T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN KENDİ KENDİNİ ONARAN YENİLİKÇİ MALZEMELERİN GELİŞTİRİLMESİ ve KARAKTERİZASYONU

Dilara YILMAZ AYKUT

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hüseyin DELİGÖZ

II. DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Ayça BAL ÖZTÜRK

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimyasal Teknolojiler Programı

Mart, 2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Dilara YILMAZ AYKUT tarafından, **Prof. Dr. Hüseyin DELİGÖZ** danışmanlığında hazırlanan **"BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN KENDİ KENDİNİ ONARAN YENİLİKÇİ MALZEMELERİN GELİŞTİRİLMESİ ve KARAKTERİZASYONU"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **31/03/2023** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi ..... Üniversitesi ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret

Aileme ve eşime ithaf ediyorum…

BÜTÇE DESTEKLERİ

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN KENDİ KENDİNİ ONARAN YENİLİKÇİ MALZEMELERİN GELİŞTİRİLMESİ ve KARAKTERİZASYONU

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 35056

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK) 1059B142000022 numaralı, 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı ile desteklenmiştir.

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK) 1649B031901750 numaralı, 2211-A Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı ile desteklenmiştir.

Bu tez çalışması, Yükseköğretim Kurulu'nun 100/2000 YÖK Doktora Burs Programı ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora süresi boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, güvenini, maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabrından dolayı değerli hocam, Sayın Prof. Dr. Hüseyin DELİGÖZ'e her türlü katkısından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Doktora tez süreci boyunca desteklerini esirgemeyen, laboratuvarını açarak tez çalışmamı tamamlamamda katkı sağlayan eş danışmanım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayça BAL ÖZTÜRK'e emekleri için en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Doktora tez dönemimin bir yılını ziyaretçi araştırmacı olarak geçirdiğim Harvard Tıp Fakültesi, Tıp Mühendisliği Bölümü baş araştırmacısı Prof. Dr. Su RYON SHİN'e her türlü katkısı, desteği, her zaman güler yüzü, her fikrimi dinleyip değerlendirdiği için ve doku mühendisliğinde son teknolojileri öğrenmemi sağlayarak akademik kariyerime büyük katkı sağladığı için çok teşekkür ederim. Ayrıca Harvard Tıp Fakültesi'ne 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı ile bursiyer araştırmacı olarak gitmemi sağlayan ve yurt içi 2211-A Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı ile destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) destekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ek olarak doktora sürecim boyunca 100/2000 YÖK Doktora Burs Programı ile destekleyen Yükseköğretim Kurulu'na (YÖK) çok teşekkür ederim.

Tez izleme komitesinde yer alan ve destekleri ile sürecimi güzelleştiren saygıdeğer hocalarım, Prof. Dr. Hasine KAŞGÖZ ve Prof. Dr. Memet Vezir KAHRAMAN'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Kimyasal Teknolojiler Anabilim Dalı'nın diğer değerli öğretim üyelerine de tez çalışmam sırasındaki katkılarından dolayı teşekkür ederim. Tez çalışmam sırasında ilgileri, yönlendirmeleri ve iyi niyetleriyle yanımda olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. M.A. Faruk ÖKSÜZÖMER'e, Doç. Dr. Tuba GÜRKAYNAK ALTINÇEKİÇ'e, Doç. Dr. Gülşen ALBAYRAK ARI'ya ve Doç.Dr. Alper KAŞGÖZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Doktora sürecimde, Harvard Tıp Fakültesi'nde geçirdiğim süre boyunca günde 14-17 saat ve her hafta sonu birlikte eğlenerek çalıştığım laboratuvar arkadaşlarım Ana Marie PEREA'ya, canım Moana'm Dr. Margot BARROSO ZUPPA'ya, baklava aşığı Montserrat PİNEDA'ya, kemik projesinde birlikte çalıştığım ve bilimsel yönleriyle bana ışık tutan akademiye çok başka bir göz ve kültürle bakmamı sağlayan Dr. Weida ZHUANG'a, uzun çalışma günlerinde eğlenerek çalışmamı sağlayan Dr. Nicole Joy BASSOUS'a ve çok saygı duyduğum Dr. Takaaki HATANAKA'ya ve Dr. Seol-Ha JEONG'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca akademik gelişimime katkısı olan, beni yönlendiren, bilgilerini paylaşan ve çok yönlü düşünmemi sağlayan çok değerli hocam Prof. Dr. Shabir HASSAN'a destekleri için çok teşekkür ederim. Amerika'da geçirdiğim süre boyunca bize aile olan Prof. Dr. Jeneen PANEZAİ, Dr. Bukre Şeyma DÖNDER ve Dr. Abdülhamit DÖNDER'e teşekkürlerimi sunarım. Tüm bu doktora sürecinde tüm zorluklarda, hayal kırıklıklarında ve başarılarda yanımda olan bana arkadaşlığıyla güç veren Dr. Elif YÜCE ERARSLAN'a çok teşekkür ederim. Benim için yeri hep ayrı olan, her zaman her koşulda beni destekleyen ve çıkış yolu bulmamı sağlayan, uzakları yakın eden, kalbi sıcacık çok değerli çocukluk arkadaşım, meslektaşım Ezgi YAVUZYILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Doğduğu günden beri hayatımı güzelleştiren, içimi ısıtan, elini hiç bırakmayacağım, canımın içi, teyzesinin balı, minik prensesim Defne DİLAVER'e, hayatımın her anında abiliğini hissettiren başarılarıyla gurur yaşatan Tayfun DİLAVER'e ve hayatımda olmazsa olmazım, idolüm, en büyük gücüm, tam anlamıyla her şeyim canım ablam iyi ki var dediğim Hayrunisa DİLAVER'e maddi manevi sonsuz destekleri için teşekkür ederim. Hayattaki en büyük destekçim, pamuk kalplim, merhametli güzel annem Fikriye YILMAZ'a, beni her zaman dikkatle ve sabırla dinleyen, yönlendiren, güçlendiren tüm bu süreci kolaylaştıran canım babam Kamber YILMAZ'a bütün emekleri ve koşulsuz sevgileri için sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca şu an fiziken aramızda olmayan beni hep destekleyen ve gurur duyan canım dedem Halil YILMAZ'a ve sevgisini hep hissettiğim, özlemle hatırladığım, pamuğum, biricik anneannem Neriman YILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim. Hayatıma girdiği günden beri beni destekleyen, acı tatlı günümde yanımda olan, bana inanan, cesaretlendiren, sevgisini her zaman derinden hissettiren en büyük destekçim, değerli eşim Arş. Gör. Dt. Birdal AYKUT'a sabrı için çok teşekkür ederim. İyi ki varsın. Son sözüm kendime; kendine inandığın ve hiç vazgeçmediğin, sabırla dikenli yollardan geçtiğin ve daha da güçlenerek çıktığın için teşekkürler! You Go Girl!

Mart 2023 **Dilara YILMAZ AYKUT**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **ii**
BEYAN ..... **iii**
BÜTÇE DESTEKLERİ ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **viii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xii**
TABLO LİSTESİ ..... **xvii**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **xix**
ÖZET ..... **xxiii**
1. GİRİŞ **1**
1.1. TEZİN BİLİMSEL LİTERATÜRE KATKISI 4
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE **6**
2.1. FONKSİYONEL POLİMERLERİN BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI 6
2.2. DOKU MÜHENDİSLİĞİ 7
2.3. HİDROJELLER 10
2.3.1. Enjekte Edilebilir Hidrojeller 12
2.3.2. Kayma İncelmesi (Shear-Thinning) Mekanizması 15
2.3.3. Kendi Kendini İyileştiren (Self-Healing) Hidrojeller 19
2.3.4. Kendi Kendini İyileştirme Mekanizması 23
2.3.5. Jelatin 31
2.3.6. Kappa-Karagenan 32
2.3.7. Protein-Polisakkarit Kompozit Yapı İskeleleri ve Doku Mühendisliği için Önemi 35
2.4. DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE YARA İYİLEŞMESİ UYGULAMALARI 38
2.4.1. Antibakteriyel Özellik 40
2.4.2. Antioksidan Özellik 41
2.4.3. Doku Yapıştırıcıları 42
2.4.4. Anjiyogenez 44

2.5. OKSİJEN ÜRETEN MALZEMELERE AİT ÇALIŞMALAR 46
3. YÖNTEM 49
3.1. KİMYASAL MALZEMELER VE CİHAZLAR 49
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler 49
3.1.2. Kullanılan Hücre Hatları 50
3.1.3. Kullanılan Cihazlar 50
3.2. YÖNTEM 51
3.2.1. Akrilat Beta Siklodekstrin Sentezi (Ak-β-SD) ve Optimizasyon Çalışmaları 51
3.2.2. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Hazırlanması ve Optimizasyonu 54
3.2.3. Metakrilat Kappa Karagenan Sentezi (KKM) 57
3.2.4. Sentezlenen Ürünlerin ve Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Karakterizasyonu 58
3.2.5. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Şişme Davranışı 59
3.2.6. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Degradasyon (Bozunma) Davranışı ve Optimizasyonu 60
3.2.7. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Mekanik Davranışı ve Optimizasyonu 63
3.2.8. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Polimer Çözeltilerinin Viskoelastik Özellikleri 64
3.2.9. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Kendi Kendini İyileştirme (Self-Healing) Davranışı ve Optimizasyonu 65
3.2.10. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Kayma İncelmesi ve Enjekte Edilebilirlik Özellikleri 66
3.2.11. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin In-vitro Hücre Kültürü Çalışmaları 67
3.2.12. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin In-vitro Yara Kapanma Modeli (Çizik Testi) 68
3.2.13. İstatiksel Analiz 68
3.3. OKSİJEN ÜRETEN MALZEMELERE AİT YÖNTEMLER 69
3.3.1. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Hazırlanması 69
3.3.2. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Mikroskobik (SEM) ve Elementel Analizi 69
3.3.3. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Parçacık Boyutu Dağılımı Analizi 69

3.3.4. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Oksijen Üretim Profillerinin Analizi 70
4. BULGULAR 71
4.1. Ak-β-SD ve KKM SENTEZLERİNE AİT YAPISAL KARAKTERİZASYON BULGULARI 71
4.1.1. FTIR Analizi Sonuçları 71
4.1.2. ^{1}H-NMR Analizi Sonuçları 72
4.2. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN FİZİKSEL KARAKTERİZASYON BULGULARI 73
4.2.1. Şişme ve Degradasyon Davranışı 76
4.2.2. Yüzey Morfolojik Özellikleri 83
4.2.3. Mekanik Özellikler 84
4.3. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT POLİMERLERİN REOLOJİK ÖZELLİKLERİ 89
4.3.1. Viskoelastik Özellikler 89
4.3.2. Dinamik Reolojik Özellikler 90
4.4. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN KENDİ KENDİNİ İYİLEŞTİRME DAVRANIŞLARI 90
4.5. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN KAYMA İNCELMESİ VE ENJEKTE EDİLEBİLİRLİK DAVRANIŞLARI 94
4.6. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN İN-VİTRO HÜCRE KÜLTÜR ANALİZİ BULGULARI 95
4.7. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN İN-VİTRO YARA KAPANMA MODELİ (ÇİZİK TESTİ) ANALİZİ BULGULARI 96
4.8. OKSİJEN ÜRETEN MALZEME ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR 97
4.8.1. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Mikroskobik (SEM) ve Elementel Analiz Bulguları 97
4.8.2. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Parçacık Boyutu Dağılımı Analiz Bulguları 98
4.8.3. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Oksijen Salım Profillerinin Analiz Bulguları 99
5. TARTIŞMA 100
5.1. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN SENTEZİ 100

5.2. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN FİZİKSEL KARAKTERİZASYON SONUÇLARI 103
5.2.1. Şişme ve Degradasyon Analiz Sonuçları 103
5.2.2. Yüzey Morfolojik Özellikler Analiz Sonuçları 109
5.2.3. Mekanik Özellik Analiz Sonuçları 110
5.3. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT POLİMERLERİN REOLOJİK ÖZELLİKLERİ 114
5.3.1. Viskoelastik Analiz Sonuçları 114
5.3.2. Dinamik Reolojik Analiz Sonuçları 115
5.4. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN KENDİ KENDİNİ İYİLEŞTİME DAVRANIŞI SONUÇLARI 117
5.5. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN KAYMA İNCELMESİ VE ENJEKTE EDİLEBİLİRLİK DAVRANIŞI SONUÇLARI 120
5.6. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN İN-VİTRO HÜCRE KÜLTÜR DAVRANIŞI SONUÇLARI 121
5.7. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN İN-VİTRO YARA KAPANMA MODELİ (ÇİZİK TESTİ) ANALİZ SONUÇLARI 122
5.8. OKSİJEN ÜRETEN MALZEME ÇALIŞMALARINA AİT SONUÇLAR 123
5.8.1. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Mikroskobik (SEM) ve Elementel Analiz Sonuçları 123
5.8.2. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Parçacık Boyutu Dağılımı Analiz Sonuçları 123
5.8.3. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Oksijen Salım Profillerinin Analiz Sonuçları 124
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 126
KAYNAKLAR 134
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 167
ETİK KURUL İZİN YAZISI 168
KURUM İZNİ YAZILARI 169
ÖZGEÇMİŞ 170

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Doku mühendisliği için temel kavram prosedürleri [61]. 9

Şekil 2.2: Hidrojel sentezinde kullanılan kimyasal ve fiziksel çapraz bağlama yöntemleri [74]. 10

Ş**ekil 2.3**: 1998-2018 yılları aralığında yayın sayısını gösteren literatür verilerinin grafiksel gösterimi [61]. 12

Şekil 2.4: Kıkırdak yenilenmesi için enjekte edilebilir yapı iskelelerinin uygulanmasının şematik gösterimi [133]. 12

Şekil 2.5: HA-DA/rGO Hidrojel Hazırlamasının Şematik Çizimi. a) HA-DA polimerinin hazırlama b) rGO@PDA ve c) HA-DA/rGO hidrojelinin şeması ve orijinal, bükme, sıkıştırma, kendi kendini iyileştirme temsili ve yara iyileşmesindeki uygulama görseli, ölçek çubuğu: 5 mm, EDC: etil (dimetilamino propil) karbodiimid, NHS: N-hidroksisüksinimit, Tris.HCl: Tris(hidroksimetil)aminometan hidroklorür [142]. 14

Şekil 2.6: Konak-konuk kompleksine dayanan tersinir çapraz bağlar içeren hidrojelin hızlı bir şekilde birleştirilmesinin ve kayma-incelmesinin şematik gösterimi [145]. 16

Şekil 2.7: Enjekte edilebilir kayma incelmesi gösteren Alg-GO hidrojel (konak-konuk ve ikili çapraz bağ etkileşimleri ile) yapı iskelelerinde MSC'lerin kardiyak miyositlere farklılaşmasının şematik gösterimi [169]. 18

Şekil 2.8: Kendi Kendini İyileştiren Hidrojellerin Biyomedikal Uygulamalarına ait Şematik Gösterimi [177]. 20

Ş**ekil 2.9:** (a) Kendi kendini iyileştiren CAA'nın şematik gösterimi, (b) İyileşme öncesi ve sonrası CAA ve CA fotoğrafları [190]. 23

Şekil 2.10: Kendi kendini iyileştiren enjekte edilebilir hidrojeller ve doku mühendisliği uygulaması [191]. 24

Şekil 2.11: Kendi kendini iyileştiren hidrojellerin çeşitli kimyasal ve kovalent olmayan etkileşimlerinin gösterimi [191]. 25

Şekil 2.12: Bazı önemli konak türlerin gösterimi [131]. 28

Şekil 2.13: Siklodekstrin temelli konak-konuk etkileşimi ve örnek uygulamaları (a) Polimerler kullanılarak β-SD'nin modifikasyonu, dağıtım sistemlerinde kullanımı [215], b) Enjekte edilebilir jelatin HGM supramoleküler hidrojellerdeki MSC'lerin, kondrojenik küçük moleküllerin ve büyüme faktörlerinin kapsüllenmesinin şematik gösterimi [22], Ac-β-SD: Akrillenmiş β-siklodekstrin, KGN: Kartogenin, TGF-β1: dönüştürücü büyüme faktörü-β, MSCs: Mezenkimal kök hücre. 29

Şekil 2.14: Polimerlerde supramoleküler β-SD konak-konuk etkileşimi örnek gösterim [218]. 30

Şekil 2.15: Jelatinin konak-konuk etkileşimi: doku rejenerasyonu uygulaması [158]. 32

Şekil 2.16: Foto çaprazlanabilir kappa-karagenanın doku mühendisliği uygulaması [25]. 33

Şekil 2.17: Jelatin ve polisakkaritlerden hazırlanan hidrojellerin kökeni ve biyomedikal uygulamaları [20]. 36

Şekil 2.18: Hidrojel özelliklerinin karşılaştırma tablosu ve ideal yara iyileştirici malzemelerin sahip olması gereken özellikler [273]. 39

Şekil 2.19: Yara iyileşmesinde kullanıma yönelik çok işlevli hidrojeller geliştirmek için antioksidan etkiler, antibakteriyel aktiviteler, doku yapışkanlığı ve mekanik özellikler gibi çeşitli işlevlerin şematik gösterimi [276]. 40

Şekil 2.20: Kriyojenik 3B yazıcı SIS/MBG@Exos hidrojel yapı iskeleleri ve SIS/MBG@Exos hidrojel yapı iskelelerinin diyabetik yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin şematik gösterimi [318]. 46

Şekil 3.1: Ak-β-SD sentezine ait şematik gösterim……52

Şekil 3.2: Asetonla çöktürme prosesi. 53

Şekil 3.3: Süzme prosesi. 53

Şekil 3.4: Ak-β-SD sentezine ait kimyasal yapı. 54

Şekil 3.5: UV ışık kaynağı kürleme sistemine ait görsel. 56

Şekil 3.6: Kappa-karageenan metakrilatlanmasına ait deney düzeneği. 58

Şekil 3.7: KKM sentezine ait kimyasal gösterim. 58

Şekil 3.8: Liyofilizasyon sistemine ait görsel. 60

Şekil 3.9: -80°C'de bir gece bekletilip ardından bir gün liyofilizatörde kurutulan konak-konuk hibrit hidrojeller. 62

Şekil 3.10: TA Instruments mekanik test cihazına ait görsel. 64

Şekil 3.11: TA Instruments Discovery HR 30 reometre cihazına ait görsel. 65

Şekil 3.12: MTT'in formazan kristallerine indirgenme reaksiyonu [325]. 67

Şekil 4.1: β-SD ve Ak-β-SD FTIR karşılaştırmalı FTIR analizi……71

Şekil 4.2: Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hidrojellerin karakterizasyonu. (A) β-SD ve modifiye Ak-β-SD ve (B) KK ve modifiye KKM'nin FTIR spektrumları. 72

Şekil 4.3: Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hidrojellerin karakterizasyonu. (A) KK ve (B) KKM'nin H-NMR spektrumları. 72

Şekil 4.4: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %8 Jelatin-%0 Kappa-Karagenan, %4 Ac-β-CD, %0 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 1).....73

Şekil 4.5: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %8 Jelatin-%0 Kappa-Karagenan, %10 Ac-β-CD, %0 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 2).....73

Şekil 4.6: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %4 Jelatin-%0,5 Kappa-Karagenan, %10 Ac-β-CD, %5 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 3).....74

Şekil 4.7: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %4 Jelatin-%4 Kappa-Karagenan, %10 Ac-β-CD, %10 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 4).....74

Şekil 4.8: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %8 Jelatin-%1 Kappa-Karagenan, %10 Ac-β-CD, %10 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 5).....75

Şekil 4.9: Konak-konuk kendi kendini iyileştiren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel (formülasyon 12, 13 ve 14) oluşum mekanizmasının şematik gösterimi. 76

Şekil 4.10: -80°C'de bir gece bekletilip ardından bir gün liyofilizatörde kurutulan konak-konuk hibrit hidrojeller.....80

Şekil 4.11: %8 Jelatin-%1 Kappa Karagenan Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 8) 37°C'de ve 30. Gün Sonunda Degradasyon Sonuçları. 81

Şekil 4.12: %8 Jelatin-%2 Kappa Karagenan Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 9) 37°C'de ve 30. Gün Sonunda Degradasyon Sonuçları. 81

Şekil 4.13: %8 Jelatin-%4 Kappa Karagenan Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 10) 37°C'de ve 30.Gün Sonunda Degradasyon Sonuçları. 82

Şekil 4.14: %8 Jelatin-%8 Kappa Karagenan Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 11) 37°C'de ve 30.Gün Sonunda Degradasyon Sonuçları. 82

Şekil 4.15: Hidrojellerin fiziksel koşullar altında (37°C ve FTÇ içerisinde) kütle şişme oranı ve degradasyon davranışı. (A) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM içeren hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) kütle şişme oranı. (B) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM içeren hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) ağırlık kaybı yüzdesi. (Tek yönlü ANOVA, Tukey anlamlı fark sonrası hoc testi; **** $p \leq 0.0001$; * $p \leq 0.05$; ns, anlamlı olmayan anlamına gelir, n=3). Hata çubukları standart sapmayı temsil etmektedir. ..83

Şekil 4.16: Hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) yüzey morfolojik özellikleri. 84

Şekil 4.17: Hidrojellerin gözenek boyutu dağılımı. %16 jelatin (ağ./hac.) ve (A) %2, (B) %3 ve (C) %4 (ağ./hac.) KKM'den oluşan liyofilize supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) gözenek boyutu dağılımı.....84

Şekil 4.18: %8 Jelatin, %1 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 8) 40 saniye UV Işık ile Kürleme Sonrası Sıkıştırma Testi Sonuçları (numune 1-6: tekrarlı test sonuçlarıdır). 85

Şekil 4.19: %8 Jelatin, %1 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 8) 10 Dakika UV Işık ile Kürleme Sonrası Sıkıştırma Testi Sonuçları (numune 1-9: tekrarlı test sonuçlarıdır). 85

Şekil 4.20: %8 Jelatin, 2 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 9) 40 saniye UV Işık ile Kürleme Sonrası Sıkıştırma Testi Sonuçları (numune 1-4: tekrarlı test sonuçlarıdır). 86

Şekil 4.21: %8 Jelatin, %2 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 9) 10 Dakika UV Işık ile Kürleme Sonrası Sıkıştırma Testi Sonuçları (numune 1-7: tekrarlı test sonuçlarıdır). 86

Şekil 4.22: Hidrojellerin mekanik özellikleri. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'den oluşan liyofilize supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) (A) Gerilme-gerinim eğrileri, (B) Elastik (Sıkıştırma) modülü, (C) Sıkıştırma gerilimi, (D) Kopma Anındaki Uzama (%), (E) Tokluk, (F) Geri Kazanım (%) ve (G) Enerji kaybı (%). (Tek yönlü ANOVA, Tukey anlamlı fark sonrası hoc testi; *** $p \leq 0{,}001$; ** $p \leq 0.01$; * $p \leq 0.05$; ns, önemsiz anlamına gelir, n=10). Hata çubukları standart sapmayı temsil etmektedir. 88

Şekil 4.23: Hidrojellerinin döngüsel sıkıştırma eğrileri ve deformasyona uğrayan hibrit hidrojellerin geri kazanımını gösteren nitel görüntü (%16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM'den oluşan örnek). 89

Şekil 4.24: Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin açısal frekansa karşı reolojik özellikleri. (A) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin (formülasyon 12, 13 ve 14) kompleks viskozitesi. (B) %16 jelatin ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin (formülasyon 12, 13 ve 14) depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G''). 89

Şekil 4.25: Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin zamana karşı reolojik özellikleri. (A) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin (formülasyon 12, 13 ve 14) kompleks viskozitesi. (B) %16 jelatin ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin (formülasyon 12, 13 ve 14) depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G''). 90

Şekil 4. 26: %8 Jelatin, %1 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere (formülasyon 8) ait Kendi Kendini İyileştirme Davranışı. 91

Şekil 4.27: %8 Jelatin, %4 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere (formülasyon 10) ait Kendi Kendini İyileştirme Davranışı. 91

Şekil 4.28: %8 Jelatin, %4 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere (formülasyon 10) ait Kendi Kendini İyileştirme Davranışı Sonrası (a) Stereo ve (b) Floresan Mikroskop Görüntüsü. 92

Şekil 4.29: Hidrojellerin (formülasyon 12) kendi kendini iyileştirme sürecinin görüntüleri. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM içeren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit (A) Boyalı ve yarıya kesilmiş hidrojeller, (B) Lekeli farklı renk hidrojellerin birbirine temas etmesi, (C) İyileştirilmiş hibrit hidrojel ve (D) İyileştirilmiş hibrit hidrojel dikey olarak tutulmuştur. Kendi kendine iyileşme süreci, (E) 0 dk, (F) 60 dk, (G) 24 saat ve (H) 48 saat olmak üzere farklı zaman aralıklarında optik mikroskop görüntüleri ile kaydedildi. Kendi kendine iyileşme süreci, farklı zaman aralıklarında floresan mikroskop görüntüleri ile kaydedildi: (I) 30 dakika, (J) 60 dakika, (K) 24 saat ve (L) 48 saat. 93

Şekil 4.30: Hidrojellerin (formülasyon 12) reolojik davranışı. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM içeren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin, (A) %1 ve %1000'den gerinim genliği taraması, (B) Geri kazanım karakterizasyonu için 25 °C'de sabit bir açısal frekansta (1 rad/s) 200 sn boyunca %1'den %200'e kadar döngüsel adım gerinim testi. 94

Şekil 4.31: Hidrojellerin kayma incelmesi ve enjekte edilebilirlik özellikleri. (A) %16 jelatin (ağ./hac.) ve farklı konsantrasyonlarda (%2, %3 ve %4) KKM içeren hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) 0,1 ila 100 s^{-1} arasında bir kayma hızında viskozitesi, (B) Hidrojelin (formülasyon 12) enjekte edilebilir özelliğinin gösterilmesi için 25 gauge bir iğneden FTÇ'ye enjekte edilmiştir (hidrojel, Rhodamine-B ile boyanmıştır), (C) Bir kapta oda sıcaklığında aloe vera şeklini çizmek için enjekte edilen hibrit hidrojelin görüntüsü (hidrojel, malakit yeşili ile boyanmıştır). 95

Şekil 4.32: Hidrojellerin sitotoksisite özellikleri. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM içeren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel (formülasyon 12) özütünün MTT deneyi ile 48 saatte hücre canlılığı %'si. 96

Şekil 4.33: Hidrojellerin yara kapatma özellikleri. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM içeren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojelin (formülasyon 12) (A) Çizik testi sonrası farklı zaman aralıklarında (4, 8, 24 ve 48 saat) yara kapanma yüzdesi sonuçları (n=3, ****p<0,0001 ve ilgili kontrol grubu), (B) Kontrolde NIH/3T3 hücrelerini ve %2 (ağ./hac.) KKM hibrid hidrojel özü ile muamele edilmiş grubu gösteren ilk çizikten 0, 4, 8, 24 ve 48 saat sonra alınan temsili görseller (ölçek çubuğu: 200 um). 97

Şekil 4.34: Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların SEM görüntüsü. 98

Şekil 4.35: Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) ile Elementel Haritalanması. 98

Şekil 4.36: Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların partikül boyut dağılımı analizi. 99

Şekil 4.37: Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların oksijen salım profillerinin analizi (numune 1-3: tekrarlı örnek sayısıdır). 99

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Karagenanın farklı kimyasal modifikasyonları ve hedef uygulamaları. 34

Tablo 3.1: Kimyasal Malzeme Listesi…….49

Tablo 3.1: Kimyasal Malzeme Listesi (devam).....50

Tablo 3.2: Kullanılan Cihaz Listesi. 50

Tablo 3.3: Konak-Konuk Hibrit Hidrojel Çalışma Grupları ve Özellikleri. 55

Tablo 3.4: Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere Ait Çalışma Grupları.....56

Tablo 3.4: Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere Ait Çalışma Grupları (devam). 57

Tablo 3.5: Konak-Konuk Hibrit Hidrojel Formülasyon 6-7'ye ait Çalışma Grupları ve Özellikleri. 60

Tablo 3.6: Konak-Konuk Hibrit Hidrojel Formülasyon 8-11'e ait Çalışma Grupları ve Özellikleri. 61

Tablo 4.1: Formülasyon 1-5'e Ait Oda Koşulları, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları…….76

Tablo 4.2: Formülasyon 1-5'e Ait Oda Koşulları, 10 dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.....77

Tablo 4.3: Formülasyon 1-5'e Ait 37°C de, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.....77

Tablo 4.4: Formülasyon 1-5'e Ait 37°C de, 10 dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.....77

Tablo 4.5: Formülasyon 6-7'ye Ait 37°C'de, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.....77

Tablo 4.6: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait 37°C'de, 10 Dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.....78

Tablo 4.7: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait Oda Koşulları, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.....78

Tablo 4.8: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait Oda Koşulları, 10 dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları. 78

Tablo 4.9: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait 37°C'de, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları. 78

Tablo 4.10: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait 37°C'de, 10 dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları. 79

Tablo 4.11: Formülasyon 8-11'e Ait Oda Koşulları Degradasyon Sonuçları. 79

Tablo 4.12: Formülasyon 8-11'e Ait 37°C'de Degradasyon Sonuçları. 79

Tablo 4.13: Formülasyon 8-11'e Kurutulan Hidrojellere Ait 37°C'de Degradasyon Sonuçları. 80

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
β	: Beta
κ-	: Kappa
γ-	: Iota
λ-	: Lambda
ağ./ağ.	: Ağırlık/ağırlık
ağ./hac.	: Ağırlık/hacim
wt./vol.	: Weight/volume
ns	: önemsiz
G'	: Depolama modülü
G''	: Kayıp modülü
Pa	: Paskal
M	: mili
Ŋ*	: Kompleks viskozite
s	: saniye
rad	: radyan
µmol/L	: mikromol/litre
δ	: delta

Kısaltmalar	Açıklama
HG	: Host-guest
Ac-β-CD	: Acrylate-β-cyclodextrin
MA-κ-CA	: Methacrylated kappa-carrageenan
ECM	: Extracellular matrix (Hücre dışı matris)
KCl	: Potasyum klorür
SD	: Siklodekstrin
DMF	: Dimetilformamid
KKM	: Metakrilatlanmış kappa-karagenan
KK	: Kappa-karagenan
GAG	: Glikozaminoglikan
UV	: Ultraviyole
PAA	: Poliakrilik asit
Ak-β-SD	: Akrilat-beta-siklodekstrin
MTT	: (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide)
3B	: 3 Boyutlu
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç İdaresi
GRAS	: Genel olarak güvenli
MeJel	: Metakrilanlanmış Jelatin
I2959	: Irgacure 2959
DM	: Doku Mühendisliği
MN	: Mikro iğne
NP	: Nanopartikül
ROS	: Reaktif oksijen türleri
O2·	: Süper oksit anyon radikalleri

OH· : Hidroksil radikalleri
2B : 2 Boyutlu
NP : Nanopartikül
PBS : Fosfat Tampon Tuzu
FTÇ : Fosfat Tampon Çözeltisi
DPBS : Dulbecco'nun Fosfat Tampon Çözeltisi
DFTÇ : Dulbecco'nun Fosfat Tampon Çözeltisi
DMEM : Dulbecco'nun Modifiye Kartal Ortamı
FBS : Fetal Sığır Serumu
EDTA : Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FTIR : Foruier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
^{1}H-NMR : Proton Nükleer Manyetik Resonans
SEM : Taramalı elektron mikroskobu
NIH/3T3 : İsviçre faresi embriyonik fibroblast hücreleri

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN KENDİ KENDİNİ ONARAN YENİLİKÇİ MALZEMELERİN GELİŞTİRİLMESİ ve KARAKTERİZASYONU

Dilara YILMAZ AYKUT

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimyasal Teknolojiler Programı

Danışman : Prof. Dr. Hüseyin DELİGÖZ

II. Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ayça BAL ÖZTÜRK

Doğal polimerlere dayalı enjekte edilebilir hidrojeller, yara iyileşmesi gibi çeşitli doku mühendisliği uygulamaları için büyük potansiyel göstermiştir. Bununla birlikte, zayıf mekanik özellikler ve zayıf kendi kendini iyileştirme yeteneği açısından çözülmesi gereken zorluklar içermektedir. Bu çalışmada, metakrilatlanmış kappa-karagenan (KKM) üzerine konjuge akrilat-β-siklodekstrin (Ak-β-SD) ile jelatin üzerindeki aromatik kalıntılar arasında kendi kendini iyileştirme özelliği sağlamak için bir konak-konuk supramoleküler etkileşimi tanımlanmıştır. Bu kapsamda, Ak-β-SD'yi oluşturmak için önce bir KKM sentezlenmiş, ardından doğal hücre dışı matrisi (ECM) taklit etmek için jelatinli ikili çapraz bağlı hibrit hidrojeller üretilmiştir. İkili çapraz bağlama, KKM omurgasında mekanik mukavemeti ve kararlılığı artıran potasyum klorür (KCl) ve foto çapraz bağlama işlemleriyle gerçekleştirilmiştir. Hibrit hidrojeller, minimal invaziv bir şekilde kolayca uygulanan ve enjeksiyon sırasında kayma gerilimine katkıda bulunan, kayma ile incelme, kendi kendini iyileştirme ve enjekte edilebilir davranış sergilemişlerdir. In-vitro çalışmalar, gelişmiş hücre canlılığını göstermiş, ayrıca hücre göçünü ve hücre-hücre etkileşimini incelemek için çizik deneyleri (yara kapanma testi) yapılmıştır.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, çapraz bağlanma öncesi ve sonrası KK üzerinde metakrilat sübstitüsyonunun ^{1}H-NMR spektrumu, metakrilat reaksiyonunun başarılı olduğunu gösterirken FTIR analizi de KKM spektrumunda metakrilat reaksiyonunu doğrulamıştır. Akrilat-β-SD FTIR spektrumu incelendiğinde, akriloil klorürün β-SD'e etkin bağlandığı ilgili piklerin varlığından anlaşılmıştır. KKM konsantrasyonunun artışı ile hidrojellerin gözenekliliğinin

arttığı tespit edilmiştir. Ek olarak, protein-polisakkarit yapının hibrit iskelesine dahil edilmesiyle %2, %3 ve %4 KKM (ağ./hac.) içeren biyopolimerin kimyasal çapraz bağlanmasının sonucu olarak elastik modülde önemli/gözlemlenebilir bir artış görülerek sırasıyla 11,6 kPa, 15,1 kPa, 27,9 kPa değerleri elde edilmiştir. Dahası hibrit hidrojeller, sırasıyla 181 kPa, 273 kPa, 341 kPa sıkıştırma gerilimi ve %50, %49 ve %44 kopma anında uzama sonuçları ile iyi mekanik performanslar sergilemişlerdir. Bu davranış, geri kazanım yüzdesi ile desteklenmiş ve farklı konsantrasyonlara sahip KKM hidrojellerinin analizleri sırasıyla %90,1, %96,0 ve %98,4 ile sonuçlanmıştır. Polimerlerin kendi kendini iyileştirme ve kayma incelmesi özelliğini göstermek için gerçekleştirilen reoloji deneylerinde KKM konsantrasyonlarından bağımsız olarak depolama modülü değerinin tüm frekans aralığında kayıp modülü değerinden daha büyük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, düşük ve yüksek frekans değerleri arasında jel benzeri profiller sergilediğini doğrulamıştır. Gerinim genliği taramasında, düşük gerinim uygulandığında (%1) konak-konuk etkileşimler tarafından bozulan ağdan supramoleküler hibrit hidrojellerin G' değerinin hızlı bir şekilde orijinal durumuna geri döndüğüne işaret etmiştir. Ek olarak makroskobik (stereo optik mikroskop ve floresan mikroskobu) testler gerçekleştirilerek kendi kendini iyileştirme davranışı kanıtlanmıştır. Supramoleküler hibrit hidrojellerin bu özellikleri, her bir geri kazanım döngüsü altında sergilenmiştir. Ayrıca, kayma hızıyla birlikte, hidrojelin viskozitesi oda sıcaklığında kademeli olarak düşmüştür ve bu da iyi enjekte edilebilir davranışa yol açmıştır. Hazırlanan hidrojellerin salım özütleri sitotoksisite testi ile değerlendirilmesi sonucunda hidrojellerin hücre canlılığı gösterdiği ve ürünlerin biyouyumlu olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Yara oluşumundaki yara kapanmasını ve hücre göçünü taklit etmek için bir çizik testi gerçekleştirilmiştir. 48 saat sonra tedavi grubundaki hücrelerin model bölgeye daha fazla göç ettiği ve yarayı kapattığı tespit edilmiştir. Kendi kendini iyileştiren ve enjekte edilebilir ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin konak-konuk etkileşimleri ile kombinasyonunun, yara iyileştirme uygulamaları için umut verici ve işlevsel bir biyomalzeme platform sergilediği gösterilmiştir.

Mart 2023 , 195 sayfa.

Anahtar kelimeler: Kendi kendini iyileştiren hidrojel, Jelatin/Kappa Karagenan, konak-konuk etkileşim, yara iyileşmesi, ikili çapraz bağlanma

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF NOVEL SELF-HEALING MATERIALS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Dilara YILMAZ AYKUT

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Chemical Technologies Department

Supervisor : Prof. Dr. Huseyin DELIGOZ

Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ayca BAL OZTURK

Injectable hydrogels based on natural polymers have shown great potential for various tissue engineering applications, such as wound healing. However, poor mechanical properties and weak self-healing ability are still major challenges. In this work, we introduce a host-guest (HG) supramolecular interaction between acrylate-β-cyclodextrin (Ac-β-CD) conjugated on methacrylated kappa-carrageenan (MA-κ-CA) and aromatic residues on gelatin to provide self-healing characteristics. We synthesize an MA-κ-CA to conjugate Ac-β-CD and fabricate dual crosslinked hybrid hydrogels with gelatin to mimic the native extracellular matrix (ECM). The dual crosslinking occurs on the MA-κ-CA backbone through the addition of KCl and photo crosslinking process, which enhances mechanical strength and stability. The hybrid hydrogels exhibit shear-thinning, self-healing, and injectable behavior, which apply easily under a minimally invasive manner and contribute to shear stress during the injection. In-vitro studies indicate enhanced cell viability. Furthermore, scratch assays (wound closure test) are performed to examine cell migration and cell-cell interaction. When the results were evaluated, the 1H-NMR spectrum of methacrylate substitution on KK before and after crosslinking showed successful modification of the methacrylate reaction. It also confirmed the methacrylate reaction in the KKM spectrum when compared with KK from FTIR analysis. When the acrylate-β-SD spectrum was examined, the effective binding of acryloyl chloride to β-SD was evident from the presence of the corresponding peaks. When the surface morphology of the hydrogels was evaluated, it was determined that the porosity increased with the increase of the 2%, 3% and 4% KKM (wt./vol.) concentration. In addition, as a result of a uniaxial compression

test, a significant/observable increase in elastic modulus was observed with the incorporation of the protein-polysaccharide structure into the hybrid scaffold, and values of 11.6 kPa, 15.1 kPa, and 27.9 kPa were obtained, respectively. The increased stiffness of hybrid hydrogels is mainly a result of chemical crosslinking of the KKM biopolymer. Moreover, the hybrid hydrogels exhibited good mechanical performances with compressive stress of 181 kPa, 273 kPa, 341 kPa and elongation at break of 50%, 49% and 44%, respectively. This behavior was supported by the percent recovery, and analyzes of KKM hydrogels with different concentrations resulted in 90.1%, 96.0% and 98.4%, respectively. Rheology experiments were carried out to demonstrate the self-healing and shear thinning property of the polymers. It has been observed that the storage modulus value is larger than the loss modulus value throughout the frequency range, regardless of the KKM concentrations. These results confirmed that it exhibited gel-like profiles between low and high frequency values. Alternate step strain test results pointed out that the G' value of supramolecular hybrid hydrogels recovered quickly to its original state from the network disrupted by host-guest interactions if low strain (1%) was applied. In addition, the self-healing behavior has been proven by performing macroscopic (stereo-optical microscope and fluorescent microscope) tests. These properties of supramolecular hybrid hydrogels were exhibited under each recovery cycle. Also, with the shear rate, the viscosity of the hydrogel gradually decreased at room temperature, leading to good injectable behavior. The release extracts of the prepared hydrogels were evaluated with the cytotoxicity test and the cell viability of the hydrogels was demonstrated and it was concluded that the products were biocompatible. A scratch test was performed to mimic wound closure and cell migration in wound formation. After 48 hours, it was determined that the cells in the treatment group migrated more to the model area and closed the wound. It is demonstrated that the combination of self-healing and injectable dual crosslinked hybrid hydrogels with HG interactions display a promising and functional biomaterial platform for wound healing applications.

March 2023, 195 pages.

Keywords: Self-healing hydrogel, Gelatin/Kappa-Carrageenan, host-guest interaction, wound healing, dual crosslinking

1. GİRİŞ

Enjekte edilebilir hidrojeller, hücreler gibi terapötik ajanların, biyoaktif moleküllerin, ilaçların hedef bölgeye teslim edilmesi ve cildin yenilenmesi için hücre dışı matrisi (ECM) taklit ederek yara onarım alanında fayda sağlamaktadırlar [1–4]. Minimal invaziv nitelikteki ayarlanabilir fizikokimyasal yetenekleri nedeniyle özellikle derin ve keskin kronik yaralar olmak üzere farklı boyutlarda düzensiz kusurlu boşluklara doldurulabilmektedirler. Ayrıca enjekte edilebilir hidrojeller, doku yenilenmesini teşvik etmek için stres koşulları altında dinamik geri dönüşümlü bağlantı sağlamaktadırlar [5,6]. Suyla şişmiş üç boyutlu polimer ağlar, stres durumu ve fiziksel hasarlardan yeniden oluşum süreci sırasında viskoz akış kabiliyetine sahip olup bu özellik nedeniyle hızlı bir şekilde restore edilmiş yaralanma bölgelerine ulaşmak için umut verici yetenekler/akıllı malzemeler olarak değerlendirilmektedir [7–9]. Son zamanlarda birçok araştırmacı, tersinir yapıları nedeniyle konak-konuk etkileşimleri yoluyla supramoleküler hidrojeller ile ilgilenmeye başlamıştır [10,11]. Farklı kovalent olmayan etkileşimler arasında doğal olarak türetilen siklodekstrinler (SD'ler), yüksek suda çözünürlükleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle farklı uygulamalar için kendi kendini iyileştiren hidrojeller üretmek için yaygın olarak kullanılmıştır. Bu moleküller, bir iç boşluk yoluyla farklı bağlanma afinitelerine sahip çok sayıda konuk molekülü barındırabilmektedir [9,12,13].

Bugüne kadar, doğal olarak türetilen biyomalzemeler, üstün biyobozunurlukları, biyouyumlulukları ve ECM'yi taklit etme yetenekleri nedeniyle ilgi görmüştür [14]. Bu polimerler arasında jelatin, doku mühendisliği ve biyomedikal uygulamalar için sıklıkla kullanılmaktadır [15]. Jelatin, hücre yapışmasına ve çoğalmasına katkıda bulunan kolajenin kısmi hidrolizinden elde edilmektedir [16,17]. Çok sayıda çalışma, jelatin bazlı biyomalzemelerin mükemmel kendi kendini iyileştirme yeteneklerine sahip olduğunu göstermiştir [18]. Yalan ve arkadaşları, Schiff-baz reaksiyonunu kullanarak kendi kendini iyileştirme özelliklerine sahip jelatin hidrojel üretmek için bir yöntem geliştirmiştir. Elde edilen sonuçlar, doku mühendisliği için enjekte edilebilir yapı iskelelerinin yanı sıra kendi kendini iyileştiren hidrojellerin, enjekte edilebilir hücre ve ilaç taşıyıcıları için uygulama beklentilerini karşıladığını göstermiştir [18]. Jelatin, mükemmel özelliklerine rağmen sınırlı mekanik dayanım, hızlı enzimatik degradasyon ve yüksek viskoziteye sahiptir [19,20].

İstenen biyolojik özelliklere sahip, mekanik olarak sağlam jelatin hidrojellerini üretmek için Feng ve arkadaşları [21] konak-konuk supramoleküler makromer (HGM) yaklaşımını önererek

jelatin bazlı hidrojel sentezlemişlerdir. Böylece biyopolimerlerin kimyasal modifikasyonundan bağımsız olarak fenilalanin, triptofan ve tirozin gibi jelatinin aromatik kalıntıları ve UV ile polimerizasyon sonucu oluşturulan Ak-β-SD arasında konak-konuk kompleksi oluşturulmuştur. Elde edilen hidrojeller, aşırı sıkıştırma ve çekme gerilimini sürdürme yeteneğine ve hızlı bir şekilde kendi kendini iyileştirme yeteneğine sahiptirler. Konak-konuk etkileşimlerinin tersine çevrilebilir doğası nedeniyle kapsüllenmiş insan mezenkimal kök hücrelerinin (hMSC'ler) yaşayabilirliğinden ödün vermeden jelleşme durumunda cerrahi iğneler aracılığıyla enjekte edilebildiği ve kapsüllenmiş hücreleri korurken hedeflenen geometrilere göre yeniden kalıplanabilir hidrojeller sentezlendiği rapor edilmiştir. Ayrıca zayıf konak-konuk çapraz bağlanması, hücrelerin hidrojellere sızmasını ve göçünü kolaylaştırmıştır. Sürekli uzun vadeli bir salınımla geleneksel hidrofilik hidrojel ağına hidrofobik küçük moleküllerin etkili bir şekilde yüklenmesi zordur. Fakat bu yaklaşım, deksametazon ve kartojenin (KGN) gibi birçok hidrofobik küçük moleküllerin, yaralı dokuların rejenerasyonu için önemli olan kök hücre farklılaşmasını etkili bir şekilde indükleyen ajanların yüklenmesini ve sürekli dağıtımını arttırmıştır. Ayrıca, bu çalışmada kendi kendini iyileştirme ve kayma incelmesi davranışı üzerinde çalışmışlardır. Hücre ve hayvan çalışmaları, bu tür hidrojellerin hücre yüklenmesini, farklılaşmasını ve kemik yenilenmesini destekleyerek onları minimal invaziv prosedürler yoluyla terapötik hücrelerin ve ilaçların umut verici taşıyıcı biyomalzemeler haline getirdiğini göstermektedir [21]. Xu ve grubu tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, mekanik olarak esnek, kendi kendini iyileştiren ve kimyasal çapraz bağlanma içermeyen enjekte edilebilir supramoleküler jelatin hidrojelleri hazırlamak için yine HGM yaklaşımı uygulanmıştır. β-SD'lerin hidrofobik boşluğu, hidrofobik ilaç olan KGN'nin ve birçok hücrede proliferasyon, hücresel farklılaşma, mobilite ve adezyon gibi fonksiyonları kontrol eden transforme edici büyüme faktör-beta (TGF-β1) sitokin türünün yüklenmesine ve sürekli salınmasına izin vermiştir. Böylece insan kemik iliği stromal hücrelerin (hBMSC) kondrojenezini arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca enjeksiyon yoluyla uygulanan kök hücre yüklü hidrojeller, sıçan osteokondral defekt modelinde hiyalin kıkırdak ve subkondral kemiğin yenilenmesini etkili bir şekilde desteklemiştir. Bu yenilikçi yaklaşımın benzersiz özellikleri, hidrojelleri minimal invaziv prosedürlerle kıkırdak onarımı için terapötik hücreler/ilaçlar için ideal taşıyıcı malzemeler haline getirmiştir [22]. Diğer bir çalışmada, aynı yaklaşım (HGM) tercih edilerek bir başka doğal polimer olan ve yara iyileşmesinde büyük potansiyele sahip ipek fibroin (SF) kullanılarak hidrojelin bu davranışı Guo ve grubu tarafından incelenmiştir. Bu çalışmada SF, Ak-β-SD ve 2-hidroksietil akrilat bazlı bir supramoleküler hidrojel, akrilatın UV

ışıması altında foto-polimerizasyonu ile sentezlenmiş olup yara örtüsü olarak yüksek performans göstermiştir. Yeni yaklaşımla oluşturulan hidrojeller iyileştirilmiş mekanik özellikler, uzun vadeli fiziksel ve kimyasal yapının kararlılığı, hızlı kendi kendini iyileştirme davranışı, enjekte edilebilirlik ve iyi biyouyumluluk göstererek yara örtüsü uygulanmasına katkı sağlamıştır. [23]. Bu doktora tez çalışması kapsamında hidrojelin kararlılığını ve mekanik özelliklerini iyileştirmek için jelatin, metakrilatlanmış kappa-karagenan (KKM) ile birleştirilmiştir [24].

Kappa-Karagenan (KK), doku mühendisliği uygulamaları için potansiyel bir aday olan glikozaminoglikanın (GAG) yapısına yakın benzerliği sebebiyle dikkat çekmektedir [25,26]. KK, denizlerdeki kırmızı alglerden elde edilen bir polisakkarit Olup polimer zincirlerinin tekrar eden birimleri α-(1–3)-D-galaktoz-4-sülfat ve β-(1-4)-3,6-anhidro-D-galaktoz arasında değişmektedir [27]. Bununla birlikte, genellikle KK bazlı hidrojellerin zayıf mekanik performans sergilemesi KK'nın uygulamalarını son derece sınırlı hale getirmiştir. Bu eksikliklerin üstesinden gelmek için KK üzerindeki sülfat grupları, potasyum klorür (KCl) varlığında iyonik etkileşimler yoluyla mekanik mukavemeti ve sertliği arttırarak çapraz bağlanabilir [28–30]. Khademhosseini ve arkadaşları doku mühendisliği kullanımlarını vurgulayarak fiziksel ve kimyasal olarak çapraz bağlanmış hidrojeller oluşturmak için KK omurgasında foto çapraz bağlanabilir metakrilat grupları oluşturmuşlardır. Metakrilasyon derecesi değiştirilerek, hidrojel çapraz bağlanması üzerindeki etkisi hidratasyon derecesi, çözünme profilleri, morfolojik, mekanik ve reolojik özellikler açısından araştırılmıştır. Ayrıca, foto çapraz bağlı hidrojellerin içinde kültürlenen fibroblast hücrelerinin yaşayabilirliği de incelenmiştir. Kimyasal ve fiziksel çapraz bağlama prosedürlerinin kombinasyonunun, kapsüllenmiş hücrelerin yaşayabilirliğini korurken çok yönlü fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip hidrojellerin oluşumunu desteklediğini göstermiştir. [25]. Bir diğer güncel çalışmada Özbaş ve grubu, foto çapraz bağlanabilir metakrilatlanmış jelatin (GelMa) ve KKM'dan oluşan hidrojellere antioksidan özellikli kuersetin molekülünü yükleyerek yara örtüsü uygulaması için karakterize etmişlerdir. Yara örtülerinin antioksidan aktivitesi, biyouyumluluğu, fibroblast hücre hattı üzerinde toksisite testleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, kuersetin içeren foto çapraz bağlı GelMA/KKM yara örtülerinin antioksidan aktivite sağladığını ve potansiyel yara örtüleri uygulamaları için kullanılabileceğini göstermiştir [31]. Literatür çalışmaları incelendiğinde KK'nın çeşitli biyomalzemelerle birlikte işlevselleştirilmesiyle doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan çeşitli yenilikçi

malzemelerin sentezlendiği görülmüştür [32–34]. Farklı bir çalışmada, Zhao ve arkadaşları, KK/Poliakrilik asit (PAA) hidrojellerinin tokluğunu, iyi biyouyumluluğunu ve biyolojik degradasyonunu arttırmak için elde edilen yeni KK/PAA ikili ağ hidrojelinin KK etkisini potansiyel doku mühendisliği uygulamaları için değerlendirmiştir [35].

Doktora tez çalışması kapsamında, yenilikçi HGM yaklaşımı kullanılarak kimyasal ve iyonik çapraz bağlama yoluyla şişme, bozunma ve dayanıklılık gibi fiziksel özellikleri iyileştirilmiş ve bilimsel literatürde daha önce hiç kullanılmamış yenilikçi supramoleküler hidrojellere dayanan ikili çapraz bağlı protein-polisakkarit hibrit hidrojelin başarılı sentezi bildirilmiştir. Bu amaçla, ECM'yi daha iyi taklit etmek için Ak-β-SD ve jelatinin fenilalanin, triptofan ve tirozin gibi aromatik kalıntıları arasındaki konak-konuk etkileşimini kullanarak kendi kendini iyileştiren, kayma incelmesi gösteren ve enjekte edilebilir hidrojeller geliştirilmiştir. Supramoleküler bağlanmanın mekanik özelliklerde azalmaya neden olmasının üstesinden gelmek için KK, KCl ile sülfat grubu aracılığıyla iyonik bağlanma ve metakrilat fonksiyonel grupları aracılığıyla UV çapraz bağlanmayı sağlayan bir polisakkarit olarak (ikinci bir biyopolimer omurgası) seçilmiştir. Kendi kendini iyileştiren hidrojelin mühendisliği için dikkate alınan temel gereksinimler, mekanik esneklik, kayma incelmesi, biyouyumluluk ve üstün terapötik hibrit yapı iskelesidir. Ek olarak, tez çalışmasında jelatin/KKM biyomalzemesinin kimyasal yapıya, şişme/degradasyon performansına, viskoelastik özelliklere, yüzey morfolojisine, reolojik karakteristiklere ve enjekte edilebilirliğe nasıl katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin sitotoksisitesi, (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyltetrazolium bromide'in formazan kristallerine indirgenme testi (MTT) ile doğrulanmış olup yara iyileştirme etkisi, çizik testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Özet olarak, doktora tez çalışması kapsamında kendi kendini iyileştirme yeteneğine sahip, enjekte edilebilir, doğal olarak elde edilen protein-polisakkarit hibrit yapılı yenilikçi supramoleküler hidrojeller sentezlenerek yara iyileşmesi ve doku onarımı alanında kullanılmak üzere üstün özelliklere sahip bir biyomalzeme literatüre kazandırılmıştır.

1.1. TEZİN BİLİMSEL LİTERATÜRE KATKISI

Biyomalzeme iskelelerin tasarımındaki en büyük zorluklardan biri, doğal dokulardaki hücre dışı matrisi (ECM) taklit etmek için yapı taşlarını değiştirmektir [36]. ECM'ler, hücreleri bir araya getiren, destekleyen ve doku yapılarını kontrol eden çeşitli amino asit ve şeker bazlı makromoleküllerin bir hücresel 3B ağından oluşmaktadır. Aynı zamanda, hücre fonksiyonunu

ve morfogenezini düzenleyerek besinlerin, metabolitlerin ve büyüme faktörlerinin difüzyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu bağlamda hidrojeller, ECM'de bulunan biyomakromoleküllere yapısal benzerlikler sağlayarak hücresel fonksiyonlardan yararlanıp oksijen, besin maddeleri ve diğer suda çözünür metabolitlerin geçirgenliği ve hücresel fonksiyonları güçlendirerek önemli bir rol oynamaktadır [20]. Jelatin ve polisakkaritlerin birleştirilmesi, üstün terapötik biyomalzemeler geliştirmek için umut verici olduğundan tez çalışmasında yenilikçi malzeme olarak jelatin/kappa-karagenan hibrit doğal hidrojel terapötikler tercih edilmiştir.

Son yıllarda, doğal polisakkaritler ve proteinler gibi biyolojik makromoleküller, hidrojellerin biyouyumluluğunu, biyobozunurluğunu ve hücre desteğini geliştirmek için iyi bir seçim olarak öne çıkmıştır. Polisakkaritler doğası gereği zengindir, iyi bir biyouyumluluğa sahiptir, biyolojik olarak parçalanabilirdir, bozunma ürünleri toksik değildir, insan vücuduna zararsızdır, insan vücudu tarafından kolayca metabolize edilir ve hatta insan vücudu tarafından besin olarak emilebilmektedir. Bu nedenle polisakkaritlerden yapılan hidrojeller, yenilenebilir malzemelerin yerine yaygın olarak kullanılmaktadır [37].

Doktora tez çalışmasında mekanik özelliklerin iyileştirilmesi ve hücre kültür çalışmalarında ECM'yi daha iyi mimikleyebilmesi için özgün değer olarak protein-polisakkarit yapılı jelatin-metakrilatlanmış kappa-karagenan biyomalzemelerin hibrit olarak kullanılması önerilmiştir. Ayrıca mekanik dayanımın arttırılması ve kimyasal kararlılığın sağlanabilmesi için KCl ile fiziksel çapraz bağlanmanın etkisi araştırılmıştır. Bu sayede sentezlenecek hidrojeller için hem fiziksel hem de kimyasal olarak bağlı yani ikili çapraz bağlanma platformu oluşturulmuştur. Hem KCl ile iyonik bağlar yardımıyla fiziksel çapraz bağlanma hem de foto başlatıcı yardımıyla KKM yapısındaki metakrilat gruplarının UV kürlemesi ile kimyasal çapraz bağlanması gerçekleştirilmiştir. Konak-konuk supramoleküler hibrit hidrojellerin ikili çapraz bağlı etkileşimi doktora tez çalışmasının diğer bir özgün değerini oluşturmaktadır.

Daha önce doku mühendisliği uygulamalarında bu iki polimerin (jelatin-metakrilatlanmış kappa-karagenan) birlikte çalışılmaması ve konak-konuk etkileşim yönteminin bu iki polimer üzerinde ikili çapraz bağ etkisinin denenmemesi çalışmayı özgün bir noktaya taşımakta olup tez çalışması sonunda literatüre mekanik direnci yüksek, enjekte edilebilir, protein-polisakkarit yapısında ve hidrofilik-hidrofobik grupları içeren, son derece biyouyumlu ve yenilikçi iki doğal hibrit polimer katkısı yapılmıştır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. FONKSİYONEL POLİMERLERİN BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI

Fonksiyonel polimerler, akıllı ilaç dağıtımı, hastalık tespiti/teşhisi, biyo algılama, rejeneratif tıp ve hastalık tedavisi gibi birçok biyomedikal alanda umut verici uygulamalar için kapsamlı bir şekilde geliştirilmiştir [38]. Akıllı polimerik taşıyıcıların tasarımı, spesifik lezyonlarda harici veya içsel uyaranlara yanıt verme yeteneği sağlayabilmekte olup lezyon bölgelerinde kesin ve hedeflenen lokalizasyon elde edebilmekte ve gelişmiş terapötik etkinlik için hastalıklı hücreler içinde yüklerin uyarana bağlı salınımını sağlayabilmektedir [39,40].

Polimerik malzemeler, kontrol edilebilen mekanik ve fiziksel özellikleri, çeşitli şekillerde üretilebilirlikleri, sterilizasyon kabiliyetleri nedeniyle diş/kemik malzemeleri, implantlar, yara pansuman malzemeleri, protez malzemeleri, ilaç taşıyıcılar ve doku mühendisliği yapı iskeleleri gibi biyomedikal alanda yaygın olarak uygulanmaktadır [41]. Polimerlerin, kolay işlenebilme, hafiflik ve yumuşaklık, ağırlığa karşı yüksek dayanıklılık, bulunabilirlik ve geri dönüştürülebilirlik gibi özellikleri önemli avantajlar sağlamaktadır [42]. Doğada kendiliğinden parçalanabilir polimerler olan biyomalzemeler sınıfı, daha çok kozmetik ve biyomedikal uygulamalarda nano-taşıyıcılar veya doku mühendisliği yapı iskeleleri olarak kullanılmaktadır [43].

Polimerler, kaynaklarına göre doğal polimerler ve sentetik polimerler olarak sınıflandırılmaktadır [44,45]. Bu iki tür polimer arasındaki temel fark kimyasal yapıdan kaynaklanmakladır [46]. Genellikle birçok doğal polimer (örneğin, proteinler, polisakkaritler), biyolojik işlevlerini belirleyen birincil yapılarına bağlı olarak karmaşık şekillerde kendiliğinden kompakt şekillere katlanmaktadır. Bunun yerine, çoğu sentetik polimer (örneğin, polyesterler, polietilen glikol, polikarbonatlar vb.) daha basit, daha rastgele yapılara sahiptir. Sentetik polimerler söz konusu olduğunda işlenebilirlik kolay olsa da bu sentetik polimerlerin ana dezavantajı, çoğu durumda biyouyumluluk eksikliği ve dolayısıyla kullanımları sırasında sıklıkla inflamatuar reaksiyonlara neden olabilmeleridir. Bu sorun, doğal polimerlerin kullanılmasıyla aşılabilmektedir. Örneğin, jelatin, kitosan, karragenan ve aljinat gibi doğal polimerler, doku rejenerasyonu ve ilaç verme sistemleri gibi biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır[47]. Doğal polimerler genellikle biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik birimlerle (örneğin, hücreler ve dokular) iyi etkileşime girerlerken sınırlı mekanik özellikler, kontrolsüz bozunma ve olası immünojeniklik gibi in-vivo uygulamaları büyük

ölçüde sınırlayan bazı dezavantajları vardır. Aksine, sentetik polimerler bileşim, yapı, mekanik özellikler ve bozunma davranışı açısından iyi kontrol edilebilirlik sergilemektedirler [48,49]. Bu nedenle, biyomedikal alanlarda kullanılacak malzemelerde doğal ve sentetik polimerlerin avantajlarına tam anlamıyla yer verilmesi büyük önem taşımaktadır [50].

Biyomedikal uygulamalarda, insan vücudu ile doğrudan etkileşim halinde oldukları için malzemelerin güvenlik düzeyi önemlidir. Toksik olmamalı, biyolojik olarak parçalanabilir, biyouyumlu olmalı ve kullanım alanlarına özgü spesifikasyonları karşılamalıdır. Bunların yanı sıra süper hidrofobiklik, yapışma, kendi kendini iyileştirme, antioksidan ve anti-inflamatuar aktiviteler ile immün yanıtların düzenlenmesi de çok önemlidir [51]. Biyomedikal uygulamalardan en önemlileri, biyomedikal enstrümantasyon ve biyosensörler, tıbbi görüntüleme sistemleri, biyomedikal sinyal işleme, biyomedikal görüntü işleme, biyomalzeme, biyomekanik ve yapay organlar şeklinde sıralanabilmektedirler [52].

Doku mühendisliğinde, rejeneratif tıp, gen terapisi ve kontrollü ilaç dağıtımı dahil olmak üzere yeni biyomedikal teknolojilerin hızla gelişmesine bağlı olarak bu alanların özel gereksinimlerini karşılamak için yeni malzemeler geliştirilmesi önem taşımaktadır [53]. Son yıllarda doku mühendisliği, yaralanan/hasar gören parçaları onarmak veya değiştirmek ve böylece işlevlerini eski haline getirmek için disiplinler arası benzersiz bir alan olarak gelişmiştir. Polimerler, düşük maliyet, yüksek biyouyumluluk, çözelti içinde çözünme yeteneği, çeşitli ticari formlarda kolay bulunabilirlik ve ince filmler yapma becerisi gibi ek özelliklerinden dolayı çok çeşitli biyosensörlerin ve diğer pek çok biyomalzemenin üretimi için immobilizasyon matrisi olarak tercih edilmektedir. Yeni polimer malzemelerle doku mühendisliği yaklaşımlarının, vücut bölümleri ve ilişkili patolojiler hakkında daha güçlü bir anlayış geliştirmek için yöntemler sağlayacağı umut edilmektedir [42].

2.2. DOKU MÜHENDİSLİĞİ

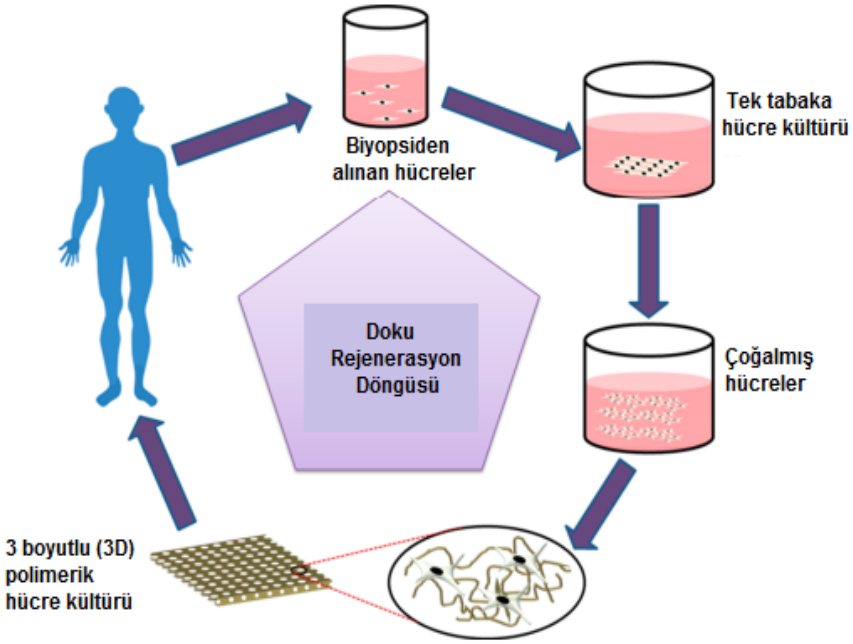
Doku mühendisliği, kusurlu dokuları onarma, iyileştirme veya yenisi ile değiştirme hedefiyle yönlendirilen oldukça disiplinler arası bir araştırma alanıdır [54]. Doku mühendisliği, biyolojik dokuları, biyomalzemeleri, biyoteknoloji ve klinik tıbbı kullanarak doğal dokuları yenilemeyi ve yeni dokular yaratmayı amaçlamaktadır [55]. Doku mühendisliğinin temel hedefleri, hasarlı dokuların yenilenmesi için yöntemler geliştirmek ve hastalık araştırmaları için doku benzeri modeller oluşturmaktır. Bu yaklaşım, uygun doku ve/veya organ modelini ortaya koyarak

yenileyici tıp alanında uygulama bulabilmektedir. Doku mühendisliği, hücre dışı matrisi taklit eden yapay hücresel yapı iskelelerinin inşa edilmesi, bu organizmaların in-vivo olarak dokunun yenilenmesi gereken bölgeye nakledilmesi ve organizmaların in-vitro rekonstrüksiyonu da sağlayan rejeneratif bir tekniktir. Doku mühendisliği malzemeleri ayrıca toksik olmayan, biyolojik olarak uyumlu ve uygun mekanik özelliklere sahip bir arayüz görevini yerine getirmektedir [56].

Son yıllarda deri, yara, kemik-kıkırdak, kalp-damar, solunum sistemi, karaciğer ve kas gibi birçok doku/organa yönelik çok fazla sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Bu noktada Langer ve Vacanti 1993 yılında doku mühendisliği ile ilgili 3 temel strateji ortaya koymuştur. Bunlar;

1) Uygulama için elverişli iskele yapısına ekilecek hücreler,
2) Doku uyarıcı maddeler, sitokinler gibi biyosinyal moleküller ve
3) Uygulama alanına yönelik 3 boyutlu (3B) kültür ortamı oluşturan ve biyomalzeme olarak kullanılan yapı iskeleleridir [57].

Yukarıda bahsedildiği gibi doku mühendisliği için hücre, yapı iskelesi ve büyüme faktörü üç anahtar etmendir. Hücre, yeni doku matrislerini sentezlerken; iskele, hücrelerin görevlerini etkin bir şekilde yerine getirebilmeleri için uygun ortamı sağlamaktadır. Büyüme faktörlerinin işlevi ise hücrelerin yeni doku oluşturmasını kolaylaştırmaktır [58]. Çeşitli doku türlerini yenilemek için çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen hücre kaynağı, yapı iskelesi oluşumu, hücre tohumlaması, kültür ortamı, matris üretim analizi, hücre-iskele yapısının mekanik özellikleri, uygun hayvan modelleri dahil olmak üzere bu yenileyici programda hala birçok kritik faktör bulunmaktadır [59,60]. Ancak gelecekte küçük bir biyopsi ile hastanın hücrelerini izole etmek, kültürdeki hücre sayısını genişletmek, hücreleri üç boyutlu bir iskeleye yerleştirmek ve aynı hastaya implantasyonu doku mühendisliği çalışmaları kapsamında mümkün olabilecektir [59]. Doku mühendisliği için temel kavram prosedürleri **Şekil 2.1**'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Doku mühendisliği için temel kavram prosedürleri [61].

Son yıllarda, nakil, rejenerasyon veya hasarlı dokuların değiştirilmesi için doku ve organ elde etme ihtiyacı, nakledilen organların mevcudiyetine kıyasla çok daha önemli hale gelmiştir. Bu amaçla; biyomalzemeler, biyoaktif destek molekülleri veya hücrelerin kombinasyonu kullanılarak in-vitro kültür veya in-vivo implantasyon yoluyla fonksiyonel ikameler geliştirilebilir [62].

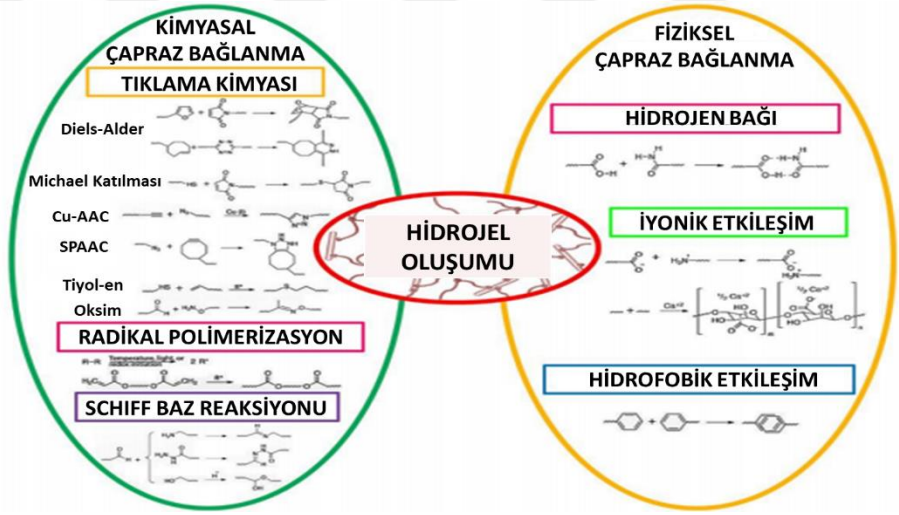
Doku mühendisliği umut verici bir strateji olarak görülse de ilerlemesinin önündeki en önemli engellerden biri, iskele gelişimi için özel malzemelerin olmamasıdır [63]. Bu doğrultuda doku iskeleleri, hücrelerin kendi sistemlerine tohumlanmasını sağlayan çeşitli bileşikler kullanılarak ve boşlukların iç duvarlarına aktif maddelerin bağlanmasıyla sentezlenen biyomalzemeler olarak bilinmektedir. Doğal dokulara benzer mekanik ve kimyasal özelliklerinden dolayı, hidrojeller bu alan için yapı iskelesi olarak kullanılabilecek umut vaat eden malzemelerdir [64]. Polimer matris, çoğalma, yapışma ve hücre göçü kapasitesi sağlamakta olup söz konusu bu özellikler fonksiyonel doku gelişimi için gerekli temel özelliklerdir [65].

Son zamanlarda, hücrenin, ilaçların veya biyoaktif moleküllerin dahil edilmesi için çok sayıda hidrojel sınıfı geliştirilmiştir. Geliştirilen sistem, hücre ve dokuların iç veya dış ortamından gelen belirli tipteki uyaranlara özel olarak yanıt verebilmektedir [66]. Bu nedenle hidrojeller, yara iyileştirme, hücre tedavisi, yumuşak veya sert doku mühendisliği ve kontrollü ilaç salınımı gibi uygulamalarda kullanılan en uygun malzeme olarak kabul edilebilir [67]. Örneğin, hidrojeller yeterli mekanik güç sağlayabilir, böylece ECM'yi taklit ederek ağın biyolojik

aktivitesini geliştirebilir [68,69]. Hidrojeller, doğal hücresel mikro çevrenin birçok özelliğini simülasyon yetenekleri, doku mühendisliği ve rejeneratif tıpta uygulanmalarına izin vermeleri nedeniyle, bu eksikliğin üstesinden gelmek için kullanılan başlıca malzemeler arasındadır [69].

2.3. HİDROJELLER

Hidrojeller, kovalent bağlar, kovalent olmayan bağlar veya topolojik etkileşimlerle bir arada tutulan 3B bir ağda büyük miktarda suyu hareketsiz hale getiren yumuşak katı veya katı benzeri malzemeler olarak değerlendirilmektedir [70–73]. Çok çeşitli uygulamalar için popüler çalışmalar arasında bulunan hidrojeller son dönemde oldukça geniş kullanım alanına sahiptir. Hidrojel sentezinde kullanılan kimyasal ve fiziksel çapraz bağlama yöntemleri **Şekil 2.2**'de gösterilmiştir.



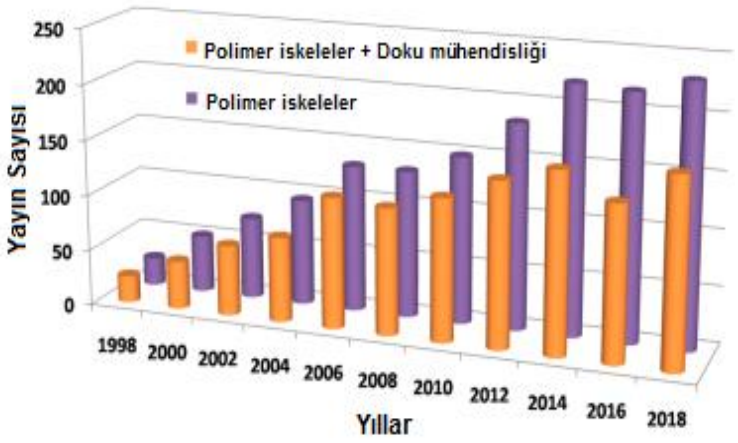
Şekil 2.2: Hidrojel sentezinde kullanılan kimyasal ve fiziksel çapraz bağlama yöntemleri [74].

Bu malzemeler, yumuşak arayüzlere veya nano ölçekli benzer biyolojik arayüzlere, yüksek su içeriğine ve hücre dışı matrise benzer fiziksel özelliklerin uyarlanmasına izin vermektedir. Ayrıca dış uyaranlara yanıt veren kompozisyon ve yapısal çok yönlülüğü nedeniyle biyoloji ve tıpta çeşitli uygulamalara hitap etmektedir. Biyomedikal alanlardaki hidrojel uygulamalarından bazıları; sensörler [75–77], aktüatörler [78,79], cihaz kaplamaları [80,81] yara örtüleri ve yapıştırıcılar [82–84], sıvı emici hijyen ürünleri [85], aktif bileşikler veya hücreler için iletim araçları [86,87], yumuşak kontakt lensler [88], doku mühendisliği ve rejeneratif tıptaki matrisler ve implantları [89,90], şeklindedir.

Hidrojeller, doğal polisakkaritler [91–93], proteinler [94–98] veya sentetik polimerlerden [99–101] hazırlanabilmekte ve sulu çözeltilere yerleştirildiklerinde büyük miktarda şişerek su

tutabilmektedirler [102–104]. İskele oluşturmak için matris olarak test edilen hidrojeller, in-vitro ve in-vivo çalışmalarda yara iyileşmesi için büyük umut vadetmekte ve hücre büyümesi için son derece arzu edilen 3B ortamlar sağlamaktadırlar [105,106]. Çeşitli çalışmalarda 3B hidrojeller, matris içine dağıtılırken doku oluşumunu katalize etmek için hücreleri kullanmaktadırlar. 3B kültür sistemlerinin kullanılması, hücreler için uygun bir oyuk, iskele ve biyoaktif sinyaller sağlamaya imkan sağlamaktadır. Ayrıca hidrojeller fiziksel yapılarına ve kimyasal bileşimlerine bağlı olarak doğal hücre dışı matrisi ile bileşimsel ve mekanik benzerliği koruyabilmektedirler [107–109]. Bu 3B ağ yapıları hücre cevabının farklılaşmasını ve fonksiyonel doku rejenerasyonunu kontrol etmek için kullanılmaktadır [110–113]. Birçok uygulamada hidrojellerin seçilmesinin önemli bir nedeni de kolaylıkla enjekte edilebilir forma getirilebilir olmalarıdır. Enjekte edilebilirlik, invaziv olmayan bir yaklaşım olduğundan katı iskelelere göre daha avantajlıdır. Enjekte edilebilir hidrojeller herhangi bir şekil kusurunu doldurabilir ve jelleşmeden önce herhangi bir kusur boyutu veya şekli içinde homojen bir hücre dağılımı sağlayabilmektedirler [114–116]. Son yıllarda, ipek [117], resilin [118], kitosan [119], kondroitin sülfat [120], hiyalüronik asit [121] kappa karagenan [122–124], jelatin [125], agaroz, aljinat [126] poli(vinil alkol) (PVA), poli(akrilik asit) [127], akrilamid [128] gibi çeşitli doğal ve sentetik olarak türetilmiş malzemeler ve diğerleri çeşitli uygulamalarda enjekte edilebilir hidrojel oluşturmak için kullanılmaktadır.

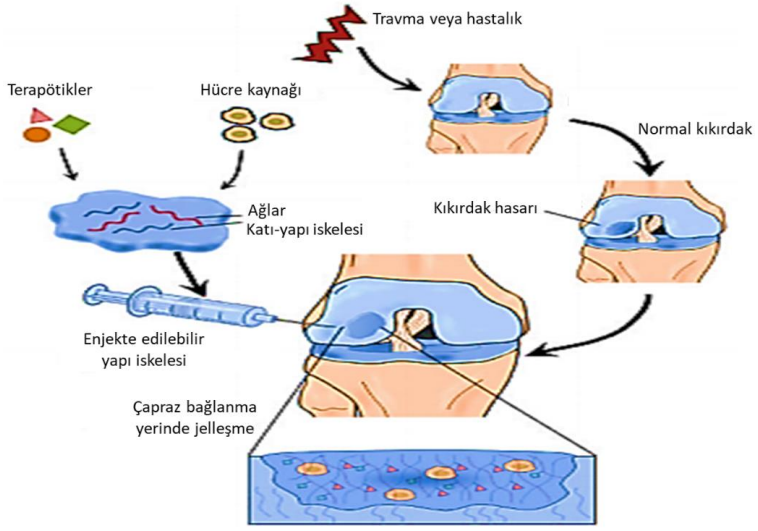
Hasarlı dokular için travma sonrası kazalarda otolog doku veya donör uyuşması her zaman mümkün değildir. Bu durumun çözümünde bir polimer iskele, dokuyu geri yükleyerek ve dokuların hızlandırılmış iyileşmesi için uygun ortamı koruyarak hastanın hayatını kurtarmada önemli bir rol oynayabilmektedir. Bu nedenle, son yıllarda araştırmacılar, insan vücudunun yanı sıra doku ile oldukça uyumlu, aynı zamanda doku iletimi için yararlı olan ve güvenli tedavi ile yaşam beklentisini arttırarak hücre yapışmasını ve çoğalmasını destekleyen malzemelere odaklanmışlardır [61]. Hidrojeller, doku mühendisliği uygulamalarında, polimer yapı iskeleleri, yara örtüsü [129,130] ve ilaç taşınımı [61] için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu iskeleler doğal polimer esaslı olabildiği gibi biyobozunur sentetik esaslı polimer yapılarda olabilmektedir. 1998-2018 yılları aralığında yayın sayısını gösteren literatür verilerinin grafiksel gösterimi **Şekil 2.3**'te sunulmuştur.



Şekil 2.3: 1998-2018 yılları aralığında yayın sayısını gösteren literatür verilerinin grafiksel gösterimi [61].

2.3.1. Enjekte Edilebilir Hidrojeller

Enjekte edilebilir malzemeler, bir dokuya doğrudan enjeksiyon yoluyla veya kataterler yoluyla minimal invaziv bir şekilde yerleştirilebildikleri için önemli hale gelmişlerdir [131]. Son yıllarda hidrojeller, ilaçların/hücrelerin verilmesi, doku onarımını/rejenerasyonu sağlaması, biyo-yapışmayı ve bağışıklık regülasyonunu desteklemesi gibi çeşitli klinik talepleri karşılayabilecek en umut verici enjekte edilebilir biyomalzemelerden biri olarak öne çıkmıştır [132]. Kıkırdak yenilenmesi için enjekte edilebilir yapı iskelelerinin uygulanmasının şematik gösterimi **Şekil 2.4**'te gösterilmiştir.

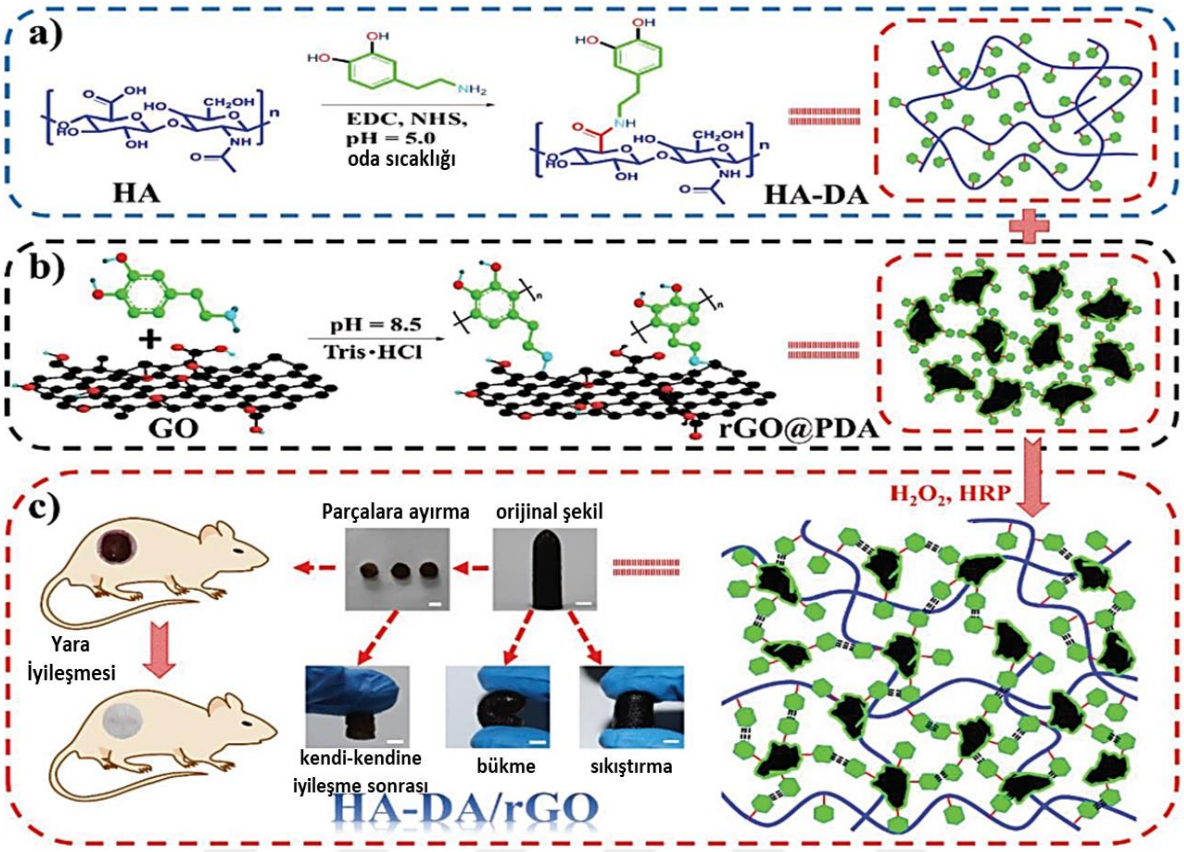


Şekil 2.4: Kıkırdak yenilenmesi için enjekte edilebilir yapı iskelelerinin uygulanmasının şematik gösterimi [133].

Enjekte edilebilir malzemelerin oluşumu için başlatılmış veya otonom polimerizasyon yoluyla yerinde jelleşme veya ilave çapraz bağlama dahil olmak üzere birçok yöntem bulunmaktadır. Bununla birlikte, jelasyon kinetiğine dayanan bu tür sistemlerde tıkanmaya yol açabilme, enjeksiyon sırasında malzemenin homojen dağılmaması vb. problemler meydana gelmektedir. Alternatif olarak konak-konuk hidrojeller enjeksiyondan önce oluşturulabilmekte ve kayma ile indüklenen akış yoluyla ekstrüde edilebilmektedirler. Çok sayıda supramoleküler hidrojel için kayma inceltici özellikler, kırılabilen ve daha sonra yeniden şekillendirilebilen dinamik bağları nedeniyle ilgi çekici bir özellik oluşturmaktadır [134].

Tasarlanmış biyomalzemeler tarafından sağlanan enjekte edilebilir terapötikler daha popüler hale gelmiş ve geleneksel klinik uygulamayı minimal invaziv ve rejeneratif bir rejim haline dönüştürmüştür. Önceden oluşturulmuş biyo ürünlere göre enjekte edilebilir biyomalzemeler, derin kapalı anatomik bölgelere daha hassas implantasyona izin vererek düzensiz şekilli lezyonların onarılması için büyük translasyon potansiyeli göstermektedir [135]. Sürekli ortaya çıkan klinik ihtiyaçlar ve malzeme bilimindeki ilerlemeler enjekte edilebilir biyomalzemelerde yapısal dolgulardan çok işlevli platformlara bir evrim oluşturmuştur [136]. Bu sebeple, yara iyileşmesi ve rejenerasyonu için enjekte edilebilir hidrojellerin kullanımı yüksek klinik etkiye sahiptir. Yara onarımı için enjekte edilebilir tedavilerin avantajları, implantın sadece kusur içinde muhafaza edilmesi, neredeyse anında elde edilen ve etkili olan iyileştirici özelliği ile kolay uygulanabilir olmalarıdır. Ek olarak, enjekte edilebilir tedavilerin genel bir avantajı da açık cerrahiyle karşılaştırıldığında minimal invaziv cerrahinin kullanılmasıdır. Bu nedenle, enjekte edilebilir hidrojeller yara iyileşmesi ve rejenerasyonu alanındaki birçok çalışmaya konu olmuştur [137–141].

Cilt yara rejenerasyonunu geliştirmek için doku yapışkanlığı, antibakteriyel/radikal temizleme yeteneği ve iyi mekanik özellik dahil olmak üzere çok işlevli enjekte edilebilir hidrojel örtülerin geliştirilmesi, klinik uygulamalarda oldukça talep edilmektedir. Liang ve arkadaşları yara örtü malzemesi olarak hiyalüronik asit-graft-dopamin (HA-DA) ve indirgenmiş grafen oksit (rGO)'in katekol grupları ile yabanturpu peroksidazı (H2O2/HPR) arasında enzimatik çapraz bağlanma reaksiyonu ile yapışkan, hemostatik, antioksidan, iletken, foto-termal ve antibakteriyel özelliklere sahip hidrojel sentezlemişlerdir [142]. Yara iyileşmesi için HA-DA/rGO hidrojellerini geliştirmeye yönelik genel strateji **Şekil 2.5**'te gösterilmiştir.



Şekil 2.5: HA-DA/rGO Hidrojel Hazırlamasının Şematik Çizimi. a) HA-DA polimerinin hazırlama b) rGO@PDA ve c) HA-DA/rGO hidrojelinin şeması ve orijinal, bükme, sıkıştırma, kendi kendini iyileştirme temsili ve yara iyileşmesindeki uygulama görseli, ölçek çubuğu: 5 mm, EDC: etil (dimetilamino propil) karbodiimid, NHS: N-hidroksisüksinimit, Tris.HCl: Tris(hidroksimetil)aminometan hidroklorür [142].

Bu hidrojeller, yüksek in-vitro şişme, istenen degradasyon, ayarlanabilir reolojik özellikler, üstün sıkıştırılabilirlik ve gerilme özellikleri sergilemiştir. Ayrıca, hidrojeller polidopaminle (PDA) donatılmış antioksidan aktivitesi, doku yapışkanlığı, hemostatik ve kendi kendini iyileştirme yeteneği, iletkenlik ile geliştirilmiş in-vivo antibakteriyel davranış sergilemişlerdir. Dahası bir tetrasiklin antibiyotik grubu olan doksisiklin ilacı yapıya yüklenmiş ve on günden fazla ilaç salım çalışması gerçekleştirilerek elde edilen sonuçlarda hidrojellerin sürekli salım kapasitesi gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca, hidrojel yara örtüleri, CD31 proteininin büyüme faktörü ekspresyonunu düzenleyerek vaskülarizasyonu önemli ölçüde arttırmış olup granülasyon dokusu kalınlığını ve kolajen birikimini iyileştirmiş; bunların tümü, yara kapanmasını desteklemiş ve yara modeli için daha iyi bir terapötik etkiye katkıda bulunmuştur. Ek olarak, hidrojelin kan ve biyouyumluluğunu göstermek için in-vitro testler gerçekleştirilmiştir. Bu hidrojellerin yara onarım modelinde teşvik edici etkilerini değerlendirmek için bir fare üzerinde yara kapanması, kolajen metabolizması, histomorfolojik incelemeler ve immünofloresan boyama gibi testler gerçekleştirilmiştir. Tüm bu sonuçlar, çok

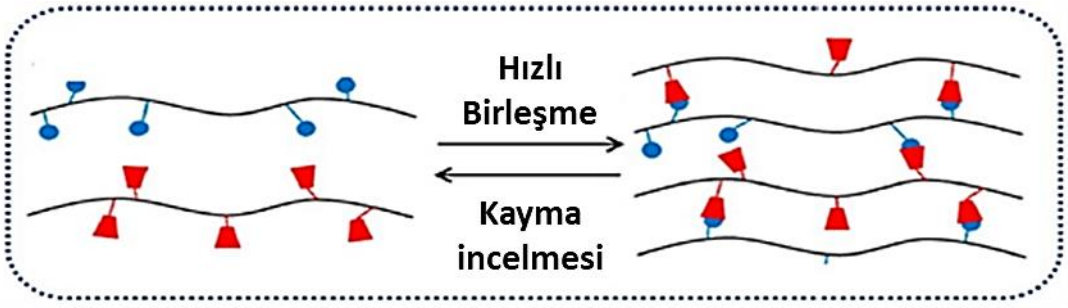
işlevli hidrojelin sürekli ilaç salım taşıyıcıları ve yara iyileşme örtüleri olarak ideal adaylar olduğunu göstermiştir [142].

Bir diğer çalışmada, Sohail ve grubu biyopolimer bazlı enjekte edilebilir hidrojelin, yara bölgesinde bol miktarda besin sağlayarak ve yarayı enfeksiyonlardan koruyarak yara iyileşme sürecini hızlandırmasının doku rejenerasyonunu uyarabileceği ve yara kapanma sürecini destekleyebileceği hipotezini açıklamaya çalışmışlardır. Bu sebeple, doku rejenerasyon özelliklerine sahip yeni bir biyopolimer kompozit, hiyalüronik asit ve kappa-karagenandan oluşan enjekte edilebilir bir hidrojel üretmişler ve geniş bir antibakteriyel özellik yelpazesine sahip meropenem model ilaç olarak yapıya yüklemişlerdir. Tüm geleneksel yaklaşımlar arasında polisakkaritlerden oluşan biyoaktif polimer bazlı ısıya duyarlı hidrojellerin, cesaret verici yara iyileştirme etkinlikleri ortaya koyulmuştur [143]. Hiyalüronik asit ve kappa-karragenan'ın kendi kendine montajı ve üretilen enjekte edilebilir hidrojelin termal stabilitesi ayarlanabilir jelleşme özelliklerine sahiptir. Viskozite sonuçları değerlendirildiğinde, hidrojellerin çeşitli sıcaklıklarda yerinde jelleşme kabiliyetini ve enjekte edilebilirliğini göstermiştir. Üretilen hidrojele model ilaç olarak meropenem yüklenmiş, 24 saat sonunda, pH'ı 7,4 olan fosfat tamponlu çözeltisi içinde hidrojelden ilaç salınımının %96,1 iken pH'ı 6,8 olan simüle yara sıvısında salım değerinin %94,7'e ulaştığı tespit edilmiştir. P. aeruginosa, S. aureus ve E. coli üzerinde antibakteriyel çalışmalar meropenem yüklü hidrojel ile daha yüksek inhibisyon bölgeleri oluştuğunu göstermiştir. Sıçanlarda yapılan in-vivo çalışmalar, ilaç yüklü enjekte edilebilir hidrojel ile on dört gün sonunda hızlandırılmış iyileşme göstermiştir. İlaç yüksüz enjekte edilebilir hidrojelde %90, pozitif kontrol grubunda (meropenem ilacı) %70 ve negatif kontrol grubunda %60 (normal fosfat tampon çözeltisi) oranında yara kapanması gerçekleşmiştir. Yerinde enjekte edilebilir hidrojel sistemi, kendi kendine iyileşme sağladığı, nemli bir yara mikro ortamını koruduğu ve iyi antibakteriyel özellikler sunduğu için hızlı kronik yara tedavisi ve yönetiminde geniş bir biyomedikal uygulama yelpazesi sunmaktadır [144].

2.3.2. Kayma İncelmesi (Shear-Thinning) Mekanizması

Enjekte edilebilirlik, malzemenin kayma incelmesi (shear-thinning) gösterme kabiliyetinden kaynaklanmaktadır. Kayma incelmesi özelliğine sahip olan malzemeler, enjeksiyon işlemi sırasında hızın artmasıyla akışa izin verirken viskozitede bir azalma sergilemektedir. Supramoleküler malzemelerin çoğunluğu için durum böyle olup yapının oluşumuna imkan veren fiziksel bağlar geçici olarak kopmaktadır. Bununla birlikte, bağ oluşumunun kinetiği hidrojellerin kayma tepkisi için önem taşımaktadır [145]. Konak-konuk kompleksine dayanan

tersinir çapraz bağlar içeren hidrojelin hızlı bir şekilde birleştirilmesinin ve kayma-incelmesinin şematik gösterimi **Şekil 2.6**'da verilmiştir.



Şekil 2.6: Konak-konuk kompleksine dayanan tersinir çapraz bağlar içeren hidrojelin hızlı bir şekilde birleştirilmesinin ve kayma-incelmesinin şematik gösterimi [145].

Kayma incelmesi gösteren hidrojeller yerinde jelasyon hidrojellerinden farklı olarak fiziksel çapraz bağlantılarının tersinir doğası nedeniyle benzersiz bir kayma özelliğine bağlı olarak geri dönüşümlü "jel-sol" geçişi sergilemektedir [146]. Bu nedenle, kayma inceltici hidrojeller, enjeksiyon sırasında oluşan yüksek kayma gerilimi altında "jel-sol" geçişiyle önceden üretilmiş bir "jel" formunda enjekte edilebilirken, yüksek kayma gerilmesinin kaldırılmasıyla iğne ucundan çıktıktan hemen sonra "jel" formuna geri dönebilmektedir [136].

Kayma incelmesi gösteren hidrojeller "önce jelasyon ve daha sonra enjeksiyon" özelliği içeren birkaç önemli avantaj sunmaktadır: Bunlar; (1) bakım noktasında kullanım kolaylığı, (2) jelasyon kinetiğinin optimizasyonunun atlatılması, (3) enjeksiyon cihazından çıktıktan sonra anlık "sol-jel" geçişinden kaynaklanan sızıntının en aza indirilmesi; (4) fiziksel çapraz bağların dinamik doğası nedeniyle enjekte edilen hidrojellerin enjeksiyon bölgesinin karmaşık geometrilerine verimli bir şekilde uyarlanması; (5) hidrojel içerisindeki ilaçları ve hücreleri önceden yükleme yeteneği ile (6) biyomimetik hücre-hidrojel etkileşimlerini ve ilişkili hücresel davranışları destekleyebilen dinamik bir 3B matris oluşumu, şeklindedir [136].

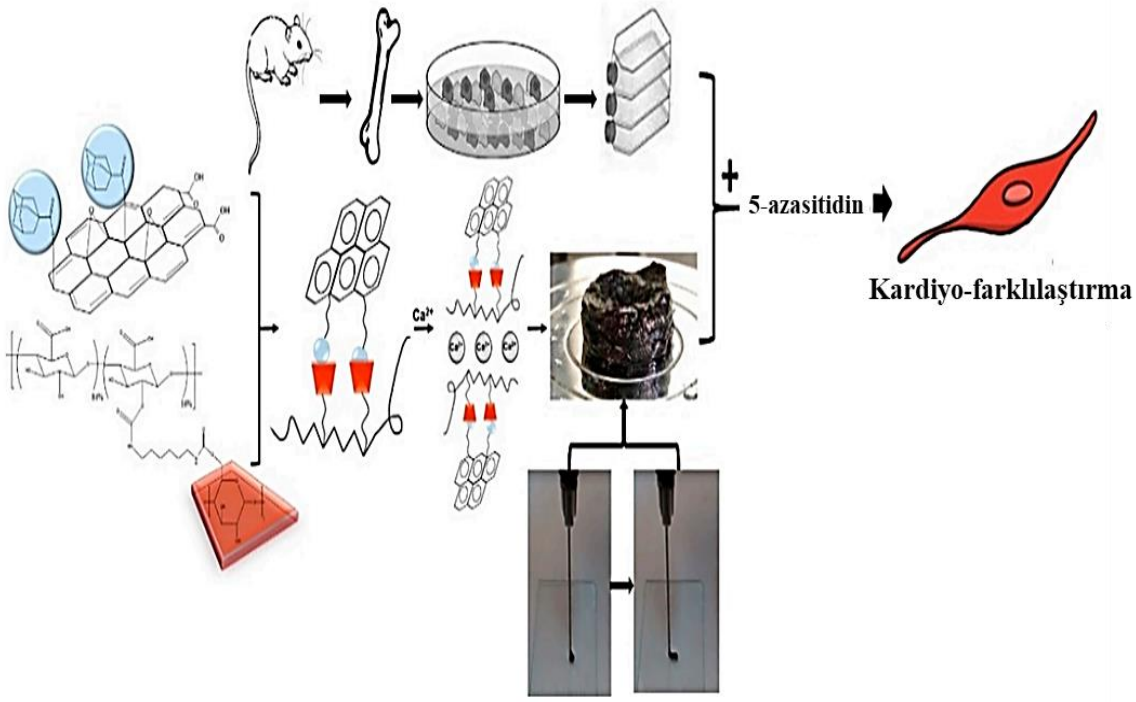
Literatürde yer alan önceki çalışmalar, kayma-incelmesi gösteren enjekte edilebilir hidrojellerin, yük etkileşimleri [147,148], hidrojen bağı [149–151], biyomakromoleküller (örn., peptit, proteinler) etkileşimleri [152,153], dinamik kovalent bağlar [154,155], iyonik etkileşimler [156], konak-konuk kompleksleri [145,157–162], polimer-nanoparçacık etkileşimleri [163], hidrofobik etkileşimler [164] ve ligand-iyon koordinasyonu [165,166] dahil olmak üzere bir dizi fiziksel etkileşime dayandığını göstermiştir. Konak-konuk etkileşimi ile enjekte edilebilir hidrojellerin üretiminde kayma-incelmesi özellikleri sergileyen çok sayıda sistem rapor edilmiştir. Tipik olarak bu sistemler, dolaşık β-tabaka zincirlerinin veya

mikrokristal alanların oluşumu da dahil olmak üzere küresel bir mimarinin birleşimini yürütmek için zayıf etkileşimlere dayanmaktadır. Bu hidrojeller, gerekli makro yapısal birleşimin bir sonucu olarak kayma incelmesi kuvveti ortadan kaldırıldığında genellikle dakikalar ile saatler arasında iyileşme süreleri sergilemektedir. Bu uzun süreler, enjekte edilebilir hidrojellerin uygulamalarını sınırlayabilmektedir; çünkü malzeme bileşenleri veya terapötik ajanlar, yeniden birleştirilmeden önce enjeksiyon bölgesinden difüze olabilmektedir. Buna karşılık, tamamlayıcı bağlanma motiflerinin doğrudan etkileşimine dayalı sistemler, gelişmiş iyileşme süreleri ve hatta bazı durumlarda başlangıç mekaniğinin hemen hemen geri kazanıldığını göstermiştir. Spesifik olarak, siklodekstrinler gibi konakçı makrosiklikler, spesifik hidrofobik konuk kısımlar için yüksek afiniteye sahip olan hidrofobik iç boşluklara sahiptir [167]. Supramoleküler birleşme için ise nano ve mikro parçacıklı ilaç taşıyıcıları gibi konak makrosikliklerin geliştirilmesine odaklanılmıştır.

Burdick ve grubu yaptıkları bir çalışmada, adamantan ile modifiye edilmiş hiyalüronik asit (HA) (konuk makromer; Ad-HA) ve β-siklodekstrin ile modifiye edilmiş HA'nın (konak makromer; CD:siklodekstrin) konuk-konak etkileşimlerine dayalı olarak kendi kendine birleşen HA hidrojellerinin sentezini ve karakterizasyonunu rapor etmişlerdir [168]. Ortaya çıkan konuk ve konak makromerlerin, moleküler yapı tarafından engellenemeyen bir bağlanma kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur. İki makromer bileşeninin sulu çözeltilerde basit bir şekilde karıştırılmasıyla bir hidrojel oluşumu gösterilmiştir ve elde edilen hidrojelin özellikleri, makromer konsantrasyonu, çapraz bağ yoğunluğu ve ağ mimarisine bağlıdır. Daha da önemlisi, incelenen tüm hidrojel formülasyonları, hidrojeli ve potansiyel terapötik yükünü enjeksiyon yerinde lokalize etmek için hızlı geri kazanımın yanı sıra enjeksiyon kolaylığı sağlamak için kayma incelmesi davranışı gösterebilmiştir. HA'nın konakçı siklodekstrin ve konuk adamantan ile modifikasyonu için seçilen reaksiyonlar basit ve doğrudan olup kontrollü fonksiyonlandırma ve ölçeklenebilir sentez potansiyeli ile istenen ürünlerle sonuçlanmıştır. Kısacası, konak-konuk etkileşimi ile geliştirilen hidrojel sistemi, ayarlanabilir mekanik özellikleri, ideale yakın akış ve geri kazanım karakteristikleri ve kontrollü uzun vadeli biyomolekül salınımı sağlayan kimyasal bozunmaya karşı olağanüstü kararlılığı nedenleriyle minimal invaziv enjekte edilebilir bir malzeme platformu olarak büyük potansiyel göstermiştir [168].

Konak-konuk etkileşimi ile enjekte edilebilir hidrojellerin üretiminde kayma-incelmesi özelliği gösteren bir diğer çalışma da Wang ve arkadaşları tarafından 2022 yılında gerçekleştirilmiştir [169] Bu çalışmada, kardiyak doku mühendisliği oldukça istenen kemik iliği kaynaklı

mezenkimal kök hücrelerin (MSC'ler) taşınması için enjekte edilebilir ve kayma incelmesi gösteren ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel geliştirilmiştir. İkili çapraz bağlı Aljinat-Grafen oksit (Alg-GO) hidrojel, adamantan ile modifiye edilmiş GO (konuk makromer; Ad-GO) ve β-siklodekstrin ile modifiye edilmiş Alg (konak makromer; AlgCD) arasındaki konuk-konakçı ile iyonik etkileşimler (Ca^{2+}) tarafından oluşturulmuştur. Çalışmada MSC'lerin farklılaşmasını modüle etmek için ikili çapraz bağlı Alg-GO hidrojel tercih edilerek kolayca erişilebilir oldukları ve yüksek vaskülarite gösterdikleri için sıçan MSC'leri kullanılmıştır. Nano hibrit hidrojeller, Ad-GO ve Alg-CD makromerleri arasındaki konak-konuk etkileşimleri **Şekil 2.7**'de sunulmuştur.



Şekil 2.7: Enjekte edilebilir kayma incelmesi gösteren Alg-GO hidrojel (konak-konuk ve ikili çapraz bağ etkileşimleri ile) yapı iskelelerinde MSC'lerin kardiyak miyositlere farklılaşmasının şematik gösterimi [169].

Çalışma sonuçları ikili çapraz bağlı Alg-GO hidrojelinin, hidrojel üzerinde tohumlanan fibroblast hücre çoğalmasını destekleyebileceğini göstermiştir. Öte yandan, ikili çapraz bağlı Alg-GO hidrojelinin kayma incelmesinin, infüzyon sırasında hücrelere verilen mekanik hasarları azalttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, immünositokimyasal deneyler sıçan MSC'lerinin enjekte edilebilir, kayma incelmesi özelliği gösteren konak-konuk etkileşimle

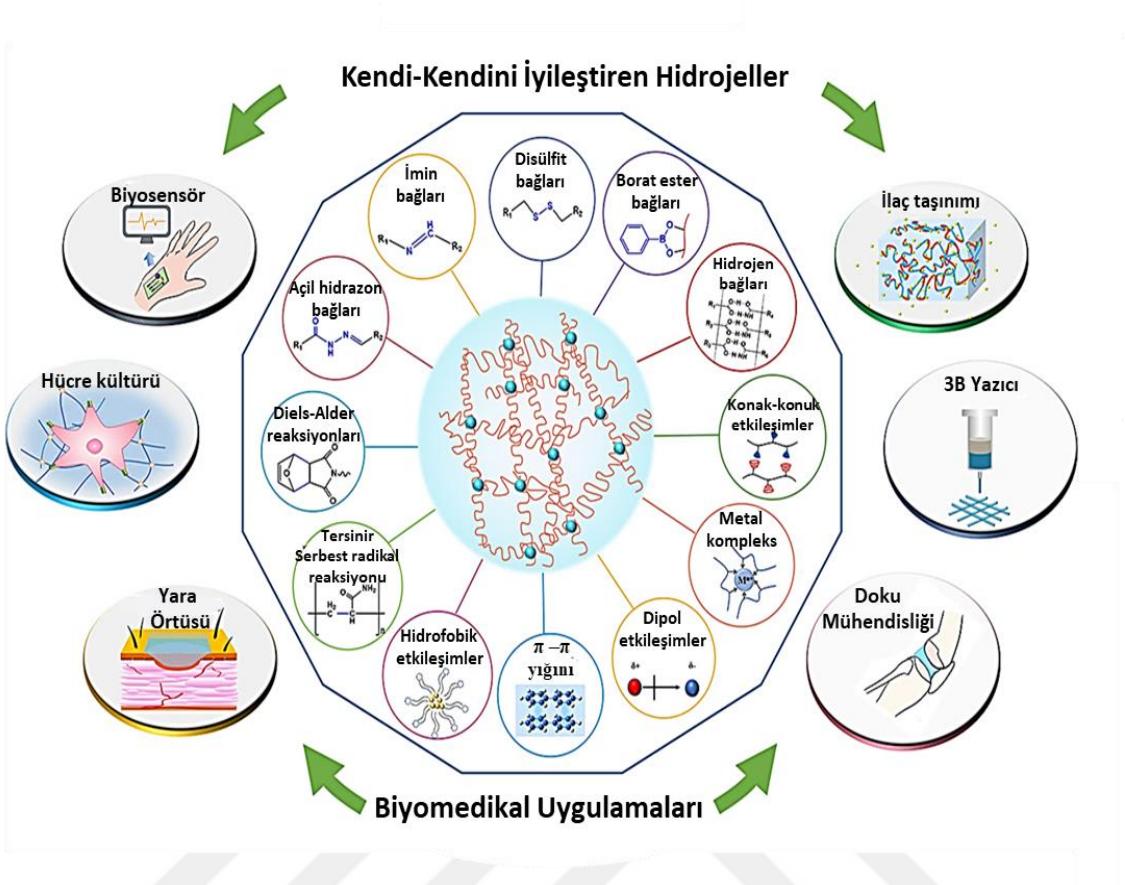
oluşturulmuş Alg-GO hidrojel yapı iskelelerini içeren kardiyomiyosit benzeri hücrelere farklılaşabileceğini göstermiştir [169].

2.3.3. Kendi Kendini İyileştiren (Self-Healing) Hidrojeller

"Kendi kendini iyileştirme" (Self-Healing) terimi, jellerin orijinal durumlarına geri döndüğü, deformasyon veya kırıktan sonra mekanik gücü tamamen veya kısmen geri kazandığı çeşitli yapı geri kazanım işlemlerini tarif etmek için kullanılmaktadır [170].

Geleneksel hidrojeller, sıcaklık veya pH gibi ortamdaki değişikliklere duyarlı olmayan bir hidrojel tipini ifade etmektedir. Hidrojel dış kuvvetler tarafından hasar gördüğünde kırılmakta ve kendi kendine onarılamamaktadır. Bu durum sadece hidrojelin kullanım ömrünü kısaltmakla ve hammadde tüketimini arttırmakla kalmaz, aynı zamanda değiştirme işlemi sırasında ikincil yara enfeksiyonuna neden olarak ağır vakalarda hayati tehlike oluşturabilmektedir. Bu nedenle, geleneksel hidrojellerin uygulaması sınırlı kalmaktadır [171]. Ek olarak, kalıcı çapraz bağlı hidrojel, hücre büyümesini ve çoğalmasını kısıtlayarak üremesine de engel olmaktadır. Ayrıca doku mühendisliği açısından değerlendirildiğinde, polimer çapraz bağların parçalanması ve yenilenmesi hücre büyümesine zarar verebilmektedir [172]. Tüm bu zorluklar uygun kimyasal modifikasyon yoluyla hidrojele kendi kendini iyileştirme özellikleri kazandırılarak aşılabilmektedir [173,174]. Hidrojel, hasar gördükten sonra parçalanmakta ve hasar giderildikten birkaç saniye ile birkaç saat sonra kısmen veya tamamen orijinal durumuna geri dönebilmektedir. Bu kendi kendini iyileştirme davranışı birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir [175]. Birçok çalışmada, mikro kapsüller gibi malzemelerin mikro gözenekli yapısına kendi kendini iyileştiren ajanlar yüklenmektedir. Malzeme hasar gördüğünde ve yırtıldığında, kendi kendini iyileştiren madde, hasarlı parçayı iyileştirmek için malzemeden salınmaktadır [176].

3B yazıcı, ilaç taşıyıcı sistemler, hücre kültürü ve yara örtü malzemesi olarak kullanılan birçok ticari ürün bulunmaktadır. Fakat bu malzemelerin çoğu tek kullanımlık olduğu için bir kez hasar gördüğünde kullanıma devam edilmesi zor olup doku yaralanmalarına, hatta ikincil yaralanmalara neden olabilmektedir. Hidrojellerin benzersiz kendi kendini iyileştirme özellikleri, bu tür sorunları etkili bir şekilde çözebilmektedir ve 3B yazıcı, ilaç taşıyıcı sistemler, hücre kültürü ve yara örtü malzemeleri gibi potansiyel uygulamalarda kullanılabilmektedirler [177]. Kendi kendini iyileştiren hidrojellerin kullanım alanlarına ait şematik **Şekil 2.8**'de sunulmuştur.



Şekil 2.8: Kendi Kendini İyileştiren Hidrojellerin Biyomedikal Uygulamalarına ait Şematik Gösterimi [177].

Liu ve arkadaşları kovalent olarak çapraz bağlı kappa-karagenan ve poliakrilamid (PAAm) ağı kullanarak, UV ışımasından sonra iyi mekanik özelliklere sahip yüksek düzeyde ölçeklenebilir, hibrit ikili ağ hidrojeli yazdırmak için 3B yazıcı mürekkebi kullanılmıştır. Hidrojele 5 V voltaj uygulandıktan sonra LED lamba başarıyla yanmıştır. Hidrojel kesildikten sonra LED lambası sönse de hidrojel kendi kendini iyileştirdikten sonra LED lamba tekrar yanmıştır [178,179].

Polisakkaritler, bir ilaç dağıtım taşıyıcısı olarak hücre dışı matrise benzer yapısal özelliklere sahip olup bu da ilaçların biyolojik bariyerlerden geçmesini kolaylaştırmaktadır. Kullanım sırasında, geleneksel hidrojeller dış kuvvetlerin etkisi altında kolayca deforme olduğundan kendi kendini iyileştiren hidrojeller bilim insanlarının giderek daha fazla ilgisini çekmektedir [180]. Kim ve ark. konak-konuk kompozit yoluyla çok işlevli hidrojel hazırlamak için bir taşıyıcı olarak azobenzen aşılanmış karboksimetil selüloz ve siklodekstrin dimer kullanmıştır. Çekme ve gerinim tarama deneylerinin sonuçları, hidrojelin kendi kendini iyileştirme yeteneğinin sırasıyla %79,4 ve %81,6'ya ulaştığını göstermiştir. Dış uyaran yokluğunda,

hidrojel içerisine yüklenen ilacın %40'ından daha azını salmış ve salım oranı, UV ve Ditiotreitol (DTT) uyaran varlığında 6 saat sonra yaklaşık %80'e ulaşmıştır [181].

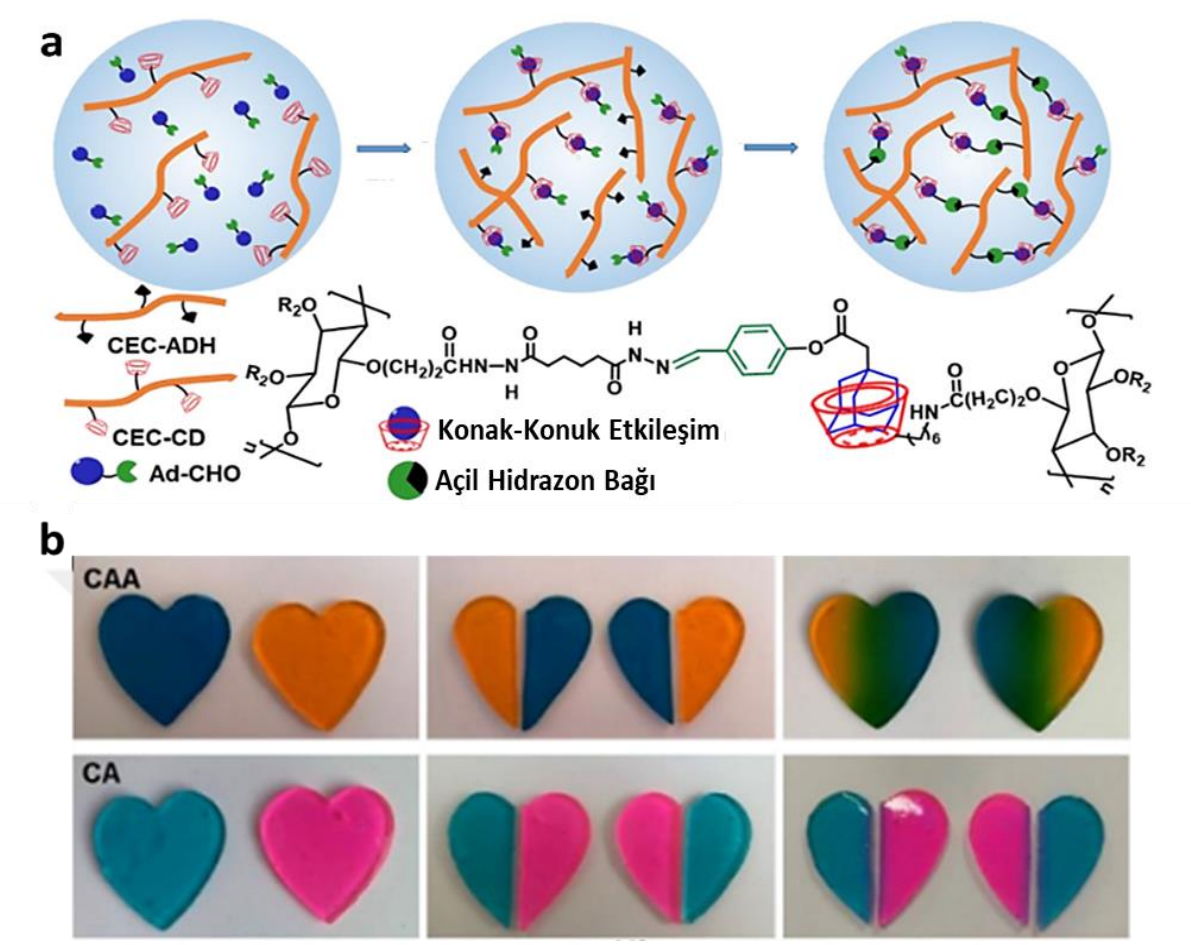
Bir diğer uygulamada, Boyer ve arkadaşları, hibrit yapılı iç içe geçen ağ oluşturmak için laponitler (XLG) ve hidroksipropil metilselüloz silikat (Si-HPMC) kullanarak hidrojel geliştirmiştir. Bu hidrojel, hücre uyumluluğu ve oksijen difüzyonu üzerinde herhangi bir yan etkiye sahip olmayıp in-vivo olarak kıkırdak doku oluşturma yeteneği taşıdığı raporlanmıştır [182].

Chen ve diğerleri, Schiff bazı reaksiyonuyla oksitlenmiş konjak glukomanan ve kitosan kullanarak enjekte edilebilir kendi kendini iyileştiren bir hidrojel tasarlayarak sentezlemişlerdir. Bu çalışmada, geliştirilen hidrojel enjekte edilebilir nitelikte olup Staphylococcus aureus ve Escherichia coli'nin inhibisyon oranları sırasıyla %96 ve %98 olarak bulunmuştur. Bu hidrojelin antibakteriyel özellikleri ve yara oluşumunu engelleme olasılığı antibakteriyel maddelere göre daha yüksektir. Bu hidrojelin dokuya yapışabilir ve kolda şişme olmaması yara iyileşmesi için uygun olduğunu göstermiştir. Hidrojellerin yapışma mukavemeti 2,3 ± 0,4 kPa ile 4,2 ± 0,6 kPa arasında değişmektedir, bu sonuçlar hidrojellerin yara kapatma ve iyileştirmede yapıştırıcı olarak potansiyel uygulamalara sahip olabileceğini düşündürmektedir. Reolojik analizler de bu sonucu doğrulamıştır. Hidrojelin kendi kendini iyileştirme özelliği üzerine yapılan çalışma, hidrojelin 4 saat içinde kendi kendini iyileştirdiğini göstermiştir [183].

Polisakkarit omurgası, dinamik kovalent bağlar/kovalent olmayan bağlar oluşturma reaksiyonuna doğrudan katılabilen çok sayıda grup içermektedir. Polisakkaritler, fizyolojik koşullar altında mükemmel biyolojik ve mükemmel mekanik özelliklere, iyi biyouyumluluğa ve güçlü yapışmaya sahip hidrojellerin gelişimine büyük katkılar sağlamıştır. Ek olarak, polisakkarit kaynakları diğer doğal veya sentetik hidrojel hammaddelerine göre fazla ve kolay bulunabilmekte olup bu durum polisakarit bazlı kendi kendini iyileştiren hidrojellerin gelişimini daha da desteklemektedir. Birçok bilim insanı, selüloz, kitosan, aljinat, hyaluronik asit, nişasta, kondroitin sülfat, gellan sakızı gibi polisakkaritleri kendi kendini iyileştiren hidrojellerin hazırlanmasında kullanmıştır. Doğal polisakkarit zincirindeki karboksil (-COOH), amino ($-NH_2$), hidroksil (-OH) ve aldehit (-CHO) gibi fonksiyonel gruplar, fiziksel ve kimyasal özelliklerini geliştirirken etkinliğini artırmak için kimyasal olarak modifiye edilmiştir [184,185]. Polisakkarit bazlı hidrojeller, difüzyon, genleşme, kimyasal faktörler veya bazı çevresel uyaranlara dayalı kontrol gibi uygun salım mekanizmaları yoluyla biyoaktif maddelerin yerel konsantrasyonunu uzun süre koruyabilmekte ve böylece ilaçların hedeflenen

kontrollü salım etkisi elde edebilmektedir. Bu nedenlerle, polisakkarit bazlı hidrojeller, ilaçları veya besinleri kapsüllemek için taşıyıcılar olarak doğal avantajlar taşımaktadır [175,186]. Polisakkarit bazlı hidrojeller ayrıca biyolojik aktivitelere sahip olup hücre kültürü ile kıkırdak-kemik dokusu rejenerasyonunda potansiyel uygulamalara sahiptir [177].

Literatür incelendiğinde, konakçı-konuk etkileşimleri, hidrojen bağı, hidrofobik etkileşimler ve kovalent olmayan supramoleküler etkileşimlerin çeşitli dinamik bağlantılarından oluşan kendi kendini iyileştiren hidrojeller rapor edilmiştir. Supramoleküler çapraz bağlı kendi kendini iyileştiren malzemeler, hidrofobik etkileşimler veya metal-ligand koordineli sistemler gibi belirli supramoleküler bağlantı sınıfları üzerine odaklanan bazı çalışmalar gerçekleştirilmiştir [187,188] Doktora tez çalışması kapsamında, konak-konuk supramoleküler etkileşimler kullanılarak kendi-kendini iyileştirebilen protein-polisakkarit yapılı hibrit hidrojeller tasarlanmıştır. Konak-konuk etkileşimleri kendi kendini iyileştiren hidrojellerin hazırlanmasında birçok çalışmada tercih edilmiştir. Bu seçimin başlıca sebebi, iki veya daha fazla tamamlayıcı bileşik arasındaki çoklu kovalent olmayan etkileşimlerin kombinasyonunun konak-konuk geometrisi ile iyi bağlanma afinitesi ve kompleksliği sağlamaktadır [189]. Örneğin; Jian ve arkadaşları, dinamik açil hidrazon bağları kullanılarak konakçı-konuk etkileşimlerinden yararlanılmış olup kendi kendini iyileştiren, pH-duyarlı ve hidrolitik bozunma direncine sahip enjekte edilebilir selüloz bazlı hidrojeller (CAA'lar) sentezlenmiştir. İlgili çalışmaya ait şematik **Şekil 2.9**'da sunulmuştur.

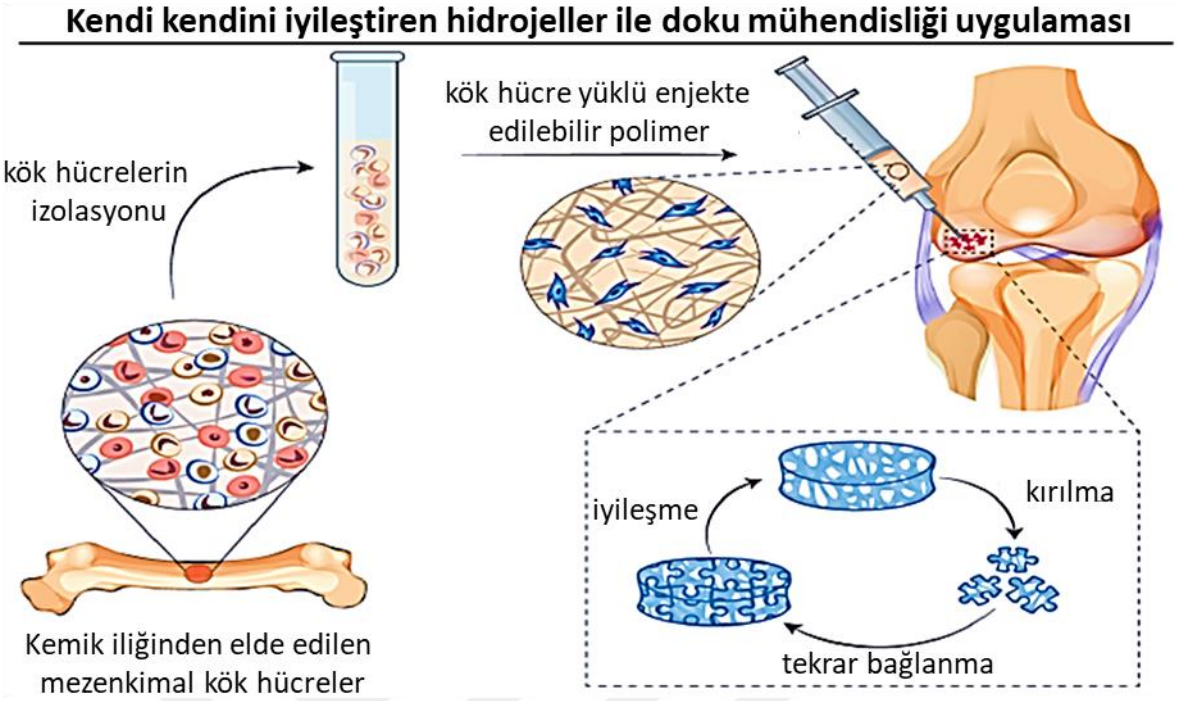


Şekil 2.9: (a) Kendi kendini iyileştiren CAA'nın şematik gösterimi, (b) İyileşme öncesi ve sonrası CAA ve CA fotoğrafları [190].

β-siklodekstrin (CD) ve 1-adamantan (AD) arasındaki konakçı-konuk etkileşimine dayanan hidrojeller; enjekte edilebilirlik, kendi kendini iyileştirme özellikleri (%97,5'lik iyileştirme etkinliği) ve fizyolojik ortamda dış uyaranlar olmadan hızlı iyileşme (< 10 dakika) performansı sergilemiştir. Doksorubisin (DOX) model ilaç taşıyıcısı olarak CAA'lara yüklenmiş ve in-vivo uygulaması incelenmiştir. CAA'nın DOX taşıyıcısı olarak kullanılmasının, DOX'un anti-tümör etkinliğini büyük ölçüde artırmanın yanı sıra DOX'un yan etkilerini de azalttığını göstermiştir [190].

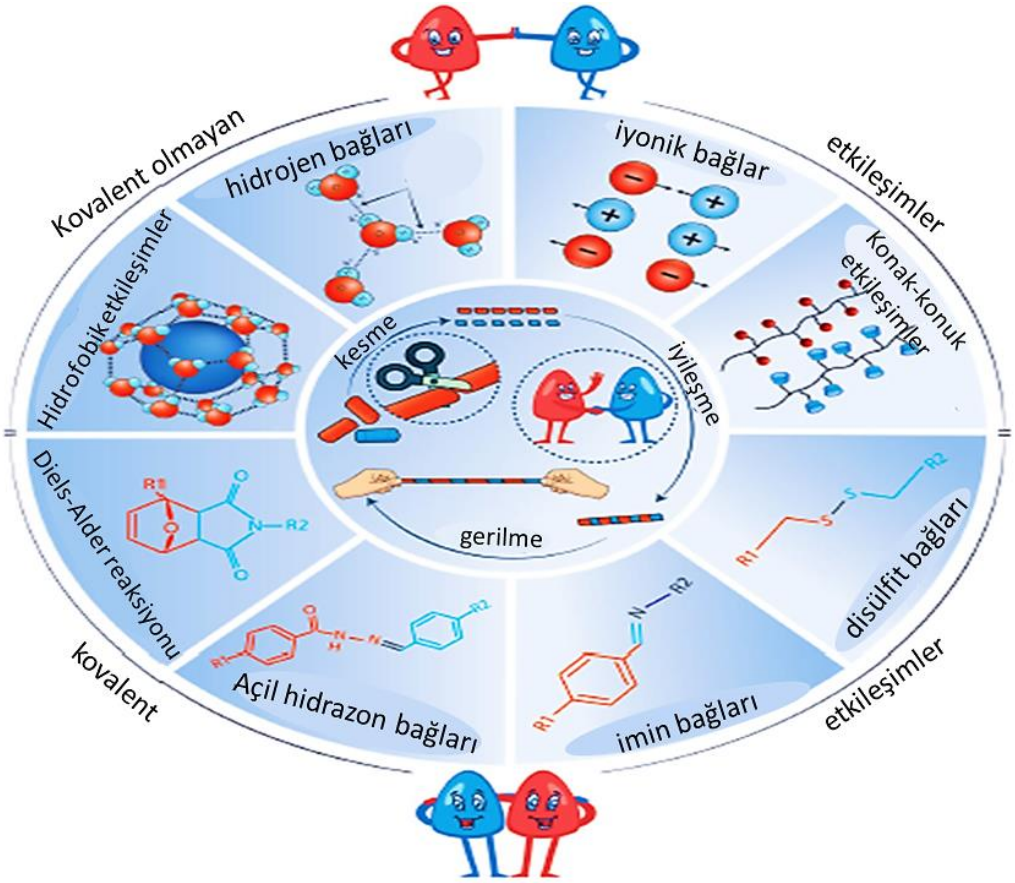
2.3.4. Kendi Kendini İyileştirme Mekanizması

Kendi kendini iyileştiren hidrojeller, kütle aktarımı kombinasyonu ile çatlak kapanmasını ve hidrojel matrisi içindeki kopuk bağlantıların yeniden bağlanmasını sağlayan mobil fazı içeren ortak bir ilkeye dayanmaktadır. Kendi kendini iyileştiren enjekte edilebilir hidrojeller ve doku mühendisliği uygulamasına ait şematik görsel **Şekil 2.10**'da sunulmuştur.



Şekil 2.10: Kendi kendini iyileştiren enjekte edilebilir hidrojeller ve doku mühendisliği uygulaması [191].

Matris içindeki yeniden bağlantıya tipik olarak kovalent olmayan veya kovalent bağlar aracılık etmektedir. Kovalent olmayan etkileşimler iyonik [192], hidrojen [193], konak-konuk etkileşimleri veya hidrofobik bağlar [194] gibi zayıf etkileşimlere dayanırken, kimyasal bağlar dinamik kovalent ve metal koordinasyon bağlarını esas almaktadır [195,196]. Kovalent ve kovalent olmayan bağların kombinasyonu, son zamanlarda hızlı kendi kendine onarım özelliklerine sahip mekanik olarak sert ve elastik ikili ağlı hidrojeller üretmek için kullanılmıştır. Kendi kendini iyileştiren hidrojellerin çeşitli kimyasal ve kovalent olmayan etkileşimlerine ait şematik gösterim **Şekil 2.11**'de gösterilmiştir.



Şekil 2.11: Kendi kendini iyileştiren hidrojellerin çeşitli kimyasal ve kovalent olmayan etkileşimlerinin gösterimi [191].

Polimerler, hidrojellerdeki en önemli bileşenlerden biri olup 3B su dostu ortamlarda hidrojeller içerisine hücreler eklenip, büyütülerek farklılaştırılabilmektedir [197]. Kendiliğinden iyileşen hidrojel elde etmenin temel yolu, bu yapı taşlarını değiştirmektir. Bu durum, çeşitli toksik olmayan kimyasal modifikasyonlar yoluyla polimerik hidrojel omurgasına kendi kendini iyileştirme mekanizmalarının dahil edilmesiyle gerçekleştirilmektedir. Bu mekanizmalar; hidroksil ve amid grupları varlığında oluşan hidrojen bağları, miseller veya konak-konuk etkileşimlerinin oluşturduğu hidrofobik etkileşimler, zıt yüklü kısımlar arasındaki tersinir elektrostatik etkileşimler yoluyla elde edilen iyonik bağlar, şelasyon veya dinamik kovalent bağlar, güçlü tersinmez ve zayıf tersinir bağlar aracılığıyla oluşan ikili ağ hidrojelleri olarak sıralanabilmektedir [191].

Hidrojellerin kendi kendini iyileştirmesi, zincirlerin görece yüksek hareketliliği ve fonksiyonel grupların dinamik bağlanma etkileşimleri nedeniyle daha sert malzemelere göre nispeten daha kolaydır. Bu özellikler kendi kendini iyileştiren hidrojellerin terapötik sistemlerde ve tıbbi cihazlarda kullanımı için yüksek potansiyel göstermesine olanak sağlamaktadır. Kendi kendini iyileştiren fiziksel jeller, özellikle 3B baskıdaki son yeniliklere bağlı olarak dinamik cihazlar

ve sistemler oluşturmak için önemli bir malzeme platformu sağlamakta olup biyoteknolojik yaklaşımları birleştirmek, yapısal olarak kontrol edilen malzemelerin yüksek mekanik özelliklere sahip gelişimi için umut vadetmektedir [170].

2.3.4.1. Kovalent Etkileşimler

Şelasyon ve dinamik kovalent bağlar gibi kovalent bağlanma mekanizmaları kendi kendini iyileştirebilen hidrojelleri oluşturmak için kullanılabilmektedir.

2.3.4.2. Şelasyon

Şelasyon, ligandlar (organik moleküller) ile pozitif yüklü geçiş metali iyonu arasındaki bir dizi koordinat bağı olarak tanımlanmakta olup bu yöntemde geçiş metali iyonu, oldukça karmaşık kafes yapıları elde etmek için ligandlar tarafından çevrelenmektedir. Her ligand, metal iyonuna elektron verebilir; her bir liganddan da iki veya daha fazla elektron tipik olarak metale verilebilir. Bu nedenle, her atomdan bir elektron yerine aynı atomdan iki elektronu içeren esasen bir kovalent bağdır [191].

2.3.4.3. Dinamik Kovalent Bağlar

Dinamik kovalent bağlar, standart kovalent bağların aksine fiziksel uyaranlar olmadan yeniden bağlanma yetenekleri nedeniyle benzersizdir. Yıllar içinde dinamik kovalent çapraz bağlar yoluyla çeşitli kendi kendini iyileştirebilen hidrojeller üretilmiş olup bu amaca yönelik olarak en yaygın kullanılanı imin bağlarıdır. Bir imin bağı, esas olarak bir aldehit ile bir birincil amin arasında su molekülü oluşumu reaksiyonunu içermekte ve hem nötr hem de asidik pH değerlerinde meydana gelebilecek güçlü bir kovalent bağ olarak kabul edilmektedir [198,199]. Açil hidrazon bağları, bir hidrazinin aldehit grubuyla yoğunlaştırma reaksiyonu yoluyla sentezlendikleri için imin bağları ile çok yakın ilişkililerdir.

Kendini iyileştirebilen hidrojellerde kullanılan diğer bir dinamik kovalent bağ türü ise imin bağlarından biraz daha zayıf olmakla birlikte disülfid bağlarıdır [200] Esas olarak, tiyol gruplarının oksitlenmesi gereken dinamik değişim reaksiyonlarına dayandıklarından reaksiyon, pH değerine karşı oldukça hassas olup bir oksidasyon ajanının dahil edilmesini gerektirmektedir. Bu durum hücreler için sitotoksik olabileceği ve kendi kendini iyileştirme kapasitesine sahip tiyol bazlı hidrojellerin indirgeyici varlığı nedeniyle fizyolojik dokularda stabil olmayacağı için kendi kendini iyileştirebilen hidrojellerin tasarımı ve geliştirilmesinde çok fazla tercih edilmemektedirler. Dioller ve boronik asidin kombinasyonundan hazırlanan boronat esterler ise tersinir kovalent bağlar da verebilmektedir [201,202] Bununla birlikte, bu

reaksiyonun kararlılığı pH'a oldukça duyarlı olmasına bağlı olarak bu tür sistemlerin ortaya çıkan kendi kendini iyileştirme etkinliği ve mekanik özellikleri pH değişikliklerine duyarlıdır.

Kendi kendini iyileştirebilen hidrojeller elde etmek için kullanılan bir diğer reaksiyon Diels-Alder reaksiyonlarıdır. Diels-Alder reaksiyonları, tipik olarak hiçbir zararlı yan ürün içermeyen basit sentez prosedürleri yoluyla gerçekleştirilen geniş çapta tanınan klik reaksiyonları olarak kabul edilmektedir. Fakat Diels-Alder bağları fizyolojik koşullar altında katılaşabildiği için kendi kendini iyileştirme potansiyelinin doku mühendisliğinde kullanılmaya çok uygun olmadığını düşünülmektedir. Bu nedenle, Diels-Alder reaksiyonları ancak optimal şekillerde hazırlanırsa hedef doku içinde otonom olarak çapraz bağlanabilen enjekte edilebilir ve kendi kendini iyileştirebilen hidrojelleri sağlama konusunda umut vermektedir [191].

2.3.4.4. Kovalent Olmayan Etkileşimler

Konak-konuk etkileşimleri, hidrojen bağları, iyonik bağlar ve hidrofobik etkileşimler kovalent olmayan çapraz bağlardır. Kovalent olmayan bağların yapılara eklenmesi, kontrol edilebilir ve geri dönüşümlü olarak kendi kendini iyileştirme özelliklerinin yapıya kazandırılmasını sağlamaktadır [203]. Kovalent olmayan etkileşimlerden biri olan hidrofobik etkileşimler, su molekülleri arasındaki hidrojen bağları yoluyla oluşan su moleküllerinin buza benzer kafes yapısı olan hidrofobik yapı etrafında bir klatrat kafesinin oluşumuyla meydana gelmektedir. Bu son derece düzenli yapı entropi azalmasına neden olur ve birbirine yeterince yaklaştığında kolayca kırılan kararsız bir konfigürasyon oluşturmaktadır. İki hidrofobik yapı arasındaki oldukça yüksek yapışma mukavemeti entropide fiziksel olarak yönlendirilen bir artışa neden olmaktadır ve bu durum hidrofobik etkileşimlerin yüksek oranda tersine çevrilebilir doğasının ardındaki en etkili faktördür [191].

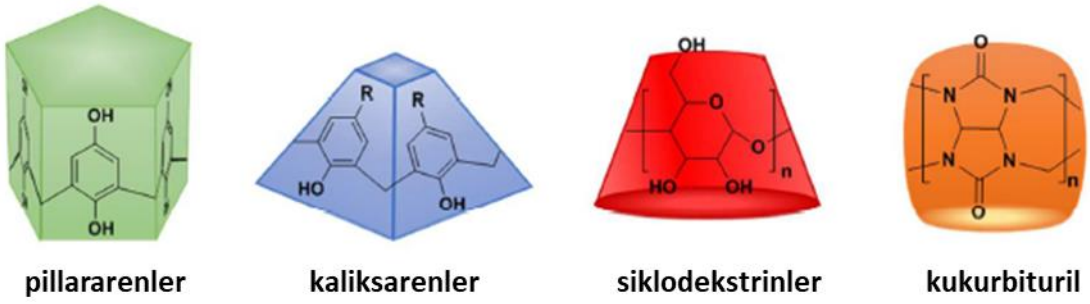
2.3.4.5. Konak-Konuk (Host-Guest) Etkileşimler

Konak-konuk etkileşimleri, siklodekstrinler gibi makrosiklik konakçılar ve adamante (Ad) gibi daha küçük konuk moleküller arasındaki seçici dahil etme kompleksine dayanmaktadır. Supramoleküler kendi kendini iyileştiren hidrojeller, konakçı ve konuk kısımlar arasında oluşan kompleksin çapraz bağlanma noktaları üzerinden oluşturulmaktadır. Bu tür hidrojeller konak ve konuk polimerlerin karıştırılması, bir konak-konuk kompleks monomer ile bir ana monomerin kopolimerizasyonu, bir konak-konuk kompleks monomer ile bir çapraz bağlayıcının kopolimerizasyonu veya bir konakçı polimer ile konuk çapraz bağlayıcının karıştırılması gibi farklı işlemlerle hazırlanabilmektedir [204].

Konak-konuk etkileşimleri [205–207], miseller [208] ve hidrofobik kısımlara [209] dayanan bazı farklı hidrofobik şemalar, yıllar içinde kendiliğinden iyileşebilen hidrojeller üretmek için kullanılmaktadır. Hidrofobik kısımları içeren hidrojellerin kendi kendini onarım mekanizmaları, bu kısımlar arasında geri dönüşümlü etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Konak-konuk etkileşimlerde, bir lipofilik iç boşluk ve hidrofilik bir dış yüzeyden oluşan bir molekül olan siklodekstrin hidrojel omurgasına bağlanmaktadır. Bu amaçla; siklodekstrin, hidrofobik etkileşimler nedeniyle lipofilik iç boşluğunda kısıtlanabildikleri için hidrofobik konuk moleküller ile konak-konuk etkileşimi oluşturulabilmektedir [205]. Kendi kendini iyileştirebilir hidrojellerin bir problemi, hidrojel matrisinde hidrofobik bölgelerin varlığından kaynaklanan olası düşük su alımıdır. Bununla birlikte, çok sayıda çalışma hidrofilik bölgelerin hidrojel matrisindeki hidrofobik parçaların sayısından daha fazla olduğu durumlarda bunun gerekli olmadığını göstermiştir [208,210].

Siklodekstrinler (SD)

Kovalent olmayan bağlardan biri olan konak-konuk etkileşimleri, dinamik doğaları nedeniyle supramoleküler kimyada önemli bir rol oynamıştır. Son otuz yılda, taç eterler, kukurbit[n]iller, kaliks[n]arenler, pillar[n]arenler ve siklodekstrinler (SD'ler) gibi çok çeşitli makrosiklik bileşikler, kendi kendini iyileştiren malzemeler hazırlamak için konak-konuk etkileşimleri için konak moleküller olarak kullanılmıştır [131]. Bazı önemli konak türlerin gösterimi **Şekil 2.12**'de verilmiştir.

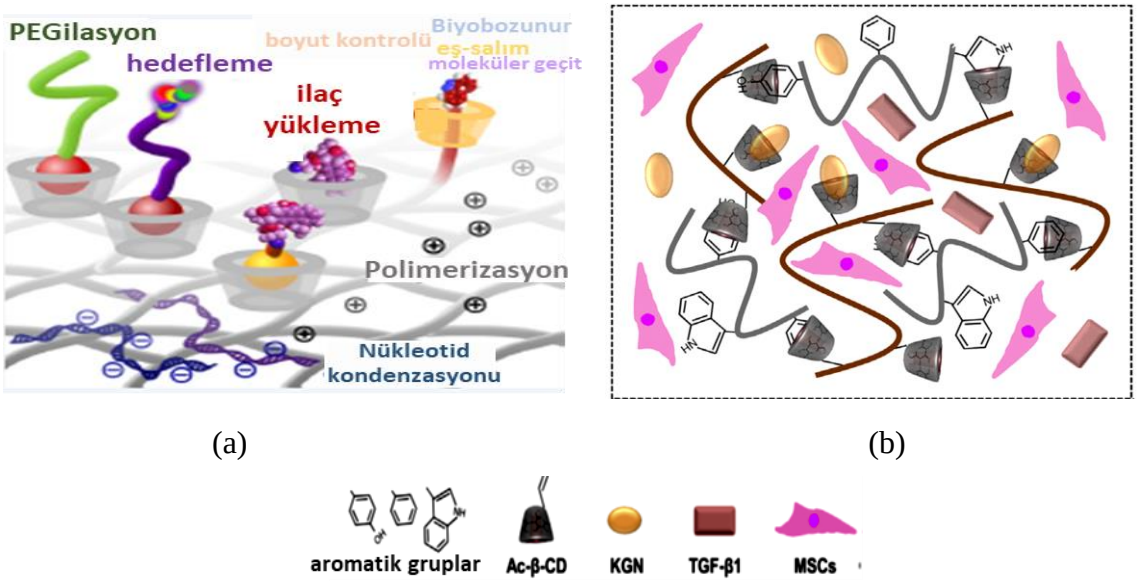


Şekil 2.12: Bazı önemli konak türlerin gösterimi [131].

SD'ler, α-1,4-glikoz bağı yoluyla birbirine bağlanan D-(+)-glikoz birimlerinin suda çözünür siklik oligomerleridir. 6, 7 ve 8 glikoz üniteli SD'ler sırasıyla α-, β- ve γ-CD'ler olarak adlandırılmaktadır. 3B yapıları, hidrofilik bir dış yüzeyi ve hidrofobik bir iç boşluğu olan kesik bir koni olarak temsil edilebilmektedir. Bu benzersiz amfifilik yapı, SD'ler çeşitli tipte küçük moleküller veya boyutları ve şekilleri yapı boşluklarına uyan bazı makromoleküller ile inklüzyon kompleksleri oluşturmasına izin vermektedir. SD-konuk komplekslerinin

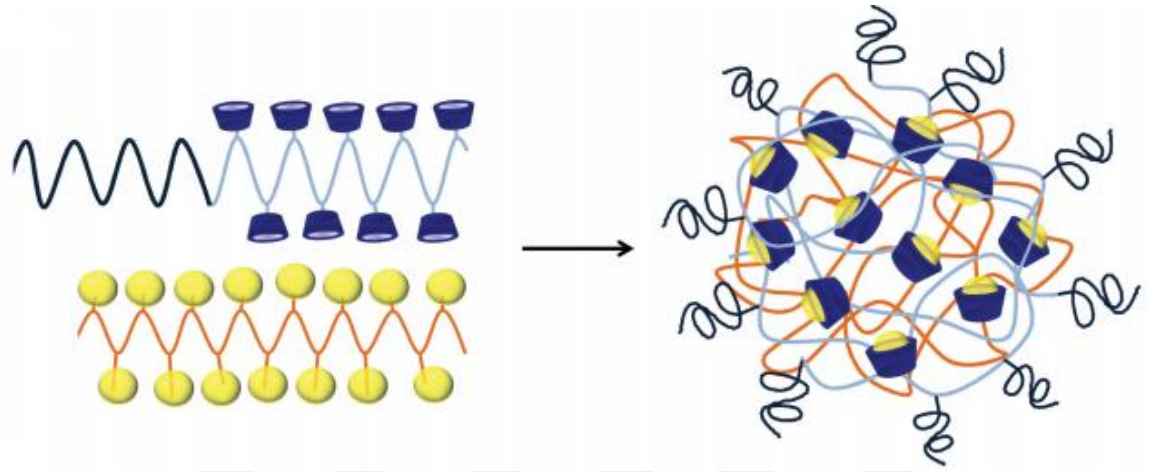
oluşumunun arkasındaki ana itici güçler, hidrofobik, Van der Waals ve hidrojen bağı etkileşimleridir. SD'ler yaygın organik reaksiyonlar için kullanılabilen belirli sayıda hidroksil grubu içerdiğinden türevlendirilme reaksiyonları için uygundur. Uygun biyolojik ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle SD'ler ve türevleri, kendi kendini iyileştiren supramoleküler hidrojelleri üretmek için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [189].

Supramoleküler kimyanın spesifik bir sınıfı, siklodekstrinler ve kukurbituril gibi konak makrosiklikleri ve çok çeşitli konuk molekülleri içeren konak-konuk ikililerinin doğrudan birleşmesinden oluşmaktadır. Burada birleşim, genel olarak molekül büyüklüğü ve konak/konuk yapının hidrofobikliği tarafından yönlendirilmektedir. Konak-konuk yapılı bu sistemler, dinamik yapıları, kimyasal çeşitlilikleri, göreceli sentez kolaylıkları ve biyolojik veya sentetik moleküller ile etkileşime girme kabiliyetleri [131], uyaran tepkisi [211], kendi kendini iyileştirme [212] kabiliyetleri ve ayırt edici mekanik özellikler gibi özellikleri nedenleriyle dikkat çekmiştir [213]. Siklodekstrin (SD) ve diğerleri arasındaki konak-konuk etkileşimlerinden türetilen birçok hidrojel, doku onarımı [214], ilaç taşıyıcıları [215] ve genetik mühendisliği malzemeleri için mekanik işlevlerini geliştirmek üzere sentezlenmiştir [216]. Siklodekstrin temelli konak-konuk etkileşimi ve örnek uygulamalarına ait görsel **Şekil 2.13**'te verilmiştir.



Şekil 2.13: Siklodekstrin temelli konak-konuk etkileşimi ve örnek uygulamaları (a) Polimerler kullanılarak β-SD'nin modifikasyonu, dağıtım sistemlerinde kullanımı [215], b) Enjekte edilebilir jelatin HGM supramoleküler hidrojellerdeki MSC'lerin, kondrojenik küçük moleküllerin ve büyüme faktörlerinin kapsüllenmesinin şematik gösterimi [22], Ac-β-SD: Akrillenmiş β-siklodekstrin, KGN: Kartogenin, TGF-β1: dönüştürücü büyüme faktörü-β, MSCs: Mezenkimal kök hücre.

Konak makrosiklikler arasında, nispeten suda yüksek çözünürlüğü, düşük toksisitesi ve geniş kullanımları nedeniyle siklodekstrinler (SD) en yaygın olanıdır. SD molekülleri çeşitli endüstriyel, ticari ve farmasötik uygulamalarda kullanılmakta ve Amerika Gıda ve İlaç İdaresi tarafından (FDA) "genel olarak güvenli" (GRAS) olarak sınıflandırılmaktadır [217]. Polimerlerde supramoleküler β-SD konak-konuk etkileşimi örnek gösterim **Şekil 2.14**'te sunulmuştur. Ayrıca SD'lerin boşluk boyutları, iç kısımlarına bir dizi konuk hidrofobik molekül eklemelerine olanak sağlamaktadır [131].



Şekil 2.14: Polimerlerde supramoleküler β-SD konak-konuk etkileşimi örnek gösterim [218].

Burdick ve arkadaşları, kayma incelmesi gösteren ve kendi kendini iyileştiren hidrojeller oluşturmak için Ad (Adamantan) veya SD tarafından ayrı ayrı modifiye edilen hiyalüronik asidin (HA) konak-konuk etkileşiminin oluşturduğu supramoleküler kendi kendine birleşme yaklaşımından yararlanmışlardır. Bu tasarımda Ad, proteolitik olarak bozunabilen bir peptit bağı yoluyla HA'ya bağlanmakta ve daha sonra bu yapının proteolitik olarak bozunmasını etkinleştirmektedir. Ad-peptit ile modifiye edilmiş HA ve β-SD ile modifiye edilmiş HA'nın karıştırılması üzerine, kayma incelmesi gösteren ve çok hızlı kendi kendini iyileştirme özelliklerine sahip bir supramoleküler hidrojel oluşturulmuştur. Deri altından enjekte edildiğinde, peptit proteaz (MMP-2 ve kolajenaz) tarafından hidrolize edilebilmekte ve daha sonra degrade olmaktadır. Ayrıca, peptitlerin amino asit kalıntılarını kontrol ederek hidrojellerin bozunma kinetikleri daha fazla uyarlanabilmektedir. Bu sistem, kolay malzeme oluşumu, enjeksiyon kolaylığı ve biyo-tepkisel malzeme bozunması yoluyla terapötik uygulama (örneğin, büyüme faktörleri, hücreler) için benzersiz fırsatlar sunmaktadır [219].

Bir diğer çalışmada, Miao ve grubu, Pluronic F108 ve Alginat-g-SD arasında supramoleküler inklüzyon kompleksi oluşumuna dayanan orta düzeyde mekanik özelliklere sahip kendi kendini iyileştiren, gerinme ve ısıya duyarlı aljinat bazlı hidrojeller geliştirmiştir. Ayrıca bu yapı kayma

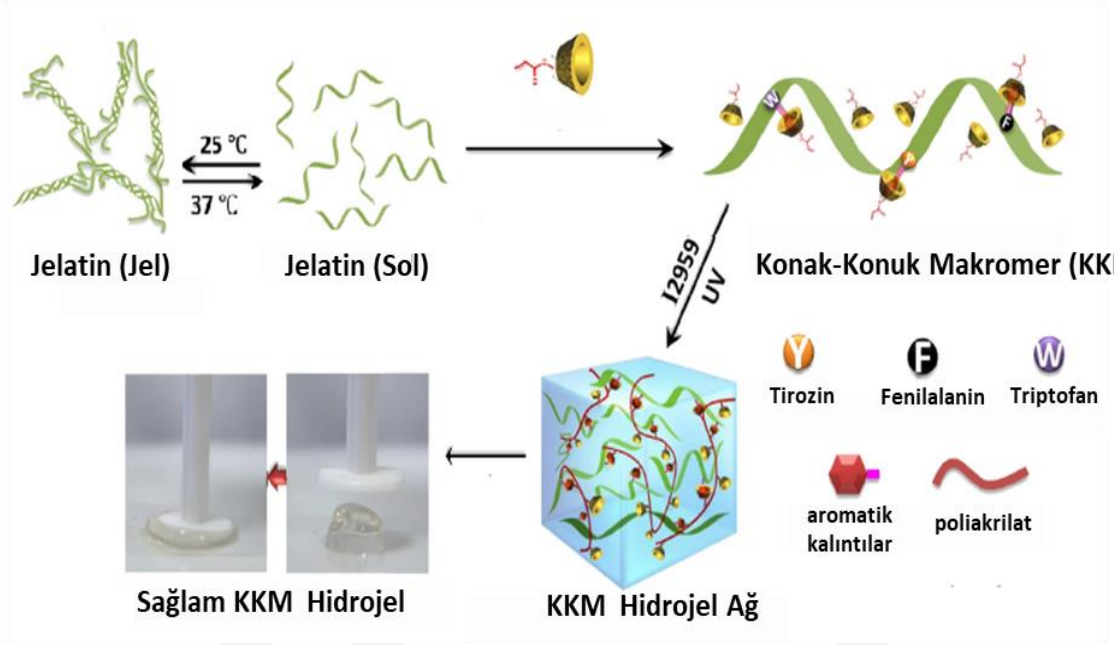
incelmesi özelliği de göstermiştir. Pluronic F108, enjekte edilebilir hidrojele sıcaklığa duyarlı olma davranışı kazandırarak vücut sıcaklığındaki artış üzerine ikili çapraz bağlı bir hidrojel oluşturmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde, hidrojelin kayma depolama modülü, vücut sıcaklığında 30 kPa'ya kadar ulaşmış ve biyomedikal uygulamalarda kullanımını destekleyen biyolojik olarak ilgili mekanik özellikler sergilemiştir [220].

Benzer şekilde, Tong ve arkadaşları Ad içeren monomer N-adamantilakrilamid (Ad-AAm) ve monomer akrilik asitin (AAc) polisiklodekstrin (PCD) sulu çözeltisinde yerinde kopolimerizasyonu yoluyla üstün kendi kendini iyileştirme özelliğine sahip supramoleküler bir hidrojel sentezlemişlerdir. Kendi kendini iyileştirme özelliğini geliştirmek için polimer zincirleri üzerine aşılanmış geleneksel tek fonksiyonlu SD moleküllerini değiştirmek için yüksek fonksiyonaliteye sahip çapraz bağlama ajanı olarak polisiklodekstrin (PSD) kullanmışlardır. PSD-Ad hidrojelleri, %600'lük kırılma gerilimi ile 40 kPa'lık gerinim göstermişlerdir. Hidrojelin hızlı ve etkili kendi kendini iyileştirmesi nemli koşullarda 70°C'de gerçekleştirilmiş ve 120 dakikalık iyileşme süresinden sonra iyileşme yüzdesi %73'e ulaşmıştır [221].

2.3.5. Jelatin

Jelatin, kolajen hidrolizinden türetilen doğal kaynaklı bir protein [15] olup hidrojeller üretmek amacıyla üstün biyouyumluluk, içsel biyoaktivite ve kolay ulaşılabilirlik nedeniyle doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılmaktadır [222]. Bununla birlikte, jelatin hidrojelleri düşük sıcaklıklarda (<30°C) fizyolojik koşullar altında kararlı olmadığından kimyasal çapraz bağlama işleminin yapılması sıklıkla gerekmektedir. [223]. Jelatin üçlü sarmal arasındaki fiziksel etkileşimler, 30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda bozulmaktadır [224]. Bu nedenle, biyomedikal uygulamalarda kararlı hidrojeller hazırlamak için genellikle jelatin kimyasal olarak polimerize edilebilir gruplar tarafından işlevselleştirilmektedir. Diğer bir ifade ile metakrilatlanmış jelatin (MeJel) gibi çapraz bağlanabilir fonksiyonel uç gruplara sahip jelatin makromerler elde edilmektedir [225–227]. Bu tür makromerlerin daha sonra UV başlatıcı varlığında çapraz bağlanması, birçok hücre çalışmasında kullanılan kararlı jelatin hidrojellerin sentezlenmesine olanak sağlamaktadır [228]. Bununla birlikte, kimyasal olarak çapraz bağlanmış jelatin hidrojellerin çoğunun çapraz bağlama işlemi sonrası kırılgan olması yaygın cerrahi uygulamalarda kullanımına engel olmaktadır [229]. Bu problemlerin ortadan kaldırılması için doktora tez çalışması kapsamında, akrilatlanmış β-siklodekstrin ile konak-

konuk etkileşime dayalı kovalent olmayan bağlanma gerçekleştirilmiş, sonrasında I2959 foto başlatıcı varlığında UV ışını altında foto-polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Jelatinin konak-konuk etkileşimine ait doku rejenerasyonu uygulaması **Şekil 2.15**'te sunulmuştur.

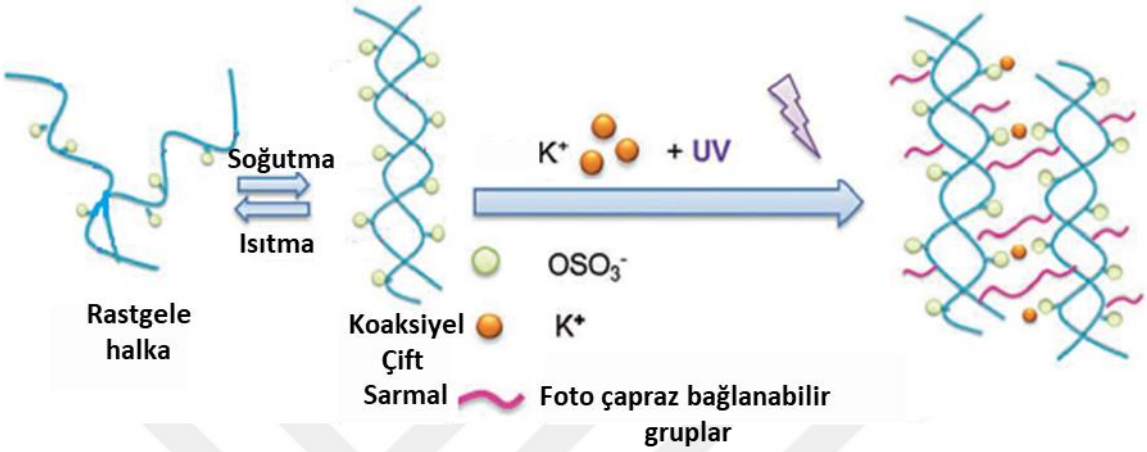


Şekil 2.15: Jelatinin konak-konuk etkileşimi: doku rejenerasyonu uygulaması [158].

2.3.6. Kappa-Karagenan

Kappa-karagenan (KK), doğal dokuların hücre dışı matrisinin en önemli bileşenlerinden biri olan glikozaminoglikan (GAG) yapısını yakından taklit eden doğal kökenli bir polimerdir. Karagenanlar, Rhodophyceae sınıfındaki kırmızı deniz yosunlarından ekstrakte edilmekte ve tekrarlayan disakkarit birimleri üzerindeki sülfatlı grupların varlığı ile sayısına göre sınıflandırılmaktadır. KK, yaklaşık %25-30 arasında ester sülfat içeriğine sahip [230,231] olup kappa (κ-) bir sülfat grubuna sahipken, iota (γ-) ve lambda (λ-), disakkarit birimi başına sırasıyla iki ve üç sülfat grubu bulundurmaktadır. KK, jelleşme özellikleri, mekanik mukavemeti ve GAG adı verilen doğal hücre dışı matrislerin ana bileşenleri olan kondroitin-4-sülfat ve dermatan sülfata benzeyen doku mühendisliği uygulamaları için potansiyel bir aday olarak önerilmiştir [232] Potasyum iyonları varlığında KK jelasyonu artarak daha sert bir form almakta ancak ısıtıldığında bu jel yapısı çözünerek kırılgan bir hal almaktadır [233]. γ-karagenan jelasyonu kalsiyum iyonlarının varlığına bağlı olarak yumuşak ve elastik jeller oluşturulabilmektedir [234]. KCI kullanarak KK'nın iyonik çapraz bağlama işlemi, hidrojellere sülfat grupları ve iyonlar arasında güçlü iyonik etkileşimler sağlayabilmektedir. İyonik çapraz bağlama işlemi mekanik mukavemeti ve sertliği arttırırken KK'yı kırılgan bir hidrojele

dönüştürmektedir [235]. Doku mühendisliği bağlamındaki kullanımlarını vurgulayan fiziksel ve kimyasal olarak çapraz bağlanmış hidrojeller oluşturmak için KK omurgasında foto-çapraz bağlanabilir kısımlar sunulmuştur. Foto çaprazlanabilir kappa-karagenan polimerinin doku mühendisliği uygulamasına ait görsel **Şekil 2.16**'da sunulmuştur.



Şekil 2.16: Foto çaprazlanabilir kappa-karagenanın doku mühendisliği uygulaması [25].

Doğal tiksotropik davranışı nedeniyle KK, minimal invaziv tedaviler için makromoleküller ve hücreler vermek üzere enjekte edilebilir bir matris olarak kullanılmıştır [236]. Ek olarak, kappa-karagenanın polimer çözeltisi kayma incelmesi davranışı da göstermiştir. Önceki çalışmalar geliştirilebilir umut verici sonuçlar gösterse de [237,238], iyonik olarak çapraz bağlı KK hidrojellerin şişme özellikleri, degradasyon karakteristikleri ve mekanik özellikleri üzerinde kontrol hala yeterli değildir. Bu durum, esas olarak tek değerlikli iyonların çevredeki fizyolojik ortamdan diğer pozitif iyonlarla kaçınılmaz iyon değişimine atfedilmiştir [239]. Bu nedenle, hücre canlılığının korunduğu hücre kapsüllenmesi için kararlı çapraz bağlı jellerin oluşmasını sağlayacak foto-çapraz bağlanma işlemi gerçekleştirilmiştir [25]. Bu zorlukların üstesinden gelmek için istenen supramoleküler özelliklere ve biyolojik fonksiyonlara sahip mekanik olarak sağlam jelatin/kappa-karagenan hidrojellerinin yeni bir "Konak-Konuk Makromer" yaklaşımı doktora tez çalışmasında gerçekleştirilmiştir.

2.3.6.1. Kappa-Karagenanın Kimyasal Modifikasyonu

Polimerlere farklı özellikleri kazandırmak için genellikle oksidasyon, metakrilat, esterifikasyon, tiyolasyon, asetilasyon ve aldehit modifikasyonu gibi farklı kimyasal modifikasyon stratejileri ile geliştirilmektedir [48]. **Tablo 2.1**, farklı biyomedikal uygulamalar için çeşitli monomer türleri kullanılarak karagenan omurgasının çeşitli fonksiyonelleştirme çalışmalarını özetlemektedir [240].

Tablo 2.1: Karagenanın farklı kimyasal modifikasyonları ve hedef uygulamaları.

Karagenan Türü	Kimyasal Modifikasyon	Hedef Uygulamaları	Referans
Kappa Karagenan	Metakrilasyon	DM için hücre-malzeme platformları	[25]
Kappa Karagenan	Metakrilasyon	Kıkırdak DM için biyoink	[241]
Kappa Karagenan	Metakrilasyon	Deri yaralanmalarını örtmek ve yumuşak doku hasarlarını iyileştirmek için püskürtülebilir hidrojel, kronik diyabetik yara iyileşmesi için biyo-yapışkan hidrojeller	[124]
Kappa Karagenan	Metakrilasyon	Yumuşak DM için enjekte edilebilir kayma inceltici ve mekanik olarak sağlam hidrojel	[242]
Kappa Karagenan	De-esterifikasyon	De-esterifikasyonun κ-karagenan jelleri üzerindeki etkisinin incelenmesi	[243]
Kappa Karagenan	Karboksimetilasyon	Yara örtülerinde hücre ile temas eden uygulamalar için biyomalzemeler	[244]
Kappa Karagenan	Asetilasyon	Anti-grip virüsü olarak potansiyel uygulamalar için biyomalzemeler	[245]
Kappa Karagenan	Oksidasyon	Oksidasyonun antikoagülan aktivite üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi	[246]

DM: Doku Mühendisliği

Bu yaklaşımlar arasında, karagenanın metakrilasyonu ve metakrilat-karagenan (KKM) sentezi son yıllarda büyük ilgi görmüştür [25,30,241,247]. KK üzerindeki hidroksil gruplarının metakrilat gruplarıyla reaksiyonuyla metakrilatlama işlemi gerçekleştirilmektedir. Hidroksil gruplarının sübstitüsyon miktarı, metakrilasyon derecesine eşdeğer olarak kabul edilmektedir [248,249].

Diğer modifikasyon yaklaşımlarıyla karşılaştırıldığında; metakrilatlama işlemi, Irgacure 2959 [247,250], eozin Y [251], a-ketoglutarik asit[252] ve LAP [253] dahil bir kimyasal foto başlatıcı varlığında, UV ışığı [124,254] veya görünür ışık [124] altında foto çapraz bağlanma yeteneği kazandırmaktadır. UV ışığının fotonları, foto başlatıcının metakrilat gruplarında radikal oluşumuna neden olan iki radikale ayrılmasını sağlamaktadır. Radikaller, kararsız oldukları için birbirleriyle hızla birleşerek çapraz bağlı bir ağ oluşumuna neden olmaktadır [255,256]. Çapraz bağlama boyunca oluşturulan kovalent bağlar, polimer ağının kimyasal ve mekanik kararlılığını arttırmaktadır. KK'nın halihazırda var olan iyonik karakteri ile kimyasal modifikasyonuna ve

kimyasal/fiziksel çapraz bağlama yaklaşımları ile ikili çapraz bağlı hidrojellerin oluşturulmasına olanak sağlamaktadır. Fiziksel (K^+) ve kimyasal çapraz bağlama işleminin (UV'ye maruz kalma) birlikte kullanılması sülfat grupları ile potasyum arasında güçlü iyonik etkileşimlerle sonuçlanırken, metakrilat grupları ve foto başlatıcı aracılığıyla kovalent bağların oluşumu hidrojeli kimyasal ve mekanik olarak daha kararlı hale getirmektedir. Kimyasal yapılardaki bu değişiklikler, gelişmiş mekanik özelliklere sahip KKM'nin bütünlüğünü arttırmaktadır [257]. Daha yüksek metakrilasyon derecesi ve uygulanan polimer konsantrasyonu, foto çapraz bağlanabilir birimlerin yoğunluğuna bağlı olarak kovalent bağların artmasına yol açmaktadır. Sonuç olarak, bu durum hazırlanan hidrojelin basınç dayanımı ve Young modülünü arttırmaktadır [240].

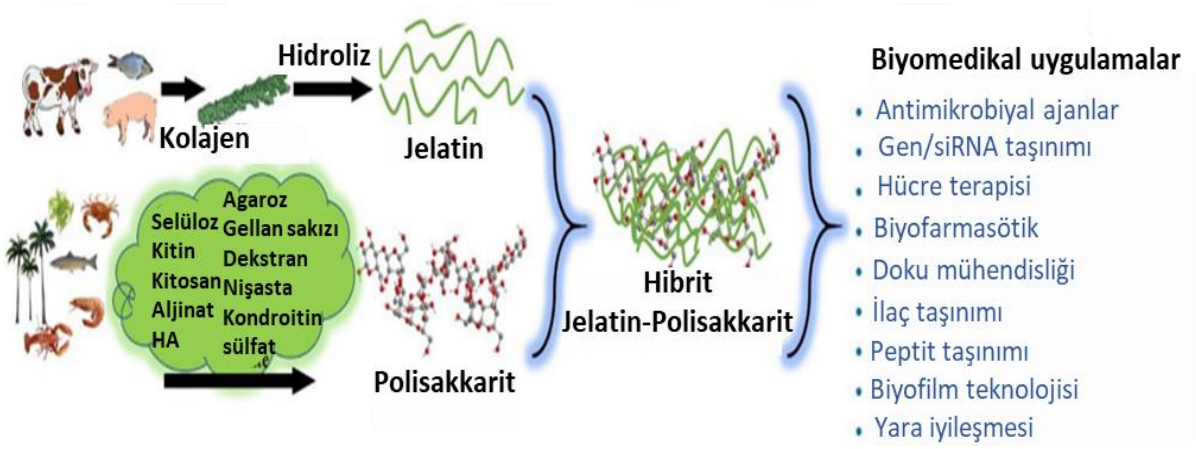
2.3.6.2. UV ile Kürlenebilen Sistemler

Foto-çapraz bağlanabilir hidrojeller, hücre uyumlu koşullar altında hızlı çapraz bağlanma sağladıkları için doku mühendisliği uygulamaları için ilgi çekici malzemelerdir[258]. Ultraviyole (UV) ile kürlenebilir ve foto-çapraz bağlanabilir polimerlerin çoğu, mükemmel ısıl ve/veya mekanik özellikler ile gelişmiş kimyasal dayanıklılık elde etmek için tasarlanmıştır [259]. Çapraz bağlanmış hidrojeller oluşturmanın en yaygın yöntemlerinden birisi, foto-çapraz bağlama, foto-çapraz bağlanabilir hidrojeller, foto-başlatıcılar, hücreler ve terapötik moleküller gibi diğer bileşiklerden oluşan ışığa duyarlı bir sistemin UV (200-400 nm) veya görünür ışığa (400–800 nm) maruz bırakılarak kovalent bağlarla çapraz bağlanmasıdır. Genel olarak foto-kürleme foto başlatıcının türüne bağlı olarak 254-365 nm ışıkla yapılabilir [259]. Foto-çapraz bağlamada, ışık yoğunluğunu, maruz kalma süresini ve aydınlatılan alanı ayarlayarak hidrojelin uzay-zamansal oluşumu ve ağ özellikleri üzerinde bir kontrol sağlanmaktadır [260]. UV kürlemede, geleneksel bir foto başlatıcı kullanımının yanı sıra metakrilat, akrilat ve epoksi birimleri, polimerleştirilebilir yapılar öne çıkmaktadır. UV ışıkla sertleştirme sisteminin genel formülasyonu, çok işlevli bir oligomer , seyreltici farklı fonksiyonaliteye sahip monomerler, foto başlatıcı ve gerekli olursa katkı maddesinin uygun bir kombinasyonunu içermektedir.

2.3.7. Protein-Polisakkarit Kompozit Yapı İskeleleri ve Doku Mühendisliği için Önemi

Jelatin, doğal dokulardaki ECM'ye kimyasal olarak benzer, biyouyumlu, biyobozunur, düşük antijenist, düşük maliyetli, bol bulunan ve biyomalzemeler/biyomoleküllerle modifikasyonlara izin veren fonksiyonel gruplara sahip olması nedeniyle terapötik ve rejeneratif özelliklere sahip iskele olarak umut verici diğer bir malzemedir [261]. Bu üstün özellikleri sebebiyle çok fazla çalışmada tercih edilen bir proteindir. Jelatinin avantajlarına rağmen, zayıf mekanik özellikler,

enzimatik bozunmaya duyarlılık, yüksek viskozite ve derişik sulu ortamdaki çözünürlüğünün azalması uygulamalarını sınırlandırmış ve jelatin bazlı kompozit hidrojellerin geliştirilmesini teşvik etmiştir [262]. Bu bağlamda, jelatinin söz konusu dezavantajları, sinerjistik olarak çok çeşitli polisakkaritlerle birleştirilmesiyle aşılabilir. Ayrıca, jelatin-polisakkarit biyomalzemeleri mekanik esneklik, yüksek kimyasal kararlılık, düşük ısıl genleşme, geliştirilmiş hidrofiliklik, biyouyumluluk, antimikrobiyal ve antienflamatuvar özelliklerden ve iyileştirme potansiyelinden yararlanmasına imkan tanımaktadır. Polisakkaritler tipik olarak iskelelerin kimyasal kararlılığını arttırırken jelatin de biyolojik performansı geliştirmektedir [20]. Jelatin ve polisakkaritlerden hazırlanan hidrojellerin kökeni ve biyomedikal uygulamalarına ait görsel **Şekil 2.17**'de sunulmuştur.



Şekil 2.17: Jelatin ve polisakkaritlerden hazırlanan hidrojellerin kökeni ve biyomedikal uygulamaları [20].

Son zamanlarda, birçok çalışma, biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyouyumluluk, doğal glikozaminoglikanlara benzeyen antioksidanlar, antitümör, immünomodülatör ve antikoagülan özellikler dahil olmak üzere içsel özellikleri sayesinde biyomedikal uygulamalar için karagenan bazlı hidrojellere odaklanmıştır. Karagenanlar, basit bir iyonik çapraz bağlama işlemi kullanarak kolayca üç boyutlu hidrojellere dönüşebilirler. Ek olarak, çeşitli türlerde nanoparçacıkların ve polimer ağların karagenan hidrojellerine dahil edilmesi, önemli mekanik, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip hibrit platformların oluşumuyla sonuçlanarak onları ilaç dağıtımı, doku mühendisliği ve yara iyileşmesi uygulamaları için uygun biyomalzemeler haline getirmiştir [240].

κ-,ι- ve λ- karagenanlar sırasıyla bir, iki ve üç sülfat ester grubuna sahip olup önemli farklılıklar meydana gelebilse de sırasıyla polimerlerin yaklaşık %20, %33 ve %41'ine (ağ./ağ.) karşılık gelen oranlarda sülfat içeriklerine sahiptirler [263]. Daha yüksek seviyelerde ester sülfat

grupları, daha düşük jel mukavemeti ve daha düşük sıcaklıklarda çözünürlük ile sonuçlanmaktadır [231]. Bu bağlamda, κ- ve ι- karagenan, daha yüksek sıcaklıklarda termo-tersinir konformasyonel bir düzenlemeye girebildikleri ve daha düşük sıcaklıklarda sülfat grupları ve 3,6-anhidro-D-galaktopiransil yoluyla ağ oluşumuna ve kombinasyonuna maruz kalabildikleri için benzer özellikler göstermiştir. Ek olarak, katyonların varlığında (yani, K^+ ve Ca^{2+}) jelleşme özellikleri göstermiş olup sol-jel geçiş sıcaklıklarının büyük ölçüde iyon içeriğine bağlı olduğu bildirilmiştir [264]. Bununla birlikte, fizyolojik ortamdaki jelleşme özelliklerini, kararlılığını ve degradasyon hızını kontrol etmenin zorluğu nedeniyle bu uygulamalar sınırlı kalmıştır [30]. Çeşitli fiziksel veya kimyasal çapraz bağlama yöntemleri, bu zorlukların üstesinden gelmek için daha iyi özelliklere sahip ağların oluşturulmasına olanak sağlamaktadır. Fiziksel çapraz bağlamada ağ, farklı polimer zincirleri arasında fiziksel bağların oluşumu yoluyla üretilmektedir [25]. Çalışmalar, iyonik çapraz bağlama işlemi sırasında KCl varlığının, sülfat grupları iyonları arasında güçlü etkileşimlerle hidrojellerin oluşumuna yol açtığını göstermiştir. İyonik çapraz bağlama işlemi, hidrojellerin mekanik mukavemetini, sertliğini ve ayrıca kararlılığını desteklemektedir. Bununla birlikte, kontrol edilemeyen iyon değişimi ile kırılgan bir hidrojel yapar [265]. Bu bağlamda, çeşitli doğal ve sentetik monomerler ile karagenan ağının modifikasyonu üzerine farklı çalışmalara odaklanılmıştır. Bu modifikasyonlar hidrojelin mekanik ve biyolojik özelliklerini değiştirerek farklı uygulamalara yol açmaktadır. İkincil polimerik ağ veya çeşitli nanopartikül türleri ile kimyasal etkileşimler, karagenan hidrojellerin karşılaştığı zorlukların üstesinden gelmek için umut verici başka bir yaklaşımdır. Bu sorunun telafi edilmesi ve polimer zincirleri arasında kovalent bağlar oluşturulması için doktora tez çalışmasında kimyasal çapraz bağlama yöntemi kullanılmıştır. Bu sebeple, kappa-karagenan metakrilasyon işlemine tabii tutulmuştur [240].

Literatürde protein-polisakkarit yapılı kompozit yapı iskeleleri ile ilgili çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Örneğin, Miranda ve arkadaşları 3B kemik iliği mezenkimal kök hücre (BMMSC) kültürü için bir yapı iskelesi olarak bir kitosan-jelatin kompozit kullanmıştır [20,266]. Gözenekli biyokompozit, hücre yapışmasını, yayılmasını ve canlılığını destekleyen glutaraldehit çapraz bağlama yaklaşımı kullanılarak hazırlanmıştır. İskele, bir sıçan modelinin diş yuvalarına implante edildiğinde in-vivo olarak iyi biyouyumluluk ve yavaş degredasyon göstermiştir. 35 gün boyunca kemik iyileşme süreci tamamlanana kadar implant yerinde kalmıştır. Çapraz bağlı kitosan-jelatin kompozitleri, birbirine bağlı gözeneklerden yararlanırken çapraz bağlanmamış jele göre gözenek boyutunun azalmasına neden olmaktadır.

En yüksek hücre canlılığını (%90'a kadar) elde etmek için optimal jelatin konsantrasyonu, yaklaşık %25 olup bu değerin ötesinde (örn. %50 ve %100), hücre canlılığı azalmıştır (<%40). Daha da önemlisi bu yapı, çapraz bağlama prosedürü, geliştirilmiş kimyasal kararlılık, yavaş degradasyon ve kompozit iskelelerin artan mekanik mukavemetinin bir sonucu olarak hücre canlılığını arttırmıştır.

Başka bir çalışmada, Singh ve grubu kalsiyum klorür kullanılarak çapraz bağlanan HA, jelatin ve aljinat bazlı 3B makro gözenekli bir malzeme tasarlamıştır [267]. Yapı iskelesi seçimi, her bir biyopolimerin sağladığı benzersiz özelliklere dayanıyordu: jelatin, hücre yapışmasını ve hücre-hücre etkileşimlerini desteklemek; aljinat, iyi kapsülleme özellikleri ve hücrelere karşı inertlik sağlamak; HA, kök hücre göçünü ve farklılaşmasını geliştirmek ve osteogenezi teşvik etmek için seçilmiştir. Kompozit hidrojel, in-vivo olarak kemik dokusu mühendisliği için kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasını desteklemiştir. Yapı iskelesi, herhangi bir önemli bağışıklık tepkimesi olmadan 1 hafta içinde konakçı doku ile etkili entegrasyonu belirgin bir şekilde teşvik eden hücreleri toplama yeteneğine sahip olmuştur [20]. HA ayrıca metakrilatlanmış jelatin (GelMA) ile birleştirilmiş ve hafif bir foto çapraz bağlamadan sonra bileşik bir ağ oluşturma yeteneği nedeniyle 3B hücre kültürü için sağlam ve iyi bir alternatif bir ürün hazırlanmasını sağlamıştır [268]. GelMA ve metakrilatlanmış HA'nın kombinasyonunun kullanılması, kompozit hidrojellerin mekanik özelliklerini geliştirmiştir. Ayrıca, kompozit yapılı jel iskelelerin fiziksel ve biyolojik özellikleri, bileşim oranı değiştirilerek ayarlanabilmektedir. İlginç bir şekilde, GelMA'nın yokluğunda, insan göbek damarı endotel hücreleri (HUVEC) 3B hidrojellerde herhangi bir yayılma göstermemiş olup bu durum polisakkarit-jelatin biyomalzemelerdeki sinerjistik etkinin önemini vurgulamaktadır [20].

2.4. DOKU MÜHENDİSLİĞİNDE YARA İYİLEŞMESİ UYGULAMALARI

Yara iyileşmesi, travma, cerrahi, yanık ve patolojik durumların (örn. Kanser, enfeksiyonlar) neden olduğu doku yaralanmalarını onarmayı amaçlayan hayati bir biyolojik süreçtir. Altta yatan koşullar veya yaranın ciddiyeti nedeniyle süreç beklendiği gibi ilerlemediğinde hastalar potansiyel olarak ağrı, rahatsızlık, psikolojik stres ve muhtemelen yüksek tıbbi maliyetlerle ilişkili enfeksiyon gibi komplikasyon riski yüksek olan kronik bir yara geliştirebileceklerdir [269]. Bir hastada büyük bir doku defekti oluştuğunda, onu onarmak için gereken içsel fizyolojik yetenek sınırlı kalmakta ve çoğu zaman örneğin otolog greftler kullanıldığında, cerrahi müdahale gerekmektedir [270]. Bununla birlikte, çoğu durumda, greftlenecek doku

miktarındaki kısıtlamalar ve sıklıkla eşlik eden donör alan morbiditesi ile ilişkili transplantasyon cerrahi prosedürlerine duyulan ihtiyaç nedeniyle greftler önerilen/uygun müdahale olmayabilir. Birçok araştırmacı ve klinisyen, doku yapısını ve işlevini eski haline getirmek için içsel yara iyileştirme yeteneğini geliştirecek stratejileri sürekli olarak araştırmaktadır. Doku mühendisliği kullanılarak yapay doku eşdeğerinin geliştirilmesi bu stratejilerden biridir.

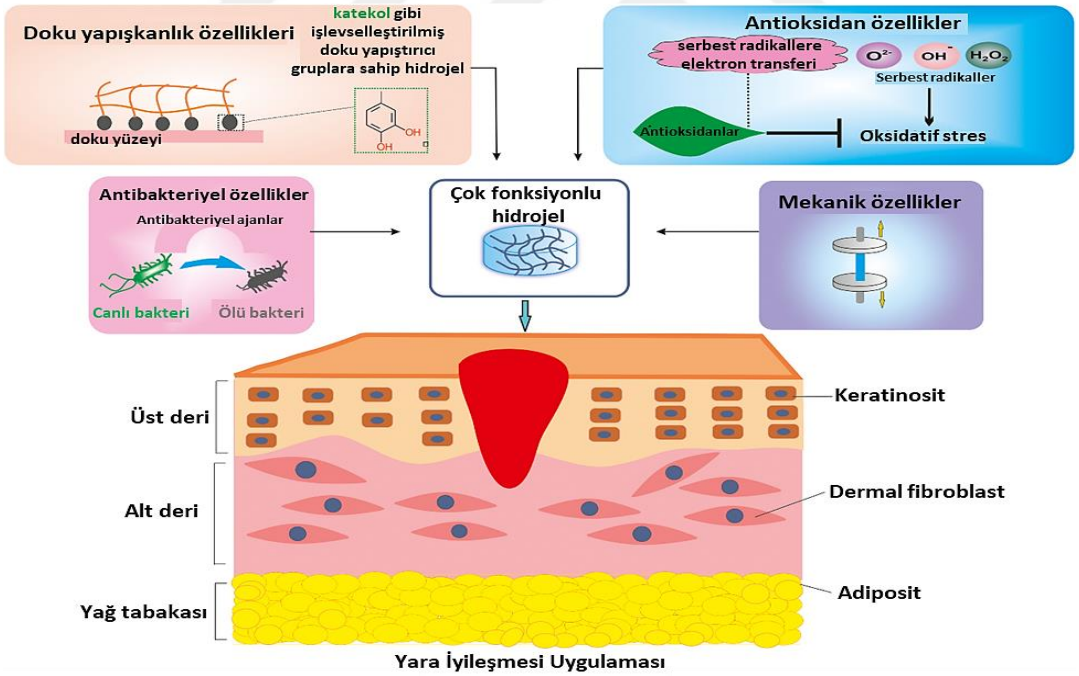
Doku mühendisliği, iyileşmeyi sağlayarak normal dokuyu değiştirecek veya yeniden oluşturacak doku ikamelerinin geliştirilmesi açısından rejeneratif tıpta önemli bir araç haline gelmiştir. İskeleler, hücreler ve/veya büyüme faktörleri gibi doku mühendisliği bileşenleri, yaralı dokuyu kopyalamak ve eski haline getirmek için genellikle üç boyutlu yapılarda birleştirilmektedir [271]. Bunlar arasında daha önceki bölümlerde bahsedildiği şekilde hidrojeller, iyi hidrofiliklikleri, biyouyumlulukları ve ECM gibi 3B gözenekli yapıları nedeniyle yara örtüleri için en rekabetçi adaylar haline gelmiş ve birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir [272]. Hidrojel özelliklerinin karşılaştırma tablosu ve ideal yara iyileştirici malzemelerin sahip olması gereken özellikler **Şekil 2.18**'de sunulmuştur.



Şekil 2.18: Hidrojel özelliklerinin karşılaştırma tablosu ve ideal yara iyileştirici malzemelerin sahip olması gereken özellikler [273].

3B gözenekli yapıya sahip hidrojeller, fizyolojik sıvılarla kolayca şişebilir ve yumuşak elastik özellikler gösterebilmektedir. Hidrojel bazlı biyomalzemeler; filmler, lifler, 3B yapı iskeleleri, enjekte edilebilir yapılar ve hatta mikro iğne (MN) bazlı yamalar/yapıştırıcılar vb. çeşitli

formlarda yara örtüleri ve biyo-yapışkanlar olarak yaygın olarak kullanılmaktadır [274]. Diğer örtü türleri ile karşılaştırıldığında, hidrojel örtüler, yüksek su içeriği nedeniyle zayıf eksüda emme kapasitesi göstermektedirler. Ek olarak, çoğu hidrojelin düşük mekanik özellikleri, onların işlenmesini zorlaştırmaktadır. Öte yandan, hidrojeller kuru yaralar için aktif olarak su ve nemli ortam sağlayabilmektedir. Hidrojellerin yumuşak ve elastik özellikleri, yara iyileşmesinden sonra herhangi bir zarar görmeden kolay uygulama ve çıkarmayı da destekleyebilir. Ayrıca hidrojeller, yatıştırıcı ve serinletici bir etki sağlayarak kutanöz yaraların sıcaklığını düşürmek için faydalı olmaktadırlar [275]. Hidrojel malzemelerinin bileşenine bağlı olarak önemli moleküllerin ve hücrelerin kapsüllenmesi de mümkündür. Bu durum, hidrojel bazlı malzemelere yara yatağına entegrasyon, vaskülarizasyon, bağışıklık uyumluluğu ve dokunun yeniden şekillenmesini destekleme yeteneği dahil olmak üzere yara iyileşmesine yönelik ekstra avantajlar sağlamaktadır [275]. Yara iyileşmesinde kullanıma yönelik çok işlevli hidrojeller geliştirmek için antioksidan etkiler, antibakteriyel aktiviteler, doku yapışkanlığı ve mekanik özellikler gibi çeşitli işlevlerin şematik gösterimi **Şekil 2.19**'da sunulmuştur.



Şekil 2.19: Yara iyileşmesinde kullanıma yönelik çok işlevli hidrojeller geliştirmek için antioksidan etkiler, antibakteriyel aktiviteler, doku yapışkanlığı ve mekanik özellikler gibi çeşitli işlevlerin şematik gösterimi [276].

2.4.1. Antibakteriyel Özellik

Hem akut hem de kronik yaralar, iyileşme sürecini geciktiren mikrobiyal enfeksiyonlara karşı hassastır. Bu nedenle, hidrojel pansumanlara antibakteriyel özellikleri ilave etmek oldukça

önem taşımaktadır [277]. Daha önceki çalışmalarda, yara bölgesindeki enfeksiyonları önlemek için konvansiyonel antibiyotikler gibi çeşitli antibakteriyel ajanlar hidrojellere dahil edilse de bu durumun antibiyotik direncinin artması gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bu kapsamda, araştırmacılar antibakteriyel özelliklere sahip hidrojeller üretmek için yeni yaklaşımlar geliştirmeye odaklanmaktadırlar. Kronik yaralarda en büyük sorunlardan biri olan çoklu ilaca dirençli bakteriyel enfeksiyonla mücadele için antibakteriyel özelliklere sahip hidrojel bazlı yara örtülerinin oluşturulması gerekmektedir [278]. Antibakteriyel hidrojeller, hidrojellerin üretiminde uygulanan polimerlerin doğal anti-enfeksiyon özellikleri kullanılarak veya metalik nanopartiküller (NP'ler), karbon bazlı nanomalzemeler ve nanolifler gibi antibakteriyel ajanlar dahil edilerek üretilerek çeşitli dezavantajların üstesinden gelinmiştir [273].

2.4.2. Antioksidan Özellik

Reaktif oksijen türleri (ROS), genellikle temel haldeki oksijenden daha reaktif olan doğal, oksijen içeren kimyasalları ifade etmektedir [279]. Süper oksit anyon radikalleri ($O_2 \cdot^-$) ve hidroksil radikalleri (OH^-) gibi birçok ROS, insan hücrelerinde oksijenin suya dönüşüm sırasında üretilmektedir [280–282]. Oksijen stresi, aşırı ROS ve düşük antioksidanlar bir denge oluşturmadığında ortaya çıkmaktadır. Kronik yaraların onarımı gibi birçok hastalık oksidatif stresle ilişkili olup antioksidanların aşırı ROS'a karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Bazı kanıtlar, antioksidanlar ve kronik yara onarımı arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bunlar arasında, bitki kaynaklı gıdalarda bulunan polifenoller, mükemmel antioksidan özellikleri nedeniyle kapsamlı bir şekilde incelenmiştir.

Yara iyileşmesi sürecinde çeşitli hücre türleri (trombosit, beyaz kan hücreleri ve epitel hücreleri gibi) birlikte çalışmaktadır. Yaralanmadan sonra yaranın etrafındaki bakterileri öldürmek, kan damarlarını ve epitel dokusunu kademeli olarak onarmak için bir dizi ardışık süreç başlamaktadır [283]. Yukarıda bahsedildiği gibi, ROS, nükleik asitleri, oksitlenmiş proteinleri vb. yok ederek birçok normal hücresel işlevi bozabilmektedir. Etkili yara iyileşmesi sağlamak için, iyileşme süreciyle ilişkili redoks göstergelerinin doğru bir şekilde düzenlenebilmesi için hasarlı dokulardaki aşırı ROS'un hızla ve sürekli olarak uzaklaştırılması gerekmektedir. Yaralanma sırasında ROS'u hızlı ve sürekli olarak çıkarma yeteneği, tüm yaralı dokular için kritik öneme sahiptir. Antioksidan hidrojeller hazırlamak için antioksidan malzemelerin seçiminde öncelikle biyolojik güvenlikleri ve antioksidan kararlılıkları sistematik olarak araştırılmalıdır. İkincisi, hidrojellerin antioksidan kabiliyetini arttırmak için güçlü antioksidan

özelliğine sahip malzemelere öncelik verilerek tercihler yapılmalıdır. Son olarak, işlemi basitleştirmek için sentezlenmesi, modifiye edilmesi ve jel haline getirilmesi kolay olan antioksidan maddeler yukarıdaki koşullar altında tercihli olarak seçilmelidir [277] Kronik yaralar için antioksidan hidrojel pansumanların çalışmasında, doğrudan ekstrakte edilmiş antioksidasyon malzemeleri (çay polifenolleri, üzüm çekirdeği vb.) veya modifiye edilmiş antioksidan malzemeler (modifiye dopamin gibi) kronik yara örtülerinin seçimini büyük ölçüde zenginleştirerek gelecekteki uygulamalar için umut sağlamıştır. Ayrıca daha önce çalışmalarda bahsedildiği gibi katekol yapısının çeşitli doğal antioksidanlarda yaygın olarak bulunduğu ve ROS'un temizlenmesinde önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır [284]Bu nedenle, antioksidan enzimlerle karşılaştırıldığında polifenollerin, antioksidan hidrojellerin yapımı için daha iyi bir seçim olduğu görülmektedir. Amino asitlerin guanidin gruplarının antioksidan özellikleri hakkında raporlar olsa da [284] gelecekte yeni bir araştırma yönü olabilecek antioksidan hidrojel matrisi olarak guanidin amino asitleri hakkında herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Son yıllarda, yara iyileşmesindeki bozulmanın antioksidan ve moleküler yönlerinin daha derinden anlaşılmasıyla yara iyileşmesi tedavisinde önemli gelişmeler gerçekleştirilmiştir [277].

2.4.3. Doku Yapıştırıcıları

Doku yapıştırıcıları, cilde kolay ve çok yönlü uygulama sağlamakla birlikte birçok durumda dikişlere ve zımbalara çekici alternatifler sunmaktadır. Derinin dış yüzeyi, yaralanmamışsa nispeten kuru olup neme duyarlı yapışkan kimyasalların kullanımına izin vermektedir [285,286]. Bununla birlikte, cilt üzerinde kullanılan yapıştırıcıların, içsel veya dışsal mekanik yüklemeye direnmek için genellikle önemli yapışma mukavemeti ve uzama özelliği taşıması gerekmektedir [287]. Deri üzerine yerleştirilen yapıştırıcılar çıkarılmak üzere kolayca erişilebilir olduğundan biyolojik olarak parçalanabilirlik gerekli olmayabilir, ayrıca enfeksiyon riski göz önüne alındığında, antibakteriyel işlev genellikle tercih edilebilir. Bu bağlamda, siyanoakrilat bazlı yapıştırıcılar istenen bu işlevlerin çoğunu sağlayabilir. Bu yapıştırıcılar, yarayı enfeksiyondan koruyan antibakteriyel bir bariyer sağlarken yara kapanmasını sürdürmek için yeterli yapışma mukavemeti sağlayabilirler. Siyanoakrilatların bozunması üzerine toksik yan ürünler ürettikleri bilinmesine karşın bu yapıştırıcıların önemli ölçüde bozunmadan önce deriden ayrılması onları topikal uygulama için uygun aday haline getirmektedir. Ancak kırılgan yapıları bu yapıştırıcıların kullanımlarını küçük yaralar ve kısa kesikler ile sınırlamaktadır. Kitosan [288,289]ve aljinat [290,291]'tan hazırlanmış doku yapıştırıcıları da yara tedavisinde

yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar tipik olarak hidrojeller olduğundan, yara eksüdasını yöneten ve doku rejenerasyonu için uygun bir ortam sağlayan bir yara örtüsü olarak da işlev görebilirler [292]. Ayrıca söz konusu bu yapılar kimyasal modifikasyon sonrası antibakteriyel etkiler de gösterebilirler. Bu yaklaşımları esas alarak birçok malzeme cilt yapıştırıcıları olarak keşfedilmiştir [293–297]. Örneğin, Zhou ve arkadaşları, yerinde sinir uygulamaları oluşturmak için kitosan ve ε-polilizin kullanarak yapışkan bir hidrojel geliştirmişlerdir. Bu çalışmada; jelleşme süresi, biyouyumluluk, mekanik özellik ve sinir bağı özellikleri incelenmiştir. Ayrıca, bağlanma kuvvetini artırmak için, yapıştırıcı katekol grupları polilizin omurgasına modifiye edilmiştir. Bir periferik sinir hayvan modelinde, elde edilen malzemelerin etkinliği için bu kitosan bazlı yapıştırıcı kullanılarak anastomoz yapılmıştır [298]. Bir diğer çalışma Floreani ve arkadaşları metakrilat ve aldehit grupları ile fonksiyonel hale getirilmiş aljinat bazlı bir doku örtücü önermişlerdir [299]. Metakrilatlanmış aljinat (AMA), AMA dialdehit (AMA-DA) oluşturmak üzere sodyum periyodat ile oksitlenmiştir. Aljinatın metakrilasyonu, polisakkaritin bir fotobaşlatıcı varlığında görünür yeşil ışığa maruz bırakılarak foto-çapraz bağlanma yeteneğine sahip olmasını sağlamıştır. Bununla birlikte, aljinat omurgasının oksidasyonu, hücre dışı matris proteinleri ile kovalent bağlar oluşturabilen fonksiyonel aldehit gruplarını ortaya çıkarmıştır. Ortaya çıkan AMA-DA, yerinde kürlenebilen, enjekte edilebilir bir doku yapıştırıcısı olup akciğer onarımı için antikanser terapötik bir doku örtücü olarak geliştirilmiştir. Doksorubisin kapsüllü mikron altı küreler, AMA-DA öncü çözeltileri ile harmanlanarak kalıplara enjekte edilmiş ve dolgu yamaları oluşturmak için liyofilize edilmiştir. AMA'nın eklenmesi, patlama basıncı performansını iyileştirmiş ve AMA-DA sızdırmazlık malzemesinin katmanlara ayrılmasını azaltmıştır. Ayrıca bu aljinat bazlı yapılara doksorubisin kapsüllü mikroküreler yüklendiğinde elde edilen doku sızdırmazlık maddeleri, insan akciğer kanseri hücresi canlılığını azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir [300].

Bununla birlikte, tüm malzemeler için önemli bir husus, cildin pH'ı (pH 4−6) [301] ve deri altı dokuların pH'ı (pH 6,7− 7,1) [302] nispeten asidik olması kimyasal reaksiyon kinetiğini değiştirerek yapıştırıcı ile cilt arasında arayüzey bağlarının oluşumunu etkileyebilir. Örnek olarak, kinonun totomerize bir formu olan kinon metid, asidik koşullar altında kararlı olabilir ve böylece takip eden çapraz bağlanma reaksiyonlarını geciktirebilir [303]. Bu nedenle, katekol bazlı yapıştırıcılar asidik cilt ortamlarında optimum performans elde edilemeyebilir. Diğer hususlar, yapıştırıcının dehidratasyonu ve geçirgenliği üzerindeki kontrolunun sağlanmasıdır. Cilt yapıştırıcıları genellikle havaya maruz kaldıkları için zamanla kuruyabilirler. Cilt

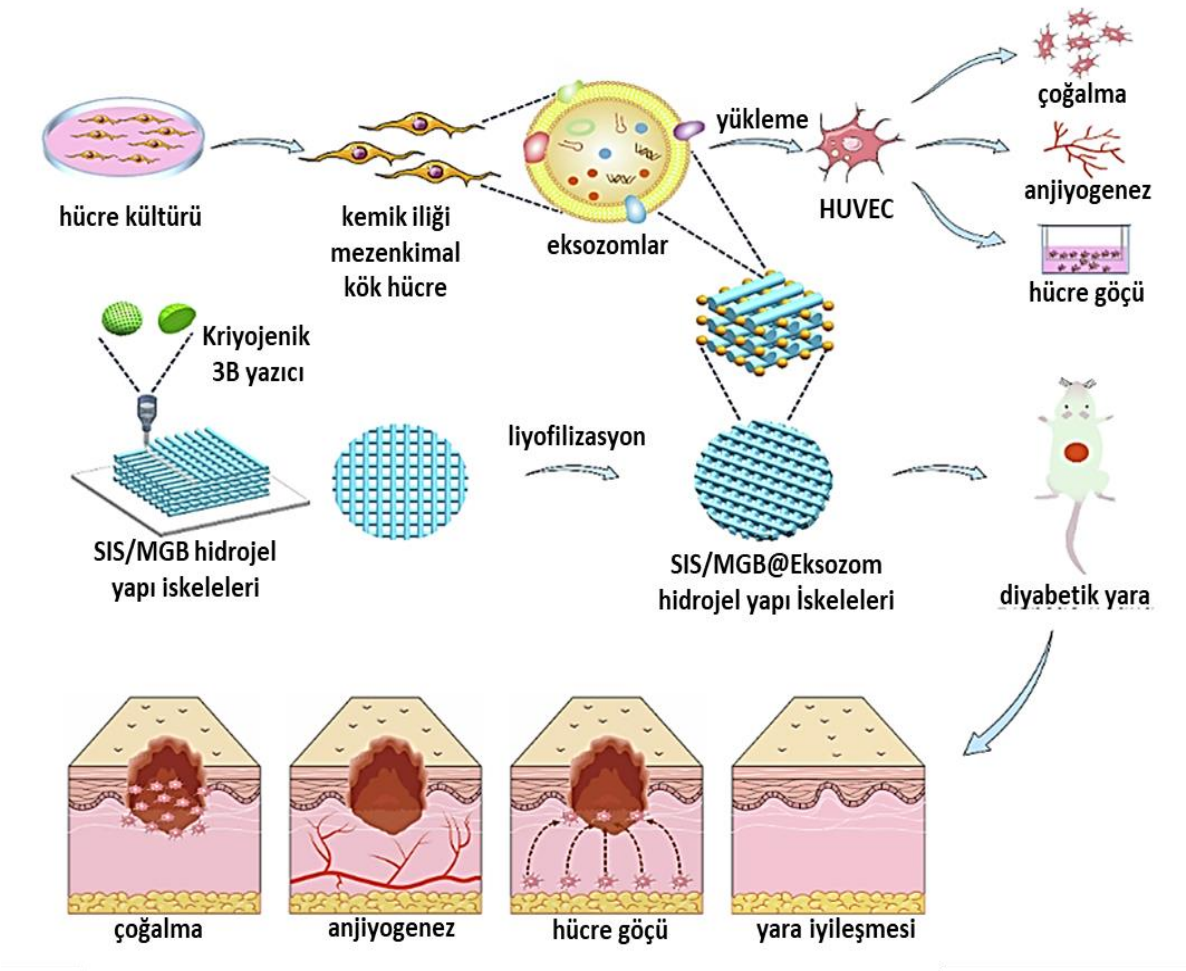
yapıştırıcılarının kimyasal ve mekanik bütünlüğünü zaman içinde korunması ve genellikle dehidratasyonu önlemek için ek önlemler alınması gerekmektedir [304].

2.4.4. Anjiyogenez

Anjiyogenez olarak da bilinen kan damarlarının oluşumu cilt yaralarının iyileşmesinde önem taşımaktadır [305]. Yüksek derecede vaskülarize matris, yara bölgesinde yeni dokuların yenilenmesi için yeterli besin ve oksijen sağlamaktadır. Ayrıca hem doğal dokuların hem de implante edilen stentlerin büyümesine vasküler ağların oluşumu eşlik etmesi gerekmektedir [306]. Yara iyileşmesinin moleküler mekanizması ve tam süreci oldukça karmaşık [307,308] olup normalde bir cilt yaralanmasının meydana gelmesinden sonra iyileşme sürecini tamamlamak için üç adımdan geçmesi gerekmektedir. Bunlar; ani hemostaz ve inflamasyon, proliferasyon ve doku yeniden şekillenmesi şeklindedir [307]. Proliferasyon aşamasına eşlik eden önemli bir aktivite, anjiyogenez olarak bilinen bir süreç olan yeni kan damarlarının oluşumudur. Bozulmamış dokularda, mikro damar sistemi, yeterli besin ve oksijenin, atık ürünlerin ve karbondioksitin uzaklaştırılmasıyla dokulara denge içinde verildiği bir homeostaz durumunda kalmaktadır. Yaralanma sonucu, mikro damar sistemi bozularak sıvı birikmesine, iltihaplanmaya ve hipoksi gelişimine neden olmaktadır. Hipoksi ve inflamatuar sitokinler, endotel hücrelerini aktive ederek, bağışıklık hücrelerinin toplanmasına yol açmaktadır. Yaralı doku, erken bir nötrofil akını ve ardından makrofajlar tarafından toplanmaktadır [309]. Makrofajların polarizasyonunun genellikle anjiyogenezin düzenlenmesi ve büyüme faktörlerinin üretimi ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir [307]. Cilt yenilenmesi sürecinde artan anjiyogenez seviyesi yara iyileşmesini hızlandırabilirken nekrozu etkili bir şekilde önleyebilmektedir. Buna karşın, anormal anjiyogenez birkaç hafta hatta aylarca sürebilen ağrıya neden olabilmektedir ve yara kapanmasında başarısızlığa yol açabilmektedir.

Protein, gen, ilaç veya ilaç benzeri bileşikler ve kök hücre terapötikleri dahil olmak üzere geleneksel terapötiklerin bazı durumlarda etkili olduğu bildirilse de bu terapötiklerin uygulanması uygun taşıyıcıların olmaması nedeniyle kısıtlanmaktadır [307]. Terapötik bileşenler doğrudan enjekte edildiğinde hızla vücuttan uzaklaştırmaktadır. Bu biyolojik olarak aktif moleküllerin hedef bölgelere verimli ve uygun maliyetli bir şekilde iletilmesi, vücuttaki bu aktif moleküllerin zayıf farmakokinetiği ve dar terapötik penceresi nedeniyle zorluk oluşturmaktadır. Bu sorunu çözmek için araştırmacılar, aktif maddeleri hedef bölgeye ulaştıracak gözenekli yapı iskeleleri kullanmaktadırlar [310].

Doğal hücreler hafif, besleyici, 3B bir ortamda yaşadıklarından araştırmacılar, doğal ortamlarına benzer şekilde hücre büyümesini desteklemek için bu 3B yapıyı taklit etmek için yoğun biçimde çalışmaktadırlar. Geleneksel 2 Boyutlu (2B) hücre kültürünün zengin bir geçmişi olmasına rağmen birçok araştırmacı, in-vivo olarak mikro çevre arasında bir boşluk olduğuna inanmaktadır. Son yıllarda teknolojinin gelişmesiyle birlikte 3B iskeleler yardımıyla hücre kültürü yapılabildiğinden 3B yapı iskelelerin tasarım ve geliştirilmesi büyük ilgi görmüştür. 3B biyomalzemeler, hidrojeller ve polimer iskeleler dahil olmak üzere tüm boyutları mikrometre veya daha büyük olan biyomalzemeler [311] olup bu 3B yapı iskelelerini üretmek için yaygın olarak kullanılan yöntemler arasında 3B baskı, fotolitografi ve faz ayırma teknikleri yer almaktadır [312–314]. Bunların arasında, 3B baskı teknolojisi, cilt ve kılcal damarların basılması gibi cilt yenilenmesi alanında birçok sevindirici gelişmeye imza atmıştır [314–317]. Hu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada diyabetik yaraların tedavisi için hidrojel yapı iskelelerine odaklanılmış ve bu yeni stratejinin anjiyogenezi teşvik ederek diyabetik yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermişlerdir [318]. Mevcut çalışmada, gözenekli biyoaktif cam (MBG) ile hücresizleştirilmiş ince bağırsak submukozası (SIS) oluşturularak eksozomlarla birleştirilmiş ve bu eksozomların sürekli salınmasına izin veren ekstrüzyon tabanlı bir kriyojenik 3B yazıcı teknolojisi ile yapı iskelesi örtü malzemesi üretilmiştir. Kriyojenik 3B yazıcı SIS/MBG@Exos hidrojel yapı iskeleleri ve SIS/MBG@Exos hidrojel yapı iskelelerinin diyabetik yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin şematik gösterimi **Şekil 2.20**'de sunulmuştur.



Şekil 2.20: Kriyojenik 3B yazıcı SIS/MBG@Exos hidrojel yapı iskeleleri ve SIS/MBG@Exos hidrojel yapı iskelelerinin diyabetik yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinin şematik gösterimi [318].

SIS/MBG@Exos hidrojel iskeleleri, HUVEC'lerin proliferasyonunu, göçünü ve anjiyogenezini destekleyebilecek uygun gözeneklilik, biyouyumluluk ve hemostaz kabiliyetine sahip iyi bir 3B yapıda olduğu gösterilmiştir. Diyabetik yaraların in-vivo sonuçları, SIS/MBG@Exos hidrojel iskelelerinin, yaraların kan akışını artırarak ve diyabetik yaranın anjiyogenez sürecini uyararak diyabetik yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir. Ayrıca SIS/MBG@Exos hidrojel yapı iskeleleri granülasyon dokusu oluşumunu, iyi organize edilmiş kolajen lif birikimini, işlevsel yeni kan damarı büyümesini ve yara iyileşmesini destekleyen faktörleri de desteklemiştir.

2.5. OKSİJEN ÜRETEN MALZEMELERE AİT ÇALIŞMALAR

Doktora çalışmalarının bir kısmı Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK), 2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı'ndan kazanılan burs kapsamında Amerika'da, Harvard Tıp Fakültesi, Tıp Mühendisliği bölümünde

gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda hem doktora sırası araştırmalar gerçekleştirilmiş hem de Harvard Tıp Fakültesi'nde yer alan proje ve proje başvuruları kapsamında ön deneme çalışmalarına destek olunmuştur. Çalışılan projelerde oksijen üreten mikroparçacıklar (OÜM) sentezlenmiş olup, OÜM karakterizasyonu ve oksijen salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla yapılan ön deneylerin sonuçları bulgular kısmında, kavramsal çerçeve de bu başlık altında toplanmıştır.

Doku ve organ biyomühendisliği, fonksiyonel yedek organlar üretme potansiyeli taşımaktadır. Bununla birlikte, canlı implantların uzun süreli hayatta kalması için gerekli olan tam kalınlıkta vaskülarizasyonun sağlanması, özellikle klinik olarak boyutlandırılmış implantlar için büyük zorluk oluşturmaktadır. Vasküler öncesi faz sırasında, implant edilerek tasarlanmış dokular veya daha büyük canlı implantlar için anoksi, hücre ölümü ve nihayetinde implant başarısızlığı ile sonuçlanan komşu konak dokudan besin maddelerinin difüzyonuna bağlı metabolik zorluklarla karşılaşılmaktadır. Bu problemin çözümü için hidrofobik oksijen üreten mikro malzemelerin mühendislik dokularına dahil edilmesiyle, kendi kendini oksijenlendiren dokuların mühendisliğinin ele alınabileceği bildirilmektedir [319–321]. Dokuların kendi kendine oksijenlenmesi, anoksik stresleri homojen ve doku boyutundan bağımsız bir şekilde hipoksik stimülasyona dönüştürmektedir. Oksijen basıncının yerinde yükselmesi, implante edilmiş hücreler tarafından yüksek miktarlarda anjiyojenik faktörlerin sürekli üretimini sağlarken metabolik olarak korunan bir pro-anjiyojenik mikro ortam sunulmaktadır. Sayısal simülasyonlar, canlı dokuların kendi kendine oksijenlenmesinin, in-vivo deneylerle ampirik olarak doğrulanan implante edilmiş dokuların hızlı tam kalınlıkta vaskülarizasyonunu etkili bir şekilde düzenleyeceğini tahmin etmektedir. Bu nedenle, dokuların kendi kendine oksijenlenmesi, organ nakli ve rejeneratif tıp uygulamalarında geliştirilmesi beklenen canlı implantların damarlanmasını sağlamak için yeni, etkili ve yaygın olarak uygulanabilir bir stratejiyi temsil etmektedirler [322].

Yurt dışı doktora sırası çalışmaları kapsamında, akut bir miyokard enfarktüsü (MI) alanı içinde ve çevresinde hipoksik bir ortam yaratan, OÜM yoluyla vaskülogenezi destekleyen kalp koruyucu ve oksijenli terapötik hidrojellerin üretim stratejisi sunulmuştur. Enfarktüs bölgesinde OÜM'lerin lokal ve sürekli olarak iletilmesi için ipek fibroinden enjekte edilebilir, mekanik olarak sağlam ve doku yapıştırıcı özelliğe sahip hidrojeller geliştirilmiştir. MI sırasındaki oksijen eksikliği, büyük hücre ölümü ve sert, kasılmayan fibrotik doku oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Bu amaçla, anoksik stresi ve kalın canlı dokuların vaskülarizasyonunu

hafifletmek için OÜM'in üretimi incelenmiştir. OÜM'ler, iki haftaya kadar hidroliz üzerine oksijen salımı sağlamaktadırlar. Bir kombinatoryal etki, in-vivo hipoksi kaynaklı hücre ölümünü önlemekte olup implantlar içinde damar ağları oluşturmaktadır. Oksijen salınımı, mikroparçacıkların polimer içeriğini ayarlayarak kontrol edilebilmektedir [322] OÜM'ler kalsiyum peroksit yüklü polikaprolakton mikroparçacıkların kontrol edilebilir ve ölçeklenebilir su içinde yağ içinde su çift emülsiyon sentez yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Kalsiyum peroksit yüklü polikaprolaktonun oksijen üretme kabiliyetinin stokiyometrisi, aşağıdaki kimyasal denklemlerle açıklanmaktadır:

$$CaO_2 + 2H_2O \rightarrow Ca(OH)_2 + H_2O_2 \quad \textbf{(2.1)}$$

$$2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O \quad \textbf{(2.2)}$$

Bu denklemlerden, kalsiyum peroksitten oksijen salınımının, kalsiyum peroksitin su moleküllerine maruz kalmasıyla açığa çıktığı görülmektedir.

3. YÖNTEM

Tez genelinde kullanılan kimyasal maddeler, hücre hattı, cihazların bilgisi ve özelliklerine ait detaylar aşağıda sunulmuştur.

3.1. KİMYASAL MALZEMELER VE CİHAZLAR

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Tez genelinde kullanılan tüm kimyasal maddeler ve özelliklerine ait bilgiler **Tablo 3.1**'de sunulmuştur.

Tablo 3.1: Kimyasal Malzeme Listesi.

Numara	Kimyasal Malzeme Adı	Firma	Özellikler
1	Betasiklodekstrin	Acros Chemicals	%98 saflık
2	Kappa-Karagenan	Acros Chemicals	M_A: 788,7g/mol
3	Jelatin	Sigma-Aldrich	jel mukavemeti:300, tip A
4	Metakrilik Anhidrit	Sigma-Aldrich	%94 saflık
5	Aseton	Sigma-Aldrich	≥%99 saflık
6	Irgacure 2959	Sigma-Aldrich	%98 saflık
7	Trietilamin	Sigma-Aldrich	%99,5 saflık
8	Diyaliz membranı	Sigma-Aldrich	12-14 kDa
9	Akrioil Klorür	Sigma-Aldrich	>%96 saflık
10	Sodyum Hidroksit	Sigma-Aldrich	≥%97 saflık
11	Potasyum Klorür	Sigma-Aldrich	%99,9 saflık
12	(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT)	Sigma-Aldrich	%98 saflık
13	Dimetilformamid	Isolab	%99.8 saflık
14	Fosfat Tampon Tuzu (PBS)	BioShop	Tablet
15	Dulbecco'nun Fosfat Tampon Çözeltisi (DPBS)	Biological Industries	kalsiyum ve magnezyum içermez
16	Dulbecco'nun Modifiye Kartal Ortamı (DMEM)	Biological Industries	yüksek glikoz
17	Fetal Sığır Serumu (FBS)	Biological Industries	%10 FBS
18	Penisilin/streptomisin	Thermo Fischer Scientific	100U/100 µg/mL

Tablo 3.1: Kimyasal Malzeme Listesi (devam).

Numara	Kimyasal Malzeme Adı	Firma	Özellikler
19	%0,05 Tripsin-Etilen Diamin Tetraasetik Asit (Tripsin-EDTA)	Gibco	%0,05 Tripsin-EDTA
20	Kalsiyum Peroksit	Sigma-Aldrich	%75 saflık
21	Polikaprolakton	Sigma-Aldrich	M_A = 80 000
22	Diklorometan	Sigma-Aldrich	≥%99,8 saflık
23	Etanol	Sigma-Aldrich	≥%99 saflık
24	Metanol	Sigma-Aldrich	≥%99,8 saflık
25	Poli(vinil alkol)	Sigma-Aldrich	M_A = 89 000-98 000

3.1.2. Kullanılan Hücre Hatları

Tez kapsamında, fare embriyonik fibroblast hücre hattı (3T3) kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

Tez genelinde kullanılan tüm cihazlar ve özelliklerine ait bilgiler **Tablo 3.2**'de sunulmuştur.

Tablo 3.2: Kullanılan Cihaz Listesi.

Numara	Kullanılan Cihaz	Cihaz Özellikleri
1	Evaporatör (Vakumlu Döner Buharlaştırıcı)	LabTech
2	Liyofilizatör	Christ
3	UV Işık Kaynağı	Omnicure S2000, Excelitas Technologies
4	Santrifüj	Hitachi
5	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR)	Jasco FT/IR-4600
6	Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (1H NMR)	Varian UNITY INOVA
7	Mekanik Test Cihazı	TA.XTPlus
8	Reometre Cihazı	Discovery HR 30 (TA Instrument)
9	Mikroplaka Okuyucu	BMG LABTECH SPECTROstar® Nano
10	Floresans Mikroskobu	Zeiss Axio
11	Hücre Kültürü İnkübatörü	Panasonic
12	Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu	Philips FEI Quanta FEG 450 marka FE-SEM
13	Santrifüj Cihazı	Eppendorf 5702
14	Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu	Zeiss MERLIN HR-SEM
15	Dinamik Işık Saçılımı Spektrometresi	DLS, Malvern Nano ZS ZEN3600
16	Oksijen Sensörü	ISO-OXY-2

3.2. YÖNTEM

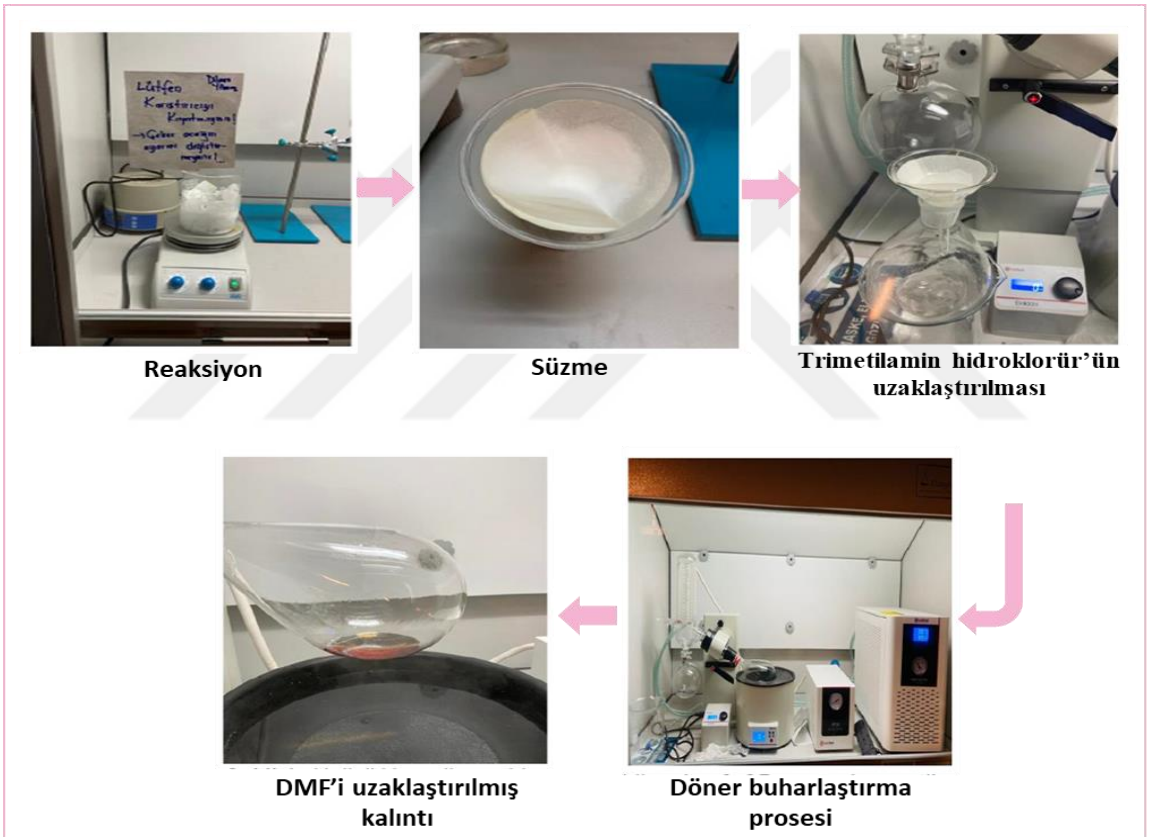
3.2.1. Akrilat Beta Siklodekstrin Sentezi (Ak-β-SD) ve Optimizasyon Çalışmaları

Ak-β-SD, daha önce literatürde bildirilen yöntem referans alınarak sentezlenmiştir [21]. 200 ml'lik bir beher içerisine 10 g β-SD tartılarak ilave edilmiştir. Üzerine 7 ml trietilamin (TEA) ilave edilip manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çözelti üzerine 150 ml dimetilformamid (DMF) ilave edilerek β-SD tamamen çözününceye kadar karıştırılmaya devam edilmiştir. Organik çözücülerin buharlaşmaması için beherin ağzı parafilm ile sıkıca sarılarak kapatılmıştır. Ardından bir buz banyosu hazırlanarak karışım bu buz banyosu içerisine konulmuş çözelti sıcaklığı 0°C'ye düşürülmüştür. Çözelti üzerine damla damla 5 ml akrilik asit ilave edilmiştir. Daha sonra bu karışım çeker ocak içerisinde oda sıcaklığında, 20 saat boyunca 250 rpm'de karışmaya bırakılmıştır. Trimetilamin hidroklorür'ün uzaklaştırılarak berrak çözelti elde edilmesi amacıyla 20 saat sonunda karışım buharlaştırma balonuna bir filtre kağıdı yardımıyla süzülmüştür. Ardından kalıntı DMF'in uzaklaştırılması amacıyla çözelti vakumlu döner buharlaştırıcı prosesine tabii tutulmuştur. DMF'in buharlaştırma işlemi sonucu 20 ml kalıntı elde edilmiştir. DMF'in buharlaştırılması sonucu elde edilen 20 ml kalıntı 600 ml aseton ile çöktürülerek iki kez aseton ile yıkanmıştır. Çöktürme işlemi ardından çözelti filtre kağıdı yardımıyla süzülmüştür. Çökelti -80 °C'de 1 gece süresince dondurulmuş ve 3 gün boyunca tamamen kuruyana kadar liyofilize edilmiştir.

Ak-β-SD sentezi sonrası β-SD ile karşılaştırma ve akrilatlama reaksiyonunun gerçekleştiğini tespit etmek amacıyla Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) analizi yapılarak ilgili spektrumlar bulgular bölümünde verilmiştir. Çekilen FTIR sonucunda sentez sırasında beta siklodekstrinin yeteri kadar akrilatlanmadığı tespit edilmiştir. Bu sebeple, sentez parametrelerinin değiştirilmesine karar verilmiştir. Kapsamlı literatür taraması yapıldığında Ak-β-SD sentez adımında akrilatlanmayı sağlayan ajan akrilik asit yerine çok daha reaktif olan akriloil klorür kullanılmasına karar verilmiştir. Değiştirilen ve nihai sentez parametreleri aşağıda detaylı şekilde sunulmuştur. Buna göre;

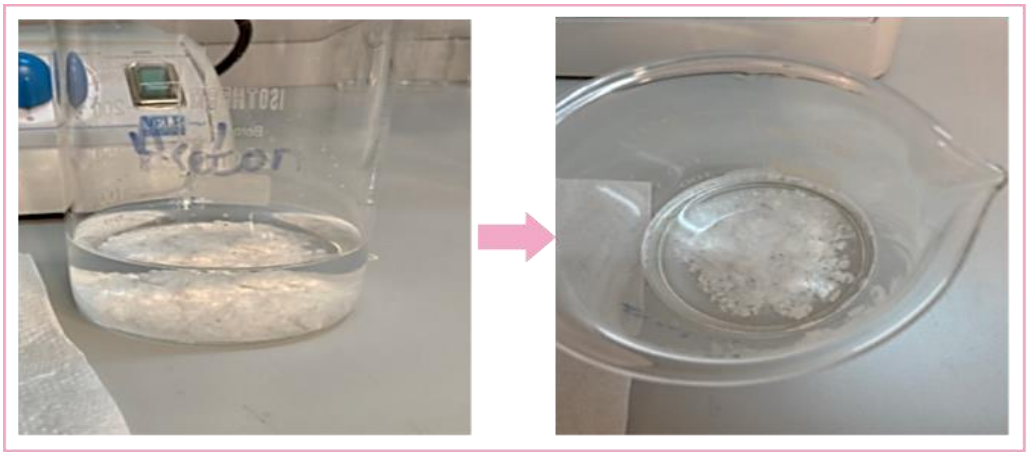
200 ml'lik bir beher içerisine 10 g β-SD tartılarak ilave edilmiştir. Üzerine 7 ml trietilamin (TEA) ilave edilip manyetik balık ile karıştırılmıştır. Çözelti üzerine 150 ml dimetilformamid (DMF) ilave edilmiş ve β-SD tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılmıştır. Organik çözücülerin buharlaşmaması için beherin ağzı parafilm ile sıkıca sarılarak kapatılmıştır. Ardından bir buz banyosu hazırlanarak karışım bu buz banyosu içerisine konulmuş çözelti sıcaklığı 0°C'ye düşürülmüştür. Çözelti üzerine damla damla 7 ml akriloil

klorür ilave edilmiştir. Daha sonra bu karışım çeker ocak içerisinde oda sıcaklığında (RT), 20 saat boyunca 250 rpm'de karışmaya bırakılmıştır. 20 saat sonunda karışım buharlaştırma balonuna bir filtre kağıdı yardımıyla süzülmüştür. Bu işlem trimetilamin hidroklorür'ün uzaklaştırılarak berrak çözelti elde edilmesi amacıyla yapılmıştır. Ardından kalıntı DMF'in uzaklaştırılması amacıyla çözelti vakumlu döner buharlaştırıcı prosesine tabii tutulmuştur. DMF'in buharlaştırma işlemi sonucu 20 ml kalıntı elde edilmiştir. Ak-β-SD, daha önce literatürde verilen yöntem referans alınarak sentezlenmiş olup kullanılan akriloil klorür miktarı ve karıştırma süresi revize edilmiştir [21,22]. Ak-β-SD sentezine ait şematik gösterim **Şekil 3.1**'de sunulmuştur.



Şekil 3.1: Ak-β-SD sentezine ait şematik gösterim.

DMF'in buharlaştırılması sonucu elde edilen 20 ml kalıntı 600 ml aseton ile çöktürülmüş ve iki kez aseton ile yıkanmıştır. Asetonla çöktürme prosesi **Şekil 3.2**'de sunulmuştur.



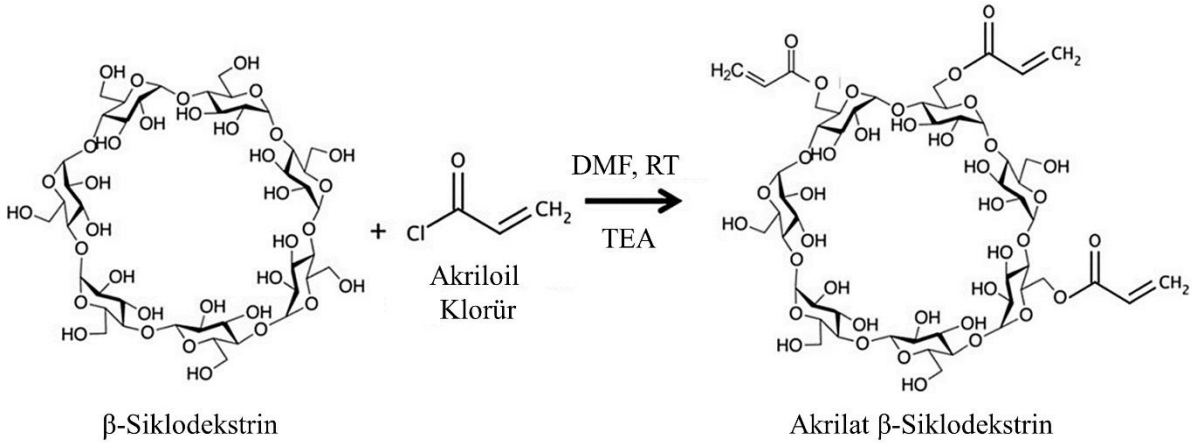
Şekil 3.2: Asetonla çöktürme prosesi.

Çöktürme işlemi ardından çözelti filtre kağıdı yardımıyla süzülmüştür. Süzme prosesine ait görsel **Şekil 3.3**'te sunulmuştur.



Şekil 3.3: Süzme prosesi.

Çökelti -80°C'de 1 gece süresince dondurulmuş ve 4 gün boyunca tamamen kuruyana kadar liyofilize edilmiştir. Ak-β-SD'nin yapısal karakterizasyonun değerlendirilmesi için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) analizleri gerçekleştirilmiştir. Ak-β-SD sentezine ait kimyasal yapı **Şekil 3.4**'te sunulmuştur.



Şekil 3.4: Ak-β-SD sentezine ait kimyasal yapı.

3.2.2. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Hazırlanması ve Optimizasyonu

Konak-konuk supramoleküler hibrit hidrojeller, daha önce literatürde bildirilen yönteme göre sadece %8 oranında jelatin tercih edilerek sentezlenmiştir [21]. Buna göre;

%0,05 (ağ./hac.) oranında fotobaşlatıcı (Irgacure 2959) fosfat tampon çözeltisi (FTÇ) içerisinde oda sıcaklığında tamamen çözününceye kadar karıştırılmıştır. Ardından %4 ve %10 (ağ./hac.) oranında Ak-β-SD ilave edilerek çözünmesi sağlanmıştır. Çözelti sıcaklığı 37°C'ye çıkarılarak farklı konsantrasyonlarda (%0,5, %1 ve %4 (ağ./hac.) KKM eklenerek çözelti 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Ardından %4 ve %8 (ağ./hac.) oranında jelatin ilave edilerek çözelti 1 saat daha karıştırılmıştır. Çalışılan gruplar ve gruplara ait özellikler **Tablo 3.3**'te verilmiştir. Hazırlanan çözelti, polidimetilsiloksan (PDMS) kalıplara dökülerek Ultraviyole (UV 360-480 nm, OmniCure S2000, Excelitas Technologies, Waltham, MA, USA) ışık kaynağı altında 10 dakika ve 40 saniye boyunca (yoğunluk: 10 mW/cm^2, yükseklik:8 cm) çapraz bağlanmıştır. Literatürde UV kürleme süresi olarak10 dakika verilmiştir. Fakat bu sürenin hücre kültür çalışmalarında canlı hücre sayısını olumsuz etkileyebileceği düşünülerek 40 saniye UV kürleme süresi de diğer bir parametre olarak tercih edilmiştir. 10 dakika boyunca UV ile kürlenen hidrojel yapısında oluşacak yoğun çapraz bağlar sebebiyle kendi kendini iyileştirme davranışının da olumsuz etkileneceği göz önünde bulundurularak bu karar verilmiştir. Ayrıca literatürde verilen çalışmada (10 dakika UV ışık süresi) ikili çapraz bağlanma yapılmamıştır. Kappa-karagenanın sülfat gruplarının KCl ile fiziksel çapraz bağlanmasının da pozitif olarak etki edeceği ve buna bağlı olarak sürenin kısaltılabileceği düşünülmüştür. Sonrasında fiziksel çapraz bağlanmanın da sağlanması amacıyla kimyasal çapraz bağlanan polimer, %5 potasyum klorür (KCl, ağ./hac.)

çözeltisine 10 dakika boyunca daldırılmıştır. Hidrojeller, bağlanmayan KCl çözeltisini uzaklaştırmak için 2-3 dakika boyunca FTÇ çözeltisinde bekletilmiştir. Kontrol grubu olarak KCl ile çapraz bağlanmamış gruplarda oluşturulmuştur.

Tablo 3.3: Konak-Konuk Hibrit Hidrojel Çalışma Grupları ve Özellikleri.

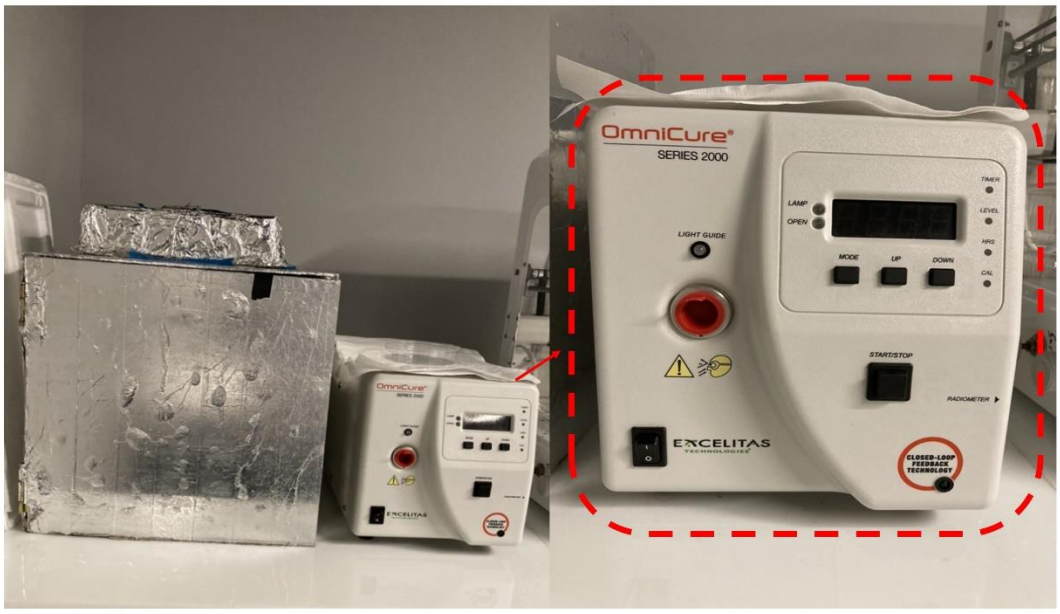
Formülasyon Numara	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	UV Kürleme Süresi
1	4	8	0	0,05	0	40 saniye 10 dakika
2	10	8	0		0	40 saniye 10 dakika
3	10	4	0,5		0 ve 5	40 saniye 10 dakika
4	10	4	4		0 ve 5 ve 10	40 saniye 10 dakika
5	10	8	1		0 ve 5	40 saniye 10 dakika

Kürlenen numuneler ikiye ayrılmış ve bir kısmı -80°C'de bir gece bekletildikten sonra şişme testi için liyofilizatörde iki gün boyunca kurutulmuştur. Hazırlanan hidrojellerin diğer bir kısmı oda koşullarında degradasyon testleri için 20 ml PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılmış, bir kısmı da 20 ml PBS pH:7.4 çözeltisi içerisinde 37°C etüvde degradasyon testine tabii tutulmuştur. Her bir formülasyona ait görseller bulgular bölümünde sunulmuştur. Bu şekilde konakçı-konak jellerin hem oda koşullarında hem de 37°C'de pH:7.4 fosfat tampon çözeltisi ortamında degradasyon davranışları incelenmiştir.

Tüm bu işlemlerden önce kappa-karagenan ile hazırlanan numunelerin yarısı fiziksel çapraz bağlanma amacıyla %5'lik KCl (ağırlık/hacim) çözeltisine 10 dakika daldırılmıştır. Karışım 10 dakika hafifçe çalkalandıktan sonra tuz kalıntılarını uzaklaştırmak için FTÇ ile yıkanmıştır. Bu kapsamda, 14 farklı formülasyona degradasyon testleri yapılmış olup ilgili sonuçlar bulgular bölümünde sunulmuştur. Degradasyon testleri sonucunda son formül belirlenip değiştirilen parametreler ve nihai sentez parametreleri aşağıda detaylı şekilde sunulmuştur. Buna göre;

%0,25 (ağ./hac.) oranında fotobaşlatıcı (Irgacure 2959) fosfat tampon çözeltisi (FTÇ) içerisinde oda sıcaklığında tamamen çözününceye kadar karıştırılmıştır. Ardından %10 (ağ./hac.) oranında Ak-β-SD ilave edilerek çözünmesi sağlanmıştır. Çözelti sıcaklığı 70°C'ye çıkarılarak farklı konsantrasyonlarda (%2, %3 ve %4 (ağ./hac.)) KKM eklenmiş ve çözelti 1 saat karıştırılmıştır. Ardından %16 (ağ./hac.) oranında jelatin ilave edilip çözelti 1 saat daha

karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti polidimetilsiloksan (PDMS) kalıplara dökülerek Ultraviyole (UV 360-480 nm, OmniCure S2000, Excelitas Technologies, Waltham, MA, USA) ışık kaynağı altında 40 saniye boyunca (yoğunluk: 10 mW/cm^2, yükseklik: 8 cm) çapraz bağlanmıştır. UV ışık kaynağı sistemine ait görsel **Şekil 3.5**'te sunulmuştur. Sonrasında fiziksel çapraz bağlanmanın da sağlanması amacıyla kimyasal çapraz bağlanan polimer, %5 potasyum klorür (KCl, ağ./hac.) çözeltisine 10 dakika boyunca daldırılmıştır. Hidrojeller, bağlanmayan KCl çözeltisini uzaklaştırmak için 2-3 dakika boyunca FTÇ çözeltisinde bekletilmiştir. Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellere ait çalışma grupları **Tablo 3.4**'te sunulmuştur.



Şekil 3.5: UV ışık kaynağı kürleme sistemine ait görsel.

Tablo 3.4: Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere Ait Çalışma Grupları.

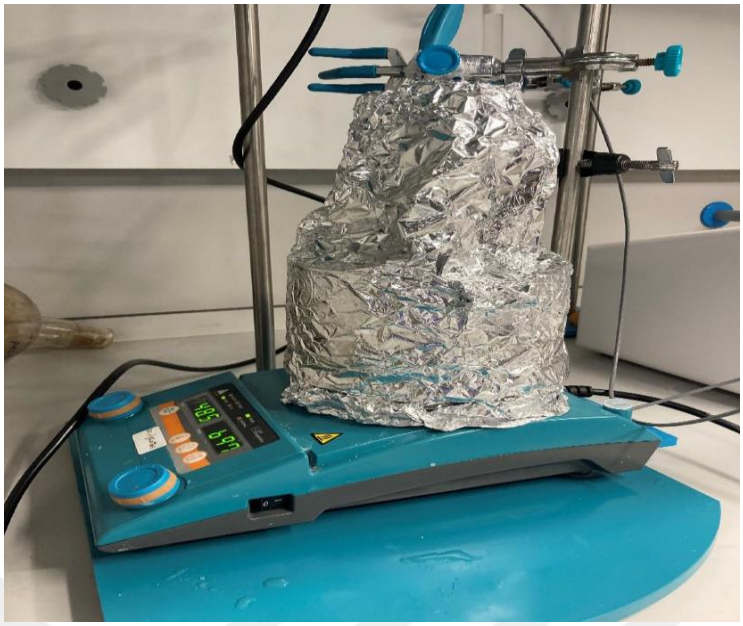
Formülasyon Numara	Grup İsmi	Grup Açıklaması
12	%2 KKM (ağ./hac.) içeren hibrit hidrojel	%10 Ak-β-SD (ağ./hac.), %2 KKM (%12 metakrilasyon derecesine sahip KKM) ve %16 Jelatin (ağ./hac.) içeren konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel
13	%3 KKM (ağ./hac.) içeren hibrit hidrojel	%10 Ak-β-SD (ağ./hac.), %3 KKM (%12 metakrilasyon derecesine sahip KKM) ve %16 Jelatin (ağ./hac.) içeren konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel

Tablo 3.4: Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere Ait Çalışma Grupları (devam).

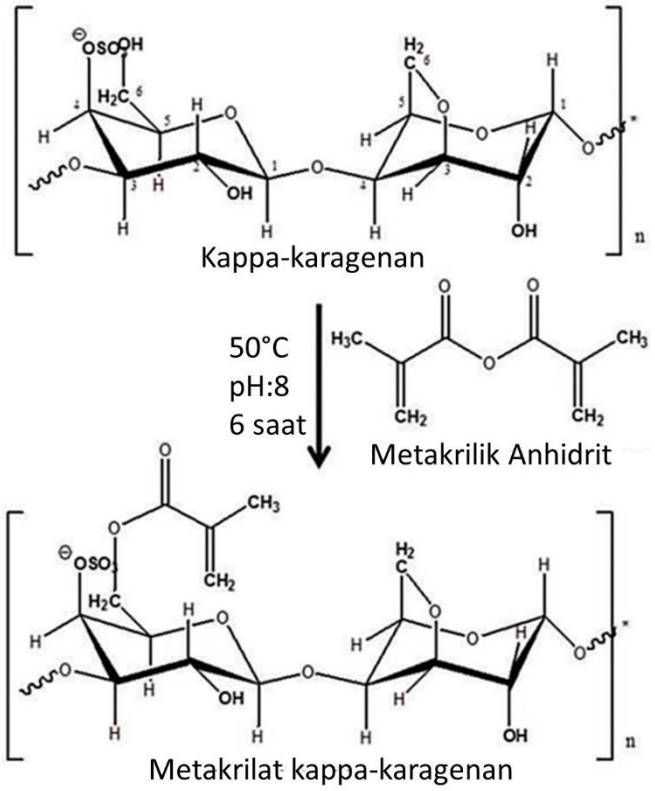
Formülasyon Numara	Grup İsmi	Grup Açıklaması
14	%4 KKM (ağ./hac.) içeren hibrit hidrojel	%10 Ak-β-SD (ağ./hac.), %4 KKM (%12 metakrilasyon derecesine sahip KKM) ve %16 Jelatin (ağ./hac.) içeren konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel

3.2.3. Metakrilat Kappa Karagenan Sentezi (KKM)

Kappa Karagenan (KK) literatürde belirtilen yöntem kullanılarak sentezlenmiştir. KK sentezi için 250 ml'lik balon içerisine %1 (ağ./hac.) oranında kappa karagenan tartılarak ilave edilmiştir. Üzerine 100 mL ultra saf su ilave edilerek manyetik karıştırıcı yardımıyla 1 gece boyunca yağ banyosu içerisinde tamamen çözünmeye bırakılmıştır. Kappa karagenanın ışıktan bozunmasını engellemek için balon dışı alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Bir gece sonunda yağ banyosu sıcaklığı 50°C ve reaksiyon karışım hızı 700 rpm'e ayarlanmıştır. Metakrilatlanma prosesine ait deney düzeneği **Şekil 3.6**'da verilmiştir. Ardından, 13,4 ml metakrilik anhidrit (%12 oranında, ağ./hac., yüksek metakrilasyon derecesi) damla damla ve kontrollü bir şekilde reaksiyon ortamına ilave edilmiştir. Reaksiyon ortamının pH'ı, 5 Molar sodyum hidroksit (NaOH) ile pH:8'e ayarlanarak 6 saat boyunca bu pH değeri sabit tutulmuştur. Elde edilen çözelti diyaliz membranına alınmış (MWCO 12 -14 kDa) ve deiyonize suya karşı 4°C'de 5 gün boyunca bağlanmayan safsızlıkların giderilmesi için diyaliz edilmiştir. [25,30]. Diyaliz işlemi sırasında her gün en az 3 defa deiyonize su ortamı yenilenmiştir. Diyaliz sonrası KKM uygun kaplara süzülmüş ve 1 gece boyunca -80°C'de dondurulmuştur. Dondurulan ürünler 2 gün boyunca liyofilizasyon prosesine tabii tutularak kurutulmuştur. Kurutulan ürünler ışıktan korunarak -20°C'de muhafaza edilmiştir. KKM sentezine ait kimyasal yapı **Şekil 3.7**'de sunulmuştur.



Şekil 3.6: Kappa-karageenan metakrilatlanmasına ait deney düzeneği.



Şekil 3.7: KKM sentezine ait kimyasal gösterim.

3.2.4. Sentezlenen Ürünlerin ve Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Karakterizasyonu

KK ve KKM'nin kimyasal modifikasyonu, bir proton nükleer manyetik rezonans (^{1}H-NMR) spektroskopisi ile değerlendirilmiştir. Akrilleme derecesi (AD), gram KKM başına metakrilat

grupları olarak %12 (ağ./hac.) akrilleme oranı derecesi ile ölçülmüştür. Tüm spektrumlar, KKM için 37 °C'de dahili referans olarak dimetilmaleik anhidrit (DMMA) ile Döteryum oksit (D_2O) kullanılarak karakterize edilmiştir. Her sentez arasındaki çapraz bağlanmayı ve beklenen kimyasal etkileşimi doğrulamak adına β-SD, Ak-β-SD, KK ve KKM örnekleri için Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi gerçekleştirilmiştir. Liyofilize supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin morfolojisi, gözenekliliği ve parçacık gözenek boyutu alan emisyon taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak yüzeyden farklı büyütme oranlarında görüntüler alınarak gösterilmiştir. Analiz öncesi örnekler bakır/karbon çift taraflı bant ile örnek altlığına yapıştırılmıştır. Kurutulmuş hidrojel örnekleri Pd/Au alaşımı ile kaplanmıştır. Kaplamanın ardından hidrojellerin 10-30 kV voltaj ve $3x10^{-2}$ Pa'dan düşük vakum altında SEM analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Şişme Davranışı

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin şişme davranışını belirlemek için, farklı oranlarda (%2, %3 ve %4 KKM (ağ./hac.)) eklenerek **Tablo 3.4**'te belirtilen gruplar her koşul için silindirik PDMS kalıplara pipetlenmiş ve 40 saniye boyunca UV ışığına maruz bırakılmıştır. Kalıptan çıkarılan hidrojeller, fiziksel çapraz bağlamayı başlatmak için 10 dakika boyunca %5 KCl (ağ./hac.) çözeltisine daldırılmış ve bağlanmayan safsızlıkların uzaklaştırılması amacıyla 1-2 kez FTÇ ile yıkanmıştır. 1 gece boyunca -80°C'de dondurulan hidrojeller, 1 gün süreyle liyofilize edilmiştir. Liyofilizasyon sistemine ait görsel **Şekil 3.8**'de sunulmuştur. Öncelikle, hidrojellerin kuru ağırlıkları (A_0) tartılmıştır. Ardından, içerisinde 1,5 mL FTÇ bulunan 2 mL'lik tüpe konularak 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Süre sonunda FTÇ çözeltisinden çıkarılan hidrojellerin, üzerindeki fazla sıvının uzaklaştırılmasıyla şişmiş ağırlıkları (A_t) tartılarak kaydedilmiştir. Her bir örnek için 4 adet numune hazırlanarak analiz sonuçlarının ortalaması hesaplanmıştır. Her bir numunenin 24 saat inkübasyon süresi sonundaki şişme oranı **Eşitlik 3.1** yardımıyla hesaplanmıştır.

$$Şişme\ oranı\ = \frac{A_0 - A_t}{A_t} \times 100 \qquad (3.1)$$

A_0: Hidrojelin kuru ağırlığı

A_t: t zaman sonunda hidrojel üzerindeki fazla sıvının uzaklaştırılması sonucu elde edilen şişmiş ağırlık



Şekil 3.8: Liyofilizasyon sistemine ait görsel.

3.2.6. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Degradasyon (Bozunma) Davranışı ve Optimizasyonu

Konak-konuk hibrit hidrojellerin çalışma grupları ve özellikleri Tablo 3.3'te sunulmuştur. İki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen degradasyon çalışmalarında her ne kadar hidrojel içerisindeki Ak-β-CD oranı %10 (ağ./hac.)'a kadar arttırılsa da degradasyon testlerinin oda koşullarında 3-13.gün aralığında, 37°C'de ise 24 saat sonunda pH:7.4 fosfat tampon çözeltisi ortamında degrade olarak tamamen çözünmüştür. Test verilerine ait sonuçlar bulgular bölümünde sunulmuştur.

Sonuçlar incelendiğinde, yetersiz çapraz bağlanma sebebiyle hidrojellerin degradasyona uğradığı tespit edilmiştir. Bu sebeple, formülasyon değiştirilerek degradasyon analizleri tekrarlanmıştır. Belirlenen yeni gruplar ve özellikleri **Tablo 3.5**'te sunulmuştur.

Tablo 3.5: Konak-Konuk Hibrit Hidrojel Formülasyon 6-7'ye ait Çalışma Grupları ve Özellikleri.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl
6	10	8	1	0,25	0
7	10	8	1		5

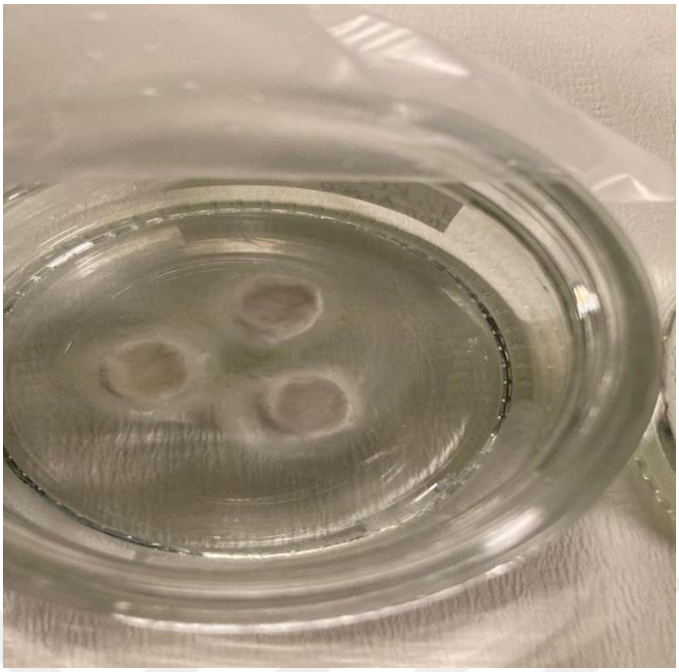
Degradasyon sonuçları incelendiğinde Ak-β-SD sentezi aşamasında akrilatlanma reaksiyonunun tam gerçekleşmediği tespit edilmiştir. Diğer bir sebebin, reaksiyon karışım süresinin yeterli gelmeyebileceği değerlendirilmiştir. Bu sebeple, Ak-β-SD sentezi tekrar edilmiş, hidrojel oluşum reaksiyonu sırasında karıştırma süresi iki katına çıkarılarak hidrojeller pH:7.4 FTÇ ortamında, oda koşulu ve 37°C etüv içerisinde zorlamalı degradasyon analizleri hibrit grup için tekrarlanmıştır. Analiz sonuçları bulgular bölümünde sunulmuştur. Degradasyon testine eş zamanlı olarak yapılan FTIR analizinde de β-SD'in akrilatlanma reaksiyonu %100 verimle gerçekleşmediği için 4 farklı formülasyonda yeni konakçı-konak makromolekül sentezi gerçekleştirilerek degradasyon davranışları incelenmiştir. Belirlenen formülasyonlar ve parametreler **Tablo 3.6**'da verilmiştir. Ayrıca test sonuçları da bulgular bölümünde sunulmuştur. Tüm çalışmalarda 10 dakika ve 40 saniye olmak üzere UV ışık kürleme süresi de araştırılmıştır.

Tablo 3.6: Konak-Konuk Hibrit Hidrojel Formülasyon 8-11'e ait Çalışma Grupları ve Özellikleri.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	UV Kürleme Süresi
8	10	8	1	0,25	0-5	40 saniye 10 dakika
9	10	8	2		0-5	40 saniye 10 dakika
10	10	8	4		0-5	40 saniye 10 dakika
11	10	8	8		0-5	40 saniye 10 dakika

Hidrojellerin 37°C vücut sıcaklığı ortamında bozunmadan kalabilmesi son derece önemli ve sağlanması gereken bir koşuldur. Kurutulmadan doğrudan pH:7.4 FTÇ çözeltisi 37°C zorlamalı degradasyon sıcaklığına bırakılan numune sonuçları bulgular bölümünde sunulmuştur.

Konak-konuk hidrojeller yukarıdaki formülasyonlarda hazırlanıp UV ışık ile çapraz bağlandıktan sonra -80°C'de 1 gece dondurulup liyofilize edilerek kurutulmuşlardır. Kurutulan ürünler 37°C etüvde FTÇ pH:7.4 içerisinde bir gece bekletildiğinde tamamen degrade olmaktadır. Kurutma prosesi sonrasına ait örnek görsel **Şekil 3.9**'de sunulmuştur.



Şekil 3.9: -80°C'de bir gece bekletilip ardından bir gün liyofilizatörde kurutulan konak-konuk hibrit hidrojeller.

Kurutulmadan doğrudan pH:7.4 FTÇ çözeltisi 37°C zorlamalı degradasyon sıcaklığına bırakılan numune sonuçları bulgular bölümünde sunulmuştur. Degradasyon testleri sonucunda son formül belirlenip değiştirilen parametreler ve nihai sentez parametreleri aşağıda detaylı şekilde sunulmuştur. Buna göre;

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojeller Bölüm 3.5'te anlatıldığı gibi (şişme testi) hazırlanmış ve numunelerin kuru ağırlıkları (A_{0d}) kaydedilmiştir. İçerisinde 1,5 mL FTÇ bulunan 2 mL'lik tüpe konulan hidrojeller, 37°C'de 1, 7, 14 ve 21 gün boyunca inkübe edilmiştir. -80°C'de bir gece dondurulan hidrojeller, 1 gün boyunca liyofilize edilmiştir. Ardından, hidrojellerin farklı inkübasyon süreleri sonunda hidrolitik degradasyon sonrası kalan kuru ağırlıkları (A_{td}) kaydedilmiştir. Tüm örnekler 4 defa hazırlanarak sonuçların ortalaması alınmıştır. Hidrojellerin her bir zaman aralığı için %degradasyonu **Eşitlik 3.2** kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%\, Degradasyon = \frac{A_{td} - A_{od}}{A_{td}} \times 100 \qquad (3.2)$$

A_{0d}: Hidrojelin başlangıçtaki degrade olmamış ağırlığı ve

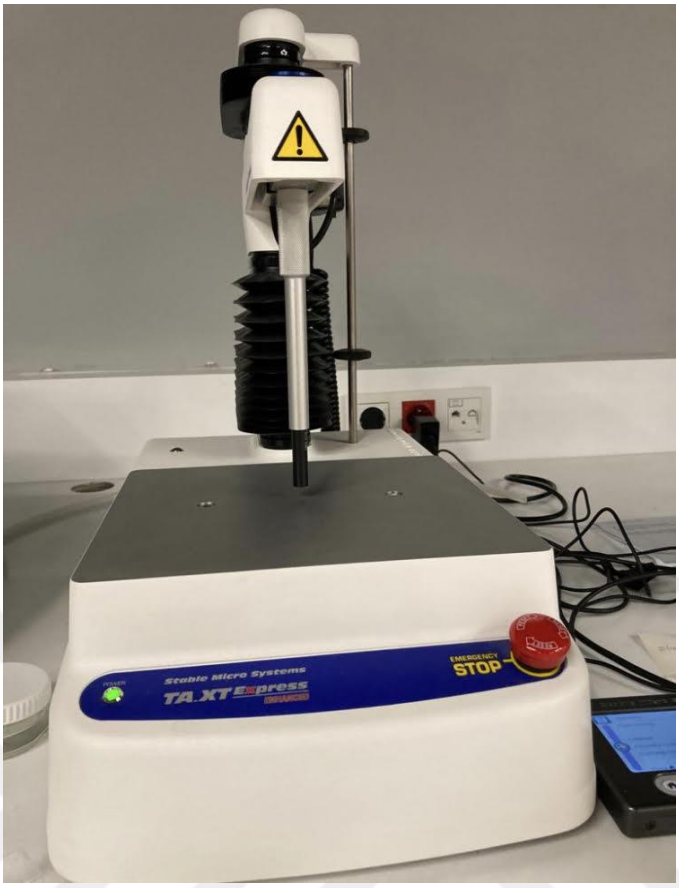
A_{td}: Hidrojelin t farklı inkübasyon süresi sonunda degradasyon sonrası kalan kuru ağırlığı.

3.2.7. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Mekanik Davranışı ve Optimizasyonu

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin kendi kendini iyileştirme davranış analizleri ile eş zamanlı mekanik testleri de gerçekleştirilmiştir. Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin mekaniksel özelliklerinin incelenmesi amacıyla tek eksenli sıkıştırma testi uygulanmıştır. Sıkıştırma testi için TA Instruments mekanik test cihazı kullanılmıştır. Mekanik test cihazına ait görsel **Şekil 3.10**'da sunulmuştur. Teflon substrat arasına 75 µL polimer çözeltisi aktarılmış ve polimer kalınlığı 1 mm olacak şekilde üzerine bir cam lamel yerleştirilmiştir. Jeller, 10 dakika ve 40 saniye boyunca (iki farklı UV ışığı maruziyet süresi) UV ışığı (yoğunluk: 10 mW/cm^2, yükseklik: 8 cm) ile çapraz bağlanmıştır. Daha sonra hidrojeller, iyonik çapraz bağlanma için 10 dakika boyunca %5 KCl (ağ./hac.) çözeltisine daldırılarak 1-2 kez FTÇ ile yıkanmıştır. Hidrojellerin çapı 5 mm olacak şekilde biyopsi delme aleti ile eşit olarak kesilmiştir. Sıvı fazlası alınıp ölçüm gerçekleştirilmiştir. Sıkıştırma modülünün ölçülmesi için doğrusal gerilim/gerinim eğrisinin eğimi kullanılmıştır. Öncelikle %8 Jelatin, %1 ve %2 Kappa-Karagenan içeren formüle ait hibrit polimerler iki farklı UV ışığı maruziyet süresi için incelenmiştir. Aynı zamanda UV süresinin mekanik dayanımı nasıl etkilediğinin incelenmesi amacıyla hücre kültür çalışmalarında canlı hücre sayısının düşmemesi için 40 saniye süre tercih edilmiştir. Analiz sonuçları bulgular bölümünde sunulmuştur.

Hidrojelin kırıldığı sıkıştırma gerilim-gerinim seviyesi, kopmadaki sıkıştırma mukavemetini ve uzamayı hesaplamak için kullanılmıştır. Ayrıca, yükleme ve boşaltma döngüleri arasındaki deformasyon sırasında enerji kaybını araştırmak için döngüsel sıkıştırma testleri, iki döngü için %35-40 gerinime kadar 0,6 mm/dak hızında gerçekleştirilmiştir. Birinci ve ikinci yükleme eğrileri arasında karşılaştırma yapılarak % geri kazanım değeri hesaplanmıştır. % Geri kazanım, ikinci yükleme döngüsünün birinci döngüye bölünmesiyle elde edilen oran kullanılarak hesaplanmıştır. Hidrojellerin %enerji kaybı aşağıdaki **Eşitlik 3.3** kullanılarak hesaplanmıştır. Hidrojellerin mekanik dayanım testleri en az 5 defa tekrarlanan ölçümlerin ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

$$\%\ Enerji\ Kaybı\ = \frac{(Sıkıştırma\ eğrisi\ altında\ kalan\ alan - Geri\ çekme\ eğrisi\ altında\ kalan\ alan)}{(Sıkıştırma\ eğrisi\ altında\ kalan\ alan)} \times 100 \quad (3.3)$$



Şekil 3.10: TA Instruments mekanik test cihazına ait görsel.

3.2.8. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Polimer Çözeltilerinin Viskoelastik Özellikleri

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin viskoelastisitesini analiz etmek için, 25 mm çapında paralel plaka geometrisi ve 25°C'de 500 µL boşluk çapı ile Discovery HR 30 (TA Instrument) marka/model bir reometre cihazı kullanılarak reolojik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Kullanılan cihaza ait görsel **Şekil 3.11**'de sunulmuştur. Sabit açısal frekansta (1,0 rad s^{-1}) viskoelastik bölgeyi elde etmek için 25°C'de, %0,1-1000 değer aralığında gerinim genliği taraması yapılmıştır. Daha sonra, frekansın bir fonksiyonu olarak depolama modülünü (G'), kayıp modülünü (G'') ve kompleks viskoziteyi (η*) belirlemek için 25°C'de açısal frekans = 1–100 rad s^{-1} aralığında frekans tarama testi yapılmıştır. Kayma yanıtını gözlemlemek için 0,1 ile 100 s^{-1} aralığında bir kayma hızı ile akış deneyi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.11: TA Instruments Discovery HR 30 reometre cihazına ait görsel.

3.2.9. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Kendi Kendini İyileştirme (Self-Healing) Davranışı ve Optimizasyonu

Bölüm 3.2.1'de anlatılan ve Ak-β-SD sentezi optimize edilen konak-konuk ikili çapraz bağlı hidrojellere ait kendi kendini iyileştirme davranışının optimizasyon sonuçları bulgular bölümünde sunulmuştur. Taze hazırlanmış konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel ikiye bölünüp çözeltinin yarısı Rodamin B diğer yarısı da metilen mavisi ile boyanmıştır. Daha sonra hidrojeller dairesel kalıba pipetlenmiş ve UV ışığı altında 40 saniye boyunca çapraz bağlanmıştır. Takiben iyonik çapraz bağlamanın gerçekleşmesi için 10 dakika süresince %5 KCl (ağ./hac.) çözeltisine daldırılarak FTÇ ile 1-2 kez durulanmıştır. Optimizasyon denemeleri için %8 Jelatin, %1 Kappa-Karagenan (formülasyon 8) ve %8 Jelatin, %4 Kappa-Karagenan (formülasyon 10) içeren formüller tercih edilmiştir. Kappa-Karagenanın sıcaklıkla çözünürlüğünün arttığı bilinmesine karşın yüksek sıcaklıklarda çalışmamak için öncelikle düşük miktarda (%1-4 oranında) kappa-karagenan kullanılarak optimizasyon denemelerine başlanmıştır. Ayrıca yüksek miktarda kullanılacak kappa-karagenan sert bir yapıya sahip olabileceği için kendi kendini iyileştirme özelliklerinin de etkilenmemesi için en düşük oran kullanılarak optimizasyon denemelerine başlanmıştır. Oda koşulları dışındaki hidrojeller etüv şartlarında bekletilmiştir. Hidrojellerin ortam koşullarında hızlı kurumaması için streç filmle sarılmıştır. İlgili sonuçlar bulgular bölümünde sunulmuştur. İstenen kendi kendini iyileştirme davranışı elde edilmediği için değişik formülasyonlarla deneme yapılmasına karar verilmiştir. Formülasyon numarası 10'a ait sonuçlar ve mikroskop görüntüleri bulgular

bölümünde verilmiştir. Konak-konuk ikili çapraz bağlı hibrit hidrojeller için yeni formülasyonla (formülasyon 8-10) kendi kendini iyileştirme davranışları incelendiğinde kendi kendini onardığı (görsel ve mikroskop sonuçlar incelendiğinde) fakat yüksek performans göstermediği gözlenmiştir. Bu sebeple, formülasyon numarası 12, 13 ve 14 olan ürünlere kendi kendine iyileştirme analizleri yapılarak sonuçlar bulgular bölümünde sunulmuştur.

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin kendi kendini iyileştirme davranışını gerçekleştirmek için yukarıda açıklandığı gibi taze örnekler hazırlanmış olup reolojik ölçümler iki farklı yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre;

(1) Taze hazırlanmış supramoleküler %2 (ağ./hac.) KKM içeren hibrit hidrojeller (formülasyon 12), Rodamin B ve metilen mavisi ile boyanmıştır. Daha sonra hidrojeller dairesel kalıba pipetlenmiş ve UV ışığı (360-380 nm) altında 40 saniye boyunca çapraz bağlanmıştır. Takiben iyonik çapraz bağlamanın gerçekleşmesi için 10 dakika süresince %5KCl (ağ./hac.) çözeltisine daldırılmış ve FTÇ ile 1-2 kez durulanmıştır. Farklı renklere sahip iki hidrojel diski bistüri ucu ile iki parçaya kesilmiş, kendi kendini iyileştirebilmesi için oda koşullarında kesik parçalar bir araya getirilmiş ve ışıktan korunarak muhafaza edilmiştir. Belirli zaman aralıklarında bir pens yardımıyla çekme kontrolü yapılarak (bkz görsel) kendi kendine iyileştirme davranışının sağlanıp sağlanmadığı 48 saat boyunca incelenmiştir.

(2) 25 mm çapında paralel plaka geometrisi ve 25°C'de 500 uL boşluk ile donatılmış bir TA aleti üzerinde bir reoloji testi yapılmıştır. Osilasyon gerinim tarama testi, 6 döngü için uygulanan kayma gerilmesine yanıt olarak hidrojelin (formülasyon 12) geri kazanım performansını incelemek amacıyla her 200 saniyede bir sabit frekansta (açısal frekans = 1,0 rad s^{-1}), %1-200 aralığında değişen gerinimlerle gerçekleştirilmiştir.

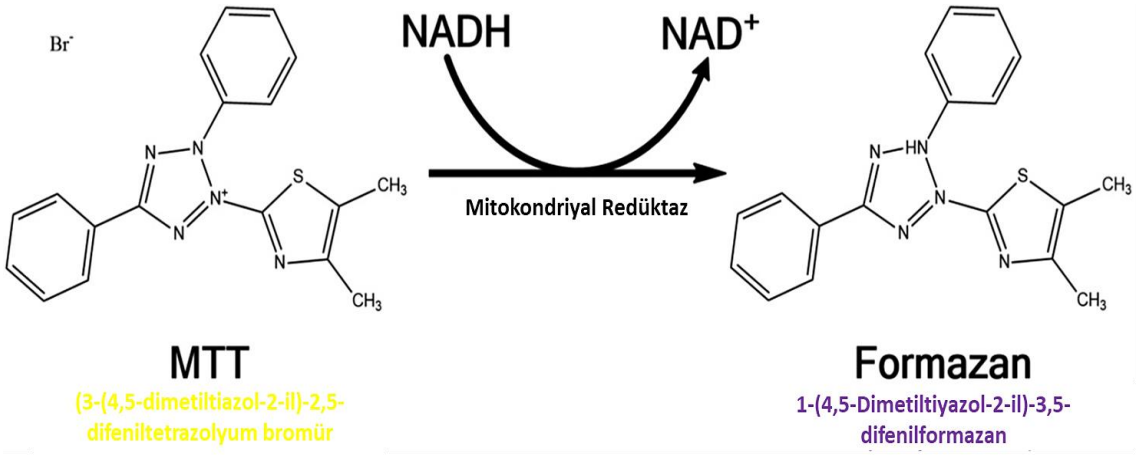
3.2.10. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin Kayma İncelmesi ve Enjekte Edilebilirlik Özellikleri

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin kayma incelmesi davranışı Discovery HR 30 (TA Instrument) marka/model bir reometre cihazı kullanılarak incelenmiştir. Cihaza ait görsel **Şekil 3.11**'de sunulmuştur. Özellikle minimal invaziv tedavilerde enjekte edilebilirliği ve hızlı şekil geri kazanım kabiliyetini göstermek amacıyla konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel (%2,ağ./hac.) KKM konsantrasyonu) bir şırıngaya yüklenmiş ve ardından 25 gauge'luk bir iğne ucundan pH: 7.4

FTÇ içerisine sıkılmıştır. Enjekte edilebilirlik davranışının daha iyi gözlenebilmesi için hidrojel şırıngaya yüklenmeden önce rhodamin B boyası ile boyanmıştır.

3.2.11. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin In-vitro Hücre Kültürü Çalışmaları

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin biyouyumluluğunu ölçmek için kolorimetrik bir yöntem olan (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) (MTT) analizi kullanılarak NIH/3T3 hücre hattı varlığında sitotoksisite testi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz, test edilen malzemelerin potansiyel toksisitesi hakkında bilgi sağlayarak daha ileri çalışmalara yönlendirilip yönlendirilemeyeceklerini göstermektedir. MTT analizi, test edilen hücrelerin metabolik aktivitesini doğrulayan enzimatik bir yöntemdir. Canlı hücrelerin mitokondrileri, suda çözünür bir tetrazolyum tuzu olan MTT'yi çözünmeyen formazan bileşiğine indirgemektedir. Formazan hücre zarına nüfuz etmeyerek sağlıklı, metabolik canlı hücrelerde birikmektedir [323]. Düzgün işleyen hücreler tarafından salgılanan seçilmiş bir enzimin (mitokondriyal dehidrojenaz), çözünür MTT reaktifini (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür; tetrazolyum tuzu) çözünmez koyu mavi formazan kristalleri haline dönüştürme yeteneğinin tanımlanmasını içermektedir. Oluşturulan kristaller daha sonra organik çözücü (örneğin, dimetil sülfoksit) içinde çözülebilmekte ve elde edilen çözelti daha sonra spektrofotometrik olarak analiz edilebilmektedir [324]. MTT'in formazan kristallerine indirgenme reaksiyonu **Şekil 3.12**'de sunulmuştur.



Şekil 3.12: MTT'in formazan kristallerine indirgenme reaksiyonu [325].

Bölüm 3.2.3'te belirtildiği gibi hazırlanan hidrojellere içerisinde 1'er ml ekstraksiyon oranında hücre kültür ortamı bulunan kalıplara konularak 24 saat boyunca %5 CO_2 ve 37°C sıcaklıkta

inkübe edilmiştir. İnkübasyon prosesinin ardından numune ekstraktını içeren kültür ortamı, aynı miktarda taze ortam ile seyreltilerek sterilizasyon için gözenek çapı 0,22 um olan bir polietersülfon (PES) filtre ile süzülmüştür. Daha sonra hücreler, takviye olarak 100 ul yüksek glikoz DMEM, %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içinde 96 oyuklu plakaların oyuk başına $5x10^3$ hücre yoğunluğunda ekilmiştir. Kültürlenmiş hücreler, gece boyunca 37°C'de nemlendirilerek %5 CO_2 inkübatöründe tutulmuştur. İnkübasyondan sonraki gün, hücre ortamı, oyuk başına 100 ul jel ekstraksiyonu ile değiştirilmiştir. Muamele edilmemiş hücreler sadece 100 ul taze ortam ile değiştirilmiştir (kontrol grubu). Plaka daha sonra 48 saat 37°C'de nemlendirilmiş ve %5 CO_2 inkübatöründe inkübe edilmiştir. 48 saatlik inkübasyondan sonra FTÇ çözeltisi ile 3 defa yıkanan her bir oyuğa 100 ul yüksek glukozlu DMEM ve 10 ul MTT solüsyonu (1 mg/ml) ilave edilerek 4 saat daha inkübe edilmiştir. Daha sonra hücre ortamı çıkarılmış ve formazan kristallerini tamamen çözmek için her bir oyuk 100 µl DMSO ile değiştirilmiştir. Plaka 5 dakika çalkalandıktan sonra 570 nm absorbans değerinde bir mikroplaka okuyucu (BMG LABTECH SPECTROstar® Nano) kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.12. Konak-Konuk Supramoleküler İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin In-vitro Yara Kapanma Modeli (Çizik Testi)

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin yara iyileşme sürecindeki etkilerini değerlendirmek için bir yara modeli (çizik testi) deneyi yapılmıştır. Pasaj 6 numaralı NIH/3T3 hücreleri, oyuk başına $25x10^3$ hücre yoğunluğunda olacak şekilde 24 oyuklu plakalara ekilmiş ve hücrelerin uygun doluluk oranına ulaşmasına izin verilmiştir. Bir yarayı taklit etmek için 200 µl steril pipet ucu kullanılarak birleşik hücre tek katmanlarında dikey olarak bir çizik oluşturulmuştur. Bağlanmayan hücreler ve safsızlıklar FTÇ ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Numuneler Bölüm 3.2.11 hücre kültürü çalışması MTT testinde anlatıldığı gibi hazırlanarak kuyucuklara eklenmiş ve plaka 37°C'de ve %5 CO_2 ortamında inkübe edilmiştir. Belirli zaman aralıklarında (0, 8, 24 ve 48 saat) bir mikroskop (Axiovert 25Carl Zeiss) kullanılarak koordinatları işaretlenmiş ve görüntüleri kaydedilmiştir. Çiziğin iki tarafı arasındaki kapanma, ImageJ (NIH) yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.13. İstatiksel Analiz

Tüm veri değerleri standart sapma ile ortalama olarak sunulmuştur. İstatistiksel analiz için GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı kullanılarak Tukey anlamlı fark sonrası tek yönlü ANOVA testi yapılmıştır. 0.05'in altındaki p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (* $p < 0.05$,

** p < 0.01, *** p < 0.001 ve **** p< 0.0001) ve 0.05'in üzerindeki p değerleri anlamlı değil (ns) olarak ifade edilmiştir.

3.3. OKSİJEN ÜRETEN MALZEMELERE AİT YÖNTEMLER

Amerika'da Harvard Tıp Fakültesi, Tıp Mühendisliği bölümünde gerçekleştirilen oksijen üreten malzeme ve çalışmalara ait yöntemler bu başlık altında sunulmuştur.

3.3.1. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Hazırlanması

CPO-yüklü PCL mikroparçacıklarını hazırlamak için su içinde yağ ikili emülsiyon sentez yöntemi kullanılmıştır [322]. Kısaca, diklorometan içinde 3 ml %10 (ağ./hac.) PCL çözeltisi hazırlanmıştır. PCL mikroarçacıklarında %5 (ağ./ağ.) CPO elde etmek için, 1 ml etanolde önceden belirlenmiş CPO konsantrasyonu eklenmiştir. Çözelti, 3 dakika boyunca ultrasonikatör kullanılarak emülsifiye edilmiştir. Ardından, PCL-CPO çözeltisine damıtılmış su içinde 10 ml %3 (ağ./hac.) poli(vinil alkol) ilave edilerek 5 dakika daha ultrasonikatör kullanılmıştır. Ultrasonikatör işleminden sonra çözelti, çözücüleri oda sıcaklığında 24 saat kurutmak için karıştırılmış ve 5 dakika 10.000 rpm'de santrifüjleme (Eppendorf 5702, Almanya) ile konsantre edilmiştir. Mikroparçacık topağı, herhangi bir kalıntı katkı maddesini uzaklaştırmak için üç kez Dulbecco'nun fosfat tampon çözeltisiyle yıkanmıştır. Nihai pelet kuruyana kadar liyofilize edilmiştir.

3.3.2. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Mikroskobik (SEM) ve Elementel Analizi

Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) liyofilize mikroparçacıkların yapısı, yüksek çözünürlüklü SEM (Zeiss MERLIN HR-SEM) kullanılarak mikro yapı ve gözeneklilik analizleri görüntü tabanlı analiz yazılımı (ImageJ) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrastı artırmak ve yükleme etkilerini azaltmak için numuneler, 5 nm'lik bir Pt/Pd alaşım katmanıyla kaplanmıştır. Karbon, kalsiyum ve oksijenin elementel dağılımını değerlendirmek için elemental haritalama EDX analizi ve ultra yüksek çözünürlüklü alan emisyonlu SEM karakterizasyonları yapılmıştır.

3.3.3. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Parçacık Boyutu Dağılımı Analizi

Boyut dağılımı için, 1 mg CPO yüklü PCL mikroparçacıkları, 10 ml etanol içerisinde dağıtılmıştır ve homojen bir çözelti elde etmek için 5 dakika boyunca vortekslenmiştir. Dinamik

ışık saçılım spektroskopisi (DLS, Malvern Nano ZS ZEN3600) kullanılarak her çözeltiden 2 ml alınarak parçacık boyutu dağılım özelliği analiz edilmiştir.

3.3.4. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Oksijen Üretim Profillerinin Analizi

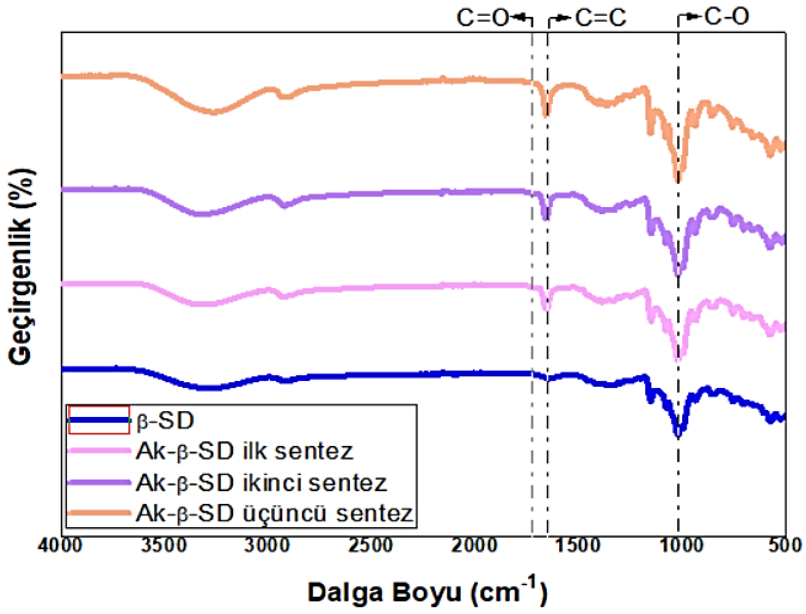
Oksijen üretim profillerini belirlemek için, CPO yüklü PCL mikroparçacıkları içerisinde 1 ml FTÇ bulunan 24 kuyulu plaka içerisine konarak sürekli olarak nitrojen gazıyla temizlenen hava geçirmez bir kabine yerleştirilmiştir. 24 kuyulu plakalar içindeki ortamın oksijen konsantrasyonu, on dört gün boyunca bir oksijen sensörü kullanılarak ölçülmüştür. Mikroparçacıkların her birinden 3 defa tekrarlı ölçüm alınmış ve örnekler numune 1, numune 2 ve numune 3 (tekrarlı örnek sayısıdır) olarak adlandırılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Ak-β-SD ve KKM SENTEZLERİNE AİT YAPISAL KARAKTERİZASYON BULGULARI

4.1.1. FTIR Analizi Sonuçları

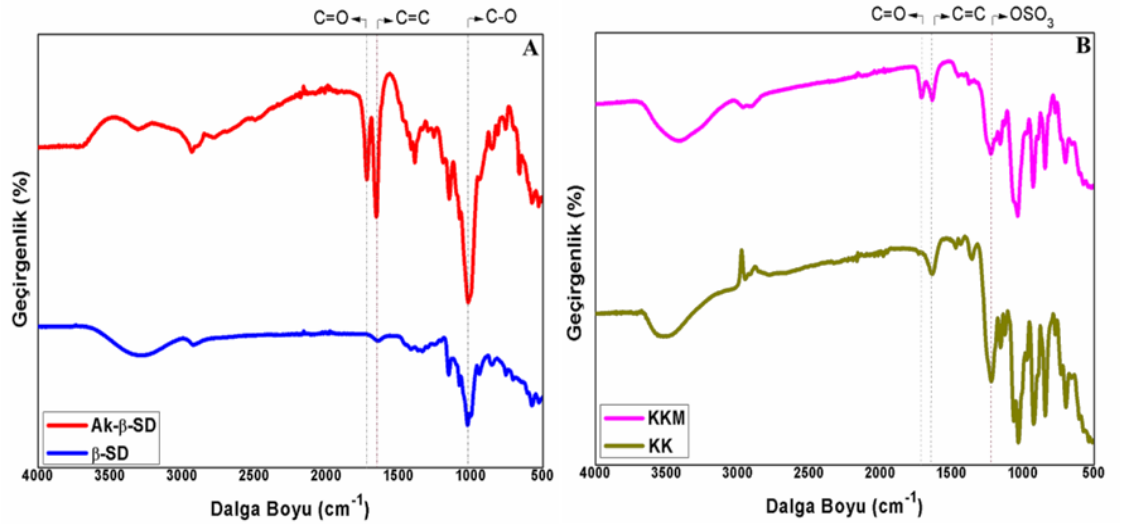
Akrilat beta siklodekstrinin (Ak- β-SD) optimizasyon çalışmaları sırasında, 5 ml akrilik asit kullanılarak ve 3 gün boyunca liyofilize edilen ürünlere ait FTIR analiz sonuçları **Şekil 4.1**'de beta siklodekstrin (β-SD) ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Reaksiyon üç defa aynı parametrelerle tekrar edilmiştir. Buna göre; **Şekil 4.1**'de C=O gerilmelerine bağlı 1720 cm^{-1} 'de spesifik titreşimleri göstermemiştir. Bu sebeple β-SD'nin akrilatlanma modifikasyonunun başarısız olduğu doğrulanmış olup reaksiyon parametreler değiştirilerek çalışma tekrar edilmiştir.



Şekil 4.1: β-SD ve Ak-β-SD FTIR karşılaştırmalı FTIR analizi.

Ak-β-SD, başarısız reaksiyon sonrası parametreler değiştirilerek (optimizasyon sonrası) Bölüm 3.2.1'de anlatıldığı ve KKM Bölüm 3.2.3'te belirtildiği şekilde sentezlenmiştir. β-SD, Ak-β-SD, KK ve KKM ürünlerinin yapısal analizleri için gerçekleştirilen FTIR analiz sonuçları **Şekil 4.2**'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Ak- β-SD FTIR spektrumunda C=C gerilmelerinden dolayı 1664 cm^{-1}'de ve C=O gerilmelerine bağlı 1720 cm^{-1}'de spesifik titreşimleri göstermiştir. KKM FTIR spektrumunda ise fonksiyonel grupların C=C gerilmesine karşılık gelen 1633cm^{-1} civarında absorbans piki ve karbon-oksijen (C = O) ikili bağının 1712 cm^{-1}'de karakteristik

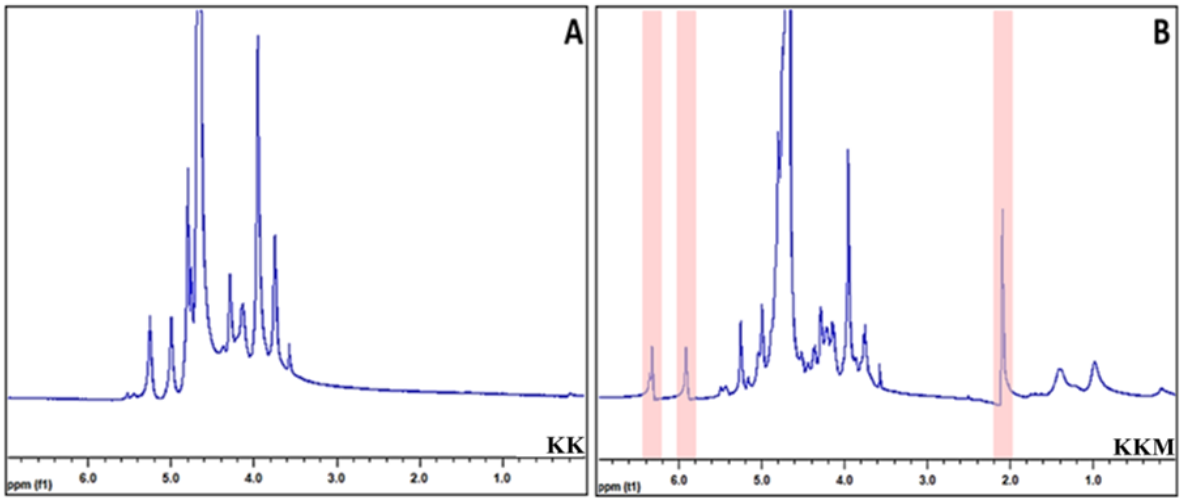
ester zirvesi oluşumu tespit edilmiştir. Buna göre; **Şekil 4.2 (A)** β-SD'nin akrilatlanma ve **Şekil 4.2 (B)** KK'nın metakrilatlanma modifikasyonunu doğrulamıştır.



Şekil 4.2: Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hidrojellerin karakterizasyonu. (A) β-SD ve modifiye Ak-β-SD ve (B) KK ve modifiye KKM'nin FTIR spektrumları.

4.1.2. ^{1}H-NMR Analizi Sonuçları

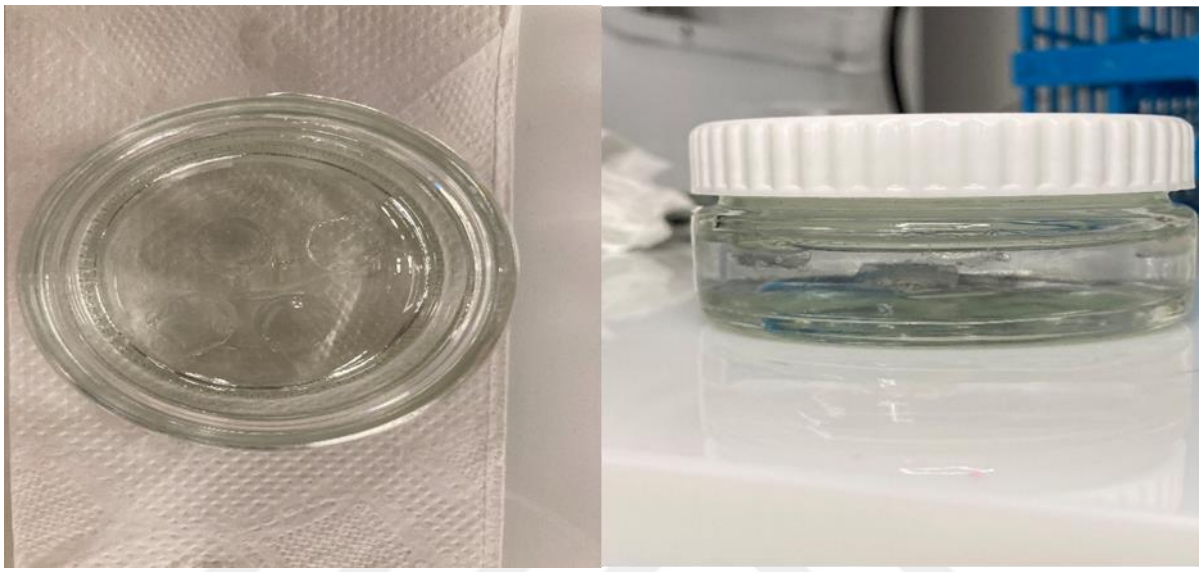
KKM Bölüm 3.2.3'te belirtildiği şekilde sentezlenmiştir. ^{1}H-NMR analizi Bölüm 3.2.4'te yer alan prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. KK ve KKM ürünlerine ait ^{1}H-NMR analiz sonuçları **Şekil 4.3**'te verilmiştir. Buna göre; **Şekil 4.3**'te δ = 1,8-2,0 ppm'deki metil grubu zirvesi ve δ = 5,9-6,3 ppm'deki vinil grubu zirvesi KKM modifiye polimerin metakrilatlanma reaksiyonunu doğrulamıştır.



Şekil 4.3: Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hidrojellerin karakterizasyonu. (A) KK ve (B) KKM'nin H-NMR spektrumları.

4.2. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN FİZİKSEL KARAKTERİZASYON BULGULARI

Konak-konuk supramoleküler hibrit hidrojellerin hem oda koşullarında hem de 37°C'de pH:7.4 fosfat tampon çözeltisi ortamında degradasyon davranışları incelenmiştir. Her bir formülasyona (formülasyon 1-5) ait görseller **Şekil 4.4-4.8**'de sunulmuştur.



(a) **(b)**

Şekil 4.4: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %8 Jelatin-%0 Kappa-Karagenan, %4 Ac-β-CD, %0 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 1).



(a) **(b)**

Şekil 4.5: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %8 Jelatin-%0 Kappa-Karagenan, %10 Ac-β-CD, %0 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 2).



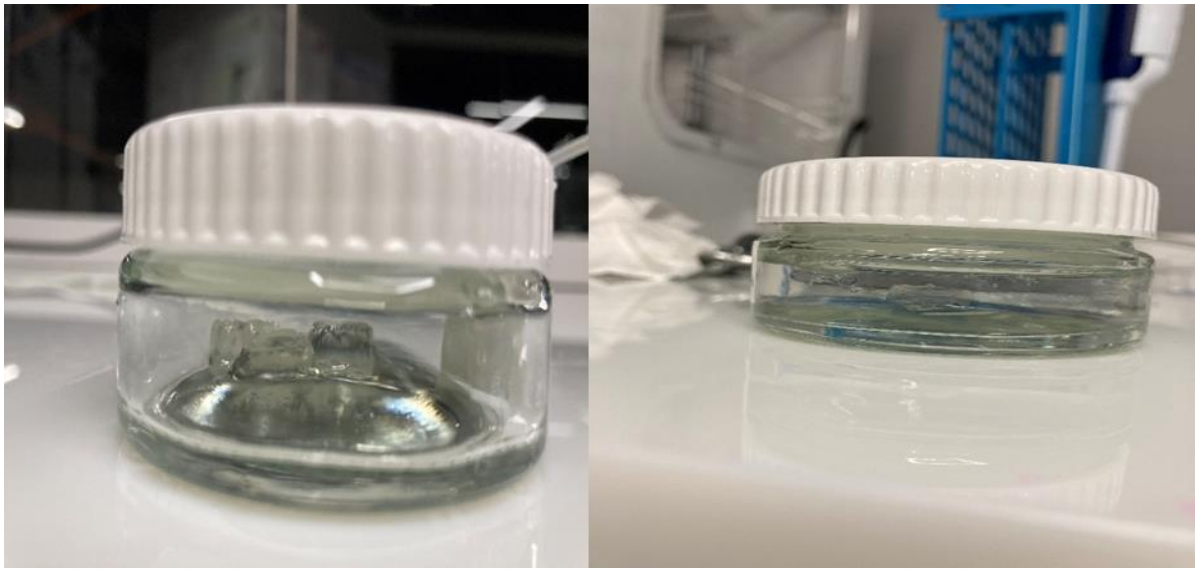
(a) **(b)**

Şekil 4.6: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %4 Jelatin-%0,5 Kappa-Karagenan, %10 Ac-β-CD, %5 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 3).



(a) **(b)**

Şekil 4.7: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %4 Jelatin-%4 Kappa-Karagenan, %10 Ac-β-CD, %10 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 4).

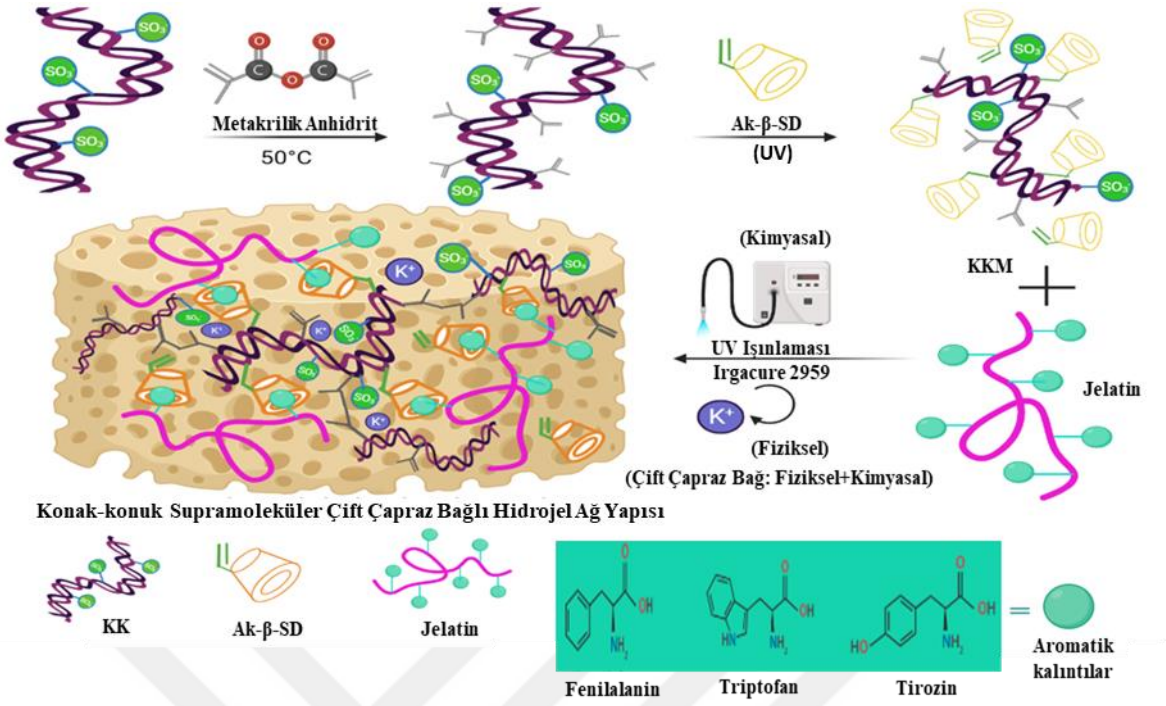


(a) **(b)**

Şekil 4.8: (a) -80°C'ye konularak kurutulması için hazırlanan ve (b) degradasyon testi için PBS pH:7.4 çözeltisine daldırılan %8 Jelatin-%1 Kappa-Karagenan, %10 Ac-β-CD, %10 KCl, 10 dakika UV ışık ile kürleme süresi içeren numuneler (formülasyon 5).

Görsellerde verilen hidrojeller uygun performans sonuçları vermediği için hidrojel üretim parametreleri optimize edilerek son formülasyon 12, 13 ve 14 numara olarak belirlenmiştir.

Tez çalışmasında konak-konuk etkileşimleri yoluyla enjekte edilebilir, kendi kendini iyileştiren ikili çapraz bağlı supramoleküler hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14'e ait) üretim şeması **Şekil 4.9**'da sunulmuştur.



Şekil 4.9: Konak-konuk kendi kendini iyileştiren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel (formülasyon 12, 13 ve 14) oluşum mekanizmasının şematik gösterimi.

4.2.1. Şişme ve Degradasyon Davranışı

İki farklı sıcaklık (oda koşulları ve 37°C) ve iki farklı UV ışık süresi (40 saniye ve 10 dakika) ile gerçekleştirilen beş farklı formülasyonun (formülasyon 1-5) degradasyon çalışmalarına ait sonuçlar **Tablo 4.1-4.4**'te sunulmuştur. Her ne kadar hidrojel içerisindeki Ak-β-CD oranı %10 (ağ./hac.)'a kadar arttırılsa da degradasyon testlerinin oda koşullarında 4-13.gün sonra, 37°C'de ise 1. gün sonunda pH:7.4 fosfat tampon çözeltisi ortamında degrade olarak tamamen çözünmüştür.

Tablo 4.1: Formülasyon 1-5'e Ait Oda Koşulları, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
1	4	8	0	0,05	0	13.gün
2	10	8	0		0	9.gün
3	10	4	0,5		5	3.gün
4	10	4	4		10	7. gün
5	10	8	1		5	4.gün

Tablo 4.2: Formülasyon 1-5'e Ait Oda Koşulları, 10 dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
1	4	8	0	0,05	0	13.gün
2	10	8	0		0	9.gün
3	10	4	0,5		5	3.gün
4	10	4	4		10	7. gün
5	10	8	1		5	4.gün

Tablo 4.3: Formülasyon 1-5'e Ait 37°C de, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
1	4	8	0	0,05	0	1.gün
2	10	8	0		0	1.gün
3	10	4	0,5		5	1.gün
4	10	4	4		10	1. gün
5	10	8	1		5	1.gün

Tablo 4.4: Formülasyon 1-5'e Ait 37°C de, 10 dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
1	4	8	0	0,05	0	1.gün
2	10	8	0		0	1.gün
3	10	4	0,5		5	1.gün
4	10	4	4		10	1. gün
5	10	8	1		5	1.gün

Sonuçlar incelendiğinde yeterli kimyasal çapraz bağlanma olmadığı için hidrojellerin degradasyona uğradığı düşünülmüştür. Bu sebeple, foto başlatıcı oranı arttırılarak formülasyon 6 ve 7 numara için degradasyon analizleri 37°C'de, 40 saniye ve 10 dakika UV ışık süresi denenerek gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçları **Tablo 4.5-4.6**'da sunulmuştur.

Tablo 4.5: Formülasyon 6-7'ye Ait 37°C'de, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
6	10	8	1	0,25	0	1.gün
7	10	8	1		5	1.gün

Tablo 4.6: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait 37°C'de, 10 Dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
6	10	8	1	0,25	0	1.gün
7	10	8	1		5	1.gün

Sonuçlar incelendiğinde, Ak-β-SD sentezi aşamasında akrilatlanmanın gerçekleşmediği gözlenmiştir. Bu sebeple, Ak-β-SD sentezi tekrar edilerek hidrojel oluşum reaksiyonu sırasında karıştırma süresi iki katına çıkarılmış olup hidrojeller pH:7.4 FTÇ ortamında, oda koşulu ve 37°C'de zorlamalı degradasyon analizleri hibrit grup için tekrar yapılmıştır. Analiz sonuçları **Tablo 4.7-4.10**'da sunulmuştur.

Tablo 4.7: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait Oda Koşulları, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
6	10	8	1	0,25	0	1.gün degradasyon yok
7	10	8	1		5	1.gün degradasyon yok

Tablo 4.8: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait Oda Koşulları, 10 dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
6	10	8	1	0,25	0	1.gün degradasyon yok
7	10	8	1		5	1.gün degradasyon yok

Tablo 4.9: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait 37°C'de, 40 saniye UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
6	10	8	1	0,25	0	1.gün
7	10	8	1		5	1.gün

Tablo 4.10: Formülasyon 6 ve 7'ye Ait 37°C'de, 10 dakika UV Işık ile Kürleme Süresinde Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaşlatıcı	%5 KCl	Degradasyon Süresi
6	10	8	1	0,25	0	1.gün
7	10	8	1		5	1.gün

Akrilat beta siklodekstrinin (Ak- β-SD) optimizasyon çalışmaları sırasında, 5 ml akrilik asit kullanılarak ve 3 gün boyunca liyofilize edilen ürünler degradasyona uğradığı için akriloil klorür kullanılarak ve 4 gün liyofilize edilerek (Bölüm 3.2.1'de anlatılmıştır) hidrojeller tekrar üretilmiştir. Yeni formülasyonlara (formülasyon 8-11) ait sonuçlar **Tablo 4.11-4.12**'de sunulmuştur.

Tablo 4.11: Formülasyon 8-11'e Ait Oda Koşulları Degradasyon Sonuçları**.**

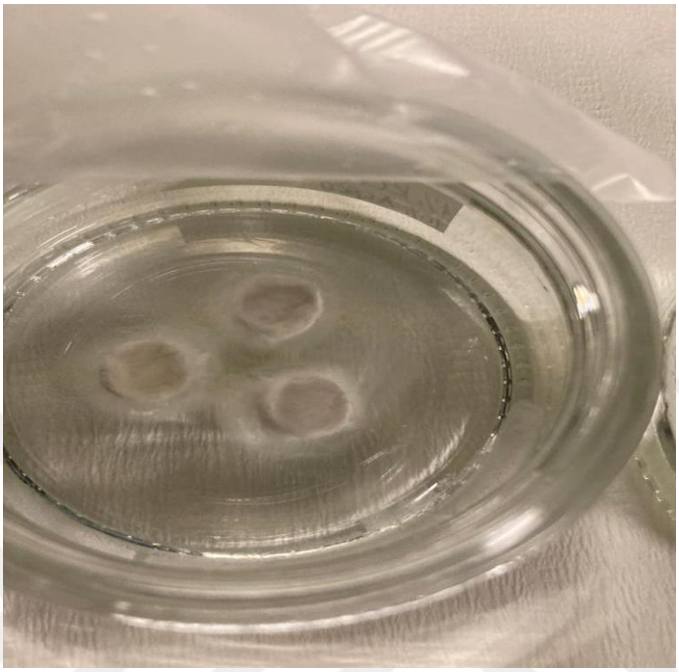
Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaş-latıcı	%5 KCl	UV Kürleme Süresi	Degradasyon Süresi
8	10	8	1	0,25	0-5	40 saniye 10dakika	1.gün degradasyon yok
9	10	8	2		0-5	40 saniye 10dakika	1.gün degradasyon yok
10	10	8	4		0-5	40 saniye 10dakika	1.gün degradasyon yok
11	10	8	8		0-5	40 saniye 10dakika	1.gün degradasyon yok

Tablo 4.12: Formülasyon 8-11'e Ait 37°C'de Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaş-latıcı	%5 KCl	UV Kürleme Süresi	Degradasyon Süresi
8	10	8	1	0,25	0-5	40 saniye 10 dakika	1.gün
9	10	8	2		0-5	40 saniye 10 dakika	1.gün
10	10	8	4		0-5	40 saniye 10 dakika	1.gün
11	10	8	8		0-5	40 saniye 10 dakika	1.gün

Konak-konuk hidrojeller yukarıdaki formülasyonlarda hazırlanıp UV ışık ile çapraz bağlandıktan sonra -80°C'de 1 gece dondurulup liyofilize edilerek kurutulmuşlardır. Kurutulan

ürünler 37°C'de FTÇ pH:7.4 içerisinde bekletildiğinde 30.gün sonunda herhangi bir degradasyon gözlenmemiştir (**Tablo 4.13**). Kurutulma prosesi sonrasına ait örnek görsel **Şekil 4.10**'da sunulmuştur.



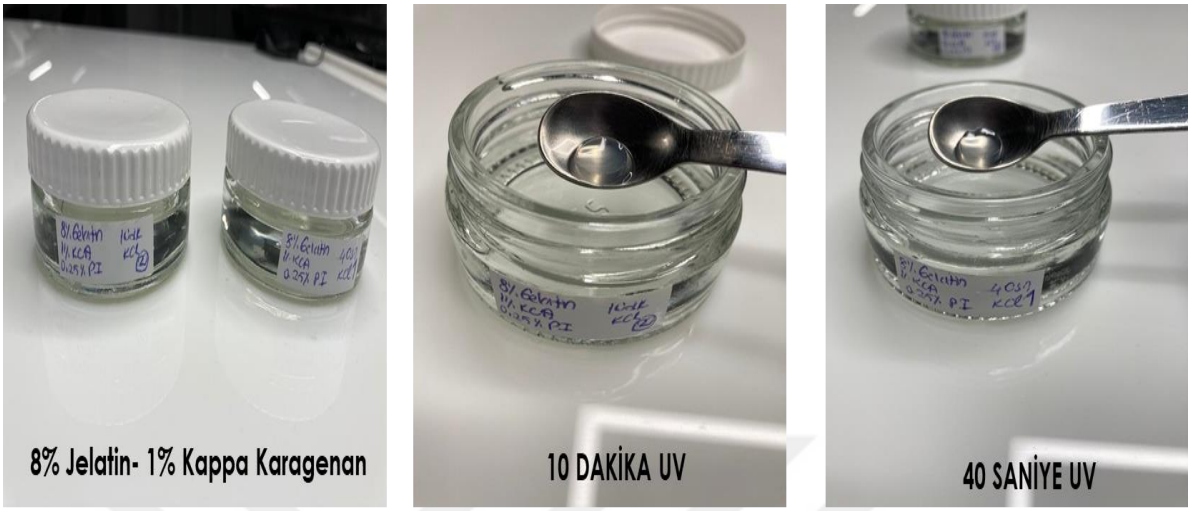
Şekil 4.10: -80°C'de bir gece bekletilip ardından bir gün liyofilizatörde kurutulan konak-konuk hibrit hidrojeller.

Tablo 4.13: Formülasyon 8-11'e Kurutulan Hidrojellere Ait 37°C'de Degradasyon Sonuçları.

Formülasyon Numarası	% Ak-β-SD	% Jelatin	% Kappa-Karagenan	% I2959 Fotobaş-latıcı	%5 KCl	UV Kürleme Süresi	Degradasyon Süresi
8	10	8	1	0,25	5	40 saniye 10 dakika	30.gün degradasyon yok
9	10	8	2		5	40 saniye 10 dakika	30.gün degradasyon yok
10	10	8	4		5	40 saniye 10 dakika	30.gün degradasyon yok
11	10	8	8		5	40 saniye 10 dakika	30.gün degradasyon yok

Burada %5 KCl ortamında güçlü bir iyonik bağlanma sağlandığı ve oda koşullarında tüm numuneler KCl ortamında bozunmadan kaldığı için tüm testlerin %5 KCl varlığında

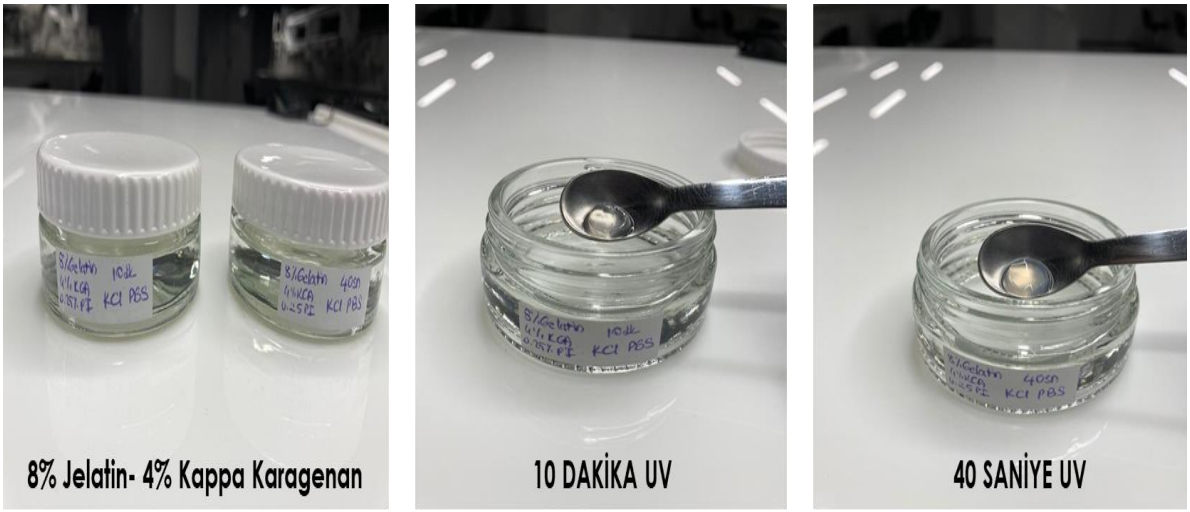
gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Formülasyon 8-11 için analiz sonuçlarına ait görseller Şekil **4.11-4.14**'te sunulmuştur.



Şekil 4.11: %8 Jelatin-%1 Kappa Karagenan Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 8) 37°C'de ve 30. Gün Sonunda Degradasyon Sonuçları.



Şekil 4.12: %8 Jelatin-%2 Kappa Karagenan Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 9) 37°C'de ve 30. Gün Sonunda Degradasyon Sonuçları.

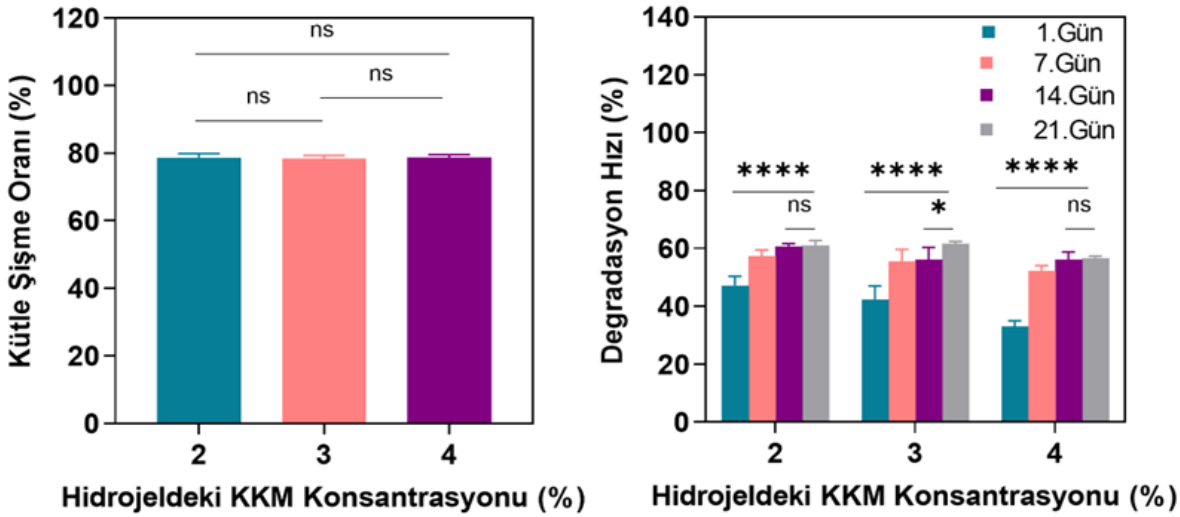


Şekil 4.13: %8 Jelatin-%4 Kappa Karagenan Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 10) 37°C'de ve 30.Gün Sonunda Degradasyon Sonuçları.



Şekil 4.14: %8 Jelatin-%8 Kappa Karagenan Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 11) 37°C'de ve 30.Gün Sonunda Degradasyon Sonuçları.

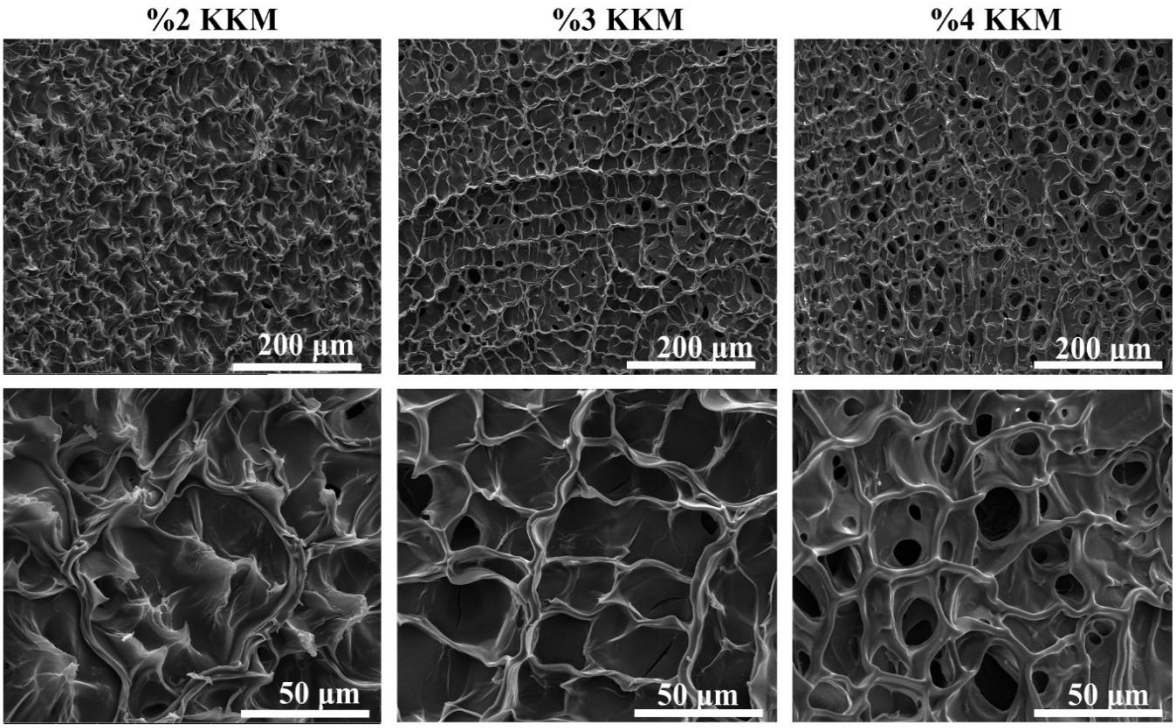
Optimizasyon sonrası konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14 için) şişme ve degradasyon davranışı analizleri Bölüm 3.2.5 ve 3.2.6'da açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Şekil 4.15**'te gösterilmiştir. Buna göre; **Şekil 4.15 (A)** farklı formülasyonlara sahip hidrojellerin fiziksel koşullar altında (FTÇ içerisinde, 37°C sıcaklık) 24 saat sonunda şişme profili sunulmuştur. Farklı konsantrasyonlardaki %KKM oranı, ağ yapısında önemli bir şişme davranış değişikliğine sebep olmamıştır. **Şekil 4.15 (B)** 21 gün boyunca fiziksel koşullar altında (FTÇ içerisinde, 37°C sıcaklık) ağırlık kaybı yüzdesini göstermektedir. Sonuçlar incelendiğinde tüm formülasyonlarda zamanla hidrojel yapısında degradasyon hızının arttığı gözlenmiştir.



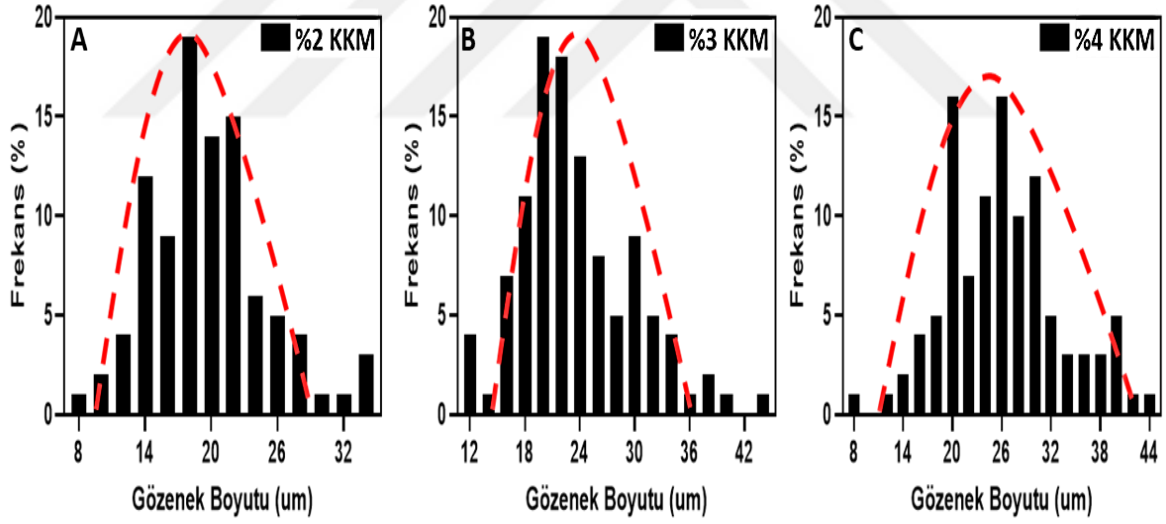
Şekil 4.15: Hidrojellerin fiziksel koşullar altında (37°C ve FTÇ içerisinde) kütle şişme oranı ve degradasyon davranışı. (A) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM içeren hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) kütle şişme oranı. (B) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM içeren hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) ağırlık kaybı yüzdesi. (Tek yönlü ANOVA, Tukey anlamlı fark sonrası hoc testi; **** $p \leq 0.0001$; * $p \leq 0.05$; ns, anlamlı olmayan anlamına gelir, n=3). Hata çubukları standart sapmayı temsil etmektedir.

4.2.2. Yüzey Morfolojik Özellikleri

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14 için) yüzey morfolojik özelliklerinin SEM analizi ile belirlenmesi Bölüm 3.2.4'te açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Şekil 4.16** ve **Şekil 4.17**'de gösterilmiştir. Buna göre; tüm formülasyonların gözenekli bir yapıya sahip olduğu ve hidrojeldeki %KKM oranı artışı gözenek boyutunu arttırdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.16: Hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) yüzey morfolojik özellikleri.

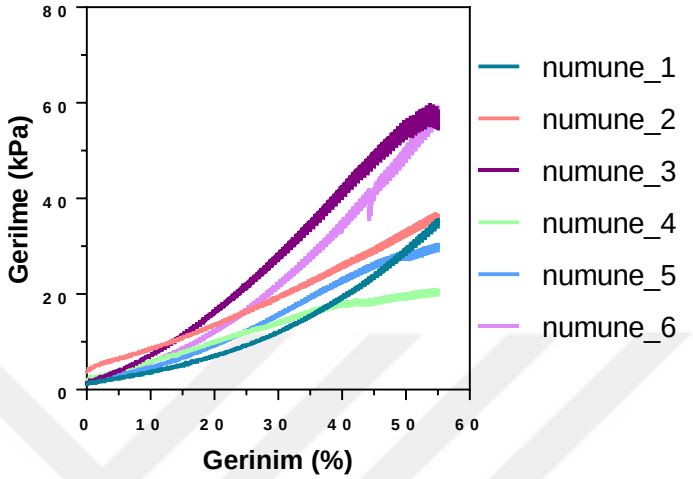


Şekil 4.17: Hidrojellerin gözenek boyutu dağılımı. %16 jelatin (ağ./hac.) ve (A) %2, (B) %3 ve (C) %4 (ağ./hac.) KKM'den oluşan liyofilize supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) gözenek boyutu dağılımı.

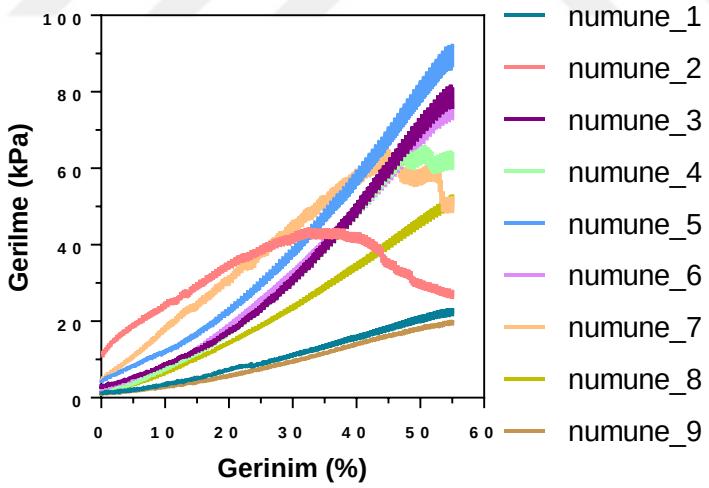
4.2.3. Mekanik Özellikler

Formülasyon 8 ve 9 için konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin gerilme-gerinim testine ait sonuçlar **Şekil 4.18-4.21**'de sunulmuştur. Yapılan test sonuçlarından gerilme-gerilim değerlerinin literatüre kıyasla daha düşük çıktığı tespit edilmiştir. İstenen tüm özelliklerin iyileştirilmesi için yeterli çapraz bağlanmanın gerçekleştirilmesi gerekliliği sonucuna varılmıştır. Kimyasal ve mekanik özelliklerin iyileştirilmesi için kappa-

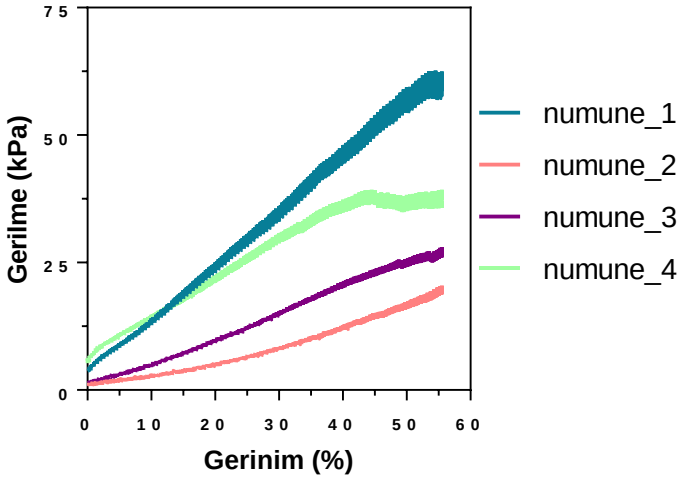
karrageenan'ın metakrilik anhidrit (KKM) ile metakrilatlanma reaksiyonunun gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Bu sebeple, formülasyonlar optimize (formülasyon 12, 13 ve 14) edilmiştir.



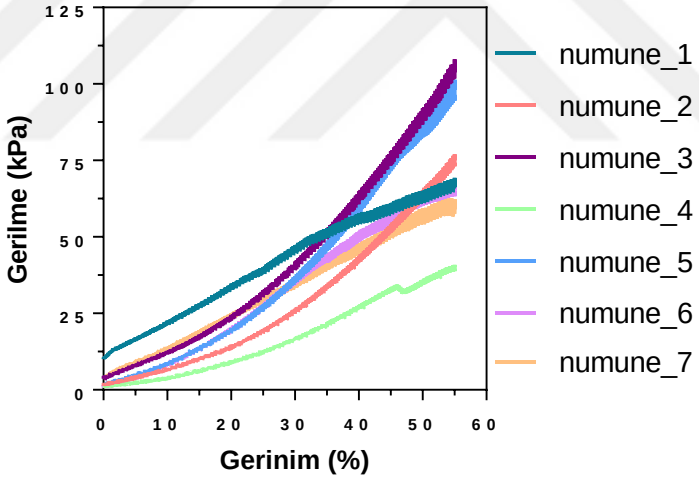
Şekil 4.18: %8 Jelatin, %1 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 8) 40 saniye UV Işık ile Kürleme Sonrası Sıkıştırma Testi Sonuçları (numune 1-6: tekrarlı test sonuçlarıdır).



Şekil 4.19: %8 Jelatin, %1 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 8) 10 Dakika UV Işık ile Kürleme Sonrası Sıkıştırma Testi Sonuçları (numune 1-9: tekrarlı test sonuçlarıdır).

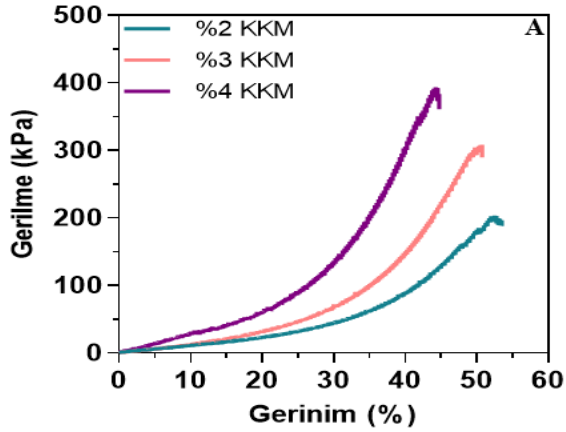


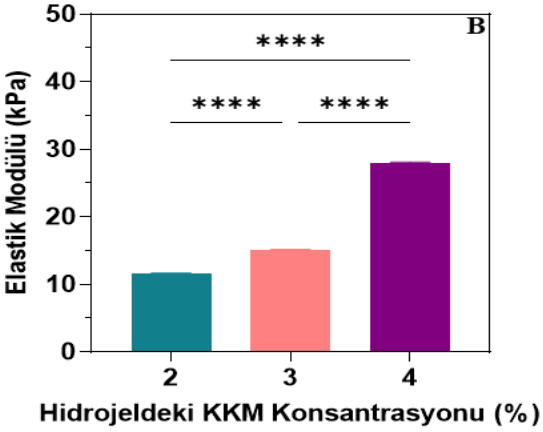
Şekil 4.20: %8 Jelatin, 2 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 9) 40 saniye UV Işık ile Kürleme Sonrası Sıkıştırma Testi Sonuçları (numune 1-4: tekrarlı test sonuçlarıdır).

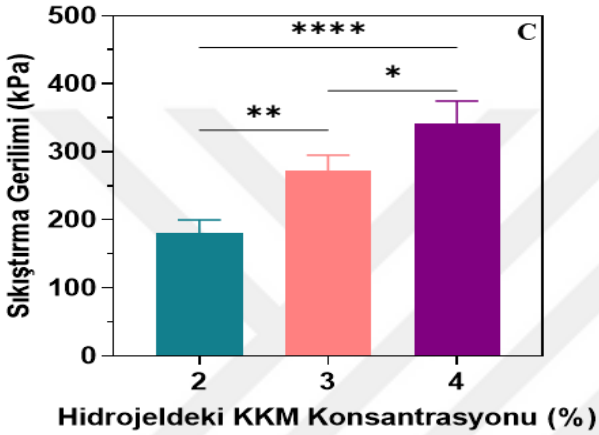


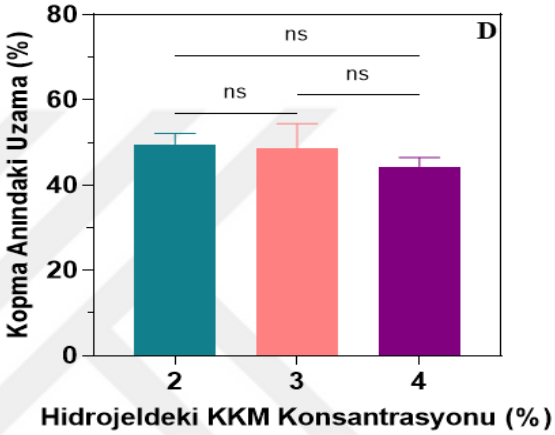
Şekil 4.21: %8 Jelatin, %2 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellerin (formülasyon 9) 10 Dakika UV Işık ile Kürleme Sonrası Sıkıştırma Testi Sonuçları (numune 1-7: tekrarlı test sonuçlarıdır).

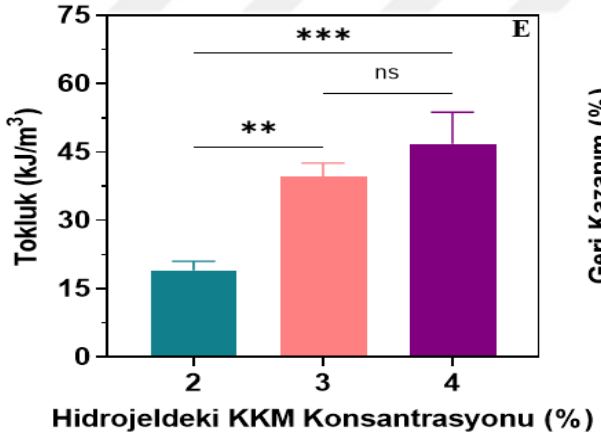
Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) mekanik özellikleri Bölüm 3.2.7'de açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Şekil 4.22**'de karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Buna göre; hidrojeldeki %KKM oranı arttıkça gerilme, elastik modül ve sıkıştırma gerilimini arttırdığı ve kopma anındaki uzamanın görece azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca tokluk ve enerji kaybı %KKM artışı ile artarken geri kazanım değerinin her üç formülasyonda da %90-98 aralığına ulaştığını göstermiştir.

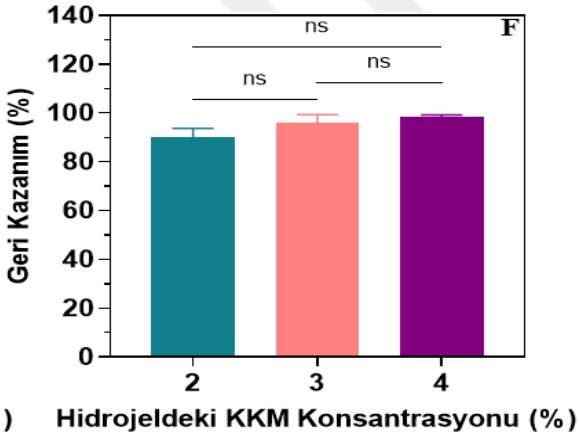

A
%2 KKM
%3 KKM
%4 KKM
Gerilme (kPa)
Gerinim (%)

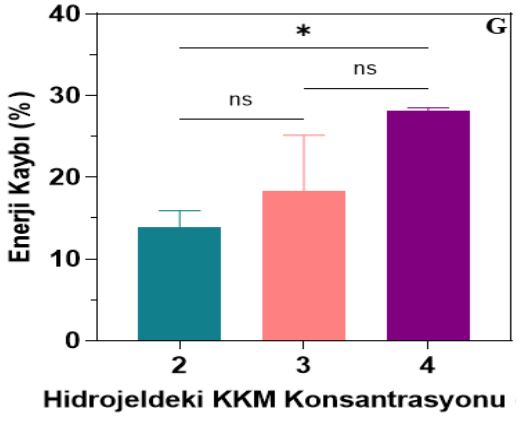

B
****
****
****
Elastik Modülü (kPa)
Hidrojeldeki KKM Konsantrasyonu (%)


C
****
*
**
Sıkıştırma Gerilimi (kPa)
Hidrojeldeki KKM Konsantrasyonu (%)


D
ns
ns
ns
Kopma Anındaki Uzama (%)
Hidrojeldeki KKM Konsantrasyonu (%)

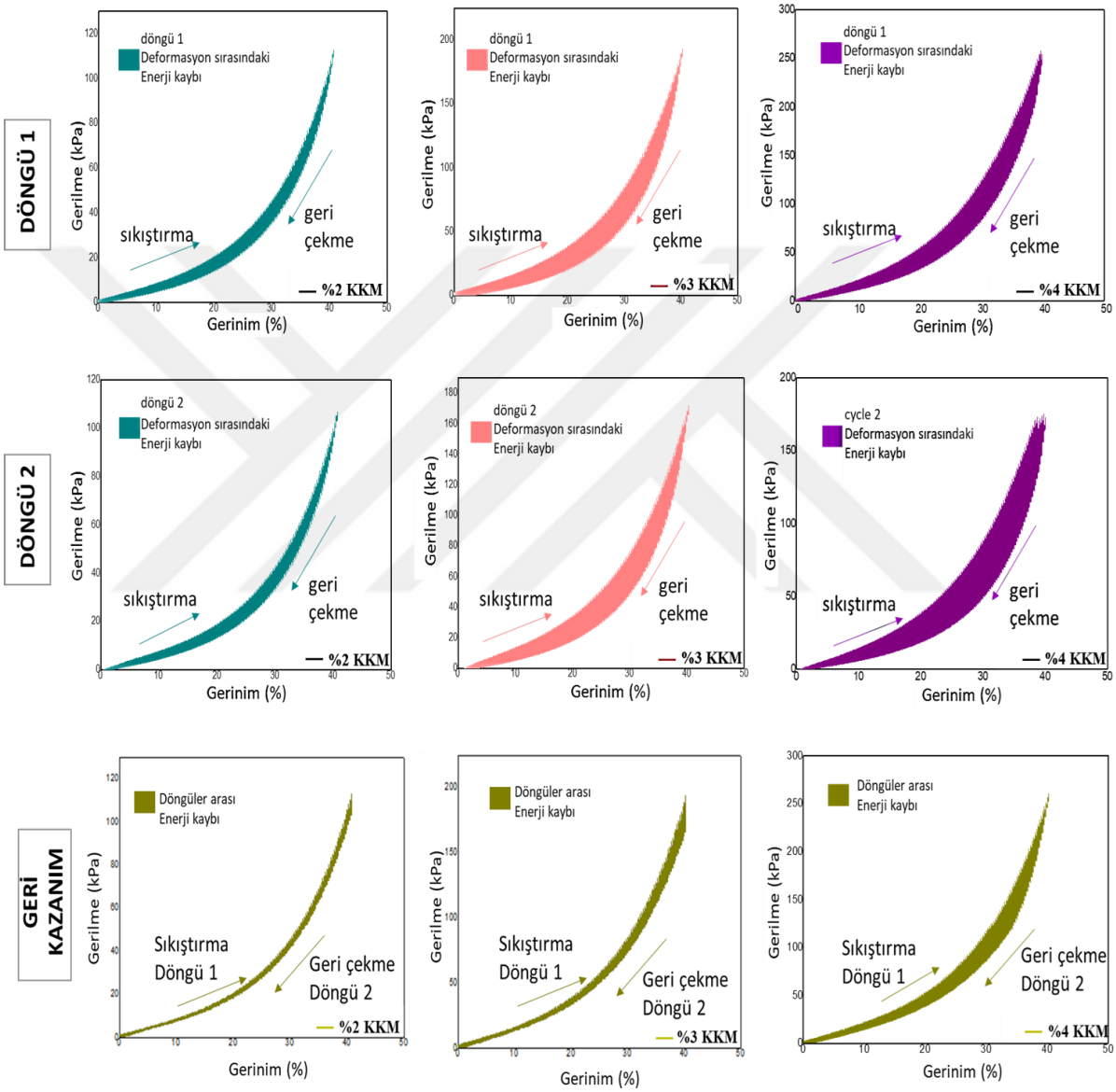

E
***
ns
**
Tokluk (kJ/m3)
Hidrojeldeki KKM Konsantrasyonu (%)

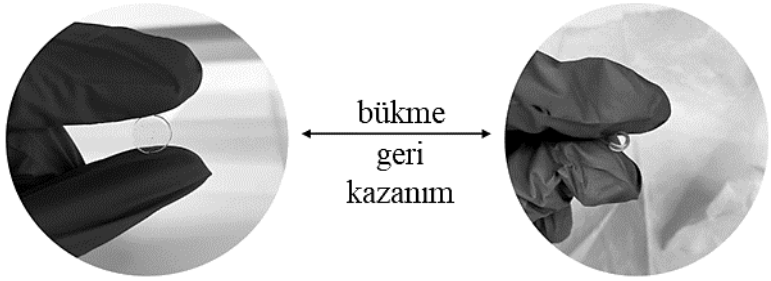

F
ns
ns
ns
Geri Kazanım (%)
Hidrojeldeki KKM Konsantrasyonu (%)


G
*
ns
ns
Enerji Kaybı (%)
Hidrojeldeki KKM Konsantrasyonu (%)

Şekil 4.22: Hidrojellerin mekanik özellikleri. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'den oluşan liyofilize supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) (A) Gerilme-gerinim eğrileri, (B) Elastik (Sıkıştırma) modülü, (C) Sıkıştırma gerilimi, (D) Kopma Anındaki Uzama (%), (E) Tokluk, (F) Geri Kazanım (%) ve (G) Enerji kaybı (%). (Tek yönlü ANOVA, Tukey anlamlı fark sonrası hoc testi; *** $p \leq 0{,}001$; ** $p \leq 0.01$; * $p \leq 0.05$; ns, önemsiz anlamına gelir, n=10). Hata çubukları standart sapmayı temsil etmektedir.

Hidrojellerin döngüsel sıkıştırma testi sonuçları **Şekil 4.23**'te verilmiştir.



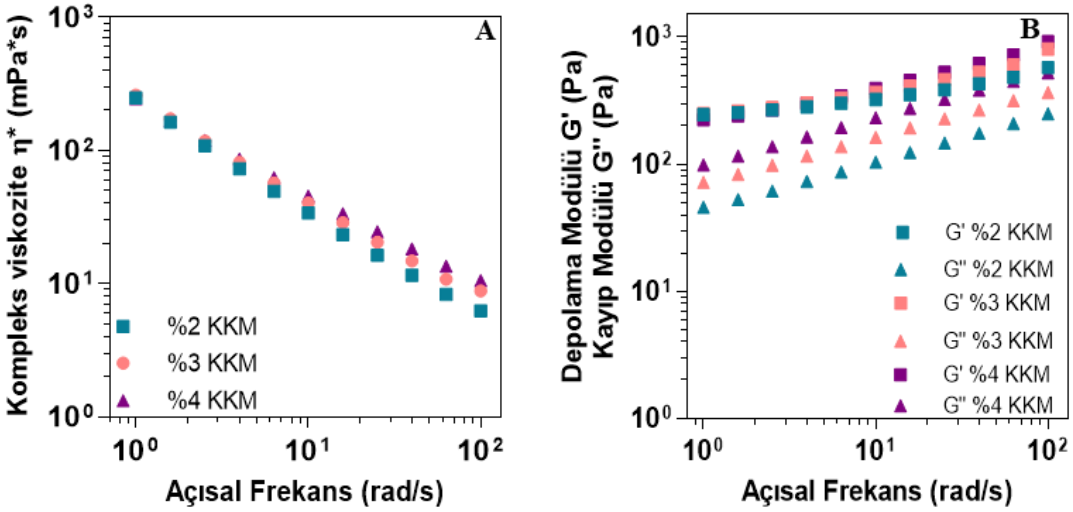


Şekil 4.23: Hidrojellerinin döngüsel sıkıştırma eğrileri ve deformasyona uğrayan hibrit hidrojellerin geri kazanımını gösteren nitel görüntü (%16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM'den oluşan örnek).

4.3. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT POLİMERLERİN REOLOJİK ÖZELLİKLERİ

4.3.1. Viskoelastik Özellikler

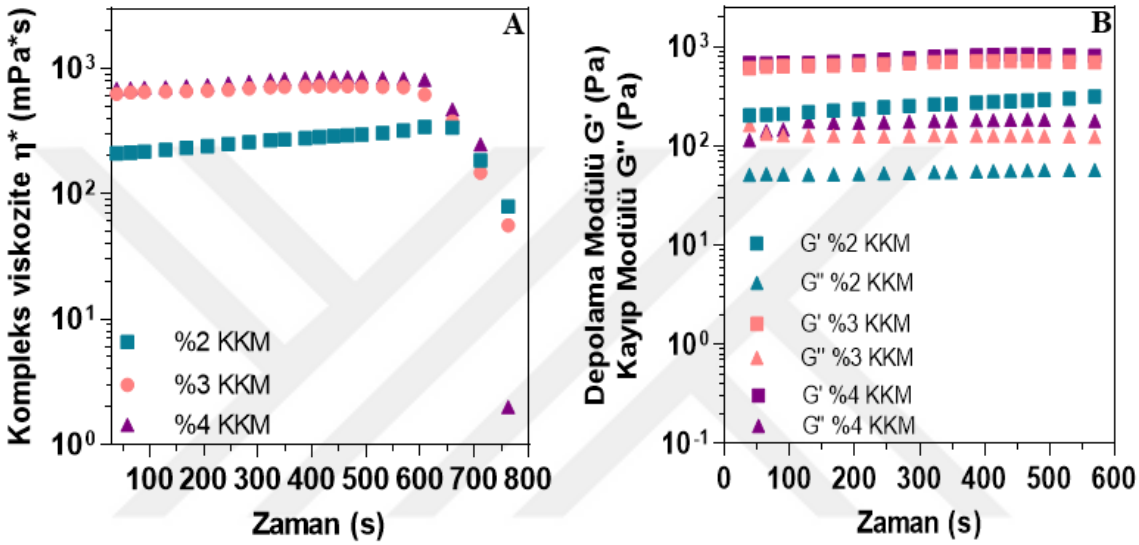
Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin (formülasyon 12, 13 ve 14) reoloji analizleri Bölüm 3.2.8'de açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Şekil 4.24**'te verilmiştir. Buna göre; **Şekil 4.24 (A)**'da her üç formülasyonda da kompleks viskozite değerinin açısal frekans artışıyla azaldığını göstermiştir. **Şekil 4.24 (B)**'de hem kayıp hem de depolama modülünün açısal frekans artışıyla arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca her üç formülasyonda da kayıp modülü değerlerinin depolama modülü değerlerinden yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 4.24: Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin açısal frekansa karşı reolojik özellikleri. (A) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin (formülasyon 12, 13 ve 14) kompleks viskozitesi. (B) %16 jelatin ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin (formülasyon 12, 13 ve 14) depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G").

4.3.2. Dinamik Reolojik Özellikler

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin (formülasyon 12, 13 ve 14) reoloji analizleri Bölüm 3.2.8'de açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Şekil 4.25**'te karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre; **Şekil 4.25 (A)**'da zamanla kompleks viskozite değerlerinin polimerdeki %KKM oranı ile görece değişiklik göstermediği tespit edilmiştir. **Şekil 4.25 (B)**'de polimerdeki %KKM oranından bağımsız depolama modülünün kayıp modül değerlerinden yüksek olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.25: Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin zamana karşı reolojik özellikleri. (A) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin (formülasyon 12, 13 ve 14) kompleks viskozitesi. (B) %16 jelatin ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin (formülasyon 12, 13 ve 14) depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G'').

4.4. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN KENDİ KENDİNİ İYİLEŞTİRME DAVRANIŞLARI

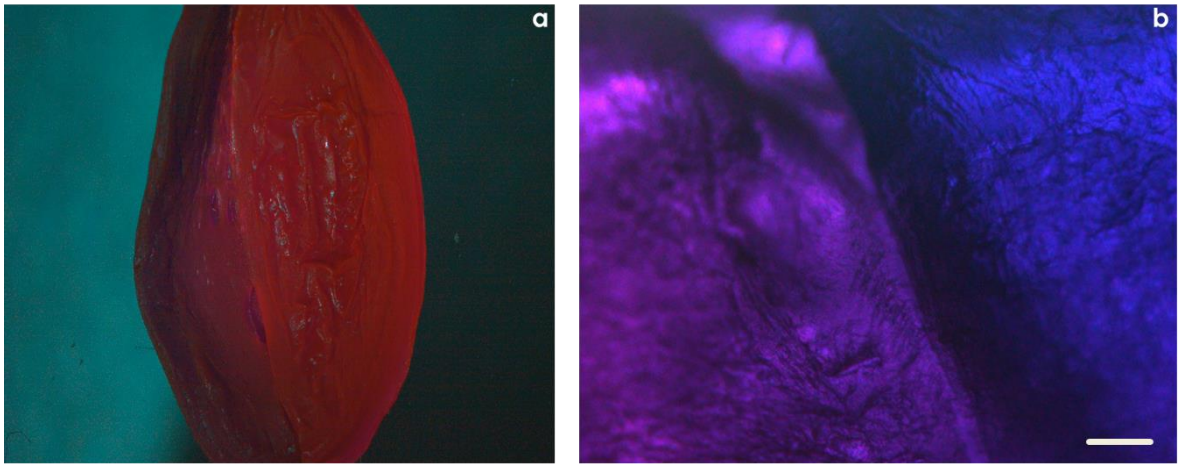
Formülasyon 8 ve 10'a ait konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin kendi kendini iyileştirme davranışlarından elde edilen sonuçlar **Şekil 4.26** ve **Şekil 4.27**'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Formülasyon 10'a ait stereo ve floresan mikroskop görüntüleri de **Şekil 4.28**'de sunulmuştur. Buna göre; formülasyon 8 ve 10'a ait hidrojelin kendi kendini iyileştirme davranışının yetersiz olduğu tespit edilmiştir. Formüller optimize edilerek (formülasyon 12, 13 ve 14) analiz tekrar edilmiştir.



Şekil 4.26: %8 Jelatin, %1 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere (formülasyon 8) ait Kendi Kendini İyileştirme Davranışı.

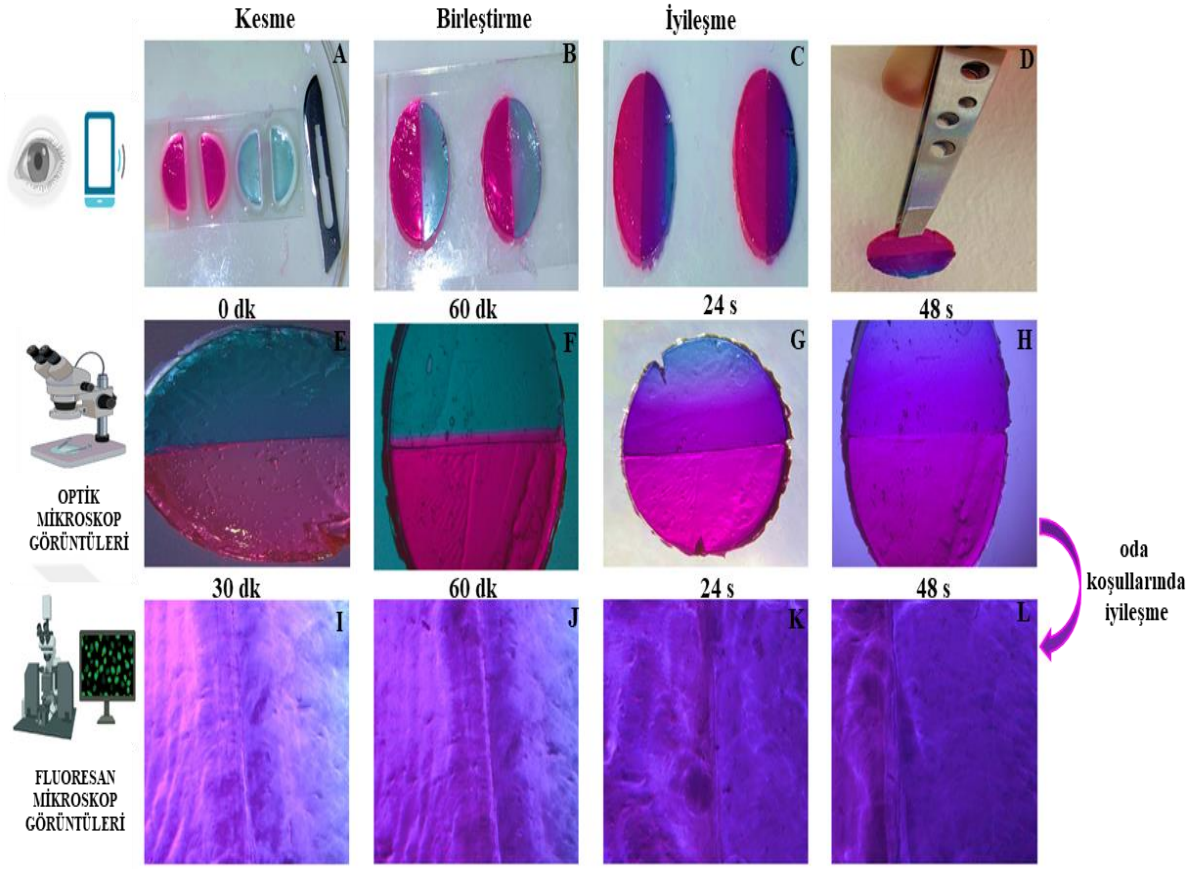


Şekil 4.27: %8 Jelatin, %4 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere (formülasyon 10) ait Kendi Kendini İyileştirme Davranışı.



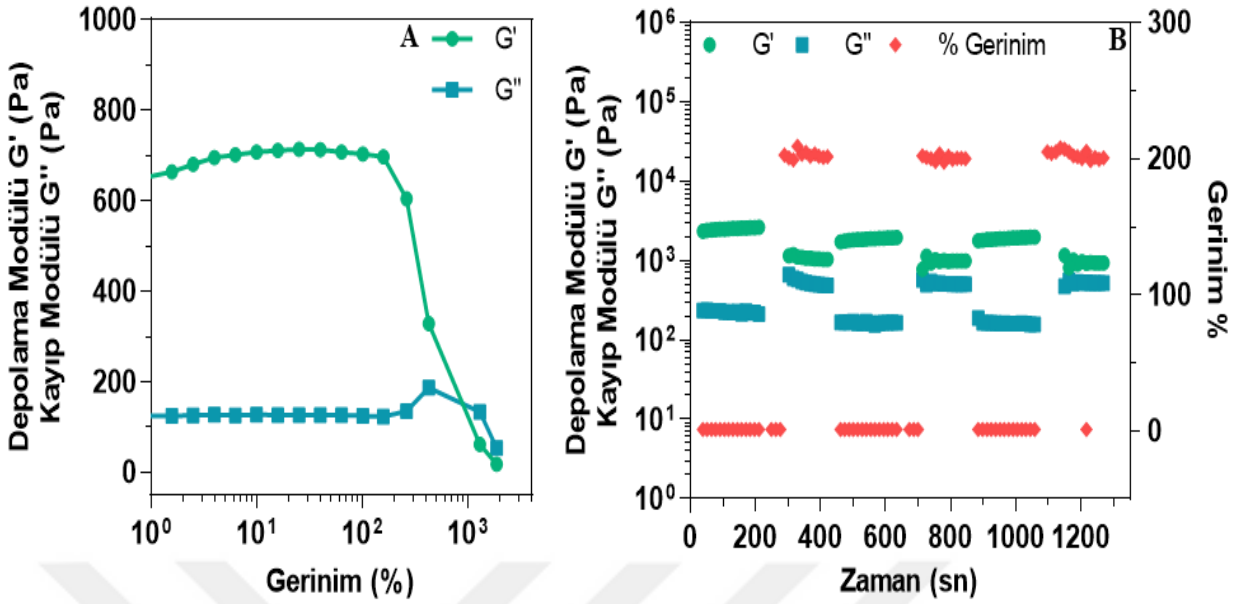
Şekil 4.28: %8 Jelatin, %4 Kappa-Karagenan, 5% KCl içeren Konak-Konuk İkili Çapraz Bağlı Hibrit Hidrojellere (formülasyon 10) ait Kendi Kendini İyileştirme Davranışı Sonrası (a) Stereo ve (b) Floresan Mikroskop Görüntüsü.

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin kendi kendini iyileştirme davranışları Bölüm 3.2.9'da açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Şekil 4.29**'da karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre; %2 KKM içeren hidrojelin (formülasyon 12) kendi kendini iyileştirme davranışına sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.29: Hidrojellerin (formülasyon 12) kendi kendini iyileştirme sürecinin görüntüleri. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM içeren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit (A) Boyalı ve yarıya kesilmiş hidrojeller, (B) Lekeli farklı renk hidrojellerin birbirine temas etmesi, (C) İyileştirilmiş hibrit hidrojel ve (D) İyileştirilmiş hibrit hidrojel dikey olarak tutulmuştur. Kendi kendine iyileşme süreci, (E) 0 dk, (F) 60 dk, (G) 24 saat ve (H) 48 saat olmak üzere farklı zaman aralıklarında optik mikroskop görüntüleri ile kaydedildi. Kendi kendine iyileşme süreci, farklı zaman aralıklarında floresan mikroskop görüntüleri ile kaydedildi: (I) 30 dakika, (J) 60 dakika, (K) 24 saat ve (L) 48 saat.

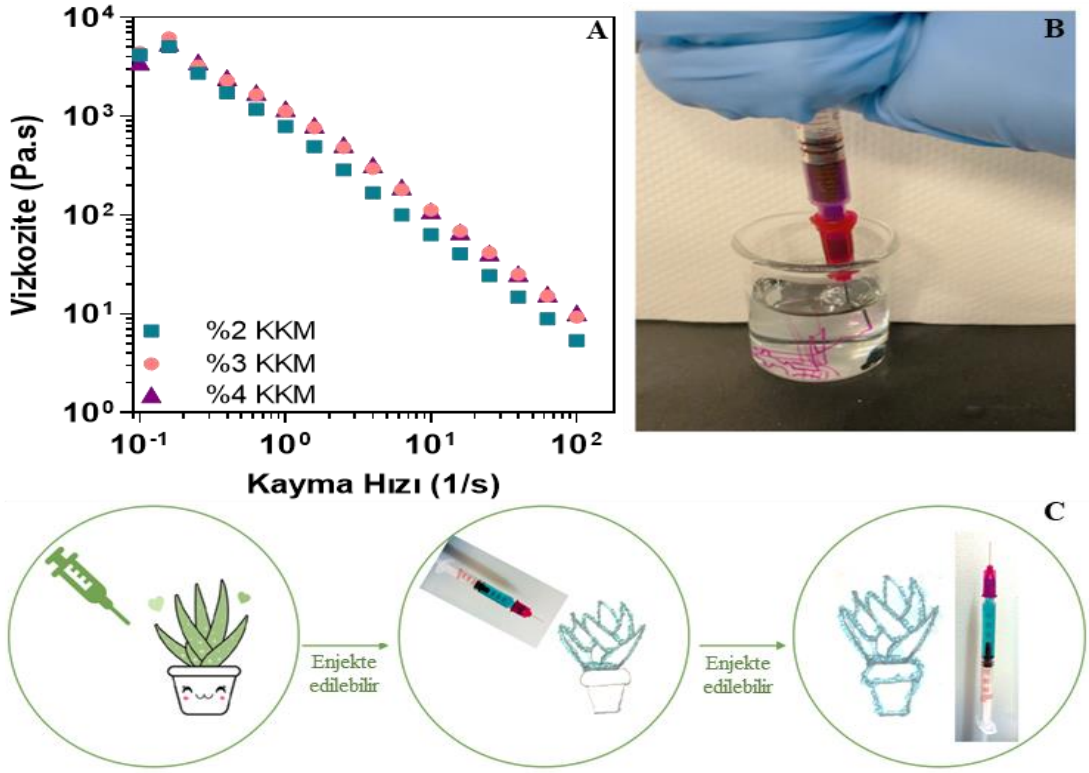
Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin (formülasyon 12) reolojik özellikleri testi Bölüm 3.2.9'da açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Şekil 4.30**'da karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre, %2 KKM içeren polimerin çapraz geçiş noktasının %868 olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.30: Hidrojellerin (formülasyon 12) reolojik davranışı. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM içeren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin, (A) %1 ve %1000'den gerinim genliği taraması, (B) Geri kazanım karakterizasyonu için 25 °C'de sabit bir açısal frekansta (1 rad/s) 200 sn boyunca %1'den %200'e kadar döngüsel adım gerinim testi.

4.5. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN KAYMA İNCELMESİ VE ENJEKTE EDİLEBİLİRLİK DAVRANIŞLARI

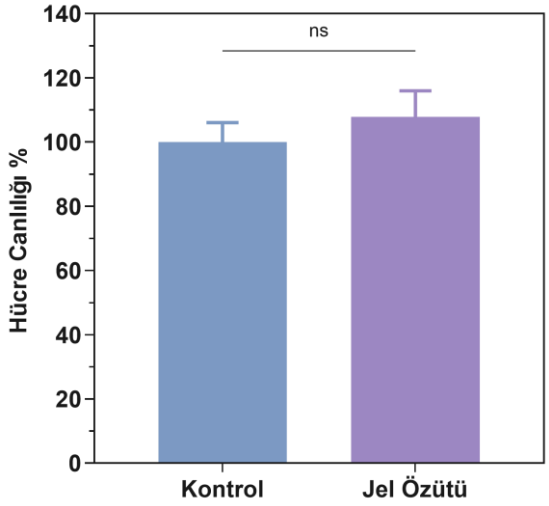
Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14 için) kayma incelmesi ve enjekte edilebilirlik davranış testi Bölüm 3.2.10'da açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil **4.31**'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre, hidrojeldeki %KKM oranlarından bağımsız tüm polimerlerin viskoelastik özellikleri kayma incelmesi davranışı göstermiştir.



Şekil 4.31: Hidrojellerin kayma incelmesi ve enjekte edilebilirlik özellikleri. (A) %16 jelatin (ağ./hac.) ve farklı konsantrasyonlarda (%2, %3 ve %4) KKM içeren hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) 0,1 ila 100 s^{-1} arasında bir kayma hızında viskozitesi, (B) Hidrojelin (formülasyon 12) enjekte edilebilir özelliğinin gösterilmesi için 25 gauge bir iğneden FTÇ'ye enjekte edilmiştir (hidrojel, Rhodamine-B ile boyanmıştır), (C) Bir kapta oda sıcaklığında aloe vera şeklini çizmek için enjekte edilen hibrit hidrojelin görüntüsü (hidrojel, malakit yeşili ile boyanmıştır).

4.6. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN İN-VİTRO HÜCRE KÜLTÜR ANALİZİ BULGULARI

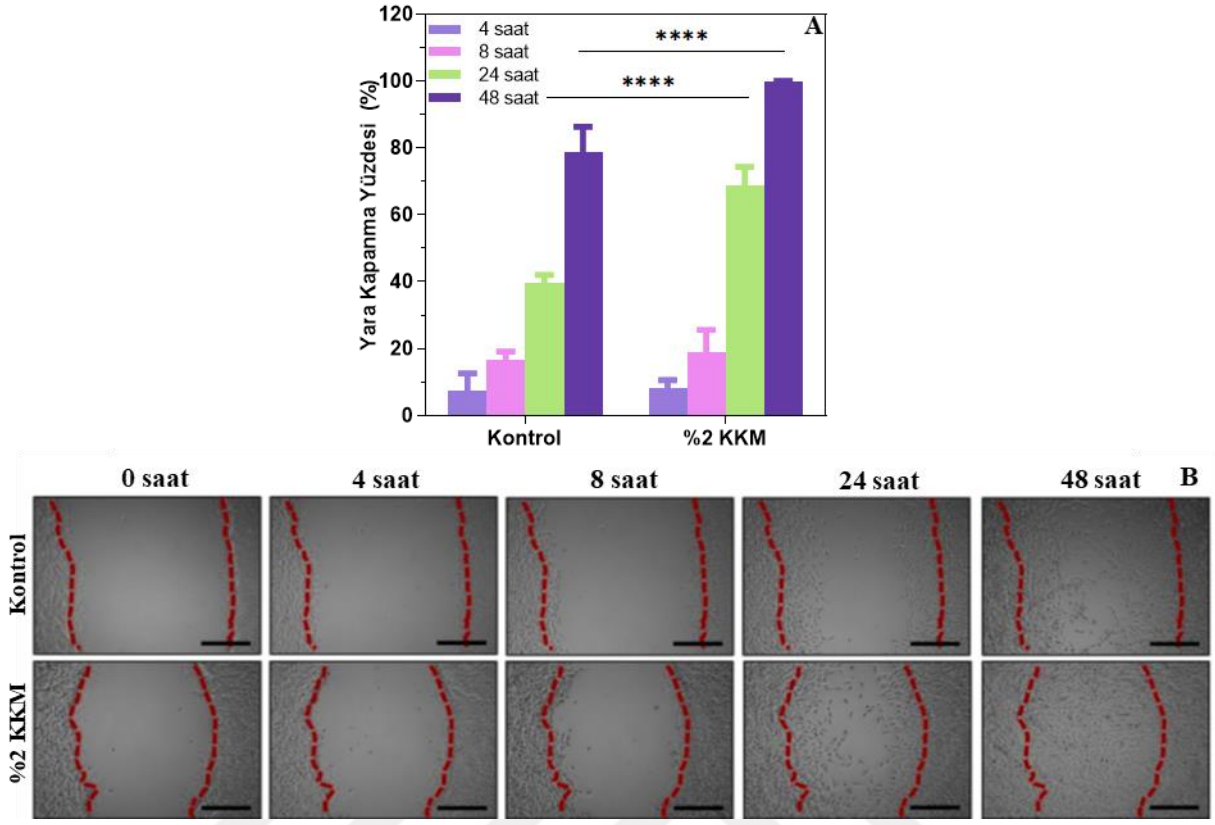
Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin in-vitro hücre kültür davranış testi Bölüm 3.2.11'de açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil **4.32**'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre; %2 KKM içeren hidrojelin (formülasyon 12) toksik olmadığı ve yüksek hücre canlılığına sahip olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.32: Hidrojellerin sitotoksisite özellikleri. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM içeren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojel (formülasyon 12) özütünün MTT deneyi ile 48 saatte hücre canlılığı %'si.

4.7. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN İN-VİTRO YARA KAPANMA MODELİ (ÇİZİK TESTİ) ANALİZİ BULGULARI

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin in-vitro yara kapanma modeline ait çizik testi Bölüm 3.2.12'de açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil **4.33**'te karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre; %2 KKM içeren hidrojel (formülasyon 12) 48 saat sonunda yara modelinde yaklaşık %100'lük bir kapanma/iyileşme sağlamıştır.



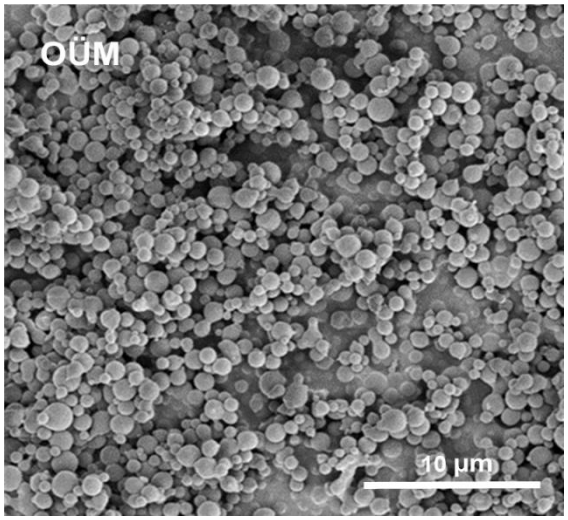
Şekil 4.33: Hidrojellerin yara kapatma özellikleri. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2 (ağ./hac.) KKM içeren supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojelin (formülasyon 12) (A) Çizik testi sonrası farklı zaman aralıklarında (4, 8, 24 ve 48 saat) yara kapanma yüzdesi sonuçları (n=3, ****p<0,0001 ve ilgili kontrol grubu), (B) Kontrolde NIH/3T3 hücrelerini ve %2 (ağ./hac.) KKM hibrid hidrojel özü ile muamele edilmiş grubu gösteren ilk çizikten 0, 4, 8, 24 ve 48 saat sonra alınan temsili görseller (ölçek çubuğu: 200 um).

4.8. OKSİJEN ÜRETEN MALZEME ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

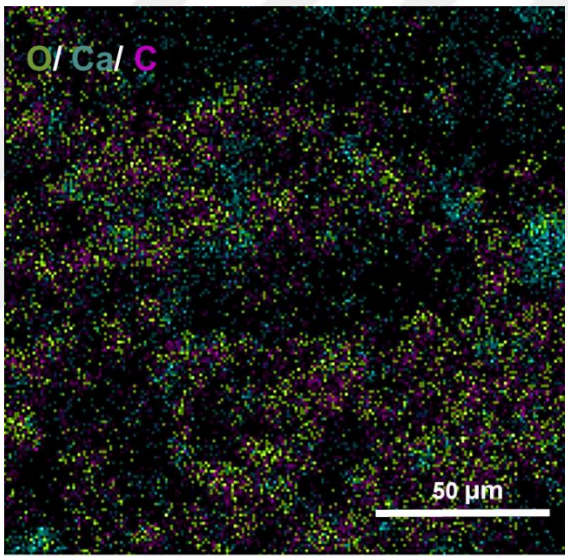
OÜM sentezine ait karakterizasyon testleri ve oksijen salımı analizine ait elde edilen sonuçlar **Şekil 4.34-4.37**'de sunulmuştur.

4.8.1. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Mikroskobik (SEM) ve Elementel Analiz Bulguları

Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) mikroparçacıkların mikroskobik (SEM) ve elementel analiz testi Bölüm 3.3.2'de açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar **Şekil 4.34-4.35**'te karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre; oksijen üreten mikroparçacıkların küresel yapıda olduğu ve oksijen salımı gerçekleştirdiği için elementel haritalanmasında oksijen açığa çıkardığı tespit edilmiştir.



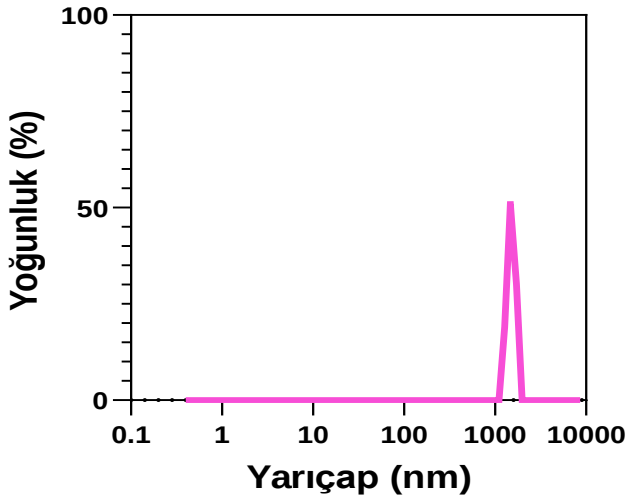
Şekil 4.34: Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların SEM görüntüsü.



Şekil 4.35: Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) ile Elementel Haritalanması.

4.8.2. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Parçacık Boyutu Dağılımı Analiz Bulguları

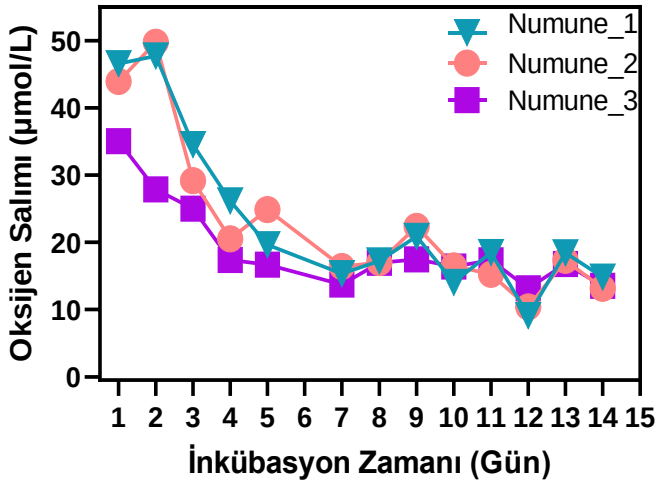
Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) mikroparçacıkların partikül boyut dağılımı analiz testi Bölüm 3.3.3'te açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil **4.36**'da karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre; parçacık boyut dağılımının 1-2 µm aralığında olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.36: Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların partikül boyut dağılımı analizi.

4.8.3. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Oksijen Salım Profillerinin Analiz Bulguları

Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) mikroparçacıkların oksijen salım analiz testi Bölüm 3.3.4'te açıklanmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil **4.37**'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Buna göre; mikroparçacıkların oksijen salım davranışı gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.37: Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların oksijen salım profillerinin analizi (numune 1-3: tekrarlı örnek sayısıdır).

5. TARTIŞMA

5.1. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN SENTEZİ

Konak-konuk etkileşimler yoluyla enjekte edilebilir, kendi kendini iyileştiren ikili çapraz bağlı supramoleküler hibrit hidrojellerin üretim şeması **Şekil 4.9**'da sunulmuştur. Biyomalzeme platformunu gerçekleştirmek için beta siklodekstrinin (β-SD) akrilat bileşiklerle akrilatlama reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu sentezde metakrilatlanmış kappa-karagenan (KKM) omurgası, konak molekül olan akrilatlanmış beta siklodekstrin (Ak-β-SD) ile modifiye edilmiştir. Fenilalanin, triptofan ve tirozin gibi jelatinin aromatik kalıntıları, supramoleküler etkileşimler oluşturmak için konuk moleküller olarak tercih edilmiştir. Supramoleküler yapı, jelatinin aromatik kalıntıları ve konakçı Ak-β-SD'ler arasındaki konak-konuk inklüzyon kompleksi tarafından kolayca oluşturulmuştur.

Buna göre; ilk olarak hidrojel öncüsü Ak-β-SD ve jelatin arasındaki konak-konuk etkileşimi yoluyla oluşturulmuştur. Bu çalışmada jelatin yapısında tirozin, fenilalanin ve triptofan gibi aromatik amino asitleri grupları bulunması SD ile konak-konuk etkileşimlerini oluşturulmasına neden olmaktadır. Doktora tez çalışması kapsamında ayrıca jelatinin mekanik özeliklerini iyileştirmek ve hücre dışı matrisi (ECM) daha iyi taklit edebilmek için hibrit yapılı protein-polisakkarit hidrojelin hazırlanması amacıyla kappa-karagenan (KK) polisakkarit yapılı polimer olarak tercih edilmiştir. Kappa-karagenanın seçilme nedenlerinden bazıları, jelleşme özellikleri, mekanik dayanıklılığı ve doğal glikozaminoglikanlara benzerliğidir. Ayrıca, KK doğal tiksotropik davranışa sahip olup ve bu özellik minimal invaziv tedaviler için makromoleküller ve hücrelerin yüklenmesinde enjekte edilebilir bir matris olarak kullanılabilirliği KK'yı doku mühendisliği uygulamalarında potansiyel aday haline getirmiştir. Fakat optimizasyon çalışmalarında da görüldüğü üzere iyonik olarak çapraz bağlı KK yetersiz şişme, bozunma ve mekanik özelliklere sahiptir. Bu yetersizliğin başlıca nedeni, yapıda bulunan tek değerlikli iyonların çevredeki fizyolojik ortamdan gelen diğer pozitif iyonlarla kontrol edilemeyen değişiminden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, hücre canlılığının da korunacağı kararlı çapraz bağlı jellerin oluşumunu mümkün kılacak bir KK modifikasyonu zorunlu hale gelmiştir. Tezde kimyasal çapraz bağlama yoluyla polimer zincirleri arasında uygun çapraz bağlama ajanları ile kovalent bağların oluşturulması hedeflenmiştir. Tez kapsamında, KK metakrilik anhidrit ile modifiye edilerek çapraz bağlanma reaksiyonları UV ışık veya kimyasal foto başlatıcı varlığında gerçekleştirilmiştir. Bölüm 3.2.1'de detaylı anlatılan

koşullar altında, özetle Ak-β-SD, jelatin ve KKM karıştırılarak konak-konuk supramoleküler hibrit hidrojeller üretilmiştir. Sonrasında kimyasal çapraz bağlanmanın gerçekleştirilmesi için fotobaşlatıcı I2959 varlığında UV kürleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çapraz bağlama sırasında oluşturulan kovalent bağlar, polimer ağına yüksek fiziksel ve kimyasal kararlılık sağlamıştır. Bununla birlikte, KKM yapısında bulunan sülfat iyonlarının fizyolojik ortamlarda düşük kararlılık oluşturmasını engellemek ve kontrol altına almak için polimer zincirleri arasında fiziksel bağların oluşturulmasına karar verilmiştir. Bu amaca yönelik olarak KCl'nin potasyum iyonları ve KKM'nin sülfat iyonları arasında fiziksel çapraz bağlanma sağlanmıştır. Dahası bu iyonik etkileşimler tezde önerilen kendi kendini iyileştirme davranış performansına da katkı sağlamıştır. Bu yaklaşımla hem fiziksel hem de kimyasal çapraz bağlanma sağlanarak ikili çapraz bağlı konak-konuk hibrit hidrojeller elde edilmiştir. Kimyasal ve fiziksel çapraz bağlama kombinasyonu, hücrelerin yaşayabilirliğini korurken çok yönlü fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip hidrojellerin oluşumunu da sağlamıştır.

Ak-β-SD sentezi sonrası β-SD ile karşılaştırma ve akrilleme reaksiyonunun gerçekleştiğini tespit etmek amacıyla Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) analizi yapılarak ilgili spektrumlar **Şekil 4.1**'de verilmiştir. Literatürden de doğrulandığı üzere akrilat-β-SD spektrumu, her ne kadar C=C gerilmelerinden dolayı 1664 cm^{-1}'de karakteristik titreşimleri gösterse de C=O gerilmelerine bağlı 1720 cm^{-1}'de spesifik titreşimleri göstermemiştir. Gerçekleştirilen FTIR sonucunda da görüldüğü üzere sentez sırasında β-SD'in yeteri kadar akrilatlanmadığı tespit edilmiştir. Reaksiyon sırasında problem olup olmadığını incelemek için ilgili sentez aynı parametrelerle 3 defa tekrar edilmiş olup aynı sonuçlar elde edilmiştir. Bu sebeple, sentez parametrelerinin değiştirilmesine karar verilmiştir.

Kapsamlı literatür taraması yapıldığında Ak-β-SD sentez adımında akrilatlanmayı sağlayan ajan olarak akrilik aside göre çok daha reaktif olan akriloil klorürün kullanılmasına karar verilmiştir. Bölüm 3.2.1'de ifade edilen sentez aşamasında akrilik asit yerine akriloil klorür 7 ml kullanılarak ürünün tam kuruması için liyofilizasyon süresi 4 güne çıkarılmıştır. Gerçekleştirilen FTIR analizinde, β-SD'nin başarıyla akrillendiği gösterilmiş olup ilgili spektrum **Şekil 4.2 (A)**'da sunulmuştur. Bu kapsamda karakteristik tepe noktalarını ve sülfat içeriğini doğrulamak için FTIR analizi yapılmıştır. B-SD, Ak-β-SD ve KK, KKM'nin FTIR spektrumları sırasıyla **Şekil 4.2 (A)** ve **Şekil 4.2 (B)**'de gösterilmiştir. β-SD ve Ak-β-SD, C-O gerilmesinin titreşimine karşılık gelen yaklaşık 1018 cm^{-1}'de absorpsiyon bantları göstermiştir. Akrilat-β-SD spektrumunda, C=O ve C=C germe bantları sırasıyla 1720 ve 1649 cm^{-1} civarında

ortaya çıkmıştır. Literatür çalışmalarında da karbon-oksijen ve karbon-karbon ikili bağ FTIR spektrumlarının bu aralıklarda zirve piki verdiği tespit edilmiştir [326,327]. Bu karakteristik pikler, **Şekil 4.2**'de gösterildiği gibi akriloil klorürün β-SD'e etkin şekilde bağlandığını göstermiş olup akrilat gruplarının modifikasyonunu doğrulamıştır.

FTIR spektroskopisi, KKM fonksiyonel grupların C=C gerilmesine karşılık gelen 1633 cm^{-1} civarında absorbans piki göstermiştir. Ayrıca dondurularak kurutulmuş KKM'nin spektrumunda karbon-oksijen (C = O) ikili bağının 1712 cm^{-1}'de karakteristik ester tepesi oluşumu tespit edilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda, KK'nın metakrilatlanma reaksiyonunda spesifik ester bağının FTIR spektrum aralığı 1680-1750 cm^{-1} olarak verilmiştir [25,241,328] dolayısıyla KKM yapısında karakteristik C=O germe absorpsiyonunun varlığı metakrilat grubu modifikasyonunun başarılı şekilde gerçekleştiğini doğrulamıştır. Böylece, bu noktadaki gerilme, ester gruplarının varlığının absorpsiyonundan kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Modifiye edilmemiş KK'da ester titreşimlerinin görülmemesinin nedeni budur. Diğer taraftan su, yaklaşık 3400 cm^{-1}'de bir OH gerilmesi ve 1630 cm^{-1}'de tepe noktası göstermiş olup bu pikin yapıdaki neme atfedilebileceği düşünülmektedir [329–332]. Ayrıca, KK ve KKM'nın FTIR spektrumu, 1250 cm^{-1}'deki karakteristik pik, sülfat içeriğinin varlığını ortaya çıkarmıştır [333,334]. Ayrıca metakrilasyon modifikasyonunda, karakteristik sülfat pikinin aynı absorbans değerinde sabit kalması da KK'nın metakrilasyon reaksiyon koşullarından etkilenmediğini göstermiştir [25].

KK üzerinde çapraz bağlanma öncesi ve sonrası metakrilat sübstitüsyonunun ^{1}H-NMR sonuçları **Şekil 4.3 (A)** ve **Şekil 4.3 (B)**'de gösterilmiştir. Farklı fonksiyonel grupların protonlarına farklı pikler atfedilebilir. Metakrilik anhidrit UV ışık varlığında KK'nın tekrar eden disakkarit yapısı üzerindeki hidroksil grubu üzerinden kimyasal olarak çapraz bağlanmaktadır [25,241,328]. δ = 1,8-2,0 ppm'deki metil grubu tepesi ve δ = 5,9-6,3 ppm'deki vinil grubu tepesi, saf KK'ya göre metakrilik anhidrit varlığı ile açıklanmıştır [335]. ^{1}H-NMR spektrumu, metakrilat reaksiyonunun başarılı modifikasyonunu göstermiştir. Ayrıca, KK'ya özgü olan β-galaktoz sinyal şiddeti (δ=3,89 ppm) metakrilat grubu ile bağlandığında azalmaktadır [241]. Bu durum **Şekil 4.3 (B)**'de açıkça tespit edilmiştir.

5.2. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN FİZİKSEL KARAKTERİZASYON SONUÇLARI

5.2.1. Şişme ve Degradasyon Analiz Sonuçları

Doku mühendisliği çalışmalarında 3B ağları in-vivo ortamını taklit eden koşullara maruz bırakmak, hidrojellerin ortam içerisindeki performanslarının uygun bir şekilde değerlendirilmesi açısından önemlidir [336]. Bir hidrojelin şişme davranışı, nemli bir yara iyileştirme malzemesinde kullanılabilirlik açısından en önemli özelliklerden biri olup hidrojellerin şişme durumuna bağlı olarak mekanik kararlılığı, yara eksüdasını emme ve enfeksiyonu önleme yeteneği vb. özellikleri doğrudan değiştirmektedir [337]. Ayrıca, polimerik ağların şişme özellikleri, su-malzeme etkileşimlerinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Bunlar, kütle taşıma özelliklerini (besin ve oksijen difüzyonu, atık bertarafı) ve sonuç olarak mekanik özelliklerini etkilemektedir [25].

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin fiziksel özellikleri üzerindeki kimyasal ve mekanik kararlılığının etkisini gözlemek için şişme ve hidrolitik degradasyon özellikleri incelenmiştir. İki farklı sıcaklıkta (oda koşulları ve 37°C) ve iki farklı UV ışık ile kürleme süresinde (40 saniye ve 10 dakika) gerçekleştirilen degradasyon çalışmalarına ait sonuçlar **Tablo 4.1-4.4**'te sunulmuştur.

Elde edilen sonuçlarda, yukarıda belirtilen dört farklı koşulda ve beş farklı formülasyonda (formülasyon 1-5) hidrojellerin degradasyona uğrama sebebinin hidrojeller içerisinde yeterli kimyasal çapraz bağlanma olmamasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu sebeple, hidrojellerin oranı değiştirilmeyerek foto başlatıcı oranı arttırılmıştır. Literatür verileri incelendiğinde gelatin bazlı birçok çalışmada foto başlatıcı miktarı %0,25 olarak tespit edilmiştir [338–341]. Bu sebeple tezde kullanılan foto başlatıcı yüzdesi %0,25 olarak tercih edilmiştir. Bu şekilde belirlenen oranlardan, seçilen iki gruptan (formülasyon 6 ve7) hidrojeller sentezlenmiş olup pH:7.4 FTÇ ortamında ve 37°C etüv içerisinde degradasyon analizleri tekrarlanmıştır. Formülasyon 6 ve 7 için analiz sonuçları **Tablo 4.5-4.6**'da sunulmuştur.

Tüm sonuçlar incelendiğinde formülasyon 6 ve 7'nin degradasyona uğradığı belirlenmiş olup bu durumun bir sebebin Ak-β-SD sentezi aşamasında akrilatlanma reaksiyonunun tam olarak gerçekleşmemesinden kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır. Diğer bir sebebin ise, reaksiyon karışım süresinin yetersiz olabileceği şeklinde değerlendirilmiştir. Bu sebeple, Ak-β-SD sentezi tekrarlanarak hidrojel oluşum reaksiyonu sırasında karıştırma süresi iki katına çıkarılmış olup

hidrojeller pH:7.4 FTÇ ortamında, oda koşulu ve 37°C etüv içerisinde degradasyon analizleri hibrit gruplar için yinelenmiştir. Formülasyon 6 ve 7'ye ait analiz sonuçları **Tablo 4.7-4.10**'da sunulmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre 37°C degradasyon testinde hazırlanan hidrojellerin 1.gün sonunda bozunduğu görülmüştür. Ak-β-SD sentezi sonrası β-SD ile karşılaştırma ve akrilleme reaksiyonunun gerçekleştiğini tespit etmek amacıyla Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) analizi yapılarak ilgili spektrumlar **Şekil 4.1'de** verilmiştir. Literatürden de doğrulandığı üzere akrilat-β-SD spektrumu, her ne kadar C=C gerilmelerinden dolayı 1664 cm^{-1}'de karakteristik titreşimleri gösterse de C=O gerilmelerine bağlı 1720 cm^{-1}'de spesifik titreşimleri göstermemiştir. FTIR sonucunda da görüldüğü üzere sentez sırasında β-SD'nin yeteri kadar akrilatlanmadığı ya da verimin son derece düşük olduğu tespit edilmiştir. Reaksiyon sırasında bir hata olup olmadığını görmek için sentez aynı parametrelerle 3 defa tekrar edilmiş olup aynı sonuçlar elde edilmiştir. Bu sebeple, sentez parametrelerinin değiştirilmesine karar verilmiştir.

Yukarıdaki paragrafta anlatıldığı üzere Ak-β-SD sentezinde akrilik asit yerine çok daha reaktif olan akriloil klorür kullanılarak liyofilizasyon süresi 4 güne çıkarılmıştır. Sentez sonrasında konak-konuk etkileşimli hidrojeller yeniden hazırlanmış ve yukarıda detaylı sunulan prosedürler izlenerek degradasyon analizleri tekrar gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen FTIR analizinde β-SD'nin başarıyla akrillendiği **Şekil 4.2**'de gösterilmiştir.

Hazırlanan Ak-β-SD ile 4 farklı formülasyonda (formülasyon 8, 9, 10 ve 11) yeni konakçı-konak makromolekül sentezi gerçekleştirilerek degradasyon davranışları araştırılmıştır. Degradasyon davranışları oda koşulları ve 37°C vücut sıcaklığı olmak üzere iki farklı sıcaklık parametresinde FTÇ pH:7.4 koşullarında gerçekleştirilmiştir. Belirlenen formülasyonlar ve parametreler **Tablo 4.11**'de verilmiştir. Ayrıca test sonuçları da **Tablo 4.11-4.12**'de sunulmuştur. Tüm çalışmalarda 10 dakika ve 40 saniye olmak üzere UV ışık ile kürleme süresi de araştırılmıştır.

Konak-konuk hidrojeller formülasyon numarası 8, 9, 10 ve 11'e göre hazırlanıp UV ışık ile kürlenerek çapraz bağlandıktan sonra -80°C'de 1 gece dondurulup liyofilize edilerek kurutulmuşlardır. Kurutulmayan ürünler 37°C etüvde FTÇ pH:7.4 içerisinde bir gece bekletildiğinde tamamen degrade olmaktadır (**Tablo 4.12**). Ancak kurutma sonrası hidrojeller 30 günden fazla süre degrade olmadan saklanabilmektedirler. Hidrojellerin 37°C vücut sıcaklığı

ortamında bozunmadan kalabilmesi son derece önemli ve sağlanması gereken bir koşuldur. Kurutulmadan doğrudan pH:7.4 FTÇ çözeltisi 37°C degradasyon sıcaklığına bırakılan numune sonuçları **Tablo 4.13**'te sunulmuştur. Burada %5 KCl ortamında güçlü bir iyonik bağlanma sağlandığı ve oda koşullarında tüm numuneler KCl ortamında bozunmadan kaldığı için tüm testlerin %5 KCl (ağ./hac.) varlığında gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Analiz sonuçlarına ait görseller **Şekil 4.11-4.14**'te sunulmuştur. Degradasyon sonuçlarına göre, 40 saniye ve 10 dakika UV ışık ile kürleme süresinde herhangi bir değişiklik gözlenmediği için hücre kültür çalışmalarında hücre canlılığını sağlayabilmek adına 40 saniye sürelerle ilerlemesine karar verilmiştir. Fakat formülasyonun optimizasyonu sırasında mekanik ve kendi kendini iyileştirme davranışları da eş zamanlı olarak incelenmiştir. Mekanik, kendi kendini iyileştirme ve degradasyon davranışları hep birlikte değerlendirildiğinde son formülasyon olarak formülasyon 12, 13 ve 14 üzerinden ilerlenmesine karar verilmiştir.

Polimer ağlarının şişme özellikleri, çözünen difüzyonunu, yüzey hareketliliğini, yüzey morfolojisini ve mekanik özellikleri etkileyebilmektedir [342]. %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) olmak üzere üç farklı konsantrasyonda KKM'nin kütle şişme oranı ve supramoleküler hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) ikili çapraz bağlama mekanizması 37°C'de 24 saat boyunca FTÇ içerisinde incelenmiştir (**Şekil 4.15 (A)**). 24 saat sonunda FTÇ'deki hidrojellerin kütle şişme oranı, %KKM içeriğinin bir fonksiyonu olarak **Şekil 4.15 (A)**'da verilmiştir. Buna göre; ikili çapraz bağlı hibrit hidrojelde KKM içeriğinin arttırılması, kütle şişme oranında kademeli bir azalmaya neden olmuştur. FTÇ'de 24 saat bekletilmesi sonucunda supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojeller şişmede dengeye ulaşmış ve bu süreden sonra şişme derecesi %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM içeren hidrojeller için sırasıyla maksimum %79,6, %78,5 ve %77,7 olarak belirlenmiştir. KK'nın metakrilik anhidrit ile UV ışık ve foto başlatıcı varlığında kimyasal çapraz bağlanma reaksiyonu KK yapısında bulunan disakkarit birimindeki hidroksil grupları üzerinden bağlanmaktadır. Hidrojel içerisindeki %KKM içeriği arttırıldıkça, metakrilat grubu sayısı artacak ve buna bağlı olarak supramoleküler yapıdaki -OH grubu miktarı fazlalaşacaktır. %2 KKM içeren grupta bağlanmanın görece daha az olmasına bağlı olarak serbest hidroksil grubu daha fazla olabilir. Bu durum serbest hidroksil gruplarının sulu FTÇ ortamında hidrojen bağı oluşturmasına ve daha az KKM içeriğine sahip hidrojelin fazlaca suyu yapısında hapsetmesine sebep olabilmektedir. KKM içeriğindeki düşüş 3B ağ yapı içerisinde önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır.

Lim ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, düşük (%4 (ağ./hac.)), orta (%8 (ağ./hac.)) ve yüksek (%12 (ağ./hac.)) metakrilatlanma derecelerine sahip metakrilatlanmış kappa-karagenan (%3 ağ./hac.) sentezlenmişlerdir. KKM polimer %0,25 foto başlatıcı (I2959) varlığında 100 sn boyunca UV (7.3–7.4 mW/cm^2) ışığı ile kimyasal çapraz bağlanmış ve KCl ile de fiziksel çapraz bağlanmıştır. Fizyolojik koşullar altında (37°C sıcaklık, Dulbecco'nun Fosfat Tampon Çözeltisi (DFTÇ, iyonların varlığında), 24 saat boyunca) şişme davranışları incelenmiştir. Yapılan çalışmanın % kütle şişme oranını %28,1 olarak elde etmişlerdir [30].

Bir diğer çalışmada Mihaila ve arkadaşları düşük (%4 (ağ./hac.)), orta (%8 (ağ./hac.)) ve yüksek (%12 (ağ./hac.)) metakrilatlanma derecelerine sahip metakrilatlanmış kappa-karagenan (%1 ağ./hac.) sentezlenmişlerdir. KKM polimer %0,25 foto başlatıcı (I2959) varlığında 40 sn boyunca UV (6.9 mW/cm^2) ışığı ile kimyasal çapraz, %5 KCl ile de fiziksel çapraz bağlayarak ikili çapraz bağlı hidrojel elde etmişlerdir. Hidrojellerin % kütle şişme oranları her bir çapraz bağlanma sonucu ve metakrilasyon derecesine göre ayrı ayrı incelenmiştir. Buna göre; metakrilasyon derecesi sabit tutularak, çapraz bağlama mekanizmasına bağlı olarak kütle şişme oranında önemli bir düşüş gözlenmiştir. Kimyasal çapraz bağlama mekanizması, kovalent bağların/etkileşimlerin varlığı nedeniyle hidrojellerin büyük hacimlerde çözücü tutmasına olanak tanımaktadır. Kimyasal olarak çapraz bağlanmış ağ oldukça esnek olup polimerik matrisin sürekli olarak genişlemesine izin vermektedir. Sonuçlar incelendiğinde sadece UV ile kimyasal çapraz bağlı düşük, orta ve yüksek metakrilasyon derecesine sahip hidrojellerin % kütle şişme oranları yaklaşık olarak sırasıyla %62, %58 ve %38 olarak elde edilmiştir. Kovalent bağların dolaşıklığı ağın serbestlik derecesini azalttığından, metakrilasyon derecesinin artmasıyla ayrışma derecesinde azalmanın meydana geldiği, dolayısıyla çözücü tutma ve hacmini büyütme kabiliyetini azalttığı tespit edilmiştir [25,343]. Diğer taraftan, KKM hidrojellerinin potasyum klorür işlemine (fiziksel çapraz bağlama) kısa süre maruz kalması, monovalent katyonların iç polimerik ağ içinde difüzyonuna ve zincirler arasında güçlü iyonik bağların oluşmasına izin vermektedir. Bu bağlar daha az esnek olduklarından polimerin çözücüyü tutma yeteneği, fiziksel çapraz bağlama ile azalmaktadır. Sonuçlar incelendiğinde sadece KCl ile fiziksel çapraz bağlı düşük, orta ve yüksek metakrilasyon derecesine sahip hidrojellerin % kütle şişme oranları yaklaşık olarak sırasıyla %52, %48 ve %28 olarak raporlamıştır. Son olarak hem kimyasal hem de fiziksel çapraz bağlı (ikili çapraz bağlı) düşük, orta ve yüksek metakrilasyon derecesine sahip hidrojellerin % kütle şişme oranları yaklaşık olarak sırasıyla %42, %38 ve %18 olarak bulunmuştur.

Mihaila'nın yayınında sadece KKM formülasyonunda farklı metakrilasyon derecelerine sahip hidrojellerin % kütle şişme sonuçları karşılaştırmalı incelendiğinde ikili çapraz bağlı hidrojel yapılarının kütle şişme oranlarının en düşük seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. Ayrıca şişme davranışı çalışmasında incelenen bir diğer parametre metakrilasyon derecesi olup farklı oranda metakrilasyon derecesininin etkileri araştırılmıştır. Tüm parametreler içerisinde çapraz bağlama mekanizmaları sabit tutulduğunda, kütle şişme oranı büyük ölçüde metakrilasyon derecesine bağlıdır. Yüksek metakrilasyon derecesine sahip (%12 (ağ./hac.)) KKM, çapraz bağlanma yönteminden bağımsız olarak, yüksek çapraz bağlanma yoğunluğu nedeniyle en düşük şişme oranları sergilemiştir. Ek olarak, jellerin şişme derecesi, polimer ağının gözenek boyutuna ve polimer ile çözücü arasındaki etkileşime bağlıdır [344]. Düşük, orta ve yüksek metakrilasyon derecelerine sahip ikili çapraz bağlı KKM'lerin gözeneklilik çapları incelendiğinde sırasıyla ortalama 48,8 μm, 33,2 μm ve 18,5 μm elde edilmiştir. Literatürde elde edilen bu sonuçlar sadece KKM'den hazırlanan hidrojel yapısına aittir. Bu veriler doktora tez çalışmasında elde edilen % kütle şişme oranı ile karşılaştırıldığında tez kapsamında hazırlanan jelatin katkısının daha yüksek % kütle şişme oranına sebep olduğu saptanmıştır. Benzer parametreler (0,25% foto başlatıcı, UV kürleme, %12 metakrilasyon derecesine sahip ve ikili çapraz bağlı) kullanılarak sentezlenen KKM hidrojelin % kütle şişme oranı yaklaşık %18-28 aralığında iken formülasyona %16 jelatin eklenerek konak-konuk etkileşimlerle sentezlenen jelatin/KKM hibrit hidrojelin % kütle şişme oranı her üç formülasyonda da %78-80 aralığına yükselmiştir. Diğer çalışmada görünür ışıkla çapraz bağlanan ve farklı metakrilasyon derecelerine sahip KKM hidrojelin % kütle şişme oranları %10-20 aralığında kalmıştır. Bu durum, yapıya jelatin eklenmesiyle supramoleküler etkileşimler yoluyla elde edilen hidrojelin % kütle şişme oranını belirgin şekilde arttırdığını ispatlamıştır. Bu sonuç hidrojellerin su ile birlikte besin, oksijen difüzyonu ve atık bertarafı gibi kütle taşıma kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir.

Hidrojeller tipik olarak hidrolitik veya enzimatik mekanizmalar yoluyla degradasyona uğramaktadır. Burada hidroliz tüm hidrojel boyunca meydana gelirken enzimatik bozunma da ise kullanılan enzime göre yerel olarak meydana gelmektedir. Hidroliz, hidrolitik olarak kararsız kimyasal bağların kopması sonucu gerçekleştiğinden hidroliz hızı, çapraz bağlanma yoğunluğu gibi parametreler değiştirilerek ayarlanabilmektedir. Çapraz bağ yoğunluğu ise polimer konsantrasyonu veya malzeme üretimi sırasındaki çapraz bağlanma derecesi ile kontrol edilmektedir [197]. Doktora tez çalışmasında literatürle benzer şekilde farklı %KKM oranlarına sahip hibrit hidrojellerin hidrolitik bozunması incelenmiştir. Degradasyon testi, %16 jelatin

(ağ./hac.) ve yüksek metakrilatlama derecesi (%12) içeren %2, %3 ve %4 KKM içeriğine sahip, ikili çapraz bağlı supramoleküler hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) her 7 günde bir FTÇ içerisindeki kimyasal kararlılığını test etmek için gerçekleştirilmiştir. **Şekil 4.15 (B)**, 21 gün boyunca fiziksel şartlardaki hibrit hidrojellerin degradasyonunu temsil etmektedir. %KKM içeriğinden bağımsız olarak, tüm hibrit formülasyonlar için ilk günün sonunda %30'dan fazla degradasyon meydana gelmiştir. Buna göre; %2 KKM içeren hidrojel %43,8 degrade olurken, %3KKM içeren hidrojel %40,5, %4 KKM içeren hidrojel ise %33,0 oranında degradasyona uğramıştır. Bu değerler ilk hafta sonunda sırasıyla %56,4, %52,5 ve %51,8'e ulaşmıştır. 14 günün sonunda ağırlık kayıpları yüzdesi hemen hemen sabit kalarak 21 gün sonra sırasıyla %61,8, %62,0 ve %57,0 olarak bulunmuştur. Tüm sonuçlar incelendiğinde, % KKM içeriğinin arttırılması, hidrojel içerisindeki metakrilatlanmış fonksiyonel grupların kütlesini arttırdığından bu formülasyonlar daha yüksek mekanik kararlılık göstermiş ve hidrojellerin degradasyonu nispeten azalmıştır. Benzer literatür çalışmaları incelendiğinde, spesifik inkübasyon süresinde metakrilasyon derecesi yüksek olan örneklerin deneysel koşullardan daha az etkilendiği tespit edilmiştir. Bu durum, metakrilasyon derecesindeki artışın kimyasal çapraz bağlanma üzerine, iyonik değişim ve kültür ortamında bulunan proteinlerle etkileşimi tarafından bozulamayan güçlü bağlara sahip hidrojelleri oluşturduğunu göstermektedir. KKM bazlı hidrojeller genel olarak metakrilasyon derecesine bağlı olarak farklı bozunma derecelerine göstermektedir. Doktora tez çalışması incelendiğinde her ne kadar sabit metakrilasyon dereceleri kullanılmış olsa da bu değer (%12 (ağ./hac.)) literatürle karşılaştırıldığında en yüksek metakrilasyon derecesi olarak kullanılmıştır [25,30,124]. Supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin hidrolitik degradasyon çalışması, iyon içeriğine bağlı olarak da değerlendirilmiştir. KKM kimyasal çapraz bağlanmasının yanı sıra fiziksel olarak KCl ile çapraz bağlanmış ve çapraz bağlanmanın etkisiyle çözünme işlemi sırasında daha az kararlılık kazandırmıştır. Mihaila ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada çözünme süresi boyunca, fiziksel olarak çapraz bağlı KKM'nin, DFTÇ çözünme ortamında ikili çapraz çapraz bağlı KKM ile karşılaştırıldığında daha az kararlı olduğu gösterilmiştir. Doktora tez çalışmasında kullanılan KKM yapılı hidrojel, yüksek metakrilasyon derecesi (%12 (ağ./hac.)) ve ikili çapraz bağlanma ile üretilmiştir. Bu durum, her ne kadar degradasyon hızını azaltmış olsa da tez kapsamında hazırlanan hidrojel içeriğinin yarısının jelatin olunduğu dikkate alındığında bu etkinin daha da iyileştirilebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca, gözenekli yapı nedeniyle kolayca hidrolitik degrade olabilen hidrojel matrisi boyunca daha fazla bozunma gözlemek mümkündür. İskelelerin biyolojik olarak parçalanabilen özellikleri, doku mühendisliğinde ve rejenerasyonda

kritik rol oynamaktadır [345,346]. Bu nedenle, hidrolitik degradasyon açısından değerlendirildiğinde, supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin protein-polisakkarit kimyasal yapı oluşum yüzdesi değiştirilerek istenen uygulama alanına göre ayarlanabilir degradasyon hızına sahip hidrojeller üretmek mümkün olabilecektir.

5.2.2. Yüzey Morfolojik Özellikler Analiz Sonuçları

Hidrojelin gözenekliliği, hücreler ve çevre dokularla etkileşimi için anahtar bir rol oynayıp mikro mimari özelliklerin modülasyonu ve bir hidrojelin gözenekliliği, tasarlanmış yapılar içinde büyüyen hücrelere biyoaktif ipuçları vermek için kullanılabilmektedir. Ek olarak, artan gözeneklilik, hidrojellerin 3B yapısı içinde hücresel penetrasyonu ve yeni doku oluşumunu desteklemektedir [255]. Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) yüzey morfolojisi, liyofilizasyon sonrası karakterize edilmiştir. **Şekil 4.16**'dan görülebileceği gibi %2, %3 ve %4 (ağ./hac.)'lük üç farklı %KKM içeriğindeki ve %16 jelatin (ağ./hac.) içeren hidrojelin mikro yapısı gözenekli bir ağ yapısı sergilemiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, %KKM içeriği ile gözenekliliğin arttığı tespit edilmiştir. Başka bir ifadeyle, hidrojel içerisinde yüksek %KKM içeriğine sahip ağ yapı (%4 KKM), diğer hidrojel formülasyonlarına göre daha büyük gözeneklilik göstermiştir. Ayrıca, hidrojel içerisindeki % KKM içeriğinin arttırılması, hidrojelin degradasyonunu nispeten azaltmıştır. Yüzey morfolojisinin bir sonucu olarak, yüksek derecede % KKM içeren ve geliştirilmiş sıkıştırma modülüne sahip kimyasal olarak çapraz bağlanmış hidrojeller, azaltılmış hidrolitik degradasyon davranışı göstermiştir. Bu sonuçlar degradasyon davranışları ile de uyumludur.

Hidrojellerin gözenek boyutu dağılımı, Şekil **4.17 (A), (B)** ve **(C)**'de gösterilmiştir. Formülasyon 12, 13 ve 14 ile üretilen hidrojellerin gözenek boyut aralıkları sırasıyla 8-33 μm, 12-43 μm ve 8-44 μm'dır. Literatür verileri incelendiğinde yüksek metakrilasyon derecesine (%12 ağ./hac.)) sahip KKM yapılı hidrojellerin düşük ve orta metakrilasyon derecesi ile karşılaştırıldığında, metakrilasyon derecesi arttıkça gözenek boyutunun küçüldüğünü göstermektedir. Örneğin, yüksek metakrilasyon derecesine sahip KKM 'nin (%1 ağ./hac.) gözenek boyutu 18,5 ± 5,3 μm olan kompakt bir gözenek yapısı ile sonuçlandığını, orta ve düşük metakrilatlı hidrojelin ise sırasıyla 33,2 ± 8,2 μm ve 48,8 ± 10,4 μm gözenek boyutu ile birbirine bağlı yapı göstermiştir [25,30]. Liyofilize edilmiş KKM yapılı hidrojelin metakrilasyon derecesinin artmasıyla gözenek boyutunun azalması, polimerik zincirler arasındaki yüksek derecede çapraz bağlanmaya bağlanabilmektedir. Buna karşın doktora tez çalışmasında üretilen hidrojel jelatin/kappa-karagenan yapılı ikili çapraz bağlı bir hibrit

hidrojeldir. Hibrit yapı üretiminde kullanılan jelatin, hidrojel yapısının daha gözenekli olmasını ve gözenek çapının artmasına sebep olmuştur. Literatür çalışmaları saf jelatin yapı iskelesinin oldukça gözenekli bir yapı sergilediğini doğrulamıştır [347]. Saf jelatin yapı iskelesi için gözenek duvar yüzeyi pürüzsüz ve gözenek çapı 85,1 ± 20,1 μm olarak hesaplanmıştır. Bu nedenle, her ne kadar hibrit hidrojel yapısındaki KKM'nin yüksek metakrilasyon derecesi kaynaklı kimyasal çapraz bağlar kompakt bir yapı oluşturup gözenekliliği azaltsa da çalışma kapsamında önerilen jelatin katkısı gözenekliliğin ve gözenek çapının artmasına sebep olmuştur. Bu durum jelatin/kappa-karagenan hibrit ikili çapraz bağlı hidrojel yapısının sadece polisakkarit yapıda olan sistemlerden daha üstün gözeneklilik profili gösterdiğini doğrulamıştır. Hidrojel yapısında jelatinin varlığı, daha gözenekli yapı elde edilmesine, daha geniş ve büyük gözenek boyutu dağılımları sayesinde düzenli yapı göstermesini sağlamıştır. ECM gözenekliliği ve gözenek iletkenliği, tek tip hücre dağılımı ve besin alışverişi elde etmek için kilit faktörler [348] olup bu sonuçlar canlı hücrelerin korunmasını kolaylaştırmaktadırlar.

5.2.3. Mekanik Özellik Analiz Sonuçları

Hidrojellerin mekanik özellikleri, hücresel davranışlarda ve doku mekano-biyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır [349,350]. Hidrojellerin esnekliği, hücre yüklü hidrojellerin ve yapı iskelelerinin hücre farklılaşma potansiyelinde önemli bir rol oynadığından, iskelelerin mekanik özelliklerinin ideal olarak doğal yağ dokusunun mekanik gücünü taklit etmesi gerektiği literatürden bilinmektedir [253]. Yara örtülerinin bütünlüğünü kaybetmeden uzun süre kullanılabilmesi için yeterli mekanik özelliklere sahip olması gerekmektedir [351]. Bir doku iskelesi olarak, hidrojelin sertliği hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimlerini etkileyerek hücrelerin ve doku oluşumunun yapışmasını, yayılmasını, kasılmasını ve göçünü önemli oranda etkiler [30,352]. Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin mekanik özelliklerini karşılaştırmak için tek eksenli bir sıkıştırma testi yapılmıştır. Her bir hidrojelin boyutları (çap ~ 5 mm; kalınlık ~ 1.5 mm) testten hemen önce ölçülmüştür.

Optimizasyon sonuçlarından formülasyon 8 ve 9 ile hazırlanan hidrojelin gerilme-gerilim değerlerinin literatüre kıyasla daha düşük çıktığı tespit edilmiştir (**Şekil 4.18, 4.19, 4.20** ve **4.21**). Bu aşamada istenen tüm özelliklerin iyileştirilmesi için yeterli çapraz bağlanmanın gerçekleştirilmesi gerekliliği sonucuna varılmıştır. Tüm bu sonuçlar değerlendirilip literatür detaylı incelendiğinde, kimyasal ve mekanik özelliklerin iyileştirilmesi için kappa-karrageenan'ın metakrilik anhidrit (KKM) ile metakrilatlanma reaksiyonunun gerçekleştirilmesine karar verilmiştir. Ayrıca kendi kendini iyileştirme davranışının da

iyileştirilmesi için hibrit hidrojel yapısındaki jelatin miktarının iki katına çıkarılması düşünülmüştür. Yeni ürüne ait formülasyonun %16 jelatin, %10 Ak-β-CD ve %0,25 I2959 oranları ile beraber metakrilatlanmış kappa-karagenan oranlarının %2, %3 ve %4 olarak hazırlanması kararlaştırılmıştır. Kappa-karagenanın metakrilasyon derecesi literatür taramaları sonucunda %12 (yüksek, ağ./hac.) olarak optimize edilmiştir. Bu doğrultuda parametreler optimize edilmiştir ve hidrojel üretimi için 12, 13 ve 14 numaralı hidrojeller hazırlanmıştır.

Şekil **4.22 (A)** formülasyon 12, 13 ve 14'e göre hazırlanan hidrojellerin sıkıştırma gerilim-gerinim eğrilerini göstermektedir. %KKM içeriğinin artması, kütle şişme oranında azalmaya yol açan yüksek miktarda çapraz bağ nedeniyle hidrojellerin sertliğini arttırmıştır. Elastik modül sonuçları ise **Şekil 4.22 (B)**'de sunulmuştur. Elastik modülü değerlendirmek için, %0-10 gerinim aralığında gerilme-gerinim eğrilerinin lineer bölgesinin eğimi kullanılmıştır. Buna göre %16 jelatinin (ağ./hac.) ve %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM'nin protein-polisakkarit hibrit iskelesine dahil edilmesiyle elastik modülde (Young modül) önemli/gözlemlenebilir bir artış trendi görülmüş ve sırasıyla 11,6 kPa, 15,1 kPa, 27,9 kPa değerleri elde edilmiştir. Lim ve ark. ikili çapraz bağlı farklı %KKM oranı içeren hidrojel için benzer bir eğilim bildirmiştir [30]. % KKM içeriğinin ağırlıkça %2'den %4'e çıkarılmasıyla elastik modülün arttığını göstermişlerdir. Öte yandan, Tavakoli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, belirli KKM içeriğinde, KKM hidrojelinin elastik modülünün metakrilasyon derecesinin artmasıyla yükseldiği bulunmuştur [124]. Bu davranış muhtemelen polimerizasyon sırasında artan zincir agregasyonları ve çapraz bağlanma yoğunluğu ile daha sıkı bir hidrojel matrisi oluşumundan kaynaklanmaktadır. Yani hibrit hidrojellerin artan sertliği, esas olarak KKM biyopolimerinin kimyasal çapraz bağlanmasından kaynaklanmaktadır. Sonuçlar, ağırlıkça %4'e kadar KKM metakrilatlama derecesinin uygulanmasıyla artırılmış iskele dayanımını göstermiştir.

Şekil 4.22 (C) ve **Şekil 4.22 (D)**'den görüleceği üzere %2, %3 ve %4 KKM içeren ikili çapraz bağlı supramoleküler hibrit hidrojeller (formülasyon 12, 13 ve 14), sırasıyla 181 kPa, 273 kPa, 341 kPa sıkıştırma gerilimi ve %50, %49 ve %44 kopma anındaki uzama sonuçları ile iyi mekanik performanslar sergilemiştir. Gan ve arkadaşları 2023 yılında yaptıkları bir çalışmada %45 gerinim değeri uyguladıklarında sıkıştırma gerilimini metakrilatlanmış jelatin (GelMA) hidrojel için 20 kPa ve kappa-karagenan hidrojeli için 2kPa olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada çift ağ yapılı çapraz bağ kullanıldığında ve hibrit yapı üretildiğinde sıkıştırma gerilimi değerleri, yüksek GelMA konsantrasyonu nedeniyle %10 GelMA/%1 KK grubu ve %10 GelMA/%0,5 KK grubu için sırasıyla 130 kPa ve 90 kPa ile en yüksek basınç dayanımına ulaşılmıştır [34].

Bu sonuçlar doktora tez çalışmasında üretilen çift ağ yapılı hibrit hidrojellerin mekanik özelliklerini önemli ölçüde geliştiğini kanıtlamıştır. Sonuçlar incelendiğinde, iyonik çapraz bağlama yöntemleriyle oluşturulan KK hidrojeli, fizyolojik ortamlarda düşük kararlılık değeri sunmaktadır. Aksine, foto çapraz bağlanabilir KKM içeren hidrojellerde çapraz bağlanma sırasında oluşan kovalent bağlar, polimer ağına yüksek kararlılık sağlamaktadır. GelMA/KK hidrojellerinde, birinci ağ sertlik ve kırılganlık sağlarken, ikinci ağ esneklik sağlamaktadır. Bu nedenle, malzemenin mekanik özellikleri, ilk ağı oluşturan KK'ya güçlü bir şekilde bağlıdır. Çalışmada KK tek başına, GelMA hidrojeline göre daha düşük sıkıştırma dayanımına ve elastik modülüne sahip olmasına rağmen KK molekülleri arasındaki fiziksel çapraz bağlar hibrit hidrojele kendi kendini iyileştirme yeteneği kazandırmıştır. Maharjan ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada %5 GelMA fotobaşlatıcı (%0,1 (ağ./hac.), son konsantrasyon) varlığında UV ışık (6,9 mW/cm^2) ile kürlendiğinde ve %65 gerinim değeri uygulandığında sıkıştırma mukavemeti 80 kPa olarak elde edilmiştir [353]. Çalışmalar karşılaştırıldığında her ne kadar Gan ve arkadaşlarının ürettiği hidrojellerde metakrilatlanmış GelMA kullanılsa da (%10 GelMA/%1 KK), supramoleküler konak-konuk ikili çapraz ağ yapılı jelatin/KKM hidrojellerin sıkıştırma mukavemeti tüm değerlerinden daha düşük çıkmıştır. Hatta Lim ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sadece yüksek metakrilasyon oranına sahip KKM kullanılarak %2, %3 ve %4 KKM içeren hidrojeller için sıkıştırma mukavemeti değeri sırasıyla 97,8, 123,8 and 216,5 kPa olarak elde edilmiştir [30]. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde tezde hazırlanan jelatin/metakrilatlanmış KK bazlı hibrit hidrojellerin literatürde sunulan metakrilatlanmış jelatin/KK bazlı ürünlere göre sıkıştırma mukavemeti açısından üstünlük gösterdiği net biçimde tespit edilmiştir. Bu durumun mevcut literatüre önemli bir katkısı metakrilatlama işleminin hibrit hidrojel yapısını oluşturan komponentlerden hangisine uygulanmasının daha olumlu sonuç vereceğinin anlaşılması şeklindedir. Zayıf mekanik özellikler biyomedikal ve mühendislik alanlarındaki uygulamaları büyük ölçüde sınırlayabildiğinden doktora tez çalışması kapsamında tasarlanan supramoleküler konak-konuk ikili çapraz bağlı jelatin/KK hibrit hidrojellerin gelecekte bu alanda yapılacak araştırmalar için mükemmel potansiyele sahip olduğu açıktır. Ancak hidrojelin mekanik özelliği çok yüksek olduğu durumlarda, implantasyondan sonra hidrojel tarafından oluşturulan kayma gerilmeleri, greft dışında yeni doku büyümesini engelleyecektir. Bu nedenle, klinik kullanımda hibrit hidrojellerin çeşitli bileşenlerinin yüzdelerinin seçilmesi, en iyi mekanik özelliklere sahip olmasının yanında, biyouyumluluk gibi diğer özelliklere de uygun malzemeler seçilmelidir.

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojeller (formülasyon 12, 13 ve 14) üzerinde sıkıştırma testleri yapılarak **Şekil 4.22 (E)**'de tokluk, **Şekil 4.22 (F)**'de geri kazanım yüzdesi ve **Şekil 4.22 (G)**'de enerji kaybı yüzdesi değerleri elde edilmiştir. Hidrojel içerisindeki % KKM (yüksek, %12 metakrilasyon derecesine sahip) içeriğinin arttırılmasıyla %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM içeren hibrit hidrojeller için tokluk değerleri sırasıyla 18,6 kJ/m^3, 39,8 kJ/m^3 ve 46,3 kJ/m^3 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, KK'nın yüksek metakrilasyon derecesi, yoğun zincir ağı ve üstün kimyasal çapraz bağlanması ile ilişkilendirilebilir. Benzer şekilde, Tavakoli ve ark. [124], daha yüksek bir metakrilasyon derecesinin ve artan KKM polimer konsantrasyonunun mekanik dayanıklılığı arttırdığını göstermişlerdir. Bir diğer benzer çalışmada Mihaila ve arkadaşları düşük (%4), orta (%8) ve yüksek (%12) metakrilasyon derecesine sahip ikili çapraz bağlı KKM hidrojellerin tokluk değerlerini sırasıyla 13,5 kJ/m^3, 45,4 kJ/m^3 ve 78,8 kJ/m^3 olarak tespit edilmiştir [25].

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12, 13 ve 14) geri kazanım özellikleri, dinamik bir durumda yapıların elastik davranışını anlamak için döngüsel sıkıştırma-geri çekme testleri uygulanarak karakterize edilmiştir. Hidrojeller 10 dakika boyunca %5 KCl (ağ./hac.) çözeltisine daldırıldıktan sonra maksimum %40 gerilme ile iki döngüye maruz bırakılmıştır. İlk olarak, KKM hibrit hidrojellerinin ikinci çevrim ve geri kazanım eğrileri **Şekil 4.23**'te sunulmuştur. Sonuçlar, artan %KKM (%2, %3 ve %4 ağ./hac. KKM) içeriğinin hibrit hidrojellerin gerilim-gerinim eğrisinin ilk döngüsünün sonunda kapladığı alanın genişlediğini göstermiştir. **Şekil 4.23** döngü 2'ye göre formülasyon 12, 13 ve 14'ten hazırlanan hidrojellerin, %40 gerinim seviyesinin sonunda iyi yorgunluk direnci ve esneklik sergilemiştir. Başka bir ifadeyle, ikinci döngüden sonra artan kırılmamış bağlar nedeniyle numuneler her üç farklı % KKM oranında da üstün mekanik dayanıma sahiptir. Hidrojen bağı ve K^+ çapraz bağlanması, hidrojel ağları arasında daha kuvvetli bağların-etkileşimlerin oluşmasına yol açmıştır. Bu davranış, geri kazanım yüzdesi ile desteklenmiş ve farklı % KKM içeriğine sahip hidrojellerin analizleri sırasıyla %90,1, %96,0 ve %98,4 ile sonuçlanmıştır. Ayrıca, hibrit hidrojellerin enerji kaybı, sıkıştırma ve geri çekme döngüsü alanındaki histerezis döngülerinden elde edilmiş ve **Şekil 4.22 (G)**'de sunulmuştur. KKM'nin artan yüzde içeriğinin (%2, %3 ve %4 ağ./hac.), enerji kaybı yüzdesi %13,9 ile %28,2 arasında gözlenmiştir. Literatürdeki sonuçlara göre, artan %KKM içeriği ve metakrilasyon derecesi ile hidrojellerin enerji kaybının arttığı bulunmuştur [25,124]. Bu artış trendi hem birinci hem de ikinci döngü eğrilerinde gözlenmiştir.

5.3. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT POLİMERLERİN REOLOJİK ÖZELLİKLERİ

5.3.1. Viskoelastik Analiz Sonuçları

Yerinde çapraz bağlama sistemlerinin zorluklarının üstesinden gelmek için kayma gerilimi uygulaması altında akma (yani, kayma incelmesi) ve gerilimi ortadan kaldırınca yeniden düzenleme (yani kendi kendini iyileştirme) kabiliyetine sahip hidrojeller popülerlik kazanmıştır. Optimal sistemler, enjeksiyon sırasında ortaya çıkan kayma kuvvetlerine yanıt olarak tersinir bir soldan jele geçişe maruz kalmakta ve daha sonra hızlı bir şekilde kendi kendini iyileştirme yeteneği sergilemektedir. Bu tür enjekte edilebilir biyomalzemeler çok sayıda kovalent olmayan kimyasal etkileşimler (örneğin, hidrojen bağları, elektrostatik etkileşimler, hidrofobik etkileşimler, konak-konuk etkileşimler) yoluyla desteklenen fiziksel kendi kendine birikim yoluyla elde edilmiştir. Her bir bağ zayıf olsa da kümülatif olarak yüksek yapısal bütünlüğe sahip malzemelerin oluşumuna neden olabilirler. Mekanik olarak, Newtonyan olmayan (non-newtonian) özelliklere sahip bu malzemeler, enjeksiyonu kolaylaştıran kayma altında kendiliğinden yeniden moleküler düzenlemelere uğramaktadır. Bu hidrojellerin enjekte edilebilirliği ve kararlılığını, kayma altında akışlarını ve kayma kaldırıldığında jel oluşumunu düzenleyen kovalent olmayan etkileşimlere dayanmaktadır [354]. Doktora tez kapsamında önerilen hibrit hidrojeller supramoleküler konak-konuk kovalent olmayan etkileşimlerle üretilmişlerdir.

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin viskoelastik davranışını belirlemek için formülasyon 12, 13 ve 14'ten hazırlanan hidrojellere reolojik testler yapılmıştır. Kompleks viskozite-açısal frekans testinin sonuçları **Şekil 4.24 (A)**'da sunulmuştur. Supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojeller, kayma incelmesi davranışına sahip olup her üç % KKM içeriği için de frekansla birlikte viskozitede bir azalma gözlenmiştir. KKM'nın viskozite özelliği ile ilgili olarak viskozite değerleri $2{,}61x10^{2}$ mPa.s - $6{,}25x10^{0}$ mPa.s aralığındadır. 1 rad/s'de (düşük frekans) %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM içeren ürünlerin viskozite değerleri sırasıyla $2{,}50 \times 10^{2}$ mPa.s, $2{,}61 \times 10^{2}$ mPa.s ve $2{,}44 \times 10^{2}$ mPa.s'dır. Frekans değeri 100 rad/s'ye (yüksek frekans) ulaştığında viskozitenin düştüğü gözlenmiş ve aynı sırayla $6{,}25x10^{0}$ mPa.s, $8{,}84x10^{0}$ mPa.s ve $10{,}54x10^{0}$ mPa.s değerleri elde edilmiştir. Genel olarak viskozitedeki bu azalma, KK'nın ikili sarmal yapısına atfedilebilir [355]. Tüm konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojeller, artan açısal frekansla birlikte kompleks viskozitelerinin azalması olgusuyla kanıtlanan kayma incelmesi davranışları sergilemiştir.

Viskoelastik davranış, jellerin açısal frekansın bir fonksiyonu olarak dinamik reoloji testine tabii tutulmasıyla tespit edilmektedir. Tipik olarak, kalıcı kovalent bağlarla oluşturulan jeller, frekanstan bağımsız viskoelastik davranış göstermektedir. Depolama modülü G', jelin katı benzeri davranış gösterdiği lineer viskoelastik alanda G"ye hakim davranmaktadır. Fakat Şekil **4.24 (B)**'de hidrojeller, ağdaki tersinir bağlantılar nedeniyle frekansa bağlı G" özelliği göstermiştir. **Şekil 4.24 (B)**'den görülebileceği üzere frekans yaklaşık 0,1'den 100 rad/s'ye yükselirken konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hidrojellerin depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G") $4{,}59x10^1$ Pa ila $9{,}16x10^2$ Pa arasında değişmiştir.% KKM içeriğinden bağımsız olarak depolama modülü değerinin tüm frekans aralığında kayıp modülü değerinden daha büyük olduğu gözlenmiş ve örneklerin hepsi benzer trend göstermiştir. Test edilen frekans bölgesinde, hidrojellerde elastik benzeri davranış (G' > G") hakim davranmakta olup ulaşılan G' plato değeri, frekanstan bağımsız bir profil sergilemiştir. Bu değer jellerin kalıcı olarak çapraz bağlı hidrojel ağına yakın davrandığı noktadır. Tersine çevrilebilir çapraz bağların varlığı ve dolayısıyla kısa çapraz bağlantıda kalma süresi kaymaya maruz kaldığında jel ağındaki dinamik bağların yeniden yapılandırılması ve gevşemesine izin vermektedir [7,356,357]. Literatür incelendiğinde β-SD-jelatin [358] ve KKM bazlı hidrojeller için benzer sonuçlar rapor edilmiştir [241,328]. Bu sonuçlar, tüm supramoleküler hidrojellerin, düşük ve yüksek frekans değerleri arasında jel benzeri profiller diğer bir ifadeyle viskoelastik katı davranışı sergilediğini doğrulamıştır. Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hidrojellerin sahip olduğu bu viskoelastik özellikler büyük önem taşımakta ve diğer biyomedikal uygulamalar için hücre yayılması, çoğalması, farklılaşması gibi hücre davranışının düzenlenmesinde hedef özellikleri sağlamaktadır [352]. Ayrıca, ECM ve biyolojik dokuların çoğu özünde viskoelastik olup ve 3B hücre kültüründe hidrojel viskoelastisitesinin önemi iyi bir şekilde gösterilmiştir.

5.3.2. Dinamik Reolojik Analiz Sonuçları

Enjekte edilebilir biyomalzemeler vücuda nakledildiğinde, biyomalzemelerin mekanik dayanıklılığı ve elastikiyeti hücresel süreçte önem taşımaktadır. Mekanik özelliklerin belirli koşullar altında ayarlanması sağlanarak çok çeşitli uygulamaların gerçekleştirilmesi mümkündür [359]. Hidrojeller genellikle G' (elastikiyet) ve G" (viskozite) performansına, yani viskoelastisiteye karşılık gelen, proses sırasında farklı koşullar altında elastik benzeri ve viskoz benzeri davranış sergilemektedir [360]. Depolama ve kayıp modüle karşı zaman taraması, belli bir malzeme için belirli bir süre boyunca yapısal değişikliklerin takibi için sıklıkla kullanılan

reolojik bir tekniktir. Çözücünün buharlaşması, kürleme, jelleşme, polimer bozunması veya geri kazanım gibi yapıdaki değişiklikler, bileşiğin reolojik özelliklerini doğrudan etkiler ve bu tür değişiklikler, zaman taraması deneyleriyle izlenebilmektedir [361]. Polimerlerin viskoelastik özellikleri, depolama (G') ve kayıp (G") modüllerini analiz etmek için dinamik reolojik davranış testleri gerçekleştirilmiştir. Formülasyon 12, 13 ve 14'ten hazırlanan hibrit hidrojellerin %0,1 ile 1000 gerinim değeri arasında, 0'dan 600 saniyeye kadar bir salınımlı zaman taraması (zamana ve depolamaya karşı viskoelastik modül (G') ve zamana karşı kayıp (G") modül) ölçümü 25°C'de gerçekleştirilmiş olup sonuçlar **Şekil 4.25**'te gösterilmiştir. **Şekil 4.25 (A)**'da konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin kompleks viskoziteye karşı zaman taraması sonuçları verilmiştir. Tez kapsamında seçilen KKM yüksek metakrilasyon derecesine (%12) sahip olup bu yüksek metakrilasyon derecesinin iyonik bağlarla düşük fiziksel jelleşmeye yol açarak metakrilatlanma oranı arttıkça viskoelastik değerlerde bir düşüş gözlendiği anlamına gelmektedir [30]. **Şekil 4.25 (B)**'de konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit polimer çözeltilerinin salınımlı zaman taraması testi sonuçları sunulmuştur. Tüm supramoleküler polimerler benzer viskozite, depolama (G'), kayıp (G") modülleri–zaman davranışları sergilemiştir. Tüm numuneler için depolama modül değerlerinin kayıp modül değerlerinden (G' > G") daha yüksek olduğu görülmüştür.

Lim ve arkadaşları gerçekleştirdikleri çalışmada, yüksek (%12) metakrilasyon derecesine sahip ikili çapraz bağlı (fiziksel ve kimyasal çapraz bağlı) KKM hidrojeller kullanarak dinamik reolojik davranışı görmek için salınımlı zaman taraması testi gerçekleştirmişlerdir [30]. Oda koşullarında (25°C) gerçekleştirilen çalışmada, depolama modülü değeri yaklaşık 10^5 Pa iken kayıp modülü ise yaklaşık $5x10^3$ Pa olarak ölçülmüştür. Sonuçlar incelendiğinde G'>G" olduğundan KKM hidrojellerin jel benzeri profil sergilediği sonucuna ulaşılmıştır. Doktora tez çalışmasında supramoleküler konak-konuk etkileşimlere dayanan ağırlık/hacim %16 jelatin ve %2, 3, 4 ağırlık/hacim oranlarında KKM içeren UV kürlemeye tabii tutulmamış polimerlerin sırasıyla depolama modülü değerleri 320 Pa, 710 Pa ve 960 Pa; kayıp modülü değerleri ise 58 Pa, 123 Pa ve 190 Pa olarak tespit edilmiştir. Değerler karşılaştırıldığında jelatin/kappa-karagenan bazlı yapıların reolojik davranışı G'>G" olmakla birlikte hibrit olmayan yapıda (sadece KKM'den oluşan) depolama ve kayıp modül değerleri oldukça yüksektir. Bu farkın jelatin/kappa-karagenan bazlı yapılarda bulunan jelatin yapısından ve özellikle supramoleküler konak-konuk etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Ak-β-SD (10% ağ./hac.) ile ipek fibroinin (SF, %8 ağ./hac.)) aromatik kalıntıları

arasında supramoleküler konak-konuk etkileşimlerine dayanan hidrojeller üretilmiştir [23]. Zayıf etkileşimlerle çapraz bağlanan Ak-β-CD/SF hidrojeli ~ 47 Pa'lık depolama modülü ve ~ 12 Pa'lık kayıp modülü ile karakterize edilen nispeten zayıf mekanik özellikler göstermiştir. Supramoleküler konak-konuk etkileşimlerine dayanan Zheng ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada ise de jelatinin (%8 ağ./hac.) aromatik kalıntıları ile Ak-β-SD (%10 ağ./hac.) arasında kovalent olmayan bağlarla supramoleküler konak-konuk etkileşimli hidrojel üretilmiştir [362]. Salınımlı zaman tarama testinde 600 saniye sonunda depolama modülü değeri yaklaşık 850 Pa ve kayıp modülü de yaklaşık 100 Pa olarak bulunmuştur. Benzer şekilde Xu ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada, supramoleküler konak-konuk etkileşimli Ak-β-SD (%10 ağ./hac.) ile jelatinin (%8 ağ./hac.) aromatik kalıntıları arasında zayıf bağlarla oluşturulan hidrojelin dinamik reolojik testine göre depolama modülü değeri 1000 Pa ve kayıp modülü değeri 100 Pa olarak saptanmıştır [22]. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde supramoleküler polimerlerin daha önce açıklandığı gibi jel benzeri özellikler gösterdiğini ispatlamıştır.

5.4. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN KENDİ KENDİNİ İYİLEŞTİME DAVRANIŞI SONUÇLARI

Formülasyon 8 ve 10 numaralı parametreler ile hazırlanan ürünlerin kendi kendini iyileştirme davranış sonuçları incelendiğinde 60°C sıcaklıkta hidrojeller çok hızlı kuruduğu için bu sıcaklık değerinde çalışılmasının uygun olmadığına karar verilmiştir. Bu sebeple oda koşulları ve 37°C sıcaklıkta ilerlemeye karar verilmiştir. Fakat beklenen kendi-kendini iyileştirme davranışı bu formülasyonlarda tam olarak elde edilememiştir (**Şekil 4.26**). Bu sonuca bağlı olarak, değişik formülasyonlarla deneme yapılmasına karar verilmiş ve öncelikle kappa-karagenan miktarının arttırılması tercih edilmiştir. Bu seçimin gerekçesi olarak KK yapısında bulunan sülfat grupları ile fiziksel çapraz bağlama ajanı KCl arasında gerçekleşecek iyonik çapraz bağ etkileşimlerinin kendi kendini iyileştirme davranışını olumlu yönde etkileyeceği değerlendirilmiştir. Bu sebeple, %8 Jelatin, %4 Kappa-Karagenan içeren formül (formülasyon 10) kappa-karagenan etkisinin gözlenmesi için tercih edilmiştir. Analiz sonucu **Şekil 4.27**'de sunulmuştur.

Konak-konuk ikili çapraz bağlı hibrit hidrojeller için 8 ve 10 numaralı formülasyonla kendi kendini iyileştirme davranışları incelendiğinde kendi kendini onardığı (görsel ve mikroskop sonuçlar incelendiğinde) fakat yüksek performans göstermediği gözlenmiştir. Detaylandırılacak olursa, hidrojeller iki farklı pens yardımıyla zıt yönlere doğru çekildiğinde uzun süre bir arada kalamamakta ve parçalar birbirinden ayrılmaktadır (**Şekil 4.27**). Bu sebeple,

mekanik test sonuçları incelendikten sonra %jelatin oranının yapısında fenilalanin, triptofan ve tirozin gibi aromatik kalıntılar bulunan jelatin ile Ak-β-SD arasındaki konak-konuk etkileşimlerinin yoğunluğuna bağlı olarak arttırılması düşünülmüştür.

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin (formülasyon 12) kendi kendini iyileştirme davranışını değerlendirmek için makroskobik (stereo optik mikroskop ve floresan mikroskobu) ve reolojik testleri gerçekleştirilmiştir. **Şekil 4.29** çeşitli zaman aralıklarına bağlı olarak oda sıcaklığında kendi kendini iyileştiren hidrojellerin kesilmesini ve yeniden birleştirilmesini göstermektedir. Hidrojeller, gözle daha rahat gözlenebilmesi için Rodamin B ve metilen mavisi ile renklendirilerek iki parçaya bölünmüştür (**Şekil 4.29 (A)**) ve sonra yeniden birleştirilmiştir (**Şekil 4.29 (B)**). Hibrit hidrojellerin kendi kendini iyileştirerek orijinal şekline döndüğü gözlenmiştir (**Şekil 4.29 (C)**). Tamamen iyileşen jel disklerin, optik ve floresan mikroskobu ile herhangi bir harici işlem olmaksızın oda sıcaklığında 48 saat sonrası görüntüleri kaydedilmiştir. (**Şekil 4.29 (H)** ve **Şekil 4.29 (L)**). Yeniden birleştirilmiş hidrojel iki pens yardımıyla zıt yönde gerildiğinde herhangi bir bölünme göstermemiş ve dayanıklığını korumuştur (**Şekil 4.29 (D)**). Otonom kendi kendini iyileştirme yeteneği, jelatinin tirozin, triptofan ve fenilalanin gibi aromatik kalıntıları ile Ak-β-SD arasındaki tersinir konak-konuk etkileşimlere bağlanabilir. Ayrıca, potasyum iyonları ile KK'nın yapısında bulunan sülfat iyonları arasındaki kovalent olmayan etkileşimler ve tersinir elektrostatik bağlar kendi kendini iyileştirme sürecine katkıda bulunmuştur [191].

Supramoleküler hibrit polimerlerin (formülasyon 12, 13 ve 14) kendi kendini iyileştirme yeteneğini göstermek için reoloji deneyleri gerçekleştirilmiştir. Gerinim genliği taraması, 25°C'de 1 rad/s'lik sabit bir açısal frekansta polimerlerin depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G") değerleri izlenerek kaydedilmiştir. Polimerler %1-%1000'e kadar artan gerinim değer aralığında taranmıştır. İlk olarak, kritik gerinim noktası (G' ve G" arasındaki kesişme noktası veya çapraz geçiş noktası), ki bu nokta katı ve sıvı halinin kritik durumunu temsil eden eğridir, 25°C'de sabit bir açısal frekansta (1 rad/s) gerinim genlik tarama testi (γ = %1 - %1000) ile hesaplanmıştır. Polimerlerin sol-jel noktasını belirlemek için yapılan çapraz geçiş noktası analizi sonucu %868 olarak bulunmuştur [363,364]. **Şekil 4.30 (A)**'da gösterildiği gibi depolama modülü eğrisi, kritik gerinim noktasına kadar kayıp modülü eğrisinden daha büyüktür. Bu noktanın ötesinde depolama modülü değeri bariz bir düşüş göstermiş ve çapraz geçiş noktası (G'=G" olan % gerinim noktası) kayıp modülü ile örtüşerek polimer ağının çöktüğünü ve sıvı hale dönüştüğünü göstermiştir [352]. Düşük gerinim değerinde (%1),

depolama modülü (G'), kayıp modülü (G") değerlerine göre daha yüksek olup bu durum kararlı bir hidrojel ağını göstermektedir. Düşük gerinim değerinden yüksek gerinime (%200) geçildiğinde hibrit polimer görece sol formu sergilemiş ve bu noktada siklodekstrin ile jelatinin aromatik artıkları arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin büyük bir kısmı ortadan kalkmıştır.

Şekil **4.30 (B)**'de gösterildiği gibi 1 rad/s'lik sabit bir açısal frekansta malzeme geri kazanımını araştırmak için %1 ile %200 gerinim değerleri arasında alternatif adımlı bir gerinim testi gerçekleştirilmiştir. Bu test altı döngü olarak tekrar edilmiş olup 200 saniyelik sabit bir zaman aralığında yapılmıştır. Düşük gerinimde (%1), supramoleküler hibrit hidrojellerin depolama ve kayıp modülü değerleri sırasıyla 2363 Pa ve 236 Pa iken (G'>G") yüksek gerinimde (%200), G' değeri 1155 Pa'dan 665 Pa'ya düşmüştür bu sonuç hidrojellerin yüksek gerinim altında daha sıvı benzeri davranış sergilediğini göstermiştir. Ayrıca, döngüsel deformasyon altında polimerler jel benzeri bir durum sergilemiş, gerinim düşürüldüğünde depolama modülünün hızlı bir şekilde geri kazanıldığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, düşük gerinim uygulandığında konak-konuk etkileşimler tarafından bozulan ağdan supramoleküler hibrit polimerlerin G' değerinin hızlı bir şekilde orijinal durumuna geri döndüğüne işaret etmiştir. Supramoleküler hibrit polimerlerin bu özellikleri, her bir geri kazanım döngüsü altında sergilenmiştir. Bu teknikler, dağıtım cihazları yoluyla (en yaygın olarak şırıngalarla) hidrojellerin in-vivo enjeksiyonu sırasında ve enjeksiyondan sonra (hidrojeller hedef bölgelere ulaştığında) koşulları simüle etmektedir. Elde edilen sonuçlar, jelatin ve β-SD arasındaki tersinir konak-konuk etkileşimini göstermekte olup bu sonuç aynı zamanda kayma incelmesi davranışı sergileyen hidrojellere de karşılık gelmektedir. Bu bulgular, supramoleküler ikili ağ yapılı hibrit hidrojellerimizin, hedef bölgede malzemenin ve biyoaktif moleküllerin optimum şekilde korunmasına izin vererek, kayma incelmesinin ardından hemen hemen geri kazanılabileceğini göstermektedir. Bu özelliklere sahip hidrojeller, in-vivo jelleşme işlemi sırasında dağıtım cihazlarının tıkanmasını veya kapsüllenmiş maddelerin difüzyonunu önleyebilmektedir [359]. Bu nedenle, hem nitel hem de nicel yöntemlerde, jelatinin aromatik kalıntıları ve Ak-β-SD ile üretilen hidrojelin hızlı kendi kendini iyileştirme performansına sahip olduğu doğrulamıştır. Kendi kendini iyileştirme performansı, fenilalanin, triptofan ve tirozin gibi aminoasitler ve SD arasındaki tersine çevrilebilir konak-konuk etkileşimlerine atfedilmiştir.

5.5. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN KAYMA İNCELMESİ VE ENJEKTE EDİLEBİLİRLİK DAVRANIŞI SONUÇLARI

Enjekte edilebilir hidrojeller, özellikle doku mühendisliğinde, yara iyileşmesinde ve ulaşılması zor alanlarda hastalıkların tedavisinde bir şırınga yoluyla minimal invaziv terapötiklerin uygulanması için umut verici malzemelerdir [134,365,366]. Hidrojel enjekte edilebilirliği, enjeksiyon sırasında kayma gerilimi altında viskoz akış gösteren kayma incelmesi özelliği ile sağlanmakta ve stres kaldırıldıktan sonra hidrojel başlangıç viskozitesini geri kazanmaktadır [5,9,367,368]. Polimerlerin kayma incelmesi özelliği reolojik testlerle değerlendirilmiştir. **Şekil 4.31 (A)**'da gösterildiği gibi, formülasyon 12, 13 ve 14'e göre hazırlanan UV kürlemesine tabii maruz bırakılmayan polimerlerin viskozitesi, farklı kayma hızı oranı (0,1'den $100s^{-1}$'e kadar) koşullarında gerçekleştirilmiştir. Düşük kayma hızında (0,1 s^{-1}) %16 jelatin (ağ./hac.) ve %2, %3, %4 (ağ./hac.) üç farklı oranda KKM içeren polimer çözeltilerinin viskozite değerleri sırasıyla 4171,6 Pa.s, 4445,4 Pa.s ve 3539,0 Pa.s olarak ölçülmüştür. Daha yüksek kayma hızı değerinde (100 s^{-1}) ise viskozite değerleri sırasıyla 5,4 Pa.s, 9.3 Pa.s ve 10.2 Pa.s'ye düşmüştür. Farklı %KKM içerikli polimer çözeltilerinin viskoelastik özellikleri kayma incelmesi davranışı göstermektedir. Literatürde KKM bazlı hidrojellerle gerçekleştirilen çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmiştir [124,352]. %KKM oranının artması ile düşük ve yüksek kayma hızlarında benzer viskozite davranışları gözlenmiştir. Bu kapsamda yüksek kayma hızında viskozite değerleri artan %KKM içeriğine bağlı olarak yükselirken düşük kayma hızlarında %4 KKM içeriği durumunda değerlerine göre daha düşük viskozite değeri saptanmıştır ve daha önce literatürde yapılan çalışmalarda aynı profiller gözlenmiştir [25]. Diğer bir ifade ile, KKM'nin KK ile aynı viskozite değerlerine ulaşabilmesi için daha düşük kayma hızlarının uygulanması gerektiği tespit edilmiştir. Bu durum temel olarak, metakrilat yan zincirlerin mevcudiyeti ile ikili sarmal konformasyonların sıralı düzenlemesinin bozulmasına atfedilebilir [25].

Kimyasal olarak çapraz bağlı hidrojeller genellikle sert ve kırılgan iken dinamik fiziksel bağlanma yoluyla oluşturulan hidrojeller, çok daha kısa jelleşme süresi gerektirmekte ve mükemmel esneklik, kalıplanabilirlik, kayma incelmesi ve kendi kendini iyileştirme yetenekleri sergilemektedir. Ek olarak, kendi kendini iyileştirmeyi de gerçekleştirebilen diğer kovalent olmayan etkileşimlerle (hidrojen bağı, elektrostatik etkileşim, hidrofobik etkileşim vb.) karşılaştırıldığında, konak-konuk kompleksi, iyi tanımlanmış stokiyometriye, uzamsal ağa ve hasarlı hidrojellerin hızlı iyileşme oranına yol açan yüksek düzeyde seçicilik ve üstün bağlanma

gücüne sahiptir. Konak-konuk etkileşimi yoluyla çapraz bağlanan hidrojeller, iyi biyouyumluluk ve kayma incelmesi özellikleri göstermekte, bu da sonuç olarak dokulara ve organlara enjekte edilebileceği anlamına gelmektedir. Doktora tez çalışması kapsamında da ikili çapraz bağlı hidrojeller sentezlenmiş ve konak-konuk etkileşimi kullanılarak fiziksel bağlanma gerçekleştirilmiştir. Akriloil klorür ile modifiye edilmiş siklodekstrin hidrojel ağında etkili bir şekilde çapraz bağlar oluşturmak için bir konak molekül görevini üstlenmiştir. Jelatinin yapısında bulunan aromatik amino asitler ise konuk görevini görerek kayma incelmesi gösteren enjekte edilebilir hidrojellerin başarıyla üretilmesine imkan sağlamıştır. Tez çalışması kapsamında alınan sonuçlar literatürle son derece uyumlu olup kendi içerisinde kıyaslandığında rekabet edebilir sonuçlar elde edilmiştir [369].

Uygulandığı şekle uyum sağlayan özelliklere sahip enjekte edilebilir hidrojeller, kayma incelme kapasitesi nedeniyle yara kapanmasında ilgi çekmektedir. Tez kapsamında hazırlanan hibrit hidrojelin artan kayma hızıyla birlikte viskozitesi oda sıcaklığında kademeli olarak düşmüş, bu durum ilgili hidrojellerin iyi enjekte edilebilir davranışa göstermesine yol açmıştır. **Şekil 4.31 (B)**'de görüldüğü gibi hidrojel enjekte edilebilirliğinin kalitatif tayinini değerlendirmek için konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı %2 KKM içeren hidrojel (formülasyon 12) bir şırınga içine yüklenerek ve tıkanma olmaksızın sürekli olarak 25 gauge iğne ucundan 25°C'de FTÇ içerisine enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan sonra bağın kendi kendine iyileşmesi mümkünse, hidrojellerin şeklini korumaları beklenmiştir. Başka bir ifadeyle, boyalı hidrojeller FTÇ çözeltisine enjekte edildiğinde, polimer veya boya dağılmamalıdır. Burada hidrojellerin (pembe renkli) FTÇ içine enjeksiyonundan sonra hızlı kendi kendine iyileşmesi matrisin dağılmamasıyla gözlenmiştir. Ayrıca **Şekil 4.31 (C)**'de hibrit hidrojel "saksı içerisinde aloe vera" şeklini çizmek, morfolojiyi ve oda sıcaklığında kararlı jel durumunu sürdürmek için bir şırınga aracılığıyla sürekli olarak enjekte edilebilmiştir.

5.6. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN İN-VİTRO HÜCRE KÜLTÜR DAVRANIŞI SONUÇLARI

MTT tahlili, kültürde 48 saat sonra NIH/3T3 hücrelerinin konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı %2 KKM (ağ./hac.) içeren hidrojeller (formülasyon 12) üzerindeki hücre metabolik aktivitesini kantitatif olarak araştırmak için uygulanmıştır. NIH/3T3 İsviçre faresi embriyonik fibroblast hücreleri, üretilen hidrojelin biyouyumluluğunu değerlendirmek için seçilmiştir. Fibroblastlar; kolajen, fibronektin, sitokinler ve doku onarımı için gerekli büyüme faktörleri gibi belirli ECM bileşenlerinin üretiminde önemli bir rol oynamasından dolayı model

hücrelerdir [6,370]. MTT tahlili, mitokondriyal enzimlerin MTT'yi azaltma yeteneğini ölçmektedir. Bu kapsamda hidrojel yüzeyine ne kadar çok hücre bağlanırsa, o kadar çok hücre bulunur ve tahlilden daha yüksek bir metabolik aktivite sunmaktadır. Bu sonuçlar, NIH-3T3 hücrelerinin hidrojellerde artan bir metabolik aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. 48 saatlik inkübasyon süresinden sonra tüm hidrojeller jelatin omurgasında bulunan hücre tanıma birimleri (Arg-Gly-Asp amino asit birimleri) kaynaklı olabilecek şekilde %100'den fazla hücre canlılığı sergilemiştir [31]. Literatür incelendiğinde, jelatin ve kappa-karagenan bazlı hidrojellerde de benzer sonuçlar elde edilmiştir [31,328]. Genel olarak, hücre metabolik aktivitesi, **Şekil 4.32**'deki bağlanma, çoğalma ve hücre göçü verileriyle eşleşmiştir. Hazırlanan hidrojellerin salım özütleri MTT testi ile değerlendirilmiş ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hidrojellerin metabolizması önemli bir fark göstermemiş yani belirgin bir hücre toksisitesi olmamıştır. **Şekil 4.32**, MTT tahlili kullanılarak nicelleştirilmiş supramoleküler ikili çapraz bağlı %2 KKM (ağ./hac.) içeren hibrit hidrojellerin hücre canlılığını göstermektedir. Bu grafikten hidrojel ürünlerinin toksik olmadığı, biyouyumlu olduğu ve hücre büyümesini desteklediği sonucuna varılmıştır.

5.7. KONAK-KONUK SUPRAMOLEKÜLER İKİLİ ÇAPRAZ BAĞLI HİBRİT HİDROJELLERİN İN-VİTRO YARA KAPANMA MODELİ (ÇİZİK TESTİ) ANALİZ SONUÇLARI

Hücre göçü, yara iyileşme sürecinde son derece önemli bir adımdır. Derideki yara iyileşmesi için hücre migrasyonu, yara kasılmaları ve daha sonraki kürleşme aşamaları için de önem taşımaktadır [357]. Yara çizik analizi, hücre göçüne dayalı in-vitro yara iyileşmesini araştırmak için basit ve düşük maliyetli bir yöntemdir. Bu yaklaşımda, bir birleşen hücre tek tabakası üzerinde "çizik" olarak adlandırılan yapay boşluk meydana getirildiğinde, oluşturulan boşluğun kenarındaki hücreler, yeni hücre-hücre temasları tekrar kurulana kadar "çiziği" kapatmak için açıklığa doğru hareket edecektir. Temel adımlar, tek tabakalı hücreler üzerinde bir "çizik" oluşturulmasını, çiziği kapatmak için başlangıçta ve hücre göçü sırasında düzenli aralıklarla görüntülerin yakalanmasını ve hücre göçü hızını belirlemek için görüntülerin karşılaştırılmasını içermektedir [371].

Biyoaktif hidrojellerin (formülasyon 12) yara oluşumundaki in-vitro yara kapatma etkilerini değerlendirmek için NIH/3T3 hücrelerinin kullanıldığı çizik testi yöntemi gerçekleştirilmiştir. **Şekil 4.33**'ten görüleceği üzere hidrojel özütleri hibrit yapının biyouyumluluğunun iyi olduğunu göstermiş, kontrol ortamının davranışına benzer şekilde hücre büyümesi ve göçü ile

yara boşluğu alanının 24 saat sonunda %68,6'sını, 48 saatte ise %100'ünü kaplayabilmiştir. 48 saat sonra tedavi grubundaki hücrelerin model bölgeye daha fazla göç ettiği tespit edilmiştir. MTT testinde anlamlı bir fark olmamasına rağmen çizik testinde görülen yara kapanması, hidrojel ekstraktının hücre göçünü desteklediği ve yara tedavisi için hızlı yara iyileşme gereksinimlerini karşılayan konak-konuk ikili çapraz bağlı %2 KKM (ağ./hac.) içeren hibrit hidrojellerin iyi hücre uyumluluğu gösterdiği tespit edilmiştir.

5.8. OKSİJEN ÜRETEN MALZEME ÇALIŞMALARINA AİT SONUÇLAR

5.8.1. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Mikroskobik (SEM) ve Elementel Analiz Sonuçları

Doktora sırası yurt dışı çalışmaları kapsamında sentezlenen Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların SEM analizine ait sonuç **Şekil 4.34**'te verilmiştir. SEM görüntüsü incelendiğinde kalsiyum peroksit (CPO) yüklü polikaprolakton (PCL) mikroparçacıkların küresel yapıda olup nanometrik boyutta ve sentez sırasında bozunmamış homojen yapısını doğrulamıştır. **Şekil 4.35**'te ise mikroparçacıkların enerji dağılımlı X-ışını spektrometrisi (EDX) tabanlı elementel haritalanmasına ait sonuçlar sunulmuştur. Burada sentez sırasında kullanılan kalsiyum (Ca), karbon (C) elementlerinin ve reaksiyon sonucu açığa çıkan oksijen elementlerine ait detaylı EDX incelemesi gerçekleştirilmiştir. SEM-EDX haritalama sonucundan da görüleceği gibi sentez sonrası oksijen salım davranışı gerçekleşmiştir. Yapılan bilimsel literatür çalışmalarında da taramalı elektron mikroskobu ile CPO, PCL ve OÜM'lerin mikro morfolojik analizi, PCL ve OÜM'lerinin küresel ve bozulmamış doğasını doğrulamıştır. Ayrıca EDX spektrometre tabanlı temel haritalama, orijinal PCL mikro malzemelerine kıyasla OÜM'lerde nispeten daha yüksek oksijen içeriği tespit edilmiştir [321,322].

5.8.2. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Parçacık Boyutu Dağılımı Analiz Sonuçları

Kalsiyum peroksit (CPO) yüklü polikaprolakton (PCL) mikroparçacıklarına ait parçacık boyut dağılımı analizi sonucu **Şekil 4.36**'da verilmiştir. Grafikten de görüleceği üzere mikroparçacıkların parçacık boyut dağılımının ortalama 1,49±0,013 μm aralığında olduğu ortaya konulmuştur. OÜM'ler kontrol edilebilir ve ölçeklenebilir su içinde-yağ içinde-su (w/o/w) çift emülsiyon sentez yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Farzin ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği benzer bir çalışmada PCL, CPO ve OÜM'lerin ayrı ayrı parçacık boyut dağılımı analizleri gerçekleştirilmiştir. PCL mikroparçacıkların, saf CPO'ların ve OÜM'lerin

boyut analizi değerleri, sırasıyla 2,3±0,9 μm, 1,2±0,2 μm ve 4,6±1,2 μm olarak elde edilmiştir. Bu sonuçlar, PCL mikroparçacıkların saf CPO'nun ve OÜM'lerin çapıyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur [322].

5.8.3. Kalsiyum Peroksit (CPO) Yüklü Polikaprolakton (PCL) Mikroparçacıkların Oksijen Salım Profillerinin Analiz Sonuçları

Kalsiyum peroksit (CPO) yüklü polikaprolakton (PCL) mikroparçacıkların oksijen salım profilleri incelendiğinde, **Şekil 4.37**'den görüleceği üzere oksijen üretim oranının yaklaşık 50 μmol/L (%3,7)'lerde olduğu tespit edilmiştir. Bu oran, ortam içerisinde anoksik koşullardan hücrelerin yaşamını belirli ölçüde devam ettirebileceği hipoksik değerin üzerine ulaştığını göstermiştir. Ayrıca oksijen üretimi implante edilen dokunun ihtiyacına göre inkübasyon süresi değişmeden partikül konsantrasyonu değiştirilerek ayarlanabilmektedir. İlave olarak, bu mikroparçacıklar bir hidrojel matrisine eklenip içerisine hücre yüklenip herhangi bir dokuya implante edildiğinde, dokunun hayatta kalması için difüzyon sınırlarının üstesinden gelmesi gerekmektedir. Bu durumda gözlenen jel-mikroparçacık platformu oksijen salım kinetiğinin, canlı implantların vasküler faz sağ kalımını köprülemek için istenen şartlarla uyumlu olduğu görülmüştür.

Suvarnapathaki ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kritik boyuttaki kemik kusurlarını yeniden oluşturmak için oksijen üreten yapı iskeleleri üretmişlerdir [372]. Bu mikro parçacıklar, biyoaktif oksijen salan bir iskele oluşturmak için GelMA hidrojeli kullanılmıştır. Bu hidrojel yapı iskeleleri, PCL içinde emülsifiye edilmiş CPO oluşan mikroparçacıklar ile güçlendirilmiştir. Oksijen taşıyıcı ve hidrofobik bariyer olarak işlev gören PCL çalışma kapsamında %13,5 (ağ./hac.) oranında kullanılmıştır. OÜM sentez aşamasında %13,5 PCL içerisine farklı CPO varyasyonları oluşturmak için 0 mg/ml ($OÜM_0$), 30 mg/ml ($OÜM_{30}$), 60 mg/ml ($OÜM_{60}$) ve 90 mg/ml ($OÜM_{90}$) konsantrasyonlarında CPO ilave edilmiştir. Diğer bir ifadeyle, oksijen üreten iskeleler, %13,5 (ağ./hac.) PCL fazı içinde, GelMA'nın mL'si başına 0 mg, 4,1 mg, 8,1 mg veya 12,15 mg CPO ilavesiyle üretilmiştir. %13,5 (ağ./hac.) PCL fazı içinde. GelMA miktarı sabit olup %5 (ağ./hac.) olarak tercih edilmiştir. Oksijen salınımının 14. gününde OGM_{30}, OGM_{60} ve OGM_{90} yapı iskeleleri için sırasıyla %29, %30 ve %40 çözünmüş elde edilmiştir. Yalnızca GelMA ve $OÜM_0$ ürünleri analizlendiğinde yapılarında hiç CPO (oksijen üreten bileşen) olmadığı için oksijen salınımı gerçekleşmemiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında çalışmada kullandığımız CPO miktarı Suvarnapathaki ve arkadaşlarının kullandığı miktardan 6 kat daha azdır ve salım değerimiz %3,7'lerde olduğu tespit edilmiştir.

% oksijen salım değeri her ne kadar CPO miktarı ile doğru orantılı şekilde artmasa da görece yakın sonuçlar elde edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu doktora tez çalışması, protein-polisakarit yapılı hidrojellerden oluşan kendi kendini iyileştirme ve enjekte edilebilirlik özellikleri sağlamak için konak-konuk etkileşimini içeren yeni bir biyomalzeme üretim, süreç karakterizasyonun bir değerlendirmesini sunmaktadır. Hidrojel olarak ECM'yi daha iyi taklit edebilmek için protein yapılı jelatin ve polisakkarit yapılı kappa-karagenan hibrit yapısı kullanılmış olup bugüne kadar bu iskele yapısının, tez kapsamında yapılan modifikasyonların ve uygulama alanının literatürde bilgimiz dahilinde kullanılmaması seçilen hibrit yapıyı özgün ve çalışmayı da yenilikçi kılmaktadır.

Bu kapsamda, konak-konuk etkileşimine dayalı yenilikçi supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin oluşturulması için konak molekül olarak β-SD kullanılmıştır. β-SD'in fotobaşlatıcı varlığında foto çapraz bağlanabilmesi için akriloil klorür yardımıyla akrilatlama modifikasyonu gerçekleştirilerek Ak- β-SD sentezlenmiştir. Ayrıca Ak-β-SD'nin daha sonra hibrit yapıya ilave edilen metakrilatlanmış KK ile UV ışık kürlemesi altında foto çapraz bağlanabileceği için KKM'de bu şekilde polimer omurgasına dahil edilmiştir. Konak molekül β-SD'in akrilat fonksiyonel gruplarının modifikasyonu FTIR analizi ile doğrulanmıştır. Akrilat-β-SD'in FTIR spektrumunda karakteristik tepe noktaları olan C-O, C=O ve C=C gerilmesinin titreşimlerine karşılık gelen sırasıyla 1018 cm^{-1}, 1720 cm^{-1} ve 1649 cm^{-1} absorpsiyon bantları görülmüştür. Bu değerler bilimsel literatürle uyumlu olup akriloil klorürün β-SD'e başarılı şekilde bağlandığını FTIR analizi vasıtasıyla doğrulamıştır [326,327]. Supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin oluşturulması için konak molekül Ak-β-SD ile protein yapılı doğal kaynaklı bir polimer olan jelatinin aromatik kalıntıları fenilalanin, triptofan ve tirozin amino asitleri konuk moleküller olarak kullanılarak konak-konuk etkileşim oluşturulmuştur. Literatürde birçok konak-konuk etkileşimle üretilen hidrojellerde konak molekül β-SD ile konuk molekül Adamantan tercih edilmiştir [359,373,374]. Doktora tez çalışmasında jelatin tercih edilmesinin ana gerekçeleri (i) jelatinin çeşitli hücreleri barındırmak için uygun kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip olması, (ii) 3B hücre kültürü için en yaygın biyomalzemelerden biri olması ve (iii) jelatin ve türevlerinin, protein yapısında Arginin-Glisin-Aspartik asit (Arg-Gly-Asp) (RGD) tripeptitlerinin varlığından dolayı biyouyumlulukları ve mükemmel hücre etkileşim özelliklerine sahip olması şeklindedir [20]. RGD yapısı, hücre yüzeyi integrinleri ile etkileşime girebildiği için hücre yapışma özellikleriyle bilinmektedir. Bununla birlikte, doku mühendisliğinde jelatinin polimerlerin kullanılmasıyla ilgili en önemli zorluklardan birisi,

mekanik dayanımlarının düşük olmasıdır [20]. Jelatinin eksik olan özelliklerini tamamlamak için doktora tez çalışması kapsamında polisakkarit yapılı doğal kaynaklı kappa-karagenan tercih edilmiştir. 3B hücresel yapıların başarısı, yaralı veya hastalıklı doku ve organları iyileştirmek, onarmak veya yenilemek için donatılmış fonksiyonel biyomalzemelerin geliştirilmesine bağlıdır. Bu kapsamda hibrit biyomalzemeler, ayrı ayrı bileşenlerden elde edilmesi mümkün olmayan hedef özellikleri sağlayarak terapötik alanında kullanılabilmektedir. Kappa-karagenanın seçilme nedeni, jelleşme özellikleri, mekanik dayanıklılığı ve doğal glikozaminoglikanlara benzerliğidir. Doktora tez çalışmasında yara iyileşmesi uygulama alanı için kendi kendini iyileştirebilen enjekte edilebilir hidrojellerin üretimi planlandığı için protein-polisakkarit yapılı bu yenilikçi polimerler tercih edilmiştir. Ancak iyonik olarak fiziksel çapraz bağlı KK'nın doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmasını engelleyen, kimyasal degradasyon ve yetersiz mekanik dayanım özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu sebeple KK, UV ışığı vasıtasıyla kimyasal çapraz bağlanabilmesi için modifiye edilmiş ve bu tez özelinde metakrilasyon derecesi %12 (ağ./hac.) olarak tercih edilmiştir. Ayrıca çalışma kapsamında hidrojel içerisindeki %KKM oranının iskele yapısına fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkilerini görmek için %16 (ağ./hac.) sabit jelatin oranına karşı %2 , %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM oranları kullanılmıştır. Metakrilatlanmış kappa-karagenanın başarılı sentezi FTIR ve ^{1}H-NMR analizleri ile doğrulanmıştır. FTIR spektroskopisinde C=C gerilmesine karşılık gelen 1633 cm^{-1} absorbans piki ve C=O ikili bağının karakteristik ester tepesi oluşumu 1712 cm^{-1}'de tespit edilmiştir. Bu sonuçlar literatürle uyumludur [25,241,328]. Metakrilatlanma reaksiyonu sonrası elde edilen H-NMR sonuçlarından δ=1,8-2,0 ppm'deki metil grubu tepe noktası ve δ=5,9-6,3 ppm vinil grubu tepe noktası varlığı metakrilat reaksiyonunun başarılı modifikasyonunu göstermiştir. Ayrıca çalışma kapsamında jelatin/KKM iskele yapısında tercih edilen bir diğer yaklaşım ikili çapraz bağlanmanın uygulanması olmuştur. KKM polimeri %0,25 foto başlatıcı (I2959) varlığında 40 sn boyunca UV (10 mW/cm^2) ile kimyasal çapraz bağlanmış, KK'nın yapısında bulunan sülfat gruplarının polimerik ağ içinde difüzyonuna ve zincirler arasında güçlü iyonik bağların oluşmasına izin verebilmek için fiziksel çapraz bağlanma potasyum klorür ile sağlanmıştır.

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin 24 saat boyunca, 37°C'de, FTÇ içerisinde gerçekleştirilen şişme testlerinde, % kütle şişme oranı formülasyon 12, 13 ve 14 için %78-80 aralığında tespit edilmiştir. Benzer bir diğer çalışmada görünür ışıkla çapraz bağlanan ve farklı metakrilasyon derecelerine sahip KKM hidrojelin % kütle şişme oranları

%20-10 aralığında kalmıştır [30]. Bu sonuç yapıya jelatin eklenmesiyle supramoleküler etkileşimler yoluyla elde edilen hidrojelin % kütle şişme oranını belirgin şekilde arttırdığını ispatlamıştır. Bu durum hidrojellere suyla besin, oksijen difüzyonu ve atık bertarafı gibi kütle taşıma kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin hidrolitik degradasyon testi 21 gün boyunca, 37°C'de FTÇ içerisinde gerçekleştirilmiştir. 21 gün sonunda formülasyon 12, 13 ve 14'ten hazırlanan hibrit hidrojellerin degradasyon sonuçları sırasıyla %61,8, %62,0 ve %57,0 olarak tespit edilmiştir. Literatür taraması yapıldığında KK yapısına modifiye edilen metakrilat gruplarının metakrilasyon derecesinin % kütle şişme ve % degradasyon oranını düşürdüğünü göstermiştir [30].

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin yüzey morfolojileri incelendiğinde, hidrojel içerisindeki %KKM oranı artışının gözenekliliği arttırdığı göstermiştir. Literatür verileri incelendiğinde yüksek metakrilasyon derecesine (%12) sahip KKM yapılı hidrojellerin düşük ve orta metakrilasyon derecesi ile karşılaştırıldığında, metakrilasyon derecesi arttıkça gözenek boyutunun küçüldüğü tespit edilmiştir. Doktora tez çalışması kapsamında seçilen protein/polisakkarit hibrit yapısında kullanılan %16 (ağ./hac.) jelatin, hidrojel yapısının daha gözenekli olmasına ve gözenek çapının artmasına sebep olmuştur. Literatürdeki yayınlarla karşılaştırıldığında saf jelatin yapılarının oldukça gözenekli olduğu bulunmuştur [347].

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin mekanik davranışlarını ölçmek için gerçekleştirilen sıkıştırma testinden elde edilen elastik modül değerlerinin metakrilasyon derecesinin artmasıyla yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu bağlamda hidrojel içerisinde %4 KKM (ağ./hac.) bulunan yapı iskelesinin elastik modül değeri 27,9 kPa bulunmuştur. Ayrıca %2, %3 ve %4 KKM (ağ./hac.) içeriğine sahip hidrojellerin sıkıştırma gerilimleri 181 kPa, 273 kPa, 341 kPa olarak bulunmuştur. Literatür taramasında malzemenin mekanik özelliklerinin KK'ye güçlü bir şekilde bağlı olduğunu göstermiştir. Bu sebeple, sadece %1 oranında KK kullanılsa bile %10 GelMA/%1 KK (ağ./hac.) hibrit hidrojelinde sıkıştırma gerilim değeri 130 kPa olarak tespit edilmiştir [34]. Ayrıca hibrit hidrojel içerisindeki %KKM oranı arttıkça tokluk değerleri %2, %3 ve %4 KKM (ağ./hac.) sırasıyla 18,6 kJ/m^3, 39,8 kJ/m^3 ve 46,3 kJ/m^3 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, KK'nın yüksek metakrilasyon derecesi, yoğun zincir ağı ve üstün kimyasal çapraz bağlanması ile ilişkilendirilebilir [25,124]. Dahası yapı iskelelerinin elastik davranışını anlamak için döngüsel sıkıştırma sıkıştırma-geri çekme testleri %40 gerinim seviyesinin sonunda iyi yorgunluk direnci ve esneklik sergilemiştir. Başka bir

ifadeyle, ikinci döngüden sonra artan kırılmamış bağlar nedeniyle numuneler her üç farklı % KKM oranında da üstün mekanik dayanıma sahiptir. Hidrojen bağı ve potasyum iyonları ile çapraz bağlanması, hidrojel ağları arasında daha iyi bağlantıya yol açmıştır. Bu davranış, geri kazanım yüzdesi ile desteklenmiş ve farklı % KKM oranlarına sahip hidrojellerin % geri kazanımı sırasıyla %90,1, %96,0 ve %98,4 ile sonuçlanmıştır.

Doktora tez çalışması kapsamında enjekte edilebilir ve kayma incelmesi özelliği gösteren konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin üretilmesi hedeflendiğinden ilgili polimerlerin viskoelastik ve dinamik reolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Formülasyon 12, 13 ve 14'e göre hazırlanan polimer iskelelerinin artan açısal frekans değerlerine karşılık (1-100 rad/s) kompleks viskozite değerleri sırasıyla 2,50 x 10^2 mPa.s, 2,61 x 10^2 mPa.s ve 2,44 x 10^2 mPa.s değerlerinden 6,25x10^0 mPa.s, 8,84x10^0 mPa.s ve 10,54x10^0 mPa.s değerlerine düşmüştür. Bu sonuçlar, hibrit hidrojellerin kayma incelmesi davranışı gösterdiğini ispat etmiştir. Ayrıca konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı polimerlerin viskoelastik profilleri incelendiğinde depolama modülü değerinin tüm frekans aralığında (0,1-100 rad/s) kayıp modülü değerinden daha büyük olduğu ve bu trendin tüm formülasyonlarda gözlendiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar hibrit yapılı polimerlerin viskoelastik katı davranışı sergilediğini göstermiştir. Ayrıca iskele yapısının jel benzeri davranış gösterdiği, kompleks viskozite ve depolama/kayıp modüle karşı zaman taraması testi gerçekleştirilerek doğrulanmıştır. KKM yapısında kullanılan yüksek metakrilasyon derecesinin iyonik bağlarla düşük fiziksel jelleşmeye yol açtığı ve bu nedenle, metakrilatlanma oranı arttıkça viskoelastik değerlerde bir düşüş gözlenmiştir. Depolama ve kayıp modülü değerleri karşılaştırıldığında jelatin/kappa-karagenan bazlı yapıların reolojik davranışı G'>G" olmakla birlikte hibrit olmayan yapıda (sadece KKM'den oluşan) depolama ve kayıp modül değerleri oldukça yüksektir. Bu farkın jelatin/kappa-karagenan bazlı yapılarda bulunan jelatinin yapısından ve özellikle supramoleküler konak-konuk etkileşimden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit yapı iskelelerinin kendi kendini iyileştirme davranışı makroskobik (stereo optik mikroskop ve floresan mikroskobu) ve reolojik test ile gerçekleştirilmiştir. Hibrit hidrojellerin oda sıcaklığında 48 saat sonunda hiçbir ilave uyarana ihtiyaç olmaksızın kendi kendini iyileştirme davranışı sergiledikleri başarılı şekilde gösterilmiştir. Otonom kendi kendini iyileştirme yeteneği, jelatinin tirozin, triptofan ve fenilalanin gibi aromatik amino asitleri ile Ak-β-SD arasındaki tersinir konak-konuk etkileşimlere bağlanabilir. Ayrıca, potasyum iyonları ile KK'nın yapısında bulunan sülfat

iyonları arasındaki kovalent olmayan etkileşimler ve tersinir elektrostatik bağlar kendi kendini iyileştirme sürecine katkıda bulunmuştur [191]. Reometre ile gerçekleştirilen çalışmalarda ise gerinim genliği taraması (γ = % 1-1000), 25°C'de 1 rad/s'lik sabit bir açısal frekansta polimerlerin depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G") değerleri izlenerek kaydedilmiştir. Polimerlerin sol-jel noktasını belirlemek için yapılan çapraz geçiş noktası analizi sonucu %868 olarak bulunmuştur. Sonuçlar karşılaştırıldığında, depolama modülü eğrisi, kritik gerinim noktasına kadar kayıp modülü eğrisinden daha büyüktür. Bu noktanın ötesinde, depolama modülü değeri bariz bir düşüş göstermiş ve çapraz geçiş noktası (G'=G" olan % gerinim noktası) kayıp modülü ile örtüşerek polimer ağının çöktüğünü ve sıvı hale dönüştüğünü göstermiştir [352]. Düşük gerinim değerinde (%1), depolama modülü (G'), kayıp modülü (G") değerlerine kıyasla daha yüksektir ve bu durum kararlı bir hidrojel ağına yol açmıştır. Düşük gerinim değerinden yüksek gerinime (%200) geçildiğinde, hibrit hidrojel görece sol hal formu sergilemiş ve bu noktada siklodekstrin ile jelatinin aromatik artıkları arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin büyük bir kısmı yok edilmiştir. Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin yara iyileşmesinde ve ulaşılması zor alanlarda hastalıkların tedavisinde bir şırınga yoluyla minimal invaziv terapötiklerin uygulanması için kayma incelmesi özelliğine sahip olması gerekmektedir. İskele yapı içerisinde %2, %3 ve %4 (ağ./hac.) KKM içeren polimerlerin düşük kayma hızında (0,1 s^{-1}) viskozite değerleri sırasıyla 4171,6 Pa.s, 4445,4 Pa.s ve 3539,0 Pa.s iken yüksek kayma hızında (100 s^{-1}) 5,4 Pa.s, 9.3 Pa.s ve 10.2 Pa.s'ye düşmüştür. Literatürde KKM bazlı hidrojellerle gerçekleştirilen çalışmalarda kayma incelmesi davranışı görülmüş olup benzer sonuçlar elde edilmiştir [124,352]. Ayrıca enjekte edilebilirliğinin kalitatif tayinini değerlendirmek için, konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı %2 KKM içeren yapı iskelesi bir şırınga içine yüklenmiş ve tıkanma olmaksızın sürekli olarak 25 gauge iğne ucundan 25°C'de FTÇ içerisine enjekte edilmiştir.

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı %2 KKM içeren hidrojelleri üzerindeki hücre metabolik aktivitesini ve sitotoksisitesini göstermek için NIH/3T3 hücre hatları ile kültür testleri gerçekleştirilmiştir. MTT testi ile gerçekleştirilen çalışmalarda NIH-3T3 hücrelerinin hidrojellerde artan metabolik aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuş ve jelatinin kimyasal yapısında bulunan hücre tanıma birimleri (Arg-Gly-Asp amino asit birimleri) kaynaklandığı düşünülen %100'den fazla hücre canlılığı sergilemiştir. Bu sonuçlar, doktora tezi kapsamında hazırlanan hidrojellerin toksik olmadığını ve hücre büyümesini desteklediğini başarılı şekilde göstermiştir. Ayrıca yara tedavisi için hızlı yara iyileşme gereksinimlerini karşılayan hücre

göçünü tespit etmek için çizik testi de gerçekleştirilmiştir. Çizik testi sonunda NIH-3T3 hücrelerinin 48 saat sonunda yaralı bölgeyi %100 kapattığı ispat edilmiştir.

Konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit iskele yapısı, hidrojelin gelişmiş mekanik özellikler sergilemesini ve kendi kendini iyileştirme özellikleri göstermesini sağlamıştır. Elde edilen ürün mekanik açıdan sağlam, yorulmaya karşı dirençli ve kayma-incelmesi özelliklerini gösteren enjekte edilebilir bir hidrojeldir. Bu jelatin/kappa-karagenan supramoleküler hidrojel yapının, kovalent çapraz bağlar genel şeklini korurken, zayıf geri dönüşümlü kovalent olmayan konak-konuk etkileşimleri, mekanik özelliklerini güçlendirmesi ve kırılma üzerine hızla kendi kendini iyileştirme özelliği kazandırmıştır. Bu tez çalışması, kendi kendini iyileştiren ve enjekte edilebilir ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin kombinasyonunun, iyileşmeyi yönetmek için büyük bir potansiyel olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, bulgularımız, sentezlenen konak-konuk supramoleküler ikili çapraz bağlı hibrit hidrojellerin, yara iyileştirme uygulamalarını gerçekleştirmek için umut vadettiğini göstermiştir.

Protein ve polisakkaritlerin kompozitlerine dayanan gelişmiş 3B hücre kültürü ve doku mühendisliği (DM) uygulamaları için ideal biyomalzemeler tasarlamak amacıyla üstesinden gelinmesi gereken bazı sınırlamalar ve zorluklar bulunmaktadır. Kolay hazırlama ve sterilizasyon teknolojilerine dayalı fizyolojik koşullarda istenen fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip hibrit biyomalzemelerin tasarımı, hassas ve ölçeklenebilir üretim süreçleri gerektirmektedir. Ayrıca, biyolojik ortamlarda ayarlanabilir bozunmaya sahip hibrit biyomalzemeler geliştirmek, biyomedikal uygulamalar için çok önemlidir. Protein yapılı jelatin, kollajenaz gibi çeşitli enzimler tarafından in-vivo olarak kolayca biyolojik olarak parçalanırken, polisakkarit bozunması daha zor olabilmektedir. Polisakkaritler tipik olarak biyouyumlu ve toksik olmamalarına rağmen, bozunma yan ürünlerinin biyouyumluluğunun tam olarak anlaşılması için özen gösterilmelidir. Gelecekte araştırmalar, ECM'deki glikoproteinlerin rolünü, ilişkili moleküler yolları ve kimyasını taklit etmek için jelatin-polisakkarit hibrit biyomalzemelerinin uygulamalarını genişletmeye çalışmalıdır. Bu hibrit hidrojeller, ayrı ayrı bileşenlerden elde edilmesi imkansız olan özellikler sağlayarak üstün performans gösteren malzeme sınıfları haline gelebilmektedirler. Bu kompozit sınıfının sinerjistik potansiyellerinin, iyi tanımlanmış özelliklere sahip doğal ve uygun maliyetli biyomalzemelere dayalı üstün hassas terapötiklerin geliştirilmesinin yolunu açacağı düşünülmektedir [20].

Doktora tez çalışması yurtdışı araştırmaları kapsamında oksijen üreten mikroparçacıkların başarılı sentezi sağlanmıştır ve karakterize edilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde oksijen üreten mikroparçacıkların küresel yapıda olduğu ve oksijen salımı gerçekleştirdiği için elementel haritalanmasında oksijen açığa çıkardığı tespit edilmiştir. Enerji Dağılımlı X-Işını spektroskopisinde mikroparçacıkların partikül boyut dağılımının 1-2 μm aralığında olduğu gösterilmiştir. Ayrıca CPO yüklü PCL mikroparçacıkların oksijen salım profilleri incelendiğinde, oksijen üretim oranının yaklaşık %3,7'lerde olduğu gösterilmiştir. Tüm bu elde edilen sonuçların literatürle uyumlu olduğu ve OÜM'lerin başarılı şekilde sentezlendiği ispat edilmiştir [321,322,372]. Canlı implantların vaskülarizasyonunu iyileştirmek için oksijen üreten mikro malzemelerden yararlanılabileceğini gösterilmiştir. Benzer şekilde sentezlenen ve yakın sonuçlar alınan OÜM'lerin in-vivo deneylerinde, tasarlanmış canlı dokuların kendi kendine oksijenlenmesinin, hızlı tam kalınlıkta vaskülarizasyonu güçlü bir şekilde yönettiğini ve uzun süreler boyunca in-vivo oksijen gerilimi üzerinde kontrol sağladığını ve böylece hem implantın hem de implantın davranışını metabolik olarak programlamak için bir yöntem sunduğunu gösterilmiştir [322].

Oksijen üreten doku iskelelerindeki mühendislik zorluklarından biri, dokulardaki oksijenin bölgesel dağılımıdır. Metabolik olarak daha aktif doku bileşenleri, yüksek miktarda oksijen gerektirmekte ve mevcut DM yaklaşımları, oksijen ihtiyaçlarını karşılamak için difüzyona dayanmaktadır. Bununla birlikte, bu yaklaşım, hedef dokunun yakınındaki metabolik olarak aktif bileşenleri yetersiz oksijenlendirebilmektedir. Bu, reaktif oksijen türleri (ROS)'da bir artışa neden olarak oksidatif strese ve hasara katkıda bulunmaktadır. ROS'un aşırı yüklenmesi, oksidatif hasara ek olarak normal sinyal yolları yoluyla apoptoz oranlarının ciddi şekilde artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Mevcut DM yaklaşımları, iskele içindeki oksijen dağılımının geçici kontrolünü sağlamak için reaksiyon kontrolünden yararlanmaktadır. Araştırmacılar, iskele içindeki oksijen salma mekanizmasını değiştirerek, herhangi bir noktada dokuya ne kadar oksijen dağıtılacağını düzenleyebilmekte ve oksijen verme süresini kısaltmak/uzatmak için reaksiyonu değiştirebilmektedir. DM uygulamalarında reaksiyon kontrolündeki zorluk, yapı iskelesindeki farklı konumlarda farklı oranlarda ilerlemek için oksijen salınım kinetiklerinin kontrol edilmesinde ortaya çıkmaktadır. Bu soruna olası bir çözüm, yapı iskelesindeki bir kısımda oksijen salım hızını değiştirmek için ne kadar katalizöre ihtiyaç duyulabileceğini hesaplamak ve bu miktarda katalizörü yapı iskelesi içindeki belirli bir kısma aşılamak olabilir [375,376].

DM terapileri canlı doku yapı iskeleleri oluşturma yeteneği göz önüne alındığında, organ nakli listesindeki bekleme süresini neredeyse ortadan kaldırma potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte, DM'nin klinik pratiğe dönüştürülmesinin önünde hala engeller bulunmaktadır; ana engel, tohumlanmış hücrelerin metabolik aktivitesini, çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlamak için doku yapı iskelelerinde bir oksijen kaynağına duyulan ihtiyaçtır. Araştırmacılar, oksijen üreten malzemelerin uygulanması ve salım kinetiklerinin kontrol edilmesi yoluyla bu sorunu çözebilirler [322,372,375,376]. Bu nedenle OÜM'ler, rejeneratif uygulamalar için klinik olarak boyutlandırılmış dokuların geliştirilmesine yönelik umut verici bir basamak taşı görevini oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

[1] E. Zeimaran, S. Pourshahrestani, A. Fathi, N.A. bin A. Razak, N.A. Kadri, A. Sheikhi, F. Baino, Advances in bioactive glass-containing injectable hydrogel biomaterials for tissue regeneration, Acta Biomater. 136 (2021) 1–36. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.09.034.

[2] J.H. Lee, Injectable hydrogels delivering therapeutic agents for disease treatment and tissue engineering, Biomater Res. 22 (2018) 1–14. https://doi.org/10.1186/s40824-018-0138-6.

[3] W. Qiu, H. Han, M. Li, N. Li, Q. Wang, X. Qin, X. Wang, J. Yu, Y. zhou, Y. Li, F. Li, D. Wu, Nanofibers reinforced injectable hydrogel with self-healing, antibacterial, and hemostatic properties for chronic wound healing, J Colloid Interface Sci. 596 (2021) 312–323. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.02.107.

[4] J. Li, F. Yu, G. Chen, J. Liu, X.L. Li, B. Cheng, X.M. Mo, C. Chen, J.F. Pan, Moist-Retaining, Self-Recoverable, Bioadhesive, and Transparent in Situ Forming Hydrogels to Accelerate Wound Healing, ACS Appl Mater Interfaces. 12 (2020) 2023–2038. https://doi.org/10.1021/acsami.9b17180.

[5] B. Fan, K. Zhang, Q. Liu, R. Eelkema, Self-Healing Injectable Polymer Hydrogel via Dynamic Thiol- Alkynone Double Addition Cross-Links, ACS Macro Lett. (2020) 776–780.

[6] Y. Xu, M.P. Gaillez, R. Rothe, S. Hauser, D. Voigt, J. Pietzsch, Y. Zhang, Conductive Hydrogels with Dynamic Reversible Networks for Biomedical Applications, 2100012 (2021). https://doi.org/10.1002/adhm.202100012.

[7] V. Yesilyurt, M.J. Webber, E.A. Appel, C. Godwin, R. Langer, D.G. Anderson, Injectable Self-Healing Glucose-Responsive Hydrogels with pH-Regulated Mechanical Properties, Advanced Materials. 28 (2016) 86–91. https://doi.org/10.1002/adma.201502902.

[8] S. Wang, M.W. Urban, Self-healing polymers, Nat Rev Mater. 5 (2020) 562–583. https://doi.org/doi.org/10.1038/s41578-020-0202-4.

[9] S. Uman, A. Dhand, J.A. Burdick, Recent advances in shear-thinning and self-healing hydrogels for biomedical applications, J Appl Polym Sci. 137 (2020) 1–20. https://doi.org/10.1002/app.48668.

[10] X. Zhou, Z. Luo, A. Baidya, H. jun Kim, C. Wang, X. Jiang, M. Qu, J. Zhu, L. Ren, F. Vajhadin, P. Tebon, N. Zhang, Y. Xue, Y. Feng, C. Xue, Y. Chen, K.J. Lee, J. Lee, S. Zhang, C. Xu, N. Ashammakhi, S. Ahadian, M.R. Dokmeci, Z. Gu, W. Sun, A. Khademhosseini, Biodegradable β-Cyclodextrin Conjugated Gelatin Methacryloyl Microneedle for Delivery of Water-Insoluble Drug, Adv Healthc Mater. 9 (2020) 1–12. https://doi.org/10.1002/adhm.202000527.

[11] M. Mohamadhoseini, Z. Mohamadnia, Supramolecular self-healing materials via host-guest strategy between cyclodextrin and specific types of guest molecules, Coord Chem Rev. 432 (2021). https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213711.

[12] W. Wang, R. Narain, H. Zeng, Rational design of self-healing tough hydrogels: A mini review, Front Chem. 6 (2018) 1–9. https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00497.

[13] X. Liu, Z. Ren, F. Liu, L. Zhao, Q. Ling, H. Gu, Multifunctional Self-Healing Dual Network Hydrogels Constructed via Host-Guest Interaction and Dynamic Covalent Bond as Wearable Strain Sensors for Monitoring Human and Organ Motions, ACS Appl Mater Interfaces. 13 (2021) 14612–14622. https://doi.org/10.1021/acsami.1c03213.

[14] S. Ullah, X. Chen, Fabrication, applications and challenges of natural biomaterials in tissue engineering, Appl Mater Today. 20 (2020). https://doi.org/10.1016/j.apmt.2020.100656.

[15] I. Lukin, I. Erezuma, L. Maeso, J. Zarate, M.F. Desimone, T.H. Al-Tel, A. Dolatshahi-Pirouz, G. Orive, Progress in Gelatin as Biomaterial for Tissue Engineering, Pharmaceutics. 2022 (2022) 1177. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061177.

[16] S.C. Wu, W.H. Chang, G.C. Dong, K.Y. Chen, Y.S. Chen, C.H. Yao, Cell adhesion and proliferation enhancement by gelatin nanofiber scaffolds, J Bioact Compat Polym. 26 (2011) 565–577. https://doi.org/10.1177/0883911511423563.

[17] C. Shi, W. Yuan, M. Khan, Q. Li, Y. Feng, F. Yao, W. Zhang, Hydrophilic PCU scaffolds prepared by grafting PEGMA and immobilizing gelatin to enhance cell adhesion and proliferation, Materials Science and Engineering C. 50 (2015) 201–209. https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.02.015.

[18] J. Lei, X. Li, S. Wang, L. Yuan, L. Ge, D. Li, C. Mu, Facile Fabrication of Biocompatible Gelatin-Based Self-Healing Hydrogels, ACS Appl Polym Mater. 1 (2019) 1350–1358. https://doi.org/10.1021/acsapm.9b00143.

[19] R. Rodríguez-Rodríguez, H. Espinosa-Andrews, C. Velasquillo-Martínez, Z.Y. García-Carvajal, Composite hydrogels based on gelatin, chitosan and polyvinyl alcohol to biomedical applications: a review, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials. 69 (2020) 1–20. https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1581780.

[20] S. Afewerki, A. Sheikhi, S. Kannan, S. Ahadian, A. Khademhosseini, Gelatin-polysaccharide composite scaffolds for 3D cell culture and tissue engineering: Towards natural therapeutics, Bioeng Transl Med. 4 (2019) 96–115. https://doi.org/10.1002/btm2.10124.

[21] Q. Feng, K. Wei, S. Lin, Z. Xu, Y. Sun, P. Shi, G. Li, L. Bian, Mechanically resilient, injectable, and bioadhesive supramolecular gelatin hydrogels crosslinked by weak host-guest interactions assist cell infiltration and in situ tissue regeneration, Biomaterials. 101 (2016) 217–228. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.05.043.

[22] J. Xu, Q. Feng, S. Lin, W. Yuan, R. Li, J. Li, K. Wei, X. Chen, K. Zhang, Y. Yang, T. Wu, B. Wang, M. Zhu, R. Guo, G. Li, L. Bian, Injectable stem cell-laden supramolecular hydrogels enhance in situ osteochondral regeneration via the sustained co-delivery of hydrophilic and hydrophobic chondrogenic molecules, Biomaterials. 210 (2019) 51–61. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.04.031.

[23] R. Yu, Y. Yang, J. He, M. Li, B. Guo, Novel supramolecular self-healing silk fibroin-based hydrogel via host–guest interaction as wound dressing to enhance wound healing, Chemical Engineering Journal. 417 (2021). https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128278.

[24] S. Naghieh, G. Lindberg, G. Chinga Carrasco, D.M. C Marques, J.C. Silva, A. Paula Serro, J.M. S Cabral, P. Sanjuan-Alberte, F.C. Ferreira, Citation: Marques, D 3D Bioprinting of Novel κ-Carrageenan Bioinks: An Algae-Derived Polysaccharide, (2022). https://doi.org/10.3390/bioengineering9030109.

[25] S.M. Mihaila, A.K. Gaharwar, R.L. Reis, A.P. Marques, M.E. Gomes, A. Khademhosseini, Photocrosslinkable kappa-carrageenan hydrogels for tissue engineering applications, Adv Healthc Mater. 2 (2013) 895–907. https://doi.org/10.1002/adhm.201200317.

[26] E.M. Pacheco-Quito, R. Ruiz-Caro, M.D. Veiga, Carrageenan: Drug delivery systems and other biomedical applications, Mar Drugs. 18 (2020). https://doi.org/10.3390/md18110583.

[27] S. Tarashi, H. Nazockdast, G. Sodeifian, Reinforcing effect of graphene oxide on mechanical properties, self-healing performance and recoverability of double network hydrogel based on κ-carrageenan and polyacrylamide, Polymer (Guildf). 183 (2019). https://doi.org/10.1016/j.polymer.2019.121837.

[28] Y. Deng, M. Huang, D. Sun, Y. Hou, Y. Li, T. Dong, X. Wang, L. Zhang, W. Yang, Dual Physically Cross-Linked κ-Carrageenan-Based Double Network Hydrogels with Superior Self-Healing Performance for Biomedical Application, ACS Appl Mater Interfaces. 10 (2018) 37544–37554. https://doi.org/10.1021/acsami.8b15385.

[29] Y. Guo, M. He, Y. Peng, Q. Zhang, L. Yan, X. Zan, κ-Carrageenan/poly(N-acryloyl glycinamide) double-network hydrogels with high strength, good self-recovery, and low cytotoxicity, J Mater Sci. 55 (2020) 9109–9118. https://doi.org/10.1007/s10853-020-04653-z.

[30] W. Lim, G.J. Kim, H.W. Kim, J. Lee, X. Zhang, M.G. Kang, J.W. Seo, J.M. Cha, H.J. Park, M.Y. Lee, S.R. Shin, S.Y. Shin, H. Bae, Kappa-carrageenan-based dual crosslinkable bioink for extrusion type bioprinting, Polymers (Basel). 12 (2020) 1–15. https://doi.org/10.3390/polym12102377.

[31] Z. Özbaş, G. Torkay, A. Bal-Öztürk, B. Özkahraman, Preparation of quercetin incorporated photocrosslinkable methacrylated gelatin/methacrylated kappa-carrageenan antioxidant hydrogel wound dressings, Chemical Papers. 76 (2022) 7597–7606. https://doi.org/10.1007/s11696-022-02426-3.

[32] U. Ijaz, M. Sohail, M.U. Minhas, S. Khan, Z. Hussain, M. Kazi, S.A. Shah, A. Mahmood, M. Maniruzzaman, Biofunctional Hyaluronic Acid/κ-Carrageenan Injectable Hydrogels for Improved Drug Delivery and Wound Healing, Polymers (Basel). 14 (2022). https://doi.org/10.3390/polym14030376.

[33] T. Khaliq, M. Sohail, M.U. Minhas, S. Ahmed Shah, N. Jabeen, S. Khan, Z. Hussain, A. Mahmood, M. Kousar, H. Rashid, Self-crosslinked chitosan/κ-carrageenan-based

biomimetic membranes to combat diabetic burn wound infections, Int J Biol Macromol. 197 (2022) 157–168. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.100.

[34] X. Gan, C. Li, J. Sun, X. Zhang, M. Zhou, Y. Deng, A. Xiao, GelMA/κ-carrageenan double-network hydrogels with superior mechanics and biocompatibility, RSC Adv. 13 (2023) 1558–1566. https://doi.org/10.1039/D2RA06101E.

[35] L. Zhao, Q. Zheng, Y. Liu, S. Wang, J. Wang, X. Liu, Enhanced strength and toughness of κ-carrageenan/polyacrylic acid physical double-network hydrogels by dual cross-linking of the first network, Eur Polym J. 124 (2020). https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109474.

[36] A. Khanna, M. Zamani, N.F. Huang, Extracellular matrix-based biomaterials for cardiovascular tissue engineering, J Cardiovasc Dev Dis. 8 (2021). https://doi.org/10.3390/jcdd8110137.

[37] Z. Li, Z. Lin, Recent advances in polysaccharide-based hydrogels for synthesis and applications, Aggregate. 2 (2021). https://doi.org/10.1002/agt2.21.

[38] W.H. Chen, Q.W. Chen, Q. Chen, C. Cui, S. Duan, Y. Kang, Y. Liu, Y. Liu, W. Muhammad, S. Shao, C. Tang, J. Wang, L. Wang, M.H. Xiong, L. Yin, K. Zhang, Z. Zhang, X. Zhen, J. Feng, C. Gao, Z. Gu, C. He, J. Ji, X. Jiang, W. Liu, Z. Liu, H. Peng, Y. Shen, L. Shi, X. Sun, H. Wang, J. Wang, H. Xiao, F.J. Xu, Z. Zhong, X.Z. Zhang, X. Chen, Biomedical polymers: synthesis, properties, and applications, Sci China Chem. 65 (2022) 1010–1075. https://doi.org/10.1007/s11426-022-1243-5.

[39] L. Zhang, C. Zhang, Z.N. Zhuang, C.X. Li, P. Pan, C. Zhang, X.Z. Zhang, Bio-inspired nanoenzyme for metabolic reprogramming and anti-inflammatory treatment of hyperuricemia and gout, Sci China Chem. 64 (2021) 616–628. https://doi.org/10.1007/s11426-020-9923-9.

[40] Z. Le, T. Xiao, Z. Liu, X. Liu, H. Liu, L. Liu, Y. Chen, Combinatorial synthesis of redox-responsive cationic polypeptoids for intracellular protein delivery application, Sci China Chem. 63 (2020) 1619–1625. https://doi.org/10.1007/s11426-020-9802-0.

[41] X. Chen, J. Li, Bioinspired by cell membranes: Functional polymeric materials for biomedical applications, Mater Chem Front. 4 (2020) 750–774. https://doi.org/10.1039/c9qm00717b.

[42] Meheta Datta, Kazi Madina Maraz, Naziza Rahman, Ruhul A. Khan, Application of polymer in biomedical implication, GSC Biological and Pharmaceutical Sciences. 14 (2021) 098–114. https://doi.org/10.30574/gscbps.2021.14.2.0038.

[43] V.B. Damodaran, D. Bhatnagar, N.S. Murthy, Biomedical polymers: An overview, in: SpringerBriefs in Applied Sciences and Technology, Springer Verlag, 2016: pp. 1–22. https://doi.org/10.1007/978-3-319-32053-3_1.

[44] N. Annabi, A. Tamayol, J.A. Uquillas, M. Akbari, L.E. Bertassoni, C. Cha, G. Camci-Unal, M.R. Dokmeci, N.A. Peppas, A. Khademhosseini, 25th anniversary article: Rational design and applications of hydrogels in regenerative medicine, Advanced Materials. 26 (2014) 85–124. https://doi.org/10.1002/adma.201303233.

[45] H. Tian, Z. Tang, X. Zhuang, X. Chen, X. Jing, Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application, Progress in Polymer Science (Oxford). 37 (2012) 237–280. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.004.

[46] M.C. Hacker, J. Krieghoff, A.G. Mikos, Synthetic Polymers, in: Principles of Regenerative Medicine, Elsevier, 2019: pp. 559–590. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00033-3.

[47] G.M. Raghavendra, K. Varaprasad, T. Jayaramudu, Biomaterials: Design, Development and Biomedical Applications, in: Nanotechnology Applications for Tissue Engineering, Elsevier Inc., 2015: pp. 21–44. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-32889-0.00002-9.

[48] P.A. Gunatillake, R. Adhikari, N. Gadegaard, Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering, Eur Cell Mater. 5 (2003) 1–16. https://doi.org/10.22203/eCM.v005a01.

[49] M.F. Maitz, Applications of synthetic polymers in clinical medicine, Biosurf Biotribol. 1 (2015) 161–176. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bsbt.2015.08.002.

[50] W.H. Chen, Q.W. Chen, Q. Chen, C. Cui, S. Duan, Y. Kang, Y. Liu, Y. Liu, W. Muhammad, S. Shao, C. Tang, J. Wang, L. Wang, M.H. Xiong, L. Yin, K. Zhang, Z. Zhang, X. Zhen, J. Feng, C. Gao, Z. Gu, C. He, J. Ji, X. Jiang, W. Liu, Z. Liu, H. Peng, Y. Shen, L. Shi, X. Sun, H. Wang, J. Wang, H. Xiao, F.J. Xu, Z. Zhong, X.Z. Zhang, X. Chen, Biomedical polymers: synthesis, properties, and applications, Sci China Chem. 65 (2022) 1010–1075. https://doi.org/10.1007/s11426-022-1243-5.

[51] I. ID, S. Er, J. T, H. A, K. WK, Applications of Polymers in the Biomedical Field, Curr Trends Biomed Eng Biosci. 4 (2017). https://doi.org/10.19080/ctbeb.2017.04.555650.

[52] O. Koçak, O. Eroğul, eds., "BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ VE UYGULAMALARI," 1st ed., EMO Yayın No: GY//2019/726, Ankara, 2019. http://www.ankara.emo.org.tr.

[53] M. Dziadek, E. Stodolak-Zych, K. Cholewa-Kowalska, Biodegradable ceramic-polymer composites for biomedical applications:A review, Materials Science and Engineering C. C (2017) 1175–1191. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.014.

[54] A. Ovsianikov, A. Khademhosseini, V. Mironov, The Synergy of Scaffold-Based and Scaffold-Free Tissue Engineering Strategies _ Elsevier Enhanced Reader, Trends Biotechnol. 36 (2018) 348–357. https://doi.org//10.1016/j.tibtech.2018.01.005.

[55] S.M. Riha, M. Maarof, M.B. Fauzi, Synergistic effect of biomaterial and stem cell for skin tissue engineering in cutaneous wound healing: A concise review, Polymers (Basel). 13 (2021). https://doi.org/10.3390/polym13101546.

[56] T. Zhu, J. Mao, Y. Cheng, H. Liu, L. Lv, M. Ge, S. Li, J. Huang, Z. Chen, H. Li, L. Yang, Y. Lai, Recent Progress of Polysaccharide-Based Hydrogel Interfaces for Wound Healing and Tissue Engineering, Adv Mater Interfaces. 6 (2019). https://doi.org/10.1002/admi.201900761.

[57] R. Langer, J.P. Vacanti, Tissue Engineering, Science (1979). 260 (1993) 920–926. https://doi.org/10.1126/science.8493529.

[58] X. Ren, M. Zhao, B. Lash, M.M. Martino, Z. Julier, Growth Factor Engineering Strategies for Regenerative Medicine Applications, Front Bioeng Biotechnol. 7 (2020). https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00469.

[59] Y. Ikada, Challenges in tissue engineering, J R Soc Interface. 3 (2006) 589–601. https://doi.org/10.1098/rsif.2006.0124.

[60] A.S. Mao, D.J. Mooney, Regenerative medicine: Current therapies and future directions, Proc Natl Acad Sci U S A. 112 (2015) 14452–14459. https://doi.org/10.1073/pnas.1508520112.

[61] R.S. Ambekar, B. Kandasubramanian, Progress in the Advancement of Porous Biopolymer Scaffold: Tissue Engineering Application, Industrial & Engineering Chemistry Research. 58 (2019) 6163–6194. https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b05334.

[62] H.D.N. Tran, K.D. Park, Y.C. Ching, C. Huynh, D.H. Nguyen, A comprehensive review on polymeric hydrogel and its composite: Matrices of choice for bone and cartilage tissue engineering, Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 89 (2020) 58–82. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2020.06.017.

[63] X. Ding, H. Zhao, Y. Li, A.L. Lee, Z. Li, M. Fu, C. Li, Y.Y. Yang, P. Yuan, Synthetic peptide hydrogels as 3D scaffolds for tissue engineering, Adv Drug Deliv Rev. 160 (2020) 78–104. https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.10.005.

[64] F. J. Vernerey, S. Bryant, The role of percolation in hydrogel-based tissue engineering and bioprinting, Curr Opin Biomed Eng. 15 (2020) 68–74. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.cobme.2020.01.005.

[65] P. Dorishetty, N.K. Dutta, N.R. Choudhury, Bioprintable tough hydrogels for tissue engineering applications, Adv Colloid Interface Sci. 281 (2020). https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102163.

[66] K. Lavanya, S. Viji Chandran, K. Balagangadharan, N. Selvamurugan, Temperature- and pH-responsive chitosan-based injectable hydrogels for bone tissue engineering, Materials Science & Engineering C. 111 (2020). https://doi.org/doi.org/10.1016/j.msec.2020.110862.

[67] D. Mehrotra, R. Dwivedi, D. Nandana, R.K. Singh, From injectable to 3D printed hydrogels in maxillofacial tissue engineering: A review, J Oral Biol Craniofac Res. 10 (2020) 680–689. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.jobcr.2020.09.006.

[68] E.M. Francisco, J. de O. Zoccolotti, O.T. Tiomnova, A.G. Tolaba, J.E.R. Chanfrau, J.H. Jorge, P. Basmaji, A.C. Guastaldi, Sterilization of scaffolds of calcium phosphates and bacterial cellulose for their use in tissue regeneration, Biointerface Res Appl Chem. 11 (2021) 10089–10098. https://doi.org/10.33263/BRIAC113.1008910098.

[69] D.M. Radulescu, I.A. Neacsu, A.M. Grumezescu, E. Andronescu, New Insights of Scaffolds Based on Hydrogels in Tissue Engineering, Polymers (Basel). 14 (2022). https://doi.org/10.3390/polym14040799.

[70] K. Almdal, J. Dyre, S. Hvidt, O. Kramer, Towards a Phenomenological Definition of the Term "Gel," 1993.

[71] P.J. Flory, Introductory lecture, Faraday Discuss Chem Soc. 57 (1974) 7–18. https://doi.org/10.1039/DC9745700007.

[72] S.R. Raghavan, J.F. Douglas, The conundrum of gel formation by molecular nanofibers, wormlike micelles, and filamentous proteins: Gelation without cross-links?, Soft Matter. 8 (2012) 8539–8546. https://doi.org/10.1039/c2sm25107h.

[73] K. Ito, Slide-ring materials using topological supramolecular architecture, Curr Opin Solid State Mater Sci. 14 (2010) 28–34. https://doi.org/10.1016/j.cossms.2009.08.005.

[74] D.A. Sánchez-Téllez, L. Téllez-Jurado, L.M. Rodríguez-Lorenzo, Hydrogels for cartilage regeneration, from polysaccharides to hybrids, Polymers (Basel). 9 (2017) 1–32. https://doi.org/10.3390/polym9120671.

[75] S. Mehrotra, B.A.G. de Melo, M. Hirano, W. Keung, R.A. Li, B.B. Mandal, S.R. Shin, Nonmulberry Silk Based Ink for Fabricating Mechanically Robust Cardiac Patches and Endothelialized Myocardium-on-a-Chip Application, Adv Funct Mater. 30 (2020). https://doi.org/10.1002/adfm.201907436.

[76] Y.A. Jodat, M.G. Kang, K. Kiaee, G.J. Kim, A.F.H. Martinez, A. Rosenkranz, H. Bae, S.R. Shin, Human-Derived Organ-on-a-Chip for Personalized Drug Development, Curr Pharm Des. 24 (2019) 5471–5486. https://doi.org/10.2174/1381612825666190308150055.

[77] J.R. Clegg, A.M. Wagner, S.R. Shin, S. Hassan, A. Khademhosseini, N.A. Peppas, Modular fabrication of intelligent material-tissue interfaces for bioinspired and biomimetic devices, Prog Mater Sci. 106 (2019). https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2019.100589.

[78] T. Zheng, P. Pour Shahid Saeed Abadi, J. Seo, B.H. Cha, B. Miccoli, Y.C. Li, K. Park, S. Park, S.J. Choi, R. Bayaniahangar, D. Zhang, S.H. Lee, C.K. Lee, A. Khademhosseini, S.R. Shin, Biocompatible Carbon Nanotube-Based Hybrid Microfiber for Implantable Electrochemical Actuator and Flexible Electronic Applications, ACS Appl Mater Interfaces. 11 (2019) 20615–20627. https://doi.org/10.1021/acsami.9b02927.

[79] L. Ionov, Hydrogel-based actuators: Possibilities and limitations, Materials Today. 17 (2014) 494–503. https://doi.org/10.1016/j.mattod.2014.07.002.

[80] A. Cavallaro, S. Taheri, K. Vasilev, Responsive and "smart" antibacterial surfaces: Common approaches and new developments (Review), Biointerphases. 9 (2014) 029005. https://doi.org/10.1116/1.4866697.

[81] Campoccia Davide, Montanaro Lucio, Renata Arciola Carla, A review of the biomaterials technologies for infection-resistant surfaces, Biomaterials. 34 (2013) 8533–8554. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.07.089.

[82] C. Ghobril, M.W. Grinstaff, The chemistry and engineering of polymeric hydrogel adhesives for wound closure: A tutorial, Chem Soc Rev. 44 (2015) 1820–1835. https://doi.org/10.1039/c4cs00332b.

[83] M. Madaghiele, C. Demitri, A. Sannino, L. Ambrosio, Polymeric hydrogels for burn wound care: Advanced skin wound dressings and regenerative templates, Burns Trauma. 2 (2014) 153–161. https://doi.org/10.4103/2321-3868.143616.

[84] C.S. Russell, A. Mostafavi, J.P. Quint, A.C. Panayi, K. Baldino, T.J. Williams, J.G. Daubendiek, V. Hugo Sánchez, Z. Bonick, M. Trujillo-Miranda, S.R. Shin, O. Pourquie, S. Salehi, I. Sinha, A. Tamayol, In Situ Printing of Adhesive Hydrogel Scaffolds for the Treatment of Skeletal Muscle Injuries, ACS Appl Bio Mater. 3 (2020) 1568–1579. https://doi.org/10.1021/acsabm.9b01176.

[85] K. Kabiri, H. Omidian, M.J. Zohuriaan-Mehr, S. Doroudiani, Superabsorbent hydrogel composites and nanocomposites: A review, Polym Compos. 32 (2011) 277–289. https://doi.org/10.1002/pc.21046.

[86] R.M. Olabisi, Cell microencapsulation with synthetic polymers, J Biomed Mater Res A. 103 (2015) 846–859. https://doi.org/10.1002/jbm.a.35205.

[87] C.J. Kearney, D.J. Mooney, Macroscale delivery systems for molecular and cellular payloads REVIEW ARTICLES | INSIGHT, (2013). https://doi.org/10.1038/NMATXXXX.

[88] C. Alvarez-Lorenzo, S. Anguiano-Igea, A. Varela-García, M. Vivero-Lopez, A. Concheiro, Bioinspired hydrogels for drug-eluting contact lenses, Acta Biomater. 84 (2019) 49–62. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.11.020.

[89] Jodat Yasamin A., Shin Su Ryon, Functional carbon-based nanomaterials for engineered tissues toward organ regeneration, Biomaterials for Organ and Tissue Regeneration. (2020) 529–550. https://doi.org/doi.org/10.1016/B978-0-08-102906-0.00021-0.

[90] R. Samanipour, T. Wang, M. Werb, H. Hassannezhad, J.M.L. Rangel, M. Hoorfar, A. Hasan, C.K. Lee, S.R. Shin, Ferritin Nanocage Conjugated Hybrid Hydrogel for Tissue Engineering and Drug Delivery Applications, ACS Biomater Sci Eng. 6 (2020) 277–287. https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b01482.

[91] E.A. Martins, Y.M. Michelacci, R.Y. Baccarin, B. Cogliati, L. CLC Silva, Evaluation of chitosan-GP hydrogel biocompatibility in osteochondral defects: an experimental approach, 2014. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_.

[92] H. Kazusa, T. Nakasa, H. Shibuya, S. Ohkawa, G. Kamei, N. Adachi, M. Deie, N. Nakajima, S.H. Hyon, M. Ochi, Strong adhesiveness of a new biodegradable hydrogel glue, LYDEX, for use on articular cartilage, J Appl Biomater Funct Mater. 11 (2013) 180–186. https://doi.org/10.5301/JABFM.5000164.

[93] T. Mesallati, C.T. Buckley, D.J. Kelly, Engineering Articular Cartilage-Like Grafts by Self-Assembly of Infrapatellar Fat Pad-Derived Stem Cells, Biotechnol. Bioeng. 111 (2014) 1686–1698. https://doi.org/10.1002/bit.25213/abstract.

[94] S. Bhat, L. Lidgren, A. Kumar, In Vitro Neo-Cartilage Formation on a Three-Dimensional Composite Polymeric Cryogel Matrix, Macromol Biosci. 13 (2013) 827–837. https://doi.org/10.1002/mabi.201200484.

[95] C. Foss, E. Merzari, C. Migliaresi, A. Motta, Silk fibroin/hyaluronic acid 3D matrices for cartilage tissue engineering, Biomacromolecules. 14 (2013) 38–47. https://doi.org/10.1021/bm301174x.

[96] K. W.M. Boere, J. Visser, H. Seyednejad, S. Rahimian, D. Gawlitta, M. J. van Steenbergen, W. J.A.Dhert, W. E. Hennink, T. Vermonden, J. Malda, Covalent attachment of a three-dimensionally printed thermoplast to a gelatin hydrogel for mechanically enhanced cartilage constructs, Acta Biomater. 10 (2014) 2602–2611. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.02.041.

[97] P.A. Parmar, L.W. Chow, J.P. St-Pierre, C.M. Horejs, Y.Y. Peng, J.A. Werkmeister, J.A.M. Ramshaw, M.M. Stevens, Collagen-mimetic peptide-modifiable hydrogels for articular cartilage regeneration, Biomaterials. 54 (2015) 213–225. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.02.079.

[98] M.A. Omobono, X. Zhao, M.A. Furlong, C.H. Kwon, T.J. Gill, M.A. Randolph, R.W. Redmond, Enhancing the stiffness of collagen hydrogels for delivery of encapsulated chondrocytes to articular lesions for cartilage regeneration, J Biomed Mater Res A. 103 (2015) 1332–1338. https://doi.org/10.1002/jbm.a.35266.

[99] I.C. Liao, F.T. Moutos, B.T. Estes, X. Zhao, F. Guilak, Composite three-dimensional woven scaffolds with interpenetrating network hydrogels to create functional synthetic articular cartilage, Adv Funct Mater. 23 (2013) 5833–5839. https://doi.org/10.1002/adfm.201300483.

[100] E. Antonioli, A. O. Lobo, M. Ferretti, M. Cohen, F. R. Marciano, E. J. Corat, V. J. Trava-Airoldi, An evaluation of chondrocyte morphology and gene expression on superhydrophilic vertically-aligned multi-walled carbon nanotube films, Materials Science and Engineering C. 33 (2013) 641–647. https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.10.010.

[101] M. Liu, Y. Ishida, Y. Ebina, T. Sasaki, T. Hikima, M. Takata, T. Aida, An anisotropic hydrogel with electrostatic repulsion between cofacially aligned nanosheets, Nature. 517 (2015) 68–72. https://doi.org/10.1038/nature14060.

[102] G. Leone, A. Bidini, S. Lamponi, A. Magnani, States of water, surface and rheological characterisation of a new biohydrogel as articular cartilage substitute, Polym Adv Technol. 24 (2013) 824–833. https://doi.org/10.1002/pat.3150.

[103] Z. Drira, V. K. Yadavalli, Nanomechanical measurements of polyethylene glycol hydrogels using atomic force microscopy, J Mech Behav Biomed Mater. 18 (2013) 20–28. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2012.09.015.

[104] S. Ronken, D. Wirz, A.U. Daniels, T. Kurokawa, J.P. Gong, M.P. Arnold, Double-network acrylamide hydrogel compositions adapted to achieve cartilage-like dynamic stiffness, Biomech Model Mechanobiol. 12 (2013) 243–248. https://doi.org/10.1007/s10237-012-0395-6.

[105] T.N. Snyder, K. Madhavan, M. Intrator, R.C. Dregalla, D. Park, A fibrin/hyaluronic acid hydrogel for the delivery of mesenchymal stem cells and potential for articular cartilage repair, 2014. https://doi.org/10.1186/1754-1611-8-10.

[106] M. Ahearne, Y. Liu, D.J. Kelly, Combining Freshly Isolated Chondroprogenitor Cells from the Infrapatellar Fat Pad with a Growth Factor Delivery Hydrogel as a Putative Single Stage Therapy for Articular Cartilage Repair, Tissue Eng Part A. 20 (2014) 930–939. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0267.

[107] T. Murakami, N. Sakai, T. Yamaguchi, S. Yarimitsu, K. Nakashima, Y. Sawae, A. Suzuki, Evaluation of a superior lubrication mechanism with biphasic hydrogels for artificial cartilage, Tribol Int. 89 (2015) 19–26. https://doi.org/10.1016/j.triboint.2014.12.013.

[108] K. Chen, D. Zhang, X. Cui, Q. Wang, Research on swing friction lubrication mechanisms and the fluid load support characteristics of PVA–HA composite hydrogel, Tribol Int. 90 (2015) 412–419. https://doi.org/10.1016/j.triboint.2015.05.002.

[109] D. Baykal, R.J. Underwood, K. Mansmann, M. Marcolongo, S.M. Kurtz, Evaluation of friction properties of hydrogels based on a biphasic cartilage model, J Mech Behav Biomed Mater. 28 (2013) 263–273. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2013.07.022.

[110] C. Wei Chiang, W. Chuan Chen, H. Wei Liu, C. Hwa Chen, Application of Synovial Fluid Mesenchymal Stem Cells_ Platelet-rich Plasma Hydrogel for Focal Cartilage Defect, J Exp Clin Med. 6 (2014) 118–124. https://doi.org/10.1016/j.jecm.2014.06.007.

[111] L. Rackwitz, F. Djouad, S. Janjanin, U. Nöth, R.S. Tuan, Functional cartilage repair capacity of de-differentiated, chondrocyte- and mesenchymal stem cell-laden hydrogels in vitro, 2014. https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.05.019.

[112] S. Ponnurangam, G.D. O'Connell, I. V. Chernyshova, K. Wood, C.T.H. Hung, P. Somasundaran, Beneficial effects of cerium oxide nanoparticles in development of chondrocyte-seeded hydrogel constructs and cellular response to interleukin insults, Tissue Eng Part A. 20 (2014) 2908–2919. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0592.

[113] P. Smeriglio, J.H. Lai, L. Dhulipala, A.W. Behn, S.B. Goodman, R.L. Smith, W.J. Maloney, F. Yang, N. Bhutani, Comparative potential of juvenile and adult human articular chondrocytes for cartilage tissue formation in three-dimensional biomimetic hydrogels, Tissue Eng Part A. 21 (2015) 147–155. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2014.0070.

[114] B. Choi, S. Kim, J. Fan, T. Kowalski, F. Petrigliano, D. Evseenko, M. Lee, Covalently conjugated transforming growth factor-β1 in modular chitosan hydrogels for the effective treatment of articular cartilage defects, Biomater Sci. 3 (2015) 742–752. https://doi.org/10.1039/c4bm00431k.

[115] D. Seol, M.J. Magnetta, P.S. Ramakrishnan, G.L. Kurriger, H. Choe, K. Jang, J.A. Martin, T.-H. Lim, Biocompatibility and preclinical feasibility tests of a temperature-sensitive hydrogel for the purpose of surgical wound pain control and cartilage repair, J Biomed Mater Res B Appl Biomater. (2013) n/a-n/a. https://doi.org/10.1002/jbmb.32981.

[116] A. Petit, M. Sandker, B. Müller, R. Meyboom, P. van Midwoud, P. Bruin, E. M. Redout, M. Versluijs-Helder, C. H.A. van der Lest, S. J. Buwalda, L. G.J. de Leede, T. Vermonden, R. Jan Kok, H. Weinans, W. E. Hennink, Release behavior and intra-articular biocompatibility of celecoxib-loaded acetyl-capped PCLA-PEG-PCLA thermogels, Biomaterials. 35 (2014) 7919–7928. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.05.064.

[117] S. Yodmuang, S.L. McNamara, A.B. Nover, B.B. Mandal, M. Agarwal, T.A.N. Kelly, P.H.G. Chao, C. Hung, D.L. Kaplan, G. Vunjak-Novakovic, Silk microfiber-reinforced silk hydrogel composites for functional cartilage tissue repair, Acta Biomater. 11 (2015) 27–36. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.09.032.

[118] R. S.-C.Su, Y. Kima, J. C.Liu, Resilin_ Protein-based elastomeric biomaterials, Acta Biomater. 10 (2014) 1601–1611.

[119] C.Y. Kuo, C.H. Chen, C.Y. Hsiao, J.P. Chen, Incorporation of chitosan in biomimetic gelatin/chondroitin-6-sulfate/hyaluronan cryogel for cartilage tissue engineering, Carbohydr Polym. 117 (2015) 722–730. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.056.

[120] L. Zhao, H.J. Gwon, Y.M. Lim, Y.C. Nho, S.Y. Kim, Hyaluronic acid/chondroitin sulfate-based hydrogel prepared by gamma irradiation technique, Carbohydr Polym. 102 (2014) 598–605. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.048.

[121] Y. Ni, Z. Tang, W. Cao, H. Lin, Y. Fan, L. Guo, X. Zhang, Tough and elastic hydrogel of hyaluronic acid and chondroitin sulfate as potential cell scaffold materials, Int J Biol Macromol. 74 (2015) 367–375. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.058.

[122] A. Dev, S.J. Mohanbhai, A.C. Kushwaha, A. Sood, M.N. Sardoiwala, S.R. Choudhury, S. Karmakar, κ-carrageenan-C-phycocyanin based smart injectable hydrogels for accelerated wound recovery and real-time monitoring, Acta Biomater. 109 (2020) 121–131. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.03.023.

[123] N. Pettinelli, S. Rodríguez-Llamazares, R. Bouza, L. Barral, S. Feijoo-Bandín, F. Lago, Carrageenan-based physically crosslinked injectable hydrogel for wound healing and tissue repairing applications, Int J Pharm. 589 (2020). https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119828.

[124] S. Tavakoli, M. Kharaziha, A. Kermanpur, H. Mokhtari, Sprayable and injectable visible-light Kappa-carrageenan hydrogel for in-situ soft tissue engineering, Int J Biol Macromol. 138 (2019) 590–601. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.126.

[125] T. Matsuzaki, T. Matsushita, Y. Tabata, T. Saito, T. Matsumoto, K. Nagai, R. Kuroda, M. Kurosaka, Intra-articular administration of gelatin hydrogels incorporating rapamycin-micelles reduces the development of experimental osteoarthritis in a murine

model, Biomaterials. 35 (2014) 9904–9911. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.08.041.

[126] J. Sun, H. Tan, Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications, Materials. 6 (2013) 1285–1309. https://doi.org/10.3390/ma6041285.

[127] D.A. Bichara, H. Bodugoz-Sentruk, D. Ling, E. Malchau, C.R. Bragdon, O.K. Muratoglu, Osteochondral defect repair using a polyvinyl alcohol-polyacrylic acid (PVA-PAAc) hydrogel, Biomedical Materials (Bristol). 9 (2014). https://doi.org/10.1088/1748-6041/9/4/045012.

[128] H.Y. Yang, R.J. Van Ee, K. Timmer, E.G.M. Craenmehr, J.H. Huang, F.C. Öner, W.J.A. Dhert, A.H.M. Kragten, N. Willems, G.C.M. Grinwis, M.A. Tryfonidou, N.E. Papen-Botterhuis, L.B. Creemers, A novel injectable thermoresponsive and cytocompatible gel of poly(N-isopropylacrylamide) with layered double hydroxides facilitates siRNA delivery into chondrocytes in 3D culture, Acta Biomater. 23 (2015) 214–228. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.05.018.

[129] R. Yadav, K. Balasubramanian, Polyacrylonitrile/Syzygium aromaticum hierarchical hydrophilic nanocomposite as a carrier for antibacterial drug delivery systems, RSC Adv. 5 (2015) 3291–3298. https://doi.org/10.1039/c4ra12755b.

[130] R. Yadav, K. Balasubramanian, Bioabsorbable Engineered Nanobiomaterials for Antibacterial Therapy, in: Engineering of Nanobiomaterials: Applications of Nanobiomaterials, Elsevier Inc., 2016: pp. 77–117. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-41532-3.00003-8.

[131] C.B. Rodell, J.E. Mealy, J.A. Burdick, Supramolecular Guest-Host Interactions for the Preparation of Biomedical Materials, Bioconjug Chem. 26 (2015) 2279–2289. https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00483.

[132] Y. Li, J. Rodrigues, H. Tomás, Injectable and biodegradable hydrogels: Gelation, biodegradation and biomedical applications, Chem Soc Rev. 41 (2012) 2193–2221. https://doi.org/10.1039/c1cs15203c.

[133] J. Li, G. Chen, X. Xu, P. Abdou, Q. Jiang, D. Shi, Z. Gu, Advances of injectable hydrogel-based scaffolds for cartilage regeneration, Regen Biomater. 6 (2019) 129–140. https://doi.org/10.1093/rb/rbz022.

[134] M. Guvendiren, H.D. Lu, J.A. Burdick, Shear-thinning hydrogels for biomedical applications, Soft Matter. 8 (2012) 260–272. https://doi.org/10.1039/c1sm06513k.

[135] P. Bertsch, M. Diba, D.J. Mooney, S.C.G. Leeuwenburgh, Self-Healing Injectable Hydrogels for Tissue Regeneration, Chem Rev. (2022). https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00179.

[136] H. Zhou, C. Liang, Z. Wei, Y. Bai, S.B. Bhaduri, T.J. Webster, L. Bian, L. Yang, Injectable biomaterials for translational medicine, Materials Today. 28 (2019) 81–97. https://doi.org/10.1016/j.mattod.2019.04.020.

[137] E. Çelik, C. Bayram, E.B. Denkbaş, Chondrogenesis of human mesenchymal stem cells by microRNA loaded triple polysaccharide nanoparticle system, Materials Science & Engineering C. 102 (2019) 756–763. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.msec.2019.05.006.

[138] M. Luo, M. Wang, W. Niu, M. Chen, W. Cheng, L. Zhang, C. Xie, Y. Wang, Y. Guo, T. Leng, X. Zhang, C. Lin, B. Lei, Injectable self-healing anti-inflammatory europium oxide-based dressing with high angiogenesis for improving wound healing and skin regeneration, Chemical Engineering Journal. 412 (2021). https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.128471.

[139] D.R. Griffin, W.M. Weaver, P.O. Scumpia, D. Di Carlo, T. Segura, Accelerated wound healing by injectable microporous gel scaffolds assembled from annealed building blocks, Nat Mater. 14 (2015) 737–744. https://doi.org/10.1038/nmat4294.

[140] Y. Liang, X. Zhao, T. Hu, B. Chen, Z. Yin, P.X. Ma, B. Guo, Adhesive Hemostatic Conducting Injectable Composite Hydrogels with Sustained Drug Release and Photothermal Antibacterial Activity to Promote Full-Thickness Skin Regeneration During Wound Healing, Small. 15 (2019). https://doi.org/10.1002/smll.201900046.

[141] X. Wang, Z. Wang, S. Fang, Y. Hou, X. Du, Y. Xie, Q. Xue, X. Zhou, X. Yuan, Injectable Ag nanoclusters-based hydrogel for wound healing via eliminating bacterial infection and promoting tissue regeneration, Chemical Engineering Journal. 420 (2021). https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.127589.

[142] Y. Liang, X. Zhao, T. Hu, B. Chen, Z. Yin, P.X. Ma, B. Guo, Adhesive Hemostatic Conducting Injectable Composite Hydrogels with Sustained Drug Release and Photothermal Antibacterial Activity to Promote Full-Thickness Skin Regeneration During Wound Healing, Small. 15 (2019). https://doi.org/10.1002/smll.201900046.

[143] K. Lewandowska, A. Sionkowska, S. Grabska, B. Kaczmarek, M. Michalska, The miscibility of collagen/hyaluronic acid/chitosan blends investigated in dilute solutions and solids, J Mol Liq. 220 (2016) 726–730. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.molliq.2016.05.009.

[144] U. Ijaz, M. Sohail, M.U. Minhas, S. Khan, Z. Hussain, M. Kazi, S.A. Shah, A. Mahmood, M. Maniruzzaman, Biofunctional Hyaluronic Acid/κ-Carrageenan Injectable Hydrogels for Improved Drug Delivery and Wound Healing, Polymers (Basel). 14 (2022). https://doi.org/10.3390/polym14030376.

[145] C.B. Rodell, A.L. Kaminski, J.A. Burdick, Rational design of network properties in guest-host assembled and shear-thinning hyaluronic acid hydrogels, Biomacromolecules. 14 (2013) 4125–4134. https://doi.org/10.1021/bm401280z.

[146] X. Ding, Y. Wang, Weak bond-based injectable and stimuli responsive hydrogels for biomedical applications, J Mater Chem B. 5 (2017) 887–906. https://doi.org/10.1039/c6tb03052a.

[147] K.M. Galler, L. Aulisa, K.R. Regan, R.N. D'Souza, J.D. Hartgerink, Self-assembling multidomain peptide hydrogels: Designed susceptibility to enzymatic cleavage allows

enhanced cell migration and spreading, J Am Chem Soc. 132 (2010) 3217–3223. https://doi.org/10.1021/ja910481t.

[148] A.K. Gaharwar, R.K. Avery, A. Assmann, A. Paul, G.H. McKinley, A. Khademhosseini, B.D. Olsen, Shear-thinning nanocomposite hydrogels for the treatment of hemorrhage, ACS Nano. 8 (2014) 9833–9842. https://doi.org/10.1021/nn503719n.

[149] S. Hou, X. Wang, S. Park, X. Jin, P.X. Ma, Rapid Self-Integrating, Injectable Hydrogel for Tissue Complex Regeneration, Adv Healthc Mater. 4 (2015) 1491–1495. https://doi.org/10.1002/adhm.201500093.

[150] A. Phadkea, C. Zhanga, B. Armanb, C.-C. Hsuc, R. A. Mashelkard, A. K. Leled, M. J. Tauberc, G. Aryab, S. Varghese, Rapid self-healing hydrogels, Proc Natl Acad Sci U S A. 109 (2012) 4383–4388. https://doi.org/10.1073/pnas.1201122109/-/DCSupplemental.

[151] P.Y.W. Dankers, T.M. Hermans, T.W. Baughman, Y. Kamikawa, R.E. Kieltyka, M.M.C. Bastings, H.M. Janssen, N.A.J.M. Sommerdijk, A. Larsen, M.J.A. Van Luyn, A.W. Bosman, E.R. Popa, G. Fytas, E.W. Meijer, Hierarchical formation of supramolecular transient networks in water: A modular injectable delivery system, Advanced Materials. 24 (2012) 2703–2709. https://doi.org/10.1002/adma.201104072.

[152] B.D. Olsen, J.A. Kornfield, D.A. Tirrell, Yielding behavior in injectable hydrogels from telechelic proteins, Macromolecules. 43 (2010) 9094–9099. https://doi.org/10.1021/ma101434a.

[153] L. Cai, R.E. Dewi, S.C. Heilshorn, Injectable hydrogels with in situ double network formation enhance retention of transplanted stem cells, Adv Funct Mater. 25 (2015) 1344–1351. https://doi.org/10.1002/adfm.201403631.

[154] Y. Wang, L. Li, Y. Kotsuchibashi, S. Vshyvenko, Y. Liu, D. Hall, H. Zeng, R. Narain, Self-Healing and Injectable Shear Thinning Hydrogels Based on Dynamic Oxaborole-Diol Covalent Cross-Linking, ACS Biomater Sci Eng. 2 (2016) 2315–2323. https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.6b00527.

[155] R. Dong, X. Zhao, B. Guo, P.X. Ma, Self-Healing Conductive Injectable Hydrogels with Antibacterial Activity as Cell Delivery Carrier for Cardiac Cell Therapy, ACS Appl Mater Interfaces. 8 (2016) 17138–17150. https://doi.org/10.1021/acsami.6b04911.

[156] H. Chu, J. Gao, C.W. Chen, J. Huard, Y. Wang, Injectable fibroblast growth factor-2 coacervate for persistent angiogenesis, Proc Natl Acad Sci U S A. 108 (2011) 13444–13449. https://doi.org/10.1073/pnas.1110121108.

[157] C. Loebel, C.B. Rodell, M.H. Chen, J.A. Burdick, Shear-thinning and self-healing hydrogels as injectable therapeutics and for 3D-printing, Nat Protoc. 12 (2017) 1521–1541. https://doi.org/10.1038/nprot.2017.053.

[158] Q. Feng, K. Wei, S. Lin, Z. Xu, Y. Sun, P. Shi, G. Li, L. Bian, Mechanically resilient, injectable, and bioadhesive supramolecular gelatin hydrogels crosslinked by weak host-guest interactions assist cell infiltration and in situ tissue regeneration, Biomaterials. 101 (2016) 217–228. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.05.043.

[159] C.B. Highley, C.B. Rodell, J.A. Burdick, Direct 3D Printing of Shear-Thinning Hydrogels into Self-Healing Hydrogels, Advanced Materials. 27 (2015) 5075–5079. https://doi.org/10.1002/adma.201501234.

[160] J.E. Mealy, J.J. Chung, H.H. Jeong, D. Issadore, D. Lee, P. Atluri, J.A. Burdick, Injectable Granular Hydrogels with Multifunctional Properties for Biomedical Applications, Advanced Materials. 30 (2018). https://doi.org/10.1002/adma.201705912.

[161] C. Wang, H. Yue, Q. Feng, B. Xu, L. Bian, P. Shi, Injectable Nanoreinforced Shape-Memory Hydrogel System for Regenerating Spinal Cord Tissue from Traumatic Injury, ACS Appl Mater Interfaces. 10 (2018) 29299–29307. https://doi.org/10.1021/acsami.8b08929.

[162] A. Harada, J. Li, M. Kamachi, Double-stranded inclusion complexes of cyclodextrin threaded on poly(ethylene glycol), Nature. 370 (1994) 126–128.

[163] R.K. Avery, H. Albadawi, M. Akbari, S. Yu Zhang, M.J. Duggan, D. V Sahani, B.D. Olsen, A. Khademhosseini, R. Oklu, An injectable shear-thinning biomaterial for endovascular embolization, 2016. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aah5533.

[164] H. Cui, J. Shao, Y. Wang, P. Zhang, X. Chen, Y. Wei, PLA-PEG-PLA and its electroactive tetraaniline copolymer as multi-interactive injectable hydrogels for tissue engineering, Biomacromolecules. 14 (2013) 1904–1912. https://doi.org/10.1021/bm4002766.

[165] L. Shi, H. Carstensen, K. Hölzl, M. Lunzer, H. Li, J. Hilborn, A. Ovsianikov, D.A. Ossipov, Dynamic Coordination Chemistry Enables Free Directional Printing of Biopolymer Hydrogel, Chemistry of Materials. 29 (2017) 5816–5823. https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.7b00128.

[166] K. Zhang, Q. Feng, J. Xu, X. Xu, F. Tian, K.W.K. Yeung, L. Bian, Self-Assembled Injectable Nanocomposite Hydrogels Stabilized by Bisphosphonate-Magnesium (Mg2+) Coordination Regulates the Differentiation of Encapsulated Stem Cells via Dual Crosslinking, Adv Funct Mater. 27 (2017). https://doi.org/10.1002/adfm.201701642.

[167] G. Chen, M. Jiang, Cyclodextrin-based inclusion complexation bridging supramolecular chemistry and macromolecular self-assembly, Chem Soc Rev. 40 (2011) 2254–2266. https://doi.org/10.1039/c0cs00153h.

[168] C.B. Rodell, A.L. Kaminski, J.A. Burdick, Rational design of network properties in guest-host assembled and shear-thinning hyaluronic acid hydrogels, Biomacromolecules. 14 (2013) 4125–4134. https://doi.org/10.1021/bm401280z.

[169] S. Soltani, R. Emadi, S.H. Javanmard, M. Kharaziha, A. Rahmati, V.K. Thakur, S. Lotfian, Development of an Injectable Shear-Thinning Nanocomposite Hydrogel for Cardiac Tissue Engineering, Gels. 8 (2022). https://doi.org/10.3390/gels8020121.

[170] S. Strandman, X.X. Zhu, Self-Healing Supramolecular Hydrogels Based on Reversible Physical Interactions, Gels. 2 (2016) 16. https://doi.org/10.3390/gels2020016.

[171] C. Bao, Y.J. Jiang, H. Zhang, X. Lu, J. Sun, Room-Temperature Self-Healing and Recyclable Tough Polymer Composites Using Nitrogen-Coordinated Boroxines, Adv Funct Mater. 28 (2018). https://doi.org/10.1002/adfm.201800560.

[172] H. Wang, S.C. Heilshorn, Adaptable Hydrogel Networks with Reversible Linkages for Tissue Engineering, Advanced Materials. 27 (2015) 3717–3736. https://doi.org/10.1002/adma.201501558.

[173] X. Sun, S. Agate, K.S. Salem, L. Lucia, L. Pal, Hydrogel-Based Sensor Networks: Compositions, Properties, and Applications - A Review, ACS Appl Bio Mater. 4 (2021) 140–162. https://doi.org/10.1021/acsabm.0c01011.

[174] Dhanjai, A. Sinha, P.K. Kalambate, S.M. Mugo, P. Kamau, J. Chen, R. Jain, Polymer hydrogel interfaces in electrochemical sensing strategies: A review, TrAC Trends in Analytical Chemistry. 118 (2019) 488–501. https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2019.06.014.

[175] Z. Deng, H. Wang, P.X. Ma, B. Guo, Self-healing conductive hydrogels: Preparation, properties and applications, Nanoscale. 12 (2020) 1224–1246. https://doi.org/10.1039/c9nr09283h.

[176] Y. Fang, X. Du, Z. Du, H. Wang, X. Cheng, Light- and heat-triggered polyurethane based on dihydroxyl anthracene derivatives for self-healing applications, J Mater Chem A Mater. 5 (2017) 8010–8017. https://doi.org/10.1039/c7ta00871f.

[177] Y. Yang, L. Xu, J. Wang, Q. Meng, S. Zhong, Y. Gao, X. Cui, Recent advances in polysaccharide-based self-healing hydrogels for biomedical applications, Carbohydr Polym. 283 (2022). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119161.

[178] Y. Liu, C.-W. Wong, S.-W. Chang, S. Hsu, An injectable, self-healing phenol-functionalized chitosan hydrogel with fast gelling property and visible light-crosslinking capability for 3D printing, Acta Biomater. 122 (2021) 211–219.

[179] S. Liu, L. Li, Ultrastretchable and Self-Healing Double-Network Hydrogel for 3D Printing and Strain Sensor, ACS Appl Mater Interfaces. 9 (2017) 26429–26437. https://doi.org/10.1021/acsami.7b07445.

[180] Q. Wang, S. Jamal, M.S. Detamore, C. Berkland, PLGA-chitosan/PLGA-alginate nanoparticle blends as biodegradable colloidal gels for seeding human umbilical cord mesenchymal stem cells, J Biomed Mater Res A. 96 A (2011) 520–527. https://doi.org/10.1002/jbm.a.33000.

[181] Y. Kim, D. Jeong, V.V. Shinde, Y. Hu, C. Kim, S. Jung, Azobenzene-grafted carboxymethyl cellulose hydrogels with photo-switchable, reduction-responsive and self-healing properties for a controlled drug release system, Int J Biol Macromol. 163 (2020) 824–832. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.071.

[182] C. Boyer, L. Figueiredo, R. Pace, J. Lesoeur, T. Rouillon, C. Le Visage, J.F. Tassin, P. Weiss, J. Guicheux, G. Rethore, Laponite nanoparticle-associated silated hydroxypropylmethyl cellulose as an injectable reinforced interpenetrating network

hydrogel for cartilage tissue engineering, Acta Biomater. 65 (2018) 112–122. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.11.027.

[183] H. Chen, J. Cheng, L. Ran, K. Yu, B. Lu, G. Lan, F. Dai, F. Lu, An injectable self-healing hydrogel with adhesive and antibacterial properties effectively promotes wound healing, Carbohydr Polym. 201 (2018) 522–531. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.090.

[184] A. Hassan, N.M. Sorour, A. El-Baz, Y. Shetaia, Simple synthesis of bacterial cellulose/magnetite nanoparticles composite for the removal of antimony from aqueous solution, International Journal of Environmental Science and Technology. 16 (2019) 1433–1448. https://doi.org/10.1007/s13762-018-1737-4.

[185] I.A. Farion, V.F. Burdukovskii, B.C. Kholkhoev, P.S. Timashev, R.K. Chailakhyan, Functionalization of chitosan with carboxylic acids and derivatives of them: Synthesis issues and prospects of practical use: A review, Express Polym Lett. 12 (2018) 1081–1105. https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2018.95.

[186] H. Hamedi, S. Moradi, S.M. Hudson, A.E. Tonelli, Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review, Carbohydr Polym. 199 (2018) 445–460. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.114.

[187] M. Krogsgaard, V. Nue, H. Birkedal, Mussel-Inspired Materials: Self-Healing through Coordination Chemistry, Chemistry - A European Journal. 22 (2016) 844–857. https://doi.org/10.1002/chem.201503380.

[188] H. Li, P. Yang, P. Pageni, C. Tang, Recent Advances in Metal-Containing Polymer Hydrogels, Macromol Rapid Commun. 38 (2017). https://doi.org/10.1002/marc.201700109.

[189] J. Jin, L. Cai, Y.G. Jia, S. Liu, Y. Chen, L. Ren, Progress in self-healing hydrogels assembled by host-guest interactions: Preparation and biomedical applications, J Mater Chem B. 7 (2019) 1637–1651. https://doi.org/10.1039/c8tb02547a.

[190] X. Jiang, F. Zeng, X. Yang, C. Jian, L. Zhang, A. Yu, A. Lu, Injectable self-healing cellulose hydrogel based on host-guest interactions and acylhydrazone bonds for sustained cancer therapy, Acta Biomater. 141 (2022) 102–113. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.actbio.2021.12.036.

[191] S. Talebian, M. Mehrali, N. Taebnia, C.P. Pennisi, F.B. Kadumudi, J. Foroughi, M. Hasany, M. Nikkhah, M. Akbari, G. Orive, A. Dolatshahi-Pirouz, Self-Healing Hydrogels: The Next Paradigm Shift in Tissue Engineering?, Advanced Science. 6 (2019). https://doi.org/10.1002/advs.201801664.

[192] Z. Lei, Q. Wang, S. Sun, W. Zhu, P. Wu, A Bioinspired Mineral Hydrogel as a Self-Healable, Mechanically Adaptable Ionic Skin for Highly Sensitive Pressure Sensing, Advanced Materials. 29 (2017). https://doi.org/10.1002/adma.201700321.

[193] X. Ye, X. Li, Y. Shen, G. Chang, J. Yang, Z. Gu, Self-healing pH-sensitive cytosine- and guanosine-modified hyaluronic acid hydrogels via hydrogen bonding, Polymer (Guildf). 108 (2017) 348–360. https://doi.org/10.1016/j.polymer.2016.11.063.

[194] M. Nakahata, Y. Takashima, A. Harada, Highly Flexible, Tough, and Self-Healing Supramolecular Polymeric Materials Using Host-Guest Interaction, Macromol Rapid Commun. 37 (2016) 86–92. https://doi.org/10.1002/marc.201500473.

[195] L. Han, X. Lu, M. Wang, D. Gan, W. Deng, K. Wang, L. Fang, K. Liu, C.W. Chan, Y. Tang, L.T. Weng, H. Yuan, A Mussel-Inspired Conductive, Self-Adhesive, and Self-Healable Tough Hydrogel as Cell Stimulators and Implantable Bioelectronics, Small. 13 (2017). https://doi.org/10.1002/smll.201601916.

[196] L. Li, B. Yan, J. Yang, L. Chen, H. Zeng, Novel mussel-inspired injectable self-healing hydrogel with anti-biofouling property, Advanced Materials. 27 (2015) 1294–1299. https://doi.org/10.1002/adma.201405166.

[197] S.R. Caliari, J.A. Burdick, A practical guide to hydrogels for cell culture, 2016.

[198] F. Ding, S. Wu, S. Wang, Y. Xiong, Y. Li, B. Li, H. Deng, Y. Du, L. Xiao, X. Shi, A dynamic and self-crosslinked polysaccharide hydrogel with autonomous self-healing ability, Soft Matter. 11 (2015) 3971–3976. https://doi.org/10.1039/c5sm00587f.

[199] Z. Wei, J.H. Yang, Z.Q. Liu, F. Xu, J.X. Zhou, M. Zrínyi, Y. Osada, Y.M. Chen, Novel biocompatible polysaccharide-based self-healing hydrogel, Adv Funct Mater. 25 (2015) 1352–1359. https://doi.org/10.1002/adfm.201401502.

[200] Z.Q. Lei, H.P. Xiang, Y.J. Yuan, M.Z. Rong, M.Q. Zhang, Room-temperature self-healable and remoldable cross-linked polymer based on the dynamic exchange of disulfide bonds, Chemistry of Materials. 26 (2014) 2038–2046. https://doi.org/10.1021/cm4040616.

[201] J. N. Cambre, B. S. Sumerlin, Biomedical applications of boronic acid polymers, Polymer (Guildf). 52 (2011) 4631–4643. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.polymer.2011.07.057.

[202] R. Ma, L. Shi, Phenylboronic acid-based glucose-responsive polymeric nanoparticles: Synthesis and applications in drug delivery, Polym Chem. 5 (2014) 1503–1518. https://doi.org/10.1039/c3py01202f.

[203] K. Buaksuntear, P. Limarun, S. Suethao, W. Smitthipong, Non-Covalent Interaction on the Self-Healing of Mechanical Properties in Supramolecular Polymers, Int J Mol Sci. 23 (2022). https://doi.org/10.3390/ijms23136902.

[204] T. Kakuta, Y. Takashima, M. Nakahata, M. Otsubo, H. Yamaguchi, A. Harada, Preorganized hydrogel: Self-healing properties of supramolecular hydrogels formed by polymerization of host-guest-monomers that contain cyclodextrins and hydrophobic guest groups, Advanced Materials. 25 (2013) 2849–2853. https://doi.org/10.1002/adma.201205321.

[205] T. Kakuta, Y. Takashima, M. Nakahata, M. Otsubo, H. Yamaguchi, A. Harada, Preorganized hydrogel: Self-healing properties of supramolecular hydrogels formed by polymerization of host-guest-monomers that contain cyclodextrins and hydrophobic guest groups, Advanced Materials. 25 (2013) 2849–2853. https://doi.org/10.1002/adma.201205321.

[206] K. Miyamae, M. Nakahata, Y. Takashima, A. Harada, Self-Healing, Expansion-Contraction, and Shape-Memory Properties of a Preorganized Supramolecular Hydrogel through Host-Guest Interactions, Angewandte Chemie. 127 (2015) 9112–9115. https://doi.org/10.1002/ange.201502957.

[207] J.R. McKee, E.A. Appel, J. Seitsonen, E. Kontturi, O.A. Scherman, O. Ikkala, Healable, stable and stiff hydrogels: Combining conflicting properties using dynamic and selective three-component recognition with reinforcing cellulose nanorods, Adv Funct Mater. 24 (2014) 2706–2713. https://doi.org/10.1002/adfm.201303699.

[208] U. Gulyuz, O. Okay, Self-healing poly(acrylic acid) hydrogels with shape memory behavior of high mechanical strength, Macromolecules. 47 (2014) 6889–6899. https://doi.org/10.1021/ma5015116.

[209] R.S. Jacob, D. Ghosh, P.K. Singh, S.K. Basu, N.N. Jha, S. Das, P.K. Sukul, S. Patil, S. Sathaye, A. Kumar, A. Chowdhury, S. Malik, S. Sen, S.K. Maji, Self healing hydrogels composed of amyloid nano fibrils for cell culture and stem cell differentiation, Biomaterials. 54 (2015) 97–105. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.03.002.

[210] N. Annabi, S.M. Mithieux, P. Zorlutuna, G. Camci-Unal, A.S. Weiss, A. Khademhosseini, Engineered cell-laden human protein-based elastomer, Biomaterials. 34 (2013) 5496–5505. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.03.076.

[211] S. Tan, K. Ladewig, Q. Fu, A. Blencowe, G.G. Qiao, Cyclodextrin-based supramolecular assemblies and hydrogels: Recent advances and future perspectives, Macromol Rapid Commun. 35 (2014) 1166–1184. https://doi.org/10.1002/marc.201400080.

[212] O. Chaudhuri, Viscoelastic hydrogels for 3D cell culture, Biomater Sci. 5 (2017) 1480–1490. https://doi.org/10.1039/c7bm00261k.

[213] J.X. Chen, L.J. Cao, Y. Shi, P. Wang, J.H. Chen, In situ supramolecular hydrogel based on hyaluronic acid and dextran derivatives as cell scaffold, J Biomed Mater Res A. 104 (2016) 2263–2270. https://doi.org/10.1002/jbm.a.35747.

[214] H. Cui, L. Cui, P. Zhang, Y. Huang, Y. Wei, X. Chen, In situ electroactive and antioxidant supramolecular hydrogel based on cyclodextrin/copolymer inclusion for tissue engineering repair, Macromol Biosci. 14 (2014) 440–450. https://doi.org/10.1002/mabi.201300366.

[215] Q. Da Hu, G.P. Tang, P.K. Chu, Cyclodextrin-based host-guest supramolecular nanoparticles for delivery: From design to applications, Acc Chem Res. 47 (2014) 2017–2025. https://doi.org/10.1021/ar500055s.

[216] J. Liu, W.E. Hennink, M.J. Van Steenbergen, R. Zhuo, X. Jiang, Versatile Supramolecular Gene Vector Based on Host-Guest Interaction, Bioconjug Chem. 27 (2016) 1143–1152. https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00094.

[217] U.S. Food and Drug Administration (2004) Gras notice no. Grn 000155: Alphacyclodextrin., 2004. http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/default.htm.

[218] C. Stoffelen, J. Huskens, Soft Supramolecular Nanoparticles by Noncovalent and Host-Guest Interactions, Small. 12 (2016) 96–119. https://doi.org/10.1002/smll.201501348.

[219] C.B. Rodell, R.J. Wade, B.P. Purcell, N.N. Dusaj, J.A. Burdick, Selective Proteolytic Degradation of Guest-Host Assembled, Injectable Hyaluronic Acid Hydrogels, ACS Biomater Sci Eng. 1 (2015) 277–286. https://doi.org/10.1021/ab5001673.

[220] T. Miao, S.L. Fenn, P.N. Charron, R.A. Oldinski, Self-Healing and Thermoresponsive Dual-Cross-Linked Alginate Hydrogels Based on Supramolecular Inclusion Complexes, Biomacromolecules. 16 (2015) 3740–3750. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b00940.

[221] T. Cai, S. Huo, T. Wang, W. Sun, Z. Tong, Self-healable tough supramolecular hydrogels crosslinked by poly-cyclodextrin through host-guest interaction, Carbohydr Polym. 193 (2018) 54–61. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.039.

[222] M. Kharaziha, M. Nikkhah, S.R. Shin, N. Annabi, N. Masoumi, A.K. Gaharwar, G. Camci-Unal, A. Khademhosseini, PGS:Gelatin nanofibrous scaffolds with tunable mechanical and structural properties for engineering cardiac tissues, Biomaterials. 34 (2013) 6355–6366. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.04.045.

[223] K. Cheng, A. Blusztajn, D. Shen, T.S. Li, B. Sun, G. Galang, T.I. Zarembinski, G.D. Prestwich, E. Marbán, R.R. Smith, L. Marbán, Functional performance of human cardiosphere-derived cells delivered in an in situ polymerizable hyaluronan-gelatin hydrogel, Biomaterials. 33 (2012) 5317–5324. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.04.006.

[224] A. Duconseille, T. Astruc, N. Quintana, F. Meersman, V. Sante-Lhoutellier, Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review, Food Hydrocoll. 43 (2015) 360–376. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.06.006.

[225] J. Visser, D. Gawlitta, K.E.M. Benders, S.M.H. Toma, B. Pouran, P.R. van Weeren, W.J.A. Dhert, J. Malda, Endochondral bone formation in gelatin methacrylamide hydrogel with embedded cartilage-derived matrix particles, Biomaterials. 37 (2015) 174–182. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.10.020.

[226] Y.C. Chen, R.Z. Lin, H. Qi, Y. Yang, H. Bae, J.M. Melero-Martin, A. Khademhosseini, Functional human vascular network generated in photocrosslinkable gelatin methacrylate hydrogels, Adv Funct Mater. 22 (2012) 2027–2039. https://doi.org/10.1002/adfm.201101662.

[227] R.Z. Lin, Y.C. Chen, R. Moreno-Luna, A. Khademhosseini, J.M. Melero-Martin, Transdermal regulation of vascular network bioengineering using aphotopolymerizable methacrylated gelatin hydrogel, Biomaterials. 34 (2013) 6785–6796. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.060.

[228] M. Nikkhah, N. Eshak, P. Zorlutuna, N. Annabi, M. Castello, K. Kim, A. Dolatshahi-Pirouz, F. Edalat, H. Bae, Y. Yang, A. Khademhosseini, Directed endothelial cell morphogenesis in micropatterned gelatin methacrylate hydrogels, Biomaterials. 33 (2012) 9009–9018. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.08.068.

[229] N.A. Peppas, Y. Huang, M. Torres-Lugo, J.H. Ward, J. Zhang, PHYSICOCHEMICAL FOUNDATIONS AND STRUCTURAL DESIGN OF HYDROGELS IN MEDICINE AND BIOLOGY, 2000. https://doi.org/doi.org/10.1146/annurev.bioeng.2.1.9.

[230] G. Jiao, G. Yu, J. Zhang, H.S. Ewart, Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae, Mar Drugs. 9 (2011) 196–233. https://doi.org/10.3390/md9020196.

[231] J. Necas, L. Bartosikova, Carrageenan: a review, 2013. https://doi.org/doi.org/10.17221/6758-VETMED.

[232] E.G. Popa, S.G. Caridade, J.F. Mano, R.L. Reis, M.E. Gomes, Chondrogenic potential of injectableκ-carrageenan hydrogel with encapsulated adipose stem cells for cartilage tissue-engineering applications, J Tissue Eng Regen Med. 9 (2015) 550–563. https://doi.org/10.1002/term.1683.

[233] M.R. Mangione, D. Giacomazza, D. Bulone, V. Martorana, G. Cavallaro, P.L. San Biagio, K + and Na + effects on the gelation properties of κ-Carrageenan, Biophys Chem. 113 (2005) 129–135. https://doi.org/10.1016/j.bpc.2004.08.005.

[234] W.E. Hennink, C.F. Van Nostrum, Novel crosslinking methods to design hydrogels, 2002. www.elsevier.com/locate/drugdeliv.

[235] R. Thakur, B. Saberi, P. Pristijono, J. Golding, C. Stathopoulos, C. Scarlett, M. Bowyer, Q. Vuong, Characterization of rice starch-ι-carrageenan biodegradable edible film. Effect of stearic acid on the film properties, Int J Biol Macromol. 93 (2016) 952–960. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.053.

[236] A. Bartkowiak, D. Hunkeler, Carrageenan-oligochitosan microcapsules: optimization of the formation process, 2001. www.elsevier.nl/locate/colsurfb.

[237] R.C. Pereira, M. Scaranari, P. Castagnola, M. Grandizio, H.S. Azevedo, R.L. Reis, R. Cancedda, C. Gentili, Novel injectable gel (system) as a vehicle for human articular chondrocytes in cartilage tissue regeneration, J Tissue Eng Regen Med. 3 (2009) 97–106. https://doi.org/10.1002/term.145.

[238] E.G. Popa, M.E. Gomes, R.L. Reis, Cell delivery systems using alginate-carrageenan hydrogel beads and fibers for regenerative medicine applications, Biomacromolecules. 12 (2011) 3952–3961. https://doi.org/10.1021/bm200965x.

[239] D.F. Coutinho, S. V. Sant, H. Shin, J.T. Oliveira, M.E. Gomes, N.M. Neves, A. Khademhosseini, R.L. Reis, Modified Gellan Gum hydrogels with tunable physical and mechanical properties, Biomaterials. 31 (2010) 7494–7502. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.06.035.

[240] H. Mokhtari, S. Tavakoli, F. Safarpour, M. Kharaziha, H. Reza Bakhsheshi-Rad, S. Ramakrishna, F. Berto, Recent Advances in Chemically-Modified and Hybrid Carrageenan-Based Platforms for Drug Delivery, Wound Healing, and Tissue Engineering, Polymers (Basel). 13 (2021) 1744. https://doi.org/10.3390/polym13111744.

[241] G.T. İlhan, G. Irmak, M. Gümüşderelioğlu, Microwave assisted methacrylation of Kappa carrageenan: A bioink for cartilage tissue engineering, Int J Biol Macromol. 164 (2020) 3523–3534. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.241.

[242] H. Mokhtari, M. Kharaziha, F. Karimzadeh, S. Tavakoli, An injectable mechanically robust hydrogel of Kappa-carrageenan-dopamine functionalized graphene oxide for promoting cell growth, Carbohydr Polym. 214 (2019) 234–249. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.030.

[243] W. Mineo, K. Nishinari, EFFECT OF DE-ESTERIFICATION ON THE RHEOLOGICAL PROPERTIES OF K-CARRAGEENAN GELS, 1982. https://doi.org/doi.org/10.1111/j.1745-4603.1981.tb00260.x.

[244] L.Y.C. Madruga, R.M. Sabino, E.C.G. Santos, K.C. Popat, R. de C. Balaban, M.J. Kipper, Carboxymethyl-kappa-carrageenan: A study of biocompatibility, antioxidant and antibacterial activities, Int J Biol Macromol. 152 (2020) 483–491. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.274.

[245] F. Tang, F. Chen, F. Li, Preparation and potential in vivo anti-influenza virus activity of low molecular-weight κ-carrageenans and their derivatives, J Appl Polym Sci. 127 (2013) 2110–2115. https://doi.org/10.1002/app.37502.

[246] G.C. dos Santos-Fidencio, A.G. Gonçalves, M.D. Noseda, M.E.R. Duarte, D.R.B. Ducatti, Effects of carboxyl group on the anticoagulant activity of oxidized carrageenans, Carbohydr Polym. 214 (2019) 286–293. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.057.

[247] H. Mokhtari, M. Kharaziha, F. Karimzadeh, S. Tavakoli, An injectable mechanically robust hydrogel of Kappa-carrageenan-dopamine functionalized graphene oxide for promoting cell growth, Carbohydr Polym. 214 (2019) 234–249. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.030.

[248] R.L. Alexa, H. Iovu, J. Ghitman, A. Serafim, C. Stavarache, M.M. Marin, R. Ianchis, 3D-printed gelatin methacryloyl-based scaffolds with potential application in tissue engineering, Polymers (Basel). 13 (2021) 1–17. https://doi.org/10.3390/polym13050727.

[249] H. Radhouani, S. Correia, C. Gonçalves, R.L. Reis, J.M. Oliveira, Synthesis and characterization of biocompatible methacrylated kefiran hydrogels: Towards tissue engineering applications, Polymers (Basel). 13 (2021). https://doi.org/10.3390/polym13081342.

[250] M.L. Amin, D. Mawad, S. Dokos, P. Koshy, P.J. Martens, C.C. Sorrell, Fucoidan- and carrageenan-based biosynthetic poly(vinyl alcohol) hydrogels for controlled permeation, Materials Science and Engineering C. 121 (2021). https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111821.

[251] S. Tavakoli, H. Mokhtari, M. Kharaziha, A. Kermanpur, A. Talebi, J. Moshtaghian, A multifunctional nanocomposite spray dressing of Kappa-carrageenan-polydopamine modified ZnO/L-glutamic acid for diabetic wounds, Materials Science and Engineering C. 111 (2020). https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110837.

[252] H.C. Yu, C.Y. Li, M. Du, Y. Song, Z.L. Wu, Q. Zheng, Improved Toughness and Stability of κ-Carrageenan/Polyacrylamide Double-Network Hydrogels by Dual Cross-Linking of the First Network, Macromolecules. 52 (2019) 629–638. https://doi.org/10.1021/acs.macromol.8b02269.

[253] L. Tytgat, L. Van Damme, M. del P. Ortega Arevalo, H. Declercq, H. Thienpont, H. Otteveare, P. Blondeel, P. Dubruel, S. Van Vlierberghe, Extrusion-based 3D printing of photo-crosslinkable gelatin and κ-carrageenan hydrogel blends for adipose tissue regeneration, Int J Biol Macromol. 140 (2019) 929–938. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.124.

[254] N.A. Peppas, J.Z. Hilt, A. Khademhosseini, R. Langer, Hydrogels in biology and medicine: From molecular principles to bionanotechnology, Advanced Materials. 18 (2006) 1345–1360. https://doi.org/10.1002/adma.200501612.

[255] I. Noshadi, S. Hong, K.E. Sullivan, E. Shirzaei Sani, R. Portillo-Lara, A. Tamayol, S.R. Shin, A.E. Gao, W.L. Stoppel, L.D. Black, A. Khademhosseini, N. Annabi, In vitro and in vivo analysis of visible light crosslinkable gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels, Biomater Sci. 5 (2017) 2093–2105. https://doi.org/10.1039/c7bm00110j.

[256] J. Guo, H. Zhang, C. Li, L. Zang, J. Luo, In situ synthesis of poly(methyl methacrylate)/SiO 2 hybrid nanocomposites via grafting onto strategy based on UV irradiation in the presence of iron aqueous solution, J Nanomater. 2012 (2012). https://doi.org/10.1155/2012/217412.

[257] R. Yegappan, V. Selvaprithiviraj, S. Amirthalingam, R. Jayakumar, Carrageenan based hydrogels for drug delivery, tissue engineering and wound healing, Carbohydr Polym. 198 (2018) 385–400. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.086.

[258] Y. Wang, S. Zhang, J. Wang, Photo-crosslinkable hydrogel and its biological applications, Chinese Chemical Letters. 32 (2021) 1603–1614. https://doi.org/10.1016/j.cclet.2020.11.073.

[259] M. Shirai, Photocrosslinkable polymers with degradable properties, Polym J. 46 (2014) 859–865. https://doi.org/10.1038/pj.2014.79.

[260] R. Pantani, L.S. Turng, Manufacturing of advanced biodegradable polymeric components, J Appl Polym Sci. 132 (2015). https://doi.org/10.1002/app.42889.

[261] I. Lukin, I. Erezuma, L. Maeso, J. Zarate, M.F. Desimone, T.H. Al-Tel, A. Dolatshahi-Pirouz, G. Orive, Progress in Gelatin as Biomaterial for Tissue Engineering, Pharmaceutics. 14 (2022). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061177.

[262] A.B. Bello, D. Kim, D. Kim, H. Park, S.H. Lee, Engineering and functionalization of gelatin biomaterials: From cell culture to medical applications, Tissue Eng Part B Rev. 26 (2020) 164–180. https://doi.org/10.1089/ten.teb.2019.0256.

[263] G. A.De Ruiter, B. Rudolph, Carrageenan biotechnology, Trends Food Sci Technol. 8 (1997) 389–395. https://doi.org/doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01091-1.

[264] O. Tari, S. Kara, Ö. Pekcan, Critical exponents of kappa carrageenan in the coil-helix and helix-coil hysteresis loops, Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics. 48 (2009) 812–822. https://doi.org/10.1080/00222340902956129.

[265] A. Thakur, M.K. Jaiswal, C.W. Peak, J.K. Carrow, J. Gentry, A. Dolatshahi-Pirouz, A.K. Gaharwar, Injectable shear-thinning nanoengineered hydrogels for stem cell delivery, Nanoscale. 8 (2016) 12362–12372. https://doi.org/10.1039/c6nr02299e.

[266] S.C.C.C. Miranda, G.A.B. Silva, R.C.R. Hell, M.D. Martins, J.B. Alves, A.M. Goes, Three-dimensional culture of rat BMMSCs in a porous chitosan-gelatin scaffold_ A promising association for bone tissue engineering in oral reconstruction, Arch Oral Biol. 56 (2011) 1–15. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.08.018.

[267] D. Singh, A. Tripathi, S.M. Zo, D. Singh, S.S. Han, Synthesis of composite gelatin-hyaluronic acid-alginate porous scaffold and evaluation for in vitro stem cell growth and in vivo tissue integration, Colloids Surf B Biointerfaces. 116 (2014) 502–509. https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2014.01.049.

[268] D. Loessner, C. Meinert, E. Kaemmerer, L.C. Martine, K. Yue, P.A. Levett, T.J. Klein, F.P.W. Melchels, A. Khademhosseini, D.W. Hutmacher, Functionalization, preparation and use of cell-laden gelatin methacryloyl-based hydrogels as modular tissue culture platforms, Nat Protoc. 11 (2016) 727–746. https://doi.org/10.1038/nprot.2016.037.

[269] J. Ho, C. Walsh, D. Yue, A. Dardik, U. Cheema, Current Advancements and Strategies in Tissue Engineering for Wound Healing: A Comprehensive Review, Adv Wound Care (New Rochelle). 6 (2017) 191–209. https://doi.org/10.1089/wound.2016.0723.

[270] A. Oryan, S. Sahvieh, Effectiveness of chitosan scaffold in skin, bone and cartilage healing, Effectiveness of Chitosan Scaffold in Skin, Bone and Cartilage Healing. 104 (2017) 1003–1011. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.124.

[271] D. Santos Masson-Meyers, L. Tayebi, Vascularization strategies in tissue engineering approaches for soft tissue repair, J Tissue Eng Regen Med. 15 (2021) 747–762. https://doi.org/10.1002/term.3225.

[272] E.M. Ahmed, Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review, J Adv Res. 6 (2015) 105–121. https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006.

[273] X. Zhang, M. Qin, M. Xu, F. Miao, C. Merzougui, X. Zhang, Y. Wei, W. Chen, D. Huang, The fabrication of antibacterial hydrogels for wound healing, Eur Polym J. 146 (2021). https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110268.

[274] L.P. Da Silva, R.L. Reis, V.M. Correlo, A.P. Marques, Hydrogel-Based Strategies to Advance Therapies for Chronic Skin Wounds, Annu. Rev. Biomed. Eng. 21 (2019) 179. https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-060418.

[275] M. Kharaziha, A. Baidya, N. Annabi, Rational Design of Immunomodulatory Hydrogels for Chronic Wound Healing, Advanced Materials. 33 (2021). https://doi.org/10.1002/adma.202100176.

[276] N. Asadi, H. Pazoki-Toroudi, A.R. Del Bakhshayesh, A. Akbarzadeh, S. Davaran, N. Annabi, Multifunctional hydrogels for wound healing: Special focus on biomacromolecular based hydrogels, Int J Biol Macromol. 170 (2021) 728–750. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.202.

[277] Z. Xu, S. Han, Z. Gu, J. Wu, Advances and Impact of Antioxidant Hydrogel in Chronic Wound Healing, Adv Healthc Mater. 9 (2020). https://doi.org/10.1002/adhm.201901502.

[278] Y. Liang, Y. Liang, H. Zhang, B. Guo, Antibacterial biomaterials for skin wound dressing, Asian J Pharm Sci. 17 (2022) 353–384. https://doi.org/10.1016/j.ajps.2022.01.001.

[279] M.D. Brand, The sites and topology of mitochondrial superoxide production, Exp Gerontol. 45 (2010) 466–472. https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.01.003.

[280] C. Han, J. Li, P. Jin, X. Li, L. Wang, Y. Zheng, The effect of temperature on phenolic content in wounded carrots, Food Chem. 215 (2017) 116–123. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.172.

[281] A. Costa, A. Scholer-Dahirel, F. Mechta-Grigoriou, The role of reactive oxygen species and metabolism on cancer cells and their microenvironment, Semin Cancer Biol. 25 (2014) 23–32. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2013.12.007.

[282] Y. Mikhed, A. Görlach, U.G. Knaus, A. Daiber, Redox regulation of genome stability by effects on gene expression, epigenetic pathways and DNA damage/repair, Redox Biol. 5 (2015) 275–289. https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.05.008.

[283] H. Zhang, H. Zhao, M.A. Khan, W. Zou, J. Xu, L. Zhang, J. Zhang, Recent progress in advanced electrode materials, separators and electrolytes for lithium batteries, J Mater Chem A Mater. 6 (2018) 20564–20620. https://doi.org/10.1039/C8TA05336G.

[284] J. Ning, H. Zhao, B. Chen, E.Z. Mi, Z. Yang, W. Qing, K.W. Joyce Lam, B. Yi, Q. Chen, J. Gu, T. Ichim, V. Bogin, K. Lu, D. Ma, Argon mitigates impaired wound healing process and enhances wound healing in vitro and in vivo, Theranostics. 9 (2019) 477–490. https://doi.org/10.7150/thno.29361.

[285] S. Baik, H.J. Lee, D.W. Kim, J.W. Kim, Y. Lee, C. Pang, Bioinspired Adhesive Architectures: From Skin Patch to Integrated Bioelectronics, Advanced Materials. 31 (2019). https://doi.org/10.1002/adma.201803309.

[286] M.K. Kwak, H.E. Jeong, K.Y. Suh, Rational design and enhanced biocompatibility of a dry adhesive medical skin patch, Advanced Materials. 23 (2011) 3949–3953. https://doi.org/10.1002/adma.201101694.

[287] W. Yang, V.R. Sherman, B. Gludovatz, E. Schaible, P. Stewart, R.O. Ritchie, M.A. Meyers, On the tear resistance of skin, Nat Commun. 6 (2015). https://doi.org/10.1038/ncomms7649.

[288] S.P. Miguel, A.F. Moreira, I.J. Correia, Chitosan based-asymmetric membranes for wound healing: A review, Int J Biol Macromol. 127 (2019) 460–475. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.072.

[289] J.H. Ryu, S. Hong, H. Lee, Bio-inspired adhesive catechol-conjugated chitosan for biomedical applications: A mini review, Acta Biomater. 27 (2015) 101–115. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.08.043.

[290] S.O. Blacklow, J. Li, B.R. Freedman, M. Zeidi, C. Chen, D.J. Mooney, Bioinspired mechanically active adhesive dressings to accelerate wound closure, 2019. https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw3963.

[291] T. Chen, Y. Chen, H.U. Rehman, Z. Chen, Z. Yang, M. Wang, H. Li, H. Liu, Ultratough, Self-Healing, and Tissue-Adhesive Hydrogel for Wound Dressing, ACS Appl Mater Interfaces. 10 (2018) 33523–33531. https://doi.org/10.1021/acsami.8b10064.

[292] D.S.A. Hickman, C.L. Pawlowski, U.D.S. Sekhon, J. Marks, A. Sen Gupta, Biomaterials and Advanced Technologies for Hemostatic Management of Bleeding, Advanced Materials. 30 (2018). https://doi.org/10.1002/adma.201700859.

[293] T.M.D. Le, H.T.T. Duong, T. Thambi, V.H. Giang Phan, J.H. Jeong, D.S. Lee, Bioinspired pH- and Temperature-Responsive Injectable Adhesive Hydrogels with Polyplexes Promotes Skin Wound Healing, Biomacromolecules. 19 (2018) 3536–3548. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b00819.

[294] S. Li, J. Zhou, Y.H. Huang, J. Roy, N. Zhou, K. Yum, X. Sun, L. Tang, Injectable Click Chemistry-based Bioadhesives for Accelerated Wound Closure, Acta Biomater. 110 (2020) 95–104. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.04.004.

[295] F. Zhu, C. Wang, S. Yang, Q. Wang, F. Liang, C. Liu, D. Qiu, X. Qu, Z. Hu, Z. Yang, Injectable tissue adhesive composite hydrogel with fibroblasts for treating skin defects, J Mater Chem B. 5 (2017) 2416–2424. https://doi.org/10.1039/c7tb00384f.

[296] W. Han, B. Zhou, K. Yang, X. Xiong, S. Luan, Y. Wang, Z. Xu, P. Lei, Z. Luo, J. Gao, Y. Zhan, G. Chen, L. Liang, R. Wang, S. Li, H. Xu, Biofilm-inspired adhesive and antibacterial hydrogel with tough tissue integration performance for sealing hemostasis and wound healing, Bioact Mater. 5 (2020) 768–778. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.05.008.

[297] L. Gao, Y. Zhou, J. Peng, C. Xu, Q. Xu, M. Xing, J. Chang, A novel dual-adhesive and bioactive hydrogel activated by bioglass for wound healing, NPG Asia Mater. 11 (2019). https://doi.org/10.1038/s41427-019-0168-0.

[298] Y. Zhou, J. Zhao, X. Sun, S. Li, X. Hou, X. Yuan, X. Yuan, Rapid Gelling Chitosan/Polylysine Hydrogel with Enhanced Bulk Cohesive and Interfacial Adhesive Force: Mimicking Features of Epineurial Matrix for Peripheral Nerve Anastomosis, Biomacromolecules. 17 (2016) 622–630. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b01550.

[299] S.L. Fenn, P.N. Charron, R.A. Oldinski, Anticancer Therapeutic Alginate-Based Tissue Sealants for Lung Repair, ACS Appl Mater Interfaces. 9 (2017) 23409–23419. https://doi.org/10.1021/acsami.7b04932.

[300] Bao Zixian, Gao Minghong, Sun Yue, Nian Rui, Xian Mo, The recent progress of tissue adhesives in design strategies, adhesive mechanism and applications, Materials Science & Engineering C. 111 (2020). https://doi.org/doi.org/10.1016/j.msec.2020.110796.

[301] H. ÖHMAN, A. VAHLQUIST, In vivo studies concerning a pH gradient in human stratum corneum and upper epidermis, Acta Derm Venereol. 74 (1994) 375–379. https://doi.org/10.2340/0001555574375379.

[302] B.R. Soller, R.H. Micheels, J. Coen, B. Parikh, L. Chu, C. Hsi, H.C. Feasibility, FEASIBILITY OF NON-INVASIVE MEASUREMENT OF TISSUE pH USING NEAR-INFRARED REFLECTANCE SPECTROSCOPY, 1996.

[303] J. Li, B.M. Christensen, Effect of pH on the oxidation pathway of dopamine and dopa, 1994.

[304] S. Nam, D. Mooney, Polymeric Tissue Adhesives, Chem Rev. 121 (2021) 11336–11384. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00798.

[305] P. Bao, A. Kodra, M. Tomic-Canic, M.S. Golinko, H.P. Ehrlich, H. Brem, The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing, Journal of Surgical Research. 153 (2009) 347–358. https://doi.org/10.1016/j.jss.2008.04.023.

[306] H.C.H. Ko, B.K. Milthorpe, C.D. McFarland, Engineering thick tissues - The vascularisation problem, Eur Cell Mater. 14 (2007) 1–18. https://doi.org/10.22203/ecm.v014a01.

[307] A.P. Veith, K. Henderson, A. Spencer, A.D. Sligar, A.B. Baker, Therapeutic strategies for enhancing angiogenesis in wound healing, Adv Drug Deliv Rev. 146 (2019) 97–125. https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.09.010.

[308] S.A. Eming, P. Martin, M. Tomic-Canic, Wound repair and regeneration: Mechanisms, signaling, and translation, n.d. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009337.

[309] L.A. DiPietro, Angiogenesis and wound repair: when enough is enough, J Leukoc Biol. 100 (2016) 979–984. https://doi.org/10.1189/jlb.4mr0316-102r.

[310] Y. Guo, J. Huang, Y. Fang, H. Huang, J. Wu, 1D, 2D, and 3D scaffolds promoting angiogenesis for enhanced wound healing, Chemical Engineering Journal. 437 (2022). https://doi.org/doi.org/10.1016/j.cej.2022.134690.

[311] C. Zhang, B. Xie, Y. Zou, D. Zhu, L. Lei, D. Zhao, H. Nie, Zero-dimensional, one-dimensional, two-dimensional and three-dimensional biomaterials for cell fate regulation, Adv Drug Deliv Rev. 132 (2018) 33–56. https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.06.020.

[312] J. Tang, R. Peng, J. Ding, The regulation of stem cell differentiation by cell-cell contact on micropatterned material surfaces, Biomaterials. 31 (2010) 2470–2476. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.12.006.

[313] D. Xue, Q. Zheng, C. Zong, Q. Li, H. Li, S. Qian, B. Zhang, L. Yu, Z. Pan, Osteochondral repair using porous poly(lactide-co-glycolide)/ nano-hydroxyapatite hybrid scaffolds

with undifferentiated mesenchymal stem cells in a rat model, J Biomed Mater Res A. 94 (2010) 259–270. https://doi.org/10.1002/jbm.a.32691.

[314] A. Skardal, D. Mack, E. Kapetanovic, A. Atala, J.D. Jackson, J. Yoo, S. Soker, Bioprinted Amniotic Fluid-Derived Stem Cells Accelerate Healing of Large Skin Wounds, Stem Cells Transl Med. 1 (2012) 792–802. https://doi.org/10.5966/sctm.2012-0088.

[315] S. Freeman, R. Ramos, P. Alexis Chando, L. Zhou, K. Reeser, S. Jin, P. Soman, K. Ye, A bioink blend for rotary 3D bioprinting tissue engineered small-diameter vascular constructs, Acta Biomater. 95 (2019) 152–164. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.06.052.

[316] B.S. Kim, G. Gao, J.Y. Kim, D.W. Cho, 3D Cell Printing of Perfusable Vascularized Human Skin Equivalent Composed of Epidermis, Dermis, and Hypodermis for Better Structural Recapitulation of Native Skin, Adv Healthc Mater. 8 (2019). https://doi.org/10.1002/adhm.201801019.

[317] D. Min, W. Lee, I.H. Bae, T.R. Lee, P. Croce, S.S. Yoo, Bioprinting of biomimetic skin containing melanocytes, Exp Dermatol. 27 (2018) 453–459. https://doi.org/10.1111/exd.13376.

[318] Y. Hu, B. Wu, Y. Xiong, R. Tao, A. C.Panayi, L. Chen, W. Tian, H. Xue, L. Shi, X. Zhang, L. Xiong, B. Mi, G. Liu, Cryogenic 3D printed hydrogel scaffolds loading exosomes accelerate diabetic wound healing, Chemical Engineering Journal. 426 (2021). https://doi.org/doi.org/10.1016/j.cej.2021.130634.

[319] P. Singh, S. Muntazir Andrabi, U. Tariq, S. Gupta, S. Shaikh, A. Kumar, Functionally multifaceted scaffolds delivering bioactive compounds for treatment of infectious chronic and ischemic wounds, Chemical Engineering Journal. 457 (2023). https://doi.org/doi.org/10.1016/j.cej.2023.141359.

[320] H. Sun, J. Xu, Y. Wang, S. Shen, X. Xu, L. Zhang, Q. Jiang, Bone microenvironment regulative hydrogels with ROS scavenging and prolonged oxygen-generating for enhancing bone repair, Bioact Mater. 24 (2023) 477–496. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.12.021.

[321] M.Y. Mollajavadi, M. Saadatmand, F. Ghobadi, Effect of calcium peroxide particles as oxygen-releasing materials on cell growth and mechanical properties of scaffolds for tissue engineering, Iranian Polymer Journal (English Edition). (2023). https://doi.org/10.1007/s13726-023-01147-y.

[322] A. Farzin, S. Hassan, L.S. Moreira Teixeira, M. Gurian, J.F. Crispim, V. Manhas, A. Carlier, H. Bae, L. Geris, I. Noshadi, S.R. Shin, J. Leijten, Self-Oxygenation of Tissues Orchestrates Full-Thickness Vascularization of Living Implants, Adv Funct Mater. 31 (2021). https://doi.org/10.1002/adfm.202100850.

[323] M.W. Jøraholmen, P. Damdimopoulou, G. Acharya, N. Škalko-Basnet, Toxicity Assessment of Resveratrol Liposomes-in-Hydrogel Delivery System by EpiVaginal™

Tissue Model, Pharmaceutics. 14 (2022). https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061295.

[324] M. Kędzierska, M. Bańkosz, P. Potemski, Studies on the Impact of the Photoinitiator Amount Used during the PVP-Based Hydrogels' Synthesis on Their Physicochemical Properties, Materials. 15 (2022). https://doi.org/10.3390/ma15176089.

[325] S. Kamiloglu, G. Sari, T. Ozdal, E. Capanoglu, Guidelines for cell viability assays, Food Front. 1 (2020) 332–349. https://doi.org/10.1002/fft2.44.

[326] M. Arslan, In situ crosslinking system of gelatin with acrylated β-cyclodextrin towards the fabrication of hydrogels for sustained drug release, Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry. 7 (2020) 597–608. https://doi.org/10.18596/jotcsa.717856.

[327] M. Pooresmaeil, H. Namazi, Surface modification of graphene oxide with stimuli-responsive polymer brush containing β-cyclodextrin as a pendant group: Preparation, characterization, and evaluation as controlled drug delivery agent, Colloids Surf B Biointerfaces. 172 (2018) 17–25. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.017.

[328] P. Chandika, M.S. Kim, F. Khan, Y.M. Kim, S.Y. Heo, G.W. Oh, N.G. Kim, W.K. Jung, Wound healing properties of triple cross-linked poly (vinyl alcohol)/methacrylate kappa-carrageenan/chitooligosaccharide hydrogel, Carbohydr Polym. 269 (2021). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118272.

[329] R.F. Elsupikhe, K. Shameli, M.B. Ahmad, N.A. Ibrahim, N. Zainudin, Green sonochemical synthesis of silver nanoparticles at varying concentrations of κ-carrageenan, Nanoscale Res Lett. 10 (2015). https://doi.org/10.1186/s11671-015-0916-1.

[330] L. V. Abad, H. Kudo, S. Saiki, N. Nagasawa, M. Tamada, Y. Katsumura, C.T. Aranilla, L.S. Relleve, A.M. De La Rosa, Radiation degradation studies of carrageenans, Carbohydr Polym. 78 (2009) 100–106. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.04.009.

[331] F.N. Jumaah, N.N. Mobaraka, A. Ahmad, N. Ramli, Characterization of ι -carrageenan and its derivative based green polymer electrolytes, AIP Conf Proc. 1571 (2013) 768–774. https://doi.org/10.1063/1.4858748.

[332] N.A.A. Ghani, R. Othaman, A. Ahmad, F.H. Anuar, N.H. Hassan, Impact of purification on iota carrageenan as solid polymer electrolyte, Arabian Journal of Chemistry. 12 (2019) 370–376. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.06.008.

[333] T. Khaliq, M. Sohail, M. Usman, S. Ahmed, International Journal of Biological Macromolecules Self-crosslinked chitosan / κ -carrageenan-based biomimetic membranes to combat diabetic burn wound infections, Int J Biol Macromol. 197 (2022) 157–168. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.100.

[334] A. Zhou, Y. Hu, C. Chen, H. Mao, L. Wang, S. Zhang, X. Huang, 3D bioprintable methacrylated carrageenan/sodium alginate dual network hydrogel for vascular tissue engineering scaffolding, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials. (2022) 1–11. https://doi.org/10.1080/00914037.2022.2032704.

[335] P. Chandika, Kim Min-Sung, Khan Fazlurrahman, Kim Young-Mog, Heo Seong-Yeong, Oh Gun-Woo, Kim Nam Gyun, Jung Won-Kyo, Wound_healing_properties_of_triple_cross_linked_poly_vinyl_alcohol_methacrylate_kappa_carrageenan_chitooligosaccharide_h, Carbohydrate Polymer. 269 (2021). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118272.

[336] B. V. Slaughter, S.S. Khurshid, O.Z. Fisher, A. Khademhosseini, N.A. Peppas, Hydrogels in regenerative medicine, Advanced Materials. 21 (2009) 3307–3329. https://doi.org/10.1002/adma.200802106.

[337] H. Fang, J. Wang, L. Li, L. Xu, Y. Wu, Y. Wang, X. Fei, J. Tian, Y. Li, A novel high-strength poly(ionic liquid)/PVA hydrogel dressing for antibacterial applications, Chemical Engineering Journal. 365 (2019) 153–164. https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.030.

[338] Y. Wu, Y.X. Chen, J. Yan, D. Quinn, P. Dong, S.W. Sawyer, P. Soman, Fabrication of conductive gelatin methacrylate-polyaniline hydrogels, Acta Biomater. 33 (2016) 122–130. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.01.036.

[339] D. Chimene, L. Miller, L.M. Cross, M.K. Jaiswal, I. Singh, A.K. Gaharwar, Nanoengineered Osteoinductive Bioink for 3D Bioprinting Bone Tissue, ACS Appl Mater Interfaces. 12 (2020) 15976–15988. https://doi.org/10.1021/acsami.9b19037.

[340] J. Seo, J.Y. Shin, J. Leijten, O. Jeon, A. Bal Öztürk, J. Rouwkema, Y. Li, S.R. Shin, H. Hajiali, E. Alsberg, A. Khademhosseini, Interconnectable Dynamic Compression Bioreactors for Combinatorial Screening of Cell Mechanobiology in Three Dimensions, ACS Appl Mater Interfaces. 10 (2018) 13293–13303. https://doi.org/10.1021/acsami.7b17991.

[341] A.R. Donaldson, C.E. Tanase, D. Awuah, P.V. Bathrinarayanan, L. Hall, M. Nikkhah, A. Khademhosseini, F. Rose, C. Alexander, A.M. Ghaemmaghami, Photocrosslinkable gelatin hydrogels modulate the production of the major pro-inflammatory cytokine, TNF-α, by human mononuclear cells, Front Bioeng Biotechnol. 6 (2018). https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00116.

[342] Avula, Cell-laden microengineered pullulan methacrylate hydrogels promote cell proliferation and 3D cluster formation, Bone. 23 (2014) 1–7. https://doi.org/10.1039/C0SM00697A.Cell-laden.

[343] J.W. Nichol, S. Koshy, H. Bae, C.M. Hwang, A. Khademhosseini, Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels, 31 (2011) 5536–5544. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.03.064.Cell-laden.

[344] Y. Du, E. Lo, S. Ali, A. Khademhosseini, Directed assembly of cell-laden microgels for fabrication of 3D tissue constructs, 2008. https://doi.org/10.1073/pnas.0801866105.

[345] S. Sharma, P. Sudhakara, J. Singh, R.A. Ilyas, M.R.M. Asyraf, M.R. Razman, Critical review of biodegradable and bioactive polymer composites for bone tissue engineering and drug delivery applications, Polymers (Basel). 13 (2021). https://doi.org/10.3390/polym13162623.

[346] F. Asghari, D. Rabiei Faradonbeh, Z.V. Malekshahi, H. Nekounam, B. Ghaemi, Y. Yousefpoor, H. Ghanbari, R. Faridi-Majidi, Hybrid PCL/chitosan-PEO nanofibrous scaffolds incorporated with A. euchroma extract for skin tissue engineering application, Carbohydr Polym. 278 (2022). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118926.

[347] X. Zhou, W. Weng, B. Chen, W. Feng, W. Wang, W. Nie, L. Chen, X. Mo, J. Su, C. He, Mesoporous silica nanoparticles/gelatin porous composite scaffolds with localized and sustained release of vancomycin for treatment of infected bone defects, J Mater Chem B. 6 (2018) 740–752. https://doi.org/10.1039/c7tb01246b.

[348] S. Mehrotra, B.A.G. de Melo, M. Miscuglio, K. Kiaee, S.R. Shin, B.B. Mandal, Mimicking Native Heart Tissue Physiology and Pathology in Silk Fibroin Constructs through a Perfusion-Based Dynamic Mechanical Stimulation Microdevice, Adv Healthc Mater. 11 (2022). https://doi.org/10.1002/adhm.202101678.

[349] S.B. Han, J.K. Kim, G. Lee, D.H. Kim, Mechanical Properties of Materials for Stem Cell Differentiation, Adv Biosyst. 4 (2020) 1–17. https://doi.org/10.1002/adbi.202000247.

[350] N.D. Evans, E. Gentleman, The role of material structure and mechanical properties in cell-matrix interactions, J Mater Chem B. 2 (2014) 2345–2356. https://doi.org/10.1039/c3tb21604g.

[351] T. Khaliq, M. Sohail, M.U. Minhas, S. Ahmed Shah, N. Jabeen, S. Khan, Z. Hussain, A. Mahmood, M. Kousar, H. Rashid, Self-crosslinked chitosan/κ-carrageenan-based biomimetic membranes to combat diabetic burn wound infections, Int J Biol Macromol. 197 (2022) 157–168. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.100.

[352] Kumari Sushma, Mondal Pritiranjan, Chatterjee Kaushik, Digital light processing-based 3D bioprinting of κ-carrageenan hydrogels for engineering cell-loaded tissue scaffolds _ Elsevier Enhanced Reader, Carbohydr Polym. 290 (2022). https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119508.

[353] B. Maharjan, D. Kumar, G.P. Awasthi, D.P. Bhattarai, J.Y. Kim, C.H. Park, C.S. Kim, Synthesis and characterization of gold/silica hybrid nanoparticles incorporated gelatin methacrylate conductive hydrogels for H9C2 cardiac cell compatibility study, Compos B Eng. 177 (2019). https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107415.

[354] A. Baidya, R. Haghniaz, G. Tom, M. Edalati, N. Kaneko, P. Alizadeh, M. Tavafoghi, A. Khademhosseini, A. Sheikhi, A Cohesive Shear-Thinning Biomaterial for Catheter-Based Minimally Invasive Therapeutics, ACS Appl Mater Interfaces. 14 (2022) 42852–42863. https://doi.org/10.1021/acsami.2c08799.

[355] Y. Zhou, F.-Q. Chen, S. Chen, Q. Xiao, H.-F. Weng, Q.-M. Yang, A.-F. Xiao, marine drugs Preparation and Characterization of κ-Carrageenan Modified with Maleic Anhydride and Its Application in Films, (2021). https://doi.org/10.3390/md19090486.

[356] M.C. Roberts, M.C. Hanson, A.P. Massey, E.A. Karren, P.F. Kiser, Dynamically restructuring hydrogel networks formed with reversible covalent crosslinks, Advanced Materials. 19 (2007) 2503–2507. https://doi.org/10.1002/adma.200602649.

[357] Y. Zhong, F. Seidi, Y. Wang, L. Zheng, Y. Jin, H. Xiao, Injectable chitosan hydrogels tailored with antibacterial and antioxidant dual functions for regenerative wound healing, Carbohydr Polym. 298 (2022). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120103.

[358] A.M. Sisso, M.O. Boit, C.A. DeForest, Self-healing injectable gelatin hydrogels for localized therapeutic cell delivery, J Biomed Mater Res A. 108 (2020) 1112–1121. https://doi.org/10.1002/jbm.a.36886.

[359] H.J. Lee, P.T. Le, H.J. Kwon, K.D. Park, Supramolecular assembly of tetronic-adamantane and poly(β-cyclodextrin) as injectable shear-thinning hydrogels, J Mater Chem B. 7 (2019) 3374–3382. https://doi.org/10.1039/c9tb00072k.

[360] H. Bian, L. Jiao, R. Wang, X. Wang, W. Zhu, H. Dai, Lignin nanoparticles as nano-spacers for tuning the viscoelasticity of cellulose nanofibril reinforced polyvinyl alcohol-borax hydrogel, Eur Polym J. 107 (2018) 267–274. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.08.028.

[361] G. Stojkov, Z. Niyazov, F. Picchioni, R.K. Bose, Relationship between structure and rheology of hydrogels for various applications, Gels. 7 (2021). https://doi.org/10.3390/gels7040255.

[362] Y. Zheng, W. Yuan, H. Liu, S. Huang, L. Bian, R. Guo, Injectable supramolecular gelatin hydrogel loading of resveratrol and histatin-1 for burn wound therapy, Biomater Sci. 8 (2020) 4810–4820. https://doi.org/10.1039/d0bm00391c.

[363] F.K.G. Schreuders, L.M.C. Sagis, I. Bodnár, R.M. Boom, & Atze, J. Van Der Goot, Non-linear rheology reveals the importance of elasticity in meat and meat analogues, Scientific Reports |. 12 (123AD) 1334. https://doi.org/10.1038/s41598-021-04478-z.

[364] N. Hirun, P. Kraisit, V. Tantishaiyakul, Thermosensitive Polymer Blend Composed of Poloxamer 407, Poloxamer 188 and Polycarbophil for the Use as Mucoadhesive In Situ Gel, Polymers (Basel). 14 (2022). https://doi.org/10.3390/polym14091836.

[365] N. Pettinelli, S. Rodríguez-Llamazares, R. Bouza, L. Barral, S. Feijoo-Bandín, F. Lago, Carrageenan-based physically crosslinked injectable hydrogel for wound healing and tissue repairing applications, Int J Pharm. 589 (2020). https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119828.

[366] G. Lokhande, J.K. Carrow, T. Thakur, J.R. Xavier, M. Parani, K.J. Bayless, A.K. Gaharwar, Nanoengineered injectable hydrogels for wound healing application, Acta Biomater. 70 (2018) 35–47. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.01.045.

[367] J. Pupkaite, J. Rosenquist, J. Hilborn, A. Samanta, Injectable Shape-Holding Collagen Hydrogel for Cell Encapsulation and Delivery Cross-linked Using Thiol-Michael Addition Click Reaction, Biomacromolecules. 20 (2019) 3475–3484. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b00769.

[368] J. Li, D.J. Mooney, Designing hydrogels for controlled drug delivery, Nat Rev Mater. 1 (2016). https://doi.org/10.1038/natrevmats.2016.71.

[369] S. Wang, P.J. Ong, S. Liu, W. Thitsartarn, M.J.B.H. Tan, A. Suwardi, Q. Zhu, X.J. Loh, Recent Advances in Host-Guest Supramolecular Hydrogels for Biomedical Applications, Chem Asian J. 17 (2022). https://doi.org/10.1002/asia.202200608.

[370] A. Alves, S.P. Miguel, A.R.T.S. Araujo, M.J. de J. Valle, A.S. Navarro, I.J. Correia, M.P. Ribeiro, P. Coutinho, Xanthan gum-konjac glucomannan blend hydrogel for wound healing, Polymers (Basel). 12 (2020). https://doi.org/10.3390/polym12010099.

[371] C.C. Liang, A.Y. Park, J.L. Guan, In vitro scratch assay: A convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro, Nat Protoc. 2 (2007) 329–333. https://doi.org/10.1038/nprot.2007.30.

[372] S. Suvarnapathaki, X. Wu, T. Zhang, M. A.Nguyen, A. A. Goulopoulos, B. Wu, Camci-Unal Gulden, Oxygen generating scaffolds regenerate critical size bone defects, Bioact Mater. 13 (2022) 64–81. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.11.002.

[373] Q.T. Ji, X.F. Mu, D.K. Hu, L.J. Fan, S.Z. Xiang, H.J. Ye, X.H. Gao, P.Y. Wang, Fabrication of Host–Guest Complexes between Adamantane-Functionalized 1,3,4-Oxadiazoles and β-Cyclodextrin with Improved Control Efficiency against Intractable Plant Bacterial Diseases, ACS Appl Mater Interfaces. 14 (2022) 2564–2577. https://doi.org/10.1021/acsami.1c19758.

[374] K. Sugane, M. Shibata, Self-healing thermoset polyurethanes utilizing host–guest interaction of cyclodextrin and adamantane, Polymer (Guildf). 221 (2021). https://doi.org/10.1016/j.polymer.2021.123629.

[375] H. Sun, J. Xu, Y. Wang, S. Shen, X. Xu, L. Zhang, Q. Jiang, Bone microenvironment regulative hydrogels with ROS scavenging and prolonged oxygen-generating for enhancing bone repair, Bioact Mater. 24 (2023) 477–496. https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.12.021.

[376] V.K. Nikolopoulos, R. Augustine, G. Camci-Unal, Harnessing the potential of oxygen-generating materials and their utilization in organ-specific delivery of oxygen, Biomater Sci. (2023). https://doi.org/10.1039/d2bm01329k.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Dilara Yılmaz Aykut Doktora Tezi

ORİJİNALLİK RAPORU

%1	%0	%1	%1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	%1
2	"Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels", Springer Science and Business Media LLC, 2019 Yayın	<%1
3	KÖLÜK, Fatih and GÜLENÇ, Behçet. "Ostenitik paslanmaz çeliklerin kaynağında kaynak yönteminin mekanik özelliklere etkisinin incelenmesi", TUBITAK, 2004. Yayın	<%1
4	ERGİN, Ekin, EKİCİ, yahya and ATAÇ, Fatma Belgin. "Doku Mühendisliği ve Uygulama Alanları", Ortadoğu Reklam Tanıtım Yayıncılık Turizm Eğitim İnşaat Sanayi ve Ticaret, 2018. Yayın	<%1
5	repozitorium.omikk.bme.hu İnternet Kaynağı	<%1
6	eprints.qut.edu.au İnternet Kaynağı	<%1

KURUM İZNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

☐ **Kurum izni gerekmektedir.**

☒ **Kurum izni gerekmemektedir.**

Dilara YILMAZ AYKUT