

**T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SENTETİK TİCARİ DOKU YAPIŞTIRICILARININ SİTOTOKSİK VE  
GENOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMALI ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Canbolat GÜRSES**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Burhan ATEŞ**

**HAZİRAN 2021**

**T.C**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SENTETİK TİCARİ DOKU YAPIŞTIRICILARININ SİTOTOKSİK VE  
GENOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMALI ARAŞTIRILMASI**

**DOKTORA TEZİ**

**Canbolat GÜRSES**  
**23614130212**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Burhan ATEŞ**

**HAZİRAN 2021**

## TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Tez çalışmalarım boyunca bana her türlü maddi ve manevi desteği sağlayan, bilgi ve deneyimleriyle akademik anlamda her zaman başka ufuklar açıp bakış açımı tazeleyerek sabırlı yardımlarıyla yeni deneysel çalışmalara imza atmamı sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Burhan ATEŞ'e,

Deneysel çalışmalarım sırasında beni engin bilgi ve deneyimleriyle aydınlatarak çalışmalarına katkıda bulunan, yürekten cesaretlendirerek hem akademik anlamda hem de hayatta izlemem gereken yollar hakkında benimle düşüncelerini sürekli paylaşan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE'ye,

Bilimsel yolculuğum süresince yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım İmren ÖZCAN'a ve değerli öğrencim Ali KURUÇAY'a,

Tezin uygulama aşamasında FDK-2018/1355 proje numarası ile bu doktora tezimi desteklediği için İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Tüm hayatım boyunca her konuda desteklerini gördüğüm, bugünlere gelmemi sağlayan canım annem ve canım kardeşime,

sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

## ONUR SÖZÜ

Doktora tezi olarak sunduğum “Sentetik Ticari Doku Yapıştırıcılarının Sitotoksik ve Genotoksik Özelliklerinin Karşılaştırılmalı Araştırılması” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Canbolat GÜRSES



## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ .....	i
ONUR SÖZÜ .....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR .....	viii
ÖZET.....	x
ABSTRACT .....	xi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
2.1 Doku Yapıştırıcıları .....	3
2.2 Doku Yapıştırıcı Çeşitleri .....	4
2.2.1 Biyolojik temelli doku yapıştırıcıları.....	4
2.2.1.1 Fibrin temelli doku yapıştırıcıları.....	4
2.2.1.2 Jelatin temelli doku yapıştırıcıları .....	6
2.2.1.3 Albumin temelli doku yapıştırıcıları .....	7
2.2.1.4 Polisakkarit temelli doku yapıştırıcıları.....	8
2.2.2 Sentetik ve yarı sentetik temelli doku yapıştırıcıları .....	11
2.2.2.1 Siyanoakrilat temelli doku yapıştırıcıları .....	11
2.2.2.2 Polietilen glikol temelli doku yapıştırıcıları.....	12
2.2.2.3 Poliester temelli doku yapıştırıcıları.....	14
2.2.2.4 Poliüretan temelli doku yapıştırıcıları .....	15
2.3 Sitotoksisite ve Genotoksisite Testleri .....	17
2.3.1 MTT Testi.....	19
2.3.2 Komet Testi (Tek Hücre Jel Elektroforezi) .....	19
2.4 Tezin Amacı .....	21
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>22</b>
3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	22
3.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar .....	23
3.3 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Hazırlanması .....	23
3.4 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Yapısal ve Yüzeysel Özelliklerinin Karakterizasyonu .....	24
3.5 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Termal Karakterizasyonu .....	25
3.6 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Mekanik Adezyon Testi .....	26
3.7 <i>In Vitro</i> Hücre Kültür Sisteminde Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Özelliklerinin Belirlenmesi .....	28
3.8 <i>In Vitro</i> Hücre Kültür Sisteminde Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Genotoksisite Özelliklerinin Belirlenmesi .....	29
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>32</b>
4.1 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Yapısal ve Termal Karakterizasyonu .....	32
4.1.1 CMT Yapılarının Karakterizasyonu .....	32
4.1.2 DYC Yapılarının Karakterizasyonu .....	35
4.1.3 LEU Yapılarının Karakterizasyonu .....	37
4.1.4 PU-A Yapılarının Karakterizasyonu.....	41
4.2 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları .....	44
4.2.1 CMT Yapılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları .....	44
4.2.2 DYC Yapılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları.....	45
4.2.3 LEU Yapılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları .....	46
4.2.4 PU-A Yapılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları.....	47

4.3 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Yüzeysel Özelliklerinin Karakterizasyonu .....	48
4.3.1 CMT'nin Adezyon Testi Öncesi ve Sonrası SEM ve AFM Görüntüleri.....	48
4.3.2 DYC'nin Adezyon Testi Öncesi ve Sonrası SEM ve AFM Görüntüleri.....	53
4.3.3 LEU'nun Adezyon Testi Öncesi ve Sonrası SEM ve AFM Görüntüleri.....	58
4.3.4 PU-A'nın Adezyon Testi Öncesi ve Sonrası SEM ve AFM Görüntüleri.....	62
4.4 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının <i>İn Vitro</i> Hücre Kültür Sisteminde Sitotoksosite Özelliklerinin Belirlenmesi .....	67
4.5 Sentetik Doku Yapıştırıcılarının <i>İn Vitro</i> Hücre Kültür Sisteminde Genotoksosite Özelliklerinin Belirlenmesi .....	73
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>82</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>89</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>101</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.6.1	: Mekanik adezyon test numunelerinin şematik yapısı ve çekme test yönü. (PMMA yapılı kemik çimentosu CMT, DYC ve siyanoakrilat temelli LEU yapıştırıcılar için alüminyum test numunesi) .....	27
Şekil 3.6.2	: Mekanik adezyon test numunelerinin şematik yapısı ve çekme test yönü. (UV kürlenabilir poliüretan akrilat PU-A yapısı için cam test numunesi) .....	27
Şekil 4.1.1.1	: CMT'ye ait FTIR spektrumu .....	32
Şekil 4.1.1.2	: CMT'ye ait TGA ve DTA termogramları.....	33
Şekil 4.1.1.3	: CMT'ye ait DSC termogramı .....	34
Şekil 4.1.1.4	: CMT'ye ait sıvı temas açısı görüntüsü .....	34
Şekil 4.1.2.1	: DYC'ye ait FTIR spektrumu .....	35
Şekil 4.1.2.2	: DYC'ye ait TGA ve DTA termogramları .....	36
Şekil 4.1.2.3	: DYC'ye ait DSC termogramı.....	37
Şekil 4.1.2.4	: DYC'ye ait sıvı temas açısı görüntüsü.....	37
Şekil 4.1.3.1	: LEU'ya ait FTIR spektrumu .....	38
Şekil 4.1.3.2	: LEU'ya ait TGA ve DTA termogramları.....	39
Şekil 4.1.3.3	: LEU'ya ait DSC termogramı .....	40
Şekil 4.1.3.4	: LEU'ya ait sıvı temas açısı görüntüsü .....	40
Şekil 4.1.4.1	: PU-A'ya ait FTIR spektrumu.....	41
Şekil 4.1.4.2	: PU-A'ya ait TGA ve DTA termogramları .....	42
Şekil 4.1.4.3	: PU-A'ya ait DSC termogramı.....	43
Şekil 4.1.4.4	: PU-A'ya ait sıvı temas açısı görüntüsü.....	43
Şekil 4.2.1	: CMT numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b) sonrası (c) test numunesi görüntüsü .....	44
Şekil 4.2.2	: DYC numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b) sonrası (c) test numunesi görüntüsü .....	45
Şekil 4.2.3	: LEU numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b) sonrası (c) test numunesi görüntüsü .....	46
Şekil 4.2.4	: PU-A numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b) sonrası (c) test numunesi görüntüsü .....	47
Şekil 4.3.1.1	: CMT numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü .....	49
Şekil 4.3.1.2	: CMT numunesi adezyon testi sonrası SEM görüntüsü.....	49
Şekil 4.3.1.3	: CMT numunesi adezyon testi öncesi AFM görüntüleri.....	50
Şekil 4.3.1.4	: CMT numunesi adezyon testi sonrası AFM görüntüleri.....	51
Şekil 4.3.1.5	: CMT numunesi adezyon testi öncesi ve adezyon testi sonrası yüzey pürüzlülüğü .....	52
Şekil 4.3.2.1	: DYC numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü .....	53
Şekil 4.3.2.2	: DYC numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü .....	54
Şekil 4.3.2.3	: DYC numunesi adezyon testi sonrası SEM görüntüsü .....	54
Şekil 4.3.2.4	: DYC numunesi adezyon testi öncesi AFM görüntüleri .....	55
Şekil 4.3.2.5	: DYC numunesi adezyon testi sonrası AFM görüntüleri.....	56
Şekil 4.3.2.6	: DYC numunesi adezyon testi öncesi ve adezyon testi sonrası yüzey pürüzlülüğü .....	57
Şekil 4.3.3.1	: LEU numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü.....	58
Şekil 4.3.3.2	: LEU numunesi adezyon testi sonrası SEM görüntüsü.....	59
Şekil 4.3.3.3	: LEU numunesi adezyon testi öncesi AFM görüntüleri.....	60
Şekil 4.3.3.4	: LEU numunesi adezyon testi sonrası AFM görüntüleri.....	61

Şekil 4.3.3.5: LEU numunesi adezyon testi öncesi ve adezyon testi sonrası yüzey pürüzlülüğü.....	62
Şekil 4.3.4.1 : PU-A numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü .....	63
Şekil 4.3.4.2 : PU-A numunesi adezyon testi sonrası SEM görüntüsü .....	63
Şekil 4.3.4.3 : PU-A numunesi adezyon testi öncesi AFM görüntüleri .....	64
Şekil 4.3.4.4 : PU-A numunesi adezyon testi sonrası AFM görüntüleri.....	65
Şekil 4.3.4.5: PU-A numunesi adezyon testi öncesi ve adezyon testi sonrası yüzey pürüzlülüğü.....	66
Şekil 4.4.1 : Doku yapıştırıcılarının L-929 hücre hattına ait 24 ve 48 saatlik sitotoksosite değerleri.....	67
Şekil 4.4.1.1 : Doku yapıştırıcılarının L-929 hücre hattına ait 24 saatlik hücre canlılık görüntüleri .....	68
Şekil 4.4.1.2 : Doku yapıştırıcılarının L-929 hücre hattına ait 48 saatlik hücre canlılık görüntüleri .....	69
Şekil 4.4.2 : Doku yapıştırıcılarının HepG2 hücre hattına ait 24 ve 48 saatlik sitotoksosite değerleri .....	70
Şekil 4.4.2.1 : Doku yapıştırıcılarının HepG2 hücre hattına ait 24 saatlik hücre canlılık görüntüleri .....	71
Şekil 4.4.2.2 : Doku yapıştırıcılarının HepG2 hücre hattına ait 48 saatlik hücre canlılık görüntüleri .....	72
Şekil 4.5.1 : Sentetik doku yapıştırıcıları ve kontrollerin L-929 hücre hattı üzerindeki komet görüntüleri .....	74
Şekil 4.5.2 : Grupların L-929 hücre hattı üzerindeki Kuyruk DNA (%) ve Baş DNA (%) karşılaştırması.....	76
Şekil 4.5.3 : Grupların L-929 hücre hattı üzerindeki Kuyruk Uzunluğu (Piksel) parametresine ait kutu-grafiği gösterimi .....	77
Şekil 4.5.4 : Sentetik doku yapıştırıcıları ve kontrollerin HepG2 hücre hattı üzerindeki komet görüntüleri .....	78
Şekil 4.5.5 : Grupların HepG2 hücre hattı üzerindeki Kuyruk DNA (%) ve Baş DNA (%) karşılaştırması.....	80
Şekil 4.5.6 : Grupların HepG2 hücre hattı üzerindeki Kuyruk Uzunluğu (Piksel) parametresine ait kutu-grafiği gösterimi .....	81

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.2.1 : Protein temelli ticari doku yapıştırıcıları .....	8
Çizelge 2.2.2 : Sentetik temelli ticari doku yapıştırıcıları.....	15
Çizelge 3.1 : Hazırlanan sentetik doku yapıştırıcılarının içerikleri ve kullanım alanları.....	22
Çizelge 4.2 : Farklı yapı ve özelliklerdeki doku yapıştırıcılarının mekanik özellikleri.....	8
Çizelge 4.5.1 : Doku yapıştırıcıları ve kontrollerin L-929 hücre hattı üzerindeki farklı genotoksisite parametrelerine ait değerler. ....	75
Çizelge 4.5.2 : Doku yapıştırıcıları ve kontrollerin HepG2 hücre hattı üzerindeki farklı genotoksisite parametrelerine ait değerler .....	79



## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

- DMSO** : Dimetil Sülfoksit
- DSC** : Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
- DTA** : Diferansiyel Termal Analiz
- FTIR** : Fourier Transform Infrared Spektroskopi
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Hidrojen Peroksit
- PBS** : Fosfat Tampon Çözeltisi
- CMT** : Cement (Kemik Çimentosu)
- DYC** : Dycal
- LEU** : Leukosan
- PU-A** : Poliüretan Akrilat
- SEM** : Taramalı Elektron Mikroskopi
- TGA** : Termogravimetrik Analiz
- PEG** : Polietilen Glikol
- PI** : Propidyum İyodür
- EtBr** : Etidyum Bromür
- DAPI** : 4',6-diamidino-2-fenilindol
- MTT** : 3-[4,5-Dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür
- FDA** : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
- AFM** : Atomik Kuvvet Mikroskopi
- LDH** : Laktat Dehidrogenaz
- DMEM** : Dulbecco's Modified Eagle Medium
- FBS** : Fetal Bovine Serum
- LMA** : Düşük Erime Dereceli Agaroz
- HMA** : Yüksek Erime Dereceli Agaroz
- PMMA** : Polimetil Metakrilat

## ÖZET

Doktora Tezi

### SENTETİK TİCARİ DOKU YAPIŞTIRICILARININ SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ÖZELLİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMALI ARAŞTIRILMASI

Canbolat GÜRSES

İnönü Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

106 + XI sayfa

2021

Danışman: Prof. Dr. Burhan ATEŞ

Günümüzde biyoyapıştırıcılar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Günlük yaşamda ve cerrahide oldukça yaygın kullanılan farklı kimyasal temellere dayalı sentetik doku yapıştırıcılarının sitotoksik ve özellikle de genotoksik özelliklerinin karşılaştırılmalı olarak incelendiği ayrıntılı çalışma mevcut değildir. Bu nedenle sitotoksik ve genotoksik potansiyellerini içeren güvenilirliklerinin araştırılması kullanım sonrası meydana gelecek zararlı etkilerin ortaya çıkarılmasında hayati öneme sahiptir.

Bu doktora tezi kapsamında günümüzde yaygın olarak kullanılan sentetik temelli 4 farklı kimyasal temele dayanan ticari doku yapıştırıcıları olan CMT, DYC, LEU ve ayrıca laboratuvarımızda sentezlediğimiz PU-A'nın sitotoksik ve genotoksik özellikleri *in vitro* olarak incelenmiştir. Elde edilen adezyon testi sonucundan CMT, DYC, LEU ve PU-A doku yapıştırıcılarının modül değerleri için sırasıyla  $1.659 \pm 0.594$ ,  $2.580 \pm 1.709$ ,  $2.402 \pm 0.720$  ve  $2.489 \pm 1.246$  kN/mm<sup>2</sup> bulunmuştur. L-929 hücreleri üzerindeki sitotoksisite test sonuçlarına göre, CMT, DYC, LEU ve PU-A doku yapıştırıcıları kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 24 saat için  $96.05 \pm 9.89$ ,  $57.2 \pm 5.69$ ,  $95.11 \pm 4.95$  ve  $100.34 \pm 4.47$  olmak üzere ve ayrıca 48 saat içinse  $80.4 \pm 3.75$ ,  $0 \pm 0$ ,  $69.66 \pm 11.39$  ve  $63.25 \pm 11.5$  yüzde hücre canlılığı değerlerine sahiptirler. HepG2 hücreleri üzerindeki sitotoksisite test sonuçlarına göre, CMT, DYC, LEU ve PU-A doku yapıştırıcıları kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 24 saat için  $72.66 \pm 9.67$ ,  $56.42 \pm 6.36$ ,  $103.15 \pm 11.14$  ve  $95.61 \pm 11.74$  olmak üzere ve ayrıca 48 saat içinse  $81.02 \pm 11.19$ ,  $0 \pm 0$ ,  $66.57 \pm 8.69$  ve  $70.53 \pm 5.58$  yüzde hücre canlılığı değerlerine sahiptirler. Genotoksisite deneyi olarak yapılan komet testinde Kuyruk DNA (%) bakımında, L-929 hücreleri üzerinde (-) Kontrol, (+) Kontrol, CMT, DYC, LEU ve PU-A gruplarına ait değerler sırasıyla 6.97, 23.52, 30.5, 22.95, 19.06 ve 29.18'dir. Öte yandan, Kuyruk DNA (%) bakımında, HepG2 hücreleri üzerinde (-) Kontrol, (+) Kontrol, CMT, DYC, LEU ve PU-A gruplarına ait değerler sırasıyla 11.72, 31.88, 20.89, 28.47, 38.83 ve 37.76'dır.

**Anahtar Kelimeler:** Ticari Doku Yapıştırıcıları, Sitotoksisite ve Genotoksisite Testleri

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### THE COMPARATIVE INVESTIGATION OF CYTOTOXIC AND GENOTOXIC PROPERTIES OF SYNTHETIC COMMERCIAL TISSUE ADHESIVES

Canbolat GÜRSES

Inonu University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

106 + XI pages

2021

Supervisor: Prof. Dr. Burhan ATEŞ

Today, bioadhesives are widely used. There is no detailed study of cytotoxic and especially genotoxic properties of synthetic tissue adhesives based on different chemical bases widely used in daily life and in surgery. Therefore, investigations of their safety, including cytotoxic and genotoxic potentials, have a vital prospect for revealing the harmful effects after their use.

Within the scope of this doctoral thesis, the cytotoxic and genotoxic properties of CMT, DYC, LEU, which are commonly used synthetic-based commercial tissue adhesives based on 4 different chemical bases, as well as PU-A, which we synthesized in our laboratory, were examined *in vitro*. The modulus values of CMT, DYC, LEU, and PU-A tissue adhesives were found  $1.659 \pm 0.594$ ,  $2.580 \pm 1.709$ ,  $2.402 \pm 0.720$ , and  $2.489 \pm 1.246$  kN/mm<sup>2</sup>, respectively. According to the cytotoxicity test results on L-929 cells, CMT, DYC, LEU, and PU-A tissue adhesives compared to the control group were  $96.05 \pm 9.89$ ,  $57.2 \pm 5.69$ ,  $95.11 \pm 4.95$ , and  $100.34 \pm 4.47$  for 24 hours, and they also have  $80.4 \pm 3.75$ ,  $0 \pm 0$ ,  $69.66 \pm 11.39$ , and  $63.25 \pm 11.5$  percent cell viability values for 48 hours, respectively. For the cytotoxicity test results on HepG2 cells, CMT, DYC, LEU, and PU-A tissue adhesives compared to the control group were  $72.66 \pm 9.67$ ,  $56.42 \pm 6.36$ ,  $103.15 \pm 11.14$ , and  $95.61 \pm 11.74$  for 24 hours, and they also have  $81.02 \pm 11.19$ ,  $0 \pm 0$ ,  $66.57 \pm 8.69$ , and  $70.53 \pm 5.58$  percent cell viability values for 48 hours, respectively. In the comet assay performed as a genotoxicity test, the values of (-) Control, (+) Control, CMT, DYC, LEU and PU-A groups on L-929 cells in terms of Tail DNA (%) were 6.97, 23.52, 30.5, 22.95, 19.06, and 29.18, respectively. On the other hand, the values of (-) Control, (+) Control, CMT, DYC, LEU and PU-A groups on HepG2 cells in terms of Tail DNA (%) were 11.72, 31.88, 20.89, 28.47, 38.83, and 37.76, respectively.

**Keywords:** Synthetic Tissue Adhesives, Cytotoxicity and Genotoxicity Tests.



*Carum Alene*

## 1. GİRİŞ

Günümüzde biyoyapıştırıcılar yaygın bir şekilde cerrahi operasyonlarda ve yaraların tedavisinde kullanılmaktadır. Özellikle medikal, kozmetik ve cerrahi alanlarında son zamanlarda popüler hale gelen biyoyapıştırıcılar iki temel sistemden köken almaktadırlar. Bunlar fibrin, jelatin, albümin, kitosan ve kondroitin sülfat gibi biyolojik yollarla hazırlanan sistemlerin yanı sıra siyanoakrilat, polietilen glikol, polimetil metakrilat ve poliüretan gibi sentetik temelli sistemlerdir. Son yıllarda geniş ölçüde kullanılan doku yapıştırıcılarının hızlı uygulanma, hasta açısından nispeten hafif travmaya yol açarak yaranın daha çabuk kapanması ve sonuçta daha az ağrı meydana getirmesi önemli avantajlarıdır. Bunun yanında, doku yapıştırıcılarını uygulayanlar açısından bu yapıştırıcıların yara bölgesinde kolayca şekillendirilerek estetik açıdan olumsuz durum oluşturmaması da oldukça önemlidir.

Cerrahi operasyonlarda dokuları biraraya getirmek için geniş ölçüde kabul gören mekanik bağlantı ekipmanlarına örnek olarak iplerle yapılan dikim işlemleri, zımba tellerinin kullanımı ve ayrıca çengelli bant sistemleri verilebilir. Ancak, hem eski teknoloji içermeleri hem de hastaya fiziksel kısıtlama sağlamaları bakımından bu sistemler, hastanın iyileşmesi sürecinde uygulandıkları bölgede istenmeyen durumlara yol açıp hastanın sağlığını tehdit edebilmektedirler (Lloyd ve diğ., 2007; Tajirian ve Goldberg, 2010). Buna ek olarak, morfolojik ve anatomik bütünlüğü hasar gören bölgeye fiziksel bağlayıcı sistem elemanlarının uygulanması hastanın iyileşme sürecini sekteye uğratabilmektedir. Hatta bu durum, daha spesifik olarak örneğin kolorektal cerrahide anastomoz kaçaklarına neden olabilmektedir. Bu sebeple fiziksel olarak bağlayıcı sistemlere alternatif kapatma sağlayacak veya destek elemanlar olarak kullanılacak yeni biyolojik ya da kimyasal biyoyapıştırıcı sistemlere yönelik araştırmaların ve ticari olarak piyasaya çıkan ürünlerin sayısı her geçen gün artmaktadır.

Günümüzde çeşitli kaynaklardan köken alan ve farklı amaçlarla geniş ölçüde kullanılan biyolojik ve sentetik temelli biyoyapıştırıcılar vardır. Bu biyoyapıştırıcıların yara iyileşme sürecini kontrollü bir biçimde sağlaması istenmektedir. Yaranın düzgün olarak onarılması için biyoyapıştırıcılar yeterli mukavemete sahip olmanın yanı sıra dokuyla arasında alerjik ya da enfeksiyöz yanıt oluşturmamalıdır. Ayrıca bu yapıştırıcılar biyoparçalanır özellik sergilemeli ve çabucak uygulanabilmelidir. Maliyetlerinin yüksek olmasının yanında uygulanan yarada kolaylıkla alerjik ya da enfeksiyöz yanıt oluşturabilmeleri nedeniyle biyolojik temele dayanan yapıştırıcı sistemler, istenilen özellik ve formülasyonda hazırlanabilen sentetik temelli yapıştırıcı sistemlere nazaran daha az tercih edilmektedir. Kimyasal temele dayanan yapıştırıcıların üretiminde sağlık bakımından risk

içermeyen doğal kaynakların da kullanılmasıyla özellikle yarı sentetik biyoyapıştırıcıların üretimi son yıllarda ön plana çıkmaktadır. Ancak günlük yaşamda ve cerrahide oldukça yaygın kullanılan farklı kimyasal temellere dayalı sentetik doku yapıştırıcılarının sitotoksik ve özellikle de genotoksik özelliklerinin karşılaştırılmalı olarak incelendiği ayrıntılı çalışma mevcut değildir. Bu nedenle sitotoksik ve genotoksik potansiyellerini içeren biyogüvenilirliklerinin araştırılması kullanım sonrası meydana gelebilecek zararlı etkilerin ortaya çıkarılmasında hayati öneme sahiptir.

Bu amaç doğrultusunda günümüzde yaygın olarak kullanılan sentetik 3 farklı kimyasal temele dayanan ticari doku yapıştırıcısı [Polimetil metakrilat temelli ticari kemik yapıştırıcısı (CMT), temel olarak 1,3 bütlen glikol disalisilat ester, kalsiyum fosfat, kalsiyum tungstat, çinko oksit ve demir oksit içeren katalizör olarak ise kalsiyum hidroksit, etil tolüen sülfonamid, çinko stearat, titanyum dioksit, çinko oksit ve demir oksit bileşenlerine sahip kalsiyum hidroksit temelli ticari doku yapıştırıcısı (DYC) ve siyanoakrilat türevi olan 2-oktil ve n-bütül siyanoakrilat temelli doku yapıştırıcısı (LEU)] ile laboratuvarımızda sentezlediğimiz poliüretan akrilat (PU-A) temelli doku yapıştırıcısının yapısal, termal, morfolojik, mekanik adezyon, sitotoksik ve genotoksik özellikleri *in vitro* olarak incelenmiştir.

Farklı doku yapıştırıcılarının spesifik olarak içerdikleri monomerler kullanım kılavuzunda belirtilen şartlar altında polimerize edilmiştir. Daha sonra doku yapıştırıcılarının karakterizasyon işlemleri için Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR), Termogravimetrik Analiz (TGA), Diferansiyel Termal Analiz (DTA), Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC), sıvı temas açısı, mekanik adezyon gücü, Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ve Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) teknikleri kullanılmış ve son olarak da biyogüvenlik açısından incelemek için sitotoksik etkiler hücre canlılığının belirlendiği MTT testi ve genotoksik etkiler ise DNA hasarının incelendiği tek hücre jel elektroforezi (Komet Testi) ile araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Doku Yapıştırıcıları

Yara iyileşme sürecinde uygulanarak dokunun bütünlüğünü koruyup dokuya destek olan biyoyapıştırıcılar yirminci yüzyılın başından itibaren varlığı bilinmesine rağmen son kırk yıldır cerrahide geniş ölçüde kullanılan biyomalzemelerdir. Milatta en eski yapıştırıcı türevi, hasarlı bölgede hemostat için kullanılan biyolojik kökenli sistemlerdir. Eski zamanlarda sıklıkla kullanılan biyolojik doku yapıştırıcılarının viral hastalıkları uygulanan hastaya taşıyabilme riski, etkin bir tedavi oluşturamaması ve yüksek maliyet gibi çeşitli dezavantajlara sahip oldukları için zamanla yerlerini günümüzde kullanılan sentetik biyoyapıştırıcılara bırakmışlardır.

Sentetik temele dayanan sistemlerin ilk örnekleri hafif yaralar için uygunken, bu sentetik sistemlerin sahip olduğu belli başlı dezavantajlar sebebiyle ağır cerrahi yaraya sahip hastaları tam olarak tedavi etmediği tespit edilmiştir. Bu dezavantajlar uygulanan hastanın doku yapıştırıcısına karşı enflamatuvar yanıt geliştirmesi, yapıştırıcıların düşük mukavemeti ve uygulanan hareketli vücut bölgelerinde tedaviye tam olarak bir yanıt oluşturamamasıdır.

Amerika ve Avrupa’da doku yapıştırıcılarının ticari olarak satışa çıkmadan önce genel olarak 5 özelliğe sahip olmaları istenmektedir. Bu özellikler biyoyapıştırıcıların etkinliği, düşük maliyeti, biyogüvenliği, kolay kullanılabilirliğinin yanı sıra FDA ve CE gibi kurumlardan onay almış olmalarıdır (Spotnitz ve Burks, 2008; 2010). Ayrıca, ticari doku yapıştırıcısının vücuttaki kullanım yerine göre bazı kendine has özelliklere de sahip olması gerekmektedir. Kullanıma en uygun biyoyapıştırıcı, biyoyumluluk açısından en yüksek değerlere sahip olmasının yanında uygulanan canlıda sitotoksik ve genotoksik herhangi bir zarar meydana getirmemelidir. Biyoyumluluk bakımından yapıştırıcının içeriği ve kullanım süresince meydana gelen bozunma ürünleri canlıda enflamatuvar yanıt oluşturup immün sistemi harekete geçirmemelidir. Biyoyapıştırıcının enzimatik ya da hidrolitik olarak bozunma süreci yapıştırıcı uygulandıktan sonraki üç-dört hafta içinde başlayıp yaranın büyüklüğüne bağlı olarak değişen iyileşme sürecini etkilememelidir. Bozunma sürecinin sonunda ideal biyoyapıştırıcı, uygulandığı bölgeyi sağlıklı dokuya tamamen bırakarak vücuttan karaciğerde metabolize olduktan sonra böbreklerden uzaklaştırılmış olmalıdır. Sitotoksik açıdan ise, özellikle yapıştırıcı uygulanan bölgedeki ve ayrıca yarayı destekleyici hücreleri öldürmemelidir. Son olarak genotoksik bir etki bakımından ise, canlıda gen ya da kromozom düzeyinde canlının yaşamını tehlikeye atabilecek herhangi bir değişiklik yapmamalıdır.

Biyoyapıştırıcıların sahip olması gereken bir başka özellik de nemli veya ıslak ortamlarda mekanik mukavemetin korunması ve aynı zamanda eğer uygulanan bölge hareketli bir doku ise hareketin devamının desteklenerek doku esnekliğinin sağlanıp canlılığın günlük yaşamının devam ettirilmesidir. Ayrıca, biyoyapıştırıcının üretilmesi, saklanma koşulları ve uygulanma biçimi kolaylıkla gerçekleştirilmelidir (Petra, 2014). Bundan dolayıdır ki, günümüzde yeni sentetik temelli doku yapıştırıcılarına yönelik araştırmaların sayısı ve yapıştırıcıların fonksiyonellikleri her geçen gün artmaktadır.

## **2.2. Doku Yapıştırıcı Çeşitleri**

### **2.2.1. Biyolojik temelli doku yapıştırıcıları**

#### **2.2.1.1. Fibrin temelli doku yapıştırıcıları**

Fibrinojenden elde edilen bir doku yapıştırıcısı olan fibrin temelli doku yapıştırıcıları biyodegradasyon ile vücutta parçalanarak canlı için zararlı olabilecek herhangi bir yan etkiye sebep olmaz. Uzun süredir kullanılan bu yapıştırıcı yaraların kapanmasında etkilidir. Bu tip yapıştırıcılar, sadece yaranın iyileşmesi sürecinde değil aynı zamanda yara bölgesinde kanama durdurucu özelliğe sahip olmanın yanında hormonlar gibi biyolojik yapıların taşınmasında da görev alabilmektedirler.

Fibrinin tozunu ilk kez damar duvarı tedavisinde Bergel kullanmıştır (Bergel, 1909). Fibrin içeren tampon ve plakalardan beyin kanaması vakalarında faydalanılmıştır (Grey, 1915). Sonraki yıllarda, özellikle hayvan deneylerinde kopmuş sinirlerin kısmi onarımı için fibrinojen kullanılmıştır (Young ve Medawar, 1940). Tarihte ilk olarak 1944'te fibrinojen ve trombinin birleşiminden oluşan fibrin yapıştırıcı deri grafitinin sabitlenerek yapıştırılması işleminde ortaya çıkmıştır (Cronkite ve diğ., 1944). Fibrin yapıştırıcının 1970'li yıllardan itibaren ticari üretimi yapılmaya başlanmıştır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Tisseel® isimli ticari fibrin yapıştırıcısına onay vermiştir. Şu an kullanımda olan ticari yapıştırıcılara örnek olarak Hemaseel APR Kit® ve Evicel® [Quixil® (Avrupa Birliği ülkelerinde) ve Crosseal™ (Amerika Birleşik Devletleri'nde)] verilebilir. Bu doku yapıştırıcıları fibrinin yanı sıra fibrinojenin ve trombin de içermektedir.

Fibrin temelli doku yapıştırıcıları yara bölgesindeki faaliyetlerini vücutta varolan koagülasyon sistemine benzer biçimde gerçekleştirirler. Ticari fibrin yapıştırıcısı olan Tisseel®'in içeriğinde trombin, faktör XIII, CaCl<sub>2</sub>, aprotinin ve elbette fibrinojen vardır. Yapısındaki trombinle fibrinojen monomer fibrine parçalanır ve faktör XIII'ün katkısıyla bu

monomerler kovalent olarak birbiriyle bağ oluşturup kanayan bölgede pıhtı meydana gelir. Yapıştırıcıda bulunan fibrin sayesinde yara bölgesine yapışma işlemi gerçekleşir. Aprotinin ise yaradaki fibrinin homojen olarak dağılmasını sağlayarak oluşan pıhtının plazmin enzimi tarafından hemen parçalanmasını engeller. Yara bölgesindeki kanamayı durdurması için Tisseel®'de bulunan iki solüsyon aynı anda uygulandıktan 2-3 saat sonra doku yapıştırıcısının tam yapışması gerçekleşmektedir (Sierra, 1997; Radosevich ve diğ, 1997).

Etkisini çok hızlı biçimde gösteren fibrin doku yapıştırıcısının bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlardan ilki, uygulanan hastadaki yaraya ek olarak yapıştırıcı içinde bulunan sığır kaynaklı bazı maddelerin varlığı sonucunda çeşitli viral rahatsızlıkların ortaya çıkma ihtimalidir (Ryou ve Thompson, 2006; Beckman ve diğ, 2007). İkinci olarak ise, biyolojik temele dayandığı için bu yapıştırıcının soğuk ortamda saklanması gerekliliği ek maliyete yol açmaktadır. Ayrıca, yara bölgesine uygulamadan önceki hazırlık aşamasının uzun sürmesi ve uygulamaya hazır hale getirilen biyoyapıştırıcının çabucak polimerleşmesi de diğer sakıncalardır (Kaufman ve diğ, 2003; Bitton ve diğ, 2009).

Güçlü mukavemet göstermeyen fibrin doku yapıştırıcılar için arzu edilen özelliklere maalesef tam olarak hala erişilememiştir. Araştırmalar fibrin yapıştırıcıların mekanik karakteristiklerinin geliştirilmesine yönelik olarak çapraz bağ sayısının artırılmasına yoğunlaşmaktadır (Schek ve diğ, 2011). Reaktif biyolojik bir ajan olan genipin kullanılarak çapraz bağ sayısı artırılmaya çalışılmıştır (Wang ve diğ, 2013). Ayrıca, genipin/fibrinojen oranları farklılaştırılarak hazırlanan jellerin birkaç dakika içinde yapıştırma özelliği sergileyen araştırmalar da mevcuttur (Schek ve diğ, 2011).

Fibrin doku yapıştırıcılarıyla ilgili olarak kanamayı durdurma üzerine yapılan bir başka araştırmada ise kollajen kullanılmıştır. TachoComb® ve TachoComb®H ticari adlarıyla satışa çıkartılan bu ürünlerde fibrinojen, aprotinin ve trombine ek olarak yapıştırıcı malzemeyi desteklemek için kollajen de eklenmiştir (Frilling ve diğ, 2005). Ayrıca, aprotinin bulundurmuyup kollajen ve fibrin içeren, ticari adı TachoSil® olan bir doku yapıştırıcısı da mevcuttur (Chapman ve diğ, 2001; Parker ve diğ, 2013). Kollajene dayanan ve özellikle cerrahide hemostaz amacıyla kullanılan bir başka doku yapıştırıcısı olan Vitagel™, kalsiyum klorür ve trombin içermektedir (Petra ve diğ, 2014).

Çağımızda fibrin doku yapıştırıcıları plastik cerrahiden diş ve çene cerrahisine (Spotnitz ve Welker, 1999), kardiyovasküler cerrahi sırasında kanamanın kontrolünden (Spotnitz ve diğ, 1987) perikardiyaldeki serum sızıntısının engellenmesine (Garcia-Guereta ve diğ, 1997) ve hatta atardamar sütürlerinde hemostazın gerçekleştirilmesine (Milne ve diğ, 1995, 1996) kadar pek çok cerrahi müdahalede sıklıkla kullanılmaktadır.

### 2.2.1.2. Jelatin temelli doku yapıştırıcıları

Jelatin yumuşak ve esnek olduğu için böyle özelliklere sahip dokularda meydana gelen yaralanmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Kollajenden üretilen jelatinle çeşitli çapraz bağlayıcı ajanlardan faydalanılarak jelleşme sağlanır. Jelatin kökenli doku yapıştırıcıları özellikle 1960 yılından sonra geniş ölçüde kullanılmaya başlanmıştır. Formaldehit ve glutaradehit gibi kimyasalların çapraz bağlamada kullanıldığı jelatin resorsinol formaldehit ve ayrıca jelatin resorsinol formaldehit glutaraldehit olarak isimlendirilen iki jelatin temelli doku yapıştırıcısı mevcuttur (Suzuki ve Ikada, 2010). Kullanım alanı çok geniş olan jelatin resorsinol formaldehit glutaraldehit doku yapıştırıcısının gastrointestinal dokulardaki uygulamaları da incelenmiştir (Bonchek ve diğ, 1967; Bhatia, 2010; Petra ve diğ, 2014). *In vivo* olarak köpeklerin gastrointestinal sistemindeki kesikler üzerinde yapılan jelatin resorsinol formaldehit glutaraldehit doku yapıştırıcısı çalışmalarında anastomoz kaçağı saptanmamıştır (Bonchek ve diğ, 1967).

Yapısında kullanılan formaldehit ve glutaraldehit gibi çapraz bağlayıcıların toksisitelerinin yüksek olması, bu jelatin temelli doku yapıştırıcıların biyobozunurluklarının uzun sürmesi ve uygulanmadan önce ısıya ihtiyaç duyulması gibi bazı dezavantajları mevcuttur (Albes ve diğ, 1993; Nomori ve diğ, 1999; Matsuda ve diğ, 2012). Bunun aksine, toksik etki göstermeyen çapraz bağlayıcılara sahip jelatin kökenli doku yapıştırıcılarına yönelik çalışmalardan birini Otani ve çalışma arkadaşları yapmışlardır. Bu araştırmalarında yapısında poli(L-glutamik asit) ve çapraz bağlayıcı ajan olarak karbodiimit bulunan jelatin doku yapıştırıcısı sentezlemişlerdir. Etkisi hızlı olan bu yapıştırıcı aynı zamanda emicilik özelliğine de sahip bir hidrojeldir. Sonuçta, adezyon gücü fibrin doku yapıştırıcılarına nazaran yüksek ve aynı zamanda enflamasyona yol açmayan malzeme ortaya çıkmıştır (Otani ve diğ, 1996a, 1996b).

Fibrin yapıştırıcıya göre hemostazın azaldığı bir başka jelatin ve poli(L-glutamik asit) içeren doku yapıştırıcısında ise reaksiyon hızlandırılarak hidrojel kısa sürede meydana getirilmiştir (Otani ve diğ, 1998). Bunun haricinde, akciğerdeki hava kaçaqları üzerinde yapılan bir başka araştırmada kullanılan malzeme sonucu oluşan yüksek adezyondan ötürü hava kaçaqları engellenmiştir (Otani ve diğ, 1999; Nomori ve diğ, 2000).

Suda çözünebilir kitosan ile genipini değişik çapraz bağlayıcıların kullanımıyla hazırlanan jelatin temelli jellerin jelatin resorsinol formaldehit veya jelatin resorsinol formaldehit glutaraldehit ile hazırlanan hidrojellere kıyasla 3T3 fibroblast hücreleri üzerinde herhangi bir sitotoksik etkileri gözlemlenmemiştir (Sung ve diğ, 1999). Ayrıca, çapraz bağlayıcı kimyasal olarak disüksinimidil tartaratın kullanıldığı jelatin kökenli jeller de

vardır. Adezyon gücünü arttırmak amacıyla jelatin temelli doku yapıştırıcılarına kolesterol eklenmesiyle yaklaşık altı kata yakın gerilme mukavemeti sağlayan malzemeler Matsuda ve çalışma arkadaşları tarafından literatüre kazandırılmıştır (Matsuda ve diğ, 2012).

Şimdiye kadar bahsedilen araştırmaların dışında çapraz bağlanma reaksiyonunun fotokimyasal polimerizasyonla meydana getirildiği yüksek adezyon ve gerilme mukavemetinin yanında oldukça esnek jelatin temelli doku yapıştırıcısı sentezlenmiştir. Akciğer ve damar yaralanmalarında kullanıma uygun bu doku yapıştırıcısının çok düşük enflamasyon gösterdiği belirtilmiştir (Elvin ve diğ, 2010).

### **2.2.1.3. Albümin temelli doku yapıştırıcıları**

Albümin biyoyapıştırıcıların adeziflik özelliği glutaraldehit kaynaklıdır. Glutaraldehit, albüminin yapısında bulunan lizin aminoasitlerinin doku yapıştırıcısı uygulanan bölgedeki proteinlerle bağ yapmasını sağlayarak yarayı kapatır. BioGlue® ticari markasıyla 2001 yılından beri satışta olan albümin temelli doku yapıştırıcısının kalp ve damar cerrahilerinde kullanımının uygun olduğuna yönelik çalışmaların (Zehr, 2007) aksine glutaraldehitin toksisitesi dolayısıyla özellikle yoğun cerrahi işlemlerde kullanılamayacağına dair araştırmalar da mevcuttur (Küçükaksu ve diğ, 2000; Reece ve diğ, 2001; Chen ve diğ, 2006). Bunun haricinde, BioGlue® yapıştırıcısında bulunan glutaraldehitin toksisitesine yönelik *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar da mevcuttur. *In vivo* yapılan tavşan deneylerinde, tavşanların aort dokularında orta derecede enflamasyona, akciğer ve karaciğer dokularında ise tahribata yol açtığı gösterilmiştir (Fürst ve Banerjee, 2005). Klimo tarafından yapılan bir araştırmada aort damarı için minimum enflamasyona sebebiyet veren BioGlue® doku yapıştırıcısının akciğer ve özellikle nöronlarda toksik özelliği gösterilmiştir (Klimo, 2007).

Bir başka albümin doku yapıştırıcısı da ProGel® ticari ismiyle satışta olup içeriğinde glutaraldehit yoktur. Yaralanmalara bağlı olarak akciğerleri çevreleyen zarda oluşan hava kayıplarını engellemek için kullanılan bu albümin doku yapıştırıcısı polietilen glikol (PEG), N-hidroksisüksinimid ve insan albümini içermektedir (Petra ve diğ, 2014).

**Çizelge 2.2.1** Protein temelli ticari doku yapıştırıcıları.

<b>Ticari İsim</b>	<b>Kullanım Alanları</b>	<b>İçeriği</b>
<b>Tisseel®</b>	Kalp bypass cerrahisinde hemostaz ve kolon anastomoz desteği olarak	Trombin, insan fibrinojen, fibronektin, faktör VIII, sığır aprotinin, CaCl <sub>2</sub>
<b>Evicel®</b>	Cerrahi işlemlerde hemostaz olarak	İnsan fibrinojeni, trombin, faktör VIII, CaCl <sub>2</sub>
<b>CryoSeal®</b>	Karaciğer rezeksiyonu cerrahisinde hemostaz olarak	Fibronektin, insan fibrinojeni, trombin, faktör VIII, von Willebrand faktörü (vWF)
<b>Hemaseel APR Kit</b>	Cerrahi işlemlerde hemostaz olarak	İnsan fibrinojeni, fibronektin, faktör XIII, sığır trombin, CaCl <sub>2</sub>
<b>Crosseal®</b>	Karaciğer cerrahi işlemlerinde hemostaz desteği olarak	İnsan fibrinojeni, trombin, fibronektin, faktör XIII, CaCl <sub>2</sub>
<b>TachoSil®</b>	Cerrahi işlemlerde hemostatik ajan olarak	Kollajen, fibrinojen, trombin
<b>Vitagel™</b>	Cerrahi işlemlerde hemostaz desteği olarak	Sığır kollajeni, sığır trombini, hastaların plazması
<b>GRF®</b>	Torasik aort diseksiyonu ve hemostaz olarak	Jelatin, resorsinol, glutaraldehit, formaldehit
<b>BioGlue®</b>	Cerrahi işlemlerde hemostaz desteği olarak	Albümin, glutaraldehit
<b>ProGel®</b>	Akciğer hava kaçaklarının önlenmesinde	İnsan serum albümini, N-hidroksisüksinimid, PEG

#### **2.2.1.4. Polisakkarit temelli doku yapıştırıcıları**

##### ***Kitosan temelli doku yapıştırıcıları***

Amino polisakkarit yapıda olan kitosan, kitinin deasetilasyonu ile oluşur. Biyoyumlu/biyobozunur olmasının yanında antibakteriyel özellik göstermesi ve hücre proliferasyonunu desteklemesi gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Bu sebeple çeşitli ilaç taşıma ve salınım sistemlerinden doku yapıştırıcısı üretimine kadar pek çok biyomedikal alanda son yıllarda sıklıkla kullanılmaktadır (Jayakumar ve diğ., 2010).

Ticari açıdan en geniş kullanıma sahip olan ürünlerden biri McCarthy ve çalışma arkadaşları tarafından 2008 yılında üretilen HemCon® Bandage PRO'dur (McCarthy ve diğ, 2008). Bu ürün spesifik olarak karaciğer cerrahisi sırasında oluşan kanamaların önlenmesinde kullanılmaktadır (Pusateri ve diğ, 2003). Bunun yanında, kitosana dayalı sızdırmayı engelleyici pek çok malzeme de üretilmekte ve bu malzemeler üzerindeki araştırmalar da devam etmektedir. Örneğin, Celox™ ticari isimli doku yapıştırıcısı malzemenin dilde oluşan kesiklerdeki hemostatik etkisi Klokkevold ve ekibi tarafından incelenmiş, hemostatik açıdan etkinin azaldığı belirlenmiştir (Klokkevold ve diğ, 1999). Aynı doku yapıştırıcısının nöron hücrelerindeki anastomoz kaçaklarına karşı etkisini inceleyen bir başka çalışma grubu da olumlu sonuçlara ulaşmıştır (Lauto ve diğ, 2008). Bunların haricinde, çapraz bağların fotopolimerizasyon yoluyla meydana getirildiği kitosan doku yapıştırıcılarının, akciğerlerde yaralanmayla oluşan plevral hava kayıplarını engellediği gösterilmiştir (Duarte ve diğ, 2011).

#### ***Dekstran temelli doku yapıştırıcıları***

Biyoyumlu/biyobozunur etki gösteren ve polisakkarit yapıdaki dekstran, çoğunlukla  $\alpha$ -1,6-D-glukopranoz ve  $\alpha$ -1,3-D-glukopranoz içermektedir. Medikal alanda sıklıkla kullanılan dekstran, farklı biyomalzemelerle bir araya getirilerek doku yapıştırıcılarında kullanılmaktadır. Dekstran ilk olarak 2006'da Kodokian ve Arthur tarafından gerçekleştirilen bilimsel araştırmaya konu olmuştur (Kodokian ve Arthur, 2006). Bu araştırmada, sodyum periodatın çapraz bağlayıcılık özelliğinden faydalanılarak dekstran ve PEG molekülleri birbirine bağlanmıştır. Ağsı yapı meydana geldiği zaman dekstrandaki aldehit gruplarının bir kısmının tepkimeye girmesine rağmen çoğunluğun dokudaki aminlerle bağlanarak yapışmanın gerçekleştiği saptanmıştır. Sonuçta meydana gelen hidrojel çok kısa sürede oluşmasının yanında uygulanan dokuda herhangi bir toksik etki de gözlemlenmemiştir (Kodokian ve Arthur, 2006; Bhatia ve diğ, 2007a).

Başka bir araştırmada ise, kornea kesiklerinde kullanılan dekstran temelli doku yapıştırıcısının sitotoksitesisi belirlenmiştir. Farklı oksidasyonlara sahip dekstran temelli hazırlanan jeller adezyon kuvveti açısından incelenmiştir. Yüksek oksidasyon seviyesine sahip hızlıca hazırlanan hidrojellerin, dokuda oluşturduğu adezyon kuvvetinin yeterli olmadığı anlaşılmıştır. Vücutta herhangi bir immün yanıt oluşturmayan bu hidrojel, birkaç günde biyobozunduğu için korneadaki kesikler üzerinde kullanımının uygun olmayacağı bildirilmiştir (Bhatia ve diğ, 2007b). Biyodegradasyon süresi uzun olan dekstran temelli doku yapıştırıcıları 2011'de Chenault ve çalışma ekibi tarafından hazırlanmıştır. Hazırlanan

hidrojelde tris(2-aminoetil) ve polietilen glikol vardır. Polietilen glikol ve dekstrandaki aldehit grubu arasında çapraz bağ oluşturularak elde edilen jelin, yaklaşık on günde degradasyona uğradığı ve degradasyon sonucu oluşan ürünlerin canlıya zarar vermediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, hazırlanan hidrojinin kornea kesiklerinde tedavi amaçlı kullanımının uygun olacağı belirtilmiştir (Chenault ve diğ, 2011). Bu ticari ürün Actamax™ adıyla satışta olup sprey şeklinde uygulanmaktadır.

Actamax™'a rakip olarak geliştirilen bir başka dekstran kökenli doku yapıştırıcısı ise PEG yerine poli-L-lizin içeren iki bileşenli yapıdır. Dekstran, Brillant Blue FCF boyası, süksinik anhidrit ve poli-L-lizin içeren bu sistemin adezyon kuvvetinin yüksek olduğu ve plevral hava kaçaklarının engellenmesinde yardımcı olduğu belirlenmiştir (Araki ve diğ, 2007). Ayrıca, poli-L-lizin konsantrasyonunun ve dekstranın oksidasyon seviyesinin çeşitlendirilmesiyle farklı doku yapıştırıcıları hazırlanmıştır.

Dekstranda bulunan aldehit grupları ile jelatin arasındaki hızlı tepkimeyle hazırlanan başka bir çeşit hidrojel doku yapıştırıcısı da bulunmaktadır. Adezyon gücü fibrin doku yapıştırıcısına göre fazla olan bu biyoyapıştırıcının yumuşak dokularda hemostatik işlevler için uygun olacağı belirtilmiştir. Ayrıca, kitosan-dekstran kökenli doku yapıştırıcıları da hazırlanmıştır (Liu ve diğ, 2009). Athanasiadis ve ekibi tarafından koyunlar üzerinde yapılan kitosan-dekstran temelli hidrojinin özellikle sinüs cerrahisine yönelik olumlu sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Athanasiadis ve diğ, 2008).

### ***Kondroitin sülfat temelli doku yapıştırıcıları***

Doğrusal bir polisakkarit olan kondroitin sülfat, özellikle eklem bölgelerinde bulunarak dokuların meydana getirdiği yapısal baskıyı absorbe eder. İmmün yanıt oluşturmeyen kondroitin sülfat yüksek eklem basıncı direncine sahiptir. Kıkırdak tedavilerinde doku destek yapıştırıcıları olarak kullanılmaktadır. Aldehit ve metakrilat gruplarıyla fonksiyonellik kazandırılan kondroitin sülfatın kullanımına yönelik ilk çalışma 2003 yılındadır.

Li ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, hasarlı dokuda bulunan amin grupları ile kondroitin sülfat doku yapıştırıcısında bulunan aldehit grupları arasında oluşan bağ adezyonu sağlarken daha sonra fotopolimerizasyon metoduyla metakrilatın sertleşmesi sonucunda malzemenin yapı iskelesi olarak kullanılabilceği anlaşılmıştır (Li ve diğ, 2003).

Kolayca hazırlanıp çabucak tepkimeye giren bir kondroitin sülfat doku yapıştırıcısı geliştiren Wang ve çalışma ekibi, polietilen glikol ve diakrilat içeren hidrojele ait aldehit gruplarının kıkırdağa bağlanması sağlanarak implant destekleyici biyomalzeme olarak

kullanılabileceğini bildirmişlerdir. *In vivo* yapılan çalışmalarda da kondroitin sülfat kullanılan bu biyomalzemenin hücre proliferasyonunu artırarak dokunun onarımını sağladığı gösterilmiştir (Wang ve diğ, 2007).

Yapılan bir başka çalışmada ise, aldehitleri fonksiyonelleştirilmiş kondroitin sülfat ve poli(vinil alkol-ko-vinil amin) kullanılarak doku yapıştırıcısı hazırlanmıştır. Yapıda bulunan amin gruplarının aldehitler ile çapraz bağ oluşturmasıyla elde edilen kondroitin sülfat temelli doku yapıştırıcısının biyodegradasyonu süresince herhangi bir sitotoksik etki gözlemlenmemiştir. Ayrıca, adezyon gücü de kornea hasarlı dokuda araştırılmıştır. Geleneksel dikiş malzemeleriyle kıyaslanan biyoyapıştırıcının hemen hemen aynı göz içi basınca yol açtığı belirlenmiştir (Reyes ve diğ, 2005).

Amin uçları taşıyan PEG ve -NHS ile fonksiyonellik kazandırılan kondroitin sülfat arasında gerçekleşen amidasyon reaksiyonu sonucu bir başka biyoyapıştırıcı hazırlanmıştır. Elde edilen hidrojelin şişme ve sertlik özellikleri farklı pH koşullarında karakterize edilmiştir. Buna ek olarak, hazırlanan jelin adezyon kuvvetinin çok güçlü olduğu ve degradasyonu süresince minimum enflamatuvar tepki meydana getirdiği belirlenmiştir (Strehin ve diğ, 2010).

## **2.2.2. Sentetik ve yarı sentetik temelli doku yapıştırıcıları**

### **2.2.2.1. Siyanoakrilat temelli doku yapıştırıcıları**

Alan Ardis tarafından 1949 yılında ilk kez hazırlanan siyanoakrilatın adeziflik özelliğinin karakterizasyonu Coover ve çalışma ekibi tarafından 1959 yılında gerçekleştirilmiştir (Ardis, 1949a, 1949b; Coover ve diğ, 1959). Sonraki yıllarda siyanoakrilat türevleri, inşaattan çok farklı sektörlere kadar geniş yelpazede kullanılmaya başlanmıştır (Leonard, 1968). Daha sonra, siyanoakrilatların farklı çeşitleri olan etil siyanoakrilat ve metil siyanoakrilat doku yapıştırıcısı olarak biyomedikal alanda kendine yer edinmiştir. Bu alanda Hosbein ve Blumenstock'un 1964 yılında anastomoz üzerine yaptıkları çalışma öncü olmuştur (Hosbein ve Blumenstock, 1964).

Siyanoakrilat monomerler herhangi bir katalizöre, ısıya veya basınca ihtiyaç duymadan oda koşullarında çok çabuk polimerleşmektedirler. Uygulandıkları hasarlı doku bölgesinde bulunan fonksiyonel gruplarla kovalent bağ meydana getirerek adezyon kuvvetini arttırmaları. Yüksek mekanik mukavemete sahip olmaları ve antibakteriyel özellik sergilemeleri avantajları olmasına rağmen (Galil ve diğ, 1984), kısa sürede biyodegradasyona uğrayarak uygulandıkları bölgedeki hücreler ve dokular için maalesef

oldukça toksiktirler (Eaglstein ve Sullivan, 2005). Bu dezavantajlarından ötürü malzemenin nispeten yavaş biyodegradasyona uğraması istendiği için uzun polimer zincirler sentezlenmiştir. Bu sentez sırasında kullanılan monomerler N-bütül-siyanoakrilattır. N-bütül-siyanoakrilat içeriğe sahip biyoyapıştırıcılara ticari örnek olarak Histoacryl® ve Indermil® verilebilir. Derin olmayan kesiklerde mikrobiyal kontaminasyona karşı engel oluşturmak ve küçük deri açıklarının kapatılması için bu ürünler iyi sonuç vermektedir. Ancak, uygulanan alanda polimerleştiği için bu tip biyoyapıştırıcılar eklemler gibi hareketli vücut bölgelerinde mekanik mukavemetleri düşük olduğundan sonuçta kırılıp sitotoksisteye veya hareketin kısıtlanmasına yol açabilmektedirler (Narang ve diğ, 2003). Bu yüzden, esnek yapısı bakımından siyanoakrilat çeşidi olan oktil-siyanoakrilatlar sentezlenmiştir. Dermabond® adlı oktil-siyanoakrilat doku yapıştırıcısı ilk olarak 1998 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde piyasaya sürülmüştür. Cerrahide meydana gelen deri enzisyonlarında operasyondan sonra mekanik olarak birleştirilen kesikler, doku yapıştırıcısı uygulandıktan sonra polimerleşmeyle bölgenin kapatılması kimyasal olarak meydana gelmektedir. Oktil-siyanoakrilatların yavaş biyodegradasyonları ve diğer akrilatlar nazaran daha az toksisite göstermelerinin yanında vücut için oldukça düşük oranda immün yanıt oluşturmaları, cerrahi müdahaleler sonrası uygulanma bakımından ön plana çıkmalarını sağlamıştır (Bruns ve diğ, 1998; Abenavoli, 2001; Narang ve diğ, 2003; Eaglstein ve Sullivan, 2005; Dragu ve diğ, 2009).

Günümüzde anastomoz kaçaklarının önlenmesinde ve derin deri kesiklerinin kapatılmasında sıklıkla kullanılan siyanoakrilatlardan göz ve akciğer cerrahisinde de yararlanılmaktadır. Ayrıca derin olmayan küçük kesikler ve deri yaralarının kapatılmasında doktorlar bu doku yapıştırıcılarını kozmetik açıdan tercih etmektedirler (Duarte ve diğ, 2011).

#### **2.2.2.2. Polietilen glikol temelli doku yapıştırıcıları**

Suyu seven yani hidrofilik polimer yapılar sulu ortama konduklarında hacimlerinin birkaç katı şişerek hidrojel oluştururlar (Bitton ve diğ, 2009). Biyouyumlu oldukları için bu malzemeler hemostatik matriks olarak hasar görmüş kanamalı dokularda kullanıma uygundur. Vücut tarafından immün cevap oluşturmeyen bu hidrojellerin medikal alanda sıklıkla kullanılanı, polietilen glikol bazlı ağsı yapıya sahip hidrojellerdir. Ancak bu malzemelerin, kullanım zorluğu ve özellikle çapraz bağ oluşumu sırasında meydana gelen serbest radikallerin dokuda meydana getirdiği hasar bakımından dezavantajları vardır (Alleyne ve diğ, 1998; Wain ve diğ, 2001; Torchiana, 2003).

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanan ilk polietilen glikol tabanlı hidrojel FocalSeal® ticari ismiyle satışa çıkan ve fotopolimerizasyonla polimerleşmenin gerçekleştirildiği biyoyapıştırıcıdır. Bu hidrojin içeriğinde polilaktasit, politrimetilen karbonat ve polietilen glikol bulunmaktadır. Çapraz bağlayıcı ajan olarak fotopolimerizasyon tekniği kullanılmaktadır (Quinn, 2005; Bhatia, 2010). Yapılan deneysel çalışmalar neticesinde, FocalSeal® hidrojin özellikle hemostas ve yara kapatma uygulamaları için biyoyumluluk, biyodegradasyon, mekanik özellikler bakımından uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Suggs ve diğ, 1998a; 1998b).

Bir başka polietilen glikol kökene dayanan biyoyapıştırıcı ise DuraSeal®'dir. İçeriğinde trilizin amin içeren bir solüsyon ile polietilen glikol ve ayrıca uygulanırken görülsün diye FD&C Blue No. 1 inaktif boyası vardır. Bu hidrojeldeki polimerleşme, ester ve amin grupları içeren solüsyonların karıştırılmasıyla başlayan tepkimenin hızlıca tamamlanmasıyla meydana gelen amid bağları ile mümkün olmaktadır. Bu hidrojin biyodegradasyonu birkaç ayı bulmaktadır (Petra ve diğ, 2014). Mukavemeti yüksek olan bu jelin toksisitesi yoktur ve yüksek biyoyumluluğa sahiptir. Ancak, hidrojel olması bakımından yara bölgesinde şiştiğinde hasta için ayrıca ağrı meydana getirmesi olumsuz özelliklerinden biridir. Bu ticari biyoyapıştırıcı hidrojel birçok cerrahi operasyonda kullanılmaktadır (Alleyne ve diğ, 1998; Kacher ve diğ, 2006; Cosgrove ve diğ, 2007).

CoSeal® ticari ismiyle kullanılan polietilen glikol temele dayalı başka bir hidrojel doku yapıştırıcısı da iki farklı solüsyondan oluşmaktadır (Reece ve diğ, 2001). İlk çözelti sodyum fosfat ve sodyum karbonat tamponu içinde bulunan tiyol uç gruplarına sahip polietilen glikolden, ikinci çözelti ise sodyum fosfat tamponu içinde bulunan -NHS esterli polietilen glikol içermektedir. Karıştırılan solüsyonlar sonucunda tiyoester çapraz bağlar oluşmaktadır. Ayrıca, doku yapıştırıcısı hasarlı dokuda bulunan amin gruplarına kovalent bağlanarak adezyon gerçekleşmektedir (Goode ve diğ, 2001; Wallace ve diğ, 2001).

Polietilen glikol temele dayanan hidrojellerin adezyon gücünün karşılaştırıldığı pek çok bilimsel çalışma vardır. Bu araştırmalardan birinde CoSeal® ve DuraSeal®'in adezyon gücü karşılaştırılmıştır. Sonuçta DuraSeal®'in mukavemetinin yüksek olduğu belirlenmiştir (Campbell ve diğ, 2005). Ayrıca, hemostatik açıdan CoSeal® hidrojel yapıştırıcının diğerlerinden farklı olmadığı saptanmıştır (Hill ve diğ, 2001; Buskens ve diğ, 2006).

Bir başka PEG yapısal temeline dayalı hidrojel ise absorbe edilebilir SprayGel™'dir. İki farklı çözeltinin karıştırılmasıyla meydana gelen bu jel bir haftada biyodegradasyona uğramaktadır. Jinekoloji uygulamalarında ve kolorektal cerrahide kullanımının uygun olduğu belirlenmiştir (Dunn ve diğ, 2001; Ferland ve diğ, 2001; Johns ve diğ, 2003).

### 2.2.2.3. Poliester temelli doku yapıştırıcıları

Günümüzde polikaprolakton ve polilaktik-ko-glikolik asit ve benzeri alifatik poliesterler hakkında pek çok bilimsel araştırma vardır. Bunlardan en bilineni, özellikle akciğer cerrahisinde hava ve dokular arası sıvının kaçaklarını engellemek için kullanılıp TissuePatch™ ismiyle ticari olarak satılan biyoyapıştırıcıdır (Petra ve diğ, 2014). Ayrıca, yine aynı firma tarafından üretilip pazarlanan TissuePatchDural™ isimli ürün de beyin-omurilik sıvısı kaçaklarını engellemek için satışta. Yara bölgesindeki hızlı adezyonu ve cerrahi operasyonlarda kullanım kolaylığı nedeniyle poliester temelli bu iki biyoyapıştırıcıdan sıklıkla faydalanılmaktadır (Ferroli ve diğ, 2011).

Sentezlenen alifatik poliesterlere ait adezyon karakteristiklerinin araştırıldığı bir çalışmada, Ferreira ve ekibi polikaprolakton diol ve izofuran diizosiyanat veya heksametilen diizosiyanatın farklı oranlarını kullanmışlardır. Sentezlenen polimerlerin adeziv özellik gösterdiği ve böylece cerrahi müdahalelerde büyük bir sorun olan hemolize karşı kullanılabilmesi bildirilmiştir (Ferreira ve diğ, 2008a). Aynı ekibin yaptığı bir başka araştırmadaysa, makro boyutlarda monomer kullanılarak sentezlenen biyoyapıştırıcıdaki çapraz bağların 5-6 hafta içinde biyodegradasyona uğrayarak yüksek adezyona sahip polimerin toplam ağırlığının ortalama olarak yüzde onunu kaybettiği saptanmıştır (Ferreira ve diğ, 2008b).

**Çizelge 2.2.2** Sentetik temelli ticari doku yapıştırıcıları.

<b>Ticari Ürün Adı</b>	<b>Kullanım Alanları</b>	<b>İçeriği</b>
<b>Histoakril®</b>	Deri kesiklerinin kapatılmasında	n-bütül-2-siyanoakrilat
<b>Dermabond®</b>	Deri kesiklerinin kapatılmasında	2-oktil-2-siyanoakrilat
<b>Indermil®</b>	Deri kesiklerinin kapatılmasında	n-bütül-2-siyanoakrilat
<b>Glubran®, Glubran2®</b>	Bakteriyostatik sentetik cerrahi yapıştırıcı olarak	n-bütül-2-siyanoakrilat, metakriloksisülfolan
<b>FocalSeal-L®</b>	Plevral hava kayıplarının önlenmesinde	PEG, ko-poli(laktik asit), poli(trimetilenkarbonat)
<b>DuraSeal®</b>	Dural onarımda sütur desteği olarak, vasküler kapatmada ve siyatik sinir anastomoz tedavisinde	NHS-PEG/Trilizin
<b>CoSeal®</b>	Damarsal kapatmada hemostatik ajan olarak	NHS-PEG/Tiyol-PEG
<b>SprayGel™</b>	Jinekolojik ve kolorektal cerrahide yapıştırıcı olarak	NHS-PEG/Tiyol-PEG
<b>TissuGlu®</b>	Cilt flepleri altında seroma oluşumunun önlenmesinde	Lizin di/tri izosiyanat prepolimer
<b>TissuePatch®</b>	Hava kayıplarının engellenmesinde, dural onarım ve sütur desteği olarak	Poli(laktik-ko-glikolik asit)/Polikaprolakton
<b>Adherus®</b>	Dural onarımda, kardiyovasküler cerrahi yapıştırıcısı olarak	PEG/poli(etilen imin)

#### 2.2.2.4. Poliüretan temelli doku yapıştırıcıları

İmmün yanıt oluşturmaması, hızlıca uygulanma kolaylığı, biyodegradasyon özelliği ve vücut sıcaklığında adezyon mukavemetini koruması gibi çeşitli avantajlara sahip olan poliüretan temelli doku yapıştırıcıları günümüzde pek çok ticari isimle üretilip biyomedikal alanda sıklıkla kullanılmaktadır.

Poliüretanlar genel olarak yumuşak segment (poliol) ve sert segmentin (diizosiyanat) katalizör yardımıyla polimerizasyonu meydana gelir (Arashiro ve diğ, 2001; Randall ve Lee, 2002). Sentez boyunca farklı oranlarda kullanılan yumuşak segmentlerde bulunan üretan bağındaki karbonil gruplarının yanı sıra -NH grupları adezyon kuvvetlerini, sert segment ise poliüretanların mukavemet karakteristiklerini belirler. Bir başka yapışma etkisi

de ürean bağında bulunan ve yumuşak segmentlerin yapışmasını sağlayan eterik gruplarda görülür. Yumuşak segmentlerin hidrokarbon yüzeylerine yapışmasıyla alakalı olarak London kuvvetleri etkilidir. Poliüretan biyoyapıştırıcılarının adezyon kuvvetini belirleyen etkenlerden birisi, yapıda yer alan aktif uç gruplar tarafından meydana getirilen bağlardır. Burada sözü edilen bağlar genellikle yapıştırılmak istenen yüzey ile poliüretanda bulunan -NCO grubu arasında gerçekleşen kovalent bağlar veya poliüretanda bulunan -OH grupları arasında gerçekleşen ikincil bağlardır. Poliüretanda bulunan aktif uç grupların sayısı arttıkça poliüretanın adezyon özelliği de artmaktadır. Bu sebeple, doku yapıştırıcısı amacıyla faydalanılacak poliüretan yapılar öncelikle polimerden ziyade daha fazla aktif uç içeren prepolimer şeklinde üretilip yüksek adezyona sahip olmaktadırlar (Randall ve Lee, 2002; Rivera-Armenta ve diğ, 2004).

Doku yapıştırıcısı olarak kullanılmaları için yüksek adezyon kuvvetine sahip olmaları beklenen poliüretanlar aynı zamanda biyouyumluluk ve biyodegradasyon özellikleri bakımından da uygun olmalıdırlar. Toksik etki göstermemesi yani yüksek biyouyumluluğu bakımından alifatik diizosiyanatlar tercih edilmektedir. Alifatik diizosiyanat monomeri olarak sıklıkla heksametilen diizosiyanat, izofuran diizosiyanat ve 1,4-diizosiyanobütan kullanılmaktadır (Wasekar ve Mhaske, 2013).

Ayrıca, biyouyumlu ve biyobozunur poliüretanların meydana getirilmesinde poliöl kaynağı olarak doğal polieterler ve poliesterler kullanılırken, temel zincir oluşumunda ise hidrokarbon yerine farklı karbohidrat şekerler veya hint/soya yağı gibi yağ asidi çeşitleriyle tanin ya da katekol gibi polifenol kaynaklı bileşikler tercih edilmektedir (Randall ve Lee, 2002; Rivera-Armenta ve diğ, 2004).

Günümüzde ticari olarak satılan sentetik poliüretan temelli yapıştırıcılar sıklıkla kullanılmaktadır. Bunların en bilinenlerinden biri cerrahi operasyonlar bittikten sonra sıvı kaçaqlarını önlemek için kullanılan TissuGlu®'dur. Tek komponentli bu doku yapıştırıcısı lizin diizosiyanat uç gruplarına sahiptir. Ticari olarak satın alınan bu prepolimer formundaki poliüretan doku yapıştırıcısı, doku içinde sıvı kaçaqlarıyla karşılaşınca çapraz bağlar meydana gelerek adezyon gerçekleşir ve sonuçta sert bir ağsı tabaka ortaya çıkar. *In vivo* deneysel çalışmaların yanında insan deneyleri de TissuGlu®'nun hem biyouyumlu hem de biyobozunur karakteristiğe sahip olduğunu göstermiştir (Gilbert ve diğ, 2008; Bouten ve diğ, 2014).

Poliüretan doku yapıştırıcılarının başka bir çeşidi ise cerrahi sonrası dikişlerde ortaya çıkan anastomozu engellemek amacıyla kullanılan Sylys®'tir. Bu doku yapıştırıcısının içeriğinde trietoksisilan ve ürean bağları mevcuttur (Beckman, 2011; Petra ve diğ, 2014).

Kriptonit® ticari adıyla bilinen kemik çimentosu ya da dolgu malzemesi esasen hint yağı temellidir. Kalsiyum karbonat ve izosiyanat içeren Kriptonit® kemik cerrahisindeki kırılma ve zedelenmelerde sıklıkla kullanılmaktadır (Fedak ve diğ, 2010; Farrar, 2012).

Ticari olarak satılan pek çok poliüretan temelli doku yapıştırıcısı haricinde bilimsel araştırmalara konu olmuş poliüretan biyoyapıştırıcılar da vardır. Örneğin, hazırlanan üretan bazlı prepolimerin kitosan ile meydana getirilmiş farklı polimer numunelerinin yüksek biyoyumluluk özellikleri, hücre kültür sisteminde *in vitro* olarak belirlenmiştir (Habib ve diğ, 2011).

Yapılan başka bir araştırmada ise taninden yola çıkılarak poliüretan temelli bir doku yapıştırıcısı sentezlenmiştir. Bu yeni polimerin içeriğinde tanin ve değişik miktarlarda PPG1000'in (poliol kaynağı) yanı sıra 3-izosiyanatometil-3,5,5-trimetilsikloheksil izosiyanat vardır. Ayrıca, demir klorür katkısı yapılarak poliüretan doku yapıştırıcısının adezyon ve mekanik absorbans mukavemeti karakteristikleri çok daha iyi hale getirilmiştir (Peng ve diğ, 2013).

Schreuder ve çalışma ekibi tarafından geleneksel kemik çimentosunun adezyon kuvvetinden daha yüksek olacak şekilde nano hidroksiapatit parçacıkları ile güçlendirilerek sentezlenen poliüretan temelli kemik yapıştırıcısına ait fiziksel ve termal özellikler karakterize edilmiştir. Biyoyumluluğu *in vitro* belirlenen kemik yapıştırıcısının adezyon gücü, kemik çimentosunun yaklaşık iki katı olarak belirlenmiştir (Schreuder ve diğ, 2013).

Enjekte edilebilir kemik çimentosu olarak Guelcher ve ekibi tarafından sentezlenen düşük viskoziteye sahip poliüretan temelli biyoyapıştırıcı malzemenin adezyon kuvveti ve basınç esneme mukavemeti gibi mekanik özelliklerinin yanında biyobozunurluk ve osteoblast primer hücre hattı olan MC3T3 hücreleriyle biyoyumluluk testleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçta, sentezlenen biyoyapıştırıcının kemik çatlağı ve özellikle kırığı tedavilerinde çimento amacıyla kullanılabileceği bildirilmiştir (Guelcher ve diğ, 2008).

### **2.3. Sitotoksosite ve Genotoksosite Testleri**

Günümüzün modern dünyasında, sentezlenen her biyomalzemeyle temas halinde olan insanlar için hücre canlılığının belirlenmesi bir diğer deyişle sitotoksosite araştırmaları oldukça önemlidir. Zira bu bilimsel çalışmaların yapılmasıyla biyoyumluluğun dışında hücredeki mutajenik etkiler, kanserleşmeye giden malign transformasyonlar, hücreyel yolaklarda meydana gelen patolojik sorunlar, sitotoksositeyle birlikte hücrede oluşan genetik değişiklikler de belirlenebilmektedir (Komissarova ve diğ, 2005).

Hücre proliferasyonunun ve canlılığının araştırıldığı birçok yöntem mevcuttur (Cook ve Mitchell, 1989). Bunlar içinde sıklıkla faydalanılan sitotoksosite deneyleridir. Hızlı analiz gerçekleştirilebilmesinin yanında pek çok örneğe ait sitotoksosite sonucu aynı anda ve kolayca ortaya çıkmaktadır. Genellikle kolorimetrik olmak üzere lüminesans ve enzimatik sistemlerle yapılan sitotoksosite deneylerinden hangisinin uygulanacağını belirleyen bazı parametreler vardır. Bu parametreler araştırmada hücre ölüm mekanizması çalışılıp çalışılmayacağı, deneyde test edilecek malzemenin kimyasal yapısı, deney sonucu elde edilmek istenen hücresel yanıt ve *in vitro* deneyde kullanılan hücrenin çeşidi şeklinde özetlenebilir (Freshney, 2015; Weyermann ve diğ, 2005).

Lüminesans sistemler, floresans özelliği olan maddelerin kullanıldığı sistemler ve lusiferaz enzimi gibi kendiliğinden biyolüminesans özellikli sistemler olmak üzere ikiye ayrılır. Enzimatik yöntemde ise hücre membranı hasarı veya ölümü sonrasında hücrelerin bulunduğu ortamda meydana gelen laktat dehidrogenaz (LDH) gibi enzimlerdeki miktar değişiklikleri saptanmaktadır (Korzeniewski ve Callewaert, 1983; Borenfreund ve Puerner, 1985; Riss ve Moravec, 2006).

Kolorimetrik sitotoksosite testlerinde farklı tetrazolyum tuzları kullanılır ve sonuçta oluşan renk değişiminin absorbans değeri spektrofotometre cihazıyla ölçülür. Ayrıca, hücrelerin kendisini bütün halinde ya da organellerini kompartman olarak boyayan tripan mavisini, nötral kırmızısı veya kristal viyole gibi boyalar da mevcuttur. Hücre sayımının manuel olarak yapıldığı canlı ve ölü hücreleri birbirinden ayırmada kullanılan tripan mavisinin yerini çok fazla örneğin aynı anda çalışılabildiği otomatize sistemler almaktadır (Tokur ve Aksoy, 2017).

Kimyasal maddelere maruz kalındığında meydana gelen mutajenik etkiler genotoksosite testleriyle belirlenmektedir. Bu mutajenik etkilere örnek olarak genomda oluşan nokta mutasyonları veya delesyonlar, hücre çekirdeğinden ayrı olarak görülebilen mikro boyuttaki başka çekirdekler, kromozomlarda gözlenebilen kardeş kromatid değişimleri veya translokasyon gibi değişikliklerin yanı sıra DNA'nın tek veya çift zincirinde oluşmuş kırıklar (fragmentler) verilebilir (Decordier ve diğ, 2002). Hangi tip mutajenik etkinin görüldüğünün belirlenmesinde sıklıkla komet testi olmak üzere ayrıca Ames testi, mikronükleus testi, kromozom aberasyonu testi, kardeş kromatid değişimi testi gibi genotoksosite testlerinden *in vitro* ve *in vivo* olarak faydalanılmaktadır (Fenech, 2000; Zeiger, 2001, 2004; Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Vural, 2017).

Genotoksik etkiler ya direkt olarak mitoz hücre bölünmesini kontrol eden bölgelerde ya da indirekt olarak DNA tamir yollarının bozulması, DNA bütünlüğünü koruyan histon

proteinlere ait genlerde meydana gelen mutasyonlar gibi DNA’da oluşan hasarlar sonucunda meydana gelir. Sonuçta, hücrenin DNA’sındaki değişiklik canlıda kanser, yaşlanma veya hastalığa yol açar (Kirsch-Volders ve diğ, 2003; Mateuca ve diğ, 2006).

### **2.3.1. MTT Testi**

MTT testi 1983 yılında ilk kez Mosmann tarafından kullanılan bu test hızlı sonuç veren, kolayca uygulanabilir ve kolorimetrik değişim temelli olarak kantitatif hücre canlılığının belirlendiği bir testtir (Mosmann, 1983). Bu testte, hücrenin en büyük organellerinden olan mitokondrideki süksinat dehidrogenazın metabolik aktivitesi ölçülür. Hücre çoğalmasına bağlı olarak çok miktarda oluşan mitokondriyel enzimle testte kullanılan monotetrazolyum tuzu MTT (3-[4,5-Dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür) elektron taşıma sistemi tarafından indirgenerek suda çözünmeyen mavi-mor renkli formazan kristalleri oluşur (Liu ve diğ, 1997; Vinken ve Blaauboer, 2017). Oluşan bu formazan kristalleri canlı hücrelerin membranından geçemeyip hücre içinde kalır (Fotakis ve Timbrell, 2006). Daha sonra, dimetil sülfoksit (DMSO) gibi bir organik çözücünün ortama eklenmesiyle formazan kristalleri çözünerek spektrofotometre cihazında belirli bir dalga boyunda kolorimetrik olarak saptanabilecek koyu mavi-mor renge dönüşür. Ortamdaki canlı hücre sayısı ile meydana gelen formazan kristali miktarı doğru orantılı olarak değişir. Reaksiyon sonucu oluşup ölçülen koyu mavi-mor renk, hücre canlılığını ifade etmektedir (Denizot ve Lang, 1986; Chapdelaine, 2001; Vellonen ve diğ, 2004; Stockert ve diğ, 2012).

### **2.3.2. Komet Testi (Tek Hücre Jel Elektroforezi)**

Genotoksisite ve apoptoz çalışmalarının yanında DNA’da görülen hasar sonucu oluşan fragmentasyonun tamirinde kullanılan Komet Testi diğer bir deyişle Tek Hücre Jel Elektroforezi, diğer genotoksisite testlerine nazaran daha sık tercih edilmektedir (Singh ve diğ, 1988; Fairbairn ve diğ, 1995; Sasaki ve diğ, 2002). Bu yöntem, ilk kez 1978 yılında Rydberg ve Johanson ile literatüre kazandırılmıştır. *In vitro* veya *ex vivo* olarak uygulanan bu yöntemle kimyasal mutajenler, oksidasyon ve UV gibi dış kaynaklı veya canlının kendisi tarafından oluşan; DNA tamir mekanizmalarındaki bozukluklar ve hücre döngüsü kontrolünün kaybı gibi kalıtsal (genetik) veya sporadik meydana gelen ve hatta bir hücreye ait DNA tek zincir kırıklarındaki hasar bile direkt olarak belirlenebilmektedir (Rydberg ve Johanson, 1978; Ross ve diğ, 1995; Tice ve Vazquez, 1998; Tice ve diğ, 2000; Sasaki ve diğ, 2002).

Hemen hemen tüm ökaryotik hücelere kolayca uygulanabilir, oldukça hassas olduğu için güvenilir, ucuz ve çabuk sonuç veren bir metod olması, radyoaktif işaretleme gerekmeden sadece EtBr boyası kullanılarak UV ışık altında farklı hücelerde oluşan hasarın görüntülenerek hasarların sınıflandırılabilmesine izin vermesi, az miktardaki DNA hasarının saptanabilmesinin yanında DNA onarım kapasitesinin belirlenmesi gibi avantajlara sahip olduğu için günümüzde çoğunlukla Komet Testi kullanılmaktadır (Hartmann ve diğ, 2003; Collins, 2004; Ritter ve Knebel, 2009; Dinçer ve Kankaya, 2010; Azqueta ve Collins, 2013; Langie ve diğ, 2015). Yöntemin aşamalarından biri olan elektroforezde uygulanan voltaj ve süre, ortamla birlikte deneyde kullanılan solüsyonların sıcaklığı ve taze hazırlanmalarının yanı sıra lizis solüsyonu şartları (tuz konsantrasyonu, süre ve pH) gibi çeşitli parametreler deney sonucunu büyük ölçüde etkileyebilmektedir (Dinçer ve Kankaya, 2010).

DNA'da meydana gelen tek sarmal kırıklarının tespiti için ilk kez 1978 yılında insan lenfositlerinde araştırma yapan Rydberg ve Johanson, hafif bazik ortamda lam üzerindeki agaroz gömülmüş olan insan lenfosit hücelerini lizis edip daha sonra proteinlerden kısmen ayırmayı başarmışlardır. Rydberg ve Johanson, örnekleri daha sonra akrinin turuncusu ile boyayıp tek zincir için kırmızı floresans, çift zincir içinse yeşil floresans ışığın oranını belirlemişlerdir (Rydberg ve Johanson, 1978). Ancak, bu metod genel kabul görmemiştir. Bundan dolayı, 1984 yılında Ostling ve Johanson süspansiyon halindeki hüceleri lamın üzerine yayarak öncelikle yüksek tuz ve deterjan içeren ortamda lizis etmişlerdir. Daha sonra nötr ortamda gerçekleştirilen elektroforez tekniğiyle ve en sonunda da etidyum bromür (EtBr) boyaması yaparak DNA kırıklarının incelemişlerdir (Ostling ve Johanson, 1984). Ancak, DNA'da hasar oluşturan çoğu etken çift zincirden daha çok tek zincirde etkilidir. Tek zincirde meydana gelen DNA kırıkları nötr ortamda tam olarak saptanamadığı için Singh ve çalışma ekibi aynı işlemleri bazik ortamda gerçekleştirerek bu sorunu çözmüşlerdir. Ayrıca, nötral ortamda tam olarak engellenemeyen protein kontaminasyonu, alkali (bazik) ortam sayesinde proteinlerin büyük çoğunluğu çöktürülerek ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılabilmektedir (Singh ve diğ, 1988).

Günümüzde sıklıkla kullanılan Komet Testiyle hem çift zincir kırıkları hem de tek zincirde meydana gelen DNA hasarı belirlenebilmektedir. Lamın üstünde bulunan agaroz jele gömülü haldeki hücelerin zarı, lamların lizis solüsyonu içeren çözelti içine batırılmasıyla parçalanır ve sonuçta süpersarmal formdaki DNA makromolekülü nükleoid halindedir (Tice ve diğ, 2000; Azqueta ve diğ, 2013). Alkali ortamda gerçekleştirilen lizis işleminde DNA sarmalı gevşer ve daha sonra elektroforez aşamasında DNA ana yapısında bulunan fosfat grupları kaynaklı sahip olduğu genel negatif yük dolayısıyla pozitif yöne

doğru ilerlerken DNA'daki hasarın büyüklüğüyle doğru orantılı olarak kuyruklu yıldız görüntüsü oluşur. Oluşan bu kuyruklu yıldız görüntüsü sebebiyle bu yönteme 'KOMET' (*ingilizcesi COMET*) denmiştir (Collins ve diğ, 1997). Hasar içermeyen DNA uniform halinde ve nükleoid yapıda olduğundan, elektroforez sırasında kuyruk oluşturmada pozitif yöne doğru hareket etmektedir (Klaude ve diğ, 1996).

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra, örnekler EtBr, propidyum iyodür (PI), akridin turuncusu, 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) gibi DNA'ya bağlanan bir boya ile boyanıp floresans mikroskopla görüntülenir ve çeşitli yazılımlar kullanılarak sonuçlar istatistiki olarak değerlendirilir (McKelvey-Martin ve diğ, 1993; Tice ve diğ, 2000). Görüntü analizi için kullanılan yazılımlar sayesinde genotoksositeye dair pek çok parametre incelenebilmektedir. Bu parametreler arasında baş yoğunluğu, baş DNA (%), kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu, kuyruk DNA (%), kuyruk momenti ve Olive kuyruk momenti gibi parametreler sayılabilir (Tice ve Strauss, 1992; Collins ve diğ, 1997; Kassie ve diğ, 2000). Bunun haricinde, herhangi bir yazılımın kullanılmadığı, sonuçların tamamen fotoğraflardan görsel olarak değerlendirildiği durumlarda ise hücreler 0 (hasarsız/çok az hasarlı) – 4 (aşırı hasarlı) arasında değişen derecelerde kategorilendirilmektedir (Collins, 2004).

#### **2.4. Tezin Amacı**

Bu tez çalışmasındaki temel amacımız, günlük kullanımda sıkça karşımıza çıkan sentetik biyoyapıştırıcıların mutajenitelerinin belirlenmesi ve bu ticari ürünlerin biyobozunma süreçlerinde yaptıkları salınımların genotoksik açıdan DNA düzeyinde ve sitotoksik açıdan ise hücre ölüm oranının belirlenmesi düzeyinde herhangi bir değişim gerçekleştirip gerçekleştirmediğinin sırasıyla uygulanacak MTT ve Komet testleriyle *in vitro* olarak belirlenmesidir.

Yukarıda bahsedildiği üzere yaygın kullanıma sahip doku yapıştırıcılarının özellikle sitotoksik ve genotoksik özelliklerinin değerlendirilmesini içeren çalışmalar açısından literatürde büyük bir boşluk vardır. Yapılacak bu çalışmanın literatürdeki boşluğun doldurulması, aynı sistemde yapılan karşılaştırma ile kıyaslanabilir sonuçların ortaya konması ve özellikle de uygulayıcı ve kullananlar için yol gösterici olmasının yanı sıra toplumdaki genel bilinç düzeyinin artırılması nedenleriyle de oldukça önemli olacağı kanaatindeyiz.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Sentetik doku yapıştırıcılarının hazırlanmasında kullanılan içerikler ve kullanım alanları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1** Hazırlanan sentetik doku yapıştırıcılarının içerikleri ve kullanım alanları.

Doku Yapıştırıcısı	İçerik	Kullanım Alanı
<b>AF Cement 1 (CMT)</b>	<b>Paket:</b> Polimetil metakrilat (%87.6 a/a), benzoil peroksit (%2.4 a/a), baryum sülfat (%10 a/a) + <b>Ampul:</b> Metil metakrilat (%98.8 a/a), N,N dimetil p-toluidin (%1.2 a/a), hidrokinon	Kemik çimentosu olarak kemik çatlak veya kırıklarında dolgu materyali olarak kullanılmaktadır.
<b>Dycal® Dentin (DYC)</b>	<b>Temel:</b> 1,3 bütlen glikol disalisilat ester, kalsiyum fosfat, kalsiyum tungstat, çinko oksit, demir oksit + <b>Katalizör:</b> kalsiyum hidroksit, etil tolüen sülfonamid, çinko stearat, titanyum dioksit, çinko oksit, demir oksit	Direkt ve indirekt olarak kanal doldurmada kullanıldığı gibi restoratif dental materyaller, simanlar ve diğer kaide maddelerinin altında koruyucu astar olarak da kullanılmaktadır.
<b>Leukosan® Adhesive (LEU)</b>	2-oktil ve n-bütül siyanoakrilat + Violet boyası	Kolay kesikler, yaralanmalar ve cerrahi kesi gibi yaraların topikal kapatılmasında kullanılmaktadır.
<b>Poliüretan Akrilat (PU-A)</b>	PEG200, Zein proteini, izoforon diizosiyanat, $\beta$ -siklodekstrin + 2-izosiyanato etil akrilat	Laboratuvarımızda sentezlenen bu malzeme doku yapıştırıcısı olarak kullanılabilir.

Sentetik doku yapıştırıcılarının karakterizasyon ve analiz aşamalarında kullanılan kimyasallardan 3-[4,5-Dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT), NaOH, KOH, THF, DMF, PBS ve DMSO Merck firmasından tedarik edilmiştir. PEG200, zein

proteini, izoforon diizosiyanat,  $\beta$ -siklodekstrin, 2-izosiyanato etil akrilat, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), Fetal Bovine Serum (FBS), Streptomisin/Penisilin, yüksek erime dereceli agaroz (HMA), düşük erime dereceli agaroz (LMA), NaCl, EDTA, Tris, Tris base, Triton X-100, KOH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, metanol, izopropanol, etanol, HCl, tripan mavisi ve EtBr ise Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Ayrıca, LabSolute marka 24 ve 96 kuyucuklu plakalar hücre kültürü çalışmalarında kullanılmıştır.

### 3.2. Kullanılan Cihazlar

Hazırlanan sentetik doku yapıştırıcılarının karakterizasyonunda Perkin Elmer Spektrum Two model Infrared Spektroskopisi (FTIR), XE-100E marka Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM), SEO Phoenix-300 marka Sıvı Temas Açık Analizör, MTS firmasına ait Exceed Model E42 elektromekanik dinamometre ve standı, LEO Evo-40 VPX marka Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Shimadzu 50 marka Termogravimetrik Analizör (TGA)/Diferansiyel Termal Analizör (DTA), Shimadzu 60 marka Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) cihazlarının yanında hücre kültürü çalışmalarında Teknomar Chemocell LRCX-UV laminar flow kabini, Esco CO<sub>2</sub>'li inkübatör, Nüve NF 200 santrifüj, WiseBath su banyosu, BioTek marka Eon Mikroplate Spektrofotometre, NanoEnTek marka JuLI FL canlı hücre film analizörü, Olympus CKX41 marka invert mikroskop ve floresans sisteminin yanında Olympus cellSens Entry 2.1 bilgisayar yazılımı içeren bir HP masaüstü bilgisayar kullanılmıştır.

### 3.3. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Hazırlanması

CMT'nin hazırlanmasında paket içeriğindeki 35.04 g polimetil metakrilat (%87.6 a/a), 0.96 g benzoil peroksit (%2.4 a/a) ve 4 g baryum sülfat (%10 a/a) içeren toz kısım ampul içindeki 19.76 ml metil metakrilat (%98.8 a/a), 0.24 ml N,N dimetil p-toluidin (%1.2 a/a) ve 18-20 ppm hidrokinon içeren çözgenle iyice karıştırılarak homojen bir karışım olması sağlandıktan sonra çözgenin buharlaşmasıyla yapıştırıcı sert ve katı polimer formunu kazanmıştır.

DYC'nin hazırlanmasında paket içeriğinde bulunan temel kısmı oluşturan 1,3 bütillen glikol disalisilat ester, kalsiyum fosfat, kalsiyum tungstat, çinko oksit ve demir oksit yine paketteki katalizör kısım olan kalsiyum hidroksit, etil tolüen sülfonamid, çinko stearat, titanyum dioksit, çinko oksit ve demir oksit ile eşit hacimde düz bir cam yüzeyde homojen

kariştirilerek kuruması beklendikten sonra yzeyden kazınıp yer yer bzyk parçalar içeren katı toz halinde elde edilmiştir.

LEU'nun hazırlanma aşamasında ise ticari olarak satın alınan 0.7 ml'lik tpler sıklarak yapıştırıcının dzy ve kolayca kazınabilir bir cam zemine uygulanmasıyla içeriğindeki çzygenin tam olarak uçuktan sonra yzeyden kazınmasıyla katı olarak elde edilmiştir. İçeriğinde 2-oktil ve n-bütıl siyanoakrilat olan LEU, violet boyası içerdiğinden mor renklidir.

PU-A'nın laboratuvarımızda sentezlenmesi aşamasında PEG200, zein proteini, izoforon diizosiyanat ve  $\beta$ -siklodekstrin THF çzyeltisi içinde 24 saat 75°C'de inert şartlar altında kariştirilmiş ve daha sonra 2-izosiyano etil akrilat ile inert şartlar altında oda sıcaklığında 5 saat reaksiyona sokulmasının ardından polimerde çapraz bağlanmaların meydana gelerek polimerin son halini alması için UV altında 15 dakika kurlenme yapılmıştır.

### **3.4. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Yapısal ve YzeySEL Özelliklerinin Karakterizasyonu**

Hazırlanan farklı yapısal özelliklere sahip sentetik doku yapıştırıcıları FTIR ve sıvı temas ölçüm yöntemleri kullanılıp yapısal olarak karakterize edilmiştir. Ayrıca hazırlanan yapıştırıcılara ait yzey morfolojileri SEM ve AFM analiz teknikleri ile belirlenmiştir.

#### *Infrared Spektroskopisi (FTIR)*

Sentetik ticari doku yapıştırıcılarının yapısal karakterizasyonu FTIR Spektroskopisi kullanılarak gerçekteştirilmiştir. Spektrumlar, Perkin Elmer Spektrum Two model spektrometre cihazının ATR ölçüm modu ile 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında kaydedilmiştir.

#### *Sıvı Temas Açı Analizör*

Poliüretan film yzeylerinin hidrofilik özellikleri SEO Phoenix-300 marka temas açısı ölçüm cihazıyla gerçekteştirilmiştir. Sıvı temas açısı her bir numune için oda sıcaklığında enjektörden tekli damlatma yöntemiyle belirlenen altı ölçümün ortalaması alınarak sonuçlar verilmiştir.

#### *Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)*

Sentetik ticari doku yapıştırıcılarının yzey özelliklerini belirlemede kullanılan SEM ölçümü için İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi'ndeki LEO Evo-

40 VPX SEM cihazından faydalanılmıştır. SEM analizlerinden önce örneklerin yüzeyleri bir püskürtmeli kaplayıcı (BAL-TEC SCD-050, Leica Biosystems, Wetzlar, Almanya) kullanılarak 20 nm olacak şekilde Au/Pd ile kaplanmıştır.

#### Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

Sentetik ticari doku yapıştırıcılarının yüzey morfolojileri AFM (XE-100E; Park Systems Corp., Suwon, Güney Kore) cihazı kullanılarak incelenmiştir. AFM analizleri non-contact AFM modu ve silikon destek kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.5. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Termal Karakterizasyonu**

Sentetik ticari doku yapıştırıcılarının termal karakterizasyonu TGA, DTA ve DSC teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### Termogravimetrik Analiz (TGA)

Farklı kompozisyonlarda hazırlanan polimerlerin termal özelliğinin göstergesi olan sıcaklık-%kütle kaybı eğrisi Shimadzu 50 Termogravimetrik Analizör cihazı kullanılarak kaydedilmiştir. Polimerlerin (numune miktarı: 10 mg) %10'luk kütle kaybı değerleri ve 800°C'de kalıntı değerleri hava atmosferinde 10°C/dakika ısıtma hızı ile belirlenmiştir.

#### Diferansiyel Termal Analiz (DTA)

Polimerlerin bozulma sıcaklıkları başlangıç değerleri ve termal bozulma sıcaklık eğrisi Shimadzu 50 Diferansiyel Termal Analizör cihazı ile saptanmıştır. Analiz hava atmosferinde 10 mg numunenin, referans madde olarak  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> kullanımı ile 10°C/dak. ısıtma hızı ile gerçekleştirilmiştir.

#### Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

Polimerlere ait camsı geçiş sıcaklıklarının saptanmasında Shimadzu 60 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre cihazı kullanıldı. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre cihazının kalibrasyonu indiyum ve çinko standartları ile sağlandı. Analiz azot atmosferinde 5 mg numunenin, referans madde olarak  $\alpha$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> kullanımı ile 5°C/dak. ısıtma hızı ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.6. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Mekanik Adezyon Testi

Hazırlanan sentetik ticari doku yapıştırıcılarının yapışma kuvvetini belirlemek amacıyla MTS Exceed Model E42 elektromekanik dinamometre ve standı kullanılarak mekanik adezyon testi yapılmıştır. Analizler belirli miktarda numunenin uygun yüzeye uygulanması ve oda sıcaklığında çekme testine tabi tutulması ile gerçekleştirilmiştir. Analizlerde polimetil metakrilat (PMMA) yapılı kemik çimentosu CMT, DYC ve siyanoakrilat temelli LEU yapıştırıcılar için 1 cm x 10 cm ölçülerinde Al şeritler kullanıldı. UV kürlenebilir poliüretan yapısı için ise 2.6 cm x 7.6 cm ölçülerine sahip cam lamalar kullanıldı. Test numunelerinin şematik yapısı ve çekme test yönü Şekil 3.6.1 ve Şekil 3.6.2.'de gösterilmiştir. Bu yapılara 1 cm genişliğinde 0.05 g olarak yapıştırıcı örneği uygulandıktan sonra yapışmanın sağlanması için yaklaşık olarak 1 saat 50 g'lık ağırlık uygulandı. Elde edilen test numunesinden 5 adet çekme işlemi yapıldı ve sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi.

Her çekme testi için elde edilen kuvvet ve yer değiştirme verileri, analiz için gerilime ve % gerinmeye dönüştürüldü. Stres, mühendislik stresi olarak hesaplandı (1):

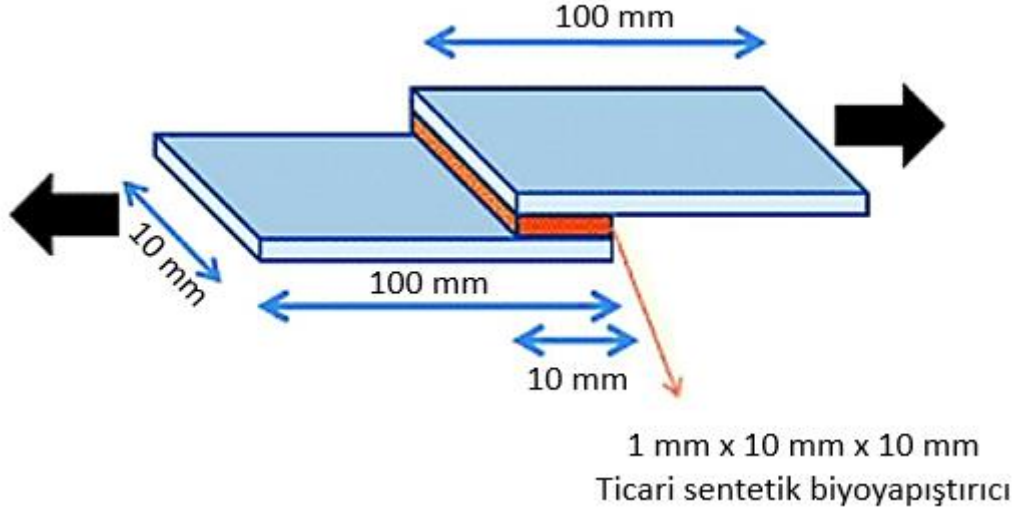
$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (1)$$

Burada F uygulanan anlık kuvvettir ve A, uygulanan kuvvete dik olan numunenin başlangıç kesit alanıdır (Taylor ve diğ, 2007). Sert kütükül numunelerinin kesit alanını hesaplamak için, genişlik ve kalınlık dijital bir kumpas kullanılarak ölçüldü. Sert kütükülün kalınlığı ortalama 0.1 mm'dir.

% Gerinme, mühendislik gerinimi olarak hesaplandı (2):

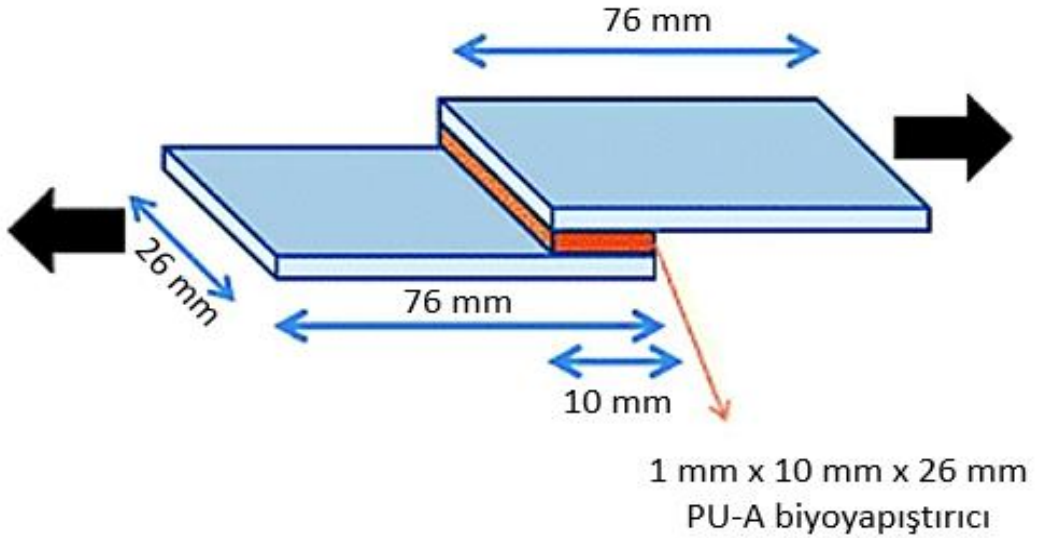
$$\epsilon = \frac{\Delta L}{L_0} \quad (2)$$

Burada  $\Delta L$  numunenin uzunluğundaki değişimdir ve  $L_0$  ilk numune uzunluğudur (Taylor ve diğ, 2007). Gerçek gerginlik yerine mühendislik geriliminin kullanılması, ölçülen gerilmelerin tümü nispeten düşük olduğundan (%12'den az) ortaya çıkacak hatalı yorumlamaları engellemektedir.



**Şekil 3.6.1.** Mekanik adezyon test numunelerinin şematik yapısı ve çekme test yönü (PMMA yapılı kemik çimentosu CMT, DYC ve siyanoakrilat temelli LEU yapıştırıcılar için alüminyum test numunesi)

Laboratuvarımızda sentezlenen PU-A ise polimerdeki çapraz bağlanmanın UV ile gerçekleştirilebilmesi için lamalar arasına uygulanıp ASTM standartlarına uygun olarak beş tekrarlı olarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar MPa gerilime karşılık % gerinim olarak grafik haline getirilmiştir.



**Şekil 3.6.2.** Mekanik adezyon test numunelerinin şematik yapısı ve çekme test yönü (UV kürlenebilir poliüretan akrilat PU-A yapısı için cam test numunesi)

Her bir test numunesi için oluşturulan gerilim - % gerinme grafikleri kullanılarak Young'un esneklik modülü (sertlik), gerilme kırılma mukavemeti, Tepe Gerilimi ve tepe yükü değerleri hesaplandı. Young'un gerilimdeki malzemenin modülü, gerilimin gerinmeye oranı yani grafiğin eğimidir. Bir malzemenin gerilme mukavemeti, kırılma anındaki gerilmedir.

### **3.7. *In Vitro* Hücre Kültür Sisteminde Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Sitotoksosite Özelliklerinin Belirlenmesi**

Hazırlanan sentetik biyoyapıştırıcıların hücre kültür sisteminde indirekt sitotoksosite testiyle *in vitro* biyoyuymuluk testleri yapılmıştır. Doku yapıştırıcılarının indirekt sitotoksisiteleri L-929 fare (*Mus musculus*) fibroblast ve HepG2 insan karaciğer kanseri hücreleri üzerinde 3-[4,5-Dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi yapılarak belirlenmiştir. Deney protokolü ISO-10993-5 “Biological Evaluation of Medical Devices” standartlarına göre hazırlanmıştır. Deneyin sonucunda, farklı doku yapıştırıcılarıyla maruz kalan besiyerinin kültüre edilen hücrelere indirekt olarak uygulanmasıyla hücrelerde meydana gelen sitotoksik ve morfolojik değişiklikler ters ışık mikroskobu kullanılarak incelenmiş ve hücrelerin fotoğrafları çekilmiştir.

#### **MTT Testi**

Kantitatif olarak renk değişiminin ölçümüne dayanan ve spektrofotometrik bir yöntem olan MTT testi kullanılarak, *in vitro* koşullarda hücre canlılığına bağlı sitotoksosite ölçülmüştür. Sarı renkli bir tetrazolyum tuzu olan MTT, hücre içine absorbe olmaktadır. Mitokondriyal redüktaz enzimine afinite gösteren bu tuz, suda çözünmeyen formazana indirgenir. Hücrelerin MTT indirgeme özelliği hücre canlılığının ölçütü olarak kabul edilmektedir. Formazanın bir organik çözücü olan DMSO ile çözünür hale geçmesiyle oluşan mavi-mor renk spektrofotometreyle 570 nm dalga boyunda ölçülebilmektedir. MTT analizi sonucunda ölçülen bu absorbans değeri canlı hücre sayısı ile doğru orantılıdır.

İndirekt sitotoksosite değerlerinin saptanabilmesi için uygulanan MTT testinde biyoyapıştırıcıların hazırlanması işlemi yapılmıştır. Her ne kadar ticari olarak satılan doku yapıştırıcıları steril olmalarına rağmen laboratuvarımızda sentezlediğimiz PU-A ile aynı muameleyi görmeleri bakımından tüm yapıştırıcılara sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. 0.1 g tartılan sentetik yapıştırıcıların üzerine 1 ml saf etanol eklenerek 5 dakika bekletildikten sonra alkolün uzaklaşması sağlanarak biyoyapıştırıcılar 3 kez steril PBS (pH 7.4) ile

yıkanmıştır. Biyoyapıştırıcı malzemelerin üzerine 1 ml DMEM besiyeri (%10 FBS ve %1 Streptomisin/Penisilin) eklenmiş ve doku yapıştırıcıları 72 saat süre ile 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda besiyeri alınıp önceden L-929 veya HepG2 hücresi ekilmiş 96-kuyucuklu plakalara eklenmiştir.

Önceden kültür edilmiş L-929 ve HepG2 hücreleri 96-kuyucuklu plakalara sırasıyla  $10^4$  hücre/kuyucuk ve  $1.5 \times 10^4$  hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilerek 24 saat 37°C sıcaklıkta %5 karbondioksitli ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda hücreler üzerindeki besiyerleri uzaklaştırılmış ve doku yapıştırıcılarıyla 72 saat süreyle 37°C'de inkübe edilen besiyerleri 100 µl/kuyucuk olacak şekilde plakalara eklenip 24 saat ve 48 saat olmak üzere inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süreleri bitiminde hücrelerin içinde bulunduğu besiyeri kuyucuklardan uzaklaştırılmış ve kuyucuklara %10 h/h olacak şekilde MTT (5 mg/ml, PBS, pH 7.4 içerisinde) çözeltisi içeren taze besiyeri karanlık ortamda eklenerek 4 saat süresince 37°C'de inkübe edilmiştir. Uygulamadan sonra 96-kuyucuklu plakalardaki vasat atılarak plakalara karanlık ortamda 100 µl DMSO eklenmiştir. Ardından mikroparka okuyucu kullanılarak 570 nm'deki absorbands değerleri ölçülerek canlı hücre değerleri yüzde olarak saptanmıştır. (+) Kontrol kuyucuklarının absorbands değerleri yüzde yüz canlı olarak kabul edilmiş ve sentetik biyoyapıştırıcıların yüzde canlılık sonuçları kontrol grubu karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. (-) Kontrol olarak ise besiyeri yerine sadece DMSO içeren ortam kullanılmıştır. Çalışmamızdaki sonuçlar, sentetik biyoyapıştırıcıların L-929 ve HepG2 hücreleri üzerindeki 24 ve 48 saatlik indirekt sitotoksosite değerleri ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir.

### **3.8. *In Vitro* Hücre Kültür Sisteminde Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Genotoksisite Özelliklerinin Belirlenmesi**

#### **Komet Testi (Tek Hücre Jel Elektrofrezisi)**

Çalışmamızda 24-kuyucuklu plakalara ekilen L-929 ve HepG2 hücreleri 24 saat 37°C sıcaklıkta %5 karbondioksitli ortamda inkübe edilerek hücrelerin kuyucukların tabanına yapışmaları sağlanmıştır. Daha sonra kuyucuklara yapışan hücrelere ait vasat atılarak, yerine biyoyapıştırıcılarla 72 saat boyunca inkübe edilen besiyerleri konmuştur. Sonraki aşama olarak, DYC ile 72 saat boyunca inkübe edilen besiyeri için 24 saat sonunda; CMT, LEU ve PU-A ile 72 saat boyunca inkübe edilen besiyerleri içinse 48 saat sonunda hücreler tripsin ile 24-kuyucuklu plakadan kaldırıldıktan sonra komet testine başlanmıştır.

Komet testi için öncelikle lamların hazırlanması gerekmektedir. Bunun için öncelikle %1 olacak şekilde yüksek erime dereceli agaroz (HMA), PBS tamponu içerisinde konulmuştur. HMA, PBS tampon içerisinde mikrodalga sayesinde tamamen çözünüp sıvı hale geldikten sonra önceden buzdolabında soğutulmuş lamlar bu solüsyon içine daldırılıp çıkartılarak lamların üzerinde ince bir film tabaka oluşturulmuştur. Daha sonra lamlar buz kalıplarının üzerinde kurumaya bırakılmıştır. Ayrıca %0.5 olacak şekilde düşük erime dereceli agarozun (LMA) da mikrodalga cihazı kullanılarak PBS tamponu içinde 70°C'de tamamen çözünmesi sağlanmıştır. 24-kuyucuklu plakadan tripsinle kaldırılan biyoyapıştırıcılarla dolaylı olarak etkileşimde bulunan hücreler 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra pellette bulunan hücrelerin üstüne taze besiyeri koyulmuştur. Böylece hücre yoğunluğu seyreltilerek komet testi için uygun duruma getirilmiştir. (-) Kontrol olarak biyoyapıştırıcılarla dolaylı olarak herhangi bir etkileşimde bulunmayan hücreler, (+) Kontrol olarak ise 5 dakika boyunca %35'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile muamele edilen hücreler kullanılmıştır. Daha sonra, 37°C'deki sıvı haldeki LMA içine seyreltilmiş hücre içeren besiyerinden az miktarda eklenip yavaşça pipetleme yapılmıştır. Devamında, karışım önceden hazırlanan HMA ile yüzeyleri ince bir film tabaka kaplanmış lamlar üzerine yayılıp hemen arkasından lamel kapatılmasıyla buz kalıplarının da yardımıyla hızlıca katılaşması beklenmiştir. Hazırlanan lamlar tamamen katılaştıktan sonra lamel dikkatli bir şekilde kaldırılmıştır. Bir sonraki aşama olarak lamlar üzerindeki agaroz tabaka içinde gömülü halde bulunan hücrelere lizis işlemi yapılmıştır. Taze olarak hazırlanan lizis solüsyonu (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris base, pH 10, %1 Triton X-100 ve %10 DMSO) soğutulduktan sonra lamlar bu çözelti içerisinde yatay olarak batırılarak çözeltinin lamların üzerini tamamen kapatması sağlanmış ve 1 saat süreyle +4°C'de buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra lamlar elektroforez tankına yerleştirilerek üzerine soğuk elektroforez tamponu (0.3 M NaOH, 1 mM EDTA, pH 13) eklenmiştir ve sistem çalıştırılmadan elektroforez tankının etrafına sistem çalışırken oluşacak ısı artışını azaltmak için buz kalıpları yerleştirilmiştir. DNA zincirinin gevşemesi için alkali ortam içeren tampon içindeki lamlar 30 dakika bekletilmiştir. Yarım saatin ardından elektroforez sistemi 300 mA, 15 volt ve 30 dakika olacak şekilde çalıştırılmıştır. Daha sonraki son basamak olarak nötralizasyon aşamasında ise elektroforez sistemi kapatılıp numuneler tank içinden çıkarıldıktan sonra 15 dakika boyunca +4°C'de nötralizasyon solüsyonunda (0.4 M Tris tamponu, pH 7.5) tamamen batık olarak buzdolabında bekletilmiştir. İşlem tamamlandıktan sonra nötralizasyon solüsyonundan çıkartılan lamlar kurutulmuş boyama aşamasına geçilmiştir. EtBr çözeltisinden (20 mg/ml) 60 µl alınarak her lamın üzerine damlatılmış ve lamların üstü hemen lamel ile kapatılarak

görüntüler karanlık ortamda floresans sistem içeren invert mikroskop (Olympus CKX41) kullanılarak incelenmiştir. Mikroskobun bağlı olduğu bilgisayarda bulunan Olympus cellSens Entry 2.1 yazılımından faydalanılarak L-929 ve HepG2 hücrelerinin 200X ve 400X fotoğrafları çekilmiştir. Genotoksisite sonucu hücrelerde meydana gelen DNA hasarını belirlemek için her gruptan ikişer tekrarlı olarak rastgele seçilen kırkar hücrenin Baş Yoğunluğu (Piksel), Baş DNA (%), Kuyruk Uzunluğu (Piksel), Kuyruk Yoğunluğu (Piksel), Kuyruk DNA (%), Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momenti olmak üzere toplamda yedi parametreye ait değerleri CometScore 2.0 yazılımı kullanılarak komet testi sonuçları analiz edilmiştir.

Komet testi kullanılarak DNA'da oluşan hasar toplamda iki kısımdan oluşmaktadır: Baş DNA (%) ve Kuyruk DNA (%). Kometin baş kısmındaki DNA yüzdesine Baş DNA (%) ve kuyruk kısmındaki DNA yüzdesine de Kuyruk DNA (%) denir ve bu iki parametrenin toplamı %100'dür. Bu parametrelerin yanında Kuyruk Uzunluğu (Piksel), Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momenti gibi parametreler de incelenerek genotoksisite açısından örnekler değerlendirilmektedir. Bu parametrelerin her biri şöyle hesaplanmaktadır:

**Kuyruk Uzunluğu (Piksel)** = DNA'daki Hasar Sonucu Meydana Gelen Göç Mesafesi

**Komet DNA Yoğunluğu (Piksel)** = Baş Yoğunluğu (Piksel) + Kuyruk Yoğunluğu (Piksel)

**Baş DNA (%)** = [Baş Yoğunluğu (Piksel) / Komet DNA Yoğunluğu (Piksel)] x 100

**Kuyruk DNA (%)** = [Kuyruk Yoğunluğu (Piksel) / Komet DNA Yoğunluğu (Piksel)] x 100

**Komet DNA (%100)** = Baş DNA (%) + Kuyruk DNA (%)

**Kuyruk Momenti** = [Kuyruk DNA (%) x Kuyruk Uzunluğu (Piksel)] / 100

**Olive Kuyruk Momenti** = [(Baş Merkezi - Kuyruk Merkezi) X Kuyruk DNA (%)] / 100

İstatistiksel yöntem olarak verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Veriler medyan, minimum ve maksimum değerler ile özetlenmiştir. Tüm gruplar normal dağılıma uymadığı için karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis testi ve sonrasında Conover ikili karşılaştırma yöntemi kullanılmıştır. Tüm testlerde anlamlılık düzeyi 0.05 olarak kabul edilmiştir. Analizlerde IBM SPSS Statistics 26.0 yazılımı kullanılmıştır.

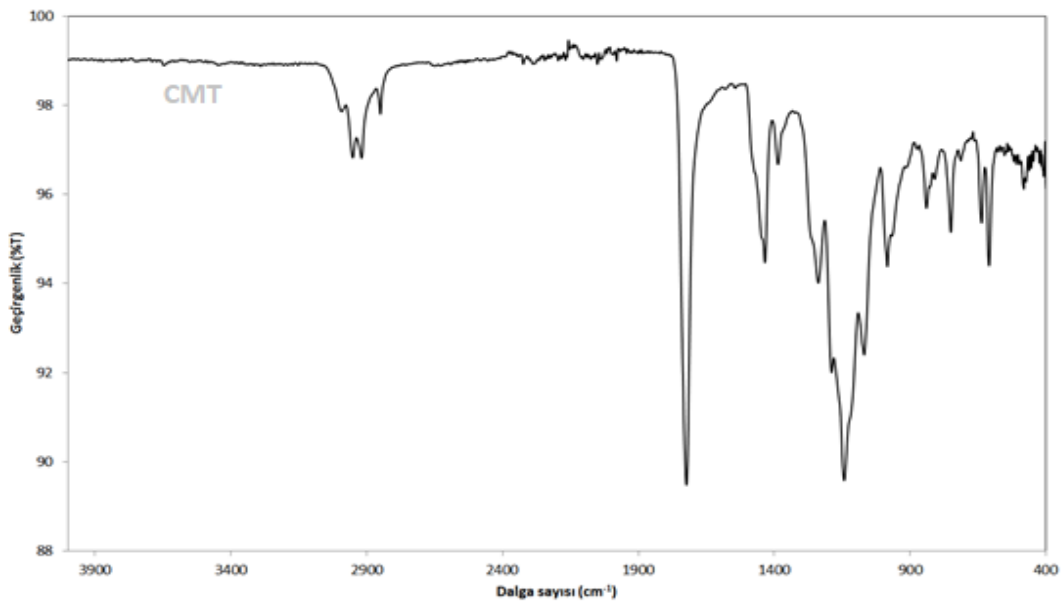
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Yapısal ve Termal Karakterizasyonu

#### 4.1.1. CMT yapılarının karakterizasyonu

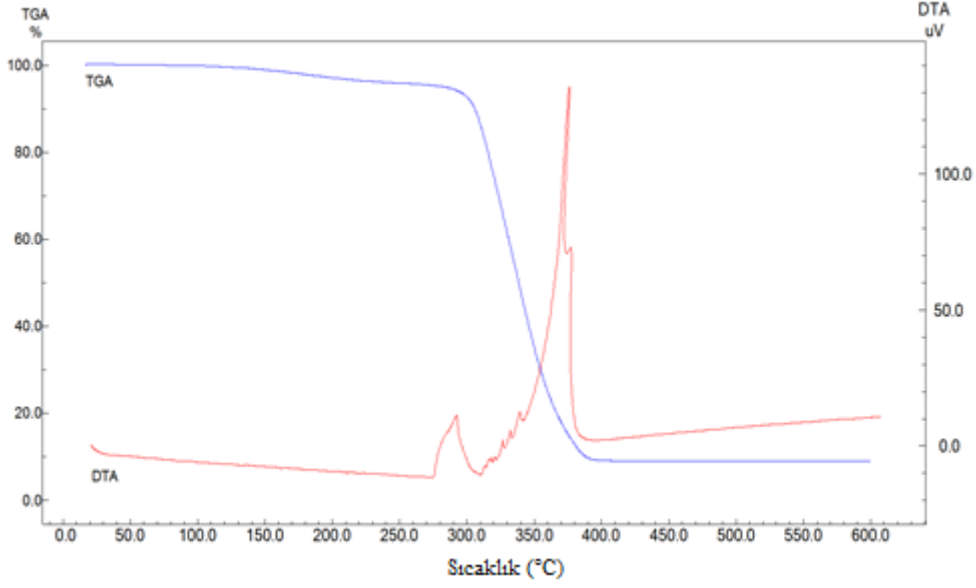
Ticari olarak satın alınan kemik çimentosunun isimlendirilmesinde CMT kısaltması kullanılmıştır. Hazırlanan sentetik ticari doku yapıştırıcılarından CMT'nin FTIR ve sıvı temas ölçüm yöntemleri ile yapısal özellikleri tanımlanmıştır. Hazırlanan yapıların termal özellikleri, ısıl işlem dahilinde termal değişim profilinin belirlenmesi ve degradasyon özelliklerinin incelenmesi için TGA, termal stabilitenin belirlenmesi ve bozunma enerjilerinin hesaplanması için DTA, yapısal esneklik ve yumuşama özelliklerinin ölçümünde ise DSC analizleri kullanılmıştır. Ayrıca hazırlanan doku yapıştırıcısının yüzeysel özellikleri AFM ve SEM ile belirlenmiştir.

CMT yapısına ait FTIR spektrumu Şekil 4.1.1.1.'de verilmiştir. Klasik polimetil metakrilat yapısına ait pikler görülmektedir. Öncelikle ana iskelet yapısından kaynaklı CH<sub>2</sub> ünitelerine ait C-H gerilme titreşimlerini 2850-2950 cm<sup>-1</sup>'de görmekteyiz. Ayrıca, C-H simetrik gerilme titreşimini 750-840 cm<sup>-1</sup>'de görmekteyiz. Karbonil gerilme titreşimi esterik karakterde olup 1720 cm<sup>-1</sup>'de belirgin olarak görülmektedir. C-C ana iskelet yapısı pikleri 1435 cm<sup>-1</sup>'de görülmektedir. 1142 cm<sup>-1</sup>'deki şiddetli pik ise C-O-C eterik gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Yapıda karakteristik olarak 2 farklı metil ünitesi vardır. Bu metil ünitelerine ait C-H gerilme titreşimleri 2800 cm<sup>-1</sup>'de asimetrik gerilme titreşimi olarak ve 638 cm<sup>-1</sup>'de belirgin olarak görülmektedir.



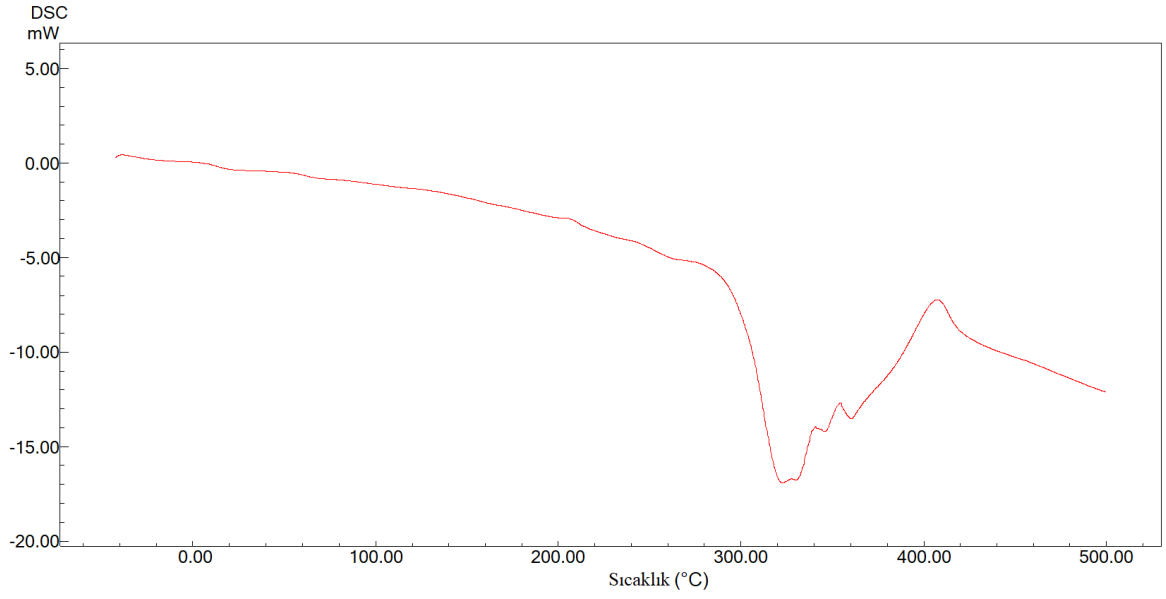
Şekil 4.1.1.1. CMT'ye ait FTIR spektrumu

CMT'ye ait TGA ve DTA termogramları Şekil 4.1.1.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.1.1.2. CMT'ye ait TGA ve DTA termogramları

Şekil 4.1.1.2.'deki TGA termogramında iki temel kütle kaybı değeri görülmektedir. Birinci kütle kaybı 100°C ve 300°C arasında görülen ve yaklaşık olarak %10 civarında olan kütle kaybıdır. Bu kütle kaybı PMMA yapısında bulunan nemin uzaklaşmasından ve zayıf baş-baş bağlanma noktalarının dekompozisyonundan kaynaklanmaktadır. Ayrıca 290°C civarında polimerik yapı uç gruplarından depolimerizasyon da başlamaktadır (Youssef ve diğ, 2017). İkinci kütle kaybı ise 300°C ve 385°C arasında gerçekleşmektedir. Yaklaşık %85 civarında olan bu kütle kaybı PMMA yapısının termal degradasyonundan kaynaklanmaktadır (Ishaq ve diğ, 2012). ~ %5 civarında sabit kütleli bir kalıntı ise kemik yapısına uyumun artırılması için kemik çimentosu yapısına katılan inorganik katkı maddesinden kaynaklanmaktadır. DTA termogramı bu yapı ile uyumlu olarak görülmektedir. 260-290°C arasında PMMA yapısındaki uç grupların ve zayıf bağlanma noktalarının kırılmasından kaynaklanan bir ekzoterm görülmektedir. 300°C ve 380°C arasında ise PMMA yapısının termooksidatif degradasyonundan kaynaklanmakta olan belirgin bir pik görülmektedir.



**Şekil 4.1.1.3.** CMT'ye ait DSC termogramı

Şekil 4.1.1.3.'te PMMA yapılı kemik çimentosuna ait DSC termogramı verilmiştir. Burada ısıtma işlemi, 30°C ila 500°C arasında bir hızda gerçekleştirildi ve 10°C/dak ısıtma programı uygulandı. PMMA yapılı kemik çimentosuna ait camsı geçiş sıcaklığı (T<sub>g</sub>) 59.50°C (-0.12 mW/mg) olarak belirlenmiştir.

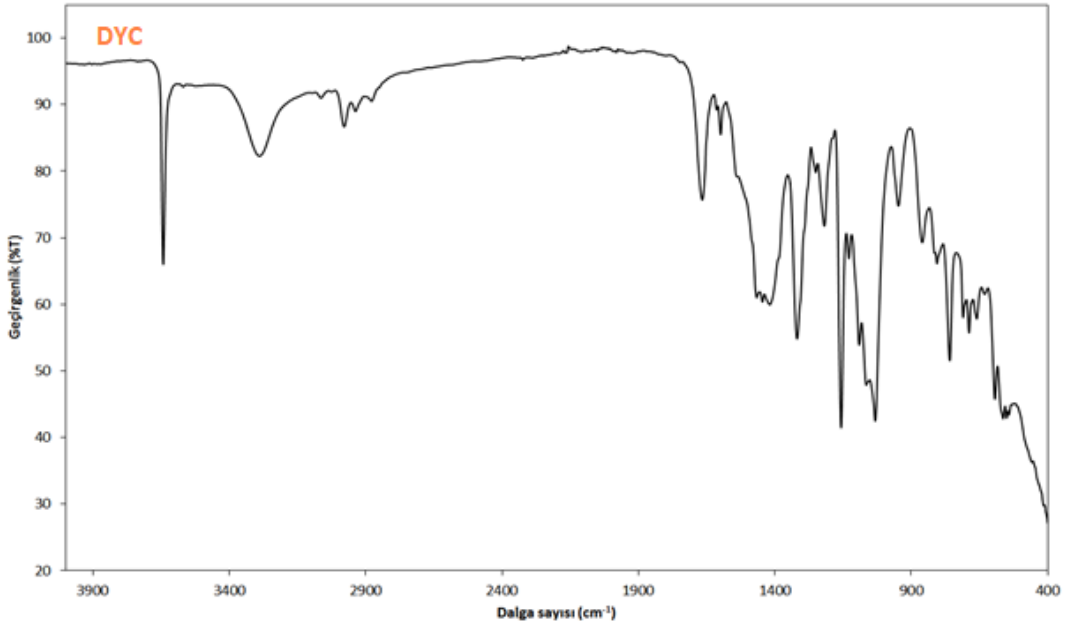
CMT'ye ait sıvı temas açısı 96.55±3.33° olarak ölçülmüş ve Şekil 4.1.1.4.'te verilmiştir.



**Şekil 4.1.1.4.** CMT'ye ait sıvı temas açısı görüntüsü

#### 4.1.2. DYC yapılarının karakterizasyonu

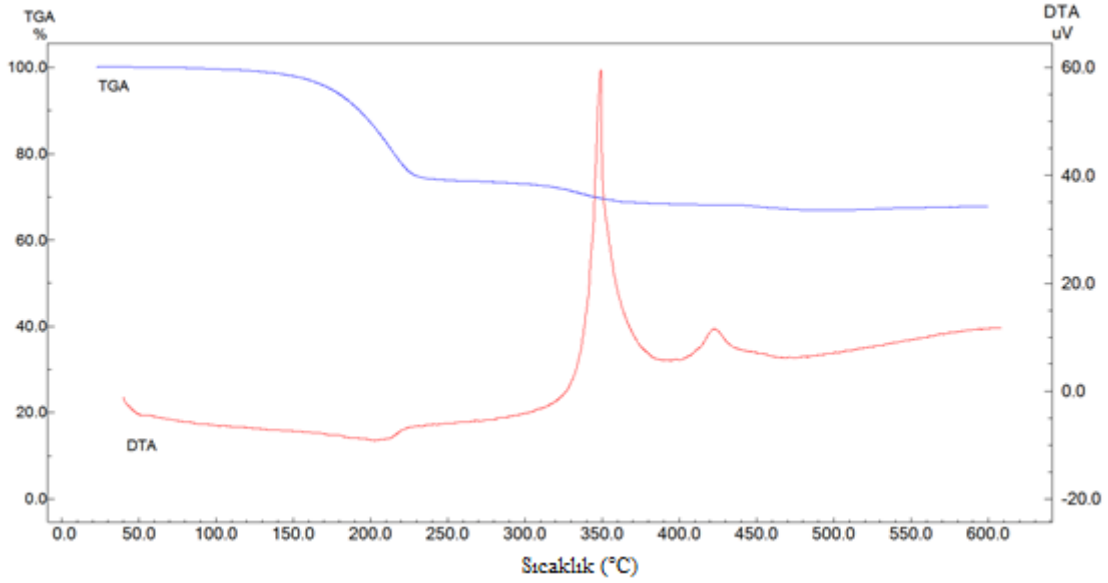
Ticari olarak satın alınıp dışılıkte kullanılan simanlar ve diğer kaide maddelerinin altında koruyucu astar olarak uygulanan biyomalzeme için DYC kısaltması kullanılmıştır. Hazırlanan sentetik ticari doku yapıştırıcılarından DYC'nin FTIR ve sıvı temas ölçüm yöntemleri ile yapısal özellikleri tanımlanmıştır. Ayrıca hazırlanan yapıların termal özellikleri, ısıl işlem dahilinde termal değişim profilinin belirlenmesi ve degradasyon özelliklerinin incelenmesi için TGA, termal stabilitenin belirlenmesi ve bozunma enerjilerinin hesaplanması için DTA, yapısal esneklik ve yumuşama özelliklerinin ölçümünde ise DSC analizleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1.2.1. DYC'ye ait FTIR spektrumu

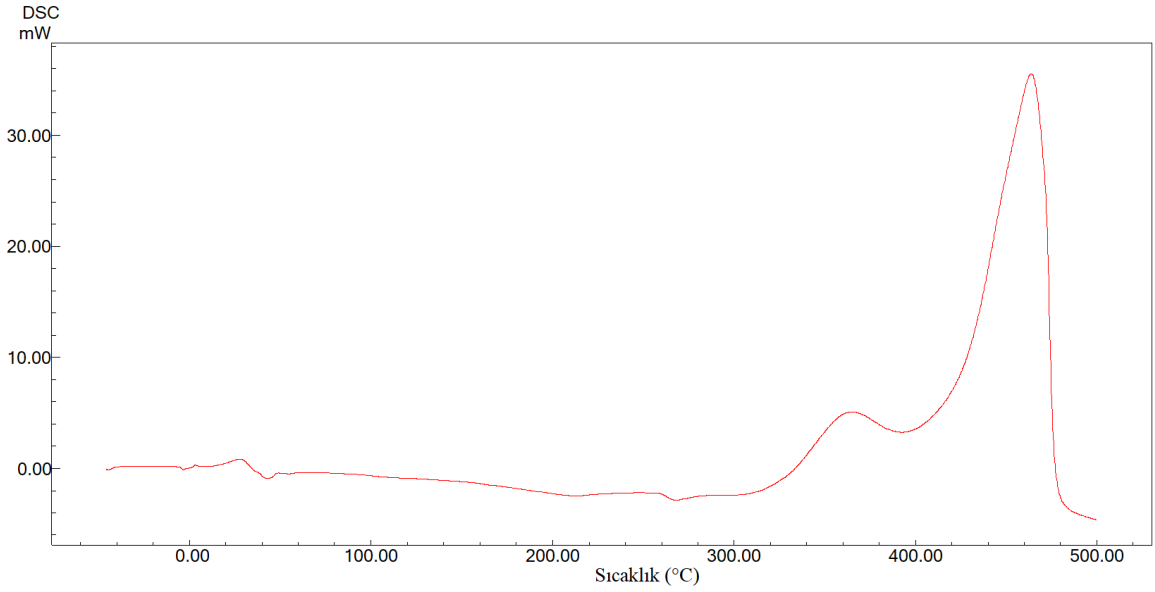
Karma bir ürün formunda olan DYC yapıştırıcısı bileşenlerinden kaynaklı FTIR spektrumu incelendiğinde öncelikle fosfat ve tungstan yapısından kaynaklı  $\sim 1000 \text{ cm}^{-1}$  olan geniş bir pik vermektedir (Şekil 4.1.2.1.). Çinko oksit ve demir oksit yapılarından kaynaklı olarak  $550 \text{ cm}^{-1}$ 'de Zn-O ve Fe-O pikleri görülmektedir. Bu partiküllerin yüzey hidroksilleri ve kalsiyum hidroksit yapısından kaynaklı olarak  $3640 \text{ cm}^{-1}$ 'de şiddetli ve keskin bir pik görülmektedir. Organik monomer yapısında bulunan CH<sub>2</sub> ünitelerine bağlı C-H gerilme titreşimi  $2870$ ,  $2930$  ve  $2980 \text{ cm}^{-1}$ 'de asimetrik karakterli olarak görülmektedir. Simetrik C-H gerilme titreşimi ise  $750 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülmüştür. Diğer pikler organik yapıdan kaynaklanmakta olup  $1660 \text{ cm}^{-1}$ 'de karbonil gerilme titreşimi,  $1316 \text{ cm}^{-1}$ 'de salisilik asit yapısı C-H gruplarına ait pikler görülmektedir.  $3000\text{-}3400 \text{ cm}^{-1}$  aralığında ise titanyum

dioksit, demir oksit ve çinko oksit yüzey yapılarına ait hidrojen bağı gerilme titreşimleri belirgindir.



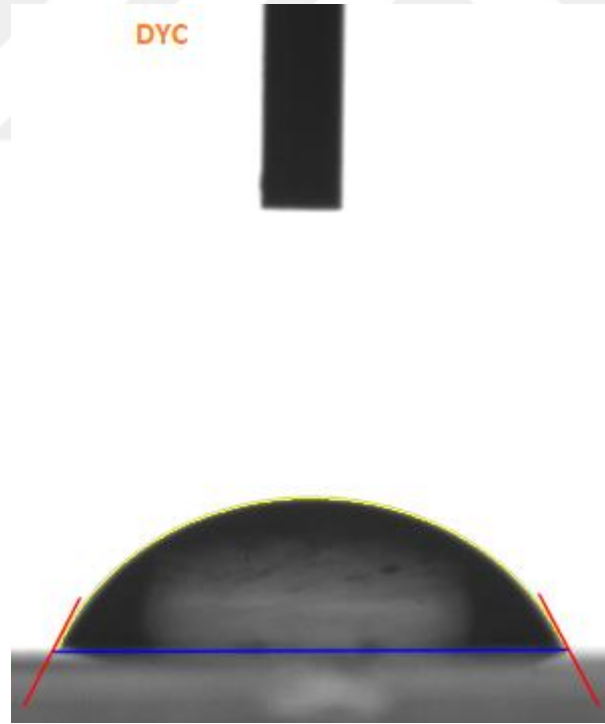
Şekil 4.1.2.2. DYC'ye ait TGA ve DTA termogramları

DYC numunesinin DTA ve TGA termogramları Şekil 4.1.2.2.'de görülmektedir. TGA termogramında 2 kademeli bir kütle kaybı görülmektedir. Birinci kademede yaklaşık 150°C ve 220°C arasında organik grupların lineer ünitelerinin termal bozunması görülmektedir. 220°C ile 400°C arasında ise tüm organik grupların termal degradasyonu söz konusudur. Yapıda 600°C'de %70'lik bir kalıntı bulunmaktadır. Bu inorganik katkı maddesinden kaynaklanmaktadır. Yapının DTA termogramında üç farklı ekzotermik pik görülmektedir. Yapının bozunması 200°C'de başlayıp 460°C'de sonlanmaktadır. Şekil 4.1.2.3'de verilen DYC numunesinin DSC termogramının DTA termogramı ile orantılı olarak üç farklı ekzoterm piki verdiği görülmektedir.



**Şekil 4.1.2.3. DYC'ye ait DSC termogramı**

DYC'ye ait sıvı temas açısı  $65.23 \pm 3.69^\circ$  olarak ölçülmüş ve Şekil 4.1.2.4.'te verilmiştir.

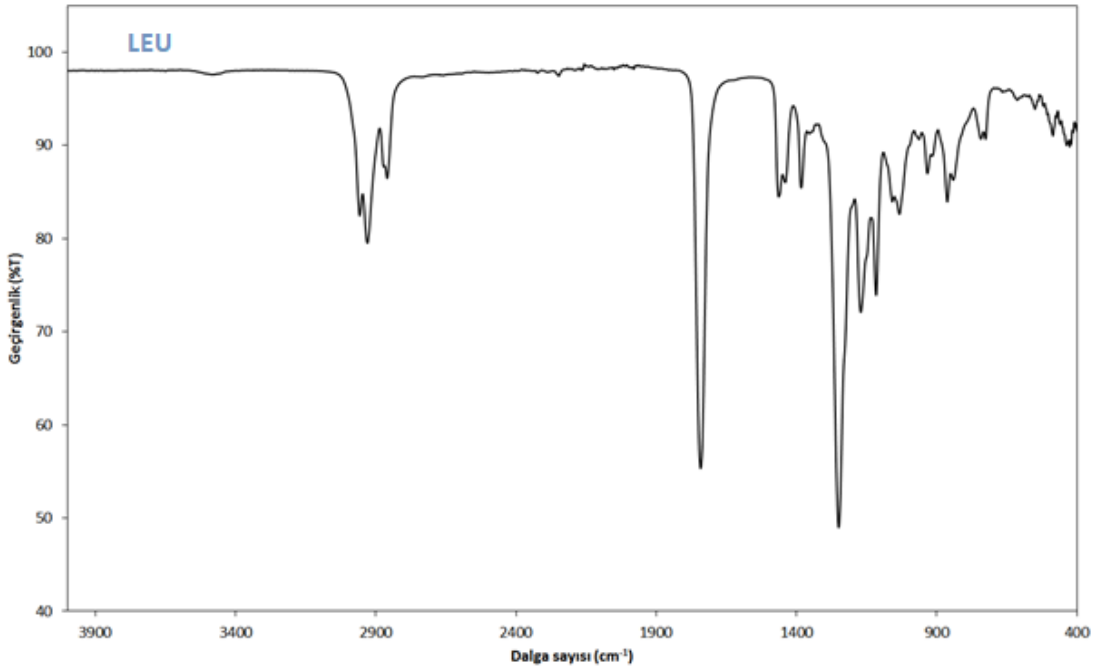


**Şekil 4.1.2.4. DYC'ye ait sıvı temas açısı görüntüsü**

#### **4.1.3. LEU yapılarının karakterizasyonu**

Ticari olarak satın alınan siyanoakrilat temelli bu yapıştırıcının isimlendirilmesinde LEU kısaltması kullanılmıştır. LEU, 2-oktil ve n-bütül siyanoakrilat bileşenlerini

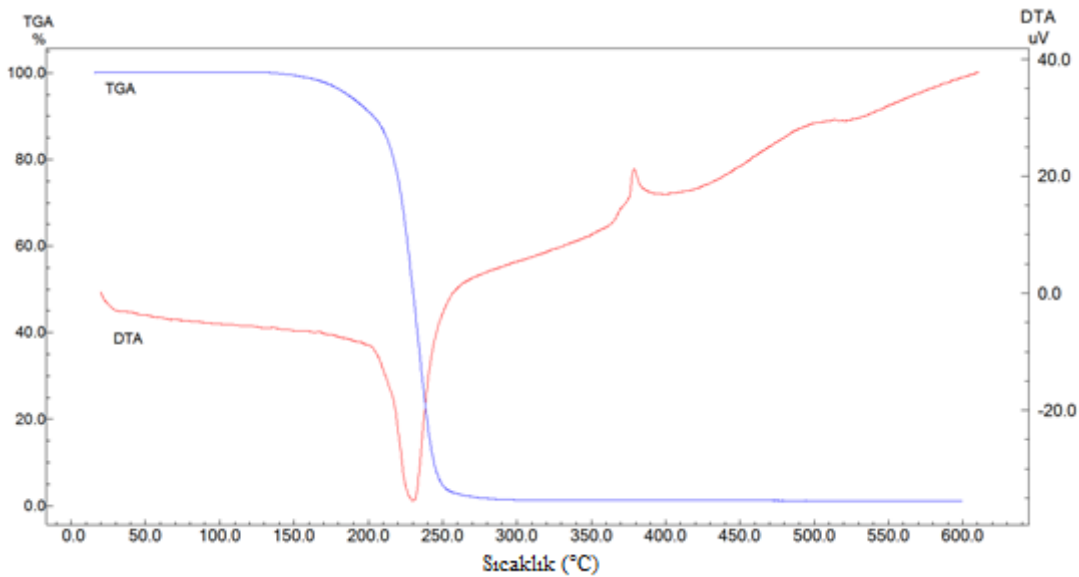
içermektedir. Bu nedenle malzemenin sıvı monomerleri yüksek reaktivlik gösterir ve herhangi bir katalizör, ısı ya da basınç etkisi olmaksızın oda sıcaklığında saniyeler içerisinde polimerleşir. Elektron çekici nitril grubu sayesinde akrilat bağı polarize olur ve bu sayede su ve aminler gibi zayıf bazların nükleofilik saldırısına duyarlı hale gelir. Reaksiyonun oluşum oranı alkil yan zincirinin uzunluğuyla ters orantılıdır. Yapışma olayı doku proteinlerindeki fonksiyonel gruplarla (örn; lizin amino asidinin amin grubu) siyanoakrilat arasındaki kovalent bağlar yoluyla gerçekleşir. Monomerler dokuya uygulandığında, doku yüzeyindeki çatlakların içine akarlar ve böylece doku ve yapıştırıcı arasında güçlü bir bağ oluşur. Ayrıca malzemenin dayanıklılığı alt dokuyla yaptığı güçlü mekanik bağlantıya dayanır. Yapışmanın gücü alkil zincirinin uzunluğuyla belirlenir, kısa zincirler (bütil siyanoakrilat) uzun zincirlerden (2-oktil siyanoakrilat) daha güçlü polimerize yapı oluştururlar. Öte yandan uzun alkil zincirleri esneklik sağlar ve böylece yüksek kopma direnci oluştururlar. Hazırlanan sentetik ticari doku yapıştırıcılarından LEU'nun FTIR ve sıvı temas ölçüm yöntemleri ile yapısal özellikleri tanımlanmıştır. Ayrıca hazırlanan yapıların termal özellikleri, ısı işlem dahilinde termal değişim profilinin belirlenmesi ve degradasyon özelliklerinin incelenmesi için TGA, termal stabilitenin belirlenmesi ve bozunma enerjilerinin hesaplanması için DTA, yapısal esneklik ve yumuşama özelliklerinin ölçümünde ise DSC analizleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



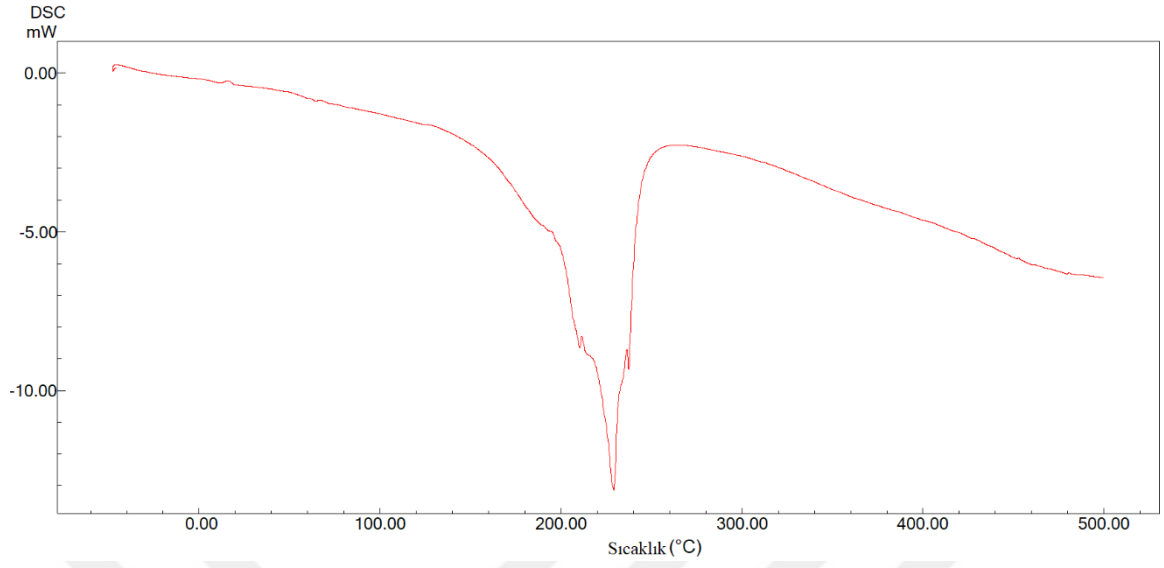
Şekil 4.1.3.1. LEU'ya ait FTIR spektrumu

Şekil 4.1.3.1.'de siyanoakrilat polimerlerine ait FTIR spektrumları görülmektedir. Bu yapılarda 3000-3600  $\text{cm}^{-1}$  aralığında yüzey hidroksil pikleri görülmektedir. Akrilat yapısındaki hidroksil piklerine ait hidrojen bağlarını bir bant olarak görmekteyiz. FTIR spektrumu üzerinden 2800-2980  $\text{cm}^{-1}$  aralığında alifatik CH gerilme titreşimlerini görmekteyiz. Bu titreşimler alifatik polimer ara zinciri yapısından kaynaklı olarak ve yan lineer ünitelerden kaynaklı olarak spektrumda yer almaktadır. Genel yapı itibari ile yan gruplarından kaynaklı  $\text{CH}_2$  ünitelerinde bulunan CH bağlarına ait gerilme titreşimleri bu bölgede pik vermektedir. Ana zincir ünitelerinden kaynaklı pikler genel itibariyle 1820  $\text{cm}^{-1}$  de akrilat yapısı karbonil piki, 1634  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-C gerilme titreşimi, 145  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-C gerilme titreşimi ve 1100  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-O-C sterik gerilme titreşimi belirgin olarak yapıyı doğrulamaktadır.

LEU içeren polimerlerin termal özellikleri TGA, DTA ve DSC termogramlarıyla incelenmiştir. Şekil 4.1.3.2.'de verilen TGA termogramları incelendiğinde polimerlerin bozunma başlangıç sıcaklıkları yaklaşık 200°C civarında gözlenmiştir. Leukosan moleküllerinin TGA termogramlarında tek bir temel kütle kaybı söz konusudur. Bu kütle kaybı organik polimer yapısının termal degradasyonundan kaynaklanmaktadır. DTA termogramında 200°C'de başlayan ve 300°C'de biten bir endoterm görülmektedir. Bu endoterm Şekil 4.1.3.3.'teki DSC termogramında da net olarak görülmektedir. Ayrıca, LEU'ya ait iki camlı geçiş sıcaklığı ( $T_g$ ) vardır. İlk  $T_g$  değeri 9.33°C'de (-0.04 mW/mg) gözlenmektedir ve siyanoakrilat malzemenin 2-oktil kısmıyla ilişkilidir. İkinci  $T_g$  değeri ise 60.88°C'de (-0.11 mW/mg) gözlenmiştir ve siyanoakrilat malzemenin n-bütül kısmından kaynaklanmaktadır.



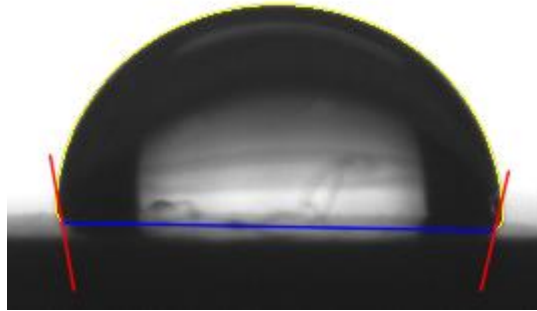
Şekil 4.1.3.2. LEU'ya ait DTA ve TGA termogramları



**Şekil 4.1.3.3.** LEU'ya ait DSC termogramı

LEU'ya ait sıvı temas açısı  $102.46 \pm 2.34^\circ$  olarak ölçülmüş ve Şekil 4.1.3.4.'te verilmiştir.

LEU

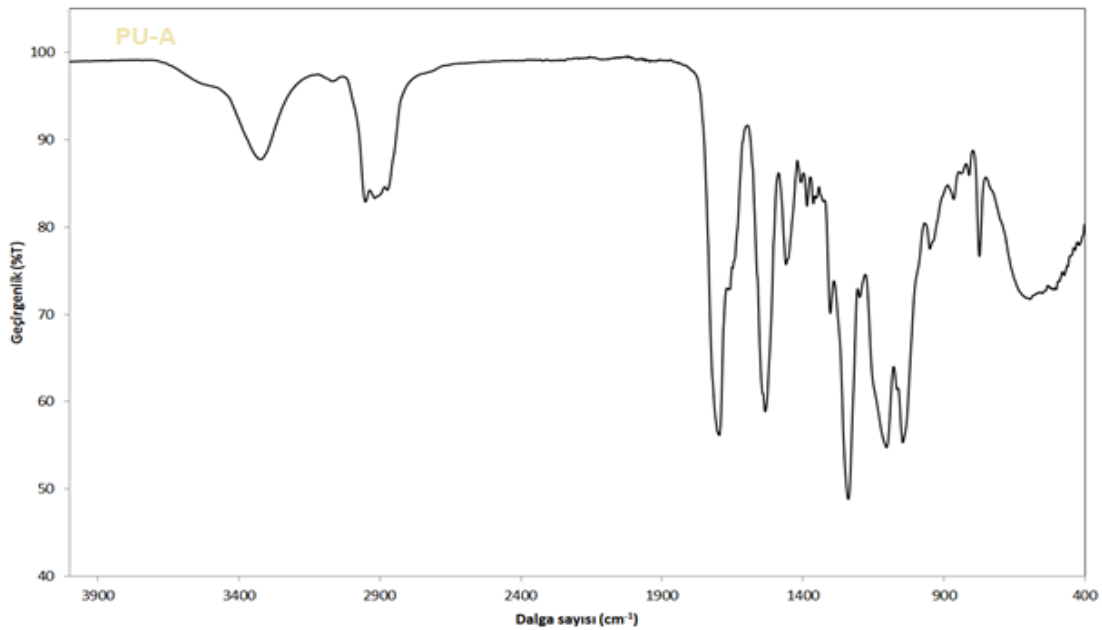


**Şekil 4.1.3.4.** LEU'ya ait sıvı temas açısı görüntüsü

#### 4.1.4. PU-A yapılarının karakterizasyonu

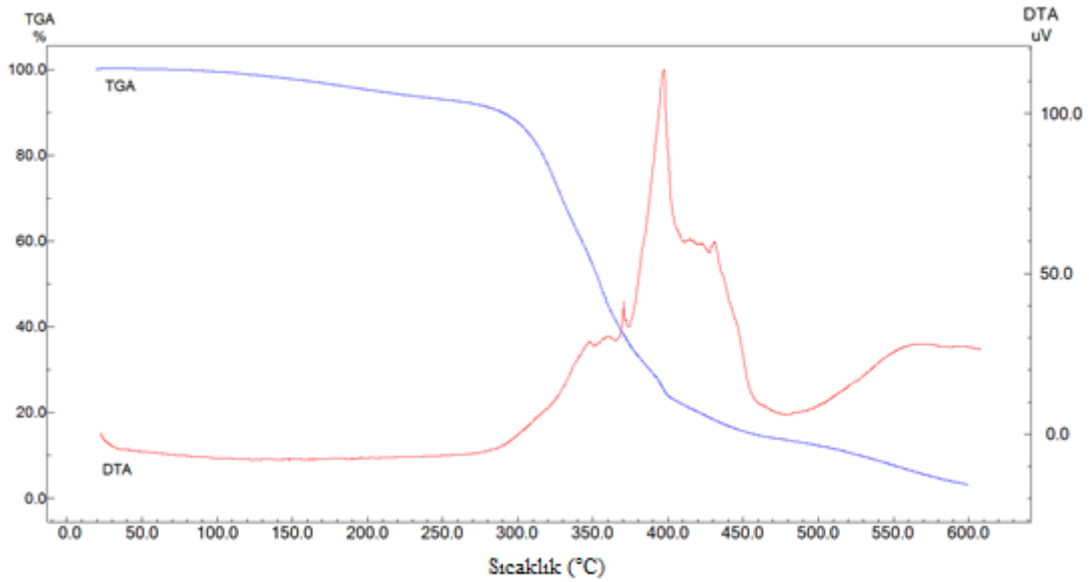
Laboratuvarımızda sentezlenen poliüretan akrilat yapısındaki malzeme için PU-A kısaltması kullanılmıştır. Hazırlanan sentetik doku yapıştırıcılarından PU-A'nın FTIR ve sıvı temas ölçüm yöntemleri ile yapısal özellikleri tanımlanmıştır. Ayrıca hazırlanan yapıların termal özellikleri, ısı işlem dahilinde termal değişim profilinin belirlenmesi ve degradasyon özelliklerinin incelenmesi için TGA, termal stabilitenin belirlenmesi ve bozunma enerjilerinin hesaplanması için DTA, yapısal esneklik ve yumuşama özelliklerinin ölçümünde ise DSC analizleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Örneğe ait FTIR spektrumu (Şekil 4.1.4.1.) incelendiğinde üretan yapısına ait pikler net olarak görülmektedir.  $1697\text{ cm}^{-1}$ 'de üretan karbonil grubuna ait şiddetli bir pik görülmektedir.  $1460\text{ cm}^{-1}$ 'de üretan bağı C-N gerilme titreşimini görmekteyiz. Bu iki pik bize üretan bağı oluşumunu ispatlamaktadır. Ayrıca  $1535\text{ cm}^{-1}$ 'de C-C gerilme titreşimi görülmektedir.  $1241\text{ cm}^{-1}$ 'de C-O gerilme titreşimi ve  $1100\text{ cm}^{-1}$ 'de C-O-C gerilme titreşimi belirgin olarak görülmektedir.  $2800\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ 'de aralığında alifatik C-H gerilme titreşimi görülmektedir. Üretan grubu N-H yapısına ait hidrojen bağı ise  $3100\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$  aralığında bir bant piki olarak görülmektedir.  $775\text{ cm}^{-1}$ 'de simetrik C-H gerilme titreşimi bulunmaktadır. Tüm bu pikler klasik poliüretan yapısını ispatlamakta ve polimerizasyonun tamamlandığını göstermektedir. Ayrıca  $2260\text{ cm}^{-1}$ 'de herhangi bir pikin bulunmaması yapıda monomerik izosiyanat gruplarından kaynaklı serbest monomer kalıntısı olmadığını bize göstermektedir.



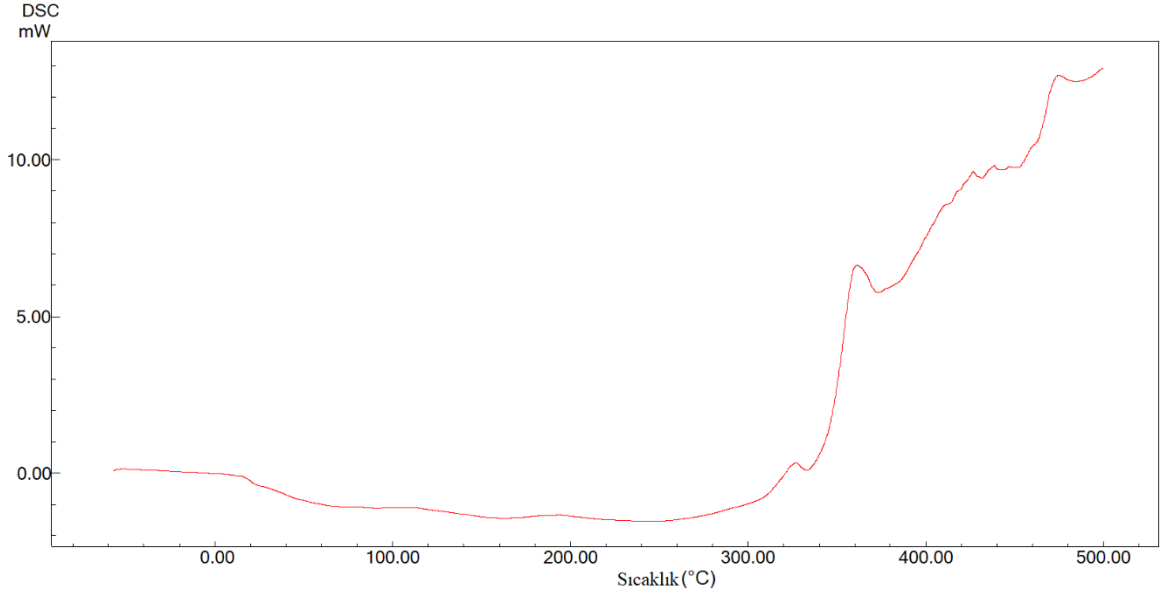
Şekil 4.1.4.1. PU-A'ya ait FTIR spektrumu

Çalışma kapsamında kullanılan polimerik yapıştırıcının termal özellikleri, TGA, DTA ve DSC çalışması ile incelenmiştir. Polimerlerin termal kararlılıkları TGA ve DTA ile incelenirken yumuşama sıcaklıkları DSC ile belirlenmiştir. Şekil 4.1.4.2.'de poliüretan yapılı doku yapıştırıcısının TGA ve DTA termogramları verilmiştir. Poliüretanların TGA termogramlarında üç temel kütle kaybı görülmektedir. Birinci kütle kaybı çapraz bağlanma noktalarının kırılması, ikinci kütle kaybı ise poliüretanların alifatik yumuşak segmentlerinin bozulması ve son kütle kaybı ise halkalı grupların kırılması ve polimerin termooksidatif bozulmasından ileri gelmektedir. Birinci kütle kaybı 100-300°C arasında, ikinci kütle kaybı 300-400°C arasında ve son kütle kaybı 400-600°C arasında gözlenmektedir. Doku yapıştırıcısı yapısında çapraz bağlanma arttıkça polimer kararlılığı artar ancak yapısal esneklik azalır. Bunun sonucu olarak doku ile yapıştırıcının birlikte hareket etmesini kısıtlar.



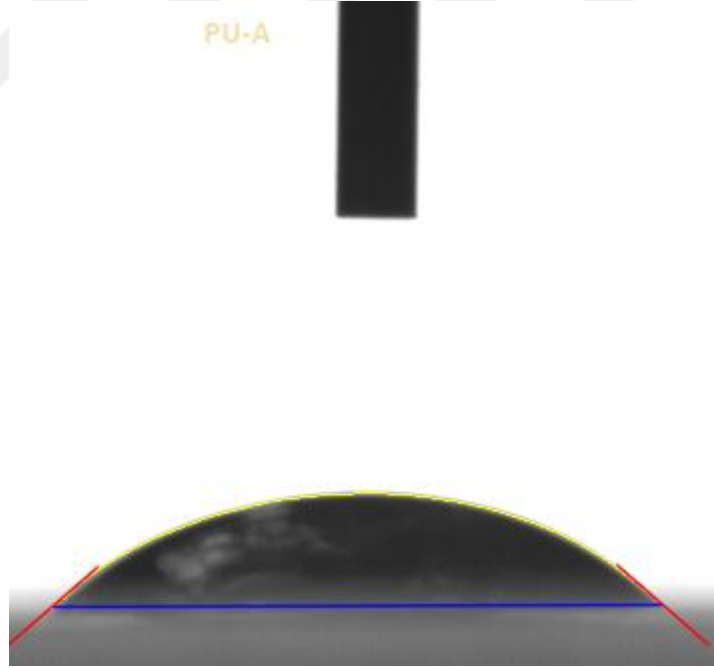
**Şekil 4.1.4.2.** PU-A doku yapıştırıcısı numunesinin DTA ve TGA termogramları

Bu termogramlar DTA termogramları (Şekil 4.1.4.2.) ile uyumludur ve DTA termogramları incelendiğinde üç temel bozulma piki mevcuttur. Ayrıca camsı geçiş sıcaklığı ( $T_g$ ) 16.54°C (-0.23 mW/mg) olarak belirlenmiştir. Şekil 4.1.4.3.'de poliüretan akrilat doku yapıştırıcısına ait DSC termogramı görülmektedir.



**Şekil 4.1.4.3.** PU-A doku yapıştırıcısı numunesinin DSC termogramı

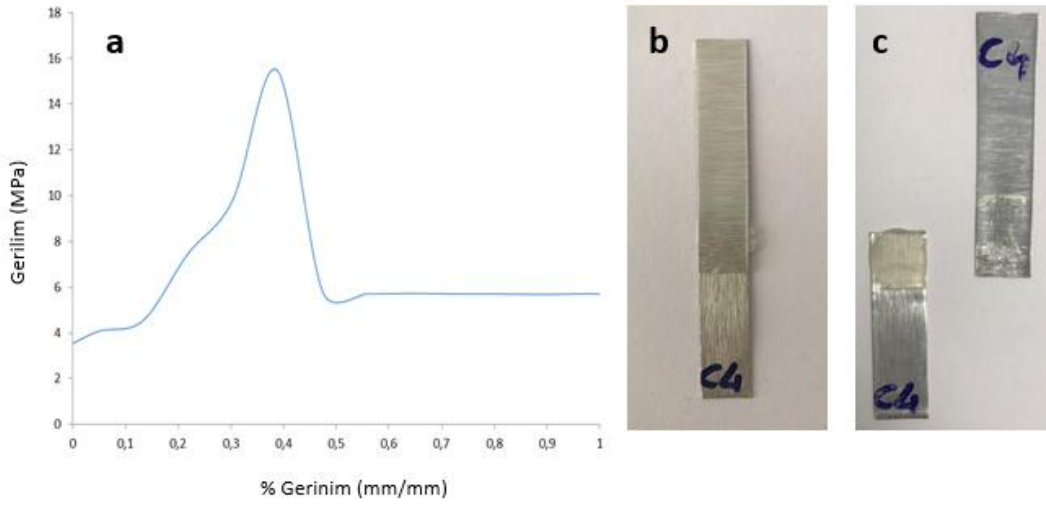
PU-A'ya ait sıvı temas açısı  $41.3 \pm 2.56^\circ$  olarak ölçülmüş ve Şekil 4.1.4.4.'te verilmiştir.



**Şekil 4.1.4.4.** PU-A'ya ait sıvı temas açısı görüntüsü

## 4.2. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları

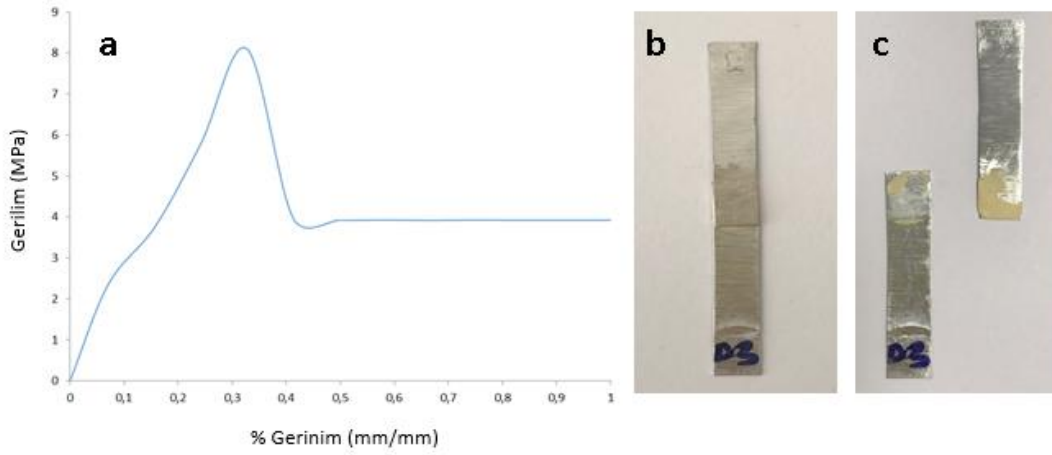
### 4.2.1. CMT Yapılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları



Şekil 4.2.1. CMT numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b), sonrası (c) test numunesi görüntüsü

Cement yapısına ait PMMA yapılı kemik çimentosu CMT numunesinin mekanik adezyon test grafiği Şekil 4.2.1.'de görülmektedir. Bu grafiğe göre çok hızlı yükselen bir yüklenme eğrisi görülmüştür. Test numunesinde yaklaşık %0.4 uzama bulunmaktadır. Bu sonuç, yapıştırıcının yapısının çok sert ve rijit olmasından kaynaklanmaktadır. Malzeme gevrek bir kırılma ile sonuçlanmıştır. Numune için  $0.132 \pm 0.033$  kN tepe yükü ve  $132.608 \pm 38.70$  N tepe gerilimi söz konusudur. Numune için modül değeri  $1.659 \pm 0.594$  kN/mm<sup>2</sup> olarak elde edilmiştir.

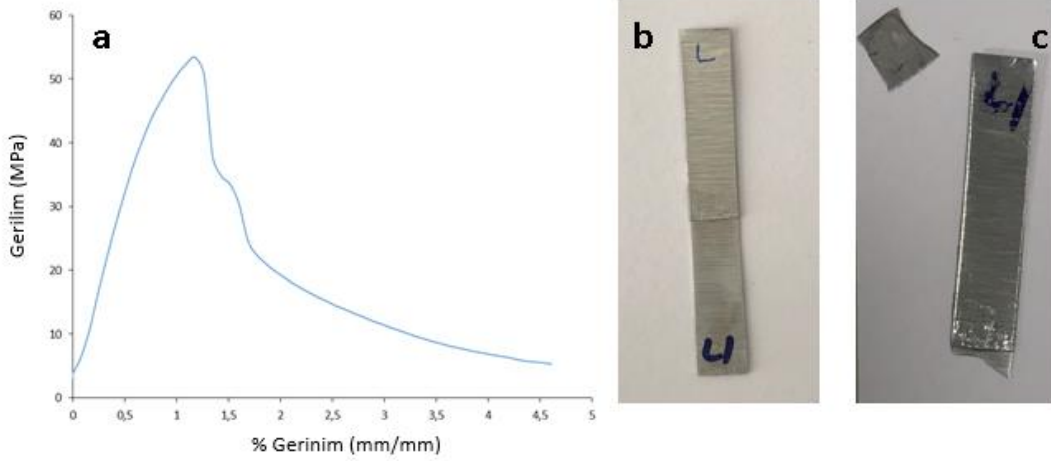
#### 4.2.2. DYC Yapılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları



**Şekil 4.2.2.** DYC numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b), sonrası (c) test numunesi görüntüsü

Şekil 4.2.2.'de DYC numunesinin mekanik adezyon test sonucu gerilim ve % gerinim grafiği olarak verilmiştir. Grafik üzerinden tepe yükü  $0.062 \pm 0.013$  kN ve tepe gerilimi  $63.580 \pm 12.49$  N olarak tespit edilmiştir. DYC numunesi için modül değeri  $2.580 \pm 1.709$  kN/mm<sup>2</sup> olarak elde edilmiştir. Bu değer oldukça yüksektir ve yaklaşık 3 MPa gerilime kadar lineer ve dik bir eğimi söz konusudur. Bu dönüm noktasından sonra 4–8.2 MPa değerleri arasında ikinci bir lineer eğim bulunmaktadır. Bu değişim test numunesinin çok bileşenli yapısından kaynaklanmaktadır. Bileşenler arası etkileşimden kaynaklı olarak farklı yüklemelerde farklı mekanik adezyon etkileri gözlenmiştir. Bu sayede yapıştırıcının adezyon gücü artmaktadır. Özellikle yüksek yüklemelerde bileşenler arasındaki ikincil etkileşimler artmakta ve mekanik adezyon yeteneği artmaktadır. DYC numunesinin toplam uzaması yaklaşık %0.4 civarındadır. Bu değer ideal sert doku yapıştırıcıları için uygun bir değerdir. Kopma sırasında sert ve gevrek bir kırılma göstermiştir. Şekil 4.2.2.(a) ve Şekil 4.2.2.(b)'deki fotoğraflardan bu değişim görülmektedir.

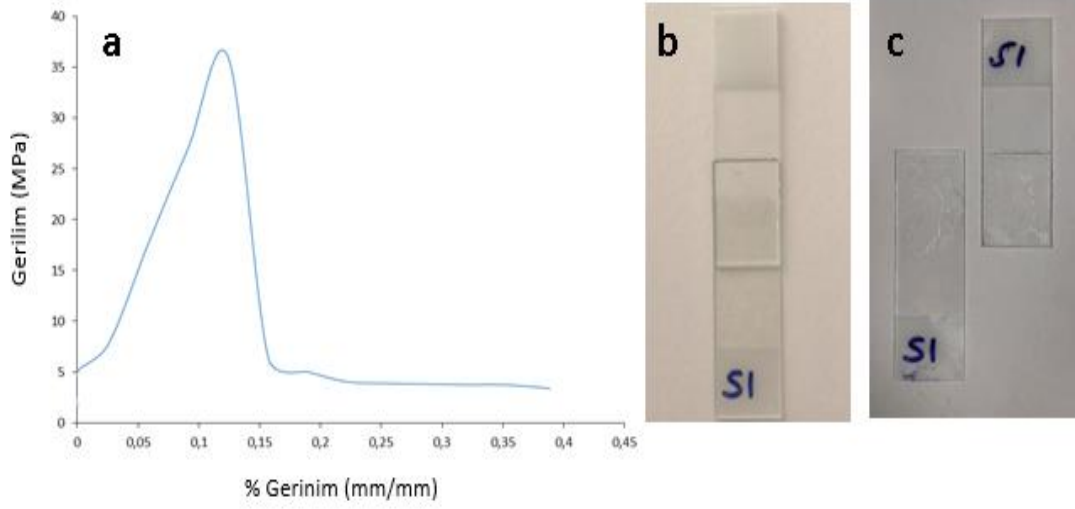
### 4.2.3. LEU Yapılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları



**Şekil 4.2.3.** LEU numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b), sonrası (c) test numunesi görüntüsü

LEU numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b), sonrası (c) test numunesi görüntüsü Şekil 4.2.3.'de verilmiştir. Numune için  $0.474 \pm 0.103$  kN tepe yükü ve  $481.718 \pm 86.25$  N tepe gerilimi söz konusudur. Numune için modül değeri  $0.0434 \pm 0.0115$  kN/mm<sup>2</sup> olarak Şekil 4.2.3.'deki eğimden hesaplanmıştır. Bu sonuçlardan oldukça yüksek bir tepe yükü görülmektedir. Bu yapıştırıcının mekanik gücünün yüksek olduğunu göstermektedir. Test numunelerinin çoğunda yapıştırıcı bölgesinden değilde alüminyum şerit yapısının kırıldığı gözlenmiştir [Şekil 4.2.3.(a) ve Şekil 4.2.3.(b)]. Bu durum siyanoakrilat yapılı yapıştırıcıların yapıştırma ve adezyon gücünün çok yüksek olduğunu ispatlamaktadır. Ayrıca, %1.2 civarında bir tepe gerilimi ve yaklaşık %2 kopma uzaması görülmektedir. Bu sonuç yapıştırıcının esnek yapısından kaynaklanmaktadır ve kısmen sünek bir kopma göstermektedir. Bu tür test numunesinde 2-oktil ve n-bütül siyanoakrilat yapısı bir arada bulunur. İki yapı kimyasal olarak benzer nitelikte olduğu için tek bir modül değeri gözlenmiştir. Bu tür akrilat yapılı yapıştırıcılar uygulandığında, yapıştırma yüzeyindeki çatlakların içine akarlar ve böylece yüzey ile yapıştırıcı arasında güçlü bir bağ oluşur. Ayrıca malzemenin dayanıklılığı alt dokuyla yaptığı güçlü mekanik bağlantıya dayanır. Yapışmanın gücü alkil zincirinin uzunluğuyla belirlenir, kısa zincirler (bütül siyanoakrilat) uzun zincirlerden (2-oktil siyanoakrilat) daha güçlü polimerize yapı oluştururlar. Öte yandan uzun alkil zincirleri esneklik sağlar ve böylece yüksek kopma direnci oluştururlar.

#### 4.2.4. PU-A Yapılarının Mekanik Adezyon Testi Ölçüm Sonuçları



Şekil 4.2.4. PU-A numunesinin mekanik adezyon test grafiği (a) ve çekme öncesi (b), sonrası (c) test numunesi görüntüsü

UV kürlenebilir Poliüretan yapıştırıcının mekanik adezyon test sonucu gerilim - % gerilme grafiği olarak Şekil 4.2.4.'de verilmiştir. Bu grafikte numune yaklaşık olarak 38 MPa değerine kadar hızlıca yükselen bir yükleme grafiği vermiştir. Malzemedeki toplam uzama değeri yaklaşık olarak %0.1 civarındadır. Bu sonuç klasik poliüretan yapılarından farklı davrandığını ve aşırı tok bir yapı sergilediğini göstermektedir. Malzeme yapısı içerisindeki çapraz bağlanma noktalarının fazla olduğunu ve bu nedenle yapının sertleştiğini göstermektedir.

Numune için  $0.346 \pm 0.194$  kN tepe yükü ve  $345.516 \pm 193.47$  N tepe gerilimi sözkonusudur. Numune için modül değeri  $2.489 \pm 1.246$  kN/mm<sup>2</sup> olarak elde edilmiştir. Yapıştırıcının modül değeri oldukça yüksektir. Bu malzemenin Tg değeri ile de ilgilidir. Doku yapıştırıcıları vücut içi uygulamalarda kullanılacağı için termal özellikleri oldukça önemlidir. Özellikle polimerlerin mekanik ölçüm sıcaklığında Tg (camsı geçiş sıcaklıkları) önemlidir. Buna göre UV kürlenebilir Poliüretan yapıştırıcının yapı için çapraz bağlanma miktarı arttıkça artan Tg değeri yüksek olduğundan ölçüm esnasında yapıştırıcı sert ve gevrek bir kırılma göstermiştir. Kırılma esnasında yüksek kuvvet çekmesi UV kürlenebilir yapıştırıcının ideal bir yapıştırma özelliğine sahip olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 4.2.** Farklı yapı ve özelliklerdeki doku yapıştırıcılarının mekanik özellikleri

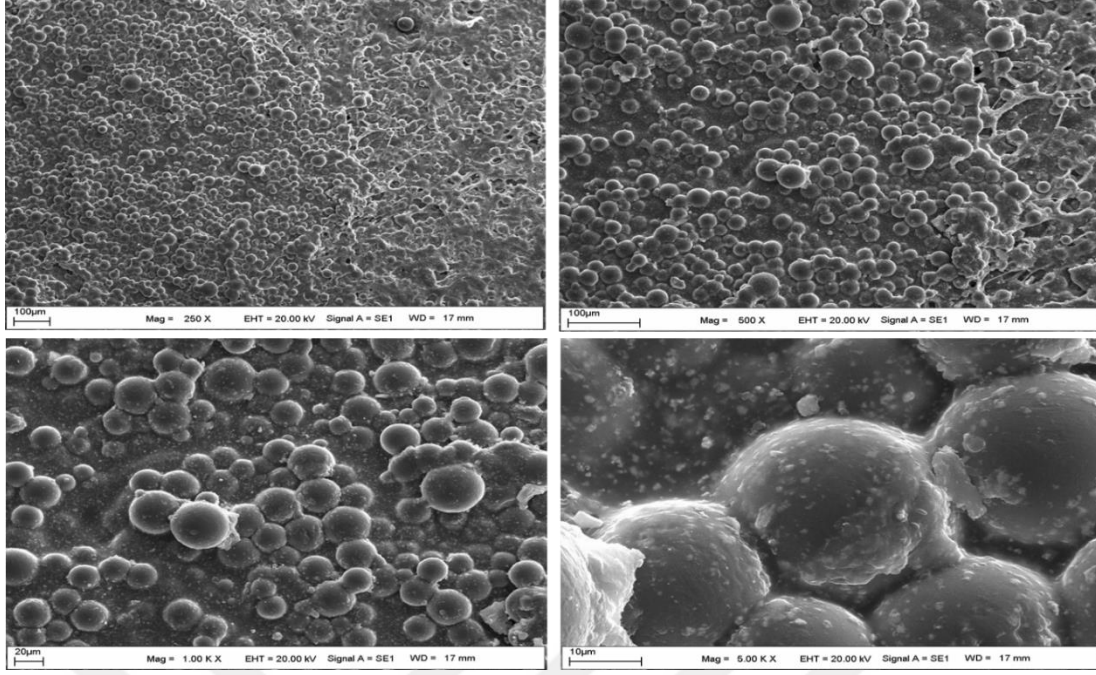
	<b>Tepe Yüğü (kN)</b>	<b>Kopmadaki Gerinim (mm/mm)</b>	<b>Modül (kN/mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Tepe Gerilimi (N)</b>
<b>CMT</b>	0.132±0.033	0.0075±0.0015	1.659±0.594	132.608±38.70
<b>DYC</b>	0.062±0.013	0.0165±0.0244	2.580±1.709	63.580±12.49
<b>LEU</b>	0.474±0.103	0.0434±0.0115	2.402±0.720	481.718±86.25
<b>PU-A</b>	0.346±0.194	0.0058±0.0016	2.489±1.246	345.516±193.47

### 4.3. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Yüzeysel Özelliklerinin Karakterizasyonu

Hazırlanan doku yapıştırıcılarının hem çekme testi öncesi hem de çekme testi sonrasında yüzeysel özellikleri SEM ve AFM ile belirlenmiştir.

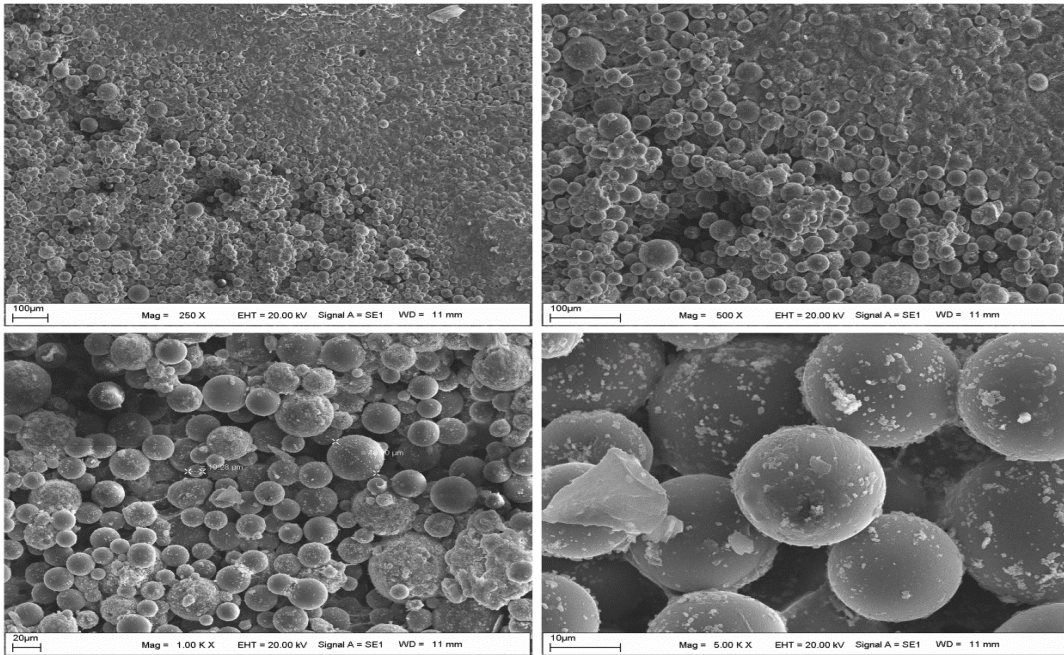
#### 4.3.1. CMT'nin Adezyon Testi Öncesi ve Sonrası SEM ve AFM Görüntüleri

Kemik çimentosuna ait genel SEM görüntüleri farklı büyütme oranlarında Şekil 4.3.1.1.'de görülmektedir. Genel itibarıyla homojen bir dağılım göstermekte olup 2 fazlı bir sistem görülmektedir. Klasik bir kompozit yapısına sahip CMT, sürekli bir PMMA faz içerisinde dağılmış baryum sülfat partiküller yapılarından oluşmaktadır. Partiküllerin genel boyutları incelendiğinde 20-300 µm arasında değiştiği görülmektedir ve partiküllerin etrafı homojen bir şekilde PMMA yapılarıyla kaplanmıştır. Kısmi bölgelerde iç boşlukları görmekteyiz. Bu boşluklar kemik yüzeylere tutunurluğu arttırmak için ideal bir kavite oluşturmaktadır. Ayrıca farklı boyutlardaki baryum sülfat yapıları da pürüzlü bir yüzey oluşturmakta olup yapıştırıcının yüzey adezyonunu güçlendirmektedir.



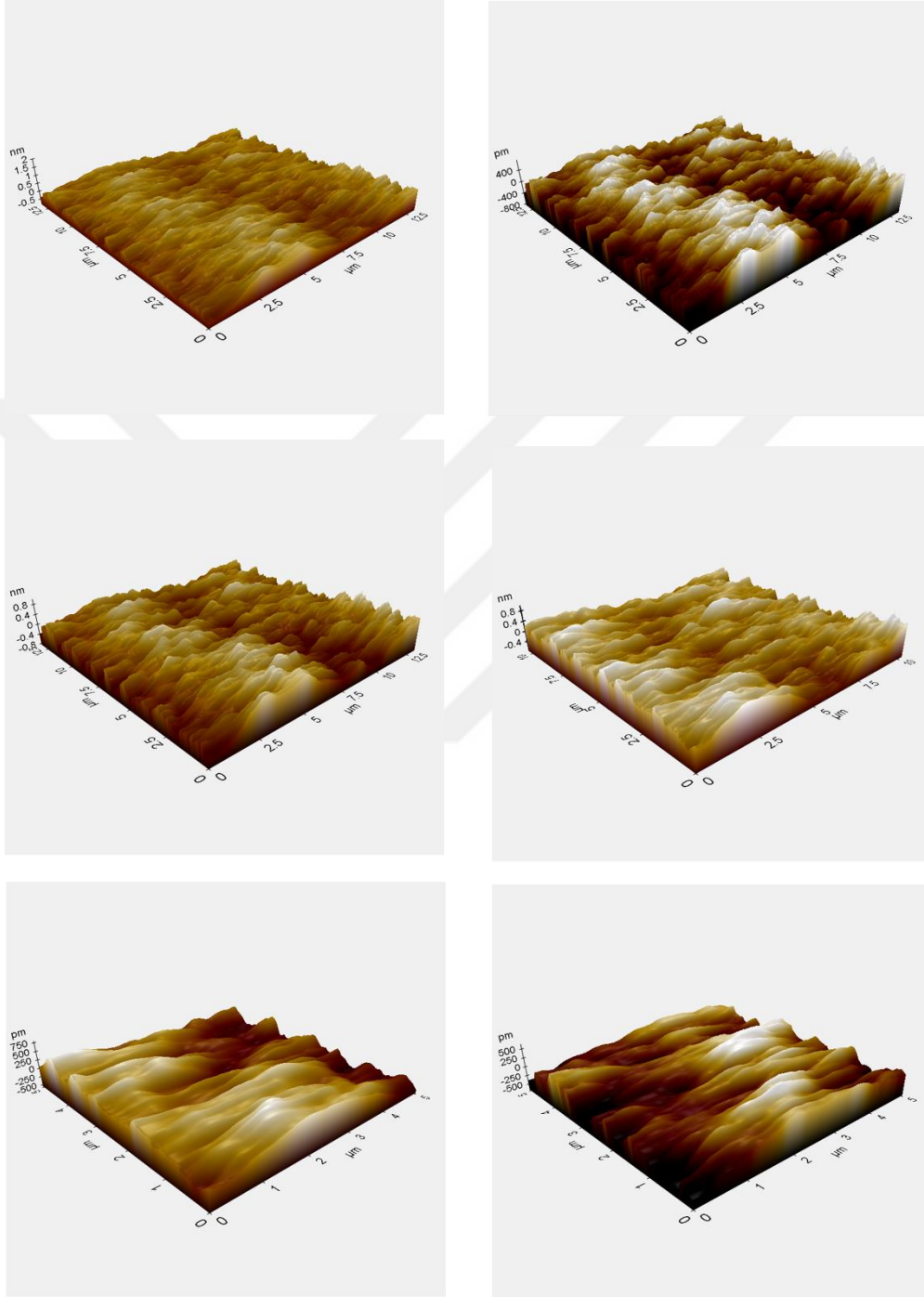
**Şekil 4.3.1.1.** CMT numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü

Yapışma sonrası görüntülerde benzer büyütmelerde kıyaslama yapılmıştır. Özellikle yapışma sonrası baryum sülfat kürelerin parçalandığı ve PMMA yapıların ise esnek ve sünek bir morfoloji gösterdiği görülmüştür. İç kırılmalar, plakaların arasındaki iç bölgelerdeki kompozit faz yapılarının kuvvet ile esnememesinden kaynaklı olarak oluşmuştur (Şekil 4.3.1.2.).

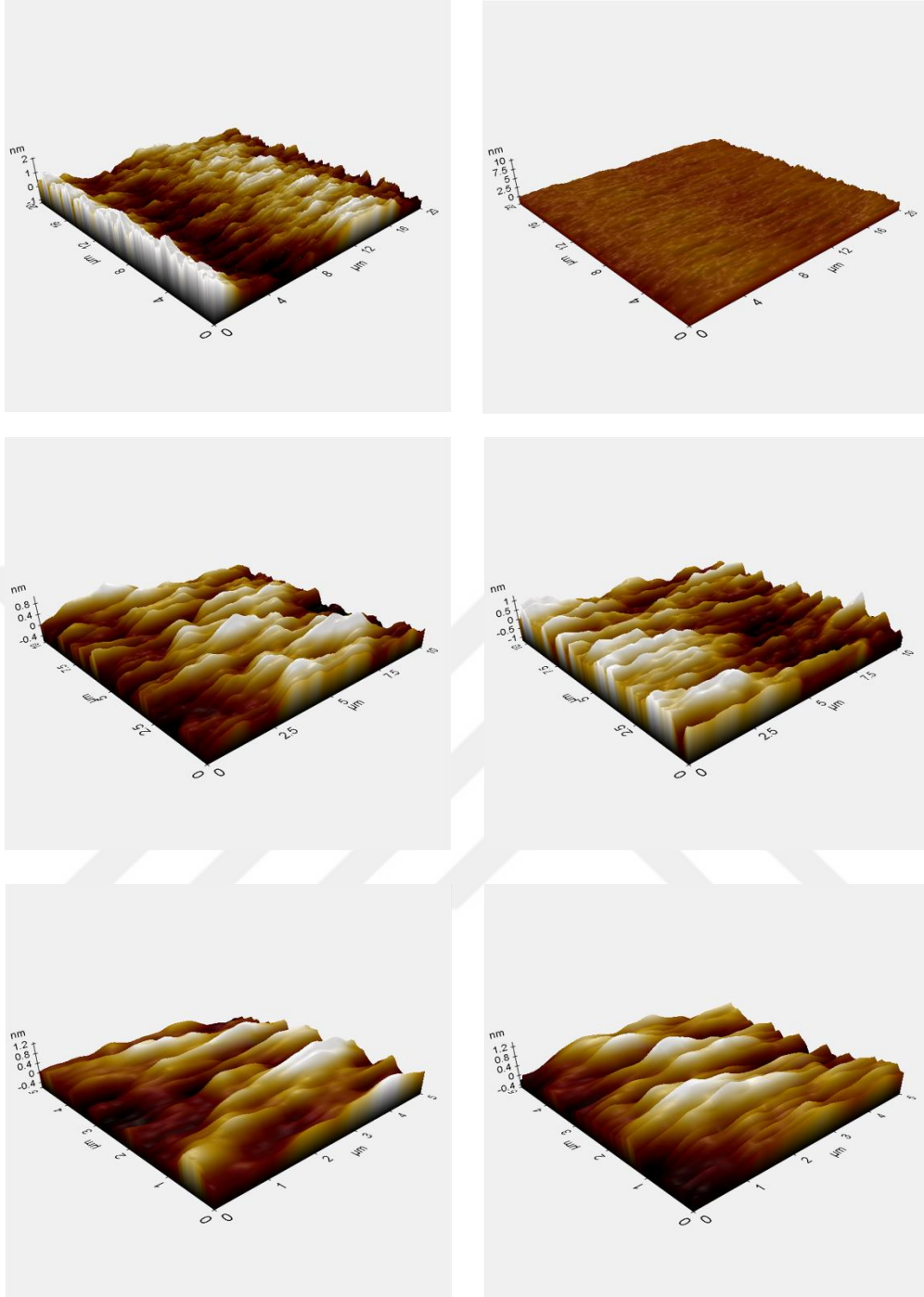


**Şekil 4.3.1.2.** CMT numunesi adezyon testi sonrası SEM görüntüsü

Şekil 4.3.1.3.'de kemik çimentosu olarak bilinen PMMA esaslı kompozit yapıştırıcıya ait farklı büyütme ölçeklerinde adezyon testi öncesi AFM görüntüleri görülmektedir. Bu görüntülerde yüzey yapısının oldukça düz bir yapıda olduğu görülmektedir.



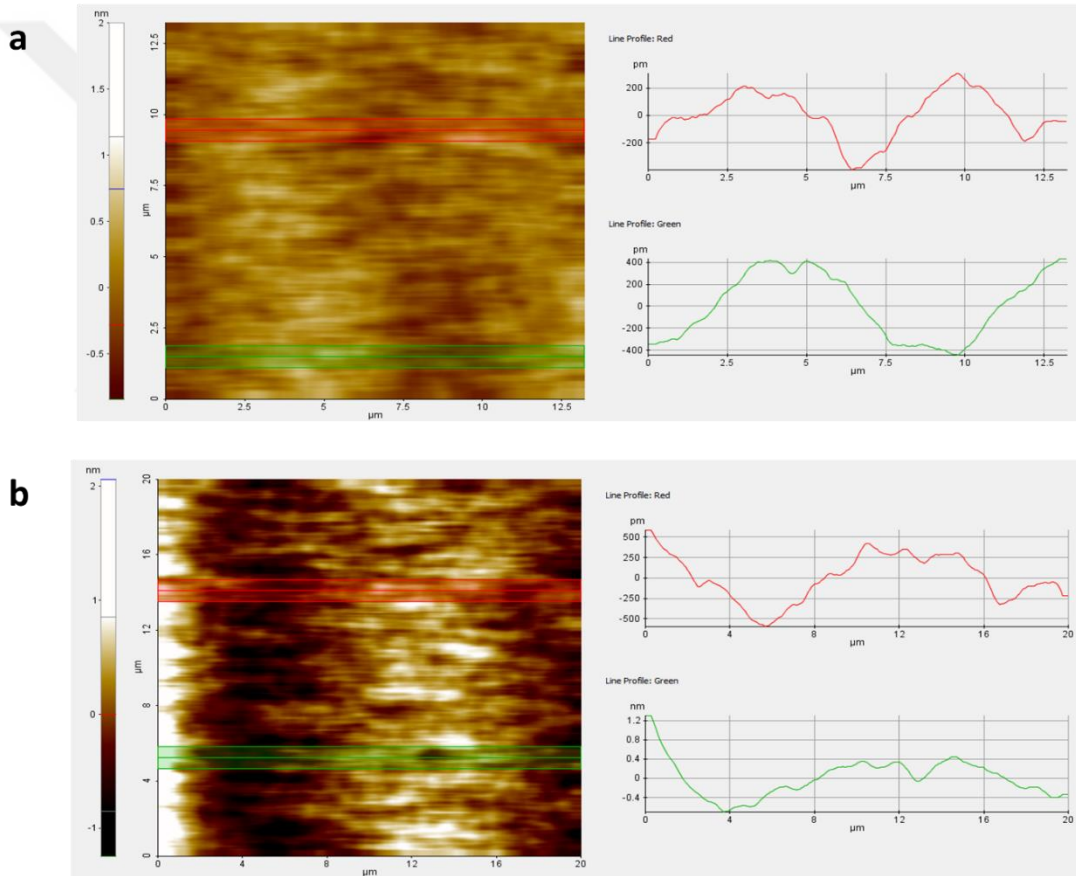
Şekil 4.3.1.3. CMT numunesi adezyon testi öncesi AFM görüntüleri



**Şekil 4.3.1.4.** CMT numunesi adezyon testi sonrası AFM görüntüleri

Şekil 4.3.1.3.'de yapıştırıcı karışımının yüzeye oldukça düz bir şekilde yayıldığı görülmektedir. Çünkü kemik çimentosu karışımı sıvı metil metakrilat monomeri ve katı formda PMMA ile karbonat tuz yapısının karıştırılması ile hazırlanmakta ve oldukça sıvı olan monomer düzgün bir yayılma ve dağılma göstermektedir. Bu sayede yapıştırılacak kemik yapısında yapıştırıcı kalınlığı oluşturmadan yapışma sağlanabilir. Mekanik adezyon testi öncesi yapıya bakılınca oldukça homojen ve düzgün bir yüzey gözükmemektedir. Adezyon testi sonrası yapıya ait farklı büyütme alanlarındaki AFM görüntüleri Şekil 4.3.1.4.'de verilmiştir.

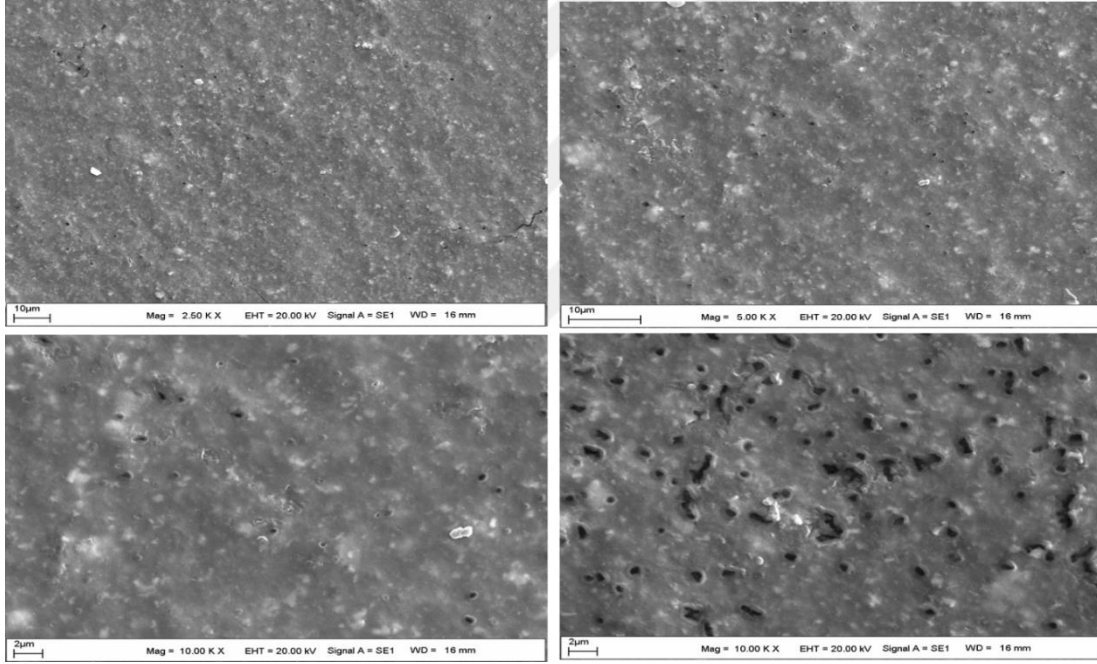
Bu şekil incelendiğinde özellikle yüksek büyütmelelerdeki görüntüler kıyaslandığında yüzey pürüzlülüğünün arttığı gözlemlenmektedir ancak yüzeyde kırılma yada çatlak oluşumu görülmemektedir. Kemik çimentosu yapısı sert bir yapıya sahip olsa da yapıştırılacak yüzeyleri çok iyi kavradığı için adezyon testi sırasında sünek bir mekanik davranış sergiler ve fraktal bir kırılma yüzeyi oluşturmaz. Bu değişimi daha iyi belirleyebilmek için adezyon testi öncesi ve sonrası yüzeylerin yüzey pürüzlülüğü değerleri ölçülmüştür. Bu ölçüm sonuçları Şekil 4.3.1.5.'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre adezyon testi öncesi yüzey pürüzlülüğü yaklaşık  $\pm 400$  pm iken, test sonrasında artarak  $\pm 1.2$  nm civarında olarak belirlenmiştir. Bu artış çekme işlemi ile yapıştırıcı yapısında mekanik kuvvet karşısında sünek bir gerilimin oluştuğunu göstermektedir.



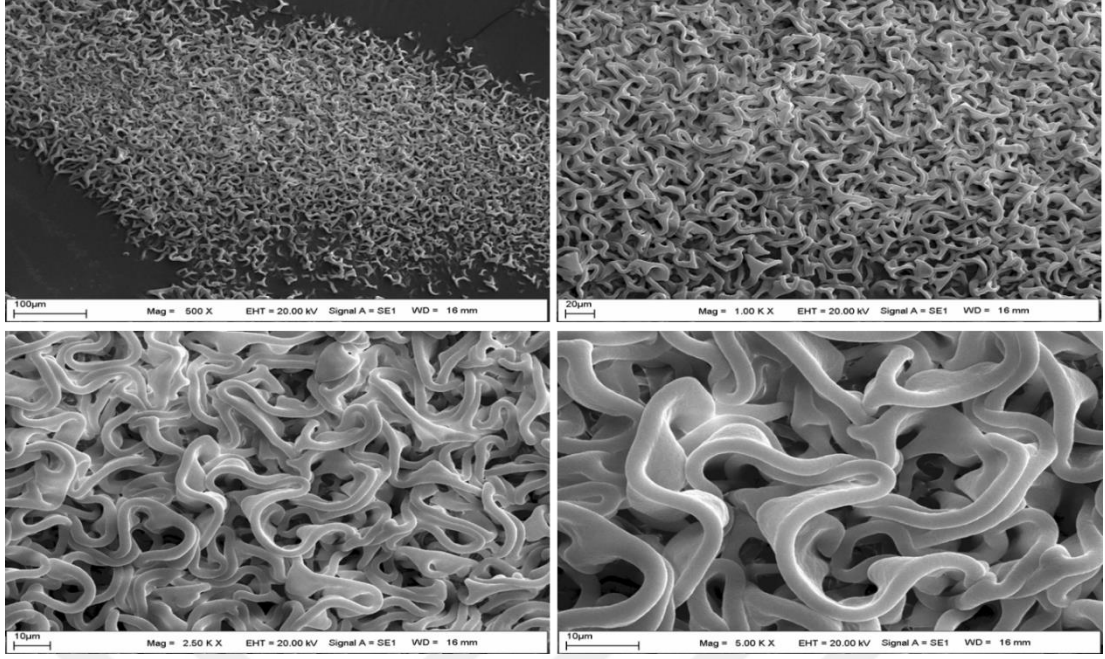
Şekil 4.3.1.5. CMT numunesi adezyon testi öncesi ve adezyon testi sonrası yüzey pürüzlülüğü

#### 4.3.2. DYC'nin Adezyon Testi Öncesi ve Sonrası SEM ve AFM Görüntüleri

DYC yapısına ait SEM görüntüleri Şekil 4.3.2.1.'de görülmektedir. Bu görüntüler üzerinde DYC'nin karma kompozit yapısındaki temel bileşenleri net olarak belirlenebilir. Yüksek büyütmede gözlenen beyaz bölgeler kalsiyum fosfatları göstermektedir. Siyah noktacıklar ise demir oksiti göstermektedir. Her bir demir yapısının etrafı kalsiyum tungstat yapısıyla sarılmıştır. Ayrıca beyaz partiküller noktacıklar ise yapıdaki çinko oksiti göstermektedir. Tüm bu yapı anizotropik olarak esterik polimer yapı içerisine katkılanmış ve karma bir kompozit yapı oluşmuştur. Şekil 4.3.2.2.'deki DYC numunesine ait adezyon testi öncesi SEM görüntüsünden de anlaşılacağı gibi belirli bölgelerde polyester yapısı homojen olarak dağılmış olup polimer kıvrımlar oluşturmuştur. Bu tür kıvrımların oluşması yapışma esnasında yüksek yüzey alanı oluşturduğu için önemli bir avantaj sağlamaktadır.

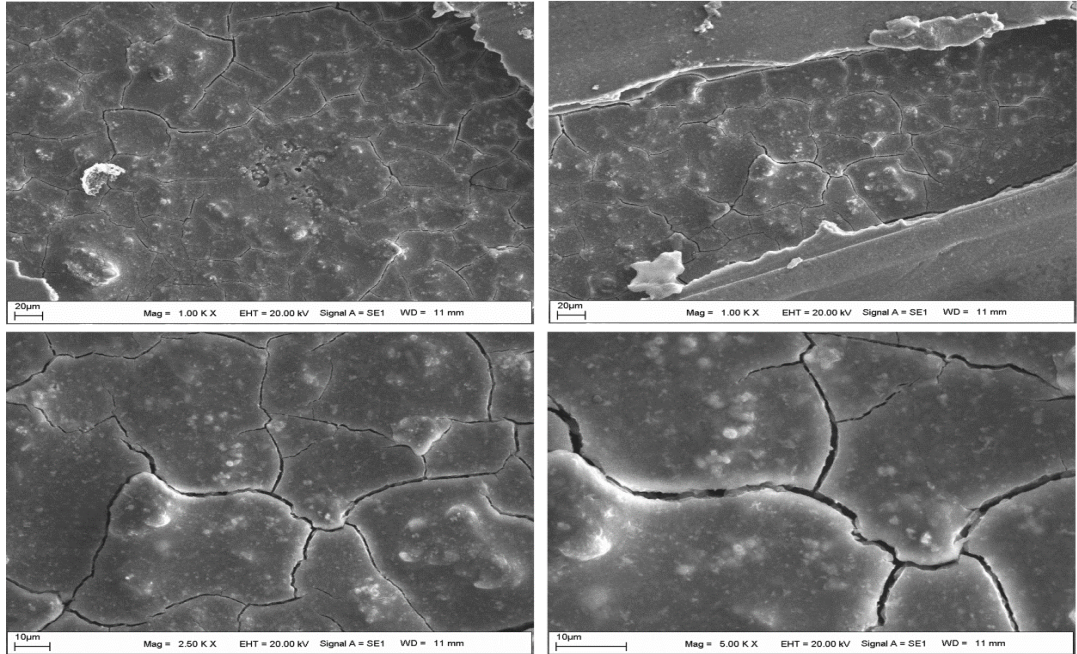


Şekil 4.3.2.1. DYC numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü



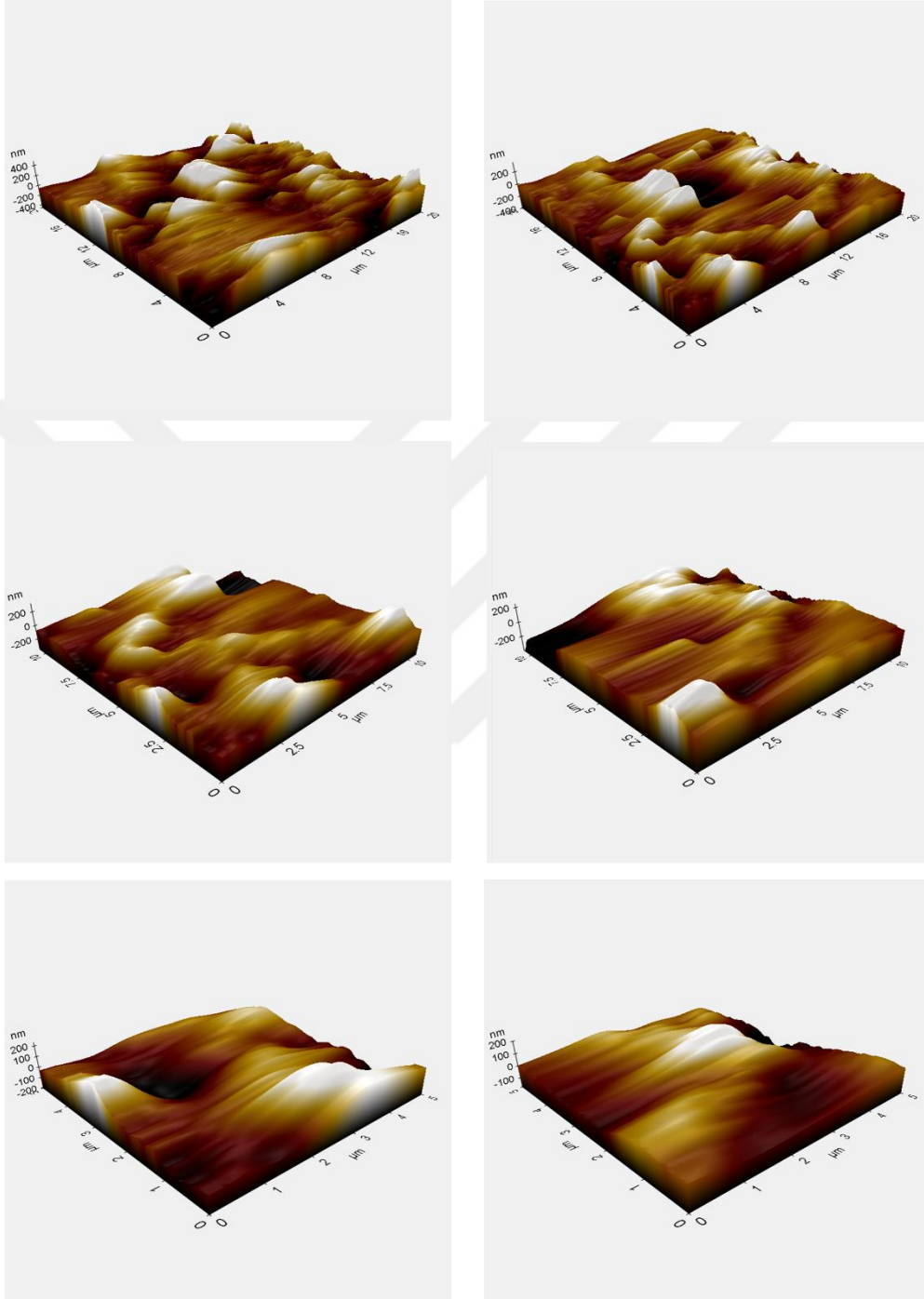
**Şekil 4.3.2.2.** DYC numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü

Adezyon testi sonrasında anizotropik yapı korunmuş ve iç çatlaklar şeklinde kırılmalar oluşmuştur. Bu da yapıştırıcının ana matriks yapısının kuruma esnasında sertleştiğini göstermektedir. Bu aşırı mineralli iç yapı özellikle diş yapıştırıcısı olarak önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bu tür yapıştırıcılarda fosfat grupları üzerinden diş minesine tutunurluk sağlanmaktadır ve yapıştırıcının çiğneme basıncına dayanabilmesi için ana yapının sert bir matrikse sahip olması gerekir. Aksi takdirde, morfolojide bozulmalara neden olabilir.

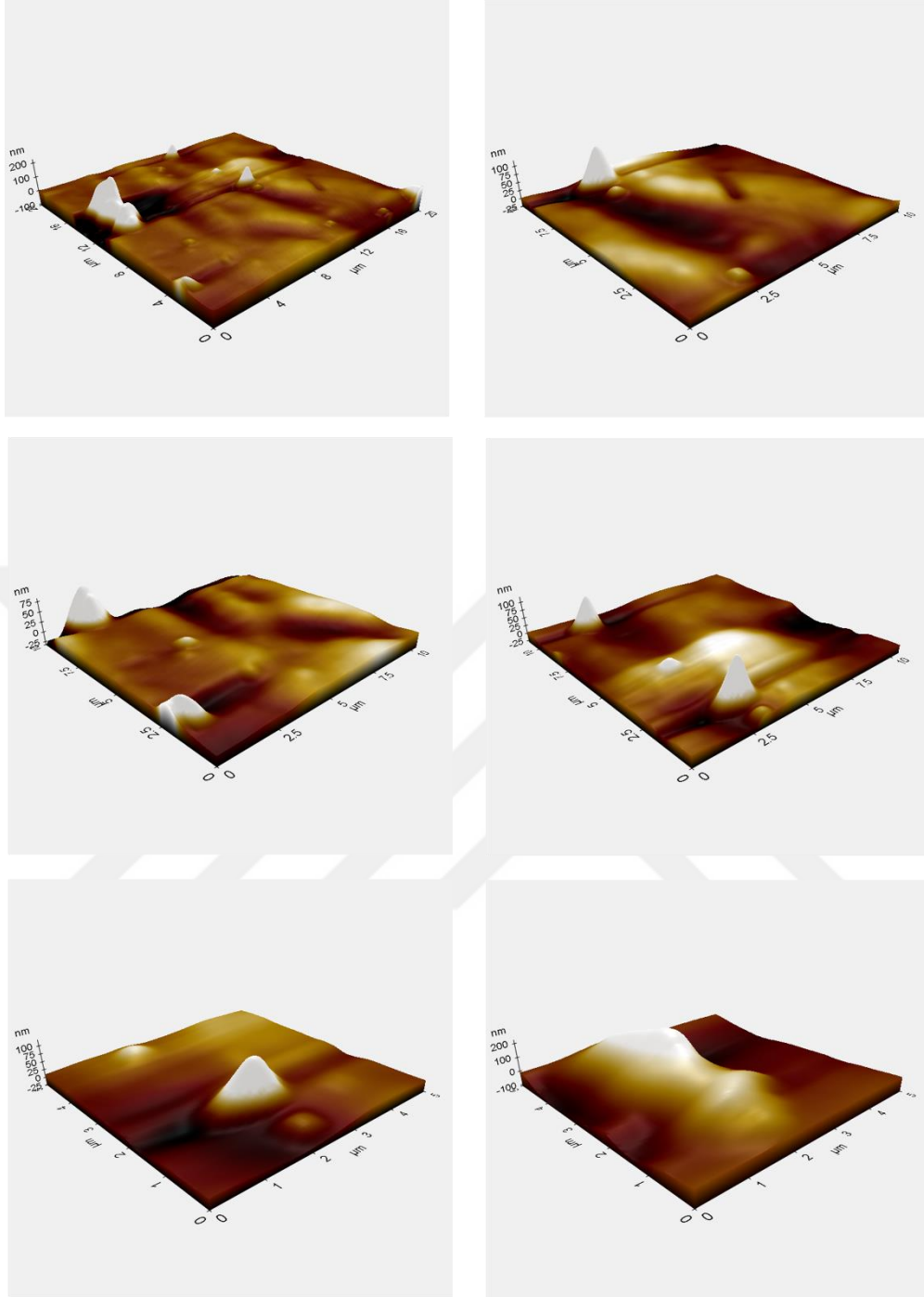


**Şekil 4.3.2.3.** DYC numunesi adezyon testi sonrası SEM görüntüsü

Şekil 4.3.2.4.'de tez kapsamında kullanılan DYC numunesine ait farklı büyütmelerde adezyon testi öncesi AFM görüntüleri görülmektedir. Bu görüntüler adezyon testi öncesi ilgili numunenin yüzeye yayılma ve yüzeydeki morfolojilerini göstermektedir.



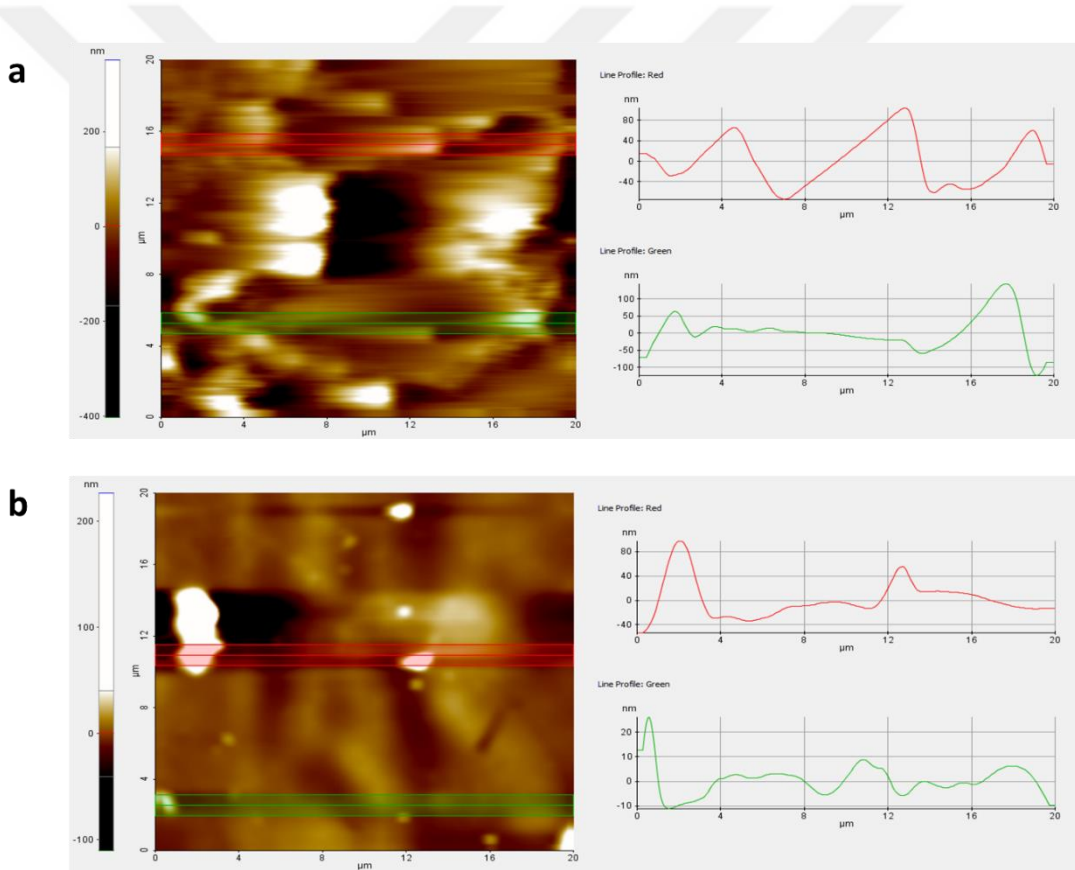
Şekil 4.3.2.4. DYC numunesi adezyon testi öncesi AFM görüntüleri



**Şekil 4.3.2.5.** DYC numunesi adezyon testi sonrası AFM görüntüleri

Şekil 4.3.2.4.'deki AFM görüntüleri incelendiğinde yüzey pürüzlülüğünün yaklaşık 200 nm civarında olduğu, kısmen bazı bölgelerde 400 nm'ye çıktığı görülmektedir. Ayrıca yapıştırıcının yüzeye homojen yayıldığı ve yabancı herhangi bir faz ya da safsızlık içermediği görülmüştür. Yapıda bulunan katkı maddeleri olan ZnO ve demir oksit partiküler yapıları AFM görüntüleri üzerinde net olarak görülmektedir. Yapışacak yüzeyin yüzey kavitesini arttırmakta ve yüzeye kolay bir şekilde yayılmaktadır. Mekanik adezyon işlemi

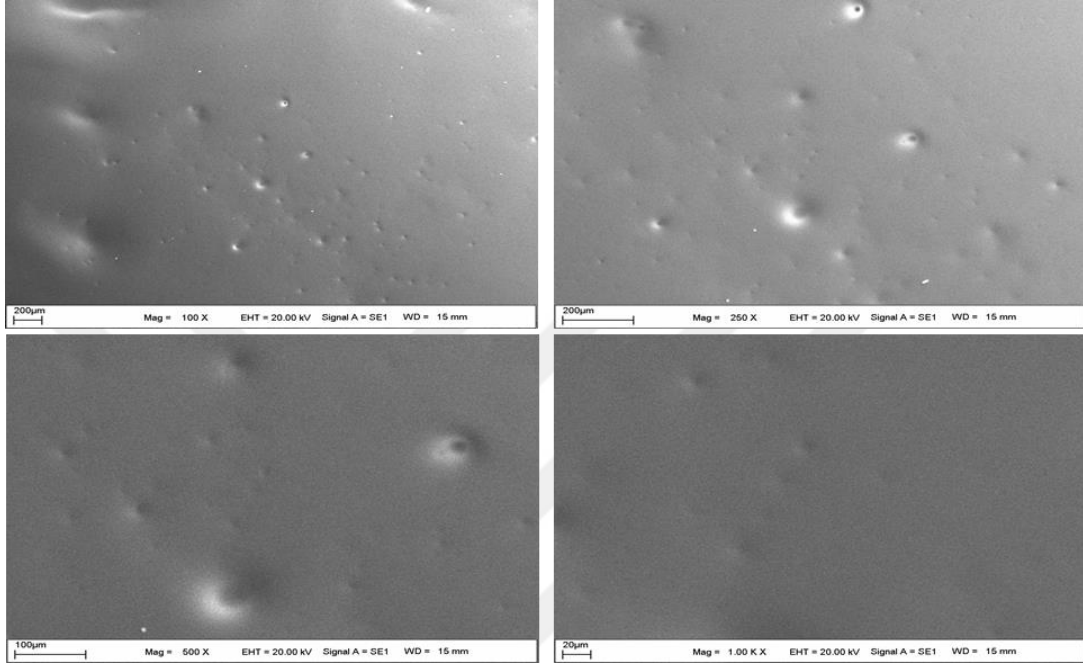
sonrası elde edilen yapının AFM görüntüleri yine farklı büyütme oranlarında olacak şekilde Şekil 4.3.2.5.'de verilmiştir. Bu şekil detaylı olarak incelendiğinde yüzey pürüzlülüğünün yaklaşık 100 nm civarında olduğu, bazı bölgelerde yaklaşık olarak 200 nm olarak görüldüğü belirlenmiştir. Adezyon testi sonrası genellikle yüzey yapısının düzlemsel olduğu ve yüzey pürüzlülüğünün de düştüğü görülmüştür. Yüzey pürüzlülüğündeki bu azalma yapışma işlemi ile yapıştırılan iki yüzeyin birbirine çok yakın tutulduğunu ve çekme işlemi ile keskin kırılma yüzeyleri oluşmadığını göstermektedir. Bu değişimi daha detaylı olarak görmek için DYK numunesi mekanik adezyon testi öncesi ve sonrası yüzey pürüzlülüğü sonuçları Şekil 4.3.2.6.'da verilmiştir. Bu sonuçlara göre çekme işlemi sırasında katkı maddelerinden kaynaklı partiküller yapı korunmuş ancak yüzeyde partiküller dağılımı daha geniş bir alana yayılmıştır.



**Şekil 4.3.2.6.** DYK numunesi adezyon testi öncesi ve adezyon testi sonrası yüzey pürüzlülüğü

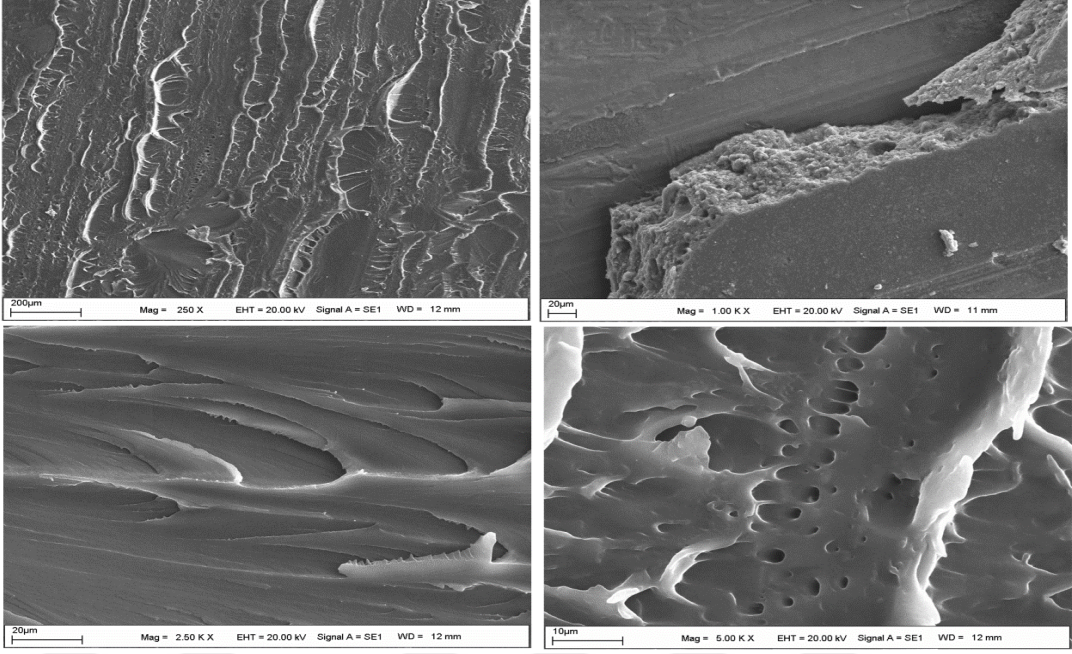
#### 4.3.3. LEU'nun Adezyon Testi Öncesi ve Sonrası SEM ve AFM Görüntüleri

Yapısındaki sertliği engellemek için 2-oktil siyanoakrilat yapıları LEU yapısında bulunmaktadır. Bu gruplar sayesinde yapılar daha esnektir. Çözgen uzaklaşması daha kolaydır. Çözgenler krater bölgeler oluşturarak yapıyı terketmiştir ve bu esneklikten kaynaklı olarak dokulara uyumlu bir yapıştırıcıdır.



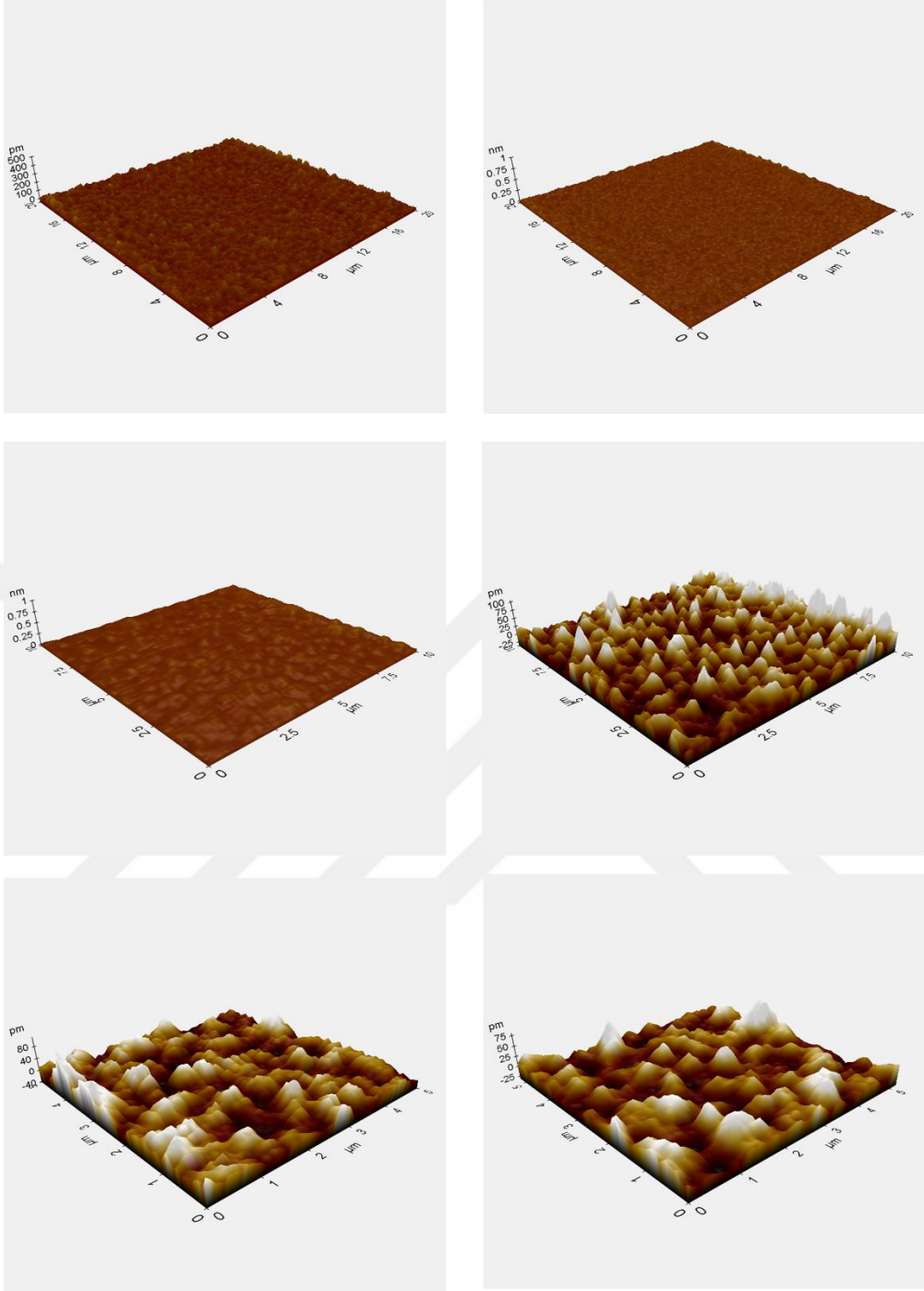
Şekil 4.3.3.1. LEU numunesi adezyon testi öncesi SEM görüntüsü

Mekanik adezyon testi sonrası esneklik kaynaklı olarak geniş uzama bölgeleri mevcuttur. Yapışmış olan yüzeyler aniden birbirini bırakmaz ve uygulanan kuvvet ile uzayarak bu kuvveti tolere eder.

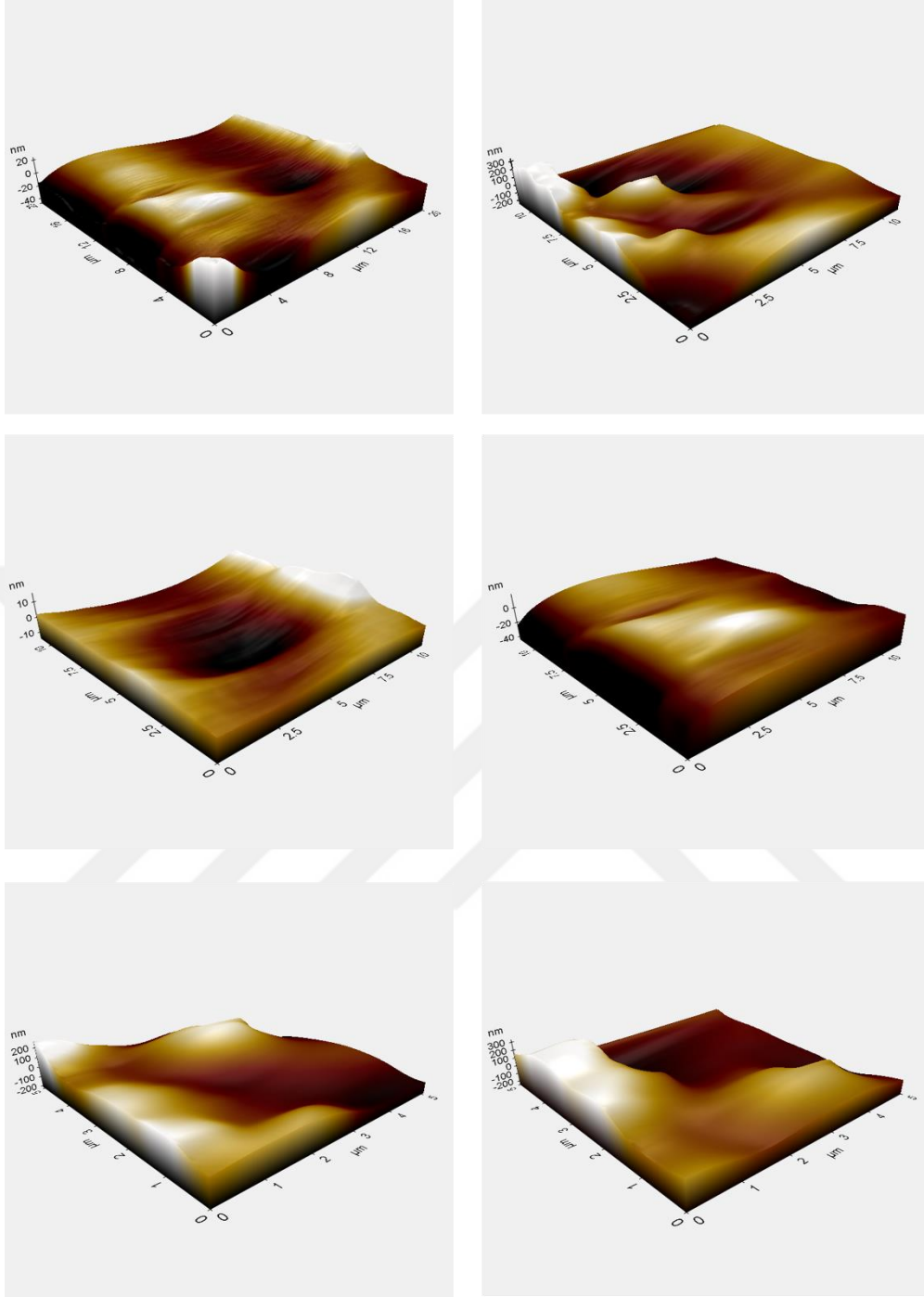


**Şekil 4.3.3.2.** LEU numunesi adezyon testi sonrası SEM görüntüsü

Şekil 4.3.3.1.'de LEU numunesine ait farklı büyütmelelerde adezyon testi öncesi AFM görüntüleri görülmektedir. Bu görüntüler sırası ile 20 μm, 10 μm ve 5 μm'lik alanı gösterecek şekilde büyütülmüştür.



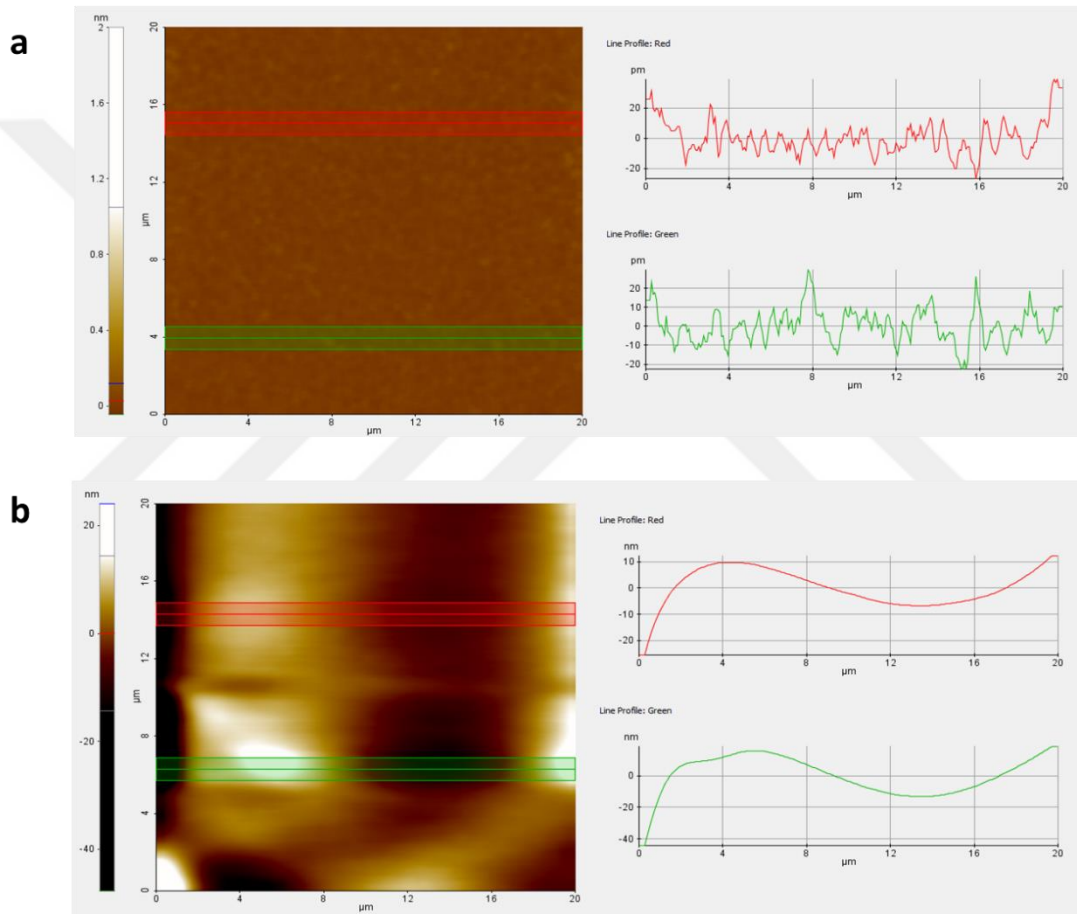
Şekil 4.3.3.3. LEU numunesi adezyon testi öncesi AFM görüntüleri



**Şekil 4.3.3.4.** LEU numunesi adezyon testi sonrası AFM görüntüleri

Bir siyanoakrilat doku yapıştırıcısı olan LEU oldukça akışkan ve düşük viskoziteli olduğu için yüzeye çok kolay yayılmakta ve yüzeyde homojen bir katman oluşturmaktadır. Özellikle yapıştırılacak yapılar arasında çok ince bir tabaka oluşturduğu için avantajlıdır. Bu avantajından dolayı mekanik adezyon testi öncesi yüzeyde çok düşük bir pürüzlülük oluşturmaktadır. Test sonrasında ise bu pürüzlülük artmakta yani tutunduğu yüzeyleri zor bırakmaktadır. Oldukça yüksek mekanik etkilere dayanmaktadır. Çekme sonrası oluşan

yüzeylerin farklı büyütme ölçeklerindeki AFM görüntüleri Şekil 4.3.3.4.'de verilmiştir. Çekme sonrasında özellikle yüzeydeki pürüzlülük artışı yüksek büyütme ölçeklerinde belirgin olarak görülmektedir. Her üç büyütmede de yüzey pürüzlülüğü belirgin şekilde artmıştır. Şekil 4.3.3.5.'de mekanik adezyon testi öncesi ve sonrası LEU yapısına ait yüzey pürüzlülüğü test ölçüm sonuçları verilmiştir. Bu sonuçlardan, mekanik adezyon testi öncesi yüzey pürüzlülüğü değeri yaklaşık  $\pm 20$  nm iken, test sonrasında bu değer belli bölgelerde yaklaşık olarak  $\pm 20$  nm'ye kadar çıkmıştır. Bu değişim yapıştırıcının yapıştırma gücünü de göstermektedir.

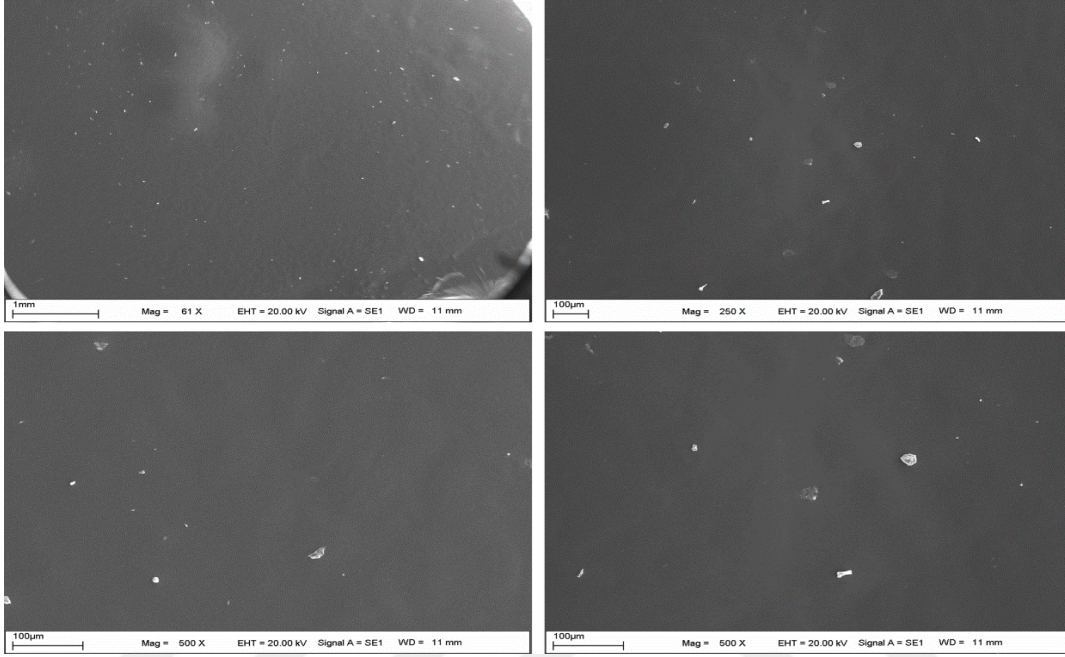


Şekil 4.3.3.5. LEU numunesi adezyon testi öncesi ve adezyon testi sonrası yüzey pürüzlülüğü

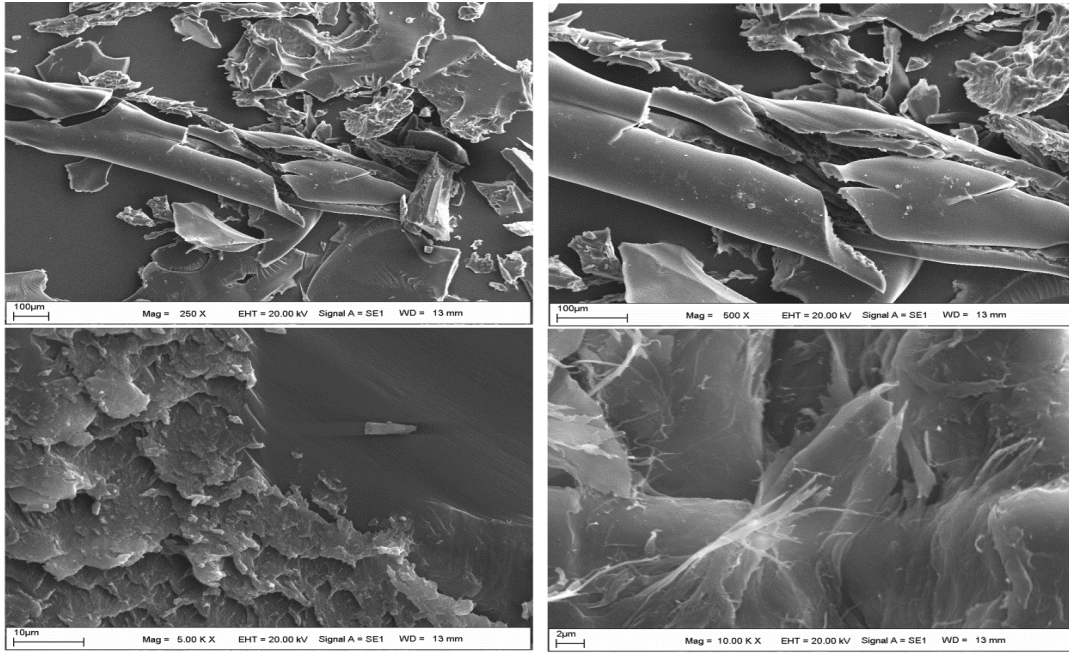
#### 4.3.4. PU-A'nın Adezyon Testi Öncesi ve Sonrası SEM ve AFM Görüntüleri

Poliüretan temelli doku yapıştırıcısında ise SEM görüntüleri çok düzgün ve pürüzsüzdür. Bu tür yapıştırıcılar sürülme ve yayılma açılarından oldukça avantajlıdır. Adezyon güçlerini poliüretan grupları üzerinde bulunan üretan bağlarından sağlamaktadır.

Ancak krleme sonrası yapı akrilat gruplarının polimerleşmesiyle sertleşir ve şekilde görüldüğü gibi sert yüzeyler ve derin kırıklar oluşturarak ayrılır. Bu nedenle uygulaması kolay ve krlemeyle dayanıklılığı yüksek yapılar elde edilir. Oldukça avantajlı yapıştırıcılardır.

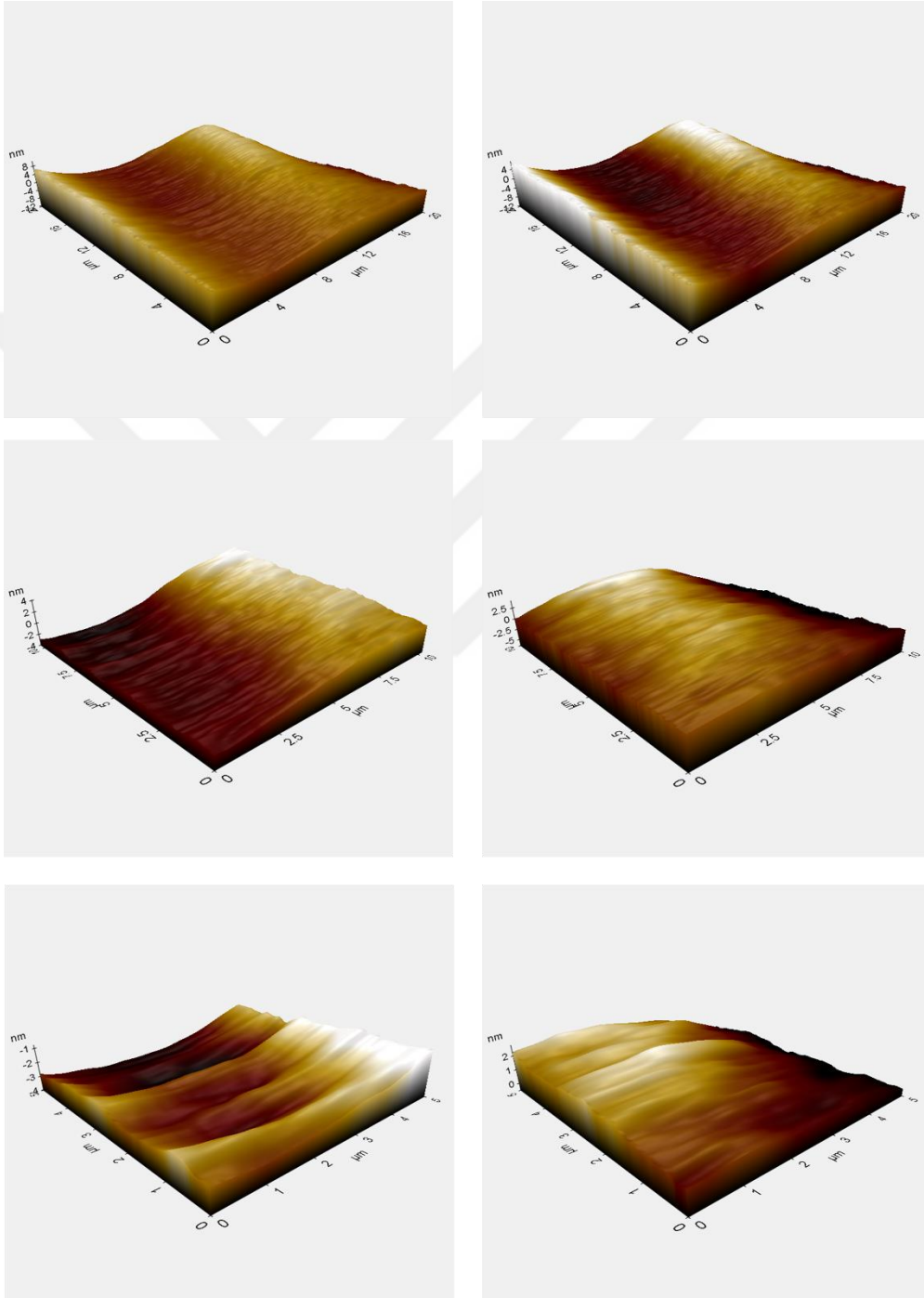


şekil 4.3.4.1. PU-A numunesi adezyon testi ncesi SEM görüntüsü

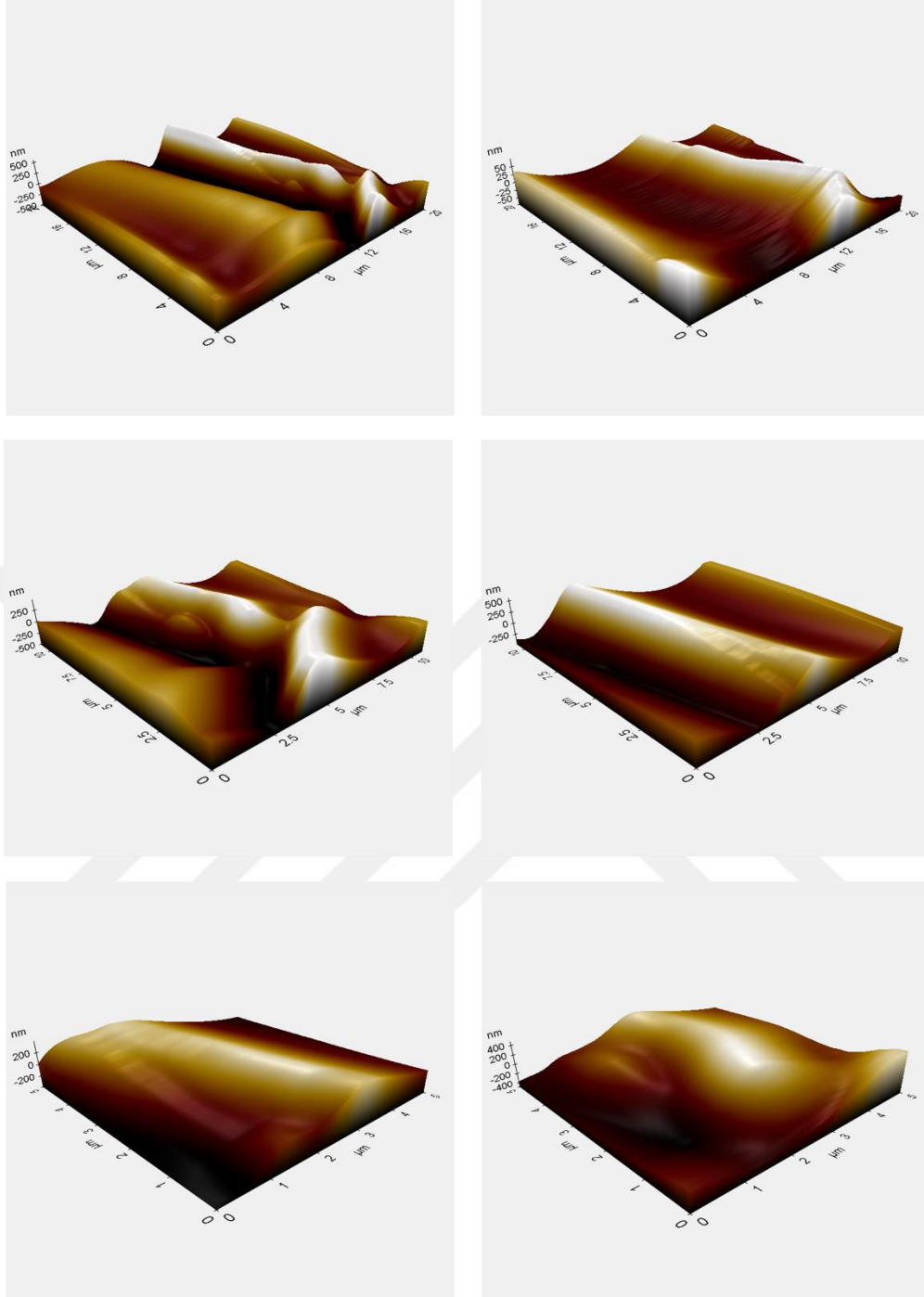


şekil 4.3.4.2. PU-A numunesi adezyon testi sonrası SEM görüntüsü

Şekil 4.3.4.3.'de tez kapsamında kullanılan poliüretan esaslı foto kürlenebilir yapıştırıcı numunesine ait farklı büyütme ölçeklerinde adezyon testi öncesi AFM görüntüleri görülmektedir. Bu görüntüler foto kürlene öncesi yayılmış numunenin yüzeye yayılma ve yüzeydeki morfolojilerini göstermektedir.



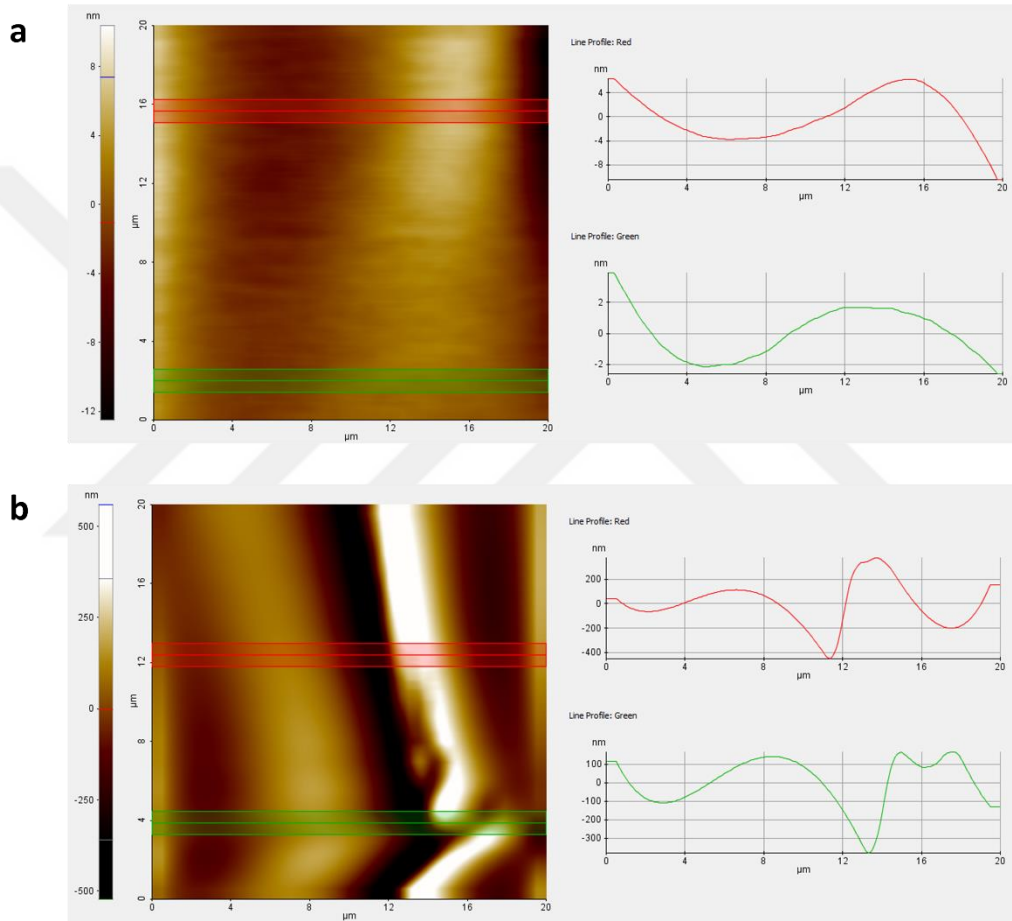
Şekil 4.3.4.3. PU-A numunesi adezyon testi öncesi AFM görüntüleri



**Şekil 4.3.4.4.** PU-A numunesi adezyon testi sonrası AFM görüntüleri

Şekil 4.3.4.3.'deki AFM görüntüleri incelendiğinde foto kütleme öncesi oldukça sıvı karakterli olarak yüzeye uygulanan poliüretan yapıştırıcının sürülebilirliği ve akışkanlığı oldukça ideal olduğu için homojen ve düzgün bir yayılım göstermektedir. Bu nedenle yüzey pürüzlülüğü ve yüzey kavimleri mekanik adezyon testi öncesi oldukça küçüktür. Ancak foto kütleme ile yapıştırma işlemi esnasında yüzeyler arasında oldukça güçlü bir etkileşim oluşmakta ve her iki yüzey birbirine çok sıkı tutunmaktadır. Mekanik adezyon testiyle

uygulanan mekanik etkiye yapıştırıcının akrilat grupları sert yapıyı olarak karşı koyarken poliüretan grupları esnek olarak karşı koymaktadır. Şekil 4.3.4.4.'de verilen adezyon testi sonrası görüntülerde bu durum açıkça görülmektedir. Yüzey pürüzlülüğünün kimi bölgelerde düşük ve düzlemsel olduğu, kimi bölgelerde ise keskin tepelikler şeklinde olduğu görülmektedir. Buna bağlı olarak kimi bölgelerde yaklaşık 100 nm civarında olduğu, kısmen bazı bölgelerde 200 nm'ye çıktığı görülmektedir. Buna rağmen yapıştırıcının yüzeye homojen yayıldığı ve yabancı herhangi bir faz ya da safsızlık içermediği görülmüştür.



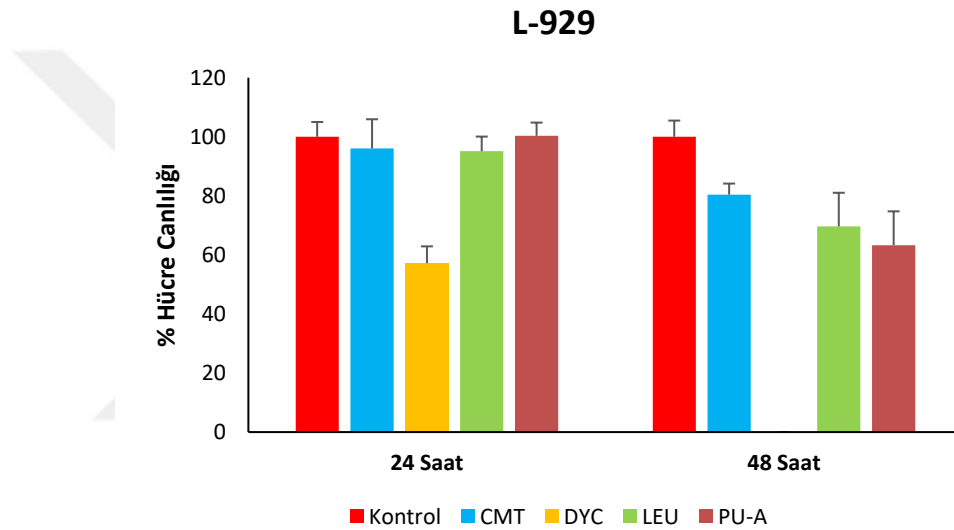
**Şekil 4.3.4.5.** PU-A numunesi adezyon testi öncesi ve adezyon testi sonrası yüzey pürüzlülüğü

Foto kürlenebilir poliüretan yapıştırıcı numunesi mekanik adezyon testi öncesi ve test sonrası yüzey değişimini daha detaylı olarak görmek için pürüzlülük sonuçları Şekil 4.3.4.5.'de verilmiştir. Şekil 4.3.4.5'deki sonuçlara göre adezyon testi öncesinde yaklaşık olarak  $\pm 2$  nm gibi küçük, oldukça düz ve düşük pürüzlülüğe sahip olan numune test sonrasında dramatik olarak değişmiştir. Yüzey pürüzlülüğü belirli bölgelerde  $\pm 200$  nm olacak kadar pürüzlü bir yapıya sahip olmuştur. Bu değişimin nedeni olarak, mekanik

adezyon kuvveti sırasında yapıştırıcının kuvvete karşı oldukça yüksek mukavemet sergilediği söylenebilir.

#### 4.4. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Hücre Kültür Sisteminde *In Vitro* Sitotoksosite Özelliklerinin Belirlenmesi

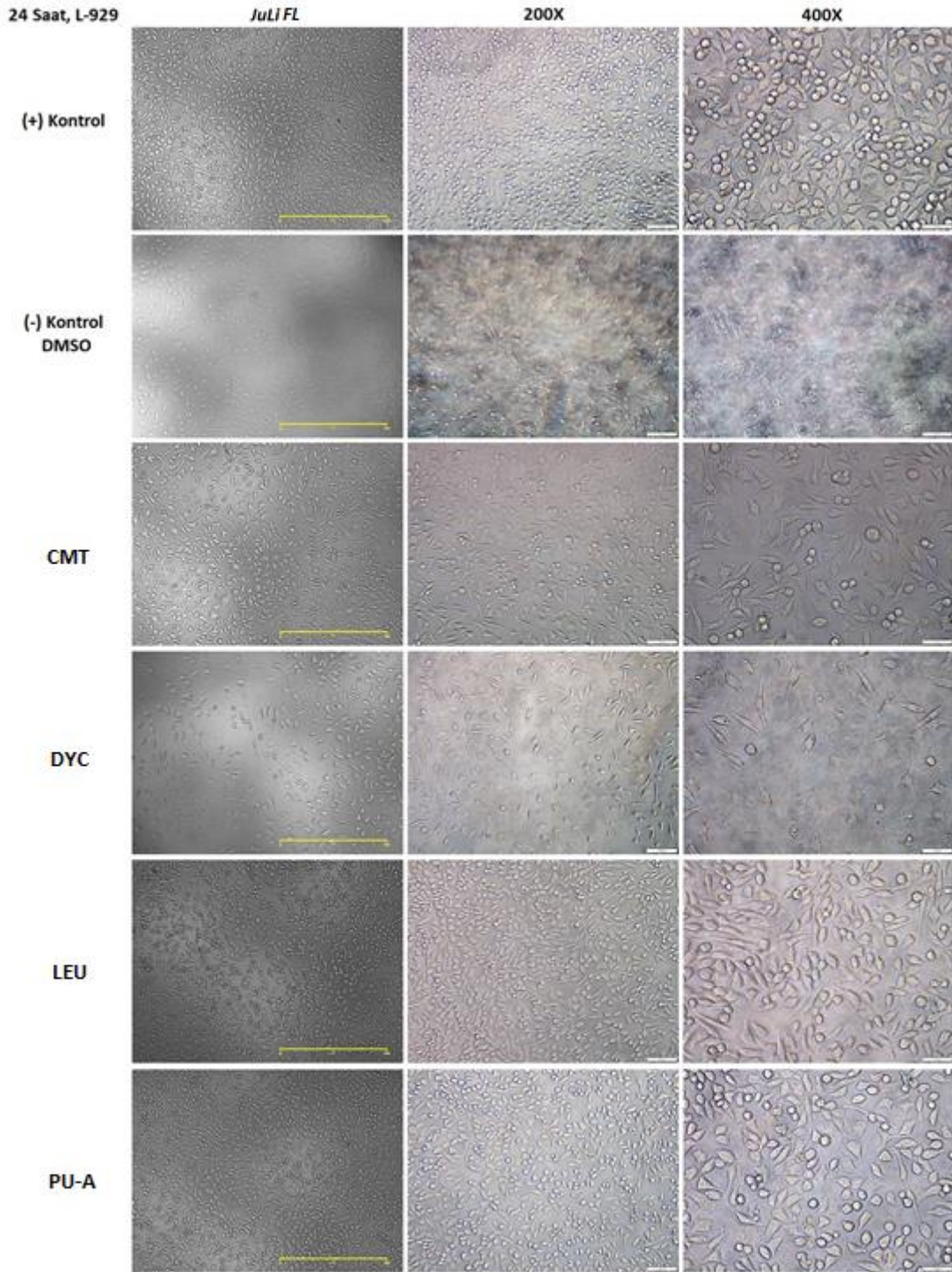
Sentetik temelli doku yapıştırıcılarının indirekt sitotoksiteleri ISO-10993-5 standartlarına göre değerlendirilmiştir. Doku yapıştırıcılarının L-929 ve HepG2 hücre hatları üzerindeki indirekt sitotoksosite sonuçları 24 ve 48 saat olarak Şekil 4.4.1. ve Şekil 4.4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.4.1. Doku yapıştırıcılarının L-929 hücre hattına ait 24 ve 48 saatlik sitotoksosite değerleri

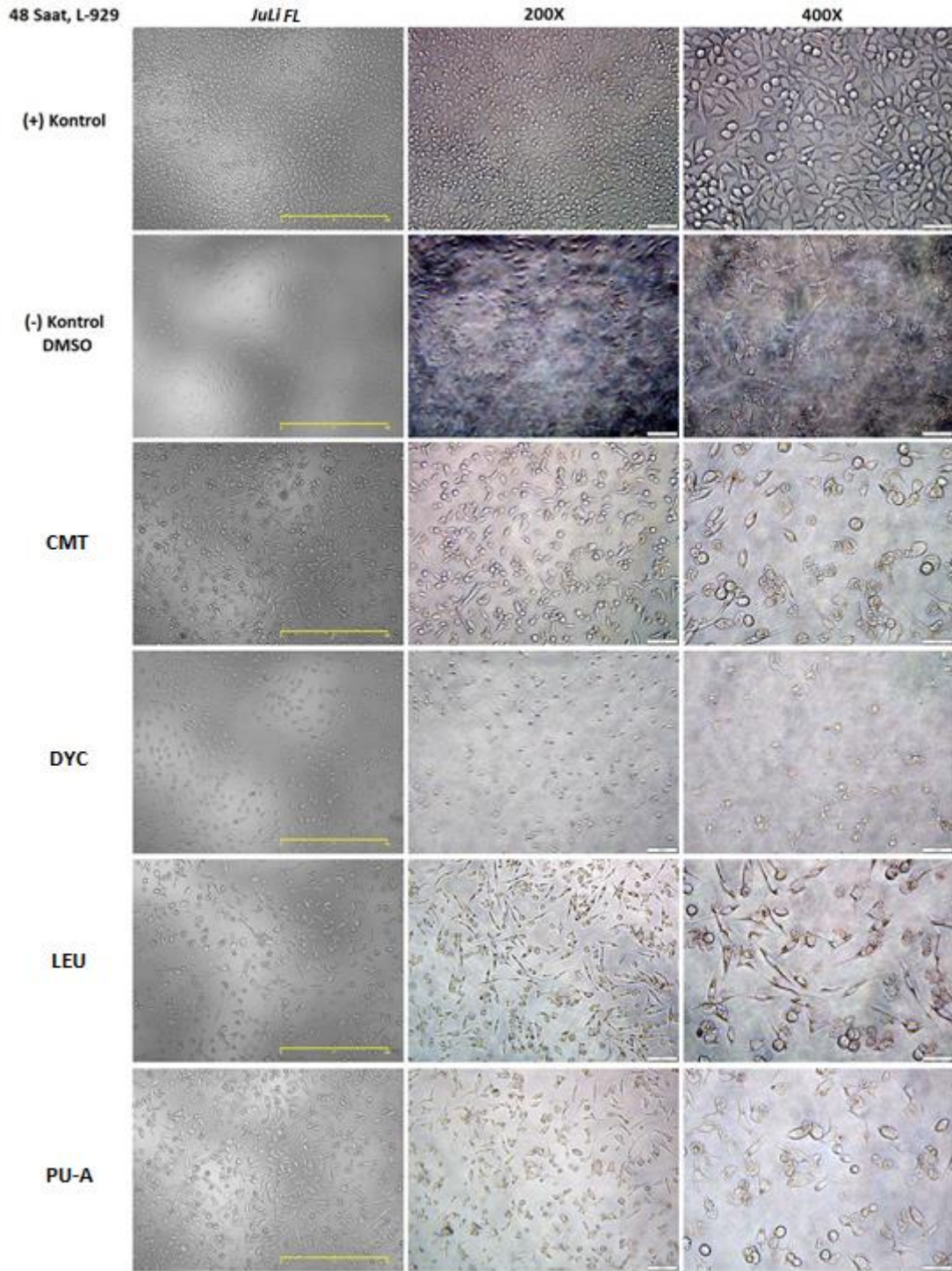
L-929 hücreleri üzerindeki test sonuçlarına göre, CMT, DYC, LEU ve PU-A doku yapıştırıcıları kontrol grubuna (24 saat için  $100 \pm 5.01$  ve 48 saat içinse  $100 \pm 5.49$ ) kıyasla sırasıyla 24 saat için  $96.05 \pm 9.89$ ,  $57.2 \pm 5.69$ ,  $95.11 \pm 4.95$  ve  $100.34 \pm 4.47$  olmak üzere ve ayrıca 48 saat içinse  $80.4 \pm 3.75$ ,  $0 \pm 0$ ,  $69.66 \pm 11.39$  ve  $63.25 \pm 11.5$  yüzde hücre canlılığı değerlerine sahiptirler. DYC örneği için 48 saat süre sonunda L-929 hücreleri üzerinde herhangi bir canlılık saptanmamıştır.

Ayrıca, Şekil 4.4.1.1. ve Şekil 4.4.1.2.'den sentetik doku yapıştırıcılarının L-929 hücreleri üzerindeki 24 ve 48 saatlik hücre canlılık görüntülerine sırasıyla ulaşılabilir.



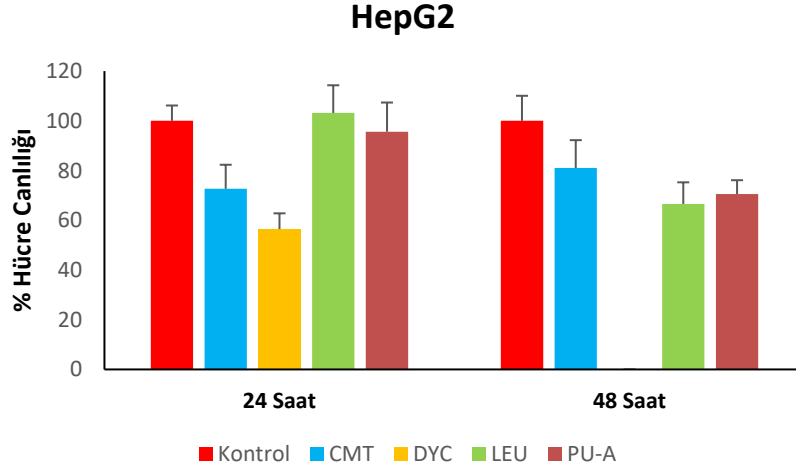
**Şekil 4.4.1.1.** Doku yapıştırıcılarının L-929 hücre hattına ait 24 saatlik hücre canlılık görüntüleri

(*JuLi FL*'ye ait görüntülerdeki sarı renkli bar 500 µm, 200X görüntülere ait bar 100 µm, 400X görüntülere ait bar 50 µm uzunluğundadır)



**Şekil 4.4.1.2.** Doku yapıştırıcılarının L-929 hücre hattına ait 48 saatlik hücre canlılık görüntüleri

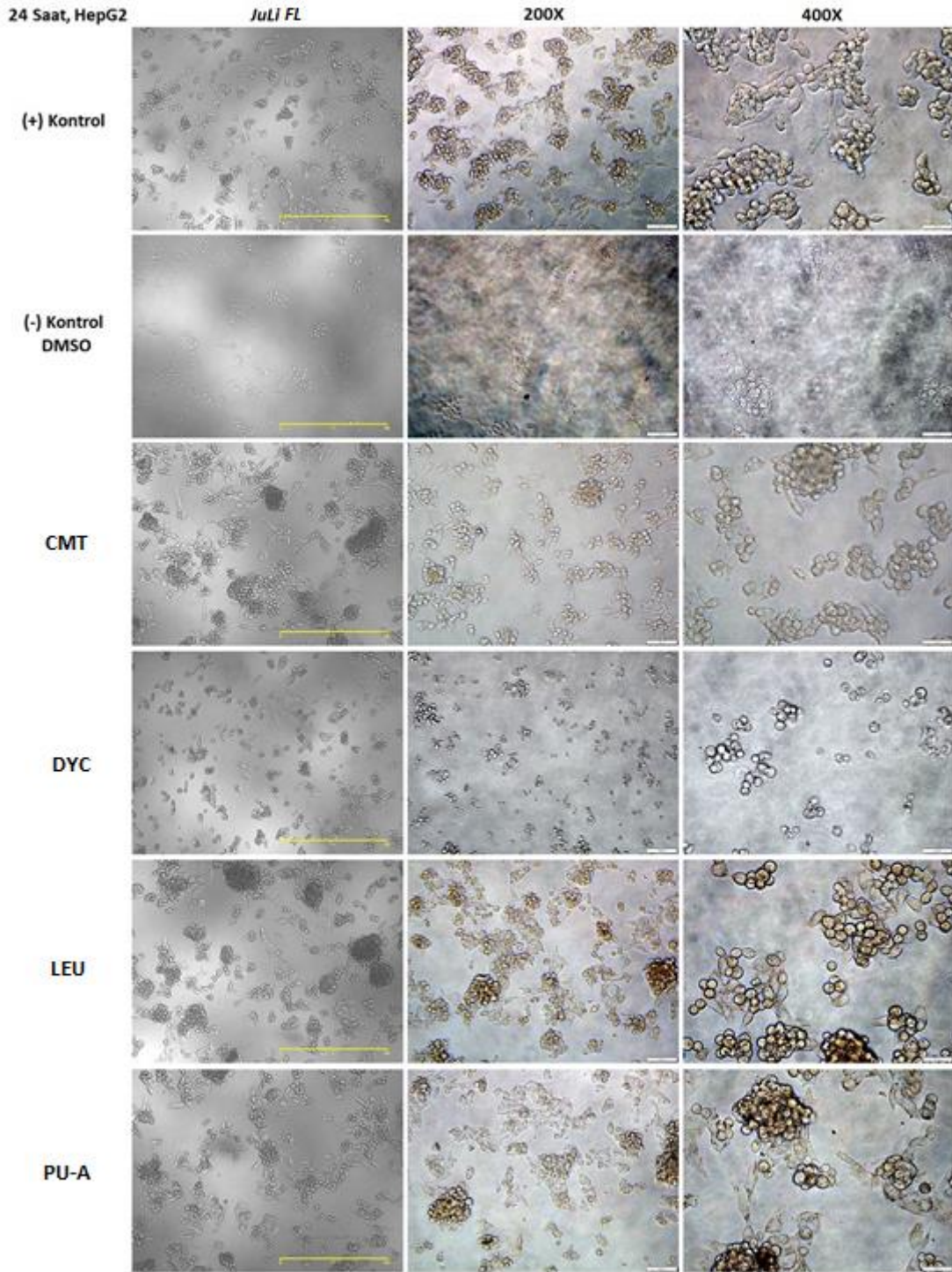
(*JuLi FL*'ye ait görüntülerdeki sarı renkli bar 500  $\mu\text{m}$ , 200X görüntülere ait bar 100  $\mu\text{m}$ , 400X görüntülere ait bar 50  $\mu\text{m}$  uzunluktadır)



**Şekil 4.4.2.** Doku yapıştırıcılarının HepG2 hücre hattına ait 24 ve 48 saatlik sitotoksosite değerleri

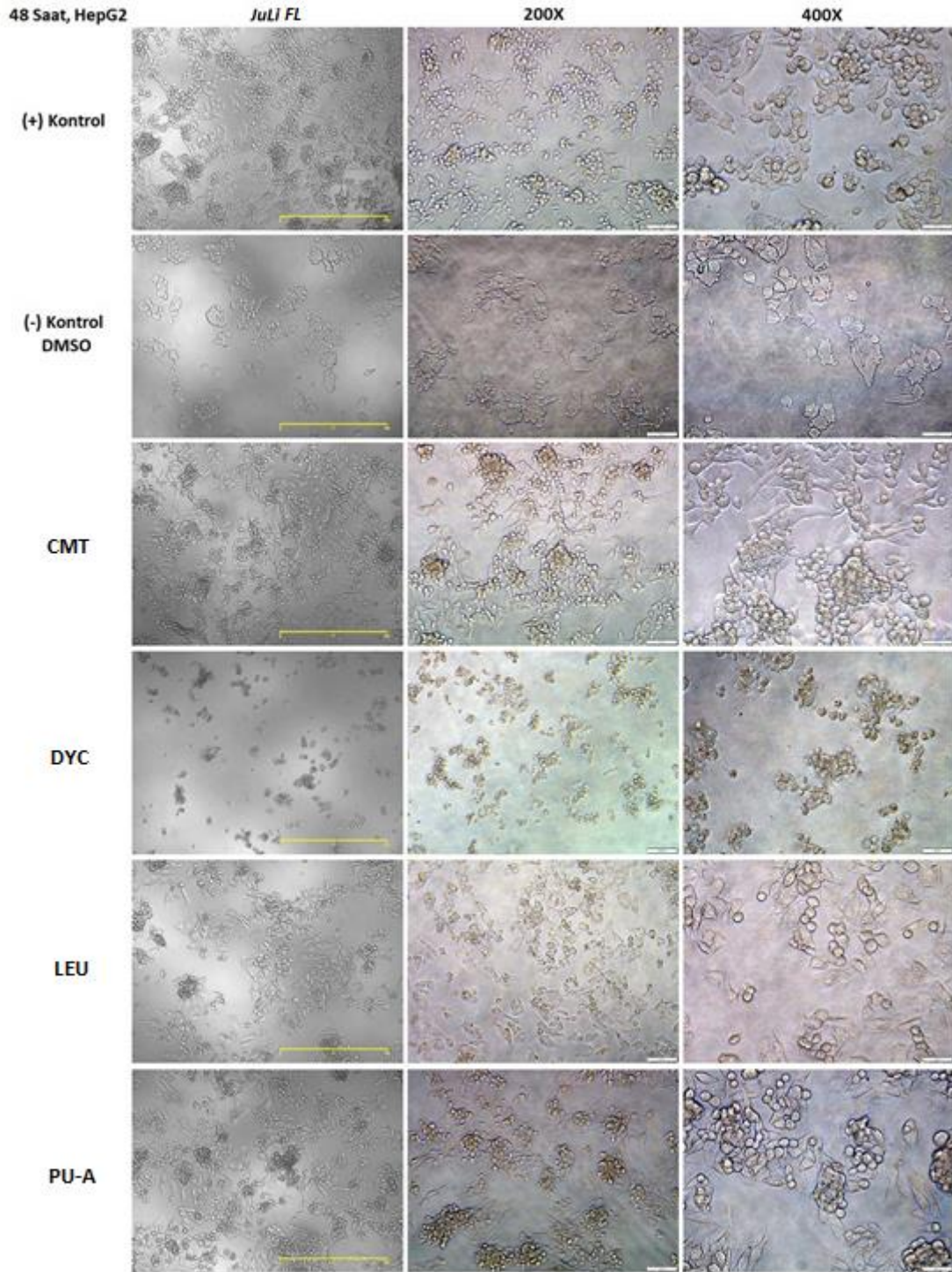
HepG2 hücreleri üzerindeki test sonuçlarına göre, CMT, DYC, LEU ve PU-A doku yapıştırıcıları kontrol grubuna (24 saat için  $100\pm 6.16$  ve 48 saat içinse  $100\pm 10.06$ ) kıyasla sırasıyla 24 saat için  $72.66\pm 9.67$ ,  $56.42\pm 6.36$ ,  $103.15\pm 11.14$  ve  $95.61\pm 11.74$  olmak üzere ve ayrıca 48 saat içinse  $81.02\pm 11.19$ ,  $0\pm 0$ ,  $66.57\pm 8.69$  ve  $70.53\pm 5.58$  yüzde hücre canlılığı değerlerine sahiptirler. DYC örneği için 48 saat süre sonunda HepG2 hücreleri üzerinde herhangi bir canlılık saptanmamıştır.

Ayrıca, Şekil 4.4.2.1. ve Şekil 4.4.2.2.'den sentetik doku yapıştırıcılarının HepG2 hücreleri üzerindeki 24 ve 48 saatlik hücre canlılık görüntülerine sırasıyla ulaşılabilir.



**Şekil 4.4.2.1.** Doku yapıştırıcılarının HepG2 hücre hattına ait 24 saatlik hücre canlılık görüntüleri

(*JuLi FL*'ye ait görüntülerdeki sarı renkli bar 500 µm, 200X görüntülere ait bar 100 µm, 400X görüntülere ait bar 50 µm uzunluğundadır)



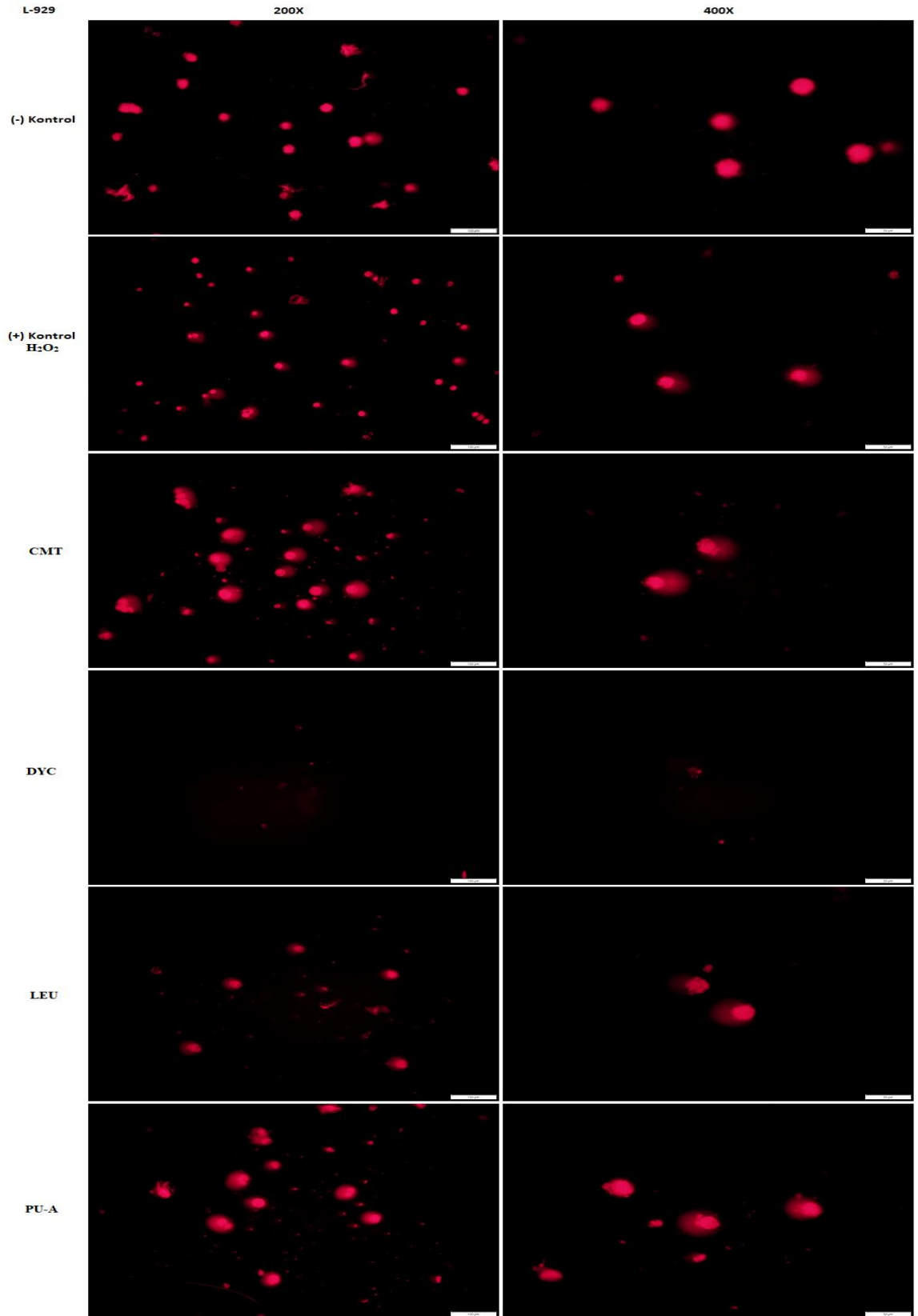
**Şekil 4.4.2.2.** Doku yapıştırıcılarının HepG2 hücre hattına ait 48 saatlik hücre canlılık görüntüleri

(*JuLi FL*'ye ait görüntülerdeki sarı renkli bar 500  $\mu\text{m}$ , 200X görüntülere ait bar 100  $\mu\text{m}$ , 400X görüntülere ait bar 50  $\mu\text{m}$  uzunluktadır)

#### 4.5. Sentetik Doku Yapıştırıcılarının Hücre Kültür Sisteminde *İn Vitro* Genotoksite Özelliklerinin Belirlenmesi

Genotoksitenin belirlenmesinde genellikle kullanılan yöntemlerden birisi olan komet tekniğiyle, çalışmamızdaki L-929 ve HepG2 hücre hatları üzerinde DYC için 24 saat ve CMT, LEU ve PU-A içinse 48 saat uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.5.1.'de sentetik doku yapıştırıcılarının L-929 hücreleriyle muamelesi sonucu oluşan komet resimleri görülmektedir.

Sentetik doku yapıştırıcılarına maruz kalan L-929 hücrelerindeki DNA hasarını belirlemek için her gruptan 40 hücrenin ortalama değerlerine ait 7 parametre birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Bu parametreler Baş Yoğunluğu (Piksel), Baş DNA (%), Kuyruk Uzunluğu (Piksel), Kuyruk Yoğunluğu (Piksel), Kuyruk DNA (%), Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momentidir. Buna göre tüm sentetik doku yapıştırıcısı uygulanan grupların, her iki kontrole kıyasla hem Kuyruk Yoğunluğu (Piksel) hem de Olive Kuyruk Momenti değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı oldukları saptanmıştır ( $p<0.001$ ). Kontroller haricindeki gruplar arasında ise Olive Kuyruk Momenti parametresi bakımından birbirlerinden istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı oldukları saptanmıştır ( $p<0.001$ ). Kuyruk Uzunluğu (Piksel), Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momenti parametreleri bakımından CMT ve ayrıca PU-A'nın diğer sentetik doku yapıştırıcılarından; Baş Yoğunluğu (Piksel), Kuyruk Yoğunluğu (Piksel) ve Olive Kuyruk Momenti parametreleri bakımından DYC ve ayrıca LEU'nun diğer sentetik doku yapıştırıcılarından istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı oldukları saptanmıştır ( $p<0.001$ ). Doku yapıştırıcıları ve kontrollerin L-929 hücre hattı üzerindeki 7 farklı genotoksite parametrelerine ait değerler Çizelge 4.5.1.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.5.1.** Sentetik doku yapıştırıcıları ve kontrollerin L-929 hücre hattı üzerindeki komet görüntüleri

(200X görüntülere ait bar 100 µm, 400X görüntülere ait bar 50 µm uzunluktadır)

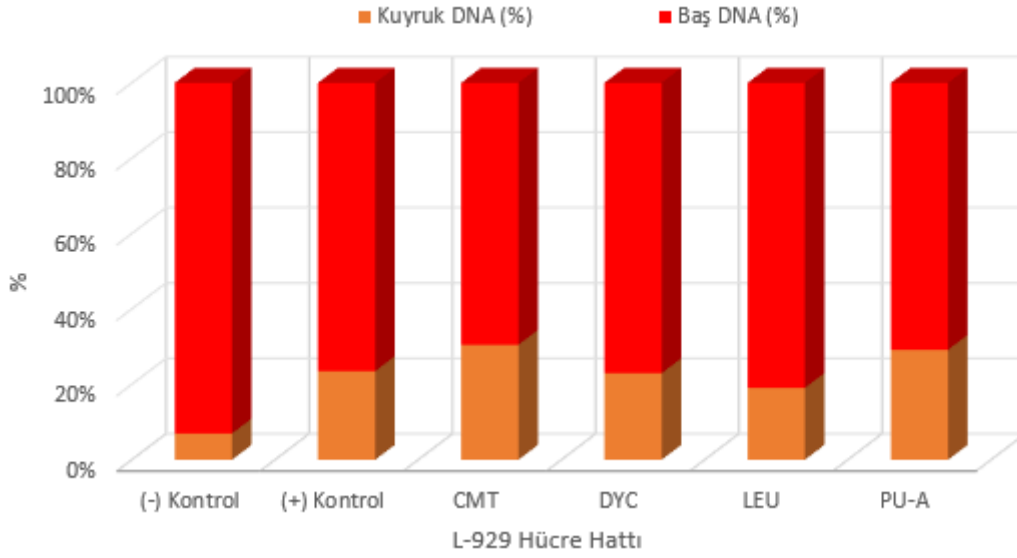
**Çizelge 4.5.1** Doku yapıştırıcıları ve kontrollerin L-929 hücre hattı üzerindeki farklı genotoksosite parametrelerine ait değerler.

Değişkenler	Gruplar						p-değeri***
	(-) Kontrol	(+) Kontrol	CMT	DYC	LEU	PU-A	
<b>Baş Yoğunluğu (Piksel)</b>	158383 <sup>b,c,e</sup> (68655-280941)	138886 <sup>b,c,e</sup> (37132-261252)	288072 <sup>c,d</sup> (96094-737550)	26184.5 <sup>d,e</sup> (6737-82862)	123061 <sup>e</sup> (1859-809825)	265828 (2390-1665915)	<0.001
<b>Baş DNA (%)</b>	93.03 <sup>a,b,c,d,e</sup> (90.16-99.3)	76.48 <sup>b,d</sup> (55.04-89.63)	69.5 <sup>c,d</sup> (30.93-91.3)	77.05 (60.79-93.06)	80.94 <sup>e</sup> (8.32-99.4)	70.82 (0.65-98.77)	<0.001
<b>Kuyruk Uzunluğu (Piksel)</b>	2 <sup>a,b,d,e</sup> (1-7)	20 <sup>b,c,d</sup> (15-48)	30 <sup>c,d,e</sup> (18-43)	3 <sup>e</sup> (1-9)	4 <sup>e</sup> (1-18)	20.5 (1-130)	<0.001
<b>Kuyruk Yoğunluğu (Piksel)</b>	12180.5 <sup>a,b,c,d,e</sup> (657-19670)	39696 <sup>b,c,d,e</sup> (11070-118679)	118065 <sup>c,d</sup> (23529-652514)	8370 <sup>d,e</sup> (2220-27499)	20180 <sup>e</sup> (3607-189839)	132736 (2855-1083639)	<0.001
<b>Kuyruk DNA (%)</b>	6.97 <sup>a,b,c,d,e</sup> (0.7-9.84)	23.52 <sup>b,d</sup> (10.37-44.96)	30.5 <sup>c,d</sup> (8.7-69.07)	22.95 (6.94-39.21)	19.06 <sup>e</sup> (0.6-91.68)	29.18 (1.23-99.35)	<0.001
<b>Kuyruk Momenti</b>	0.13 <sup>a,b,c,d,e</sup> (0.04-0.59)	4.87 <sup>b,c,d</sup> (1.92-13.91)	8.28 <sup>c,d,e</sup> (3.05-29.01)	0.56 <sup>e</sup> (0.15-2.32)	0.73 <sup>e</sup> (0.04-16.5)	6.67 (0.04-98.36)	<0.001
<b>Olive Kuyruk Momenti</b>	0.89 <sup>a,b,c,d,e</sup> (0.13-1.24)	4.27 <sup>b,c,d,e</sup> (1.92-10.78)	7.76 <sup>c,d,e</sup> (4.01-25.38)	1.23 <sup>d,e</sup> (0.37-3.64)	1.99 <sup>e</sup> (0.29-15.7)	9.66 (0.25-68.09)	<0.001

\* : a: (+) Kontrol grubuna göre farklıdır, b: CMT grubuna göre farklıdır, c: DYC grubuna göre farklıdır, d: LEU grubuna göre farklıdır, e: PU-A grubuna göre farklıdır.

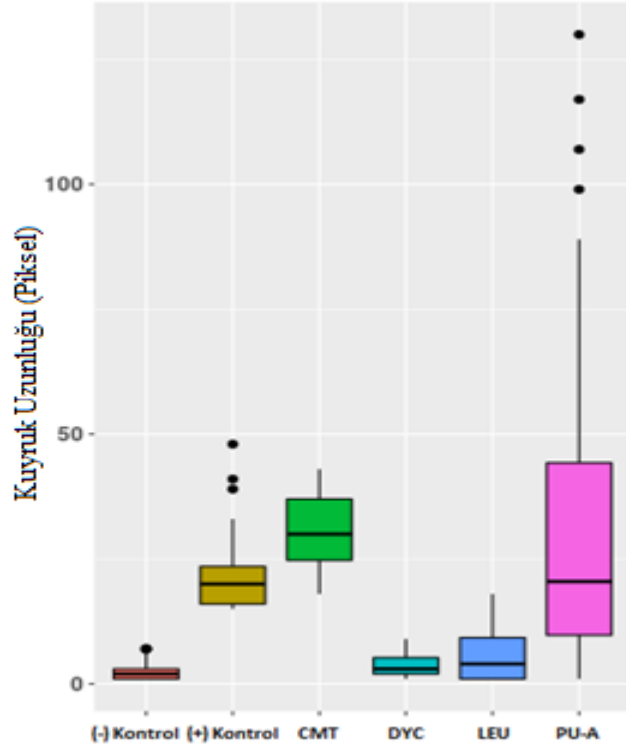
\*\* : Değişkenler 'Ortanca (Minimum-Maksimum)' şeklinde özetlenmiştir.

\*\*\*: Kruskal-Wallis testi



**Şekil 4.5.2.** Grupların L-929 hücre hattı üzerindeki Kuyruk DNA (%) ve Baş DNA (%) karşılaştırması

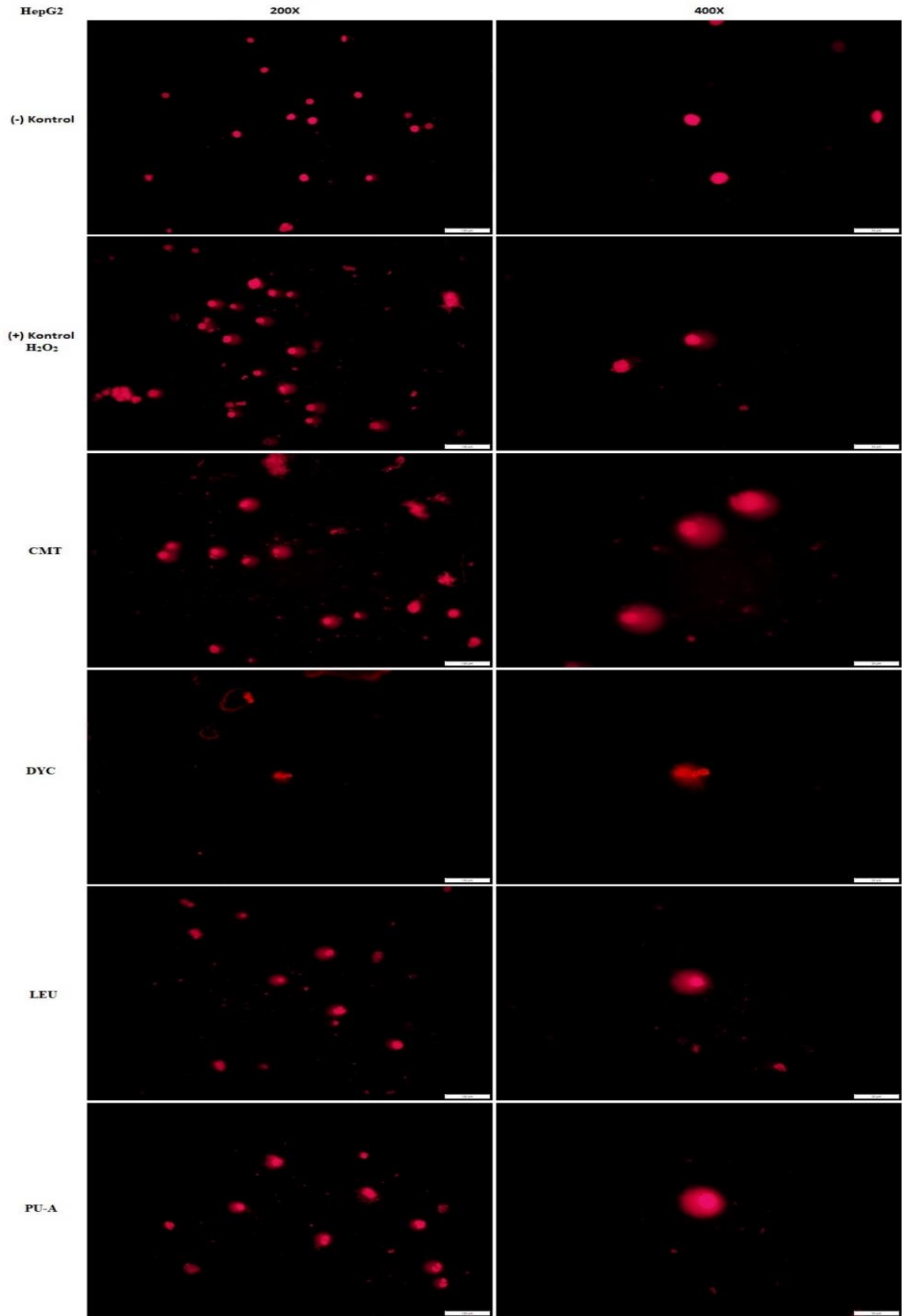
Çalışmada ayrıca sentetik doku yapıştırıcısı uygulamalarından sonra meydana gelebilecek genetik hasarı belirleyebilmek için kullandığımız komet analizindeki başka parametreler Kuyruk DNA (%) ve Baş DNA (%)’dir. Grupların L-929 hücre hattı üzerindeki bu parametrelere ilişkin Çizelge 4.5.1.’deki veriler kullanılarak Şekil 4.5.2. elde edilmiştir. Buna göre (-) Kontrol, (+) Kontrol, CMT, DYC, LEU ve PU-A’nın Kuyruk DNA (%) değerleri sırasıyla 6.97, 23.52, 30.5, 22.95, 19.06 ve 29.18’dir. Buna ek olarak, (-) Kontrol, (+) Kontrol, CMT, DYC, LEU ve PU-A’nın Baş DNA (%) değerleri sırasıyla 93.03, 76.48, 69.5, 77.05, 80.94 ve 70.82’dir. Sonuç olarak bütün sentetik doku yapıştırıcısı gruplar (-) Kontrole kıyasla Kuyruk DNA (%) ve Baş DNA (%) bakımından anlamlı seviyede farklı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ).



**Şekil 4.5.3.** Grupların L-929 hücre hattı üzerindeki Kuyruk Uzunluğu (Piksel) parametresine ait kutu-grafiği gösterimi (Nokta aykırı tek veriyi, yatay siyah çizgiler ortancayı göstermektedir.)

Şekil 4.5.3.'deki kutu-grafiğinden de anlaşılacağı gibi CMT ve PU-A doku yapıştırıcılarının DYC ve LEU doku yapıştırıcılarına nazaran L-929 hücre hattı üzerinde DNA'daki hasar sonucu meydana gelen göç uzunluğu daha fazladır. Ayrıca, PU-A tarafından L-929 hücrelerinde meydana gelen hasarın çeşitliliği diğer doku yapıştırıcılarına göre daha heterojendir. Kuyruk Uzunluğu (Piksel) parametresi bakımından (-) Kontrol ile DYC birbirine oldukça yakın ve diğer sentetik doku yapıştırıcılarıyla (+) Kontrole kıyasla L-929 hücrelerinin DNA'larındaki hasar sonucu meydana gelen göç uzunluğu bakımından nispeten homojen dağılım sergilemişlerdir.

Şekil 4.5.4.'de sentetik doku yapıştırıcılarının HepG2 hücreleriyle muamelesi sonucu oluşan komet resimleri görülmektedir.



**Şekil 4.5.4.** Sentetik doku yapıştırıcıları ve kontrollerin HepG2 hücre hattı üzerindeki komet görüntüleri

(200X görüntülere ait bar 100 µm, 400X görüntülere ait bar 50 µm uzunluktadır)

**Çizelge 4.5.2** Doku yapıştırıcıları ve kontrollerin HepG2 hücre hattı üzerindeki farklı genotoksisite parametrelerine ait değerler.

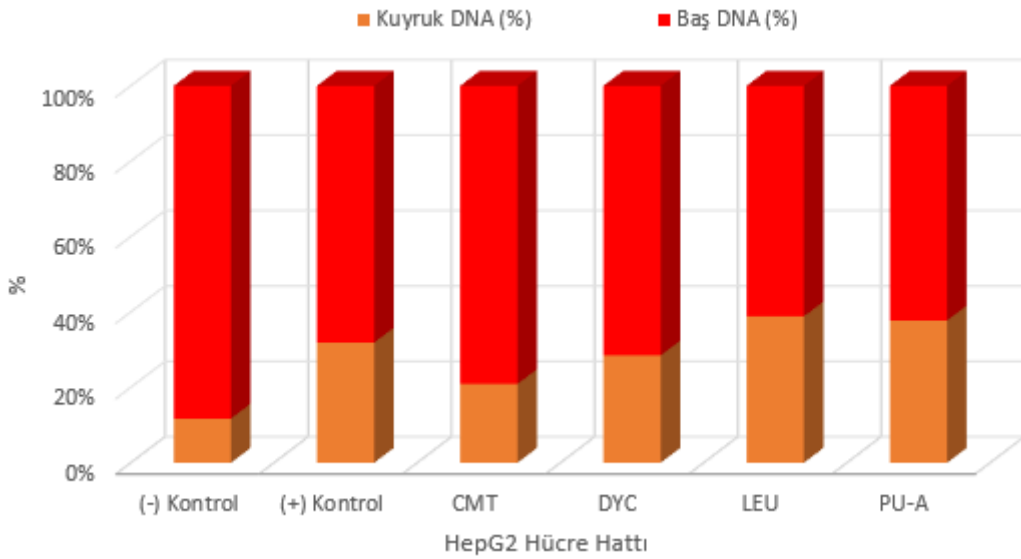
Değişkenler	Gruplar						p-değeri***
	(-) Kontrol	(+) Kontrol	CMT	DYC	LEU	PU-A	
<b>Baş Yoğunluğu (Piksel)</b>	78077 <sup>a,b,c,d,e</sup> (20914-155008)	183896 <sup>b,c,d,e</sup> (56010-656277)	247520 <sup>c,d,e</sup> (116130-444546)	39181 <sup>d,e</sup> (6934-207080)	18415 (3046-199584)	15591 (3120-214960)	<0.001
<b>Baş DNA (%)</b>	88.28 <sup>a,b,c,d,e</sup> (79.42-95.24)	68.12 <sup>b</sup> (33.62-89.08)	79.11 <sup>d,e</sup> (46.5-93.21)	71.53 <sup>d,e</sup> (16.74-97.64)	61.17 (30.31-91.8)	62.24 (22.57-90.65)	<0.001
<b>Kuyruk Uzunluğu (Piksel)</b>	2 <sup>a,b,c,d,e</sup> (1-3)	28.5 <sup>b,c,d,e</sup> (21-49)	18 <sup>c,d,e</sup> (11-38)	6 (3-32)	8 <sup>e</sup> (6-13)	7 (3-11)	<0.001
<b>Kuyruk Yoğunluğu (Piksel)</b>	9759.5 <sup>a,b,c</sup> (3469-24025)	82853 <sup>c,d,e</sup> (16860-278500)	66812 <sup>c,d,e</sup> (16750-240157)	12183 <sup>e</sup> (1493-152121)	10846 (1582-72346)	9711.5 (2022-84370)	<0.001
<b>Kuyruk DNA (%)</b>	11.72 <sup>a,b,c,d,e</sup> (4.76-20.58)	31.88 <sup>b</sup> (10.92-66.38)	20.89 <sup>d,e</sup> (6.79-53.5)	28.47 <sup>d,e</sup> (2.36-83.26)	38.83 (8.2-69.69)	37.76 (9.35-77.43)	<0.001
<b>Kuyruk Momenti</b>	0.19 <sup>a,b,c,d,e</sup> (0.05-0.52)	8.51 <sup>b,c,d,e</sup> (2.4-29.21)	4.25 <sup>c,d,e</sup> (0.88-19.38)	1.44 (0.14-19.19)	2.84 (0.57-8.87)	2.31 (0.35-8.52)	<0.001
<b>Olive Kuyruk Momenti</b>	0.96 <sup>a,b,c,d,e</sup> (0.5-1.69)	7.93 <sup>b,c,d,e</sup> (2.56-18.21)	4.92 <sup>c,d,e</sup> (1.92-14.43)	2.84 (0.45-23.36)	2.95 (0.92-9.73)	2.4 (0.87-10.93)	<0.001

\* : a: (+) Kontrol grubuna göre farklıdır, b: CMT grubuna göre farklıdır, c: DYC grubuna göre farklıdır, d: LEU grubuna göre farklıdır, e: PU-A grubuna göre farklıdır.

\*\* : Değişkenler 'Ortanca (minimum-maksimum)' şeklinde özetlenmiştir.

\*\*\*: Kruskal-Wallis testi

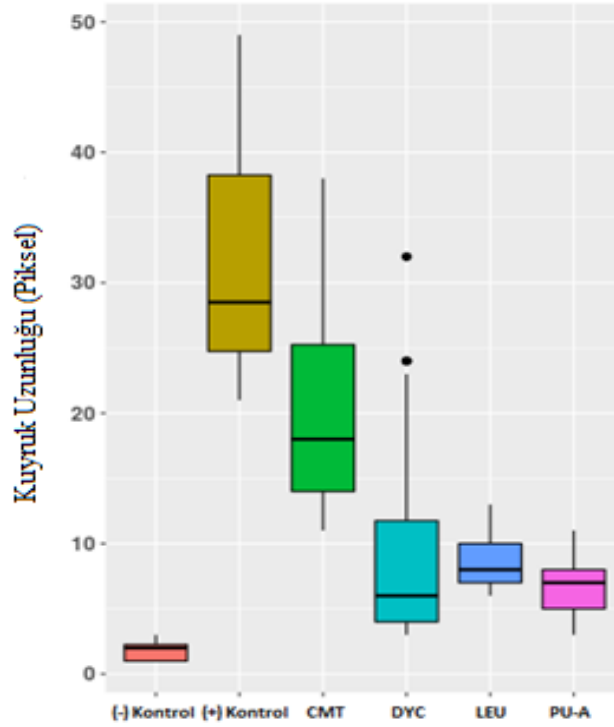
Sentetik doku yapıştırıcılarına maruz kalan HepG2 hücrelerindeki DNA hasarını belirlemek için her gruptan 40 hücrenin ortalama değerlerine ait 7 parametre birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Bu parametreler Baş Yoğunluğu (Piksel), Baş DNA (%), Kuyruk Uzunluğu (Piksel), Kuyruk Yoğunluğu (Piksel), Kuyruk DNA (%), Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momentidir. Buna göre tüm sentetik doku yapıştırıcısı uygulanan grupların, her iki kontrole kıyasla Baş Yoğunluğu (Piksel), Kuyruk Uzunluğu (Piksel), Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momenti değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı oldukları saptanmıştır ( $p<0.001$ ). Kontroller haricindeki gruplar arasında ise parametreler bakımından istatistiksel açıdan anlamlı seviyede herhangi bir farklılık saptanmamıştır ( $p<0.001$ ). Baş Yoğunluğu (Piksel), Kuyruk Uzunluğu (Piksel), Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momenti parametreleri bakımında CMT'nin diğer sentetik doku yapıştırıcılarından istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı olduğu saptanmıştır ( $p<0.001$ ). Doku yapıştırıcıları ve kontrollerin HepG2 hücre hattı üzerindeki 7 farklı genotoksosite parametrelerine ait değerler Çizelge 4.5.2.'de gösterilmiştir.



**Şekil 4.5.5.** Grupların HepG2 hücre hattı üzerindeki Kuyruk DNA (%) ve Baş DNA (%) karşılaştırması

Çalışmada ayrıca sentetik doku yapıştırıcısı uygulamalarından sonra meydana gelebilecek genetik hasarı belirleyebilmek için kullandığımız komet analizindeki başka parametreler Kuyruk DNA (%) ve Baş DNA (%)'dir. Grupların HepG2 hücre hattı üzerindeki bu parametrelere ilişkin Çizelge 4.5.2.'deki veriler kullanılarak Şekil 4.5.5. elde

edilmiştir. Buna göre (-) Kontrol, (+) Kontrol, CMT, DYC, LEU ve PU-A'nın Kuyruk DNA (%) değerleri sırasıyla 11.72, 31.88, 20.89, 28.47, 38.83 ve 37.76'dır. Buna ek olarak, (-) Kontrol, (+) Kontrol, CMT, DYC, LEU ve PU-A'nın Baş DNA (%) değerleri sırasıyla 88.28, 68.12, 79.11, 71.53, 61.17 ve 62.24'tür. Sonuç olarak bütün sentetik doku yapıştırıcısı gruplar (-) Kontrole kıyasla Kuyruk DNA (%) ve Baş DNA (%) bakımından anlamlı seviyede farklı bulunmuştur ( $p < 0.001$ ).



**Şekil 4.5.6.** Grupların HepG2 hücre hattı üzerindeki Kuyruk Uzunluğu (Piksel) parametresine ait kutu-grafiği gösterimi (Nokta aykırı tek veriyi, yatay siyah çizgiler ortancayı göstermektedir.)

Şekil 4.5.6.'daki kutu-grafiğinden de anlaşılacağı gibi CMT ve LEU doku yapıştırıcılarının DYC ve PU-A doku yapıştırıcılarına nazaran HepG2 hücre hattı üzerinde DNA'daki hasar sonucu meydana gelen göç uzunluğu daha fazladır. Ayrıca, CMT tarafından HepG2 hücrelerinde meydana gelen hasarın çeşitliliği diğer doku yapıştırıcılarına göre daha heterojendir. Kuyruk Uzunluğu (Piksel) parametresi bakımından LEU ile PU-A birbirine oldukça yakın ve diğer sentetik doku yapıştırıcılarıyla (+) Kontrole kıyasla HepG2 hücrelerinin DNA'larındaki hasar sonucu meydana gelen göç uzunluğu bakımından nispeten homojen dağılım sergilemişlerdir.

## 5. TARTIŞMA

Tez kapsamında günümüzde özellikle cerrahi alanda kullanılan 3 sentetik temelli ticari doku yapıştırıcısı ve 1 tane de laboratuvarımızda sentezlediğimiz doku yapıştırıcısının karakterizasyonları tamamlandıktan sonra genotoksik ve sitotoksik özellikleri birbirleriyle karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Bu bağlamda kemik çimentosu olarak yaygın kullanılan polimetil metakrilat temelli ticari doku yapıştırıcısı CMT, karma bir ürün formunda olup kendi kendine sertleşen kalsiyum hidroksit temelli ticari doku yapıştırıcısı DYK, 2-oktil ve n-bütül siyanoakrilat temelli ticari doku yapıştırıcısı LEU ve laboratuvarımızda sentezlediğimiz poliüretan akrilat temelli PU-A'nın sitotoksik ve genotoksik özellikleri *in vitro* olarak hücre kültür sisteminde incelenmiştir. Sitotoksik ve genotoksik testlerin yanında ilgili biyoyapıştırıcıların kimyasal ve morfolojik karakterizasyon testleri de gerçekleştirilmiştir. Çalışmada toksisite testleri L-929 fare fibroblast ve HepG2 insan karaciğer karsinoma hücre hatlarında gerçekleştirilmiştir. Bu hücre hatları özellikle yapıştırıcıların en çok kullanıldıkları operasyon türleri olan kas ve deri yaralanmalarının yanında ayrıca karaciğer cerrahi uygulamalarını içeren bölgelerdeki hücre profilini en iyi yansıtacak hücre hatları oldukları için seçilmiştir. Bu bağlamda, hücre hatlarında sitotoksikite amaçlı MTT (metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı hücre proliferasyon testi) testi gerçekleştirilmiştir. Biyoyapıştırıcıların genotoksik etkileri ise DNA sarmal kırıklarının tespiti için hassas, ucuz ve hızlı bir yöntem olarak kullanılan tek hücre jel elektroforezi (Komet testi) ile belirlenmiştir. Bu sonuçların yorumlanmasında kullanılmak üzere tamamlayıcı kimyasal ve morfolojik karakterizasyon testleri olarak FTIR, termal analizler, sıvı temas açısı analizi, mekanik adezyon testleriyle SEM ve AFM de gerçekleştirilmiştir.

Hazırlanan doku yapıştırıcılarıyla birlikte ayrıca sentezlenen biyoyapıştırıcının yapısal bileşenlerinin belirlendiği FTIR, termal özellikleri ısıtma sürecinde termal değişim profilinin belirlenmesinin yanında degradasyon özelliklerinin incelenmesi için TGA, termal stabilitenin belirlenmesi ve bozunma enerjilerinin hesaplanması için DTA, yapısal esneklik ve yumuşama özelliklerinin belirlenmesinde DSC analizleri kullanılmıştır. Sentetik doku yapıştırıcılarından CMT'ye ait FTIR spektrumu incelendiğinde PMMA'ya ait temel pikler gözükmemektedir. TGA termogramı incelendiğinde, yapısında bulunan PMMA'ya bağlı olarak iki ana kütle kaybı gözlenmiştir. Ayrıca, kemik çimentosu yapısının içinde bulunan inorganik katkı maddesi DTA termogramında görülmektedir. DSC termogramına göre ise 59.50°C civarında camsı geçiş sıcaklığı (T<sub>g</sub>) saptanmıştır. Karma kompozit bir yapıda olan DYK'ye ait FTIR spektrumu incelendiğinde içeriğinde bulunan fosfat, tungstat, çinko oksit, titanyum dioksit, demir oksit, kalsiyum hidroksit ve salisilik asit yapılarına ait pikler

gözlenmiştir. TGA termogramı incelendiğinde ise yapısındaki organik gruplara ait iki aşamalı kütle kaybı söz konusudur. DYC'ye ait DTA termogramında üç farklı ekzotermik pik görülmektedir. DSC termogramında ise DTA termogramı ile orantılı olarak üç farklı ekzoterm piki belirlenmiştir. LEU'ya ait FTIR spektrumu incelendiğinde yapıda bulunan yüzey hidroksil pikleri, alifatik CH gerilme titreşimleri, yan gruplar kaynaklı CH<sub>2</sub> ünitelerinde bulunan CH bağlarına ait gerilme titreşimleri, ana zincir yapıda bulunan akrilat kaynaklı karbonil piki, C-C gerilme titreşimi ve C-O-C sterik gerilme titreşimi gözlenmiştir. LEU'ya ait TGA termogramından polimerin bozunma başlangıç sıcaklığı ~200°C olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, DTA termogramında 200°C'de başlayan ve 300°C'de biten bir endoterm görülmektedir. Bu endoterm LEU'ya ait DSC termogramında da açıkça görülmektedir. PU-A'ya ait FTIR spektrumu incelendiğinde ana polimer yapıda bulunan üretan pikleri saptanmıştır. TGA termogramında ise üç temel kütle kaybı görülmektedir. DTA termogramları ile uyumlu olan bu üç temel bozulma piki sırasıyla 100-300°C arasında gözlenen çapraz bağlanma noktalarının kırılması, 300-400°C arasında gözlenen poliüretan yapıdaki alifatik yumuşak segmentlerin bozulması ve son olarak 400-600°C arasında gözlenen polimerin termooksidatif bozulmasından kaynaklanmıştır.

Sentetik biyoyapıştırıcıların hidrofobiklik ve hidrofiliklik özellikleri sıvı temas açısı analiziyle belirlenmiştir. Sentetik biyoyapıştırıcılara ait sıvı temas açısı ölçüm sonuçları CMT için 96.55±3.33°, DYC için 65.23±3.69°, LEU için 102.46±2.34° ve PU-A içinse 41.3±2.56° olarak bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar incelendiğinde ise laboratuvarımızda sentezlediğimiz poliüretan akrilat temelli biyoyapıştırıcının diğer sentetik ticari doku yapıştırıcılarına kıyasla en çok hidrofilik özellik gösterdiği belirlenmiştir. Hidrofilik karakter açısından doku yapıştırıcıları sıralandığında PU-A > DYC > CMT > LEU şeklindedir.

Tez kapsamında farklı yapı ve özelliklerdeki doku yapıştırıcılarının mekanik özellikleri kıyaslanmıştır. Elde edilen mekanik test sonuçları Tablo 4.2.'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre dört farklı yapıdaki yapıştırıcıların hepside %1.2'den az tepe uzaması göstermiştir. Bu nedenle ideal adeziv malzeme özelliği göstermektedirler. Kopma gerilimi ve tepe yükü açısından siyanoakrilat yapısındaki yapıştırıcının yüksek adezyon gösterdiği görülmektedir. Modül değeri olarak PMMA yapılu kemik çimentosu CMT, DYC, UV kürlenebilen poliüretan akrilat yapıştırıcı PU-A ve siyanoakrilat temelli LEU yapıştırıcılar için sırasıyla 1.659±0.594, 2.580±1.709, 2.489±1.246 ve 2.402±0.720 kN/mm<sup>2</sup> değerleri elde edilmiştir. Bu değerlere göre en yüksek modül DYC numunesinde görülmüştür. Elastisite modülü ya da Young modülü olarak adlandırılan bu değer, bir malzemeye

uygulanan düşük gerilmeler altında meydana gelen şekil değişiminin, gerilmeyi oluşturan yükün kaldırıldıktan sonra malzemenin eski şekline gelme özelliğini ifade eden bir değerdir (Lord ve Morrel, 2010). Elastisite modülü (E) kısaca birim gerilme ile birim şekil değiştirme arasındaki orandır ve bu değer büyük olması malzemenin rijit olduğunu, bir gerilme sonucunda oluşan birim şekil değiştirmenin küçük olacağı anlamındadır (Gasperi ve diğ., 2020). Kopmadaki gerinim açısından en yüksek değer  $0.0434 \pm 0.0115$  mm/mm olarak siyanoakrilat türü yapıştırıcı olan LEU'da görülmüştür. Bu değer yüksek olması saf polimerik yapıda olmasından kaynaklanmaktadır (Parsi ve diğ., 2020). Diğer yapıştırıcılar karma bileşen yapıları için bu değer küçülmektedir.

Çalışma kapsamında farklı kimyasal karakteristik özelliklere sahip sentetik doku yapıştırıcılarının mekanik adezyon testi öncesi ve sonrasında yüzeylerinde meydana gelen fiziksel değişiklikler öncelikle SEM ve sonrasında daha detaylı olarak AFM ile morfolojik açıdan incelenmiştir. Mekanik adezyon testi öncesi CMT'ye ait elde edilen SEM görüntülerinden sentetik ticari kemik yapıştırıcısının PMMA matriks içinde homojen ve düzgün bir dağılım sergileyen farklı çaplardaki baryum sülfat mikropartiküllerinden meydana gelen kompozit yapısı görülmektedir. Adezyon testi sonrası CMT'ye ait elde edilen SEM görüntülerinden ise uygulanan çekme kuvvetine karşılık baryum sülfat mikropartiküllerinin matriks PMMA yapıya nazaran daha az dayanması sonucunda parçalandıkları ve sonuçta çoğunlukla kırıldıkları gözlenmiştir. CMT'ye ait AFM görüntülerinden ise çekme öncesi yüzey pürüzlülüğünün yaklaşık  $\pm 400$  pm iken çekme sonrasında artarak ortalama  $\pm 1.2$  nm olduğu saptanmıştır. Mekanik adezyon testi öncesi DYK'ye ait elde edilen SEM görüntülerinden sentetik ticari doku yapıştırıcısının içeriğinde bulunan kalsiyum fosfatlar beyaz bölgeler olarak demir oksitler ise siyah noktacıklar şeklinde gözlenmektedir. Ayrıca bazı bölgelerde homojen olarak dağılmış polyester yapısının polimer kıvrımlar oluşturduğu görülmektedir. Bu kıvrımlar yapışma esnasında yüksek yüzey alanı oluşturduğu için doku yapıştırıcısı için önemli bir avantajdır. Adezyon testi sonrasında çekilen SEM görüntülerinden ana matriks yapısının kuruma esnasında sertleşmesiyle yapıda oluşan iç çatlaklardaki kırılmalar görülmektedir. DYK'ye ait AFM görüntülerinden ise adezyon testi öncesi yüzey pürüzlülüğünün  $\sim 200$  nm olduğu, kısmen bazı bölgelerde  $400$  nm'ye çıktığı saptanmıştır. Adezyon testi sonrasında ise yüzey pürüzlülüğünün  $\sim 100$  nm olduğu ve bazı bölgelerde  $\sim 200$  nm'ye çıktığı belirlenmiştir. Mekanik adezyon testi öncesi LEU'ya ait elde edilen SEM görüntülerinden siyanoakrilat temelli doku yapıştırıcısının yüzeyde az pürüzlülük oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca, yapıştırıcının hazırlanmasında kullanılan çözümler yapıdan uzaklaşırken meydana gelen

krater bölgeler görülmektedir. Adezyon testi sonrası LEU'ya ait elde edilen SEM görüntülerinden ise polimer esnekliğine bağlı olarak geniş uzama bölgelerinin varlığı ve uygulanan kuvvete mukavemet etmek amacıyla uzadıkları görülmektedir. LEU'ya ait AFM görüntülerinden ise adezyon testi öncesi yüzey pürüzlülüğü  $\sim \pm 20$  pm iken adezyon testi sonrasında bu değer belli bölgelerde yaklaşık  $\pm 20$  nm olarak belirlenmiştir. Adezyon güçlerini poliüretan grupları üzerinde bulunan üretan bağlarından sağlayan PU-A'ya ait mekanik adezyon testi öncesi ait elde edilen SEM görüntülerinden, sentetik doku yapılaştırıcısının yüzey görüntülerinin çok düzgün ve pürüzsüz olduğu görülmektedir. Kürleme sonrası yapı akrilat gruplarının polimerleşmesiyle sertleşen yapıya ait yüzeyler adezyon testi sonrasındaki SEM görüntülerinden de görüleceği gibi derin kırıklar oluşturarak birbirinden ayrılır. AFM görüntülerinden ise mekanik adezyon öncesi homojen ve düzgün bir yayılım gösteren PU-A'nın yüzey pürüzlülüğü ve yüzey kavitelerinin çok küçük olduğu, mekanik adezyon testi sonrasında ise yüzey pürüzlülüğünün kimi bölgelerde düşük ve düzlemsel olduğu kimi bölgelerde ise keskin tepelikler şeklinde olduğu görülmektedir. Buna bağlı olarak yüzey pürüzlülüğünün kimi bölgelerde yaklaşık 100 nm civarında olmasının yanında kısmen bazı bölgelerde ise 200 nm'ye çıktığı görülmektedir.

Ayrıca sentetik biyoyapıştırıcılara ait indirekt sitotoksitenin belirlenmesinde L-929 ve HepG2 hücreleri kullanılarak 24 ve 48 saat olmak üzere *in vitro* biyoyumluluk testleri yapılmıştır. 24 saatlik veriler incelendiğinde, DYC hariç diğer sentetik biyoyapıştırıcıların L-929 hücreleri üzerinde (+) Kontrole yakın olarak ortalama %95'in üzerinde hücre canlılığı gösterdiği saptanarak elde edilen değerlerin ASTM standartlarına göre grade 0 (%10'den daha az hücre ölümü) seviyesine denk geldiği saptanmıştır. 48 saatlik veriler incelendiğinde ise, tüm sentetik biyoyapıştırıcıların L-929 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri 24 saate kıyasla artmıştır. 24 ve 48 saatlik veriler birlikte değerlendirildiğinde *in vitro* biyoyumluluk test sonuçlarına göre sentetik biyoyapıştırıcıların L-929 hücreleri üzerindeki sitotoksikite karşılaştırması şu şekildedir: DYC > PU-A > LEU > CMT. Ayrıca, sentetik doku yapıştırıcılarının L-929 hücreleri üzerindeki 24 ve 48 saatlik hücre canlılık fotoğrafları incelenerek hücre morfolojilerindeki değişiklikler de gözlenmiştir. Buna göre, normalde sağlıklı fare fibroblast hücre morfolojisine sahip L-929 hücrelerin en yüksek sitotoksik etki gösteren DYC ile 24 saat muamelesi sonucunda hücrelerin sitoplazmalarını az da olsa küçülttükleri ve 48 saatin sonunda ise tamamen öldükleri tespit edilmiştir. L-929 hücreleri üzerinde LEU ve PU-A 24 ve 48 saatler için nispeten birbirlerine yakın hücre canlılığı değerlerine sahip olmalarına rağmen LEU ile indirekt olarak muamele edilen L-929 hücrelerinin çoğunluğunun 48 saatin sonunda anormal bipolar morfolojide oldukları

gözlenmiştir. CMT'nin L-929 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi diğer doku yapıştırıcılarına nazaran daha düşük olduğu için 48 saat sonundaki hücre morfolojileri (+) Kontrole daha yakındır.

Karaciğer kanseri hücre hattı olan HepG2 hücrelerine ait 24 saatlik veriler incelendiğinde, CMT ve DYC hariç diğer sentetik biyoyapıştırıcıların HepG2 hücreleri üzerinde (+) Kontrole yakın olarak ortalama %95'in üzerinde hücre canlılığı gösterdiği saptanarak elde edilen değerlerin ASTM standartlarına göre grade 0 (%10'den daha az hücre ölümü) seviyesine denk geldiği saptanmıştır. 48 saatlik veriler incelendiğinde ise, CMT dışında diğer sentetik biyoyapıştırıcıların HepG2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri 24 saate kıyasla artmıştır. HepG2 hücre canlılığı bakımından sadece CMT'de yaklaşık %9'luk artış söz konusudur. 24 ve 48 saatlik veriler birlikte değerlendirildiğinde *in vitro* biyoyumluluk test sonuçlarına göre sentetik biyoyapıştırıcıların HepG2 hücreleri üzerindeki sitotoksikite karşılaştırması şu şekildedir: DYC > LEU > PU-A. Ayrıca, sentetik doku yapıştırıcılarının HepG2 hücreleri üzerindeki 24 ve 48 saatlik hücre canlılık fotoğrafları incelenerek hücre morfolojilerindeki değişiklikler de gözlenmiştir. Buna göre, normalde insan karaciğer kanseri hücre morfolojisine sahip HepG2 hücrelerinin en yüksek sitotoksik etki gösteren DYC ile 24 saat muamelesi sonucunda hücrelerin sitoplazmalarını az da olsa küçülttükleri ve 48 saatin sonunda ise tamamen öldükleri tespit edilmiştir. HepG2 hücreleri üzerinde CMT'nin proliferatif etkisi (~%9 artış) 24 ve 48 saatlik fotoğraflar kıyaslandığında açıkça görülmektedir. HepG2 hücreleri üzerinde herhangi bir sitotoksik etki göstermeyip aksine proliferasyona neden olan CMT ile indirekt olarak muamele edilen hücrelerin morfolojileri diğer doku yapıştırıcılarına nazaran 48 saat sonunda (+) Kontrole daha yakındır. 24 ve 48 saatler için LEU ve PU-A, diğer ticari doku yapıştırıcılarına nazaran birbirlerine yakın hücre canlılığı değerlerine sahip olmalarına rağmen LEU ile indirekt olarak muamele edilen HepG2 hücrelerinin 48 saatin sonunda hücre bütünlüğünün daha fazla bozulduğu fotoğraflardan anlaşılmaktadır. Sonuçta, DYC'nin hem L-929 hem de HepG2 hücreleri üzerinde diğer doku yapıştırıcılarına nazaran en yüksek sitotoksik değerlere sahip olduğu anlaşılmıştır. Dişçilikte kullanılan başka malzemelerle yapılan çalışmalarda da DYC'nin yüksek sitotoksikiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Furey ve diğ, 2010).

Tez çalışmasının son aşamasında ise sentetik doku yapıştırıcılarına indirekt olarak maruz bırakılan sağlıklı fare fibroblast L-929 hücreleri ve insan karaciğer kanseri HepG2 hücreleri üzerindeki genotoksik etkileri *in vitro* hücre kültür sisteminde Komet Testi yapılarak belirlenmiştir. DNA düzeyinde hasarı belirlemek için her gruptan 40 hücreye ait Baş Yoğunluğu (Piksel), Baş DNA (%), Kuyruk Uzunluğu (Piksel), Kuyruk Yoğunluğu

(Piksel), Kuyruk DNA (%), Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momenti olmak üzere toplamda 7 genotoksisite parametresinin ortalama değerleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır.

Baş Yoğunluğu (Piksel) ve Kuyruk Yoğunluğu (Piksel) değerleri kullanılarak hesaplanan Baş DNA (%) ve Kuyruk DNA (%) genotoksisite değerlendirmelerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Genotoksisite kıyaslamasında önemli bir parametre olarak özellikle kullanılan Kuyruk DNA (%) bakımında, L-929 hücreleri üzerinde (-) Kontrol, (+) Kontrol, CMT, DYC, LEU ve PU-A gruplarına ait değerler sırasıyla 6.97, 23.52, 30.5, 22.95, 19.06 ve 29.18'dir. Sentetik biyoyapıştırıcıların L-929 hücreleri üzerindeki genotoksisite özellikleri şöyle sıralanabilir: CMT > PU-A > DYC > LEU. CMT ve PU-A birbirine yakın ve (+) Kontrolden çok daha yüksek Kuyruk DNA (%) değerlerine sahip olarak %35'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den çok daha fazla DNA hasarına sebep olmuşlardır. Ayrıca, Kuyruk Uzunluğu (Piksel) parametresi bakımından sentetik biyoyapıştırıcıların L-929 hücreleri üzerindeki etkileri incelendiğinde CMT ve PU-A doku yapıştırıcılarının DYC ve LEU doku yapıştırıcılarına nazaran DNA'daki hasar sonucu meydana gelen göç uzunluğu daha fazladır. Ayrıca, PU-A tarafından farklı L-929 hücrelerinde meydana gelen hasarın çeşitliliği diğer doku yapıştırıcılarına göre daha heterojen bir dağılım sergilemektedir. Doku yapıştırıcılarının L-929 hücreleri üzerindeki genotoksisite özelliklerinin değerlendirildiği bir başka parametre olan Kuyruk Momenti incelendiğinde tüm biyoyapıştırıcılar (-) Kontrole kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı oldukları belirlenmiştir. Ayrıca, bir başka parametre olan Olive Kuyruk Momenti bakımından ise tüm doku yapıştırıcıları ve kontroller birbirleriyle kıyaslandığında hepsinin istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı oldukları saptanmıştır.

Öte yandan, Kuyruk DNA (%) bakımında, HepG2 hücreleri üzerinde (-) Kontrol, (+) Kontrol, CMT, DYC, LEU ve PU-A gruplarına ait değerler sırasıyla 11.72, 31.88, 20.89, 28.47, 38.83 ve 37.76'dır. Sentetik biyoyapıştırıcıların HepG2 hücreleri üzerindeki genotoksisite özellikleri şöyle sıralanabilir: LEU > PU-A > DYC > CMT. LEU ve PU-A birbirine yakın ve (+) Kontrolden çok daha yüksek Kuyruk DNA (%) değerlerine sahip olarak %35'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den çok daha fazla DNA hasarına sebep olmuşlardır. Ayrıca, genotoksisite parametrelerinden biri olan Kuyruk Uzunluğu (Piksel) parametresi bakımından sentetik biyoyapıştırıcıların HepG2 hücreleri üzerindeki etkileri incelendiğinde CMT ve LEU doku yapıştırıcılarının DYC ve PU-A doku yapıştırıcılarına nazaran DNA'daki hasar sonucu meydana gelen göç uzunluğu daha fazladır. Ayrıca, CMT tarafından farklı HepG2 hücrelerinde meydana gelen hasarın çeşitliliği diğer doku yapıştırıcılarına göre

daha heterojen bir dağılım sergilemektedir ki bu da oluşan DNA kırıklarının büyüklükleri açısından farklı ve Kuyruk DNA (%) parametresi göz önünde bulundurulduğunda ise oluşan bu DNA kırıklarının genellikle küçük boyutlu oldukları anlaşılmaktadır. Doku yapıştırıcıları HepG2 hücreleri üzerindeki Kuyruk Momenti ve Olive Kuyruk Momenti parametreleri bakımından incelendiğinde ise tüm biyoyapıştırıcıların (-) Kontrol ve (+) Kontrolle kıyaslandıklarında istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı oldukları belirlenmiştir. Buna ek olarak, tüm doku yapıştırıcıları birbirleriyle kıyaslandığında sadece CMT'nin istatistiksel açıdan anlamlı seviyede farklı olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızın temelinde vücut içinde sıklıkla kullanılan doku yapıştırıcılarının sitotoksik ve genotoksik açılardan biyoyumlu olup olmadıklarının incelenmesi yatmaktadır. Ticari olarak satılan doku yapıştırıcılarının yapıştırma güçlerinin ön plana çıkarıldığı genel karakteristikleri literatürde ve bu yapıştırıcıların üretimini yapan firmaların internet sitelerinde olmasına rağmen hücresel seviyedeki etkinin incelendiği sitotoksik ve özellikle DNA seviyesindeki etkilerin incelendiği genotoksik testlere yer verilmemektedir. Bu nedenle çalışmamız ülkemiz ve dünyada sıklıkla kullanılan doku yapıştırıcılarının *in vitro* hücre kültür sisteminde sitotoksik ve genotoksik özelliklerinin incelenmesi ve karşılaştırmalı analiz edilmesi nedeniyle oldukça önemlidir.

Sonuç olarak, kapsamlı deneysel çalışma sonuçlarının ve aynı sistemde karşılaştırmayı içeren objektif bilgilerin bu tezde ortaya konmasının, hem günümüzde yaygın kullanıma sahip doku yapıştırıcılarına ait sınırlı literatür bilgisine katkıda bulunulması açısından oldukça önemli olacağı hem de sıklıkla kullanılan doku yapıştırıcılarının doku kapama görevlerine nazaran uygulanan kişide ileride sitotoksik ve genotoksik zarar sonucunda başka hastalıkların oluşması ve ülke ekonomisine zarar vermesi kaçınılmaz olacağından çalışmamız doku yapıştırıcısı uygulayıcılarına ve ayrıca uygulanan kişiler için doğru ürünlerin seçilmesi konusunda yol gösterecektir.

## KAYNAKLAR

- Abenavoli, F.M.** (2001). Using Dermabond. *Plast Reconstr Surg.* 108, 269.
- Albes, J.M., Krettek, C., Hausen, B., Rohde, R., Haverich, A. & Borst, H.G.** (1993). Biophysical properties of the gelatin-resorcin-formaldehyde/glutaraldehyde adhesive. *Ann Thorac Surg.* 56, 910–915.
- Alibeik, S., Rizkalla, A.S. & Mequanint, K.** (2007). The effect of thiolation on the mechanical and protein adsorption properties of polyurethanes. *European Polymer Journal.* 43, 1415-1427.
- Alleyene, C.H., Cawley, C.M., Barrow, D.L., Poff, B.C., Powell, M.D., Sawhney, A.S. & Dillehay, D.L.** (1998). Efficacy and biocompatibility of a photopolymerized, synthetic, absorbable hydrogel as a dural sealant in a canine craniotomy model. *J Neurosurg.* 88, 308-313.
- Araki, M., Tao, H., Nakajima, N., Sugai, H., Sato, T., Hyon, S.H, Nagayasu, T. & Nakamura, T.** (2007). Development of new biodegradable hydrogelglue hydrogelglue for preventing alveolar air leakage. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 134, 1241–1248.
- Arashiro, E., Zampronio, E.C., Brunello, C.A., Lassali, T.A.F., Oliveira, H.P. & Graeff, C.F.O.** (2001). Melanin-like units concentration effects in melanin-like/vanadium pentoxide hybrid compounds. *Intern J Inorganic Mater.* 3, 727–731.
- Ardis, A.E.** (1974a). Preparation of monomeric alkyl alphacyanoacrylates. *US Pat 2, 467, 926.*
- Ardis, A.E.** (1947b). Preparation of monomeric alkyl alphacyanoacrylates. *US Pat 2, 467, 927.*
- Athanasiadis, T., Beule, A.G., Robinson, B.H., Robinson, S.R., Shi, Z. & Wormald, P.J.** (2008). Effects of a novel chitosan gel on mucosal wound heal-ing following endoscopic sinus surgery in a sheep model of chronicrhinosinusitis. *Laryngoscope.* 118, 1088–1090.
- Azqueta, A. & Collins, A.R.** (2013). The essential comet assay: a comprehensive guide to measuring DNA damage and repair. *Arch Toxicol.* 87 (6), 949-68.
- Azqueta, A., Gutzkow, K.B., Priestley, C.C., Meier, S., Walker, J.S., Brunborg, G. & Collins, A.R.** (2013). A comparative performance test of standard, medium-and high-throughput comet assays. *Toxicol In Vitro.* 27 (2), 768-73.
- Beckman, E., Buckley, M., Agarwal, S. & Zhang, J.** (2007). Medical adhesive and methods of tissue adhesion., *US Patent 7264823 B2.*
- Beckman, E.J.** (2011). One-part moisture-curable tissue sealant. *US Patent WO2011/150199 A2.*
- Bergel, S.** (1909). Uber wirkungen des fibrins. *Deutsch Wochenschr.* 35, 633-665.

- Bhatia, S.K., Arthur, S.D., Chenault, H.K. & Kodokian, G.K.** (2007a). Interactions of polysaccharide-based tissue adhesives with clinically relevant fibroblast and macrophage cell lines. *Biotechnol Lett.* 29, 1645–1650.
- Bhatia, S.K., Arthur, S.D., Chenault, H.K., Figuly, G.D. & Kodokian, G.K.** (2007b). Polysaccharide-based tissue adhesives for sealing corneal incisions. *Curr Eye Res.* 32, 1045–1050.
- Bhatia, S.K.** (2010). Biomaterials for clinical applications. *Traumatic injuries.* 1, 213–58.
- Bitton, R., Josef, E., Shimshelashvili, I., Shapira, K., Seliktar, D. & Bianco-Peled, H.** (2009). Phloroglucinol-based biomimetic adhesives for medical applications. *Acta Biomater.* 5, 1582–1587.
- Bonchek, L.I. & Braunwald, N.S.** (1967). Experimental evaluation of a crosslinked gelatin adhesive in gastrointestinal surgery. *Ann Surg.* 165, 420–424.
- Bouten, P.J.M., Zonjee, M., Bender, J., Yauw, S.T.K., Goor, H.V., Hest, J.C.M.V. & Hoogenboom, R.** (2014). The chemistry of tissue adhesive materials. *Progress in Polymer Science.* 39, 1375-1405.
- Borenfreund, E. & Puerner, J.A.** (1985). Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. *Toxicol Lett.* 24 (2-3), 119-24.
- Bruns, T.B., Robinson, B.S. & Smith, R.J.** (1998). A new tissue adhesive for laceration repair in children. *The Journal of Pediatrics.*, 132, 1067-1070.
- Campbell, P.K., Bennett, S.L., Driscoll, A. & Sawhney, A.S.** (2005). Evaluation of absorbable surgical sealants: in vitro testing. 4.
- Chapdelaine, J.M.** (2001). MTT reduction-a tetrazolium-based colorimetric assay for cell survival and proliferation, Waverly: MAXline™. *Application Note* 5.
- Chapman, W.C., Sherman, R., Boyce, S., Malawer, M., Hill, A., Buncke, G., Block, J.E., Fung, J.J., Clavien, P., Lee, K.F., Lebovic, G.S., Wren, S.M., Diethrich, E. & Goldstein, R.** (2001). A novel collagen-based composite offers effective hemostasis for multiple surgical indications: results of a randomized controlled trial. *Surgery.* 129, 445–450.
- Chen, T., Janjua, R., McDermott, M.K., Bernstein, S.L., Steidl, S.M. & Payne, G.F.** (2006). Gelatin-based biomimetic tissue adhesive, potential for retinal reattachment. *J Biomed Mater Res B.* 77, 416–422.
- Chenault, H.K., Bhatia, S.K., Dimaio, W.G., Vincent, G.L., Camacho, W. & Behrens, A.** (2011). Sealing and healing of clear corneal incisions with an improved dextran aldehyde-PEG amine tissue adhesive. *Curr Eye Res.* 36, 997–1000.
- Collins, A.R.** (2004). The comet assay for DNA damage and repair. *Mol Biotechnol.* 26 (3), 249.

- Collins, A., Dušinská, M., Franklin, M., Somorovská, M., Petrovská, H., Duthie, S., Fillion, L., Panayiotidis, M., Raslová, K. & Vaughan, N.** (1997). Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation, and applications. *Environ Mol Mutagen.* 30 (2), 139-46.
- Cook, J.A. & Mitchell, J.B.** (1989) Viability measurements in mammalian cell systems. *Anal Biochem.* 179 (1), 1-7.
- Coover, H.W., Joyner, F.B., Shearer, N.H. & Wicker, T.H.** (1959). Chemistry and performance of cyanoacrylate adhesives. *SPE Special Tech.* 5, 413–417.
- Cosgrove, G.R., Delashaw, J.B., Grotenhuis, J.A., Tew, J.M., Van Loveren, H., Spetzler, R.F., Payner, T., Rosseau, G., Shaffrey, M.E., Hopkins, L.N., Byrne, R. & Norbash, A.** (2007). Safety and efficacy of a novel polyethylene glycol hydrogel sealant for watertight dural repair. *J Neurosurg.* 106 (1), 52-58.
- Cronkite, E.P., Lozner, E.L. & Deaver, J.M.** (1944). Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. *Jama.* 124, 976-978.
- Decordier, I., Dillen, L., Cundari, E. & Kirsch-Volders, M.** (2002). Elimination of micronucleated cells by apoptosis after treatment with inhibitors of microtubules. *Mutagenesis.* 17 (4), 337-44.
- Denizot, F. & Lang, R.** (1986). Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods.* 89 (2), 271-7.
- Diñçer, Y. & Kankaya, S.** (2010). DNA hasarının belirlenmesinde Comet assay. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 30 (4), 1365-73.
- Dragu, A., Unglaub, F., Schwarz, S., Beier, J.P., Kneser, U., Bach, A.D. & Horch, R.E.** (2009). Foreign body reaction after usage of tissue adhesives for skin closure: a case report and review of the literature. *Arch Orthop Trauma Surg.* 129, 167–169.
- Duarte, A.P., Coelho, J.F., Bordado, J.C., Cidade, M.T. & Gil, M.H.** (2011). Surgical adhesives: Systematic review of the main types and development forecast. *Progress in Polymer Science.* 729, 20.
- Dunn, R., Lyman, M.D., Edelman, P.G. & Campbell, P.K.** (2001) Evaluation of the Spray Gel adhesion barrier in the rat cecum abrasion and rabbit uterine horn adhesion models. *Fertil Steril.* 75, 411–416.
- Eaglstein, E.H. & Sullivan, T.** (2005). Cyanoacrylates for skin closure. *Dermatol Clin.* 23, 193-198.
- Elvin, C.M., Vuocolo, T., Brownlee, A.G., Sando, L., Huson, M.G., Liyoi, N.E., Stockwell, P.R., Lyons, R.E., Kim, M., Edwards, G.A., Johnson, G., McFarland, G.A., Ramshaw, J.A.M. & Werkmeister, J.A.** (2010). A highly elastic tissue sealant based on photopolymerised gelatine. *Biomaterials.* 31, 8323–8331.

- Fairbairn, D.W., Olive, P.L. & O’neill, K.L.** (1995). The comet assay: a comprehensive review. *Mutat. Res.* 339, 37-59.
- Farrar, D.F.** (2012). Bone adhesives for trauma surgery: A review of challenges and developments. *Int. J. of Adhesion & Adhesives.* 33, 89–97.
- Fedak, P.W.M., Kolb, E., Borsato, G., Frohlich, D.E, Kasatkin, A., Narine, K., Akkarapaka, N. & King, K.M.** (2010). Kryptonite bone cement prevents pathologic sternal displacement. *Ann. Thorac. Surg.* 90, 979–985.
- Fenech, M.** (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 455, 81–95.
- Ferland, R., Mulani, D. & Campbell, P.K.** (2001). Evaluation of a sprayable polyethylene glycol adhesion barrier in a porcine efficacy model. *Hum Reprod.* 16, 2718–2720.
- Ferreira, P., Silva, A.F.M., Pinto, M.I. & Gil, M.H.** (2008a). Development of a biodegradable bioadhesive containing urethane groups, *Journal of Material Science: Materials in Medicine.* 19, 111-20.
- Ferreira, P., Coelho, J.F.J. & Gil, M.H.** (2008b). Development of a new photocrosslinkable biodegradable bioadhesive. *Int J Pharm.* 352, 172–181.
- Ferrolì, P., Acerbi, F., Broggi, M., Schiariti, M., Albanese, E., Tringali, G., Franzini, A. & Broggi, G.** (2011). A novel impermeable adhesive membrane to reinforce dural closure: A preliminary retrospective study on 119 consecutive high risk patients. *World Neurosurg.* 79, 551–557.
- Fotakis, G. & Timbrell, J.A.** (2006). In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicol Lett.* 160 (2), 171-7.
- Freshney RI.** (2015). Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications. 7th ed. USA: *John Wiley & Sons.*
- Frilling, A., Stavrou, G.A., Mischinger, H.J., De Hemprinne, B., Rokk-jaer, M., Klempnauer, J., Thörne, A., Gloor, B., Beckebaum, S., Ghaffar, M.F.A. & Broelsch, C.E.** (2005). Effectiveness of a new carrier-bound fibrin sealant versus argon beamer as haemostatic agent during liver resection: A randomised prospective trial. *Langenbecks Arch Surg.* 390, 114–20.
- Furey, A., Hjelmhaug, J. & Lobner, D.** (2010). Flow Line, Durafill VS, and Dycal toxicity to dental pulp cells: effects of growth factors. *J Endod.* 36 (7), 1149–1153.
- Fürst, W. & Banerjee, A.** (2005). Release of glutaraldehyde from an albumin-glutaraldehyde tissue adhesive causes significant in vitro and in vivo toxicity. *Ann. Thorac. Surgery* 79, 1522–1529.
- Galil, K.A., Schofield, I.D. & Wright, G.Z.** (1984). N-butyl-2-cyanoacrylate (Histoacryl blue) on the healing of skin wounds. *J Canad Dent Assn.* 7, 565- 569.

- Garcia-Guereta, L., Burgueros, M., Borches, D., Gonzalez, V. & Jimenez, J.** (1997). Cardiac tamponade after a systemicpulmonary shunt complicated by serous leakage. *Ann Thorac Surg.* 63, 248-250.
- Gasperi, T.L., Silveira, J.d.A.C.d., Schmidt, T.F., Teixeira, C.d.S., Garcia, L.d.F.R. & Bortoluzzi, E.A.** (2020). Physical-Mechanical Properties of a Resin-Modified Calcium Silicate Material for Pulp Capping. *Brazilian Dental Journal.* 31 (3), 252-256.
- Gilbert T.W., Badylak S.F., Gusenoff J., Beckman E., Clower D.M., Daly P. & Rubin J.P.** (2008). Lysine-derived urethane surgical adhesive prevents seroma formation in a canine abdominoplasty model. *Plastic Reconstructive Surgery.* 122, 95-102.
- Goode, J.L., Harvey, E., Chandeysson, P., Zhou, S., Das, S., Durfor, C., Elespuru, R., Herrera, H., Kennell, L., Langone, J., Merrit, K., Nimmagada, R., Weiss, R., Fitzgerald, M.A. & Brown, L.** (2001). Review memorandum: cohesion technologies. *CoSeal Surgical Sealant:P010022.* 8.
- Grey, E.G.** (1915). Fibrin As A Hemostatic In Cerebral Surgery. *Surg Gyn Obstet.* 21, 452-454.
- Guan, J., Sacks, M.S., Beckman, E.J. & Wagner, W.R.** (2004). Biodegradable poly(ether ester urethane)urea elastomers based on poly(ether ester) triblock copolymers and putrescine: synthesis, characterization and cytocompatibility. *Biomaterials.* 25, 85-96.
- Guelcher, S.A., Srinivasan, A., Dumas, J.E., Didier, J.E., McBride, S. & Hollinger, J.O.** (2008). Synthesis, mechanical properties, biocompatibility, and biodegradation of polyurethane networks from lysine polyisocyanates. *Biomaterials.* 29, 1762-1775.
- Habib, F.N., Kordestani, S.S., Taromi, F.A. & Shariatnia, Z.** (2011). A novel topical tissue adhesive composed of urethane prepolymer modified with chitosan, *Int.Journal of Polym. Anal. Charact.* 16, 609–618.
- Hartmann, A., Agurell, E., Beevers, C., Brendler-Schwaab, S., Burlinson, B., Clay, P., Collins, A., Smith, A., Speit, G., Thybaud, V. & Tice, R.R.** (2003). Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. *Mutagenesis.* 18 (1), 45-51.
- Hillegass, L.M., Griswold, D.E., Brickson, B. & Albrightson-Winslow, C.** (1990). Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods.* 24, 285 – 295.
- Hosbein, D.J. & Blumenstock, D.A.** (1964). Anastomosis of small arteries using tissue adhesive. *Surg Gynecol Obstet,* 118, 112-114.
- Ishaq, M., Saeed, K., Shakirullah, M., Ahmad, I. & Rehman, T.** (2012). Effect of coal ash on the morphological, thermal and mechanical properties of poly(methyl methacrylate). *Journal of the Chilean Chemical Society,* 57 (1), 992-994.

- Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S.V. & Tamura, H.** (2010). Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials a short review. *Carbohydr Polym.* 82, 227-232.
- Johns, D.A., Ferland, R. & Dunn, R.** (2003). Initial feasibility study of asprayable hydrogel adhesion barrier system in patients undergoing laparoscopic ovarian surgery. *J Am Assoc Gynecol Laparosc.* 10, 334–338.
- Kacher, D.F., Frerichs, K., Pettit, J., Campbell, P.K., Meunch, T. & Norbash, A.M.** (2006). Duraseal® magnetic resonance and computed tomography imaging: evaluation in a canine craniotomy model. *Neurosurgery.* 58 (1), 140-147.
- Kassie, F., Parzefall, W. & Knasmüller, S.** (2000). Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 463 (1), 13-31.
- Kaufman, H.E., Insler, M.S., Ibrahim-Elzembely, H.A. & Kaufman, S.C.** (2003). Human fibrin tissue adhesive for sutureless lamellar keratoplasty and scleral patch adhesion: A pilot study. *Ophthalmolog.* 110, 2168-72.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U. & Decordier, I.** (2003). Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicol Lett.* 140, 63-74.
- Klaude, M., Eriksson, S., Nygren, J. & Ahnström, G.** (1996). The comet assay: mechanisms and technical considerations. *Mutation Research/DNA Repair.* 363 (2), 89-96.
- Klimo, P., Khalil, A., Slotkin, J. R., Smith, E. R., Scott, R. M. & Goumnerova L. C.** (2007). Wound complications associated with the use of bovine serum albumin-glutaraldehyde surgical adhesive in pediatric patients. *Operative Neurosurgery.* 60, 305–309.
- Klokkevold, P.R., Fukayama, H., Sung, E.C. & Bertolami, C.N.** (1999) The effect of chitosan (poly-N-acetyl glucosamine) on lingual hemostasis in heparinized rabbits. *J Oral Maxillofac Surg.* 57,49–52.
- Kodokian, G.K. & Arthur, S.D.** (2006). Polysaccharide-based polymer tissue adhesive for medical use. *US Pat US 0078536 A1.*
- Komissarova, E.V., Saha, S.K. & Rossman, T.G.** (2005). Dead or dying: the importance of time in cytotoxicity assays using arsenite as an example. *Toxicol Appl Pharmacol.* 202 (1), 99-107.
- Korzeniewski, C. & Callewaert, D.M.** (1983) An enzyme-release assay for natural cytotoxicity. *J Immunol Methods.* 64 (3), 313-20.
- Kücükaksu, D.S., Akgül A., Çağlı K. & Tasdemir, O.** (2000). Beneficial effect of bioglu surgical adhesive in repair of iatrogenic aortic dissection, *Tex Heart Inst J.* 27, 307–308.
- Langie, S.A., Azqueta, A. & Collins, A.R.** (2015). The comet assay: past, present, and future. *Front Genet.* 6, 266.

- Lauto, A., Foster, L.J., Avolio, A., Sampson, D., Raston, C., Sarris, M., McKenzie, G. & Stoodley, M.** (2008). Sutureless nerve repair with laser-activated chitosan adhesive: A pilot in vivo study. *Photomed Laser Surg.* 26, 227–234.
- Leonard, F.** (1968). The N-alkylalphacyanoacrylate tissue adhesives. *Ann NY Acad Sci.* 146, 203–213.
- Li, Q., Williams, C.G., Sun, D.D.N., Wang, J., Leong, K. & Elisseeff, J.H.** (2003). Photocrosslinkable polysaccharides based on chondroitin sulfate. *J Biomed Mater Res A.* 68, 28–33.
- Liu, G., Shi, Z., Kuriger, T., Hanton, L.R., Simpson, J., Moratti, S.C., Robinson, B.H., Athanasiadis, T., Valentine, R., Wormald, P.J. & Robinson, S.** (2009). Synthesis and characterization of chitosan/dextran-based hydrogels for surgical use. *Macromol Symp.* 279, 151–157.
- Liu, Y., Peterson, D.A., Kimura, H. & Schubert, D.** (1997). Mechanism of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. *J. Neurochem.* 69 (2), 581-93.
- Lloyd, J.D., Marque, M.J. & Kacprowicz, R.F.** (2007). Closure techniques. *EmergMed Clin North Am.* 25, 73–81.
- Matsuda, M., Ueno, M., Endo, Y., Inoue, M., Sasaki, M. & Taguchi, T.** (2012). Enhanced tissue penetration induced high bonding strength of a novel tissue adhesive composed of cholesteryl group-modified gelatin and disuccinimidyl tartarate. *Colloids Surf B.* 91, 48–56.
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P., Decordier, I. & Kirsch-Volders, M.** (2006). Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie.* 88 (11), 1515-31.
- McCarthy, S.J., Gregory, K.W., Wiesmann, W.P. & Campbell, T.D.** (2008). Wound dressing and method for controlling severe, life-threatening bleeding. *US Patent 7,371,403B2.*
- McKelvey-Martin, V., Green, M., Schmezer, P., Pool-Zobel, B., De Meo, M. & Collins, A.** (1993). The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review. *Mutat Res-Fund Mol M.* 288 (1), 47-63.
- Milne, A.A., Murphy, W.G., Reading, S.J. & Ruckley, C.V.** (1996). A randomised trial of fibrin sealant in peripheral vascular surgery. *Vox Sang.* 70, 210-212.
- Mosmann, T.** (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 65 (1-2), 55-63.
- Narang, U., Mainwaring, L., Spath, G. & Barefoot, J.** (2003). In-vitro analysis for microbial barrier properties of 2-octyl cyanoacrylate-derived wound treatment films. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery.* 7, 13-19.

- Nomori, H., Horio, H., Morinaga, S. & Suemasu, K.** (1999). Gelatin-resorcinol-formaldehyde–glutaraldehyde glue for sealing pulmonary air leaks during thoracoscopic operation. *Ann Thorac Surg.* 67, 212–216.
- Ostling, O. & Johanson, K.J.** (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 123 (1), 291-8.
- Otani, Y., Tabata, Y. & Ikada Y.** (1996a). A new biological glue from gelatin and poly (L-glutamic acid). *J. Biomed. Mater. Res.* 31, 157–166 .
- Otani, Y., Tabata, Y. & Ikada Y.** (1996b). Adhesion of Soft Tissues by Gelatin- polyanion Hydrogels. *J. Adhesion,* 59, 197–205.
- Otani, Y., Tabata, Y. & Ikada Y.** (1998). Hemostatic capability of rapidly curable glues from gelatin, poly(L-glutamic acid), and carbodiimide. *Biomaterials,* 19, 2091–2098.
- Otani, Y., Tabata, Y. & Ikada Y.** (1999). Sealing effect of rapidly curable gelatin- poly (L-glutamic acid) hydrogel glue on lung air leak. *Ann. Thorac. Surg.* 67, 922–926.
- Parker, M.C., Pohlen, U., Borel Rinkes, I.H.M. & Delvin, T.** (2013). The application of TachoSil for sealing colorectal anastomosis: a feasibility study. *Colorectal Dis.* 15, 252–257.
- Parsi, K., Roberts, S., Kang, M., Benson, S., Baker, L., Berman, I., Bester, L.J., Connor, D.E., Dinnen, P., Grace, J., Stirling, A., Ibrahim, N., Lekich, C., Lim, A., Matar, L., Nadkarni, S., Paraskevas, P., Rogan, C., Thibault, P.K., Thibault, S., Rij, A.v. & Yang, A.** (2020). Cyanoacrylate closure for peripheral veins: Consensus document of the Australasian College of Phlebology. *Phlebology: The Journal of Venous Disease.* 35 (3), 153-175.
- Peng, Y., Zheng, Z., Sun, P., Wang, X. & Zhang, T.** (2013). Synthesis and characterization of polyphenol-based polyurethane. *New J. Che.* 37, 729.
- Petra, J.M.B., Marleen Z., Johan, B., Simon, T.K.Y., Harry V.G, Jan, C.M.V.H. & Richard, H.** (2014). The chemistry of tissue adhesive materials. *Progress in Polymer Science.* 39, 1375–1405.
- Pusateri, A.E., McCarthy, S.J., Gregory, K.W., Harris, R.A., Cardenas, L., McManus, A.T., Goodwin & Jr C.W.** (2003). Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *J Trauma.* 54, 177–82.
- Quinn, J.V.** (2005). Tissue adhesives in clinical medicine. Hamilton, Ontario: Decker Inc. USA, 185p.
- Radosevich, M., Goubran, H.I. & Burnouf, T.** (1997). Fibrin sealant: scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use. *Vox Sang.* 72, 133-143.
- Randall, D. & Lee, S.** (2002). *The polyurethanes book.* Huntsman Polyurethanes, Belgium.

- Reece, T.B., Maxey, T.S. & Kron, I.L.** (2001). A prospectus on tissue adhesives. *Am J Surg.* 182, 40-44.
- Reyes, J.M.G., Herretes, S., Pirouzmanesh, A., Wang, D., Elisseeff, J.H., Jun, A., McDonnell, P.J., Chuck, R.S. & Behrens, A.** (2005). A modified chondroitin sulfatealdehyde adhesive for sealing corneal incisions. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 46, 1247–1250.
- Riss, T.L. & Moravec, R.A.** (2006). Cell proliferation assays: improved homogeneous methods used to measure the number of cells in culture. Celis JE, editor. *Cell Biology. Burlington: Elsevier.*
- Ritter, D. & Knebel, J.** (2009). Genotoxicity testing in vitro—development of a higher throughput analysis method based on the comet assay. *Toxicol In Vitro.* 23 (8), 1570-5.
- Rivera-Armenta, J.L., Hienze, T. & Mendoza-Martinez, A.M.** (2004). New polyurethane foams modified with cellulose derivatives. *Euro Poly J.* 40, 2803-2812.
- Ross, G.M., Mcnillan, T.J., Wilcox, P. & Collins, A.R.** (1995). The single cell microgel electrophoresis assay (comet assay) technical aspects and application. Report of the Fifth LH Gray Trust Workshop, Institute of Cancer research. *Mutat. Res.* 337, 57-60.
- Rydberg, B. & Johanson, K.J.** (1978). Estimation of DNA strand breaks in single mammalian cells. Hanawalt PC, Friedberg EC, Fox CF, editors. *DNA repair mechanisms. Colorado: Elsevier.*
- Ryou, M. & Thompson, C.C.** (2006). Tissue adhesives: A review. *Tech Gastrointest Endosc.* 8, 33-37.
- Sasaki, Y.F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K. & Tsuda, S.** (2002). The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat. Res.* 519 (1-2), 103-119.
- Schek, R.M., Michalek, A.J. & Iatridis, J.C.** (2011). Genipin-crosslinked fibrinhydrogels as a potential adhesive to augment intervetebral discannulus repair. *Eur Cell Mater.* 21, 373–83.
- Schreuder, K.J., Bayer, I.S., Milner, D.J., Loth, E. & Jasiuk, I.** (2013). A polyurethane-based nanocomposite biocompatible bone adhesive. *J. Appl. Polym. Sci.* 127, 4974-4982.
- Sierra, D.H.** (1993). Fibrin Sealant adhesive systems: A review of their chemistry, material properties and clinical applications, *J Biomater Appl.* 7, 309-52.
- Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R. & Schneider, E.L.** (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res.* 175 (1), 184-91.
- Spotnitz, W.D., Dalton, M.S., Baker, J.W. & Nolan, S.P.** (1987). Reduction of perioperative hemorrhage by anterior mediastinal spray application of fibrin glue during cardiac operations. *Ann Thorac Surg.* 44, 529-31.

- Spotnitz, W.D. & Welker, R.L.** (1999). *Clinical uses of fibrin sealant* (pp:199-222): Mintz, P.D. (Ed), *Transfusion Therapy: Clinical Principles And Practice*, AABB, Bethesda.
- Spotnitz, W.D. & Burks, S.** (2008). Hemostats, sealants and adhesives: components of surgical toolbox. *Transfusion*. 48, 1502–1516.
- Spotnitz, W.D. & Burks, S.** (2010). Hemostats, sealants, and adhesives II: update as well as how and when to use the components of the surgical toolbox. *Clin Appl Thromb Hemost*. 16, 497–514.
- Stockert, J.C., Blázquez-Castro, A., Cañete, M., Horobin, R.W. & Villanueva, Á.** (2012). MTT assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets. *Acta Histochem*. 114 (8), 785-96.
- Strehin, I., Nahas, Z., Arora, K., Nguyen, T. & Elisseff, J.** (2010). Biomaterials a versatile pH sensitive chondroitin sulfate – PEG tissue adhesive and hydrogel. *Biomaterials*, 31, 2788–90.
- Suggs, L.J., Kao, E.Y., Palombo, L.L., Krishnan, R.S., Widmer, M.S. & Mikos, A.G.** (1998a). Preparation and characterization of poly(propylene fumarate-co- ethylene glycol) hydrogels. *J Biomater Sci Polym Ed*. 9, 653–66.
- Suggs, L.J., Krishnan, R.S., Garcia, C.A., Peter, S.J., Anderson, J.M. & Mikos, A.G.** (1998b). In vitro and in vivo degradation of poly(propylene fumarate-co-ethylene glycol) hydrogels. *J Biomed Mater Res*. 42, 312–20.
- Sung, H.W., Huang, D.M., Chang, W.H., Huang, R.N. & Hsu, J.C.** (1999). Evaluation of gelatin hydrogel crosslinked with various crosslinking agents as bioadhesives: in vitro study. *J. Biomed. Mater. Res*. 46, 520–530.
- Suzuki, S. & Ikada, Y.** (2010). Adhesion of cells and tissues to bioabsorbable polymeric materials: scaffolds, surgical tissue adhesives and anti-adhesive materials. *J Adhes Sci Technol*. 24, 2059–60.
- Şekeroğlu, Z.A. & Şekeroğlu, V.** (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*. 4 (3), 221-9.
- Tajirian, A.L. & Goldberg, D.J.** (2010). A review of sutures and other skin closure materials. *J Cosmet Laser Ther*. 12, 296–302.
- Taylor, J.R.A., Hebrank, J. & Kier, W. M.** (2007). Mechanical properties of the rigid and hydrostatic skeletons of molting blue crabs, *Callinectes sapidus* Rathbun. *The Journal of Experimental Biology*. 210, 4272-4278.
- Tice, R.R. & Strauss, G.H.** (1992). Assessment of radiation-induced DNA damage in human blood lymphocytes using the single-cell gel electrophoresis technique. *Mutat Res Environ Mutagen Relat Subj*. 271 (3), 243-52.
- Tice, R.R. & Vazquez, M.** (1998). Protocol for the application of the pH>13 alkaline single cell gel (SCG) assay to the detection of DNA damage in mammalian cells. *ILS*, 1-9.

- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C. & Sasaki, Y.F.** (2000). Single cell gel/Comet Assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ. Mol. Mutagen.* 35, 206-221.
- Tokur, O. & Aksoy, A.** (2017). In vitro sitotoksisite testleri. *Harran Üniversitesi Vet. Fakültesi Dergisi.* 6, 112-8.
- Torchiana, D.F.** (2003). Polyethylene glycol based synthetic sealants: potential uses in cardiac surgery, *J Cardiac Surgery.* 18, 504-06.
- Vellonen, K.-S., Honkakoski, P. & Urtti, A.** (2004). Substrates and inhibitors of efflux proteins interfere with the MTT assay in cells and may lead to underestimation of drug toxicity. *Eur J Pharm Sci.* 23 (2), 181-8.
- Vinken, M. & Blaauboer, B.J.** (2017). In vitro testing of basal cytotoxicity: establishment of an adverse outcome pathway from chemical insult to cell death. *Toxicol In Vitro.* 39, 104-10.
- Von der Brelie, C., Soehle, M. & Clusmann, H.R.** (2012). Intraoperative sealing of dura mater defects with a novel, synthetic self adhesive patch: application experience in 25 patients. *Br J Neurosurg.* 26, 231-5.
- Vural, N.** (2017). Toksikoloji. 3. Baskı. Ankara. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları.*
- Wain, J.C., Kaiser, L.R., Johnstone, D.W., Yang, S.C., Wright, C.D., Friedberg, J.S., Feins, R.H., Heitmiller, R.F., Mathisen, D.J. & Selwyn, M.R.** (2001). Trial of a novel synthetic sealant preventing air leaks after lung resection. *Annals of Thoracic Surgery.* 71, 1623-29.
- Wallace, D.G., Cruise, G.M., Rhee, W.M., Schroeder, J.A., Prior, J.J., Ju, J., Maroney, M., Ngo, M.H., Estridge, T. & Coke, G.C.** (2001). A tissue sealant based on reactive multifunctional polyethylene glycol. *J. Biomed Mater. Res.* 58, 545-55.
- Wang, D.A., Varghese, S., Sharma, B., Strehin, I., Fermanian, S., Gorham, J., Fairbrother, D.H., Cascio, B. & Elisseff, J.H.** (2007). Multifunctional chondroitin sulphate for cartilage tissue – biomaterial integration. *Nat Mater.* 6, 385-92.
- Wang, S.S.S., Hsieh, P.L., Chen, P.S., Chen, Y.T. & Jan, J.S.** (2013). Genipin-cross-linked poly(L-lysine)-based hydrogels: synthesis, characterization and drug encapsulation. *Colloids Surf B: Biointerfaces.* 11, 423-31.
- Wasekar, P.A. & Mhaske, S.T.** (2013). Dielectric coating of castor oil-based polyurethane modified with leucoemeraldine polyaniline. *Int. J. Polym. Mater.* 62 (4), 231-235.
- Weyermann, J., Lochmann, D. & Zimmer, A.** (2005) A practical note on the use of cytotoxicity assays. *Int J Pharm.* 288 (2), 369-76.
- Young, J.Z. & Medawar, P.B.** (1940). Fibrin suture of peripheral nerves: measurement of the rate of regeneration. *Lancet.* 2, 126-28.

- Youssef, A.M., Malhat, F.M., Hakim, A.A.A. & Dekany, I.** (2017). Synthesis and utilization of poly(methylmethacrylate) nanocomposites based on modified montmorillonite. *Arabian Journal of Chemistry*. 10 (5), 631-642.
- Zehr, K.** (2007). Use of Bovine Albumin-Glutaraldehyde Glue in Cardiovascular Surgery. *Ann. Thorac. Surgery*. 84, 1048–1052.
- Zeiger E.** (2001). Genetic Toxicity Tests for Predicting Carcinogenicity. Choy WN, editor. Genetic toxicology and cancer risk assessment. *New York: CRC Press*.
- Zeiger E.** (2004). History and rationale of genetic toxicity testing: an impersonal, and sometimes personal, view. *Environ Mol Mutagen*. 44 (5), 363-71.
- Zia, K.M., Barikani, M., Zuber, M., Bhatti, I.A. & Sheikh, M.A.** (2008). Molecular engineering of chitin based polyurethane elastomers. *Carbohydrate Polymers*. 74, 149-158.



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad Soyad:** Canbolat GÜRSES

**Lisans:** T.C. Haliç Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (2003-2007) (Y.Ö.K. Bursu)

**Yüksek Lisans:** University of Washington, Mühendislik Fakültesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği (2009-2012) (M.E.B. Yurtdışı Eğitim Bursu)

**Doktora:** İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı (2014-2021), Biyoloji Anabilim Dalı (2014-...)

### 1. TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

**1.1. Gurses, C., Ates, B.** *The Comparative Investigation of Cytotoxic Properties for Synthetic Commercial Tissue Adhesives*, 2nd ICABC (International Congress on Analytical and Bioanalytical Chemistry), 11-14 Mart 2020 – Sözlü Bildiri

### 2. YAYINLAR

#### 2.1. Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler (SCI & SSCI)

**2.1.1.** Ibrahimzade, L., Kaygili, O., Dundar, S., Ates, T., Dorozhkin, S.V., Bulut, N., Koytepe, S., Ercan, F., **Gurses, C.**, Hssain, A.H. Theoretical and experimental characterization of Pr/Ce co-doped hydroxyapatites, *Journal of Molecular Structure*, 1240, 130557, (2021).

**2.1.2.** Ates, B., Koytepe, S., Ulu, A., **Gurses, C.**, Thakur, V.K. Chemistry, Structures, and Advanced Applications of Nanocomposites from Biorenewable Resources, *Chemical Reviews*, 120 (17), 9304-9362, (2020).

**2.1.3.** Karatas, M., Noma, S., **Gurses, C.**, Balcioglu, S., Ates, B., Alici, B., Cakir, U. Water Soluble Coumarin Quaternary Ammonium Chlorides: Synthesis and Biological Evaluation, *Chemistry & Biodiversity*, 9 (17), (2020).

**2.1.4.** Mahmood, B.K., Kaygili, O., Bulut, N., Dorozhkin, S.V., Ates, T., Koytepe, S., **Gurses, C.**, Ercan, F., Kebiroglu, H., Agid, R.S., Ince, T. Effects of strontium-erbium co-doping on the structural properties of hydroxyapatite: An Experimental and theoretical study, *Ceramics International*, 46 (10), 16354-16363, (2020).

**2.1.5.** Sarı, Y., **Gurses, C.**, Celepci, D.B., Kelestemur, U., Aktas, A., Yuksel, S., Ates, B., Gok, Y. 4-Vinylbenzyl and 2-morpholinoethyl substituted ruthenium (II) complexes: Design, synthesis, and biological evaluation, *Journal of Molecular Structure*, 1202, (2020).

**2.1.6.** Karaaslan, M.G., Aktas, A., **Gurses, C.**, Gok, Y., Ates, B. Chemistry, structure, and biological roles of Au-NHC complexes as TrxR inhibitors, *Bioorganic Chemistry*, 95, (2020).

**2.1.7.** Turker, F., **Gurses, C.**, Celepci, D.B., Aktas, A., Ates, B., Gok, Y. New morpholine-liganded palladium(II) N-heterocyclic carbene complexes: Synthesis, characterization, crystal structure, and DNA-binding studies, *Archiv Der Pharmazie*, 352 (12), (2019).

**2.1.8.** Onar, G., **Gurses, C.**, Karatas, M.O., Balcioglu, S., Akbay, N., Ozdemir, N., Ates, B., Alici, B. Palladium(II) and ruthenium(II) complexes of benzotriazole functionalized N-heterocyclic carbenes: Cytotoxicity, antimicrobial, and DNA interaction studies, *Journal Of Organometallic Chemistry*, 886, 48-56, (2019).

**2.1.9.** Ulu, A., Noma, S.A.A., **Gurses, C.**, Koytepe, S., Ates, B. Chitosan/Polyvinylpyrrolidone/MCM-41 Composite Hydrogel Films: Structural, Thermal, Surface, and Antibacterial Properties, *Starch-Starke*, 70 (11-12), (2018).

**2.1.10.** Onar, G., Karatas, M.O., Balcioglu, S., Tok, T.T., **Gurses, C.**, Kilic-Cikla, I., Ozdemir, N., Ates, B., Alici, B. Benzotriazole functionalized N-heterocyclic carbene-silver(I) complexes: Synthesis, cytotoxicity, antimicrobial, DNA binding, and molecular docking studies, *Polyhedron*, 153, 31-40, (2018).

**2.1.11.** Akkoc, M., Balcioglu, S., **Gurses, C.**, Tok, T.T., Ates, B., Yasar, S. Protonated water-soluble N-heterocyclic carbene ruthenium(II) complexes: Synthesis, cytotoxic and DNA binding properties and molecular docking study, *Journal of Organometallic Chemistry*, 869, 67-74, (2018).

## **2.2. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler**

**2.2.1.** Ulu, A., Balcıoğlu, S., Gürses, C., Köytepe, S., Ateş, B. Yenilenebilir Kaynaklı Poliüretan Kompozitler, Putech (Poliüretan Sanayi Dergisi), 7 (26), 14-26, (2015).

**2.2.2.** Ateş, B., Köytepe, S., Karaaslan, M.G., Gürses, C., Gülgen, S. Poliüretan Temelli Biyoyapıştırıcılar, Putech (Poliüretan Sanayi Dergisi), 23, 22-34, (2015).

## **2.3. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında (Proceedings) Basılan Bildiriler**

**2.3.1.** Gürses, C., Ates, B. The Comparative Investigation of Cytotoxic Properties for Synthetic Commercial Tissue Adhesives, 2nd ICABC (International Congress on Analytical and Bioanalytical Chemistry), 11-14 Mart 2020, Antalya, Türkiye.

**2.3.2.** Çakmen, A.B., Noma, S.A.A., Gürses, C., Köytepe, S., Ateş, B., Yılmaz, İ. The Preparation of Antibacterial Wound Dressing Materials Containing Allantoin via Electrospinning Method, 2. EBAT (Eurasia Biochemical Approaches & Technologies) Kongresi, ss. 170, 26-29 Ekim 2019, Antalya, Türkiye.

**2.3.3.** Çakmen, A.B., Noma, S.A.A., Gürses, C., Köytepe, S., Ateş, B., Yılmaz, İ. Preparation of Allantoin-Based Wound Dressing Materials to Enhance Wound Healing, 5th International Eurasian Congress on 'Natural Nutrition, Healthy Life & Sport', ss. 1734-1735, 2-6 Ekim 2019, Ankara, Türkiye.

**2.3.4.** Culum, A.A., Gürses, C., Yürekli, M. The Investigation of Adrenomedullin Effects over Hypoxia Inducible Factor 1-Alpha under Hypoxic Conditions in Rats, International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 26-27 Nisan 2018, Ankara, Türkiye.

**2.3.5.** Kantarcıoğlu, M., Karaaslan, M.G., Gürses, C., Ateş, B., Köytepe, S. Yara Örtüsü Uygulamaları İçin Siproflaksasin/ $\beta$ -Siklodekstrin Temelli Poliüretan Malzemelerin Antibakteriyel ve Biyoyumluuluk Özelliklerinin Araştırılması, 6. İlaç Kimyası Kongresi, ss. 175, 22-25 Mart 2018, Antalya, Türkiye.

**2.3.6.** Culum, A.A., **Gürses, C.**, Yürekli, M. Adrenomedullin Affects Hypoxia Inducible Factor 1-Alpha in Rats under Hypoxic Conditions, 41st FEBS Congress on Molecular and Systems Biology for a Better Life, cilt.283, ss. 220, 3-8 Eylül 2016, Kuşadası, Türkiye.

**2.3.7. Gürses, C.**, Dastan, H., Karaaslan, M.G., Gulgen, S., Koytepe, S., Ates, B. The Comparison of Isothermal and Hydrolytic Degradability Properties of Non-aromatic Polyurethanes Prepared for Medical Applications, MACRO 2016 (World Polymer Congress), 17-21 Temmuz 2016, İstanbul, Türkiye.

**2.3.8. Gürses, C.**, Ates, B., Koytepe, S., Karaaslan, M.G., Kelestemur, U., Balcioglu, S., Gulgen, S. Aliphatic Polyurethanes Based on Hexamethylene Diisocyanate and Saccharides for Biocompatible Transparent Surface in Medical Devices, European Polymer Federation (EPF Congress), 21-26 Haziran 2015, Dresden, Almanya.

#### **2.4. Kitap Bölümleri**

**2.4.1. Gürses, C.**, Geçkil, H. *Bölüm 9 - Kemotrofik Enerji Metabolizması: Glikoliz ve Fermentasyon.* Becker'ın Hücre Dünyası, 9. Baskıdan Çeviri, Editör: Ali Osman Beldüz, Palme Yayın Dağıtım, Ankara, ss. 215-241, 2019.

**2.4.2.** Ates B., Koytepe S., Balcioglu S., Ulu A., **Gürses C.** *Biomedical applications of hybrid polymer composite materials.* Hybrid Polymer Composite Materials Applications, Editör: Vijay Kumar Thakur, Elsevier Science, Oxford/Amsterdam, Cambridge, ss. 343-408, 2017.

**2.4.3.** Koytepe S., Ates B., **Gürses C.** *Synthesis and Properties of Soy-based Biopolymeric Composites.* Soy-based Bioplastics, Editör: Vijay Kumar Thakur, Smithers Rapra, Shawbury, ss.201-226, 2017.

### **3. TEZLER VE SEMİNERLER**

**3.1.** Doktora Seminer Konusu: “Yara Örtü Materyalleri ve Güncel Uygulamalar”, İnönü Üniversitesi, 2016.

**3.2.** Doktora Seminer Konusu: “Adezif Olmayan Biyomateryaller ve Medikal Kullanımları”, İnönü Üniversitesi, 2015.

3.3. Yüksek Lisans Tezi: “Multifunctional Core-shell Nanoparticles Towards Targeted Biological Interactions”, University of Washington, Seattle, 2012.

3.4. Bitirme Çalışma Konusu: “Nanobiyosensörler”, T.C. Haliç Üniversitesi, 2007.

#### 4. KATILDIĞI SEMİNERLER, EĞİTİMLER VE ÇALIŞTAYLAR

4.1. “7. Kimya AR-GE Proje Pazarı” Katılım Sertifikası, 11 Kasım 2017, İstanbul.

4.2. “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” T.C. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu, Malatya.

4.3. “Advanced Technologies on Health Sciences Symposium” Katılım Sertifikası, Hacettepe Üniversitesi, 15-16 Eylül 2014, Ankara.

4.4. “Türk İmmünoloji Derneği 9. Bölgesel Sempozyumu” Katılım Sertifikası, T.C. İnönü Üniversitesi, Mayıs 2014, Malatya.

#### 5. PROJELER

5.1. “Hidrofilik Grup İçeren N-Heterosiklik Karben Öncülleri ve Komplekslerinin Sentezi Karakterizasyonu Enzim İnhibisyon ve Antikanser Özelliklerinin Hücre Geçirgenliği ile DNA Bağlanma Özelliklerine Göre Araştırılması”, Araştırmacı, **Proje No: FOA-2021-2320** (İnönü Üniversitesi BAP, 01.2021 - ...)

5.2. “Tiyol Grubu İçeren Benzimidazol Fonksiyonlu N-heterosiklik Karben (NHC) Öncülleri ile Gümüş ve Rutenyum Metal Komplekslerinin Sentezi Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi”, Araştırmacı, **Proje No: FOA-2020-2240** (İnönü Üniversitesi BAP, 09.2020 - ...)

5.3. “Endoplazmik Retikulum Stresinin Çeşitli Hücre Hatları Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi”, Araştırmacı, **Proje No: FDK-2019-1938** (İnönü Üniversitesi BAP, 10.2019 - ...)

5.4. “Sentetik Ticari Doku Yapıştırıcılarının Sitotoksik ve Genotoksik Özelliklerinin Karşılaştırılması Araştırılması”, Araştırmacı, **Proje No: FDK-2018-1355** (İnönü Üniversitesi BAP, 07.2018 - ...)

5.5. “Floresans Spektrofotometresi Kullanarak Yeni Sentezlenen Organometalik Bileşiklerinin Ayrıntılı DNA Etkileşim Modellerinin Araştırılması”, Araştırmacı, **Proje No: FBG-2018-1569** (İnönü Üniversitesi BAP, 11.2018 - 04.2020)

**5.6.**“İlaç Etken Maddesi Olarak N-Heterosiklik Karben (NHC-M, M:Ag, Ru, Pd) Komplekslerinin Sentezi: Antikanser, Enzim İnhibisyonu, DNA Bağlanma Özellikleri ve Moleküler Modelleme”, Araştırmacı, **Proje No: FOA-2018-1342** (İnönü Üniversitesi BAP, 08.2018 - 07.2020)

## **6. BİLİMSEL ve MESLEKİ BİLİRKİŞİLİK GÖREVLERİ**

**6.1.** Araştırma Görevlisi, T.C. İnönü Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Malatya. (Ağustos 2013 - ...)

## **7. BURS VE ÖDÜLLER**

**7.1.** Karaaslan, M.G., **Gurses, C.**, Ates, B., Koytepe, S., 7. Kimya AR-GE Proje Pazarı, Kozmetik, Sabun ve Temizlik Ürünleri Kategorisi 1.'lük Ödülü, *Propolis İçeriğine Bağlı Olarak Yara İyileşmesini Hızlandıran Antibakteriyel Özellikte Poliüretan Temelli Yara Kapayıcıların Hazırlanması*, 11 Kasım 2017, İstanbul.