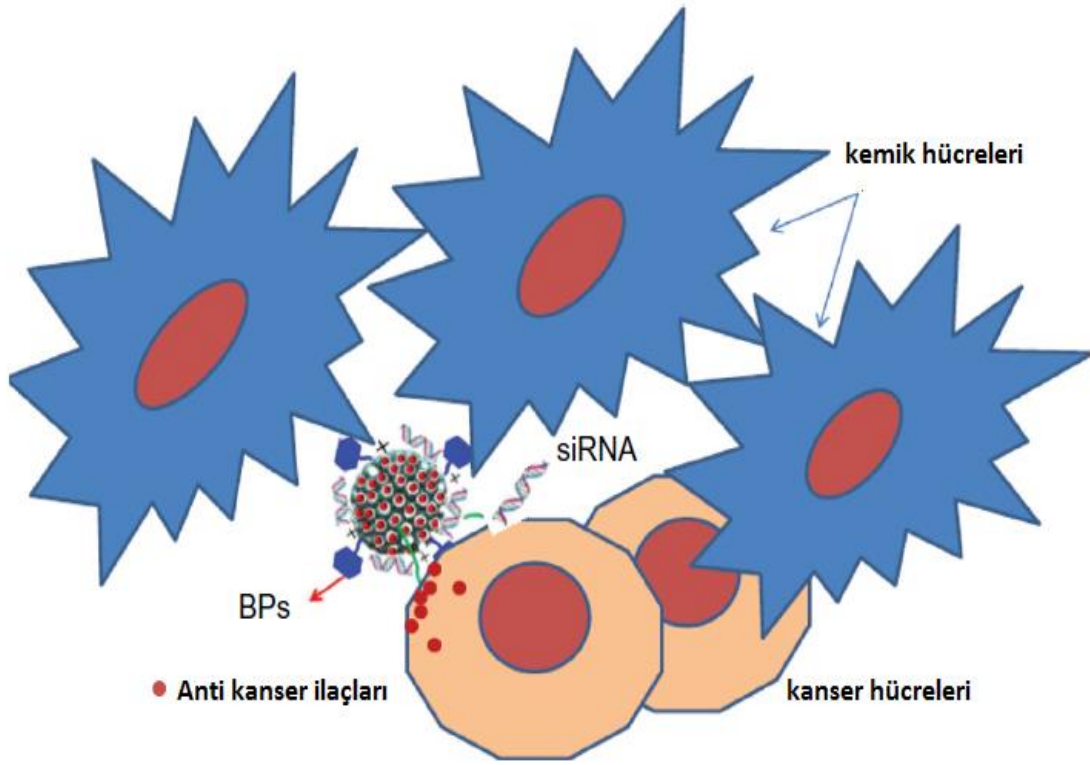
Pek çok yöntem arasından nanopartiküller ile dizayn edilen kontrollü ilaç salım sistemleri üzerine yoğunlaşmış ve bu nedenle nanopartikül sentezi ve karakterizasyonu tekniklerinin geliştirilmesi hayli önem kazanmıştır [17]. Nanoteknolojik uygulamaların başarılı sonuçları ve nanoteknolojinin bu alandaki sayısız çalışmaları, ilaç taşıyım sistemlerini oldukça geliştirmiş ve etkin ilaç uygulama prosedürlerin de yenilik getirmiştir. Nanoteknolojik olarak geliştirilmiş ilaç salım sistemleri bütün teröpatiklerin içine yayılmış olsa da, hala merkezi sinir sistemi ve kardiyovasküler sistemler için önemli ihtiyaçlar vardır. Çok fazla terapötikler

hedef dokuya ulaşamadığı için bu alanda başarısız olurlar. Bu sorunların çözülmesinde ilaç hedeflenmesinde ve salımında yardımcı olan ve hayli etkili olan şekil 1.8’de belirtildiği gibi yapılar kullanılır.



Şekil 1.8. İlaç salımı ve hedeflenmesinde kullanılan nano yapılar [56]

Bu yapılardan ilaç salımında kullanılanlar daha çok polimerik sistemler, seramik nanopartiküller, polimerik miseller, dendrimerler ve lipozomlardır [18]. Bunların yanında manyetik nanopartiküller, akışkan demir tabanlı yapılar ve kuantum noktalar ise daha çok ilaç hedeflenme sistemleri şeklinde geliştirilen ancak görüntüleme ajanları olarak kullanılan yapılardır [18]. Kolay işlenebilirlikleri ve biyouyumlu yapıları sayesinde doğal polisakkarit olan aljinat ve kitosanda ilaç salım sistemlerinde çok kullanılan materyallerdir [19, 57]. Kitosan ve aljinatın ilaç salım sistemlerindeki başarılı kullanım sonuçları, literatürde sık bir şekilde yer almaktadır.

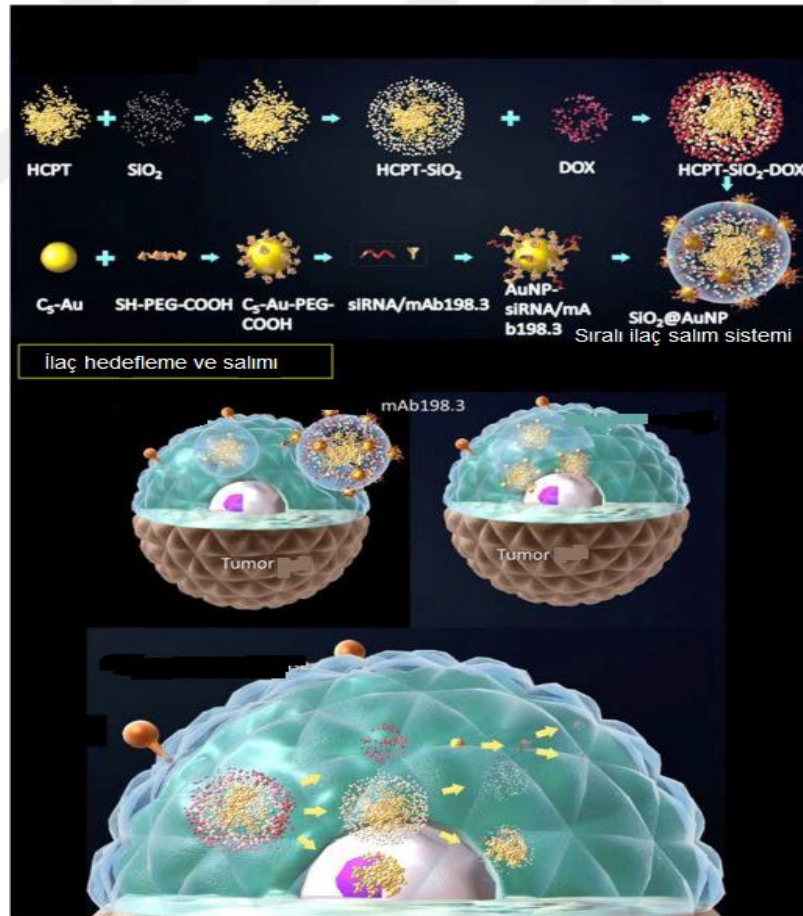


Şekil 1.9. Nanoteknolojik olarak tasarlanmış kemik kanserine duyarlı yapılar.

Şekil 1.9, multifonksiyonel nanoteknolojik olarak geliştirilmiş anti kanser yapıları dağıtan, gen terapisi yapan bir nano ilacın şematize edilmiş halidir. Boşluklarında antikanser ilaç yüklü mezoporoz silika bir yapı mevcuttur. Bu yapı kemik üzerine afine olur ya da kemiğe özgü ajanlara tutunur ve kanserli hücreler için saldıgı ilaç zamanla burayı tedavi eder [35]

1.3.5. Sıralı İlaç Salım Sistemleri

Sıralı ilaç salım sistemleri, konvansiyonel ilaç sistemlerinin yetersiz kaldığı veya uygulanan tedavinin etkinliğini arttırmak için geliştirilen sistemlerdir. Bu sistemler, ilaç etkinliğini arttırdığı gibi, tedavi süresini de kısaltmaktadırlar. Sıralı ilaç salım sistemleri, çoklu ilaç salım sistemi olarak da bilinirler ve en az iki farklı sistemden oluşurlar [58]. Bu sistemlerde kullanılan materyaller, kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanılan materyallerle aynıdır. Mikro ve nano proseslerden geçen bu yapılar, amaca yönelik dizayn edilip, çoklu ilaç direnci olan bakteri veya tümör hücrelerini tedavi ederler. Literatür incelendiğinde, biyouyumlu olarak bilinen yapıların neredeyse tamamında, kombinasyonlar ve bunların uygulamaları mevcuttur [59, 60]. Bu sistemler cerrahide, özellikle ortopedik cerrahide, antibiyotiğe karşı dirençli bakterilerin yol açtığı enfeksiyonlarda başarılı sonuçlar verir.

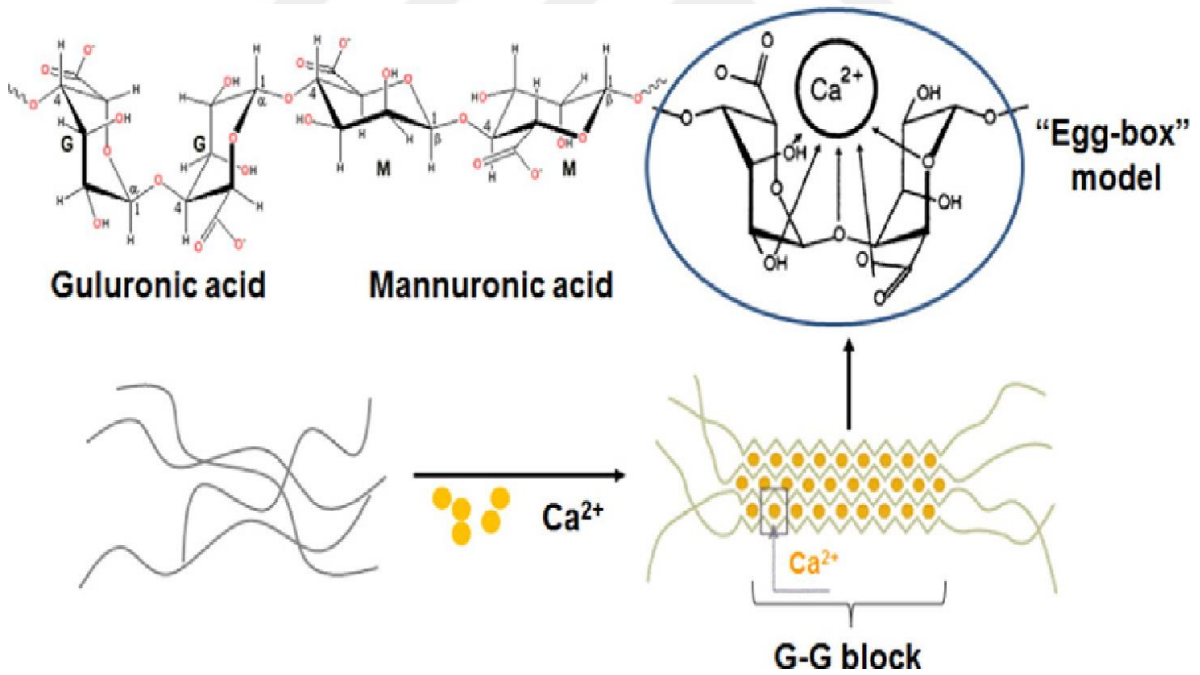


Şekil 1.10. Çoklu ilaç salım sisteminden bir örnek [60].

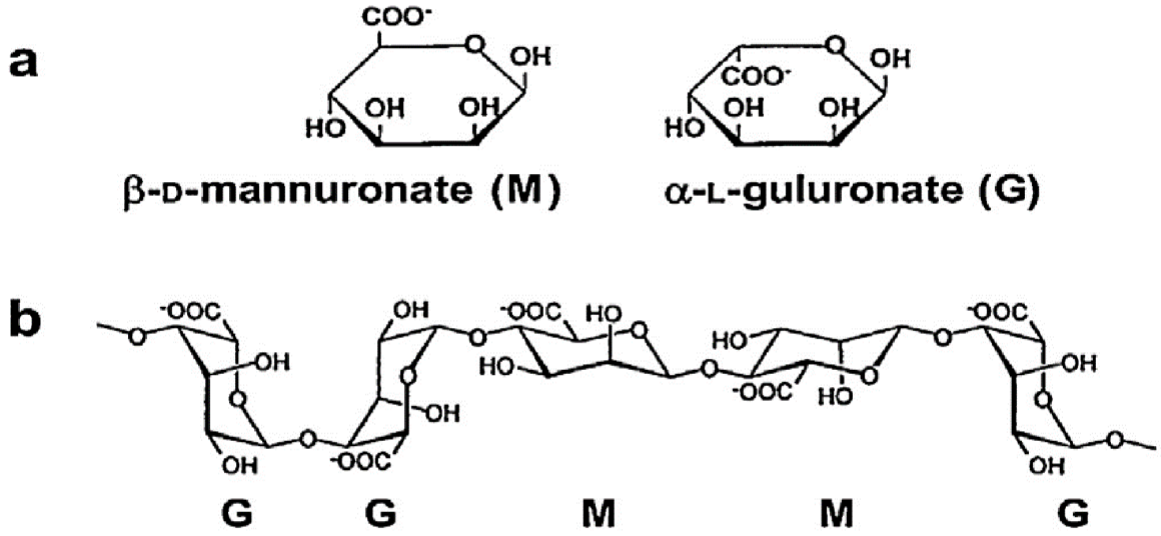
1.4. Aljinat

Aljinat; (ALG) kahverengi deniz yosunlarının (Phaeophyceae ailesi) işlenmesi sonucu elde edilen, doğal bir polisakkarittir. Deniz yosunları, aljinik asidi çözebilen seyreltik alkali çözeltileri ile ekstrakte edilir [61, 62].

Aljinik asit, d-mannuronik asit ve l-guluronik asit (şekil1.12) birimlerinden oluşan lineer bir polimerdir [61-63]. Aljinik asidin hidrasyonu, moleküller arası bağlar nedeniyle, viskozitesi yüksek asit-jel oluşumunu sağlar [61]. Aljinat, anyonik yapısı nedeniyle, Mg^{2+} (magnezyum) dışında, Ca^{2+} , Ba^{2+} ya da Zn^{2+} gibi iki değerlikli katyonlar ile çapraz bağlanma (jelasyon) reaksiyonu verir [63]. Bu reaksiyonda pH'ın etkisinin önemli olması gibi (pH=6-7), çapraz bağlayıcının konsantrasyonu da önemlidir [61-63]. Jelleşme derecesi, çapraz bağlayıcının konsantrasyonu ile değişir. Miktarı arttıkça, jelleşme doğru orantılı olarak artmakta ve sert bir yapı kazanmaktadır. Jelasyondan sonra hidrojel formu alan, intermoleküler olarak çapraz bağlanmış (şekil1.11) bir matriks(egg-box model) elde edilir [64].



Şekil 1.11. Çapraz bağlanmış aljinat polimerinin egg-box gösterimi [61].



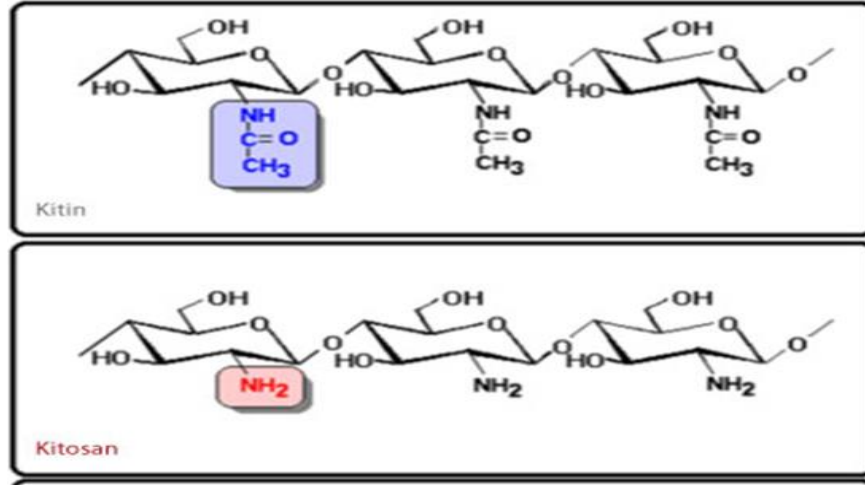
Şekil 1.12. a) Aljinat monomerinin iki ayrı birimi, b) aljinat polimerin zincir hali [62].

Bu geometrinin içinde (egg-box) H_2O molekülleri fiziksel olarak tutulurlar ve rahatça göç edebilirler. Bu durumun birçok uygulamada büyük önemi vardır. Sonuç olarak; aljinatın hidrojel karakteri sergilemesi, doğal ve biyobozunur polimer olması, işlenme kapasitesinin kolaylığı ve kanserojen olmaması, hücrelerin kaplanması (enkapsülasyon), dokumühendisliği çalışmalarının paralel uygulamaları, kök hücre çalışmalarının önemi, cerrahide (kardiyovasküler sistem, ortopedi v.s) ki uygulamalar, aljinatı çok uygun bir malzeme seçeneği haline getirmiştir [61, 65, 66].

1.5. Kitosan

Kitinin deasetillenmiş formu olan kitosan, katyonik bir polisakkarittir ve beta- (1,4)-2-asetoamido-2-deoksi-D-glikoz ve beta-(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glikoz birimlerinin bir kopolimeridir [67]. Kitosan kimyasal yapısı olarak selüloza benzer ve selüloz gibi yapısal bir polisakkarittir [68]. Bu nedenle kabuklu hayvanların ve mantarların hücre duvarlarında kendiliğinden bulunur. Kitosan her ne kadar yaygın olarak bulunsada yaygın çalışmaları alanları, sudaki sınırlı çözünürlüğünden dolayı zamanla geliştirilmiştir [67, 68]. Kitosan, laktik asit, formik asit ve asetik asit gibi asit çözeltilerinde çözünür ve polikasyonik polimer haline gelir [69]. 1990'lı yılların başında, nanoteknolojik prosesler ile mikro ve nanoboyutta kitosan(KNP) elde edilmiştir. Elde edilen bu yeni parçacıklar, kaplama, enkapsülasyon, ilaç depolama, yüzeye tutunma, yara örtüsü olma, toksisite ve antioksidan, degradasyon ve biyoyumluluk açısından incelendiğinde boyutunun azalmasıyla özelliklerin daha iyi olması arasında doğrusal bir çizelge elde edilmiştir. Özellikle, antibakteriyel

antifungal, antimikrobiyal ve antitümör özelliklerinde artma gözlenmiştir. Kitosanı, kitinle kıyasladığımızda, kitinden çok daha fazla kullanışlı olduğuna rastlamaktayız. Bunun en birincil sebebi ise, amin gruplarının kitinde deasetillenmemiş olması ve dolayısıyla sudaki çözünürlüğünün hayli az olmasıdır [68]. Kitosan son 20 yılın en gözde yapısal polisakkaritlerindendir. Öyleki; kitosanın biyo uyumluluğu, kolayca bozunur olması ve laminin (tümör invazyonunda görev yapar) gibi proteinlere afinitesi olması ilerleyen zamanlarda da yaygın kullanımının artacağını göstermektedir. Bununla birlikte, kitosan; ilaç salımı sistemleri, kozmetik sanayi, atık su arıtımı, yara iyileştirme uygulamaları, implant uygulamaları, tarım, kâğıt, gıda endüstrisi ve gen terapi uygulamalarında kullanılmaktadır. Kitosanın midede ilaç kaynaklı tahrişlerin önlenmesinde ya da bu etkiyi azaltmasında asit giderici ve anti ülser etkileri gibi özellikleride vardır. KNP'nin kontrollü ilaç salımı sistemlerindeki yararlarından dolayı kullanımı oldukça önem taşımaktadır. Kitosanın modifiye edilmiş tabletleri, jelleri, mikroküreleri ve nanoyapıları sayesinde ilaç salım sistemleri geliştirilmektedir [70]. Kitosan nanopartiküllerinin tümör hücrelerini inhibe eden ve anti mikrobiyal etkiye sahip olmasının yanında, yara iyileşmesini hızlandırması ve immün sistem stimülasyonunda görev aldığı öne sürülmüştür [71]. Ayrıca; nazal veya intestinal yollar ile ilaç emilimi ve kan-beyin bariyeri aşması bakımından, ilaç moleküllerinin geçiş özellikleri üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir [72]. Kitosan, kullanılabilirliği ve yapısı gereği ilaç salım sistemlerinde harika bir materyaldir [69]. Kitosan nanopartikülünü sodyum tripolifosfat (NaTPP) ile çapraz bağlamak için basit kompleksleşme ve iyonik jelleşme olmak üzere iki yöntem vardır ve bu iki yöntem de kitosanın moleküler ağırlığına, konsantrasyonuna, kitosan/TPP oranına ve pH'a bağlı olarak 500 nm den daha küçük partikül elde edilmesini sağlar [61, 70]. Kitosanın kimyasal yapısından ötürü, sulu çözeltilerinde, kısmi pozitif yüklü olan amin grupları sayesinde yine sulu çözeltilerinde kısmi negatif yüklü olan aljinattaki karboksil grupları arasında elektrostatik bir etkileşim olur ve bu polimerler birbirlerine afine olurlar. Bu nedenle aljinat ve kitosan ilaç salım sistemlerinde kullanılması hayli uygun olan polimerlerdir.



Şekil 1.13. Doğada en çok bulunan doğal polimerlerden, kitin ve kitinden elde edilen kitosanın kimyasal yapılarının gösterimi [73].

1.6. Artroplasti

Artroplasti hastalıklı veya fonksiyonları yitirmiş eklemlerin yeniden şekillendirilmesi veya fonksiyon kazandırılması amacı ile uygulanan bir cerrahi tekniktir. Eklem artroplastisi oldukça eskiye dayanan çalışmalar içermektedir. Bu çalışmaların en yaygın olanları kalça, diz ve omuz eklemi çalışmalarıdır [74].

1.6.1. Total Diz Protezi Ameliyatı

Total diz protezi ameliyatı, biyomekanik çalışmaların ilerlemesi, malzeme ve materyallerin geliştirilmesi ve cerrahi tekniklerin bir asrı aşkın tecrübelerinin ürünüdür. Total diz protezi ameliyatı, diz bölgesinde deformite, ağrı ve fonksiyonelite kısıtlılığına neden olan diz eklemine iyileştirilmesi için tercih edilen başarılı bir tedavi yöntemidir [75, 76]. Kişinin gündelik aktivitelerini engelleyen, yürümesine, geceleri uyumasına izin vermeyen kronik ağrılar, ayrıca eklem hareketlerinde kısıtlanma ve gelişen deformiteler nedeniyle oluşan durumlarda düşünülür. Osteoartrit, romatoid artrit gibi enflamatuvar artritler, sinovit veya osteokondramatozis gibi sinovyal patolojilerin neden olduğu dejeneratif artritler, psödogut, gut osteonekroz gibi metabolik artritler, post-travmatik artritler diz eklemine tutunarak kalıcı bir seyir gösterirler. Bu hastalıklar erken dönemde yakalandıkları zaman ilaç tedavisi, fizik tedavi, artroskopik debriman, diz çevresi osteotomileri ile kontrol edilmeye çalışılmalı, eğer başarılı olunamazsa total diz eklemi ameliyatı düşünülmelidir [77]. Arka çapraz bağın korunması, normal kinematiğin devamlılığı, uyum (proprioepsiyon) ve yük dengesinin korunması yönünden potansiyel üstünlükleri

vardır. Total diz eklemi protezi çimentolu ve çimentosuz denemelerle birçok kez yapılmış ve buna ait pek çok bilgi literatürde mevcuttur. Insall ve arkadaşlarının çalışmalarına göre, çimentolu total diz protezinin uzun ömürlü olduğu ve 12 yıllık çimentolu total diz protezi yapılmış hastalarda sorun yaşamamış olan hasta oranı %93 olarak hesaplanmıştır. Artan yaşam konforu ve yaş oranı ile total diz artroplastisi yapılan hasta sayısı dünyada ve ülkemizde her geçen gün artmaktadır [78]. Dolayısıyla meydana gelen komplikasyon sayısında artmakta ve tüm TDP uygulamalarının yaklaşık %5'ine takip eden dönemde revizyon gerekebilmektedir [77]. Revizyon sebepleri incelendiğinde farklı hastalarda, farklı sıklıklarda revizyon sebepleri gözlemlenmiştir. Görülen başlıca komplikasyonlar ise, yüzey enfeksiyonları, derin enfeksiyonlar, kanama, tromboemboli, yağ embolisi, aseptik gevşemeler instabilite, patellar sorunlar ve hareket kısıtlılığı, eklem sertliği nedeni açıklanamayan ağrılar olarak belirtilmiştir [79]. Bu belirtilen komplikasyonların büyük bir çoğunluğu, literatürde total kalça ameliyatları içinde belirtilmiştir.

1.6.2. Total Kalça Protezi Ameliyatı

Total kalça protezi (TKP) ameliyatı, yüksek başarı oranları ile eklem artroplastisi-ortopedi ameliyatlarının başında gelmektedir [80]. TKP ameliyatı, ağrılı ve eklem hareketleri sınırlı kalça nedeniyle sorun yaşayan hastaları, yeniden hareketli ve ağrısız günlerine kavuşturma olanağı sağlayan günümüzde de oldukça yaygın bir tedavi yöntemidir [81]. TKP'de cerrahi teknikler standart hale gelmiş, komplikasyon oranları kabul edilebilir oranda düşürülmüştür. Total kalça eklemi ameliyatları, femur medullasına yerleştirilen bir femoral komponent ile asetabulumaya yerleştirilen asetabular komponentten oluşur. Asetabular komponentin sementsiz modelleri, asetabulumaya tutturulan bir dış kap ile buna uygun dizayn edilen ve femoral komponentin eklem yaptığı bir iç kaptan oluşur [80].

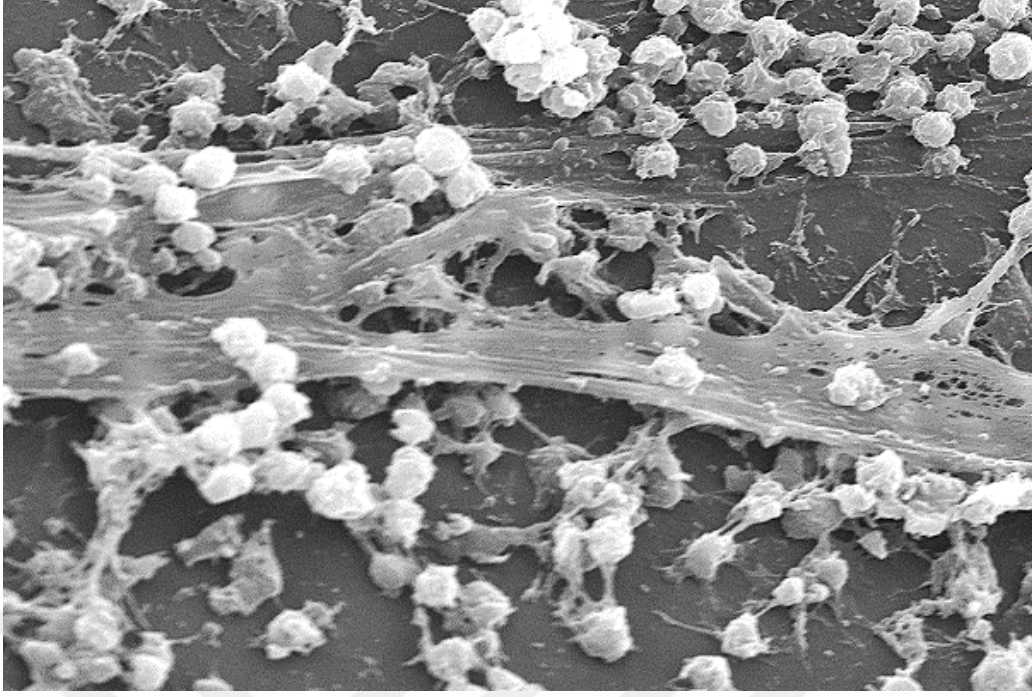
1.7. Enfeksiyon

Total diz protezi (TDP) ve total kalça protezi (TKP) sonrası meydana gelen enfeksiyonlar, mücadelesi en zor ve hayati önem taşıyan komplikasyonlardır. Enfeksiyon oranları literatürde farklı oranlarda verilmiştir. Bu oranlar % 1 ile % 23 arasında değişmektedir, özellikle menteşe bulunduran protezlerde temas yüzeyleri arttığı için enfeksiyon yüksek oranda görülmektedir [82, 83]. Diz eklemi çevresinde bulunan dokular yumuşak doku travmasına daha duyarlıdır. Bu nedenle de diz

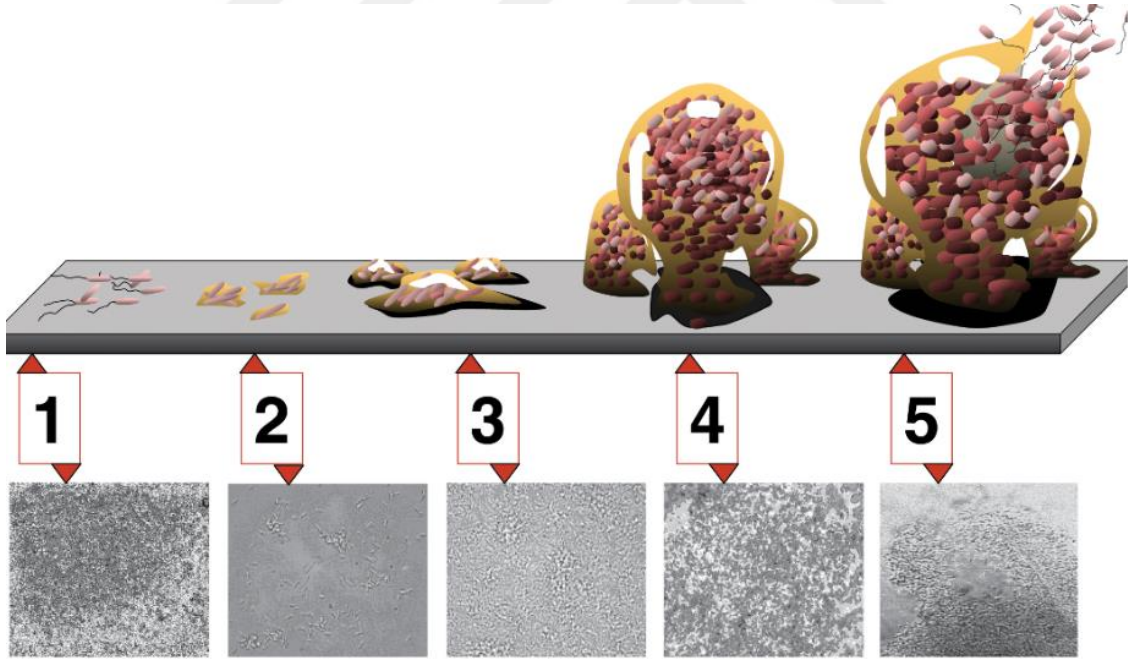
ekleminin çevresi komplikasyona daha yatkındır. Tüm bu durumlar göz önüne alındığında, total diz artroplastisi sonrasında enfeksiyon görülme sıklığı kalça artroplastisine göre daha yüksektir [83]. Bunun yanında diz protezi işlemi, eklem yüzeyine oranla geniş bir alanın yabancı materyaller ile kaplanmasına neden olur; bu da enfeksiyon riskini diğer artroplastilere oranla arttırır [84].

1.7.1 Biyofilm

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde karşılaşılan en önemli sorun, antibiyotik kullanımına bağlı olarak bakterilerde yaygınlaşan antibiyotik direncidir. Bakterilerde direnç kazanma artıkça uygulanan tedavilerin bir önemi kalmamaktadır ve bu nedenle sürekli yeni jenerasyon antibiyotikler üretilmektedir [85]. Protez enfeksiyonlarının histopatolojisi incelendiğinde, sıklıkla karşılaşılan sorunun antibiyotik direncine neden olan biyofilm tabakaları olduğunu görmekteyiz [86]. Biyofilmler, bir yüzeyde konak halini alıp, o yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapı ile jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikro organizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir [87]. Polimerik matriksten oluşan bu biyofilmler içinde mikroorganizmalar organize olur ve birbirleriyle ilişkileri sonucunda da yapısal ve fonksiyonel yetenek kazanırlar [86, 88]. Biyofilm oluşumu, *in vivo* olarak canlı hücrelerde veya *in vitro* olarak cansız yüzeylerde meydana gelebilir ve nem miktarının fazlalığı, besin maddelerinin ortamda bulunması biyofilm oluşumunu arttırmaktadır. Biyofilmlerin oluşumuna ve gelişmesine bakteri suşları ve yüzey özellikleri, pH, ortamdaki besin miktarı, sıcaklık gibi çeşitli çevresel faktörler neden olmaktadır [89]. Biyofilm üyesi hücreler antimikrobiyal ajanlarla teması engelleyen ya da azaltan bariyere sahip olduklarından, antimikrobiyal ajanlara karşı plankton türevi hücrelerden daha dirençlidirler. Biyofilmler tek bir mikroorganizma türü tarafından oluşturulabildiği gibi birden fazla türden mikroorganizma tarafından da oluşturulabilirler. Yapı bu şekilde heterojenite kazanır. Bu farklı türlerden oluşan biyofilmlerde, her tür kendi mikro kolonisini oluşturur. Bu mikro koloniler birbirlerinden su kanalları aracılığı ile ayrılırlar [88]. Su kanalları içinde devam eden su akışı besin maddelerinin ve oksijenin difüzyonunu sağlar [88, 89].



Şekil 1.14. Bir biyofilm tabakası [90].



Şekil 1.15. 1. Dönüşümlü tutunma 2. Dönüşümsüz tutunma 3.Koloni oluşumu
4. Biyofilm olgunlaşması 5. Biyofilm hücrelerinin ayrılması [90].

Bunlardan en yaygınları *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Staphylococcus* türleridir [88]. Biyofilm ekstrasellüler matriks

yapıya sahiptir ve ortamda bulunan maddeler bu yapı sayesinde birbirlerine tutunmaktadırlar. Mikroorganizmaların monosakkaritlerden oluşturduğu bilinen molekül ağırlığı bakımından hayli yüksek bir değere sahip olan polimerler ekzopolisakkarite(EPS), bakteriyel hücre kapsüllerinin içinde bulunan su bağlanmaktadır [88, 90]. Mikroorganizmaların biyofilm tabakası oluşturup, yüzeye bağlanması bu EPS'ler sayesinde gerçekleşmektedir [90]. Bunların yanında, biyofilm tabakaları organizmayı, faj atıklarına ozmotik strese, antibiyotiklere ve toksik bileşiklere karşı da korumaktadır [81]. Bu koruyucu tabaka sayesinde de direnç kazanmış mikroorganizmalar haline gelirler [88]. Bu direncin sebebi ve destekleyicisi olarak da biyofilm tabakası içinde mikroorganizmaların sabit üreme fazına girmesi gösterilir [90, 91]. Mikroorganizmaların sabit üreme fazına girme nedenleri ise; glikoz ve oksijen gibi metabolik substratların, biyofilm tabakasını oluşturan EPS'lerden yetersiz geçişleridir [92].

1.8. Tek Aşamalı Revizyon

Çeşitli organlarda ciddi enfeksiyonlara neden olabilen gram pozitif veya gram negatif koklarda giderek artan sıklıkta görülen antibiyotik direnci, tedavilerin işlevsizliğine ve bunun sonucunda da artan oranda morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır [93].

Tek aşamalı revizyon ameliyatının tek üstünlüğü hasta morbiditesini azaltması ve hastayı ikinci bir ameliyattan kurtarmasıdır [94]. Fakat, enfeksiyonu elimine etmek bakımından iki aşamalı revizyon ameliyatına göre daha başarısız olduğu öne sürülmektedir [95]. Literatürü incelediğimizde, bu konu bakımından bilim insanlarının iki farklı gruba ayrıldığını görmekteyiz [96, 97]. Bazı kaynaklar tek aşamalı revizyonu mükemmel yöntem olarak görürken, bazı kaynaklar ise iki aşamalı revizyonu daha başarılı görmektedirler. Buradan çıkarabileceğimiz sonuç ise, hastanın durumuna, ortam koşullarına ve şartlarına göre hasta için en iyi seçenek o anda cerrah tarafından verilendir diyebiliriz. Örneğin kompleks allogreft kullanımı gerektirecek durumlarda yada immün yetersizliği olan hastalarda, tek aşamalı revizyonun daha uygun olduğu önerilmemektedir [95]. Çünkü bu durumlar uzun süren antibiyotik tedavisi gerektirmektedir.

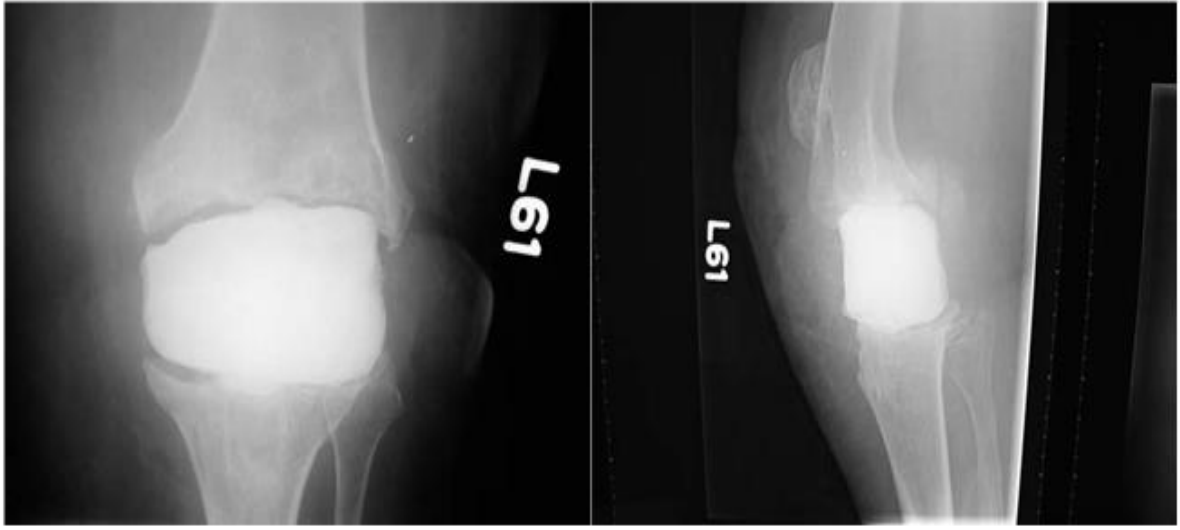
1.8.1. İki Aşamalı Revizyon

İki aşamalı revizyon cerrahisi, protez enfeksiyonlarında en sık kullanılan tedavi yöntemidir [98]. Bu teknik, akut hematojen enfeksiyonlarda debriman yapılarak ve sonrasında yıkama ile antibiyotik tedavisinin başarısız olduğu durumlarda veya geç kronik enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır [98, 99]. İki aşamalı revizyon tekniğinin literatürde taranması sonucu, genel olarak tek aşamalı revizyon cerrahisine oranla daha çok tercih edildiğini ancak hasta morbiditesinin önemli olduğu zamanlarda ve enfeksiyonun ileri derece olmadığı zamanlarda tek aşamalı revizyon tekniğinin tercih edildiğini görmekteyiz. İlk aşamada ortamda bulunan tüm implantlar veya yabancı cisimler çıkarılır, enfekte dokuların debriman yapılır nekrotik dokulardan ortam temizlenir ve protez çıkarılmasının hemen ardından boşluk doldurmak ve lokal antimikrobiyal etkisi için antibiyotik yüklü kemik çimentosu(PMMA) ile hazırlanmış boşluk doldurucular (spacer) uygulanır. Sonradan geri alınması kolay olsun diye boşluk doldurucular donmadan hemen önce yerleştirilir [100].

1.9. Boşluk Doldurucu (Spacer)

Uzun veya kısa dönem enfeksiyonlarda iki aşamalı revizyon cerrahisinde ilk aşamada ortam temizlenip implant çıkarıldıktan sonra genelde 6-10 hafta arasında uygulanan teknikte antibiyotik yüklü boşluk doldurucular kullanılır. Bu boşluk dolduruculara bone cement spacer veya spacer denir [101, 102]. Bu yapılar, direkt olarak suprese edilen bölgede antibiyotik tedavisi sağlar ve ortamı enfeksiyondan temizler [93]. Antibiyotikli spacer ilk defa, Borden ve arkadaşları tarafından 1987 de iki aşamalı revizyon cerrahisinde %80'den fazla başarı oranı ile kullanılmıştır. Yine aynı şekilde antibiyotikli spacer kullanarak Lotke ve Boothe % 96 başarı oranı olarak bildirilmiştir [103]. Antibiyotik yüklü kemik çimentoları çok uzun zamandır klinik uygulamalarda kullanılmakta ve başarı oranı, bu boşluk doldurucuların kullanılmayan uygulamalara oranla hayli yüksektir [101-103]. Bunun yanında antibiyotik yüklü bu boşluk dolduruculardan salınan ilaç miktarlarının ilk iki günde yüksek ve sonraki zamanlarda bu miktarın oldukça az olduğu ve aslında var olan sistemin yetersiz olduğu bildirilmiştir[104] Tespiti yapılan erken-orta-geç dönem enfeksiyonlarında, revizyon uygulanırken enfekte bölgeden kültür örnekleri alınır ve bu kültür sonuçlarına göre antibiyotik seçilip spacerların içine karıştırılır, bu antibiyotikli spacerlar implant bölgesine yerleştirilir, ortam antibiyotik salımı ile tedavi

edilir [103]. Genelde seçilen antibiyotikler, vankomisin, gentamisin, tobramisin, cefatoksin, eritromisin vb. antibiyotikler ya da bunların kombinasyonları olur. Buchholz ve arkadaşları 1970 yılında antibiyotik kombinasyonlarının tedavide olabileceğini rapor etmişlerdir [82]. Geniş spektrumlu, alerjenik olmaması ve hematojenlere karşı iyi direnci olduğu için gentamisin sülfat yüklü spacerları kullanmışlardır [82, 103]. Spacerlar genelde kullanım amaçlarına göre iki farklı başlıkta incelenir bunlar, fikse edilmiş ve mobile olan spacerlardır [77].



Şekil 1.16. Fikse edilmiş diz spacerları [77].

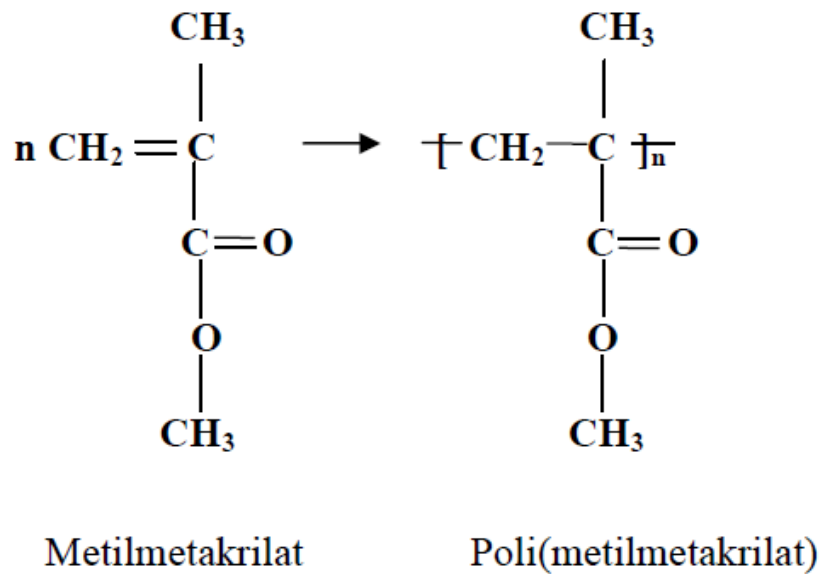
Fikse edilmiş boşluk doldurucular bölgesel ilaç salımını mobil olanlara göre daha yüksek konsantrasyonda yaparlar ancak dezavantajları ise, hasta bu süre zarfı içinde, eklemi kullanamaz, hareket kısıtlılığı yaşar.

Boşluk doldurucular, ameliyat esnasında hazırlanır ve polimerizasyon ısısına dayanıklı termal stabiliteye sahip antibiyotikler kullanılır (vankomisin, gentamisin vb.) [77, 82, 105]. Boşluk doldurucular kullanılmadan ortam antibiyotiklenir ve sonraki aşamalar için beklenirse, meydana gelen dokusal boşluklar fibröz dokular ile dolar ligamentler ikinci aşamanın sağlıklı geçmesine engel olur morbidite uzar. Ancak şunu unutmamalıyız ki, boşluk doldurucular öncelikli tedavi materyalleri değildir, asıl olan cerrahi aşamadaki debrimanın profesyonelce yapılmasıdır [101-103]. Ameliyathanede personel tarafından da sentezlenip uygulanabilen boşluk doldurucuların, ticari ürün olarak satıldığı bazı isimleri vardır ve bunlar içindeki

antibiyotiğin çeşidine göre seçilir. Mesela Palacos isimli çimento içinde gentamisin barındırırken, CMW1 isimli çimento vankomisin salımı yapmaktadır [106].

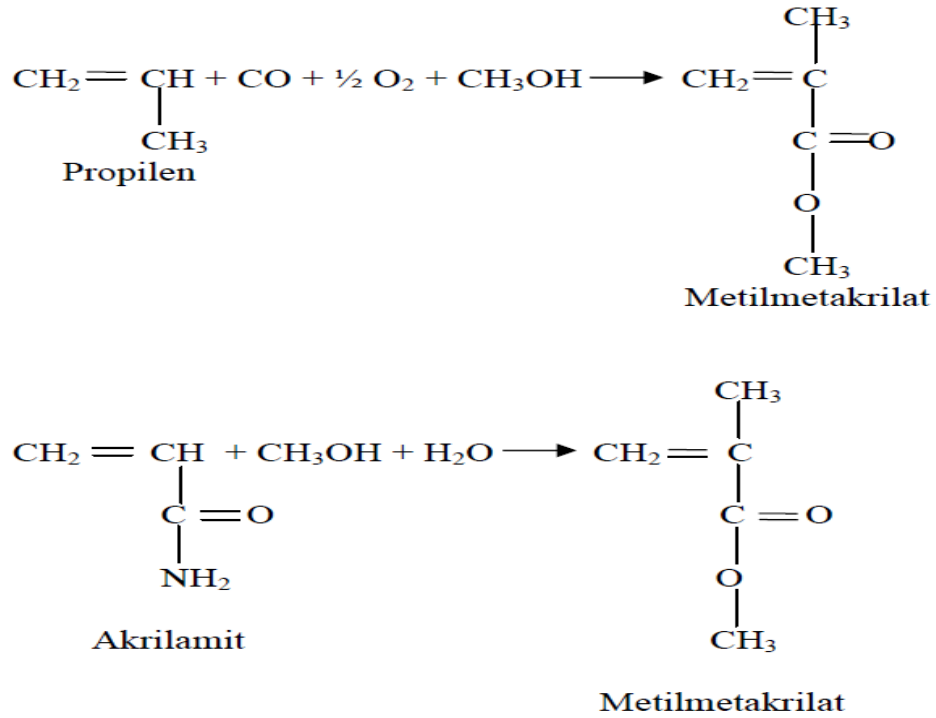
1.9.1. Polimetilmetakrilat

Polimetilmetakrilat bilinen en eski polimerlerdendir, isminin kısaltması PMMA ve ticari ismi PLEKSİGLAS olarak çok yaygın bilinir [107, 108]. İlk defa 1843 yılında akrilik asit üretilmesi ve akrilik asitten sentezlenen metakrilik asidin 1865 yılında üretilmesi sonucunda, metakrilik asit ve metanol arasındaki reaksiyon sonucu metil metakrilat esteri bulunmuş ve PMMA'nın sentez adımı atılmıştır. Alman kimyagerler Fittig ve arkadaşları 1877 yılında metil metakrilatı, polimetilmetakrilata dönüştüren polimerizasyon prosesini literatüre kazandırmıştır [108]. 1932 yılında ilk defa ticari olarak Rohm ve Bauer, akrilik cam üretimini başlatmıştır. 2. Dünya Savaşı zamanlarında akrilik cam askeri amaçlı olarak neredeyse her teçhizat ve cam veya kaplama malzemesinde kullanılmıştır [107]. Saf PMMA, yüksek yüzey pürüzsüzlüğü, parlak yapısı ve geçirgenliği %92, kırılma indisi 1.49 olan amorf bir termoplastiktir. PMMA, sert, katı ve kırılman materyal olarak sınıflandırılır, camsı geçiş sıcaklığı 105°C'dir. İyi bir mekanik mukavemete, kayda değer kimyasal dirence ve korozyona sahiptir. Bunun yanında, kolay işlenebilir termoform yapıya, modifiye edilebilir ve renklendirilebilir, alev ve UV ışın geciktirici özellikleri vardır. Aynı zamanda kimya literatüründe " 2-propiyonik asit, 2-metil ester, metil ester" olarak bilinir [108].



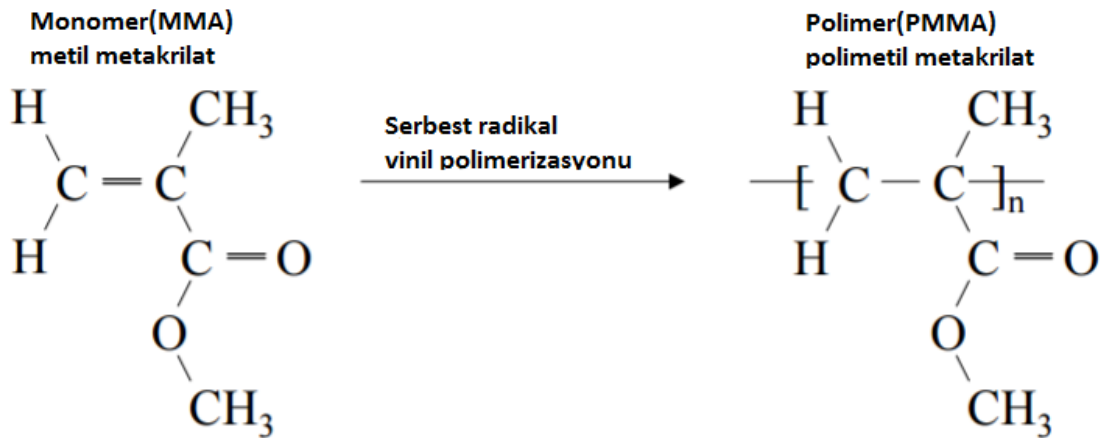
Şekil 1.17. Monomeri ve polimerinin kimyasal yapısı.

PMMA'nın monomeri, propilenden veya akrilamitten sentezlenebilir [107, 108].



Şekil 1.18. Metilmetakrilatın akrilamitten sentezlenebildiğinin gösterimi.

PMMA, yığın, emülsiyon, süspansiyon veya çözelti polimerizasyonu ile üretilen polimerik organik bileşikler ailesinden sentetik bir reçinedir. PMMA'nın ticari üretimi



Şekil 1.19. Metilmetakrilatın polimerleşme reaksiyonunun basit gösterimi [108].

genelde radikalik katılma polimerizasyonu üzerinden süspansiyon veya yığın polimerizasyonu teknikleriyle yapılır [107-109].

1.9.1.1. Polimetilmetakrilat (PMMA) sentezi

PMMA çok çeşitli sentezlenme yöntemleri ile üretilebilir ancak en yaygın proses metilmetakrilatın(MMA) serbest radikal polimerizasyonudur [109]. MMA'nın serbest radikal polimerizasyonu, monomerin çift zincirleri arasında gerçekleşir [110]. Bu reaksiyon, yığın ve çözelti polimerizasyonu ile homojen bir şekilde gerçekleştirilirken, süspansiyon yada emülsiyon polimerizasyonu ile heterojen bir şekilde gerçekleştirilir. Serbest radikal polimerizasyonu çok kolay gerçekleştirilen bir prosesdir. Başka proseslerin aksine kesinlikle kuru ortam olması gerekmez. Sadece polimerizasyonun sağlıklı gerçekleşebilmesi için, ortamın oksijenden arındırılmış olması gerekir çünkü oksijen iyi bir radikal avcısıdır, polimerizasyonu verimsiz kılıp sonlandırabilir. Bu proses benzoil peroksit ya da azobis-izobutironitril (AIBN) başlatıcılar kullanılarak radikalik mekanizma ile gerçekleşir. Reaksiyon hızı, sıcaklık, molekül ağırlığı ve başlatıcı konsantrasyonu ile belirlenir [107]. PMMA elde etme prosedürü; monomer ve başlatıcı, plastikleştirici veya boya gibi yardımcı maddelerin muamelesi ile olmaktadır. Radikalik reaksiyon başlar, ekzotermik bir reaksiyon gerçekleşir ve polimerizasyon olgunlaşır [111].

PMMA'nın hayatımızda etkili rolü olan ve neredeyse her alanda karşımıza çıkan bir materyal olma özelliği gün geçtikçe artmaktadır. Kalıplanma özelliğinin çok kolay olması ve ucuz olması, optik sanayide onu hayli popüler etmiştir [106]. Yine otomotiv sanayide, kaportadan, kaplamalara kadar veya savunma sanayide uçak gövde ve kanatlarında, polis araçlarında ve bariyerlerinde, spor sanayide hokey pistlerinde, reklam panolarında, banyo ve duş kabinlerinde, diş hastalıklarının tedavisinde ve implantlarda oldukça yaygın kullanıma sahiptir. Bu nedenle ortopedide çok yaygın kullanımı kaçınılmazdır. Ortopedide kemik çimentosu olarak adlandırılır. Kemik çimentosu, ortopedi ve travmatolojide en sık kullanılan malzemelerden bir tanesidir [112, 113]. Yaygın kullanım alanları arasında, total eklem protezleri, eklem ve kemik rekonstrüksiyonları ve osteoporoza bağlı vertebral kırıklarının tedavisi yer almaktadır [114]. Kemik çimentolarında en çok tercih edilen ve akla ilk gelen akrilik kemik çimentolarıdır. Polimetilmetakrilat (PMMA) olarak da bilinen bu madde yaklaşık olarak 60 yıldan fazla bir süredir ortopedi alanında kullanılmaktadır [113]. Sıvı fazda olan monomer ile toz halindeki polimerden oluşan iki ana bileşeni mevcuttur. Reaktif oranları değiştirilerek farklı dansitelerde kemik çeşitleri yapmak mümkündür. Kemik çimentoları, düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı

viskozitede üretilmektedir [112, 113]. Biyoaktif bir yapıda olan kalsiyum fosfat çimentoları ise akrilik kemik çimentolarından, kimyasal, fiziksel ve uygulama alanları açısından oldukça farklıdır. 1960'lı yıllarda ilk kalça protezi ameliyatlarında kullanılarak, önceleri sadece diş hekimliğinde kullanılan kemik çimentosu (PMMA) için yeni bir alan açılmıştır.

1.10. Vankomisin

Vankomisin, genellikle efektif bir şekilde metisiline duyarlı gram-pozitif bakteriyel (MRSA) enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan 1. jenerasyon glikopeptit tabanlı, ilk kez 1950'de keşfedilen ve 1958 de FDA onayı alan bir antibiyotiktir [115, 116]. Çok yaygın olmakla birlikte, vankomisin ciddi hayatı tehdit edici ve organların işleyişini bozan bakteriyel tedavilerde, pönomokok, enterekok gibi diğer birçok önemli gram pozitif kok enfeksiyonlarının tedavilerinde de kullanılmaktadır [117]. Kemik ve eklemlerde enfekte olmuş dokular ve implant bölgelerinde sıklıkla kullanılmaktadır ve bu özelliğinden dolayı iki aşamalı revizyon cerrahisinde oldukça popüler hale gelmiştir. Nidhi ve arkadaşlarının gram pozitif organizmaların neden olduğu endoftalmi için yaptıkları vankomisin çalışmasında, enterekok, stafilakokok ve streptekok çeşitleri yaygın olarak ortamdan izole edilmiş ve tedavi edilmiştir [115]. Yine Bertazzoni Minelli ve arkadaşlarının 20 hastadan oluşan takiplerinde, vankomisin ve gentamisin yüklü boşluk doldurucular ile çalışmışlardır. Bu çalışmanın sonunda vankomisin yüklü gentamisinli boşluk doldurucuların muamelesi sonucu daha yüksek başarı oranı kaydetmişlerdir. Vankomisin toz olarak satılır, suda çözülür ve damar yolu ile hastalara uygulanır. Uygulama aralığı yetişkinlerde 6 saatte bir, çocuklarda 8 saatte bir şeklindedir [118].

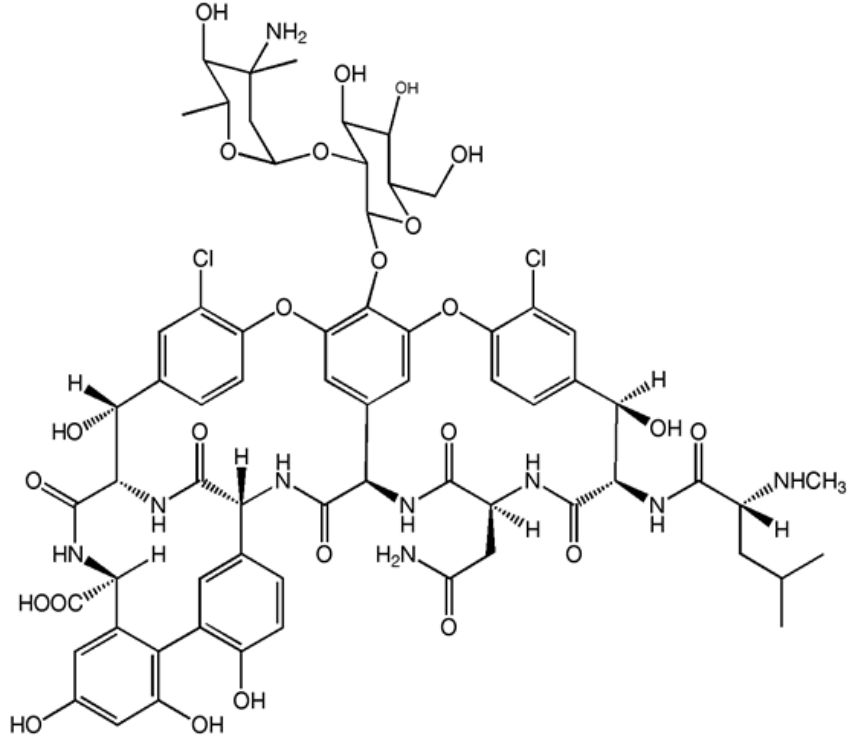
Vankomisinin açık yapısını incelediğimizde amfoter madde olduğunu yorumlayabilmekteyiz. Bu nedenle vankomisin hem asidik hem bazik ortamda çözünebilir veya reaksiyona girebilir. Nötr ortamlarda ise iyonize edilebilir.

Vankomisinin çözünürlüğünü çizelge 1.4'te incelediğimizde ise; asidik ortamda daha çok çözündüğünü görebilmekteyiz. Buradan hareketle aljinat-kitosan nanopartiküllerin pH ortamı değerlendirildiğinde aralarında vankomisin çözünürlüğü hayli fazladır ve nanopartiküllere yüklenme oranıda hayli verimli olacaktır şeklinde bir ön görüde bulunabiliriz.

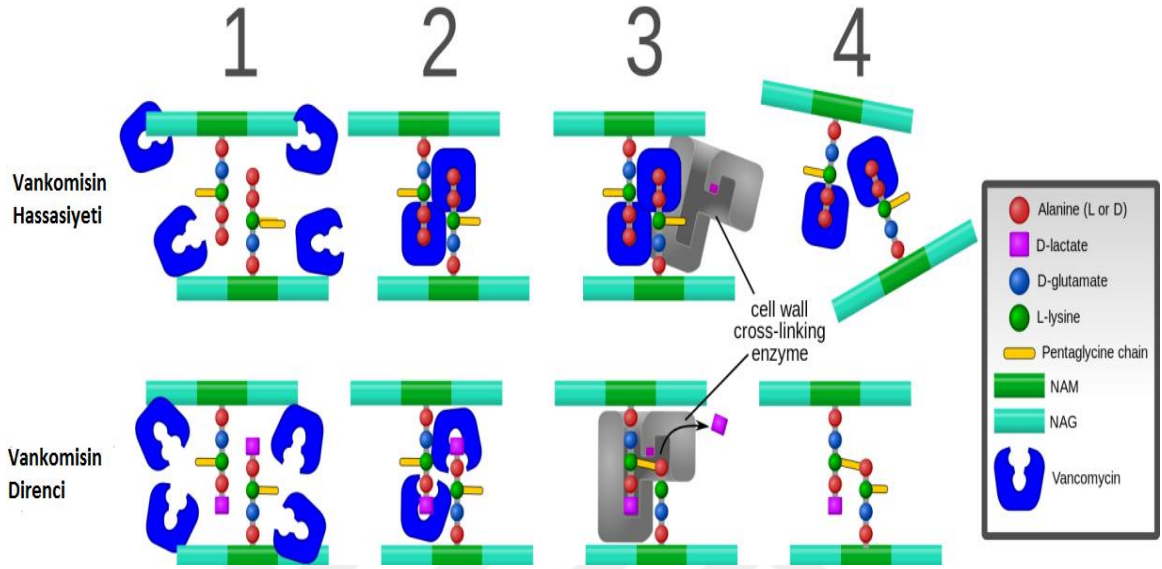
Çizelge 1.4. Vankomisinin farklı pH ortamlarındaki çözünürlüğü [119].

Çözücü (Su) pH	Çözünürlük mg/ml
1	140.3
3	191.7
4	2.98
5	9.5
7.5	17.5

Molekül formülü $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$, kimyasal yapısı şekil1.20'deki gibidir [120].



Şekil 1.20. Vankomisinin kimyasal- yapısal formülü [120].



Şekil 1.21. Vankomisin hücre içi etkinlik mekanizması [121].

1.Yeni hücre duvarını sentezlemeye çalışan bakteri ortamına vankomisin konulur. Henüz çapraz bağlanmamış ve hücre duvarı şeritleri sentezlenmiştir.

2.Vankomisin, zincir uzamasını engelleyici bir şekilde D-ala'lara bağlanır. Eğer, direnç içerisinde olan bakteride, son D-ala kalıntısı D-lactate ile ifade edilmişse vankomisin bağlanamaz ve direnç başarılı olur. Bu nedenle Vankomisin biyoaktifliğinin artırılması için çalışmalar yapılmıştır.

3. Vankomisin burada direnci yenmiş ve enzimatik reaksiyonu inhibe etmiş hücre duvarı oluşumunu engellemiştir. Edemediği durumunda gösterildiği üzere, bakteri direnç kazanmış ve biyolojik aktivitelerine devam etmiştir. Hücre duvarı oluşturmuştur.

4. Yaşamsal faaliyeti duran ve yaşamsal faaliyeti devam eden bakteri [121].

2. Deneysel Çalışmalar

2.1. Kimyasallar

Tez çalışmasında kullanılan kimyasal malzemelerden, aljinat (orta moleküler ağırlıklı), kitosan (düşük moleküler ağırlıklı), kalsiyum klorür dihidrat, fosfat tamponu çözeltisi (PBS) ve Etil Alkol Sigma-Merck (USA) firmasından temin edilmiştir. Boşluk doldurucu olarak kullanılan kemik çimentoları ise Ormed Grup Medikal firmasından temin edilmiştir. Kullanılan antibiyotik (vankomisin) ise 0.5g flakonlar halinde Koçak Farma firmasından temin edilmiştir.

2.2. Boşluk Doldurucuların Hazırlanması

Boşluk doldurucuları hazırlamak amacıyla; 40 g kemik çimentosu içerisine 1 g antibiyotik ilave edilmiş ve polimerizasyonun başlaması için başlatıcı eklenmiştir. Hazırlanan çözelti, reaksiyon sonlanmadan ve polimer kemik sertliğine ulaşmadan önce maksimum 0,5-0,6 g aralığında kemik çimentosu alacak şekilde ayarlanmış kalıpların içine aktarılmıştır. Reaksiyon sonlandığında hazırlanan boşluk doldurucular kalıplardan çıkarılmıştır. Boşluk doldurucular tez kapsamında antibiyotik yüklü ve antibiyotiksiz olarak hazırlanmıştır.

2.3. Aljinat-Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması

Aljinat-Kitosan nanopartiküller iyonik jelleşme yöntemi ile sentezlenmiş ve ilgili makaledeki benzer yöntem uygulanmıştır [122]. Bu amaçla, uygun derişimde ve hacimdeki aljinat jel ile çapraz bağlayıcısı olan CaCl_2 çözeltisi kullanılarak aljinat nanopartikül hazırlanmış ve bu çekirdeğin etrafı negatif yüklü olan aljinata afinitesi olan pozitif yüklü kitosan ile kaplanmıştır. Aljinatın negatif yükleri yapısında bulunan karboksilik gruplarından, kitosanın pozitif yükü ise yapısında bulunan amin gruplarından gelmektedir.

Orta derece molekül ağırlığına sahip sodyum aljinat, derişimi 3,0 mg/ml olacak miktarda tartılıp 100 ml distile su içinde çözülmüştür ve hazırlanan jel 24 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Yüksek molekül ağırlığına sahip kitosan ise derişimi 0,8 mg/ml olacak miktarda tartılıp %1'lik 100ml asetik asit içinde manyetik karıştırıcı ile 24 saat boyunca karıştırılmıştır. Aljinatın çapraz bağlayıcısı olan CaCl_2 çözeltisi ise son derişimi 0.4 mg/ml olacak şekilde 100ml distile su içinde hazırlanmıştır. Böylece tüm çözeltiler deneye hazır hale getirilmiştir.

50ml'lik bir behere 10 ml aljinat çözeltisi konulmuş ve üzerine 10 ml distile su eklenmiştir. Bu çözeltinin pH'ı düşük derişimli HCl ve NaOH ile 5.1'e ayarlanmıştır. Daha sonra bu çözeltinin içine her damlası 10ul olacak şekilde damla damla yarı yarıya seyreltilmiş 4 ml CaCl_2 çözeltisi mikropipet yardımı ile manyetik karıştırıcı kullanarak eklenmiş ve daha sonra bu çözelti 30dk. manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu esnada pH'ı 5.4 'e düşük derişimli NaOH kullanılarak ayarlanan kitosan çözeltisinden 4ml alınarak 30 dk sonra manyetik karıştırıcı 1200 rpm'de çalışır haldeyken bu çözeltinin içine mikropipet yardımı ile damla damla ilave edilmiştir. Bu çözelti 30dk. karışır halde bekletilmiş ve nanopartiküllerin sentezi sağlanmıştır. Daha sonra nanopartiküller 10 °C'de 15.000 rpm karıştırma hızında santrifüjlenip 15 dakika boyunca 3'er defa yıkanmış ve böylece boş aljinat-kitosan nanopartikülleri elde edilmiştir (Şekil 2.1.).

İlaç yüklenmiş aljinat-kitosan nanopartiküllerin hazırlanması için 30 mg vankomisin aljinat jel içerisinde dağıtılmış ve çözelti pH'ı 5.1'e ayarlanmıştır. Daha sonra antibiyotiksiz nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılan prosedür uygulanarak antibiyotik yüklü aljinat-kitosan nanopartiküller sentezlenmiştir.

2.4. Aljinat-Kitosan Nanopartikül İçeren Aljinat Jel ile Kaplanmış Boşluk Doldurucuların Hazırlanması

Hazırlanan antibiyotikli ve antibiyotiksiz boşluk doldurucular standart büyüklük ve şekildeki kuyucuklar içerisine gruplar halinde ayrılarak eklenmiştir (Şekil 2.1.). Daha sonra 20 mg/ml derişimindeki antibiyotikli ve antibiyotiksiz aljinat –kitosan nanopartikül içeren aljinat jellerden alınan 500ul'lik çözelti bu kuyucuklar içine yerleştirilmiş boşluk doldurucuların üzerine pipet yardımı ile eklenmiş ve 15 dakika -80 °C'de bırakılmıştır. Devamında çapraz bağlanma amacıyla 1 saat %10'luk CaCl_2 çözeltisinde ve takiben yapının sertleşmesi için 1 saat alkol çözeltisi içinde bekletilmiştir. Aljinat jel yapısında bulunan karboksilik asit grupları sayesinde, alkol içinde esterleşme reaksiyonu verir ve bu reaksiyon sonunda su açığa çıkar ve böylece jel sertleşir [123]. Aljinat jelin esterleşme reaksiyonu şekil 2.2'de gösterilmiştir. Hazırlanan boşluk doldurucuların içerikleri çizelge 2.1'de özetlenmiştir.

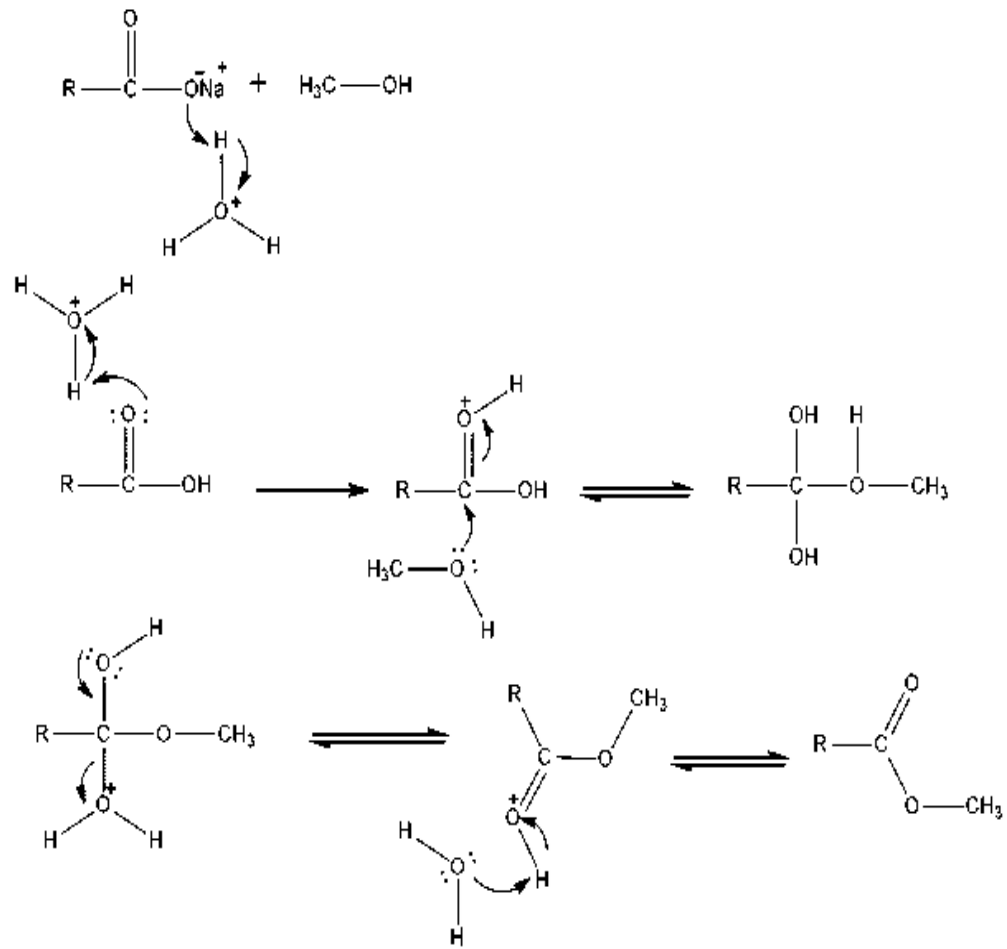
Çizelge 2.1. İlaç salımı için hazırlanan yapılar ve içerikleri

Grup No	Spacer*	Aljinat Jel*	Nanopartikül*
1	-	-	-
2	-	+	-
3	-	+	+
4	-	-	+
5	+	-	-
6	+	+	-
7	+	+	+
8	+	-	+

* : (-) antibiyotiksiz, (+) antibiyotik yüklü



Şekil 2.1. Boşluk doldurucuların hazırlanma prosedürü.



Şekil 2.2. Sodyum aljinatın metil alkol ile esterleşme reaksiyonu mekanizması.

3. Karakterizasyon Çalışmaları

3.1. Morfolojik Karakterizasyon

Sentezlenen nanopartiküllerin morfolojik karakterizasyonu geçirimli elektron mikroskobu (TEM) yardımıyla yapılmıştır. Örnekler karbon yüzey üzerinde kurutularak mikroskop görüntüleri incelenmiştir.

3.2. Kimyasal Analiz

Vankomisin aljinat-kitosan nanopartiküllerin yapısına katılıp katılmadığını anlamak amacıyla FT-IR analizi yapılmıştır. Örnekler FT-IR ölçümüne uygun hale getirilebilmesi için negatif basınç altında 24 saat vakumlu etüvde bekletilmiştir. Daha sonra (Schimadzu, DR8101, Japonya) FT-IR spektrum analizi yapılmıştır.

3.3. Nanopartiküllerin Boyut Analizi

Sentezlenen nanopartiküllerin boy dağılımı ve boyutları hakkında bilgi edinmek için Zeta-Sizer (3000 HSA, Malvern, İngiltere) cihazı kullanılmıştır. Bu cihaz kolloidal çözeltilerde asılı kalan partiküllerin boyutu ve taşıdıkları potansiyel yük hakkında bilgiler vermektedir. Yıkanan nanopartiküller 1ml su içinde dağıtılarak uygun kuvvetlerde ölçümleri yapılmıştır.

3.4. İlaç Yükleme Verimi

Aljinat-kitosan nanopartiküllere farklı oranlarda vankomisin yükleme çalışmaları yapılmış ve bunlardan en uygun değere sahip olan miktar belirlenmiş olup verim hesabı bu orana göre yapılarak, ilaç salım çalışmalarına başlanmıştır.

İlaç yükleme veriminin hesaplanması için, 15000 rpm de 15 dakika santrifüjlenen antibiyotik yüklü nanopartiküllerin süpernatantları UV spektrometre ile 280nm'de ölçülmüş ve enkapsüle olmayan ilaç miktarı hesaplanmıştır.

Hazırlanan, ilaç yüklenmiş nanopartikül içeren ilaç yüklü aljinat jel ile kaplanmış ilaç yüklü boşluk doldurucuların içerdiği son ilaç miktarı ise, yaklaşık 1 saat bekletildikleri CaCl₂ ve alkol çözeltilerinin UV spektrofotometre ile 280nm'de ölçülmesi ile hesaplanmıştır.

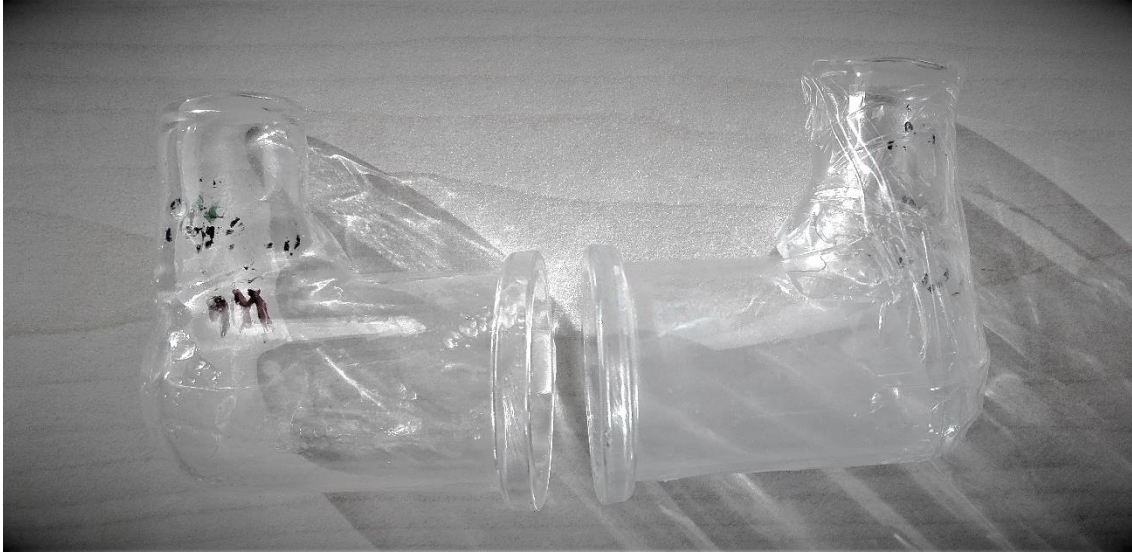
İlaç yükleme veriminin hesabı için aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır:

$$\%iYV = \frac{\text{Toplam İlaç Miktarı} - \text{Serbest İlaç Miktarı}}{\text{Toplam İlaç Miktarı}} \times 100$$

3.5. *İn vitro* İlaç Salım Testi

Vankomisin yüklenen nanopartiküller şekil 3.1.'de geliştirilen ilaç salım düzeneği içine, 3ml PBS ile karıştırılarak konulmuştur. Bu sistem ortasında diyaliz membran barındıran iki kollu bir düzeneştir. Membranın bir tarafında tamamen ilaç yüklü nanopartiküller varken, diğer tarafında sadece ortam çözeltisi olan PBS vardır. Bu sistem sızdırma yapmayacak şekilde hazırlandıktan sonra, 37 °C'de çalkalamalı su banyosunda 21 gün bekletilmiştir. Belirli zaman aralıklarında sadece PBS bulunan kısımdan 300ul numune alınıp, yerine 300ul PBS eklenerek ölçümler alınmış ve salıma devam ettirilmiştir. Alınan 300ul numunelerin 3ul'si mikrodrop plate yardımıyla UV spektrometrede doğrudan 280nm'de ölçülmüş ve salınan ilaç miktarı hesaplanmıştır.

Boşluk doldurucuların ilaç salım analizleri için 15ml'lik falkonların içine 5ml PBS konulmuştur. Bu çözeltinin içine hazırlanan boşluk doldurucular eklenmiş ve 37 °C'de çalkalamalı su banyosunda salıma bırakılmıştır. Belirli zaman aralıklarında bu falkonların her birinden 500ul örnek alınıp, tekrar içine 500ul PBS eklenerek salımlara devam ettirilmiştir. Daha sonra alınan numunelerin UV spektrometrede 280nm'de doğrudan absorbans ölçümleri yapılmıştır.



Şekil 3.1. Nanopartiküllerden ilaç salım düzeneği.

3.6. Sitotoksisite Testleri

Herhangi bir maddenin biyolojik davranışının anlaşılabilmesi için hücreler ile etkileşimi sonucunda toksik etki meydana getirip getirmediğinin incelenmesi gerekmektedir. Bu nedenle, sitotoksisite testleri *in vitro* ortamda ilaç niteliği taşıyan veya toksik etkisi araştırılan maddelerin incelenmesi amacıyla hücre kültüründe gerçekleştirilen ölçüm (MTT, MTS, XTT, WST) metodlarıdır [124]. Bu testler arasında MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) Thiazolyl blue testi, hücre canlılığını kolorimetrik metod ile ölçülmesini sağlayan bir hücre canlılığı testidir.

Hücre canlılığı testi için 3T3L1 fare fibroblast hücreleri kullanılmıştır. İçinde hücre bulunan cryovial tüpler sıvı azot tankından çıkarılarak su banyosunda 37 C °'de eriyene kadar bekletilmiş ve hızlı bir şekilde alkollenip class II kabin içerisine alınmıştır. 15 ml'lik steril falkon içerisine 6 ml olacak şekilde besiyerinden konularak cryovial tüp içerisindeki hücreler falkonun içine hızlı bir şekilde eklenmiştir. Falkon parafilmlenerek 2.500 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası 15 ml'lik falkon içerisinde dibe çöken hücreler pellet halinde görülmüş ve pellete dokunulmadan süpernatant kısım ortamdan uzaklaştırılmıştır.

Pellete 6ml ful besiyeri ortamında tamamen homojen olana kadar pipetleme yapılmıştır. Pellet homojenize edildikten sonra, hücreler trypan blue ile boyanıp hücre sayım cihazı ile sayılmış ve gerekli işlemler yapıldıktan sonra 96 well plate içerisine her bir kuyucuğa 5.000 hücre olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirilip 37 °C'de %5 CO₂ oranına sahip inkübatöre konulmuştur. 2 gün boyunca hücrelerin yüzeye yapışması ve büyümeleri izlenmiştir. Her bir deney serisinden, hem antibiyotikli hem antibiyotiksiz nanopartiküllerden, 3'er adet (3 plate) yapılarak sonuçların ortalaması alınmıştır. Kontrol grubu olarak hücre + besiyeri bulunan kuyucuklar da oluşturulup blank olarak besiyeri kullanılmıştır. Dilisyon oranları 1:1, 1:10 ve 1:100 şeklinde tekrarlı olarak yapılmıştır. 0. Saat, 12. Saat, 24. saatlerde inkübatörde bekletilen hücrelerin canlılıklarının test edilmesi için bu hücrelere MTT uygulanıp daha sonra 570 nm de absorbans değerleri ölçülerek sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 3.1. Tüm saatleri temsilen, hücre canlılığı testi için, sıfırcı (0.) saat plate kullanım şekli.

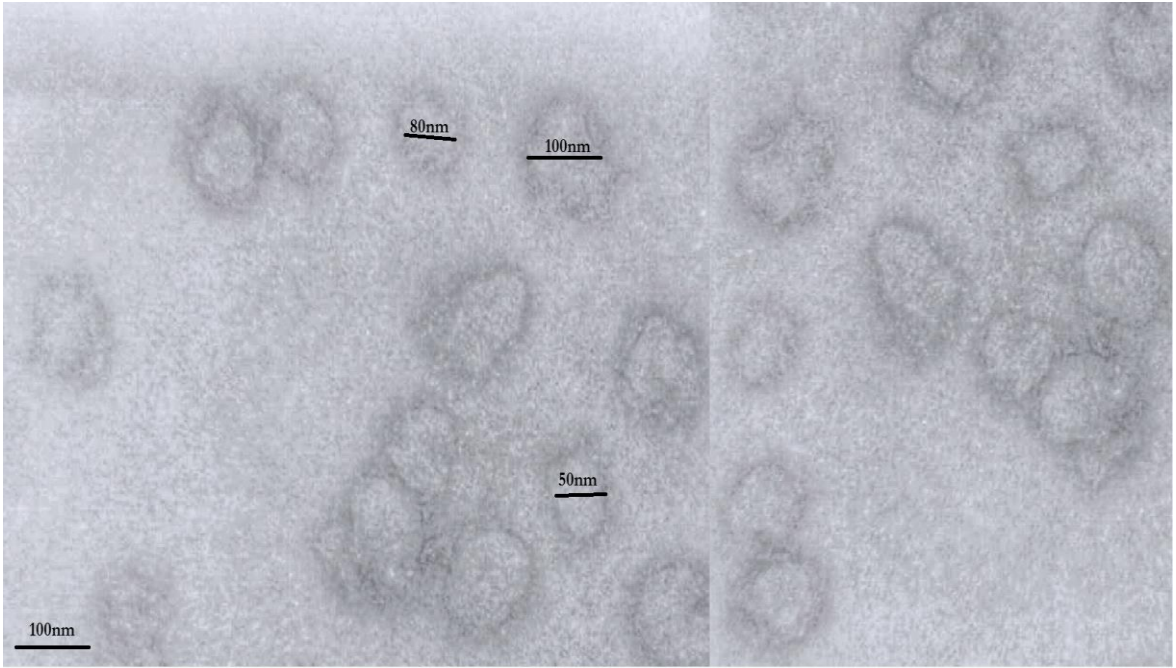
0.saat	1	2	3	4	5	6	7	8
A								
B		1.dozANP + Hücre	1.dozANP +Hücre	1.dozANP +Hücre		1.dozNP +Hücre	1.dozNP +Hücre	1.dozNP +hücre
C		2.dozANP +Hücre	2.dozANP +Hücre	2.dozANP +Hücre		2.dozNP +Hücre	2.dozNP +Hücre	2.dozNP +hücre
D		3.dozANP +Hücre	3.dozANP +Hücre	3.dozANP +Hücre		3.dozNP +Hücre	3.dozNP +Hücre	3.dozNP +hücre
E		Su+ANP +Hücre	Su +ANP +Hücre	Su + ANP +Hücre		Su+NP +Hücre	Su + NP +Hücre	Su + NP +Hücre
F		Ant+Hücre	Ant+Hücre	Ant+Hücre		Ant+Hücre	Vank+hücre	Vank+Hücre
G		Hücre	Hücre	Hücre				
H		BLANK	BLANK	BLANK				

1.doz: 1:1 dilüsyon, 2.doz: 1:10 dilüsyon, 3.doz: 1:100 dilüsyon, ANP: Antibiyotikli, Nanopartikül, NP : Antibiyotiksiz Nanopartikül, Ant: Vankomisin.

4. Deneysel Bulgular ve Tartışma

4.1. Morfolojik Karakterizasyon

Geçirimli elektron mikroskobu ile morfolojisi incelenen aljinat-kitosan nanopartiküllerin boyutları 50 ve 100 nm aralığında gözlemlenmiştir (şekil 4.1).



Şekil 4.1. Aljinat-kitosan nanopartiküller TEM görüntüsü. Ölçek 100nm.

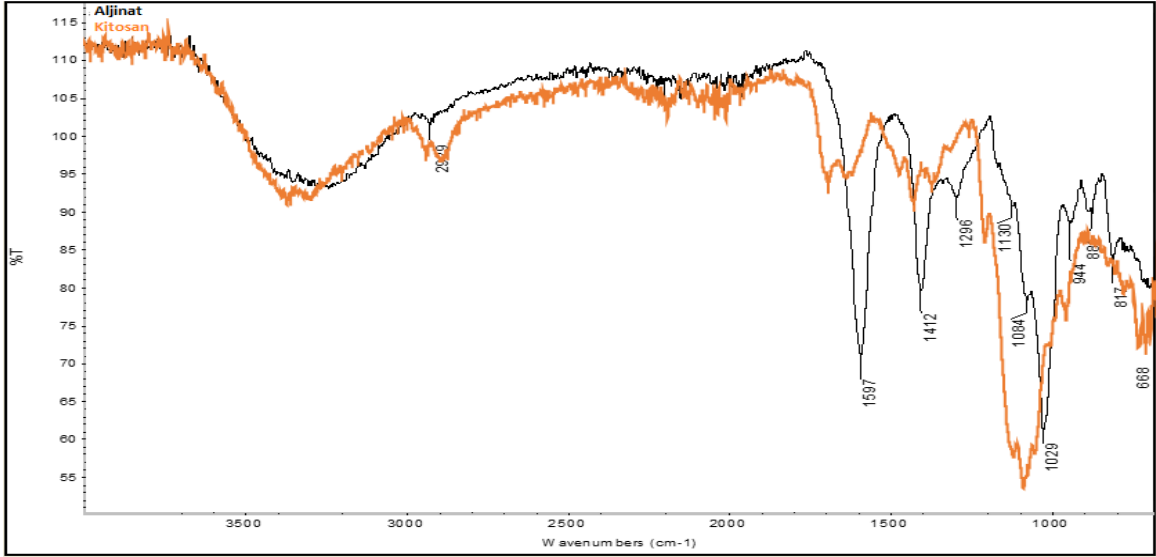
4.2. Kimyasal Analiz

Çalışmanın bu bölümünde ilaç enkapsülasyonlarını teyit etmek için ilaç yüklü aljinat-kitosan nanopartiküllerinin FT-IR spektrumları, aljinat, kitosan, vankomisin, boş aljinat-kitosan nanopartiküllerinin FT-IR spektrumları ile karşılaştırılmıştır. FT-IR spektrumları şekil 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5'te verilmiştir.

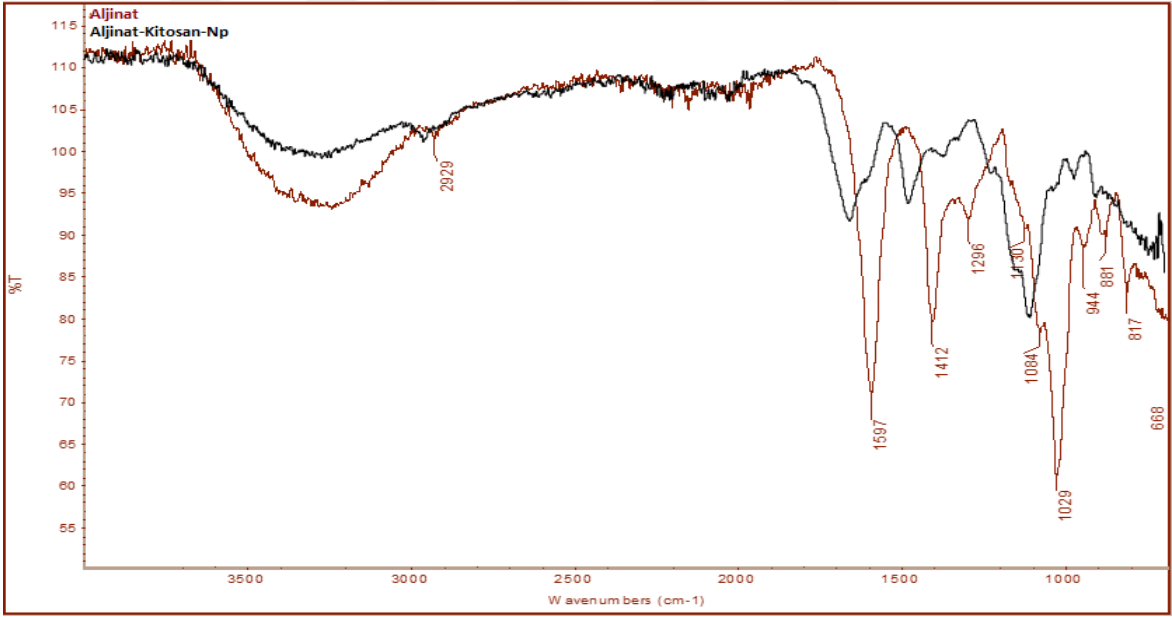
FT-IR spektrum analizlerinde, $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı arasındaki pikler hidroksil veya amin gruplarından kaynaklı olmaktadır. Şekil 4.3'teki antibiyotiksiz nanopartiküllerin FT-IR spektrumlarında, aljinat ve kitosandan kaynaklı bu alanlarda pikler gözlemlenmiştir. Ancak; antibiyotik eklendikten sonra bu alanda hem çoklu hem de şiddeti yüksek pikler oluşmaktadır (şekil 4.5). Bunun nedeni ise, vankomisinin yapısında bulunan, hidroksil, amin, sekonder amin ve amit bağlarıdır. Bu bağ çeşitleri vankomisinde oldukça fazla bulunmaktadır. Özellikle, şekil 4.4'teki 3360 cm^{-1} sekonder amin gerilme absorbanns piki vankomisinin yapısında sıklıkla rastlanan bir bağ çeşididir.

Bir diğer geçirgenlik piki ise parmak izi bölgesi olarak adlandırılan bölgede bulunan 656 cm^{-1} dalga boyunda çıkmış olan ve sadece antibiyotikli nanopartiküllerin FT-IR analizinde gözüken geçirgenlik pikidir (şekil 4.5). Bu pik vankomisinin yapısında bulunan C-Cl bağının gerilme geçirgenlik pikidir (şekil 4.4). Bu pik yine vankomisinin yapısından kaynaklı ortaya çıkmıştır. Şekil 4.3'teki 1029 cm^{-1} 'de bulunan C-O gerilme absorpsiyon piki yapıya vankomisinin katılmasıyla 1032 cm^{-1} 'e kaymıştır ve bu pik yapıda karbon-oksijen bağının gerilme pikidir (şekil 4.5).

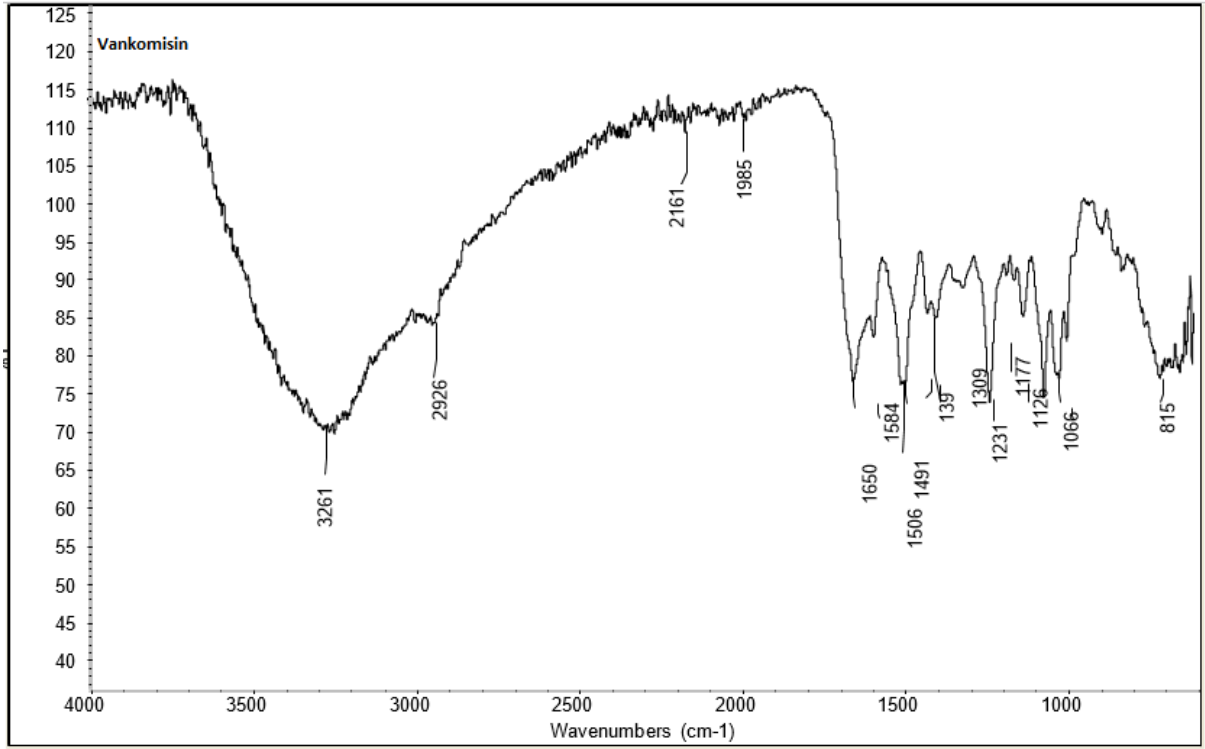
Şekil 4.3'te 1597 cm^{-1} ve şekil 4.4'te 1584 cm^{-1} 'de bulunan primer N-H eğilme pikleri, şekil 4.5'te 1642 cm^{-1} 'e kayarak daha büyük intensitede gözlenmiştir. 1642 cm^{-1} 'de bulunan absorpsiyon piki primer aminlerin eğilme piki olup, kitosan ve vankomisinin yapısında bulunmaktadır (şekil 4.5). Şekil 4.4'te bulunan 1506 cm^{-1} geçirgenlik piki, şekil 4.5'te de çıkmıştır. Bu pik sekonder aromatik aminlerin eğilme piki olup, sadece vankomisinin yapısında bulunmaktadır.



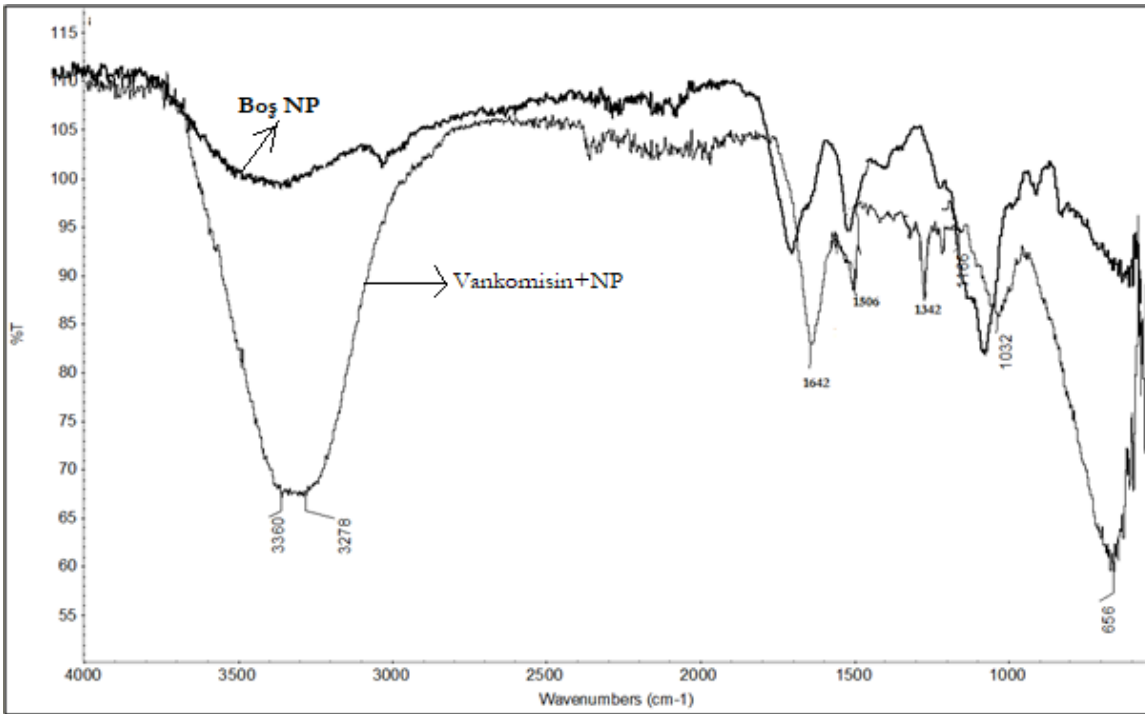
Şekil 4.2. Aljinat ve Kitosanın FT-IR spektrumları.



Şekil 4.3. Aljinat ve boş aljinat-kitosan nanopartiküllerin FT-IR spektrumları.



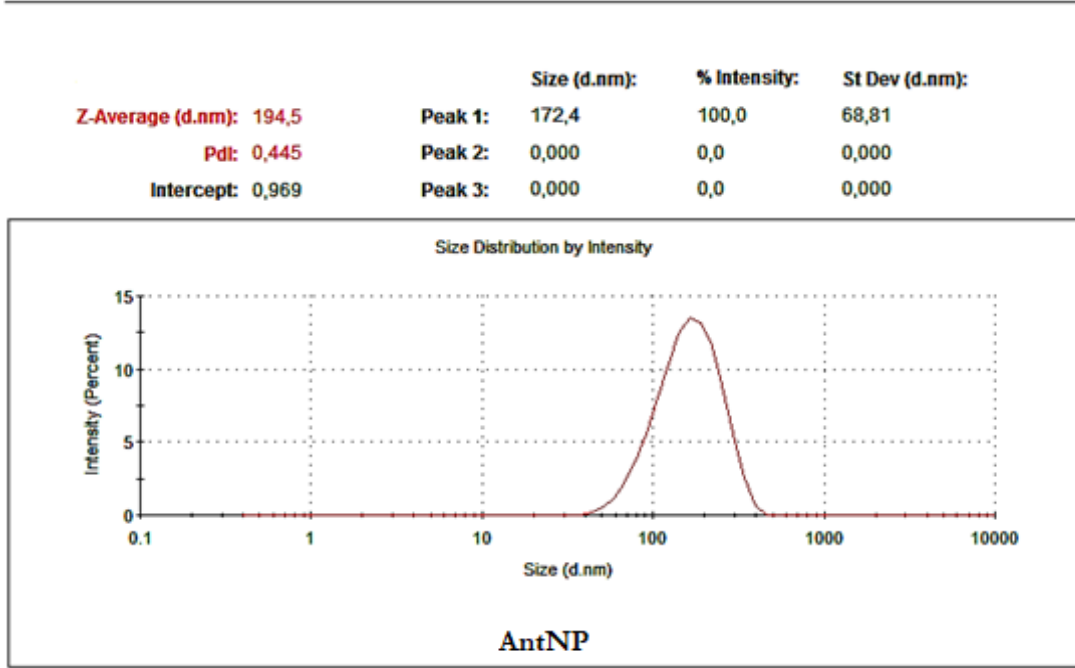
Şekil 4.4. Vankomisin antibiyotiğinin FT-IR spektrumu.



Şekil 4.5. Boş aljinat-kitosan nanopartiküllerinin ve vankomisin yüklü aljinat-kitosan nanopartiküllerinin FT-IR spektrumları.

4.3. Nanopartiküllerin Boyut Analizi

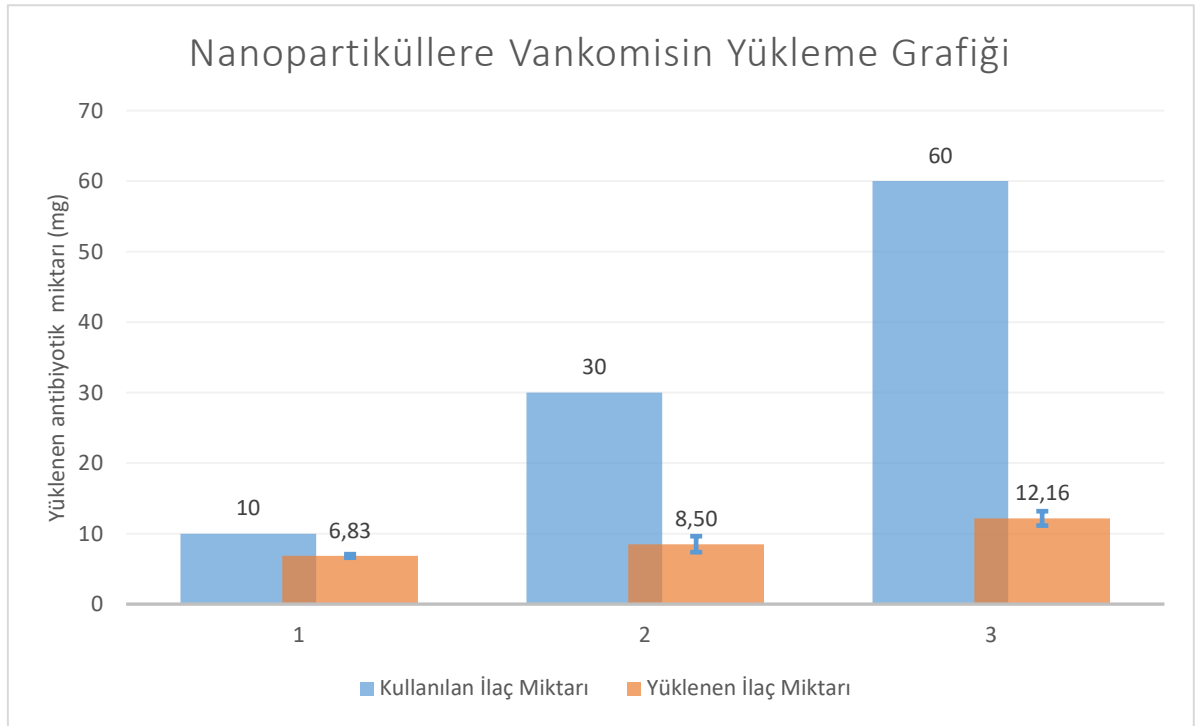
Antibiyotik yüklü nanopartiküllerin boyut analizleri yapılan deneyler sonunda incelenmiş olup ortalama 195nm boyutunda nanopartiküller elde edildiği gözlemlenmiştir (şekil 4.6).



Şekil 4.6. İlaç yüklü aljinat-kitosan-nanopartiküllerin boyut analizi.

4.4. İlaç Yükleme Verimi

Nanopartiküllere 10 mg, 30 mg ve 60 mg olmak üzere 3 farklı ilaç miktarı yüklenmiş ilaç yüklemek ve bu deneylerin sonunda nanopartiküllere yüklenen ilaç miktarı ve verimi şekil 4.7'deki grafikte değerlendirilmiştir. Kullanılan ilaç miktarına kıyasla yüklenen ilaç miktarı ve serbest ilaç miktarını değerlendirildiğinde, optimum ilaç miktarının 30 mg ve ilaç yükleme veriminin 30 ± 2 olduğu anlaşılmıştır.

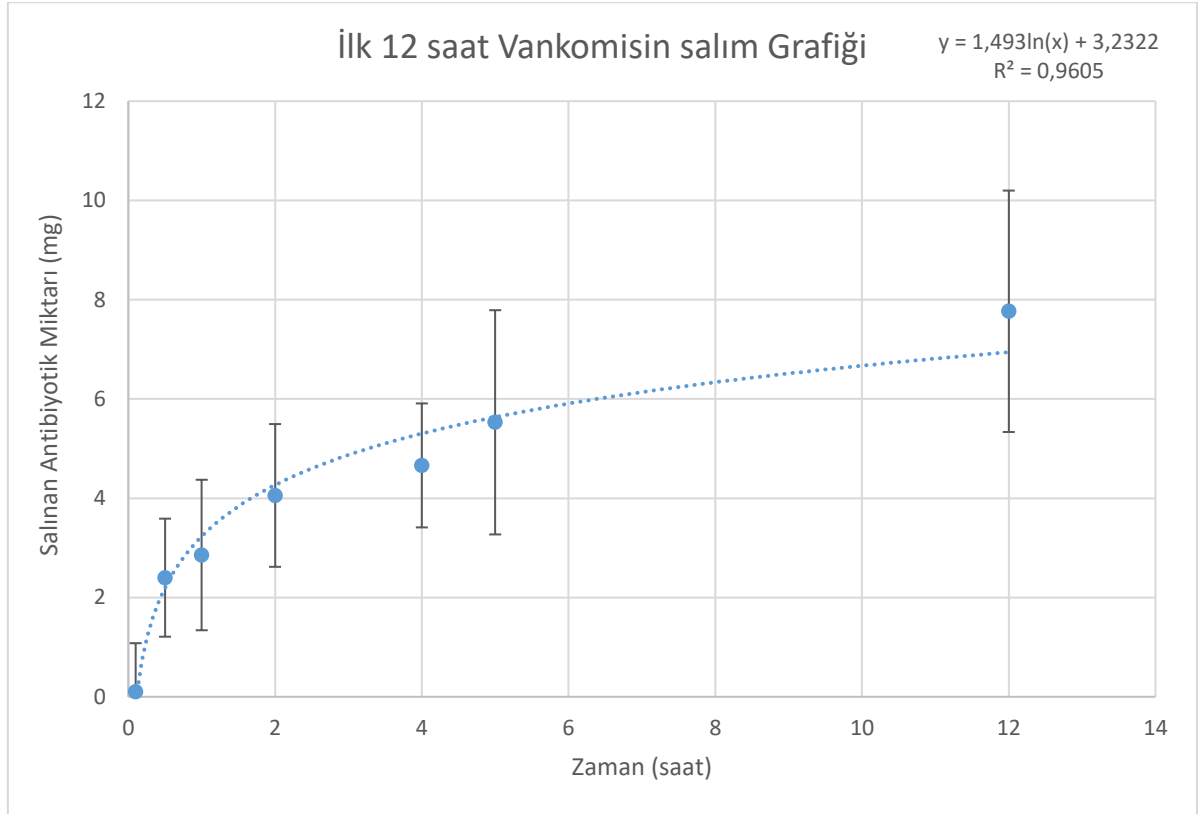


Şekil 4.7. Nanopartiküllere yüklemek için kullanılan ve yüklenen ilaçların miktarı.

4.5. *İn vitro* İlaç Salım Testi

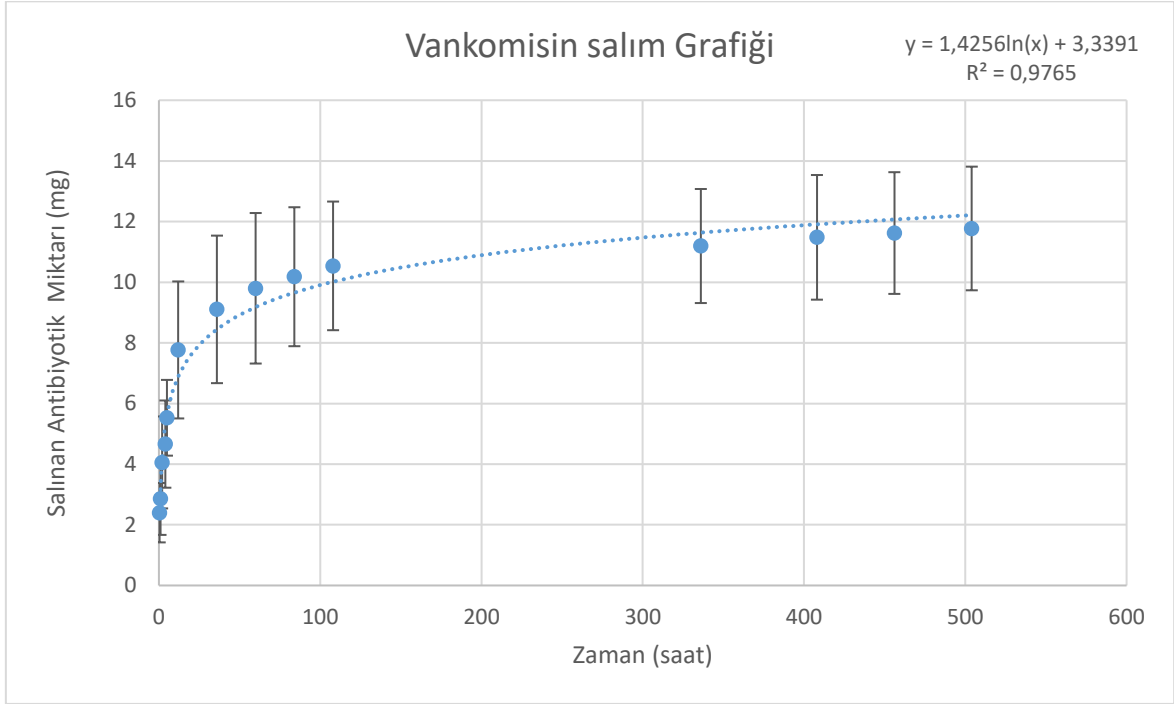
4.5.1. Aljinat-Kitosan Nanopartiküllerden Vankomisin Salımı

Nanopartiküllere 27 ± 3 mg vankomisin yüklenmiş olup, salıma bırakılan bu nanopartiküllerden ilk 12 saatte 7,76 mg ilaç salınmıştır Toplam ilacın %25,85'i salınmıştır (Şekil 4.8).



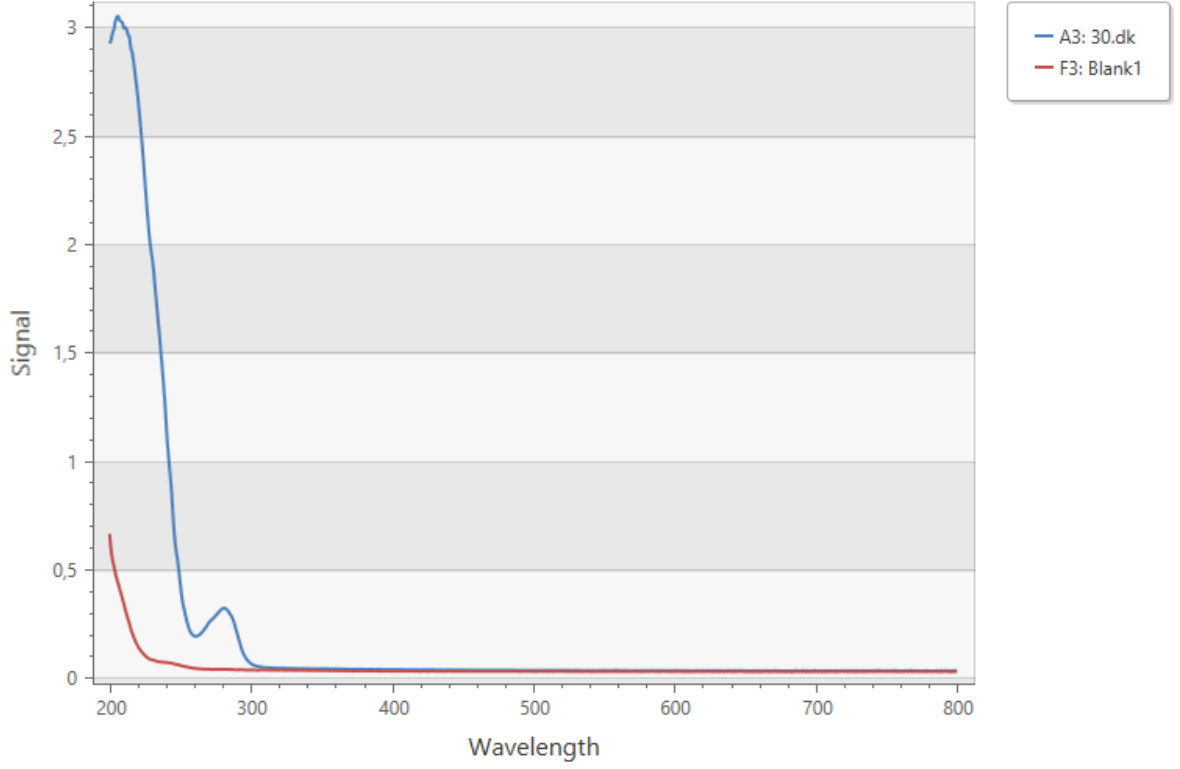
Şekil 4.8. Nanopartiküllerin ilk 12 saat kümülatif ilaç salım grafiği.

504 saat boyunca nanoprtiküllerin salım değerleri ölçülmüştür. Sonuçlar değerlendirildiğinde, toplam ilacın yaklaşık %43,3'ünün salındığı hesaplanmıştır (şekil 4.9).



Şekil 4.9. Nanopartiküllerin 504 saat boyunca kümülatif ilaç salımını gösterir grafik.

504 saat boyunca nanopartiküllerden alınan salım numunelerinin içinde ilaç olduğunun gösterilmesi için, her ölçümün yapıldığı anda buna ek olarak 200-800 nm dalga boyundaki absorbands spektumları arasında bir tarama yapılmıştır. Bu spektrum taraması sonucunda 280nm'de net bir pik gözlemlenmiştir. Salım örneklerinin içinde ilaç bulunduğu doğrulanmış ve sonrasında salınan ilaç miktarı hesaplanmıştır (şekil 4.10).

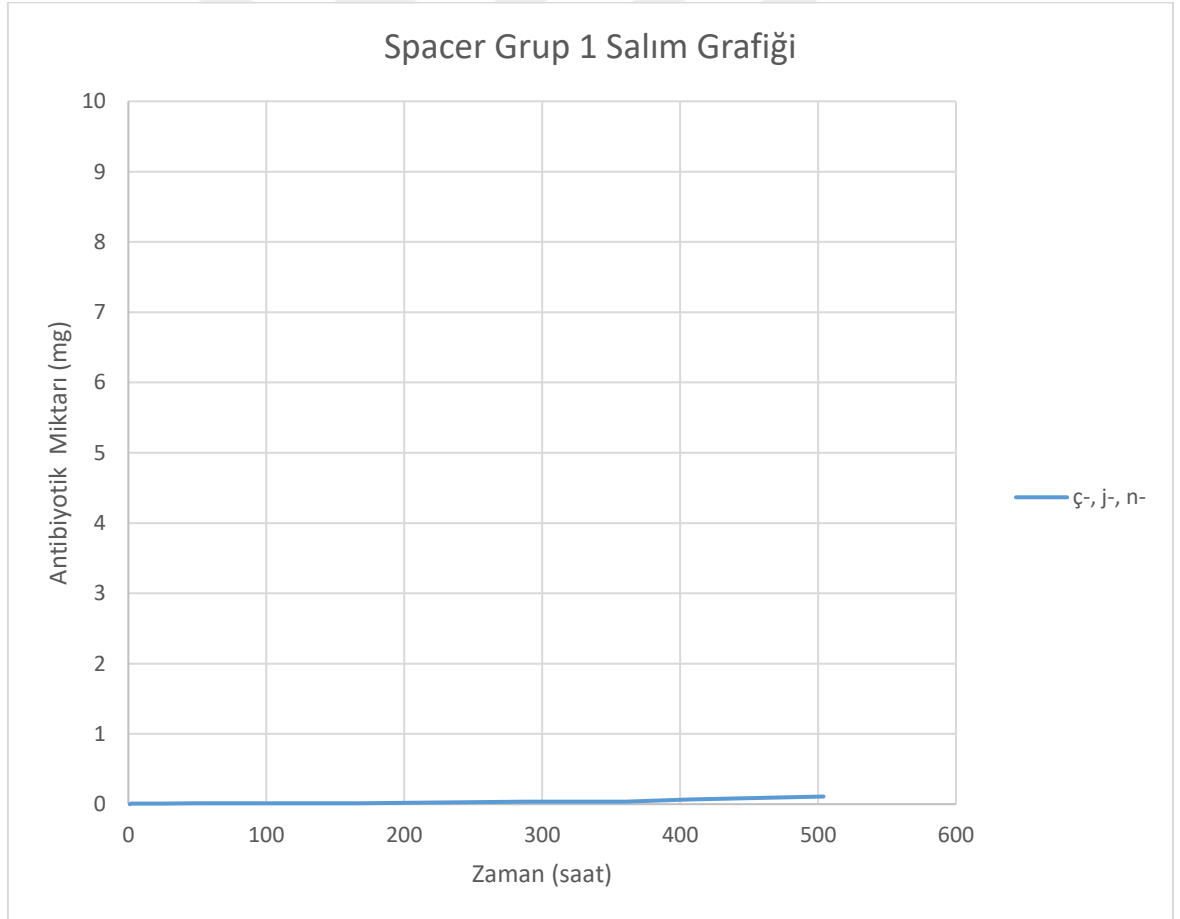


Şekil 4.10. Nanopartiküllerden alınan salım numunelerinin spektrum taraması (30.dk).

4.5.2. Boşluk doldurucuların (Spacer) İlaç Salım Grafikleri

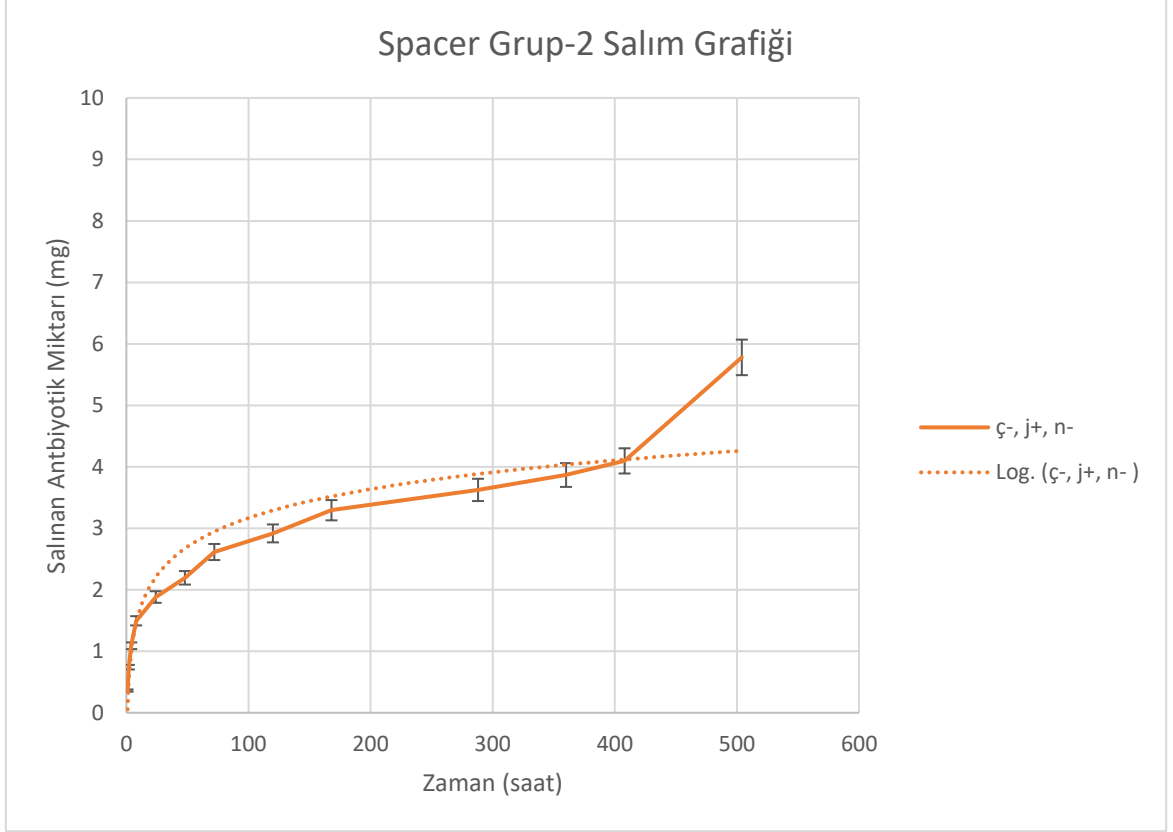
Spacer deney gruplarının 504 saat boyunca kümülatif ilaç salım grafikleri incelendiğinde, 0-48, 48-120 ve 120-400 saatler arasında platoya erişecekleri anda ilaç salımlarının yeniden arttığı gözlenmiştir. Özellikle 120. saat ve 400. saatte bu kırılma noktaları oldukça belirgin bir şekilde grafiklere yansımıştır.

Şekil 4.11’de antibiyotiksiz çimento, antibiyotiksiz jel ve antibiyotiksiz nanopartiküllerden oluşan grup-1’in kümülatif ilaç salım miktarlarını göstermektedir. BU grupta herhangi bir ilaç salımı gözlenmemiştir.



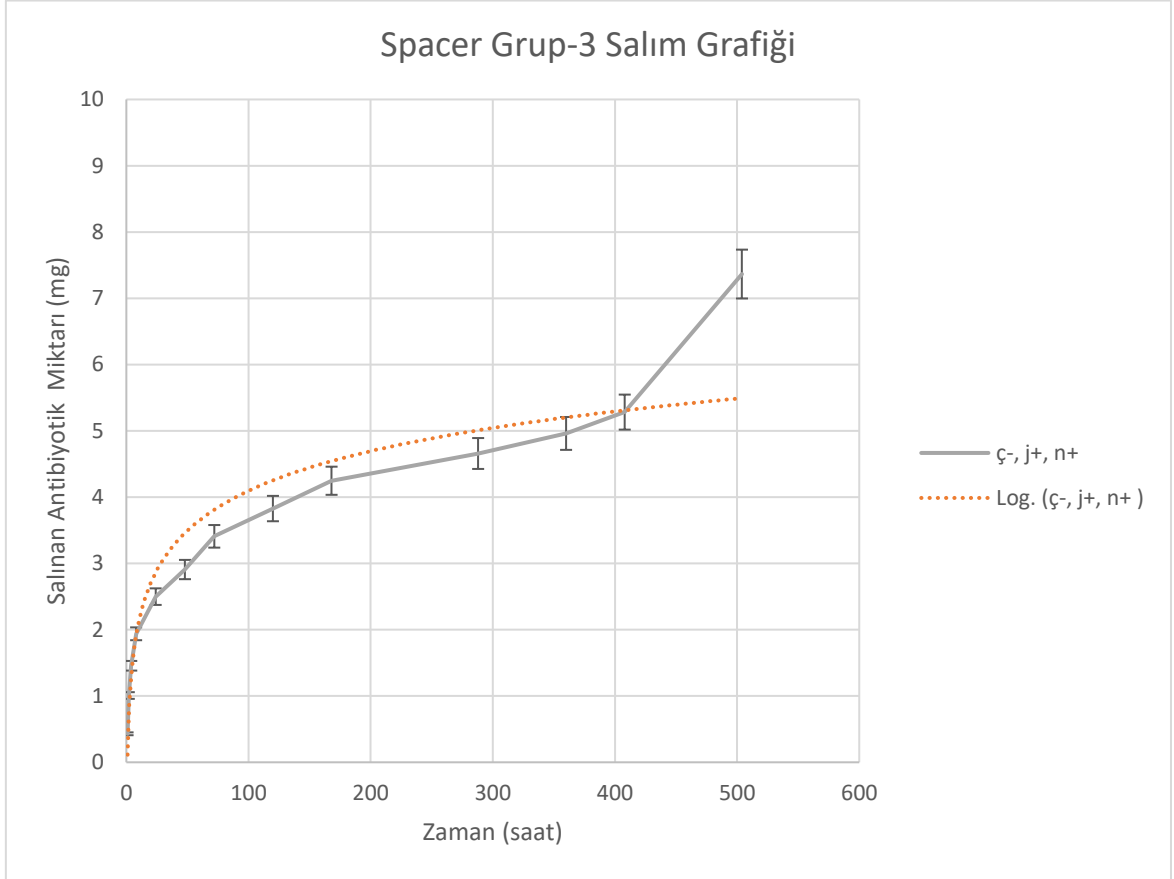
Şekil 4.11. Gru-1 vankomisin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.12'deki grafikte antibiyotiksiz kemik çimentosu, antibiyotikli aljinat jel ve antibiyotiksiz nanopartiküllerden oluşan grup-2'nin 504 saat boyunca kümülatif ilaç salım miktarları gösterilmiştir. Bu zaman boyunca sadece jel içinden salınan ilaç miktarı 5,77 mg olmuştur.



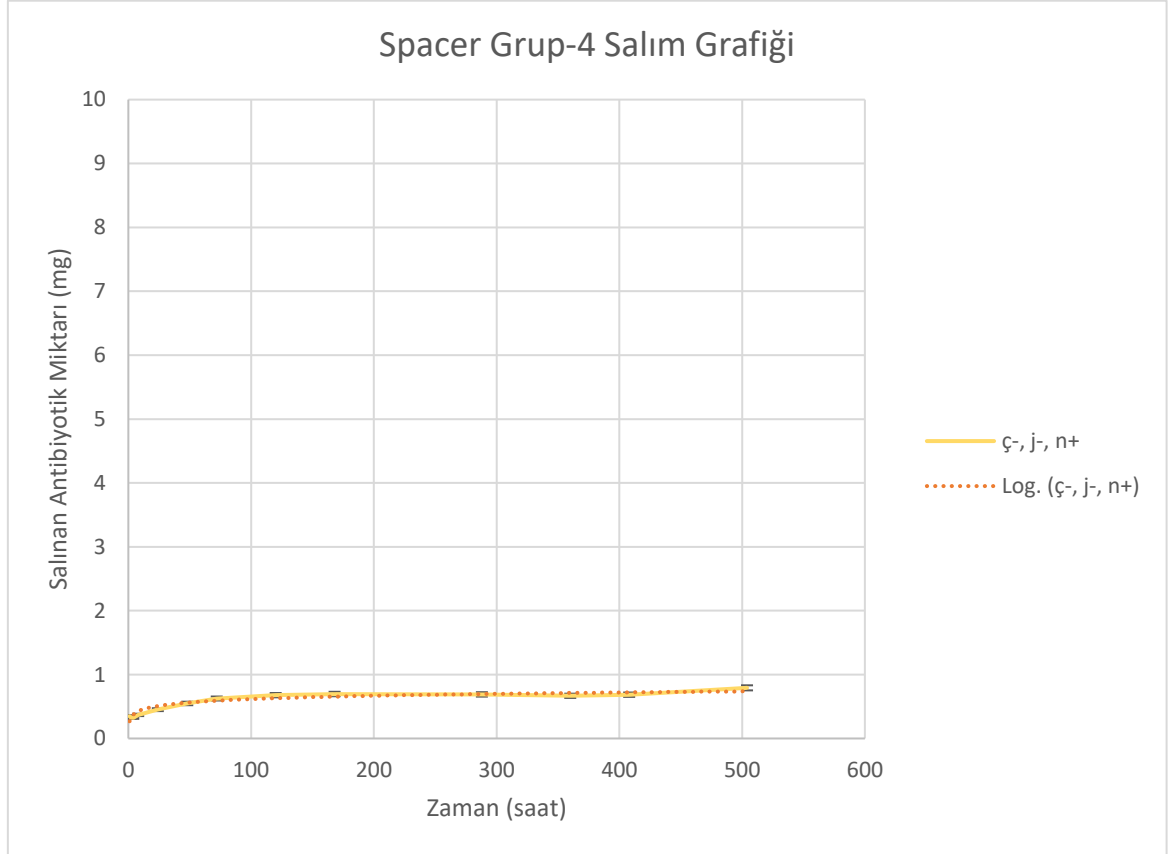
Şekil 4.12. Grup-2 vankomisin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.13'te antibiyotiksiz kemik çimentosu, antibiyotikli aljinat jel ve antibiyotikli nanopartiküllerden oluşan grup-3'ün jel içinde bulunan nanopartiküllerden ve jelin kendisinden 504 saat boyunca salınan kümülatif ilaç miktarı gösterilmiştir. Toplamda salınan ilaç miktarı 7,365 mg'dır



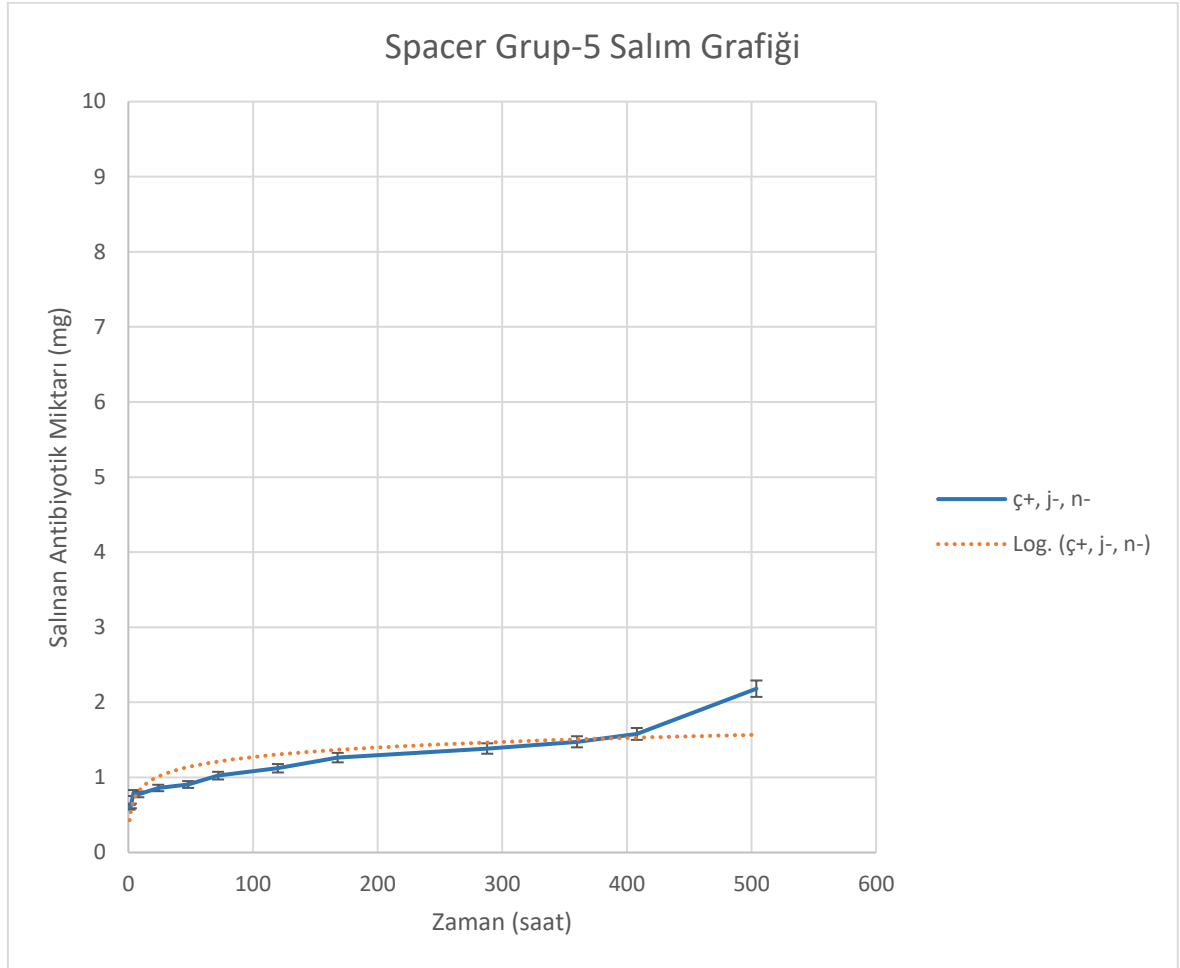
Şekil 4.13. Grup-3 vankomisin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.14'te antibiyotiksiz kemik çimentosu, antibiyotiksiz aljinat jel ve antibiyotikli nanopartiküllerden oluşan grup-4'ün 504 saat boyunca etrafı antibiyotiksiz jel ile çevrili olan antibiyotikli nanopartiküllerden kümülatif ilaç salım miktarları gösterilmiştir. Bu zaman zarfı boyunca jelin içindeki nanopartiküllerden salınan toplam ilaç miktarı 0,792 mg olmuştur.



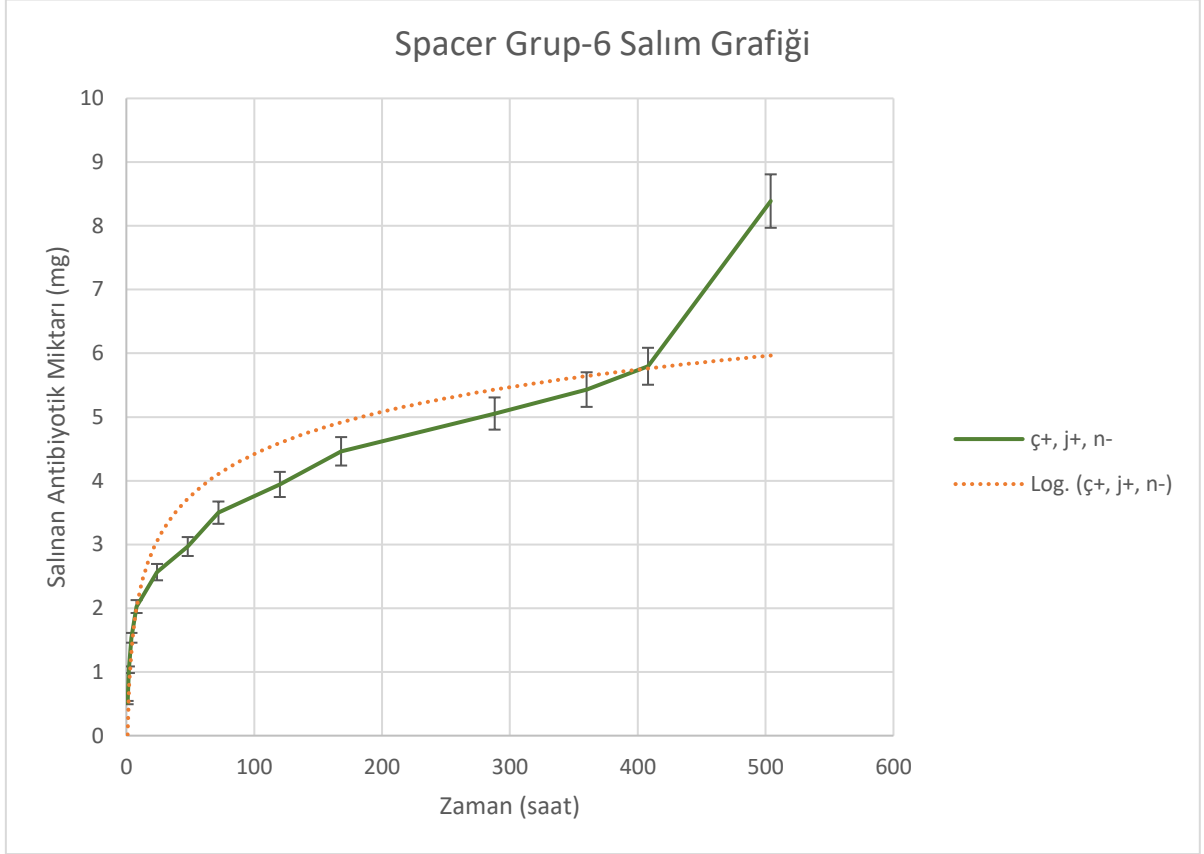
Şekil 4.14. Grup-4 vankomisin kümülatif salım grafiği (  : Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.15'te antibiyotikli kemik çimentosu, antibiyotiksiz aljinat jel ve antibiyotiksiz nanopartiküllerden oluşan grup-5'in 504 saat boyunca içinde antibiyotik bulunan ve etrafı antibiyotiksiz nanopartikül içeren antibiyotiksiz jel ile sarılmış çimentodan salınan kümülatif ilaç miktarı gösterilmiştir. Bu zaman zarfı boyunca salınan ilaç miktarı toplamda 2,185 mg olmuştur.



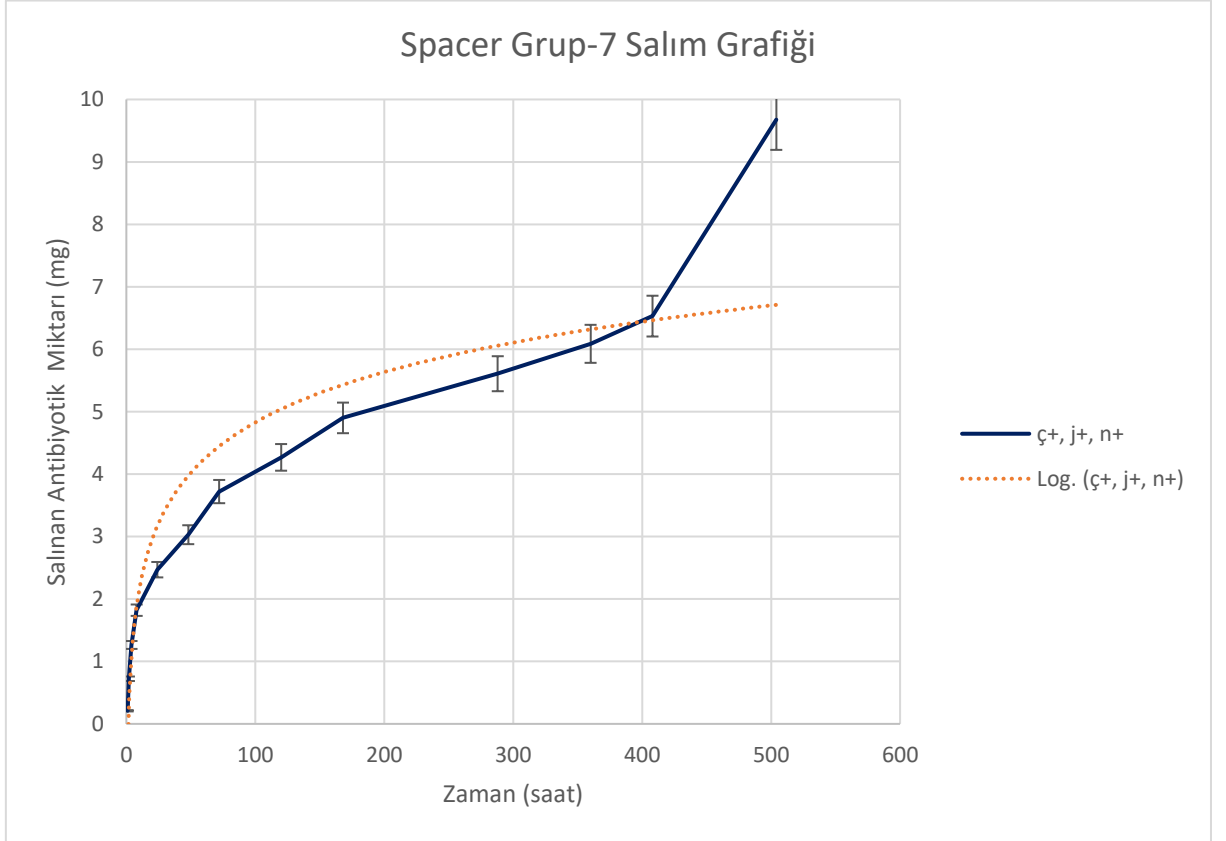
Şekil 4.15. Grup-5 vankomisin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.16’da antibiyotikli kemik çimentosu, antibiyotikli aljinat jel ve antibiyotiksiz nanopartiküllerden oluşan grup-6 ‘nın 504 saat boyunca antibiyotik içeren çimento ve jelin kümülatif ilaç salım miktarları gösterilmiştir. Bu zaman zarfı boyunca salınan toplam ilaç miktarı 8,388 mg olmuştur.



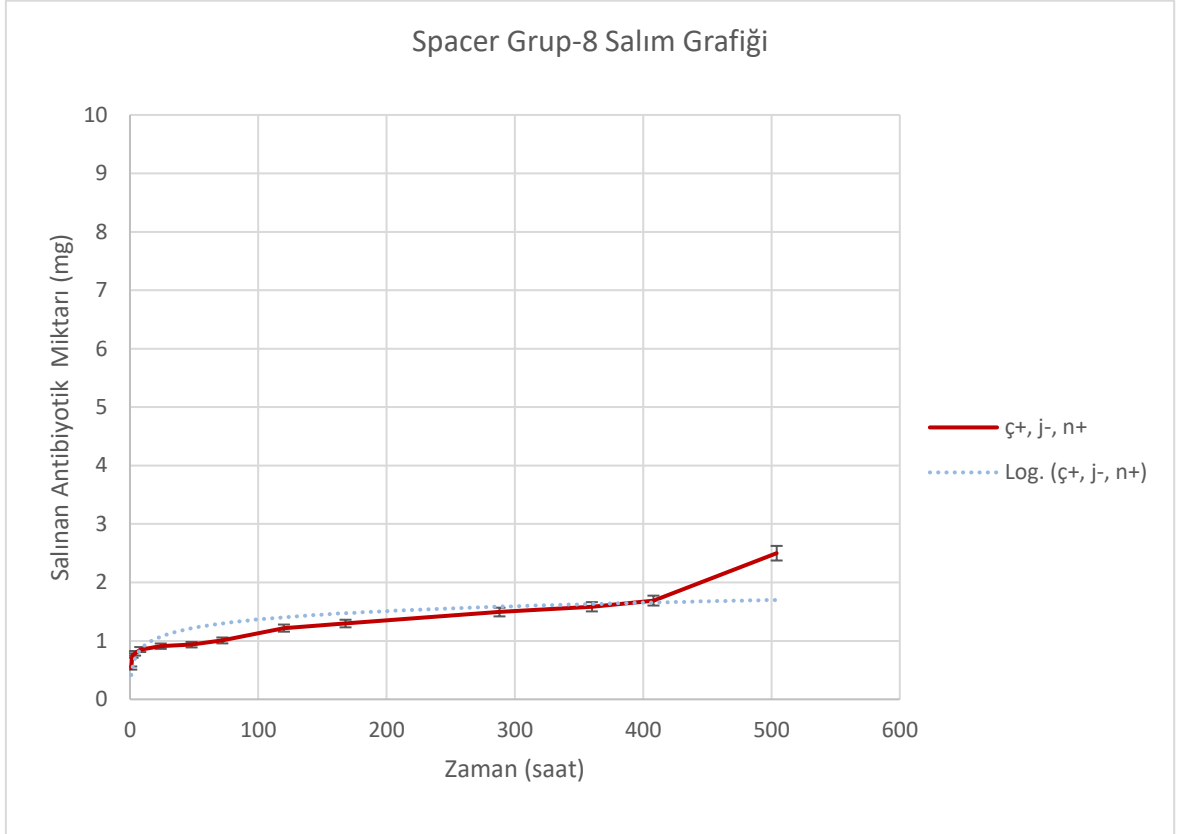
Şekil 4.16. Grup-6 vankomisin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.17’de antibiyotikli kemik çimentosu, antibiyotikli aljinat jel ve antibiyotikli nanopartiküllerden oluşan grup-7’nin 504 saat boyunca, antibiyotik içeren tüm grupların kümülatif ilaç salım miktarları gösterilmiştir. Bu zaman zarfı boyunca salınan ilaç miktarı toplamda 9,676 mg olmuştur.



Şekil 4.17. Grup-7 vankomisininin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.18’de antibiyotikli kemik çimentosu, antibiyotiksiz aljinat jel ve antibiyotikli nanopartiküllerden oluşan grup-8’in 504 saat boyunca, antibiyotikli çimento ve antibiyotikli nanopartiküllerden salınan kümülatif ilaç salım miktarları gösterilmiştir. Bu zaman zarfı boyunca salınan ilaç miktarı toplamda 2,5 mg olmuştur.

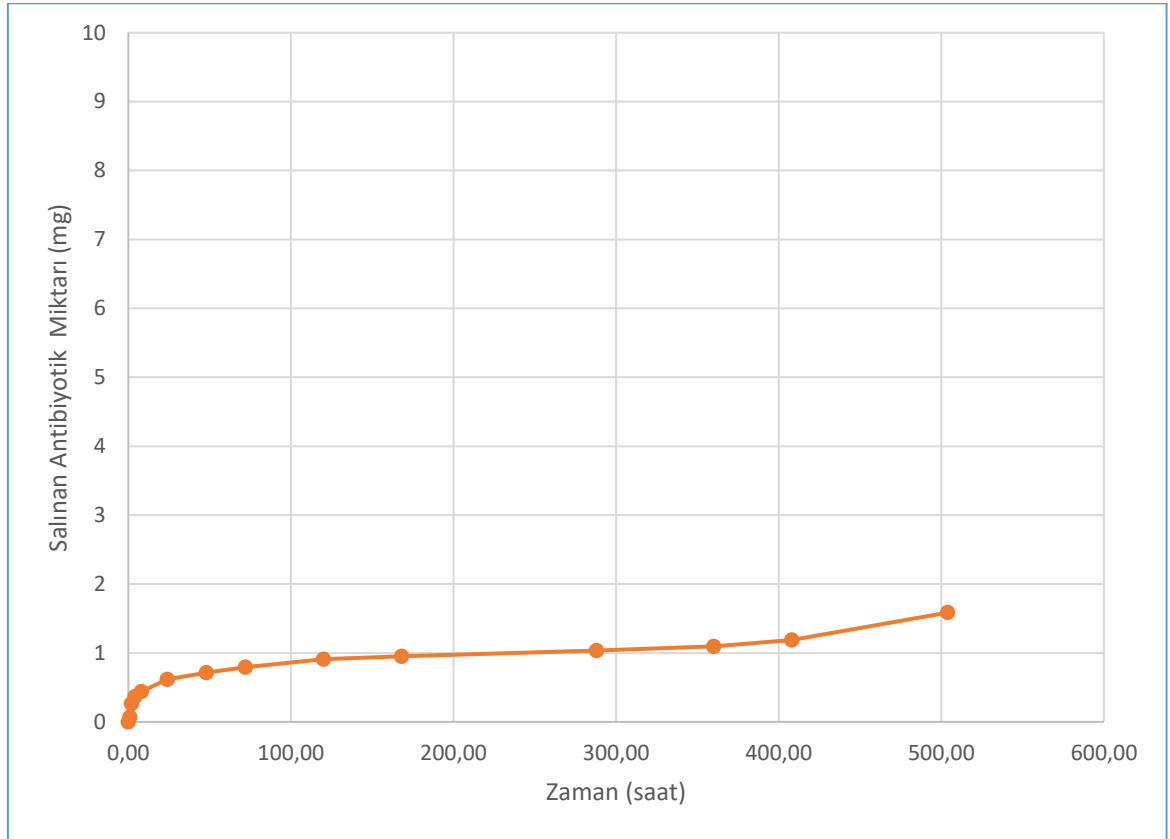


Şekil 4.18. Grup-8 vankomisin kümülatif salım grafiği (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.19'daki grafikte, şekil 4.13'teki grup-3 değerlerinden, şekil 4.12'deki grup-2 değerleri çıkartılarak nanopartiküllerin etkisi araştırılmıştır. Aradaki fark nanopartiküllerden salınan ilaç miktarını ortaya çıkarmıştır ve bu zaman zarfı boyunca nanopartiküllerin salınan ilaç miktarına katkısı toplamda 1,585 mg olmuştur.

Grup3: Ç-, J+, N+

Grup2: Ç-, J+, N-

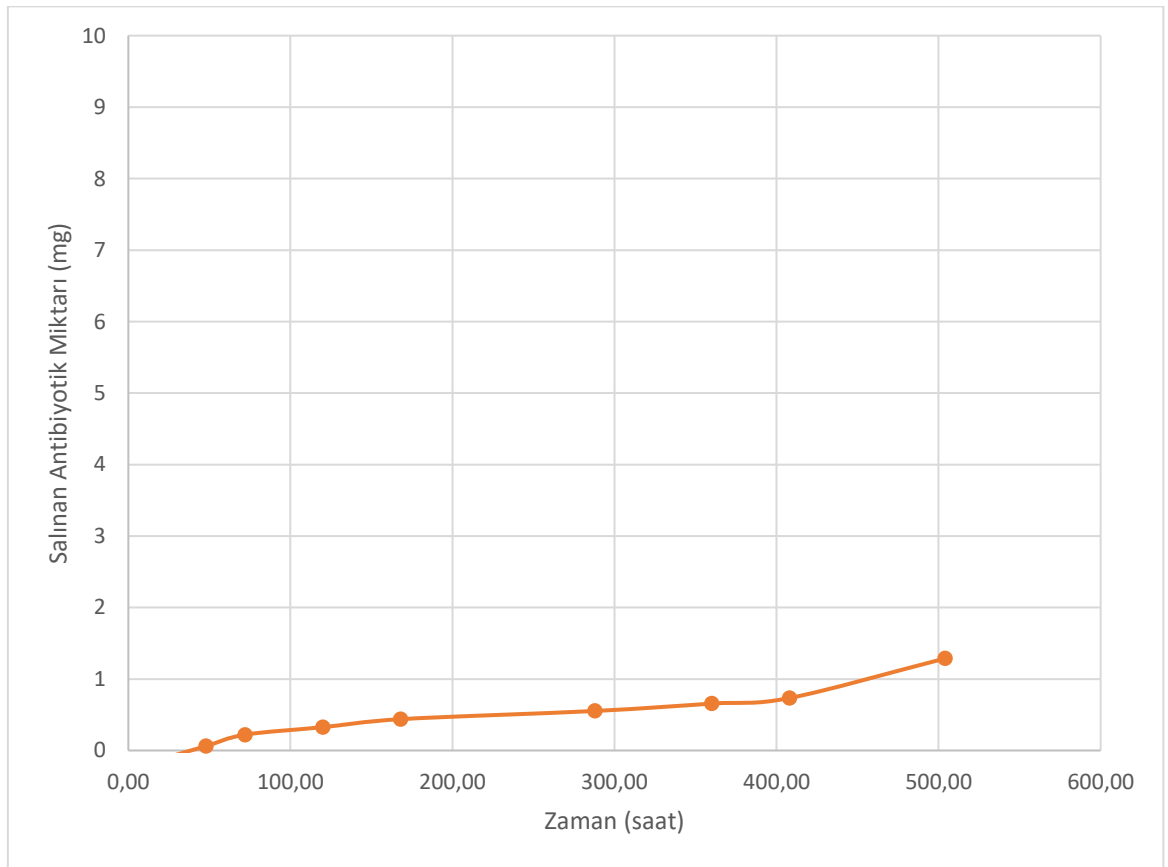


Şekil 4.19. Grup-3 ile grup-2 ilaç salım değerlerinin arasındaki farkı gösterir grafik(Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.20'deki grafikte, şekil 4.17'deki grup-7'nin ilaç salım değerlerinden, şekil 4.16'daki grup-6'nın ilaç salım değerleri çıkartılmış ve fark olarak yine nanopartiküllerin toplam ilaç salım miktarına olan katkısı incelenmiştir. İlk 48 saatte nanopartiküllerden sulu ortama ilaç salımının olmadığı görülmüştür. Bu zaman zarfı boyunca nanopartiküllerden salınan toplam ilaç miktarı 1,28 mg olmuştur.

Grup7: Ç+, J+, N+

Grup6: Ç+, J+, N-

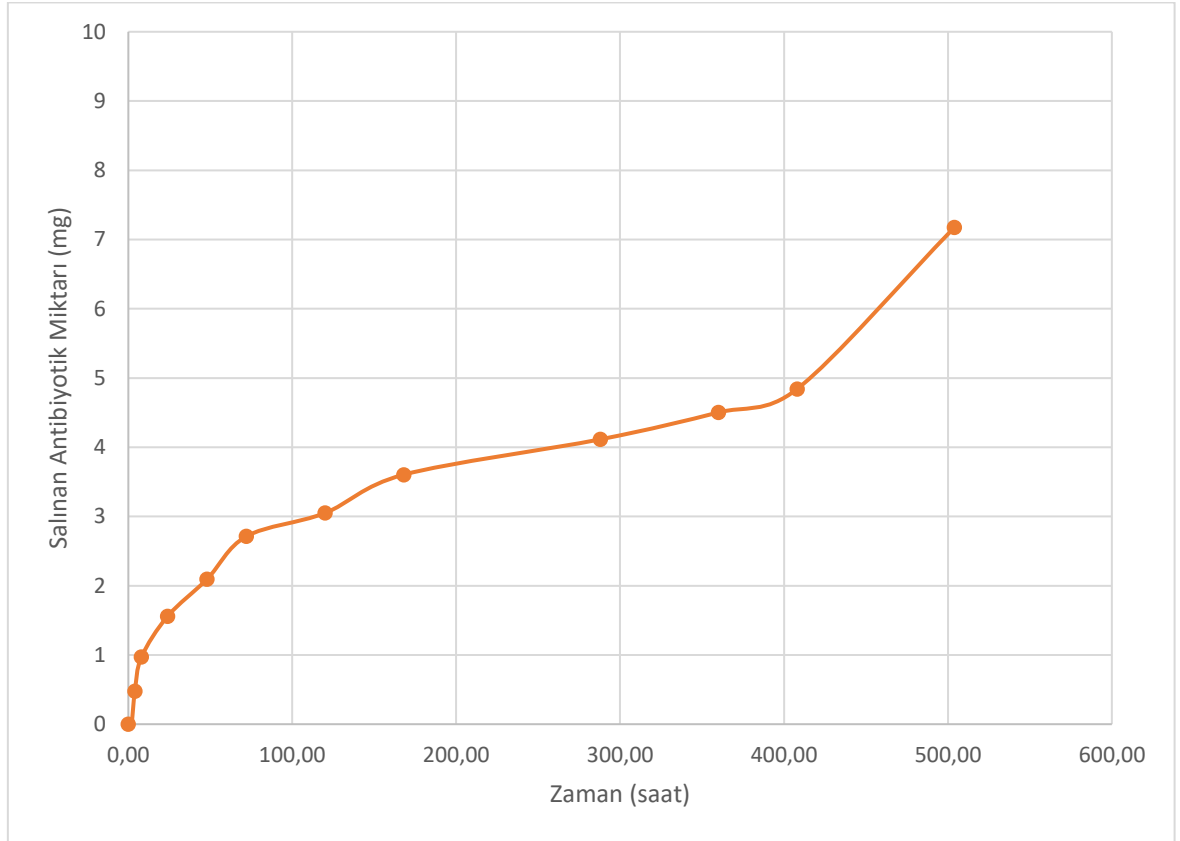


Şekil 4.20. Spacer grup-7 ve grup-6 ilaç salım değerleri arasındaki farkı gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.21'deki grafikte, şekil 4.17'deki grup-7'nin ilaç salım değerlerinden, şekil 4.18'deki grup-8'in ilaç salım değerleri çıkartılarak, jelin toplam ilaç salım miktarına etkisi araştırılmıştır. Bu zaman zarfı boyunca jelden salınan ilaç miktarı toplamda 7,176 mg olmuştur.

Grup7: Ç+, J+, N+

Grup8: Ç+, J-, N+

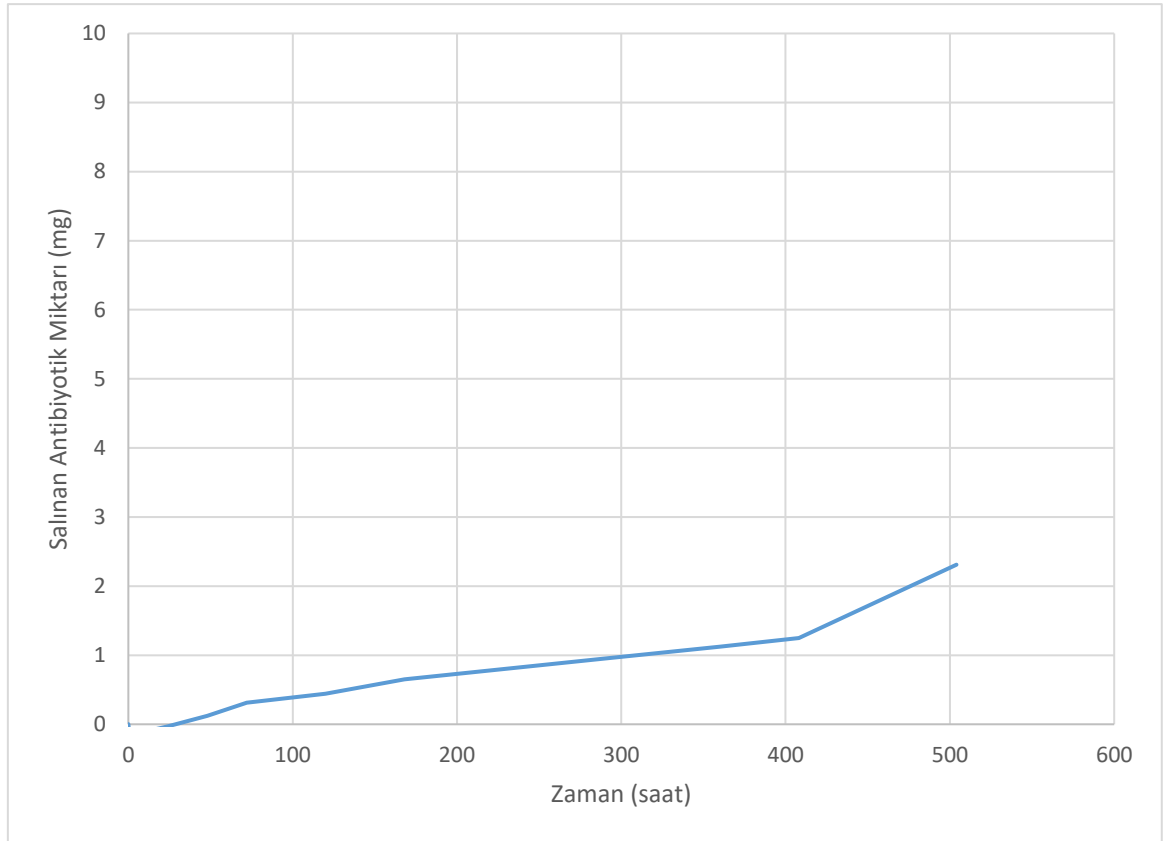


Şekil 4.21. Grup-7 ile grup-8 ilaç salım miktarları arasındaki farkı gösterir grafik(Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.22'deki grafikte, şekil 4.17'deki grup-7'nin ilaç salım değerlerinden, şekil 4.13'teki grup-3'ün ilaç salım değerleri çıkartılarak antibiyotikli çimentodan salınan ilaç salım değerleri incelenmiştir. Bu zaman zarfı boyunca çimentodan salınan toplam ilaç miktarı 2,31 mg olmuştur.

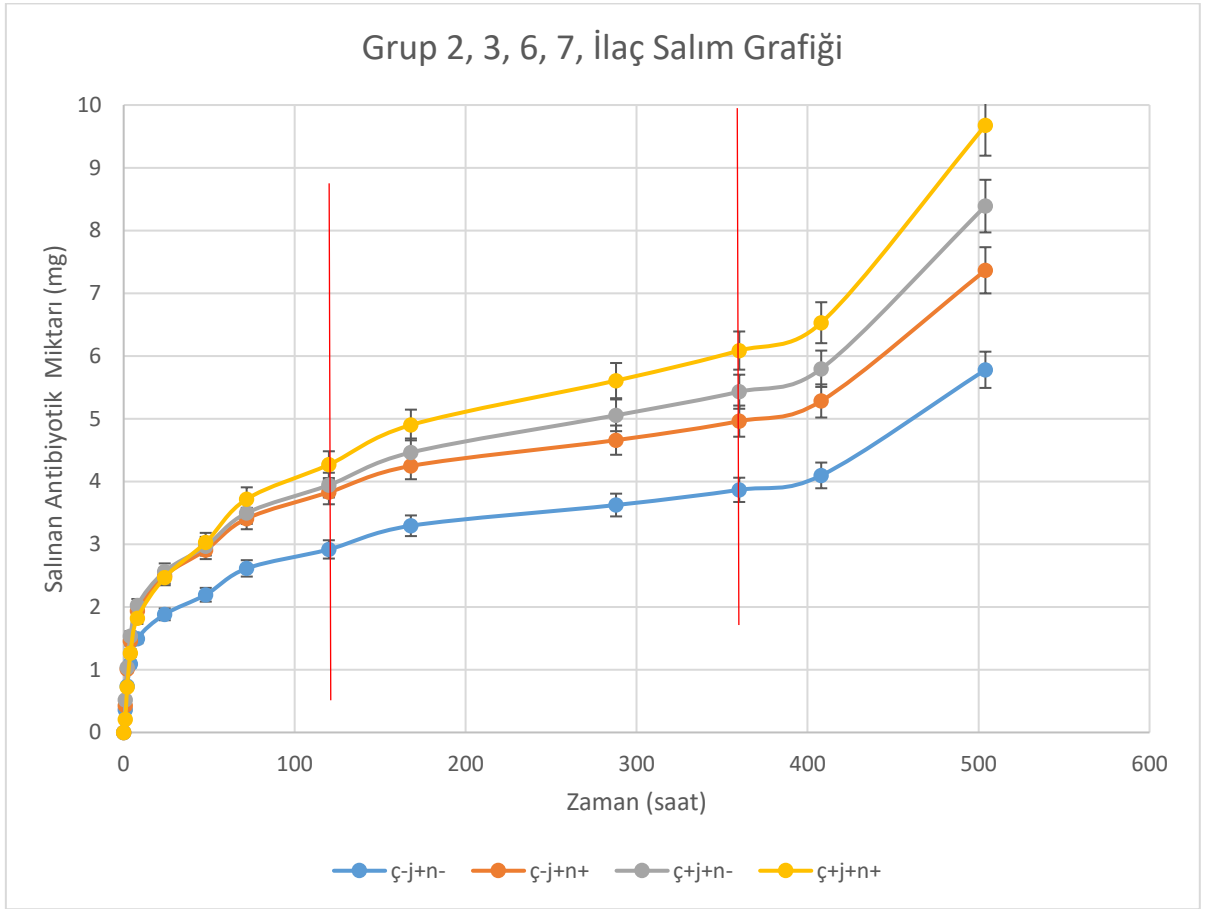
Grup7: Ç+, J+, N+

Grup3: Ç-, J+, N+



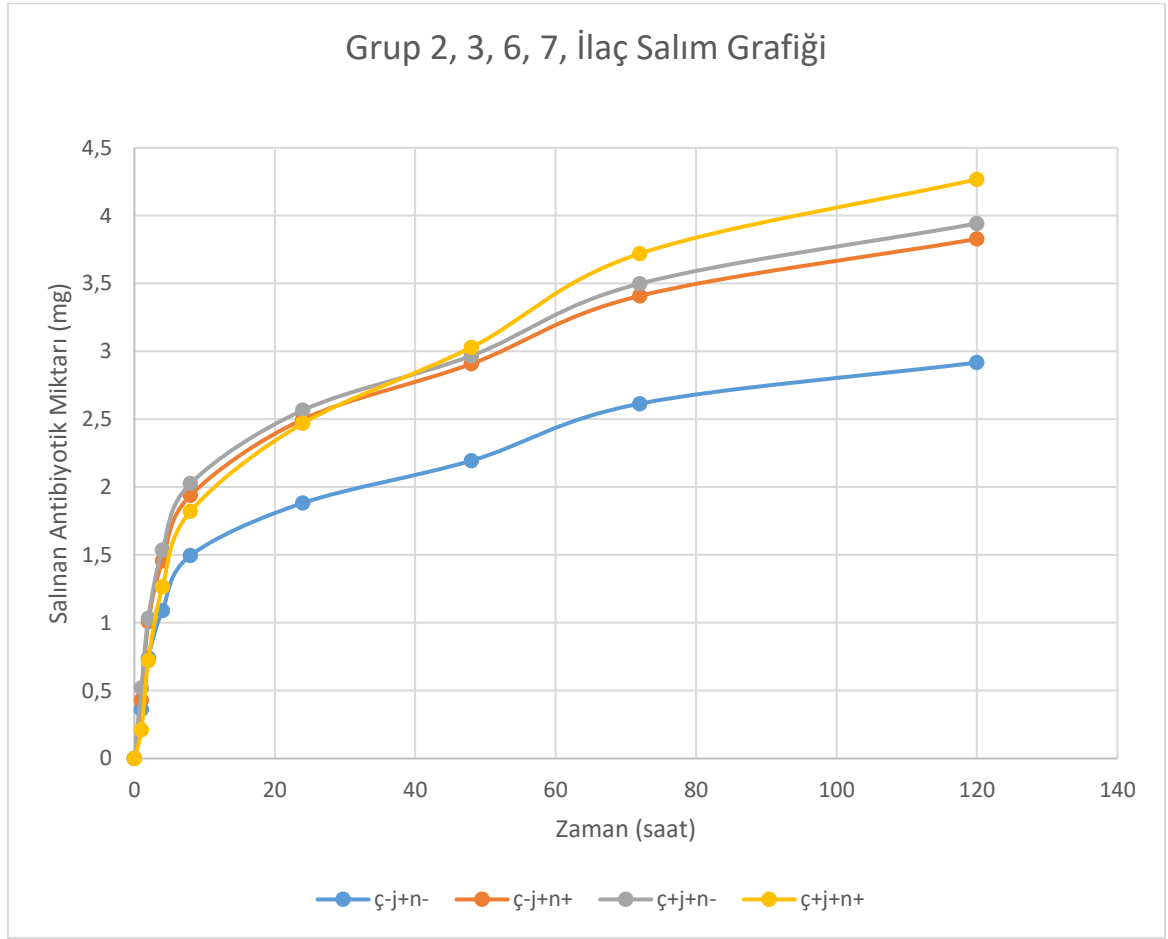
Şekil 4.22. Grup-7 ile grup-3 ilaç salım miktarları arasındaki farkı gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.23'teki grafik seçilmiş olan bazı grupların 0-504 saat arasındaki kümülatif ilaç salımındaki değişimleri göstermektedir. Bu grafikte sıralı salım sisteminin etkisi incelenmiştir. 48. saate kadar net bir ayrışma gözlenmemiş daha sonrasında gruplar ayrılmaya başlamıştır. Salınan ilaç miktarı platoya erişeceği anda 120.saatte yükselişe geçmiş ve yine platoya erişeceği beklenen salımların 400.saatten sonra ikinci bir yükselişe geçtiği görülmüştür.



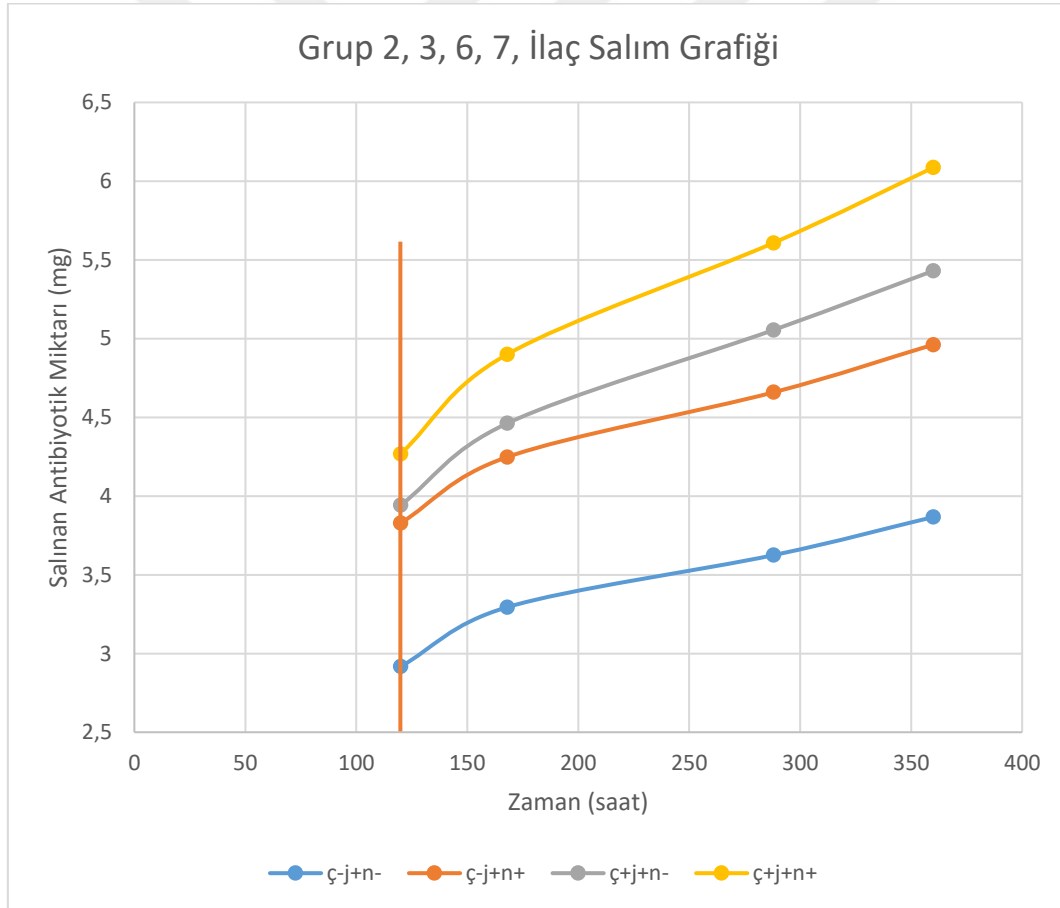
Şekil 4.23. Grup-2, grup-3, grup-6 ve grup-7 kümülatif ilaç salım grafikleri(Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.24'teki grafikte, ilk 48 saat boyunca seçilen bazı grupların karşılaştırılmalı kümülatif ilaç salım davranışları incelenmiştir. İlk 48 saat boyunca gruplar arasında ciddi bir fark olmadan ilaç salımı devam etmiştir. 48. saatte gruplar ayrılmaya başlamıştır. Burada en yukarıda çıkan grup (sarı renkli) içindeki her katmanda ilaç barındıran, en altta kalan grup ise sadece jel katmanında antibiyotik barındıran grup olmuştur. Sırasıyla bu zaman zarfı içinde salınan toplam ilaç miktarları, grup-7 (sarı) 3,029 mg, grup-6 (gri) 2,967 mg, grup-3 (turuncu) 2,908 mg ve grup-2 (mavi) 2,194 mg olmuştur.



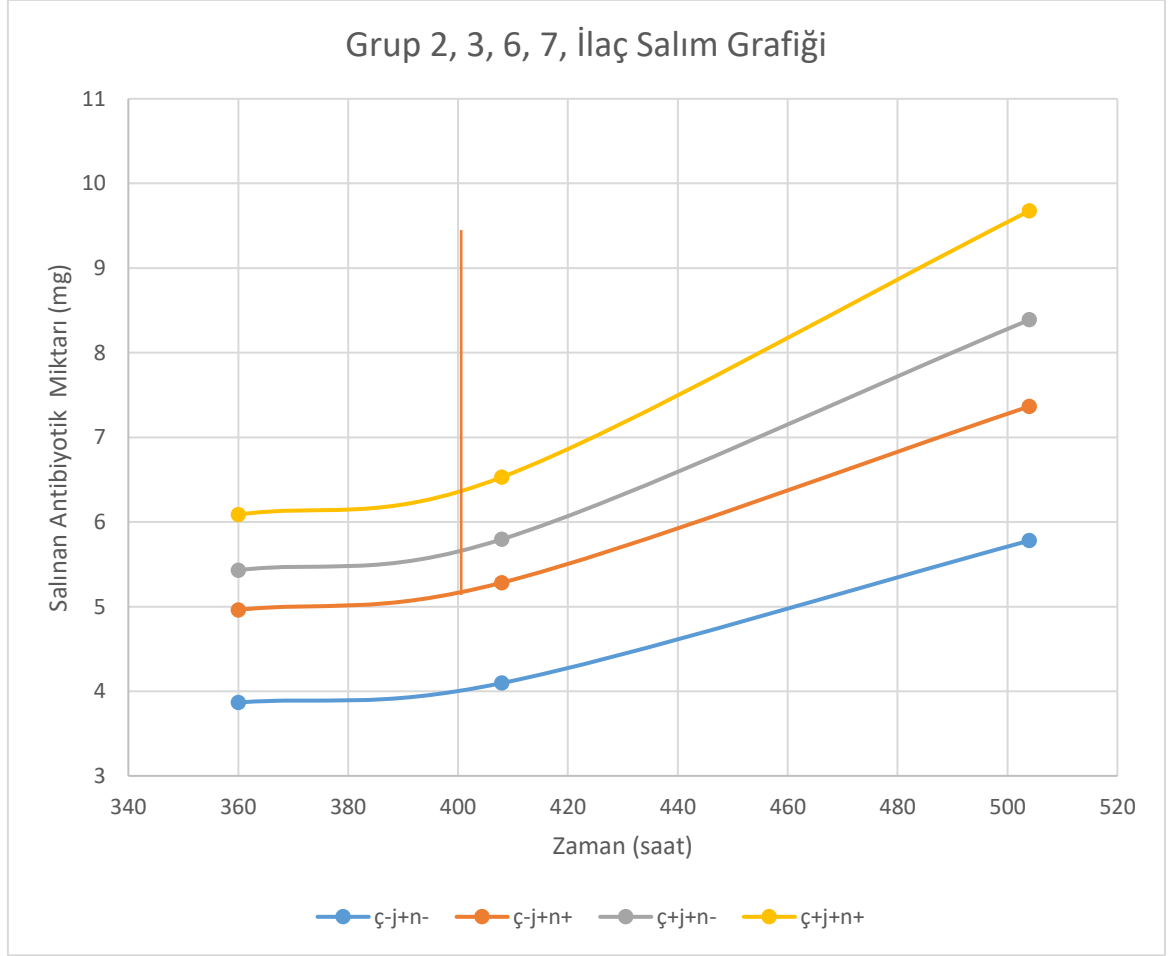
Şekil 4.24. Grup 2, 3, 6 ve 7'nin ilk 120 saat kümülatif ilaç salımını gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.25'teki grafikte 120.saat ile 360.saat arasında, seçilen grupların ilaç salım davranışları incelenerek, her bir malzemenin kendi içlerinde ilaç salımlarına yaptıkları katkı araştırılmıştır. Bu zaman boyunca gruplar arasındaki fark daha belirginleşmiş ve sarı grup bütün katmanlarda antibiyotik bulunduran en yüksek miktarda ilaç salımı yapan grup olmuştur. Bu grubu sırasıyla gri grup turuncu grup ve mavi grup takip etmiştir. Gri grup ile turuncu grup arasındaki tek fark, gri grupta çimentoda, turuncu grupta ise nanopartiküllerde antibiyotik olmasıdır. Ve bu durumda 120.saatte çimentonun etkisi nanopartiküle göre biraz daha fazla olarak, gri grup turuncu grubun üstünde yer almıştır. Bu zaman zarfı boyunca salınan ilaç miktarları en çoktan en aza doğru (sarıdan maviye doğru) 4,26 mg, 3,94 mg, 3,82 mg ve 2,91 mg olmuştur.



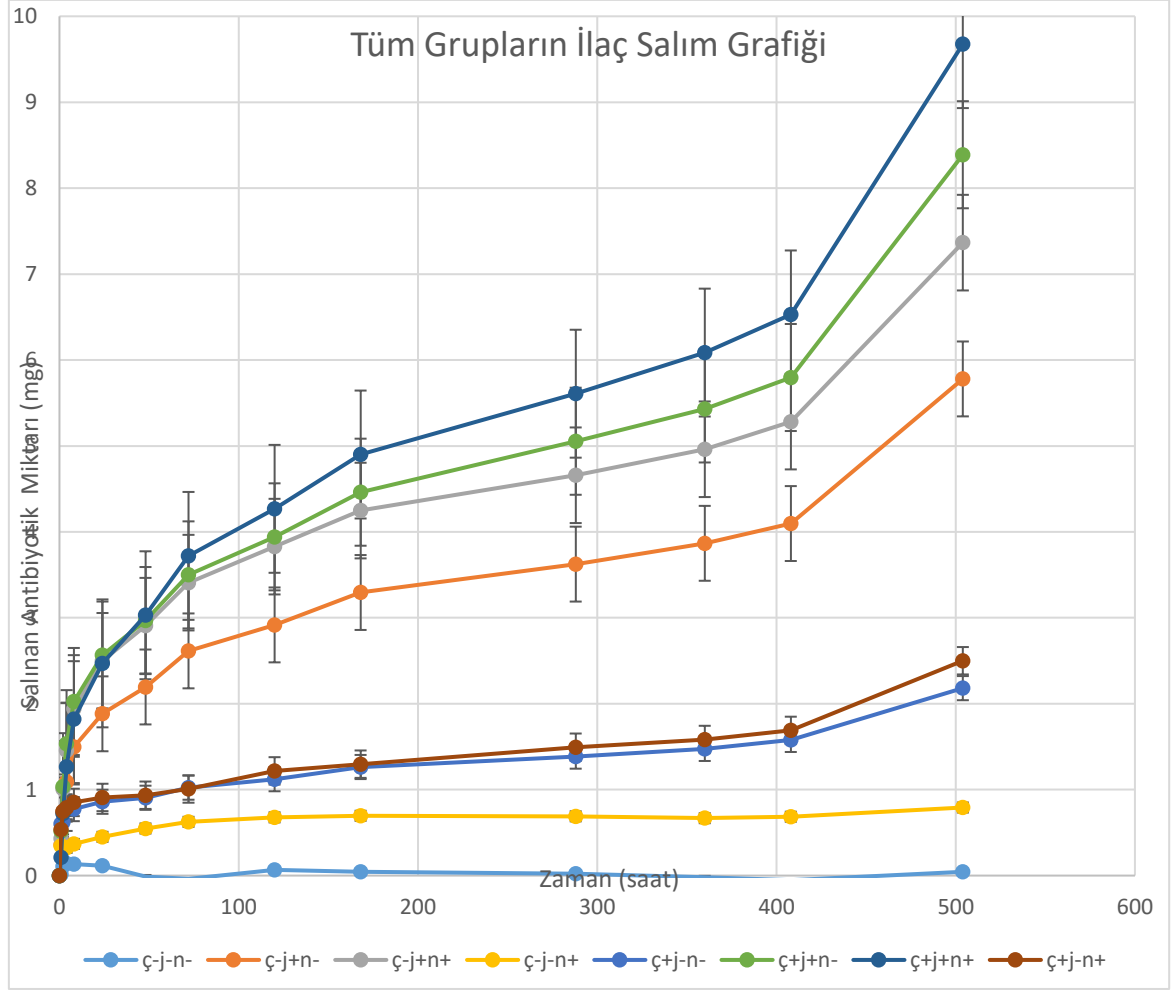
Şekil 4.25. Grup 2, 3, 6 ve 7'nin 120. saat ve 360. saat arasında kümülatif ilaç salımını gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

Şekil 4.26'daki grafikte seçili grupların 360. saat sonrası ilaç salım davranışlarındaki değişimler incelenmiştir. Salım grafiklerinin bu bölümünde ayrışmaların daha fazla ve belirgin olduğu görülmektedir. 400. saatte ilaç salım miktarlarının hala platoya erişmemiş olduğu ve salım miktarlarının yeniden artışa geçmiş olduğu izlenmiştir. Bu zaman zarfı boyunca en çoktan en aza (sarı renkten mavi renge doğru) ilaç salım miktarları 9,67 mg, 8,38 mg, 7,36 mg ve 5,77 mg olmuştur.



Şekil 4.26. Grup 2, 3, 6 ve 7'nin 360.saat ve 504. saat arasındaki kümülatif ilaç salımını gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

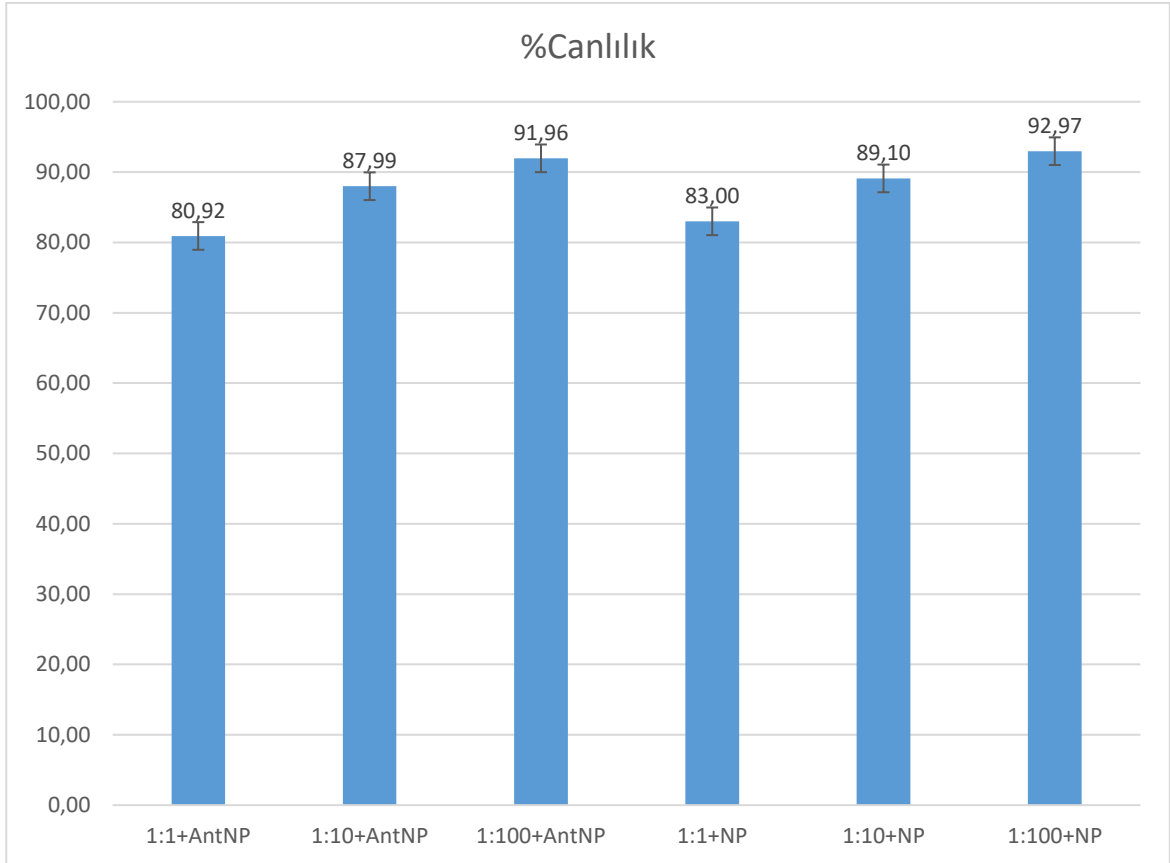
Şekil 4.27'deki grafikte tüm spacer gruplarının 504. saat boyunca kümülatif ilaç salım miktarları gösterilmiştir. Bu grafikte lacivert renk grup-7'yi, yeşil renk grup-6'yı, gri renk grup-3'ü, turuncu renk grup-2'yi, bordo renk grup-8'i, koyu mavi renk grup-5'i, sarı renk grup-2'yi ve açık mavi renk grup-1'i temsil etmektedir. Bu zaman zarfı boyunca, 9,67 mg olarak en çok ilacı tüm katmanlarda ilaç barındıran grup-7 (lacivert) salmıştır.



Şekil 4.27. Tüm grupların kümülatif ilaç salımlarını gösterir grafik (Ç: Çimento, J: Jel, N: Nanopartikül, +: Antibiyotik yüklü, -: Antibiyotiksiz).

4.6. Sitotoksikite Testleri (MTT)

Antibiyotik yüklü ve antibiyotiksiz olan nanopartiküller ile etkileştirilen hücrelerin canlılık oranları 24. saatin sonunda ölçülmüş ve antibiyotiğe (vankomisin) maruz bırakılan hücrelerin en düşük canlılık oranı %80,92 olarak tespit edilmiş ve belirgin bir sitotoksik etki saptanmamıştır.



Şekil 4.28. 24. Saatin sonunda hücrelerin canlılık yüzdeleri (1:1, 1:10, 1:100 :dilüsyon oranları, AntNP: Antibiyotikli Nanopartikül, NP:Antibiyotiksiz Nanopartikül)

5. Sonuç

Elde edilen sonuçlar iki açıdan değerlendirilebilir. Bunlardan ilki sonuçların, nanoteknolojik ve kontrollü ilaç salımı açısından değerlendirilmesi olacaktır. Kontrollü ilaç salımı açısından polimer jel içerisine hapsedilmiş nanopartiküller serbest nanopartiküllerden farklı hareket etmektedir. Örneğin, şekil 4.8, 504 saat boyunca sadece nanopartiküllerden salınan ilaç salım sonuçlarını göstermektedir. Şekil 4.14 ise antibiyotiksiz çimento, antibiyotiksiz jel ve antibiyotikli nanopartiküllerin 504. saat boyunca saldırdığı toplam ilaç miktarını göstermektedir. Bu iki grafik karşılaştırıldığında, şekil 4.8'de sadece nanopartiküllerden salınan ilaç miktarının, şekil 4.14'te sistem içinde sadece antibiyotik bulunduran nanopartiküllerin ilaç salım miktarından fazla olduğunu görmekteyiz. Yine bunlara ek olarak şekil 4.19 ve şekil 4.20'deki sonuçları değerlendirdiğimizde ki bu grafikler ortama nanopartiküllerden salınan ilaç miktarlarının katkısını göstermek için oluşturulmuştur, salım miktarlarının yine jel içine hapsedilmemiş nanopartiküllerden farklı olduğu görülmektedir.

Bu davranış temel kontrollü ilaç salım mantığındaki gibi salım bariyerlerinin artmasına dayanmaktadır. Buna ek olarak, nanopartikülden salınan ilaç miktarı çevresindeki jel ve yine çevresindeki çimentodan salınan ilaç miktarına bağlıdır. Bunun altında yatan sebep ise difüzyonun karşılıklı olarak dışardaki madde miktarına bağlı olması olabilir. Elde ettiğimiz sonuçlarda, salım sistemi dışındaki miktar arttıkça sistemdeki her bir bileşen yani jel, nanopartikül ve çimentonun salımı artmıştır.

İkinci olarak sonuçlarımızı tıp alanındaki uygulanabilirliği açısından incelemek gerekmektedir. Sıralı salım, farklı antibiyotikler, uzatılmış salım gibi tekniklerin kullanılabilmesi, özellikle primer artroplasti sonrası derin enfeksiyon barındıran vakalarda oldukça efektif bir kullanıma sahip olacaktır. Çünkü literatüre göre hâlihazırda kullanılan antibiyotik yüklü boşluk doldurucuların salım süreleri ve etkin zaman aralıklarının oldukça kısa olduğu kayıt edilmiştir [104, 105]. Bu makalelerde de [104, 105] belirtildiği gibi, antibiyotik salımı kemik çimentolarında ilk iki gün yeterli ve etkin dozda salınırken sonraki zamanlarda salım devam etsede istenilen miktarda bir salım görülememektedir. Ve ayrıca, çoklu dirençli enfeksiyon vakalarında bu sistemin her katmanını farklı antibiyotikler ile yükleyebilir ve çoklu

direnci kırabiliriz. Örneğin, gram negatif bakteriler için etkili olan aminoglikozidler sınıfından tobramisin antibiyotiğini kemik çimentosuna, yine aynı cins bir antibiyotiği (gentamisin vb.) jele ve gram pozitif bakteriler için kullanılan glikopeptid bir antibiyotiği de (vankomisin vb.) nanopartiküllere yükleyebiliriz. Bu durum hali hazırda ticari olarak piyasada satılan antibiyotikli kemik çimentolarında mevcut değildir.

Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde; bu tez çalışmasının birçok yeni çalışmaya öncül nitelikte olduğu ve tıp alanında önemli bir potansiyel taşıdığı düşünülmektedir. Çalışmada elde edilen boşluk doldurucuların antibakteriyel testleri yapılmamış olmasına rağmen, çalışmanın hem *in vitro* ilaç salım hem de biyouyumluluk sonuçları, bu yapının *in vivo* deneyler ve insan çalışmalarıyla test edildikten sonra, eklem revizyon ameliyatlarında kullanılmak üzere gelecek vaat eden bir ürüne dönüşebilir olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Mongillo, J. F., *Nanotechnology 101*. ABC-CLIO.**2007**.
2. Davies, J. C., Managing the Effects of Nanotechnology, Woodrow Wilson International Center for Scholars. *Science and Technology Innovation Program, Washington*.**2006**.
3. El Naschie, M. S., Nanotechnology for the developing world. *Chaos, Solitons & Fractals*. **30**(4): p. 769-773.**2006**.
4. *Nanomedicine*. Available from: <http://www.britishsocietynanomedicine.org/what-is-nanomedicine/>.
5. Dong, H., Gao, Y., Sinko, P. J., Wu, Z., Xu, J., and Jia, L., The nanotechnology race between China and the United States. *Nano Today*. **11**(1): p. 7-12.**2016**.
6. Bhushan, B., *Introduction to nanotechnology*, in *Springer handbook of nanotechnology*. Springer. p. 281.**2010**.
7. Poinern, G. E. J., *A laboratory course in nanoscience and nanotechnology*. CRC Press.**2014**.
8. Esteve-Turrillas, F. A. and Abad-Fuentes, A., Applications of quantum dots as probes in immunosensing of small-sized analytes. *Biosensors and Bioelectronics*. **41**: p. 12-29.**2013**.
9. Beloglazova, N., Speranskaya, E., De Saeger, S., Hens, Z., Abé, S., and Goryacheva, I. Y., Quantum dot based rapid tests for zearalenone detection. *Analytical and bioanalytical chemistry*. **403**(10): p. 3013-3024.**2012**.
10. Gajbhiye, V., Palanirajan, V. K., Tekade, R. K., and Jain, N. K., Dendrimers as therapeutic agents: a systematic review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **61**(8): p. 989-1003.**2009**.
11. Svenson, S. and Tomalia, D. A., Dendrimers in biomedical applications—reflections on the field. *Advanced drug delivery reviews*. **64**: p. 102-115.**2012**.
12. Mignani, S., El Kazzouli, S., Bousmina, M., and Majoral, J.-P., Expand classical drug administration ways by emerging routes using dendrimer drug delivery systems: a concise overview. *Advanced drug delivery reviews*. **65**(10): p. 1316-1330.**2013**.
13. Loo, C., Lin, A., Hirsch, L., Lee, M.-H., Barton, J., Halas, N., West, J., and Drezek, R., Nanoshell-enabled photonics-based imaging and therapy of cancer. *Technology in cancer research & treatment*. **3**(1): p. 33-40.**2004**.
14. Gobin, A. M., Lee, M. H., Halas, N. J., James, W. D., Drezek, R. A., and West, J. L., Near-infrared resonant nanoshells for combined optical imaging and photothermal cancer therapy. *Nano letters*. **7**(7): p. 1929-1934.**2007**.
15. Bardhan, R., Lal, S., Joshi, A., and Halas, N. J., Theranostic nanoshells: from probe design to imaging and treatment of cancer. *Accounts of chemical research*. **44**(10): p. 936-946.**2011**.
16. Harrison, B. S. and Atala, A., Carbon nanotube applications for tissue engineering. *Biomaterials*. **28**(2): p. 344-353.**2007**.
17. Sahoo, S. K. and Labhasetwar, V., Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug discovery today*. **8**(24): p. 1112-1120.**2003**.
18. Wiederrecht, G., *Handbook of nanofabrication*. Academic Press.**2010**.
19. Mansoori, G. A., *Principles of nanotechnology: molecular-based study of condensed matter in small systems*. World Scientific Publishing Co Inc.**2005**.

20. Sun, C., Lee, J. S., and Zhang, M., Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*. **60**(11): p. 1252-1265.**2008**.
21. Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S., and Dobson, J., Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*. **36**(13): p. R167.**2003**.
22. Freitas Jr, R., *Nanomedicine, Volume I: Basic Capabilities* (Landes Bioscience, Georgetown, TX). 1999.
23. Salamanca-Buentello, F., Persad, D. L., Martin, D. K., Daar, A. S., and Singer, P. A., Nanotechnology and the developing world. *PLoS Medicine*. **2**(5): p. e97.**2005**.
24. Tegart, G., Nanotechnology: The technology for the 21st Century. *APEC Center for Technology Foresight, Bangkok*.**2001**.
25. Mongillo, J. F., *Nanotechnology 101*. ABC-CLIO. 103.**2007**.
26. Engel, E., Michiardi, A., Navarro, M., Lacroix, D., and Planell, J. A., Nanotechnology in regenerative medicine: the materials side. *Trends in biotechnology*. **26**(1): p. 39-47.**2008**.
27. Langer, R. and Vacanti, J. P., May 14, 1993.". *Tissue Engineering.*" *Science*. **260**(5110): p. 920-926
28. Chung, S. and King, M. W., Design concepts and strategies for tissue engineering scaffolds. *Biotechnology and applied biochemistry*. **58**(6): p. 423-438.**2011**.
29. Carletti, E., Motta, A., and Migliaresi, C., Scaffolds for tissue engineering and 3D cell culture. *3D Cell Culture: Methods and Protocols*: p. 17-39.**2011**.
30. Zhang, L. and Webster, T. J., Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. *Nano Today*. **4**(1): p. 66-80.**2009**.
31. Giljohann, D. A. and Mirkin, C. A., Drivers of biodiagnostic development. *Nature*. **462**(7272): p. 461-464.**2009**.
32. Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J. M., Coco, R., Le Breton, A., and Préat, V., PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications. *Journal of controlled release*. **161**(2): p. 505-522.**2012**.
33. Hartono, S. B., Gu, W., Kleitz, F., Liu, J., He, L., Middelberg, A. P., Yu, C., Lu, G. Q., and Qiao, S. Z., Poly-L-lysine functionalized large pore cubic mesostructured silica nanoparticles as biocompatible carriers for gene delivery. *Acs Nano*. **6**(3): p. 2104-2117.**2012**.
34. Oh, J.-M., Park, C.-B., and Choy, J.-H., Intracellular drug delivery of layered double hydroxide nanoparticles. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. **11**(2): p. 1632-1635.**2011**.
35. Gu, W., Wu, C., Chen, J., and Xiao, Y., Nanotechnology in the targeted drug delivery for bone diseases and bone regeneration. *International journal of nanomedicine*. **8**: p. 2305.**2013**.
36. Jain, K. K., *Drug delivery systems*. Vol. 437. Springer Science & Business Media.**2008**.
37. Gün, M., *Aljinat-kitosan nanopartiküllerin kolşisin salımında kullanılmasının araştırılması*. 2013, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
38. Ravi Kumar, M. N. and Kumar Ş, N., Polymeric controlled drug-delivery systems: perspective issues and opportunities. *Drug development and industrial pharmacy*. **27**(1): p. 1-30.**2001**.

39. Puckett, S., Pareta, R., and Webster, T. J., Nano rough micron patterned titanium for directing osteoblast morphology and adhesion. *International journal of nanomedicine*. **3**(2): p. 229.**2008**.
40. Yao, C., Perla, V., McKenzie, J. L., Slamovich, E. B., and Webster, T. J., Anodized Ti and Ti6Al4V possessing nanometer surface features enhances osteoblast adhesion. *Journal of Biomedical Nanotechnology*. **1**(1): p. 68-73.**2005**.
41. Coleman, R., The use of bisphosphonates in cancer treatment. *Annals of the New York Academy of Sciences*. **1218**(1): p. 3-14.**2011**.
42. Pignatello, R., Cenni, E., Micieli, D., Fotia, C., Salerno, M., Granchi, D., Avnet, S., Sarpietro, M. G., Castelli, F., and Baldini, N., A novel biomaterial for osteotropic drug nanocarriers: synthesis and biocompatibility evaluation of a PLGA–ALE conjugate. *Nanomedicine*. **4**(2): p. 161-175.**2009**.
43. Kumar, N., Chaubal, M., Domb, A., and Majeti, R. K. N., Controlled release technology. *Encyclopedia of polymer science and technology*.**2003**.
44. Molema, G., Drug targeting: basic concepts and novel advances. *Drug Targeting: Organ-Specific Strategies, Volume 12*: p. 1-22.**2001**.
45. Siegel, R. A. and Rathbone, M. J., Overview of controlled release mechanisms, in *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*. Springer. p. 19-43.**2012**.
46. Brannon-Peppas, L., Polymers in controlled drug delivery. *Medical Plastics and Biomaterials Magazine*.**1997**.
47. Peppas, N. A., Hydrogels and drug delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. **2**(5): p. 531-537.**1997**.
48. Hamidi, M., Azadi, A., and Rafiei, P., Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*. **60**(15): p. 1638-1649.**2008**.
49. Huang, G., Gao, J., Hu, Z., John, J. V. S., Ponder, B. C., and Moro, D., Controlled drug release from hydrogel nanoparticle networks. *Journal of Controlled Release*. **94**(2): p. 303-311.**2004**.
50. Peppas, N. and Mikos, A., Preparation methods and structure of hydrogels. *Hydrogels in medicine and pharmacy*. **1**: p. 1-27.**1986**.
51. Wong, R. S. H. and Dodou, K., Effect of Drug Loading Method and Drug Physicochemical Properties on the Material and Drug Release Properties of Poly (Ethylene Oxide) Hydrogels for Transdermal Delivery. *Polymers*. **9**(7): p. 286.**2017**.
52. Gürsoy, A., Kontrollü Salım Sistemleri. *Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları, İstanbul*.**2002**.
53. Freiberg, S. and Zhu, X. X., Polymer microspheres for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*. **282**(1): p. 1-18.**2004**.
54. Miller, R. A., Brady, J. M., and Cutright, D. E., Degradation rates of oral resorbable implants (polylactates and polyglycolates): rate modification with changes in PLA/PGA copolymer ratios. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. **11**(5): p. 711-719.**1977**.
55. Jain, N. K., *Controlled and novel drug delivery*. CBS publishers & distributors.**1997**.
56. De Jong, W. H. and Borm, P. J. A., Drug delivery and nanoparticles: Applications and hazards. *International Journal of Nanomedicine*. **3**(2): p. 133-149.**2008**.

57. Corot, C., Robert, P., Idée, J.-M., and Port, M., Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Advanced drug delivery reviews*. **58**(14): p. 1471-1504.**2006**.
58. Kennedy, S., Hu, J., Kearney, C., Skaat, H., Gu, L., Gentili, M., Vandenburg, H., and Mooney, D., Sequential release of nanoparticle payloads from ultrasonically burstable capsules. *Biomaterials*. **75**: p. 91-101.**2016**.
59. Wang, Y.-Y., Zhang, D.-D., Kong, Y.-Y., Shao, L.-L., Zhang, F.-Y., Gao, Y., Mu, X., Wang, J., Li, H.-F., and Yu, S.-Q., CS/PAA@TPGS/PLGA nanoparticles with intracellular pH-sensitive sequential release for delivering drug to the nucleus of MDR cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. **145**: p. 716-727.**2016**.
60. Fan, L., Zhang, Y., Wang, F., Yang, Q., Tan, J., Grifantini, R., Wu, H., Song, C., and Jin, B., Multifunctional all-in-one drug delivery systems for tumor targeting and sequential release of three different anti-tumor drugs. *Biomaterials*. **76**: p. 399-407.**2016**.
61. Ruvinov, E. and Cohen, S., Alginate biomaterial for the treatment of myocardial infarction: progress, translational strategies, and clinical outlook: from ocean algae to patient bedside. *Advanced drug delivery reviews*. **96**: p. 54-76.**2016**.
62. Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., and Masoudpour-Behabadi, M., Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate polymers*. **137**: p. 360-374.**2016**.
63. Dalheim, M. Ø., Vanacker, J., Najmi, M. A., Aachmann, F. L., Strand, B. L., and Christensen, B. E., Efficient functionalization of alginate biomaterials. *Biomaterials*. **80**: p. 146-156.**2016**.
64. Khavari, A., Löfroth, J.-E., Bergenholtz, J., and Nydén, M., On the percolation of alginate/calcium systems at low concentrations. *Carbohydrate polymers*. **137**: p. 480-487.**2016**.
65. Tavassoli-Kafrani, E., Shekarchizadeh, H., and Masoudpour-Behabadi, M., Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*. **137**(Supplement C): p. 360-374.**2016**.
66. Dalheim, M. Ø., Vanacker, J., Najmi, M. A., Aachmann, F. L., Strand, B. L., and Christensen, B. E., Efficient functionalization of alginate biomaterials. *Biomaterials*. **80**(Supplement C): p. 146-156.**2016**.
- 67.
68. Kanatt, S. R., Chander, R., and Sharma, A., Effect of irradiated chitosan on the rancidity of radiation-processed lamb meat. *International Journal of Food Science & Technology*. **39**(9): p. 997-1003.**2004**.
69. Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., and Park, H. J., Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*. **144**(1): p. 51-63.**2010**.
70. Elgadir, M. A., Uddin, M. S., Ferdosh, S., Adam, A., Chowdhury, A. J. K., and Sarker, M. Z. I., Impact of chitosan composites and chitosan nanoparticle composites on various drug delivery systems: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*. **23**(4): p. 619-629.**2015**.
71. Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S. V., and Tamura, H., Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials - A short review. *Carbohydrate Polymers*. **82**(2): p. 227-232.**2010**.
72. Kalia, S. and Avérous, L., *Biopolymers: biomedical and environmental applications*. Vol. 70. John Wiley & Sons.**2011**.

73. 2017; Available from: <http://www.boyutft.com/biostat.php>.
74. McElfresh, E., *History of arthroplasty*, in *Total joint replacement*. WB Saunders, Philadelphia. p. 3-18.**1991**.
75. Shankar, N. S., Minimally invasive technique in total knee arthroplasty - History, tips, tricks and pitfalls. *Injury*. **37**(Supplement 5): p. S25-S30.**2006**.
76. Frank, R. M., Forsythe, B., and Provencher, M. T., *Case Competencies in Orthopaedic Surgery E-Book*. 2016: Elsevier Health Sciences. 400.**2016**.
77. Cui, Q., Mihalko, W. M., Shields, J. S., Ries, M., and Saleh, K. J., Antibiotic-impregnated cement spacers for the treatment of infection associated with total hip or knee arthroplasty. *JBJS*. **89**(4): p. 871-882.**2007**.
78. Ceyhan, E., Gursoy, S., Akkaya, M., Ugurlu, M., Koksall, I., and Bozkurt, M., Toward the Turkish National Registry System: A Prevalence Study of Total Knee Arthroplasty in Turkey. *The Journal of arthroplasty*. **31**(9): p. 1878-1884.**2016**.
79. Fehring, T. K. and Griffin, W. L., Revision of failed cementless total knee implants with cement. *Clinical orthopaedics and related research*. **356**: p. 34-38.**1998**.
80. Harkess, J. W. and Crockarell Jr, J. R., Arthroplasty of the hip. *Campbell's Operative Orthopaedics E-Book*: p. 158.**2012**.
81. Kurtz, S., Mowat, F., Ong, K., Chan, N., Lau, E., and Halpern, M., Prevalence of primary and revision total hip and knee arthroplasty in the United States from 1990 through 2002. *JBJS*. **87**(7): p. 1487-1497.**2005**.
82. Hofmann, A. A., Goldberg, T., Tanner, A. M., and Kurtin, S. M., Treatment of infected total knee arthroplasty using an articulating spacer: 2-to 12-year experience. *Clinical orthopaedics and related research*. **430**: p. 125-131.**2005**.
83. Bannister, G., Infections in hip and knee prostheses. *Curr Opin Orthop*. **2**: p. 65-68.**1991**.
84. Macdonald, D., (iii) The infected joint replacement: Prevention, diagnosis and treatment. *Current Orthopaedics*. **9**(1): p. 21-27.**1995**.
85. ÇETİN, M.,
86. Costerton, J. W., Stewart, P. S., and Greenberg, E. P., Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. **284**(5418): p. 1318-1322.**1999**.
87. Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Di Donato, A., and Parrilli, M., The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydrate research*. **341**(14): p. 2456-2461.**2006**.
88. Donlan, R. M., Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*. **8**(9): p. 881.**2002**.
89. Simões, M., Simões, L. C., and Vieira, M. J., A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Science and Technology*. **43**(4): p. 573-583.**2010**.
90. Monroe, D., Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms. *PLoS biology*. **5**(11): p. e307.**2007**.
91. Rosenberg, M. and Kjelleberg, S., *Hydrophobic interactions: role in bacterial adhesion*, in *Advances in microbial ecology*. Springer. p. 353-393.**1986**.
92. Anderl, J. N., Zahller, J., Roe, F., and Stewart, P. S., Role of nutrient limitation and stationary-phase existence in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance

- to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. **47**(4): p. 1251-1256.**2003**.
93. HIZEL, K., DİRENÇLİ GRAM POZİTİF KOK İNFEKSİYONLARININ TEDAVİ VE YÖNETİMİ.
 94. Goksan, S. and Freeman, M., One-stage reimplantation for infected total knee arthroplasty. *Bone & Joint Journal*. **74**(1): p. 78-82.**1992**.
 95. Hanssen, A. D., Rand, J. A., and Osmon, D. R., Treatment of the infected total knee arthroplasty with insertion of another prosthesis: The effect of antibiotic-impregnated bone cement. *Clinical orthopaedics and related research*. **309**: p. 44-55.**1994**.
 96. Gehrke, T. and Kendoff, D., Peri-prosthetic hip infections: in favour of one-stage. *Hip International*.**2012**.
 97. Chen, S.-Y., Hu, C.-C., Chen, C.-C., Chang, Y.-H., and Hsieh, P.-H., Two-stage revision arthroplasty for periprosthetic hip infection: mean follow-up of ten years. *BioMed research international*. **2015**.**2015**.
 98. Leonard, H. A., Liddle, A. D., Burke, Ó., Murray, D. W., and Pandit, H., Single- or two-stage revision for infected total hip arthroplasty? A systematic review of the literature. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. **472**(3): p. 1036-1042.**2014**.
 99. Cooper, H. and Della Valle, C., The two-stage standard in revision total hip replacement. *Bone Joint J*. **95**(11 Supple A): p. 84-87.**2013**.
 100. BİLGEN, Ö. F., DURAK, K., ATICI, T., and Görükle, B., TOTAL DİZ PROTEZİ REVİZYONU ERKEN DÖNEM SONUÇLARI.
 101. Mortazavi, S. J., Vegari, D., Ho, A., Zmistowski, B., and Parvizi, J., Two-stage exchange arthroplasty for infected total knee arthroplasty: predictors of failure. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. **469**(11): p. 3049.**2011**.
 102. Kim, Y. S., Bae, K. C., Cho, C. H., Lee, K. J., Sohn, E. S., and Kim, B. S., Two-stage revision using a modified articulating spacer in infected total knee arthroplasty. *Knee surgery & related research*. **25**(4): p. 180.**2013**.
 103. Tetsworth, K., Infection after total knee arthroplasty: evaluation and treatment. *Current opinion in orthopaedics*. **14**(1): p. 45-51.**2003**.
 104. Hinarejos, P., Guirro, P., Puig-Verdie, L., Torres-Claramunt, R., Leal-Blanquet, J., Sanchez-Soler, J., and Monllau, J. C., Use of antibiotic-loaded cement in total knee arthroplasty. *World Journal of Orthopedics*. **6**(11): p. 877-885.**2015**.
 105. Bistolfi, A., Massazza, G., Verné, E., Massè, A., Deledda, D., Ferraris, S., Miola, M., Galetto, F., and Crova, M., Antibiotic-loaded cement in orthopedic surgery: a review. *ISRN orthopedics*. **2011**.**2011**.
 106. Hinarejos, P., Guirro, P., Puig-Verdie, L., Torres-Claramunt, R., Leal-Blanquet, J., Sanchez-Soler, J., and Monllau, J. C., Use of antibiotic-loaded cement in total knee arthroplasty. *World journal of orthopedics*. **6**(11): p. 877.**2015**.
 107. SAÇAK, P. D. M., *Polimer Kimyasına Giriş*.**2002**.
 108. Steinhaus, T., *Evaluation of the thermophysical properties of poly (methylmethacrylate): A reference material for the development of a flammability test for micro-gravity environments*. 1999, The University of Maryland.
 109. Stickler, M. and Rhein, T., *Polymethacrylates, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. 1992, New York.

110. Slone, R. V., Methacrylic ester polymers. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*.**2005**.
111. *Hacettepe Üniversitesi Polimer Kimyası Laboratuvar Föyü*.**2008**.
112. Puska, M., Moritz, N., Aho, A. J., and Vallittu, P. K., Morphological and mechanical characterization of composite bone cement containing polymethylmethacrylate matrix functionalized with trimethoxysilyl and bioactive glass. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. **59**: p. 11-20.**2016**.
113. Webb, J. and Spencer, R., The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *Bone & Joint Journal*. **89**(7): p. 851-857.**2007**.
114. Hope, P., Kristinsson, K. G., Norman, P., and Elson, R., Deep infection of cemented total hip arthroplasties caused by coagulase-negative staphylococci. *Bone & Joint Journal*. **71**(5): p. 851-855.**1989**.
115. Relhan, N., Albini, T. A., Pathengay, A., Kuriyan, A. E., Miller, D., and Flynn, H. W., Endophthalmitis caused by Gram-positive organisms with reduced vancomycin susceptibility: literature review and options for treatment. *British Journal of Ophthalmology*. **100**(4): p. 446-452.**2016**.
116. Esmaeili, A. and Ghobadianpour, S., Vancomycin loaded superparamagnetic MnFe₂O₄ nanoparticles coated with PEGylated chitosan to enhance antibacterial activity. *International journal of pharmaceutics*. **501**(1): p. 326-330.**2016**.
117. Levine, D. P., Vancomycin: a history. *Clinical Infectious Diseases*. **42**(Supplement_1): p. S5-S12.**2006**.
118. *Vancomycin Injection*. 2017; Available from: <https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a601167.html>.
119. Patrick 1. Faustino, P. D., VANCOMYCIN SOLUBILITY STUDY.
120. *Vancomycin*. 2017; Available from: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.14253.html>.
121. *Vancomycin*. Available from: <https://en.wikipedia.org/index.php?q=aHR0cHM6Ly9lbi53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvVmFuY29teWNpbiNjaXRlX25vdGUtNTI>.
122. Das, R. K., Kasoju, N., and Bora, U., Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. **6**(1): p. 153-160.**2010**.
123. Prof.Dr. Ender ERDİK, M. O., Nadire YÜKSEKİŞİK, Atilla ÖKTEMER, Tarık PEKEL, *DENEL ORGANİK KİMYA*. Vol. 6.
124. TOKUR, O. and AKSOY, A., In Vitro Sitotoksikite Testleri.**2017**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Mesut KAPLAN

Doğum Yeri: Samsun-HAVZA

Medeni Hali: Bekar

E-posta: mesut.kaplan08@gmail.com

Adresi: General Zeki Doğan Mah. Dereboyu Cad. 1502. Sok 1/3 Ankara-MAMAK

Eğitim

Lisans:

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi- Nanoteknoloji ve Nanotıp ABD (2015-2018)

Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi- Kas İskelet Sistemi Ve Regeneratif Tıp ABD (2016-)

Doktora:

Yabancı Dil Düzeyi: İngilizce- YDS/YÖKDİL-83.75

İş Deneyimi: TÜBİTAK 1003 projesi kapsamında Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Kıkırdak Doku Araştırma Laboratuvarında iki yıl kimyager olarak çalıştım.

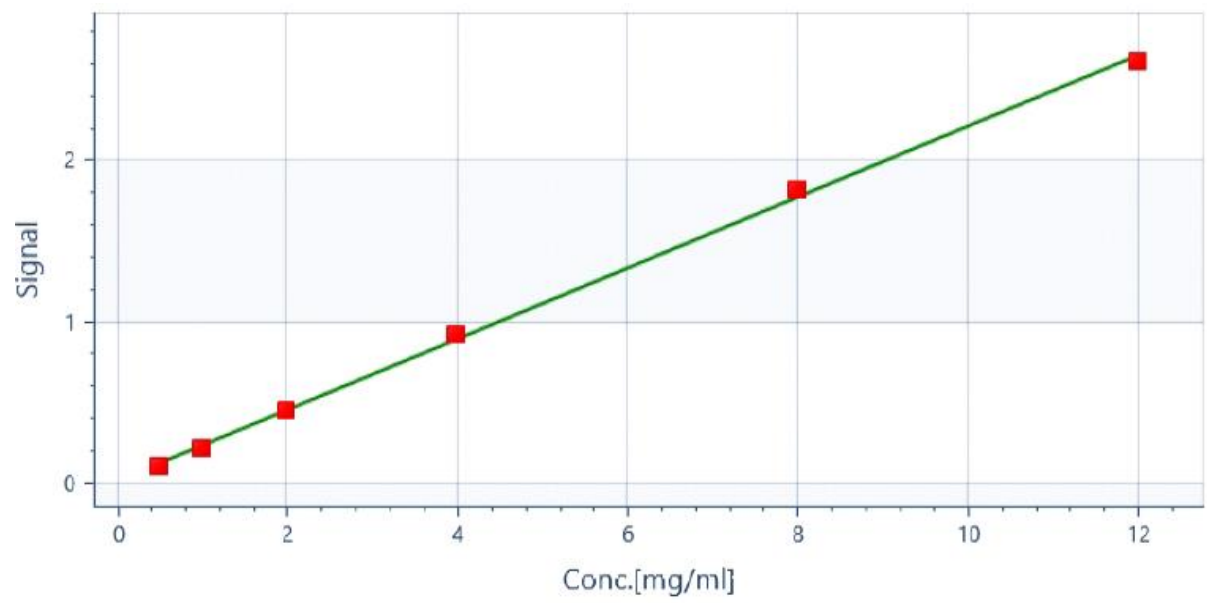
Deneyim Alanları: Nanoteknoloji, kimya, biyomedikal, biyoteknoloji.

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçeler:

Tezden Üretilmiş Yayınlar:

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

EKLER



$$y = 0,220009x + 0,018626$$
$$R^2: 0,999$$



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
NANOTEKNOLOJİ VE NANOTİP ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 15/01/2018

Tez Başlığı / Konusu: **İKİ AŞAMALI TOTAL EKLEM PROTEZİ AMELİYATLARI İÇİN ANTİBİYOTİK YÜKLÜ
BOŞLUK DOLDURUCULARIN GELİŞTİRİLMESİ**

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 78 sayfalık kısmına ilişkin, 13/01/2018 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç
- 3- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve imza

Adı Soyadı: Mesut KAPLAN

Öğrenci No: N14228129

Anabilim Dalı: Nanoteknoloji ve Nanotıp ABD

Programı: Nanoteknoloji ve Nanotıp

Statüsü: ☒ Y.Lisans ☐ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Doç. Dr. Zeynep GÜVEN

(Unvan, Ad Soyad, İmza)