



**KAN DURDURUCU ÖZELLİK İÇEREN  
BİYOMEDİKAL MALZEME GELİŞTİRİLMESİ**

**Miyaser DEMİREL**

**DOKTORA TEZİ  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2017**

Miyaser DEMİREL tarafından hazırlanan “KAN DURDURUCU ÖZELLİK İÇEREN BİYOMEDİKAL MALZEME GELİŞTİRİLMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Nursel DİLSİZ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. ....

**Başkan:** Prof. Dr. Nuray YILDIZ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. ....

**Üye:** Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. ....

**Üye:** Prof. Dr. İ. Tuncer DEĞİM

Farmasotik Teknoloji Anabilim Dalı, Biruni Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. ....

**Üye:** Prof. Dr. Göksel ÖZKAN

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. ....

Tez Savunma Tarihi: 15/12/2017

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....  
Prof. Dr. Hadi GÖKÇEN  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
  - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
  - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
  - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
  - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirim, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Miyaser DEMİREL

15/12/2017

# KAN DURDURUCU ÖZELLİK İÇEREN BİYOMEDİKAL MALZEME GELİŞTİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Miyaser DEMİREL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2017

## ÖZET

Bu çalışmada, kan durdurucu (hemostatik) özellik içeren biyomedikal malzeme geliştirmek amacıyla kan durdurucu madde içeren sünger, toz ve film şeklinde numuneler hazırlanmıştır. Bu amaçla temel hemostatik madde olarak kitosan kullanılmıştır. Üretim tekniği olarak dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve öğütme yöntemleri kullanılmıştır. Hazırlanan kan durdurucu numunelerin karakterizasyonu aşamasında ilk olarak gözeneklilik, su absorplama oranı, geçirgenlik, hemostatik etkinlik, kan absorpsiyon, aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT), protrombin zamanı (PT), trombin zamanı (TT) ve fibrinojen (FIB) testleri uygulanmıştır. Bu testlerin sonucunda numuneler içerisinde en iyi kan durdurucu özellik gösteren numunelere, hemoliz, trombosit agregasyonu, antibakteriyel etkinlik, taramalı elektron mikroskobu (SEM), partikül boyut dağılımı, fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) testleri uygulanmıştır. Sünger numunelere uygulanan testler sonucunda, liyofilizasyon süresi arttıkça ve liyofilizasyon uygulanan numune miktarı azaldıkça, gözeneklilik ve gözenek hacmi değerlerinin arttığı, yoğunluk, su absorpsiyon oranı ve kan absorplama hızının azaldığı görülmüştür. Sünger numuneler içerisinde en iyi kan absorplama davranışını gösteren numuneye gerçekleştirilen trombosit agregasyonu ve hemoliz testi sonucunda, numunenin trombosit agregasyonuna neden olmadığı ve hemolitik olduğu belirlenmiştir. Toz numuneler içerisinde, en iyi kan absorplama davranışı gösteren numunenin trombosit agregasyonu oluşturduğu, hemolitik olduğu belirlenmiştir. Sünger, toz ve film numunelere uygulanan APTT, PT, FIB ve TT testlerinin sonuçlarında, negatif kontrol ile karşılaştırıldığında, tüm numunelerin APTT, PT ve TT değerlerinin, negatif kontrolden daha düşük olduğu, FIB değerlerinin ise negatif kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Tüm numunelerin kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığı belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 91213

Anahtar Kelimeler : Kan durdurucu, Hemostat, Kanama durdurucu, Kitosan

Sayfa Adedi : 211

Danışman : Prof. Dr. Nursel DİLSİZ

# DEVELOPMENT OF A HEMOSTATIC BIOMEDICAL MATERIAL

(Ph. D. Thesis)

Miyaser DEMIREL

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2017

## ABSTRACT

In this study, samples of sponge, powder and film containing hemostatic agents were prepared in order to develop biomedical material containing hemostatic properties. For this purpose, chitosan was used as the basic hemostatic agent. Freeze drying (lyophilization) and grinding methods were used as the production technique. Porosity, water absorption rate, permeability, hemostatic activity, blood absorption, activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), thrombin time (TT) and fibrinogen (FIB) tests were first applied to characterize the hemostatic samples. As a result of these tests, samples having the best hemostatic properties were analyzed for hemolysis, platelet aggregation, antibacterial activity. The scanning electron microscopy (SEM), particle size distribution, fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC) tests were also applied. As a result of the tests applied to the sponge samples, as the lyophilization time increased and the amount of lyophilized sample decreased, porosity and pore volume values increased, density, water absorption rate and blood absorption rate decreased. The platelet aggregation and hemolysis test were performed to the sample showing the best blood absorption behavior within the sponge samples. The results showed that this sample did not cause platelet aggregation and was hemolytic. The sample showing the best blood absorption behavior of the powder samples obtained platelet aggregation and was hemolytic. The results of APTT, PT, FIB and TT tests applied to sponge, powder and film samples showed that APTT, PT and TT values of all samples were lower than negative control and FIB values were higher than negative control. It was determined that all samples accelerated the blood clotting mechanism.

Science Code : 91213

Key Words : Hemostatic Agent, Hemostat, Blood stopper, Chitosan

Page Number : 211

Supervisor : Prof. Dr. Nursel DILSIZ

## TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim hayatım boyunca yardımlarını ve manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen, bilgi ve tecrübesi ile beni yönlendiren değerli danışman hocam Prof. Dr. Nursel DİLSİZ'e, bilgi, tecrübe ve değerli görüşleriyle çalışmalarına destekte bulunan değerli hocam Prof. Dr. İ. Tuncer DEĞİM'e, sünger numune hazırlayabilmem için liyofilizasyon cihazını kullanmamda katkılarını eksik etmeyen ve çalışmalarımda görüşleriyle beni yönlendiren değerli hocam Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU'na ve yine liyofilizasyon cihazını kullanmamda büyük emeği olan değerli hocam Öğr. Gör. Dr. Müjgan TELLİ OKUR'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Eğitim hayatımın her döneminde ve tüm yaşamım boyunca maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan çok değerli annem Rahime DEMİREL ve babam Hüseyin DEMİREL'e, çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen üzerimde büyük emekleri olan manevi güçlerim ablam Kimya Mühendisi Azime MERCAN'a ve Kimyager Tahsin Bilge MERCAN'a, ve tüm aileme teşekkürlerimi ve sonsuz sevgilerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca her türlü maddi ve manevi desteği ile yanımda olan, bana güç veren, burada tek tek isimlerini sayamayacağım kadar büyük bir aile olan, tüm İstem Medikal Tıbbi Cihaz ve Sanayi Ltd. Şti. çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bünyesinde Ar-Ge Müdürü olarak çalışırken, çalışma konum hakkında doktora yapmamı isteyen, çalışmalarımı yürütmemde laboratuvar ekipmanlarını ve kimyasallarını kullanmama izin veren, test ve analiz sonuçlarını almamda maddi ve manevi olarak destekte bulunan İstem Medikal Tıbbi Cihaz ve Sanayi Ltd. Şti.'ne ve özellikle şirketin Genel Müdürü Levent HAYYAOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

06/2017-08 nolu BAP projesi kapsamında çalışmalarımı destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkürlerimi sunarım.

**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ .....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KANIN YAPISI.....</b>	<b>5</b>
2.1. Plazma .....	6
2.2. Şekilli Elemanlar (Kan Hücreleri).....	7
2.2.1. Alyuvarlar (Eritrositler, Kırmızı kan hücreleri, RBC).....	7
2.2.2. Akyuvarlar (Lökositler, Beyaz kan hücreleri, WBC) .....	8
2.2.3. Kan pulcukları (Trombositler, Plateletler) .....	9
<b>3. KANAMA.....</b>	<b>11</b>
3.1. Kanama Çeşitleri .....	11
<b>4. KANAMAYI DURDURMA (HEMOSTAZ).....</b>	<b>13</b>
4.1. Kanamayı Durdurma Mekanizmaları.....	14
4.1.1. Vazokonstriksiyon (Vasküler faz, Damar spazmı) .....	14
4.1.2. Trombosit tıkaçı oluşumu (Trombosit faz, Primer hemostaz) .....	15
4.1.3. Koagülasyon fazı (Yırtılan damarda kan pıhtılaşması).....	18
4.1.4. Fibrinoliz fazı (Fibröz organizasyon, Kan pıhtısının erimesi).....	26



	<b>Sayfa</b>
5. KAN DURDURUCU (HEMOSTATİK AJAN).....	29
5.1. Kan Durdurucu .....	29
5.2. Topikal Hemostatik Ajanlar.....	31
5.2.1. Kitin/Kitosan bazlı hemostatikler .....	31
5.2.2. Kuru fibrin sargılar.....	35
5.2.3. Mineral zeolit .....	35
5.2.4. Kaolin sargılar .....	37
5.2.5. Oksitlenmiş rejenere/oksitlenmiş seluloz.....	38
5.2.6. Mikrofibriller kolajen.....	40
5.2.7. Jelatin köpükler .....	41
5.2.8. Fibrin doku yapıştırıcıları.....	43
5.2.9. Trombin-jelatin ajan.....	44
5.2.10. Trombosit jel .....	44
5.2.11. Topikal trombin.....	45
5.2.12. Siyanoakrilatlar .....	45
5.2.13. Polietilen glikol hidrojel.....	46
5.2.14. Gluteraldehit çapraz bağlı albumin .....	47
5.2.15. Bone wax.....	47
5.2.16. Ostene.....	48
5.2.17. Ankaferd blood stopper.....	49
5.2.18. Mikrogözenekli polisakkarit küresel parçacıkları .....	50
5.2.19. Plazma proteinleri .....	50
5.2.20. Kostik (yakıcı) ajanlar.....	51
5.3. Sistemik Kan Durdurucular .....	52

	<b>Sayfa</b>
6. BİYOMEDİKAL MALZEME .....	63
7. KİTOSAN .....	69
8. LİTERATÜR.....	75
9. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	91
9.1. Malzemeler .....	91
9.2. Kan Durdurucu Numunelerin Hazırlanması .....	92
9.2.1. Sünger numunelerin hazırlanması .....	95
9.2.2. Film numunelerin hazırlanması.....	97
9.2.3. Toz numunelerin hazırlanması .....	99
9.3. Kan Durdurucu Numunelerin Karakterizasyonu .....	101
9.3.1. Gözeneklilik testi .....	101
9.3.2. Su absorplama oranı .....	101
9.3.3. Geçirgenlik testi .....	102
9.3.4. Hemostatik etkinlik testi .....	102
9.3.5. Kan absorpsiyon testi .....	103
9.3.6. Kan ile etkileşim testleri.....	103
9.3.7. Antibakteriyel etkinlik testi.....	106
9.3.8. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) .....	107
9.3.9. Parçacık boyut dağılımı.....	107
9.3.10. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR).....	108
9.3.11. Termal karakterizasyon .....	108
10. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA.....	111
10.1. Sünger Numunelere Uygulanan Testler .....	111
10.1.1. Gözeneklilik ve su absorplama oranı testi .....	111

	<b>Sayfa</b>
10.1.2. Kan absorpsiyon testi .....	116
10.1.3. Kan ile etkileşim testleri.....	122
10.1.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) .....	127
10.1.5. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR).....	129
10.1.6. Termal karakterizasyon .....	137
10.2. Toz Numunelere Uygulanan Testler .....	144
10.2.1. Geçirgenlik, hemostatik etkinlik ve su absorplama oranı testi .....	144
10.2.2. Kan absorpsiyon testi .....	146
10.2.3. Kan ile etkileşim testleri.....	149
10.2.4. Antibakteriyel etkinlik testi.....	153
10.2.5. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) .....	154
10.2.6. Parçacık boyut dağılımı.....	156
10.2.7. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR).....	158
10.2.8. Termal karakterizasyon .....	160
10.3. Film Numunelere Uygulanan Testler .....	163
10.3.1. Gözeneklilik ve su absorplama oranı testi .....	163
10.3.2. Kan absorpsiyon testi .....	164
10.3.3. Kan ile etkileşim testleri.....	166
11. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	169
KAYNAKLAR .....	175
EKLER.....	195
EK-1. Parçacık boyut dağılımı test sonuçları .....	196
ÖZGEÇMİŞ .....	211

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.1. Kanda bulunan pıhtılaşma faktörleri .....	20
Çizelge 5.1. Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları.....	53
Çizelge 6.1. Malzemelerin özelliklerini belirlemede kullanılan fizikokimyasal ve mekanik testler .....	65
Çizelge 6.2. İmplant sistemlere etkin olarak uygulanabilen biyolojik testler .....	66
Çizelge 7.1. Kitin, kitosan ve türevlerinin uygulama alanları .....	72
Çizelge 9.1. Kullanılan kimyasallar ve moleküler yapıları.....	92
Çizelge 9.2. Hazırlanan numuneler ve yüzde bileşimleri .....	94
Çizelge 9.3. S3 ve S4 sünger numune grupları ve grup adlarının açıklaması .....	96
Çizelge 10.1. Hazırlanan sünger numuneler ve yüzde bileşimleri.....	111
Çizelge 10.2. Sünger numunelerin gözeneklilik, yoğunluk, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerleri.....	111
Çizelge 10.3. Sünger numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri.....	124
Çizelge 10.4. Kitosanın FT-IR spektrumundan elde edilen pikler .....	130
Çizelge 10.5. PEO FT-IR spektrumundan elde edilen pikler .....	131
Çizelge 10.6. Polivinil alkolün FT-IR spektrumundan elde edilen pikler .....	132
Çizelge 10.7. S3(48H50ML) numune grubunun FT-IR spektrumundan elde edilen pikler .....	133
Çizelge 10.8. Kitosan, PVA, PEO ve S3(48H50ML) numune grubunun camsı geçiş, erime ve bozunma sıcaklıkları .....	143
Çizelge 10.9. Hazırlanan toz numune grupları ve yüzde bileşimleri.....	144
Çizelge 10.10. Toz numunelerin geçirgenlik, hemostatik etkinlik ve su absorpsiyon oranı değerleri .....	145
Çizelge 10.11. Toz numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri .....	150
Çizelge 10.12. T9 numunesinin antibakteriyel etkinlik testi sonuçları.....	154

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 10.13. T9 numune grubunun FT-IR spektrumundan elde edilen pikler .....	159
Çizelge 10.14. Kitosan, PVA, PEO ve T9 numune grubunun camsı geçiş, erime ve bozunma sıcaklıkları .....	162
Çizelge 10.15. Hazırlanan film numuneler ve yüzde bileşimleri.....	163
Çizelge 10.16. Film numunelerin gözeneklilik, yoğunluk, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerleri.....	163
Çizelge 10.17. Film numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri.....	167



## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.1. Hemostatik tıkaç oluşumu .....	14
Şekil 4.2. Kan pıhtılaşma mekanizmasının şematik gösterimi .....	25
Şekil 4.3. Fibrinoliz fazının şematik gösterimi .....	27
Şekil 7.1. Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı.....	69
Şekil 7.2. Kitosan değişkenliğinin şematik gösterimi.....	70
Şekil 9.1. Sünger numunelerin hazırlanma yöntemi akış diyagramı .....	96
Şekil 9.2. Film numunelerin hazırlanma yöntemi akış diyagramı .....	98
Şekil 9.3. Toz numunelerin hazırlanma yöntemi akış diyagramı .....	100
Şekil 10.1. Sünger numunelerin gözeneklilik değerleri.....	112
Şekil 10.2. Sünger numunelerin yoğunluk değerleri .....	112
Şekil 10.3. Sünger numunelerin gözenek hacmi değerleri .....	112
Şekil 10.4. Sünger numunelerin su absorpsiyon oranı değerleri .....	113
Şekil 10.5. Sünger numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri .....	125
Şekil 10.6. Kitosanın FT-IR spektrumu .....	129
Şekil 10.7. PEO'in FT-IR spektrumu .....	131
Şekil 10.8. PVA'ün FT-IR spektrumu .....	132
Şekil 10.9. S3(48H50ML) numune grubunun FT-IR spektrumu.....	133
Şekil 10.10. a) S3(48H50ML), b)PVA, c) Kitosan ve e) PEO'in FT-IR spektrumları...	134
Şekil 10.11. Kitosan ve PEO arasında molekül içi ve moleküller arası bağlanma şekillerinin şematik gösterimi .....	135
Şekil 10.12. Kitosan ve PVA arasında molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarının şematik gösterimi.....	135
Şekil 10.13. Kitosanın DSC termogramı .....	137
Şekil 10.14. Kitosanın TGA termogramı.....	137

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 10.15. Polietilen oksitin (PEO) DSC termogramı .....	138
Şekil 10.16. Polietilen oksitin (PEO) TGA termogramı .....	139
Şekil 10.17. Polivinil alkolün (PVA) DSC termogramı .....	140
Şekil 10.18. Polivinil alkolün (PVA) TGA termogramı .....	140
Şekil 10.19. S3(48H50ML) numune grubunun DSC termogramı .....	141
Şekil 10.20. S3(48H50ML) numune grubunun TGA termogramı.....	142
Şekil 10.21. Toz numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri .....	151
Şekil 10.22. T1 numune grubunun parçacık boyut dağılımı.....	156
Şekil 10.23. T9 numune grubunun parçacık boyut dağılımı.....	157
Şekil 10.24. T10 numune grubunun parçacık boyut dağılımı.....	157
Şekil 10.25. T9 numune grubunun FT-IR spektrumu.....	158
Şekil 10.26. a) PVA, b) T9 numunesi, c) Kitosan ve d) PEO'in FT-IR spektrumları....	159
Şekil 10.27. T9 numune grubunun DSC termogramı .....	161
Şekil 10.28. T9 numune grubunun TGA termogramı.....	161
Şekil 10.29. Film numunelerin gözeneklilik, yoğunluk ve gözenek hacmi değerleri....	164
Şekil 10.30. Film numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri.....	167

## RESİMLERİN LİSTESİ

<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 3.1. Kanayan damarın türüne göre kanama çeşitleri.....	12
Resim 9.1. Sünger numunelerin liyofilizasyon flaskında ve flasktan çıkarıldıktan sonraki görünüşleri .....	97
Resim 9.2. F1 ve F2 numunelerinin görünüşü .....	99
Resim 9.3. T5 numunesinin görünüşü .....	100
Resim 10.1. S1 numunesinin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü.....	117
Resim 10.2. S1 numunesinin kan ve plazma ile etkileşimi öncesi ve sonrası görünüşü	117
Resim 10.3. S2 numunesinin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü.....	118
Resim 10.4. S2 numunesinin plazma ve serum ile etkileşimi öncesi ve sonrası görünüşü .....	118
Resim 10.5. S2 numunesinin plazma ve kan ile etkileşimi sonrası plazma ve hemoglobin salıverme görüntüsü.....	119
Resim 10.6. Sünger numunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşleri.....	119
Resim 10.7. S3(48H50ML) numunesinin plazma ile etkileşimi sonrası görünüşü .....	120
Resim 10.8. Numunelerin kan ile etkileşimi sonrası hemoglobin salıverme görüntüsü .....	122
Resim 10.9. A) Negatif kontrol, B) Pozitif kontrol ve C) S3(48H50ML) numunesinin agregasyon testi mikroskopik görüntüleri.....	127
Resim 10.10. S3(48H50ML) numune grubunun X250 büyütmede SEM mikrografi ....	128
Resim 10.11. S3(48H50ML) numune grubunun X35, X100, X250 ve X1000 büyütmede SEM mikrografi.....	128
Resim 10.12. Numunelere uygulanan hemostatik etkinlik testinin görünüşü .....	145
Resim 10.13. Numunelerin geçirgenlik testi sonrası görünüşleri.....	146
Resim 10.14. Toz tumunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü .....	147
Resim 10.15. T4 numunesinin plazma ile etkileşimi sonrası görünüşü .....	148
Resim 10.16. T8, T9, T10 ve T11 numaralı toz tumunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü .....	148



<b>Resim</b>	<b>Sayfa</b>
Resim 10.17. Numunelerin kan ile etkileşimi sonrası hemoglobin salıverme görüntüsü.....	149
Resim 10.18. A) T9 uygulanan kan örneği, B) T10 uygulanan kan örneği, C) Negatif Kontrol ve D) Pozitif kontrol agregasyon testi mikroskopik görüntüleri	153
Resim 10.19. T9 numune grubunun X35 büyütmede SEM mikrografi .....	154
Resim 10.20. T9 numune grubunun X100, X200, X650, X1000 ve X8000 büyütmede SEM mikrografi .....	155
Resim 10.21. F1 ve F2 numunelerinin serum ile etkileşimi öncesi ve sonrası görüntüleri.....	165
Resim 10.22. Film numunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü.....	165
Resim 10.23. Numunelerin kan ile etkileşimi sonrası hemoglobin salıverme görüntüsü.....	166

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklamalar

<b>dk</b>	Dakika
<b>h</b>	Saat
<b>in<sup>2</sup></b>	İnçkare
<b>kg</b>	Kilogram
<b>kob</b>	Koloni oluşturan birim
<b>kPa</b>	Kilopaskal
<b>mg</b>	Miligram
<b>ml</b>	Mililitre
<b>mm<sup>3</sup></b>	Milimetreküp
<b>N</b>	Normalite
<b>nm</b>	Nanometre
<b>s</b>	Saniye
<b>w</b>	Ağırlık
<b>°C</b>	Santigrat derece
<b>°F</b>	Fahrenayt derece
<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>µm</b>	Mikrometre
<b>%</b>	Yüzde
<b>\$</b>	Dolar

### Kısaltmalar

### Açıklamalar

<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>APTT</b>	Aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı
<b>DA</b>	Deasetilasyon derecesi
<b>DSC</b>	Diferansiyel taramalı kalorimetre
<b>FDA</b>	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi

**Kısaltmalar****Açıklamalar**

<b>FIB</b>	Fibrinojen aktivite
<b>FT-IR</b>	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
<b>HES</b>	Hidroksietil seluloz
<b>MW</b>	Molekül ağırlığı
<b>NATO</b>	Kuzey Atlantik Antlaşması Örgütü
<b>PEO</b>	Polietilen oksit
<b>PT</b>	Protrombin zamanı
<b>PVA</b>	Polivinil alkol
<b>RBC</b>	Kırmızı kan hücreleri, Eritrositler
<b>SEM</b>	Taramalı elektron mikroskobu
<b>SMS</b>	Sodyum metabisülfid
<b>TGA</b>	Termogravimetrik analiz
<b>TT</b>	Trombin zamanı
<b>WBC</b>	Beyaz kan hücreleri, Lökositler

## 1. GİRİŞ

Sivil yaşamdaki ölüm nedenleri arasında travmaya bağlı kanamaların oranı giderek artmaktadır. Savaş koşullarında ise ölümün en sık nedeni kanamalardır. Kontrol altına alınamayan kanamalar aslında önlenebilir ölüm nedeni sayılırlar. Kanama kontrolü travmalı olguya yaklaşımda her zaman ilk öncelikli konu olmuştur. Özellikle muharebe alanında etkin olarak yapılacak olan kanama kontrolü ölüm oranında belirgin azalmaya neden olacaktır. Vücut, tedavi uygulamadan, ağır kan kaybını kontrol altına almada etkisizdir. Bu nedenle erken ve etkin olarak yapılan kanama kontrolü teorik olarak çok sayıda yaşamın kurtulmasını sağlamaktadır. Bu amaç doğrultusunda gerçekleştirilen çalışmalar da tıpta sürekli ilgi çekici kılınmıştır [1-12].

Son yıllarda savaşlarda kullanılan zırhlı yelekler nedeniyle yaralanmalar daha çok ekstremitelerden (kol ve bacaklar) olmaktadır. Bu bölgelerde meydana gelen yaralanmalarda basit kanama kontrolü yöntemleri ve turnike uygulanabilirken, aksiller (koltuk altı) ve femoral (kalça kemiğine ait) bölge yaralanmalarında kanama durdurma zor sağlanmaktadır. Ayrıca, kanama odağı toraks (göğüs bölgesi) ya da abdominal kavite (karın boşluğu) ise sahada yapılabilecek çok şey yoktur [10-18]. Vücut, küçük çaplı kanamaları kontrol altına alabilir ve çoğu zaman 6-10 dk arasında kanama kendiliğinden durur. Bu şekilde kanamanın durdurulmasına hemostaz denir. Büyük çaplı kanamalarda ise bu mekanizma yetersiz kalır, kanama durdurma yöntemleri ile kanama kontrol altına alınmalıdır [19].

Amerikan ordusu, Somali ve Afganistan'daki çatışmalarda, kasık bölgesi gibi yerlerde olan yaralanmalarda, turnike veya gazlı bez ile kompresyonun etkili olmadığını, yaralının durumunun daha da kritik bir hal alarak ölümlerle sonuçlandığını gözlemlemiştir. Bu çeşit yaralanmaların sıklık kazanması ve ölümlerle sonuçlanması, çatışma alanında daha etkin kan durdurucu (hemostatik ajan) malzeme geliştirilmesi için çalışmaların başlamasına neden olmuştur [10,20-24]. Özellikle, savaşlar ve terörist saldırılar sonrasında görülen travmalı olguların kanamalı tablolarına yaklaşımlarında, FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) onayı almış yeni ürünler dikkati çekmiştir [10,17,25-28].

Günümüzde pek çok topikal kan durdurucunun kullanılması gündeme gelmiştir. Topikal uygulanması önerilen bazı hemostatik ajanların kullanımıyla travma sonrası ölüm oranlarında dramatik azalmalar saptandığı iddia edilmektedir [12,16-18].

Kan durdurucular, genel olarak vücut dışı yaralanmalar, travmatik kesikler, kopmalar ve parçalanmalar, dış operasyonları, spontan ya da cerrahi girişimler sonrası oluşan minör ve majör kanamaların durdurulmasında kullanılan tıbbi cihaz ve ilaçlara verilen isimdir. Aynı zamanda, hemostatik ajan, hemostatik matriks, hemostatik tıkaç, hemostat ve kanama durdurucu olarak da tanımlayıcı isimler kullanılmaktadır. Piyasada bulunan ürünlerin her biri kendine özgü özelliklere sahiptir ve bu tür malzemeleri kullanan cerrahların, bunların avantaj ve dezavantajlarına aşina olmaları esastır. Geleneksel olarak kullanılan lokal hemostatik ajanların içinde kitosan bazlı, jelatin bazlı, selüloz bazlı ürünler, fibrin yapıştırıcılar, sentetik yapıştırıcılar ve daha birçok çeşit mevcuttur. Ancak hangi ürünün en iyi kanama kontrolü sağladığına yönelik olarak kabul görmüş bir strateji yoktur. Bu maddelerin her birinin mekanizması, maliyeti ve uygulaması farklıdır. Cerrahlar bazı cerrahi işlemlerde kullanılmak üzere bir hemostatik ajan veya doku yapıştırıcısı seçerken maliyet, uygulama, yan etkileri ve etkinliği göz önüne almalıdır [12,15,29-32].

Kanama kontrolünde kullanılan ideal topikal hemostatik ajan; savaş veya çatışma esnasında dahi kolay kullanılabilir olmalı, etkisini dakikalar içerisinde gösterebilmeli, kanama kaynağı arteriyal veya venöz de olsa etkin kanama kontrolü sağlayabilmeli, kolay uygulanabilir olmalı, yaralanan kişinin kendi kendine kullanabilmesine imkan tanımalı, enfeksiyon, toksisiteye yol açmamalı, sağladığı kanama kontrolü etkin ve uzun süreli olmalı, uygulandığı dokuda olumsuz yan etkileri olmamalı, ilerleyen dönemde yara iyileşmesine olumsuz etkileri olmamalı, ekonomik olmalı, saklanması için özel ortama gereksinim olmamalı ve raf ömrü uzun olmalıdır [10,12,17,25-28].

Topikal kan durdurucular, askeriyede, sahada görev yapan mayın temizleme ve patlayıcı madde imha ekiplerinde, eğitim amaçlı atışların yapıldığı alanlara görevlendirilen ekiplerde, acil müdahale olanaklarının kısıtlı olduğu hudut karakollarında, merkeze uzak karakollarda ve müstakil görev yapan unsurlarda, her türlü kontrol noktasında, göreve çıkan tüm araçların ilk yardım çantalarında, sıhhiye birliklerinde, deniz seyrüseferlerindeki revirlerde, devriye ve kontrol görevi yapan her türlü araçta, kullanıcı ve teknik personel için her türlü hava aracında, askeri ve sivil arama-kurtarma ekiplerinde, doğal afet yardım

görevlerinde, istihbarat timlerinde, iş güvenliği anlamında şirket ilk yardım dolabında, evlerde, trafik acil setlerinde, doğa sporlarını yapanların ilk yardım kitlerinde, hastane, klinik, poliklinik ve sağlık ocaklarında, 112 ve itfaiye birliklerinde, veteriner kliniklerinde, diş hekimlerince kullanılabilir [33].

Bu doğrultuda, kan durdurucu özellik içeren, kan absorplama davranışı yüksek, hemolitik, trombosit agregasyonu sağlayan, pıhtılaşma mekanizmasını hızlandıran ve antibakteriyel olarak etkin olan biyomedikal malzeme geliştirilmesi bu çalışmada hedeflenmiştir. Çalışmada sünger, toz ve film şeklinde numuneler hazırlanmıştır. Temel hemostatik madde olarak kitosan kullanılmıştır. Kitosanla birlikte polietilen oksit ve polivinil alkol gibi maddeler de kullanılarak kan durdurucu özelliğe etkileri incelenmiştir. Üretim tekniği olarak dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve öğütme yöntemleri kullanılmıştır.

Hazırlanan kan durdurucu numunelerin karakterizasyonu aşamasında ilk olarak, gözeneklilik, su absorplama oranı, geçirgenlik, hemostatik etkinlik, kan absorpsiyon, aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT), protrombin zamanı (PT), fibrinojen aktivite (FIB) ve trombin zamanı (TT) testleri uygulanmıştır. Bu testlerin sonucunda numuneler içerisinde en iyi hemostatik etkinlik değeri gösteren numunelere; hemoliz, trombosit agregasyonu, antibakteriyel etkinlik, taramalı elektron mikroskobu (SEM), partikül boyut dağılımı, fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) testleri uygulanmıştır.



## 2. KANIN YAPISI

Kan, atardamar, toplardamar ve kılcal damarlardan oluşan damar ağının içinde dolaşan; akıcı plazma ve hücrelerden (alyuvar, akyuvar ve kan pulcukları) meydana gelmiş kırmızı renkli hayati bir sıvıdır. Kana latince hema, kanı inceleyen bilim dalına ise hematoloji denir. Bu sözcükler eski Yunanca'da kan sözcüğünü karşılayan haima'dan türetilmiştir. Kolloit bir madde olup homojen görünse bile, heterojen bir karışımdır [34]. Dolaşımda ki toplam kan hacminin normal değeri vücut ağırlığının % 8'idir. Bu değer 70 kg'lık bir insanda 5600 ml'dir. Kanın bileşimi 2 kısımdan oluşur; % 55 kanın sıvı kısmı (plazma veya serum) ve % 45 kanın hücre sel elementleri (şekilli elemanlar). Plazmanın büyük kısmı sudur. Bu su içinde besin maddeleri, proteinler ve diğer yaşamsal önemde kimyasal maddeler bulunur. Alyuvar (eritrosit), akyuvar (lökosit) ve kan pulcukları (trombositler) ise kan hücrelerini oluştururlar [35]. Serum, plazmanın pıhtılaşma faktörleri ve fibrinojenin uzaklaştırılmasından sonra geriye kalan kısmıdır [36]. Kanın 3 önemli görevi vardır:

- 1-Taşıma: Birincil önem taşıyan görevi oksijenin taşınmasıdır. Kan, oksijeni ( $O_2$ ) akciğerlerden dokulara taşır. Hücreler de oksijeni kandan alırlar ve enerji üretiminde kullanırlar. Enerji üretimi sırasında hücre içinde karbondioksit ( $CO_2$ ) açığa çıkar. Açığa çıkan bu  $CO_2$ , hücre dışına atılır. Kan, karbondioksiti solunumla vücut dışına atılması için akciğerlere taşır. Sindirim sisteminde besinlerden emilen yağlar, amino asitler, glikoz ve su, kan ile dokulara taşınır. Böylece hücreler için gerekli olan temel besin, enerji maddeleri ve su sağlanmış olur. Kan taşıdığı hormonlar, vitaminler ve inorganik maddeler aracılığıyla hücreler ve organlar arasındaki iletişimi ve düzeni sağlar [35].
- 2-Düzenleme: Kan, vücudun asit-baz ve ısı dengesini sağlar. Vücutta su ve tuz dengesinin korunmasına yardım ederek bütün hücrelerin belirli bir gerginlik içinde görevlerini sürdürmelerini sağlar. Biyokimyasal reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan ısıyı içine alır ve vücut yüzeyinden uzaklaşmasına yardım eder. Böylece vücut sıcaklığını belirli sınırlar içinde sabit tutar [35].
- 3-Koruma: Kan çeşitli hücrelerin yardımıyla vücudu yabancı maddelerin, mikroorganizmaların ve toksinlerin etkisinden korur. Bu fonksiyonu fagositoz ve bağışıklık reaksiyonları ile yapar. Organizmada hücrelerdeki biyokimyasal etkinlikler sonucu ortaya çıkan asit ve bazları, tampon maddeleri (kanda bulunan bikarbonat, fosfat,



protein ve hemoglobin) ile nötralize eder ya da bu asit ve bazları akciğer ve böbreklere taşıyarak organizmadan uzaklaştırır [35].

Kan taşıdığı pıhtılaşma faktörleri ile gerektiğinde pıhtı oluşturur ve kan kaybını önler [35].

## 2.1. Plazma

Plazma, kanın hacminin % 55'ini oluşturmaktadır. Plazmanın bazı kaynaklara göre % 92'lik kısmı, bazı kaynaklara göre ise % 90'ı sudan oluşur ve geriye kalan bölümü organik (% 1,1) ve inorganik (% 0,9) maddeler olan plazma proteinleri, gazlar (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>), aminoasitler, karbonhidratlar, yağlar, hormonlar, üre, ürik asit, laktik asit, enzimler, antikorlar, pıhtılaşma faktörleri, sodyum, potasyum, iyot, demir, bikarbonat gibi elementlerden oluşmaktadır [34]. Plazmanın asıl amacı, kanın dokuların ilgili bölümüne taşınmasını sağlamaktır. Plazmada bulunan katı maddelerin büyük miktarı proteinlerden oluştuğu da bilinmektedir. Plazma yalnızca kanın vücutta dolaşmasına yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda atık ürünlerinde hücrelerden alınmasını sağlar. Plazmanın bileşenleri sürekli olarak yenilenmektedir. Hücrelerin beslenmesine ve atıklarının alınmasına yardımcı olan plazmalar, bağışıklık sistemi hücrelerini de içinde barındırırlar. Kan plazması kendisini 48 saatte bir yenilemektedir [34,35].

Plazma proteinleri (% 7-8) ağırlık olarak plazma içindeki en fazla bulunan çözünmüş maddelerdir. Üç gruba ayrılırlar: albümin (% 58), globülin (% 38) ve fibrinojen (% 4). İlk ikisi örtüşen fonksiyonlara sahiptir. Fibrinojen kanama durumunda kanın pıhtılaşmasını sağlar. Albumin en çok bulunan plazma proteindir ve karaciğer tarafından sentez edilir. Karaciğer bozukluğu durumunda Hipoalbuminemi denilen plazma albumin düşüklüğüne neden olur [34]. Plazma globulinleri birçok çeşit türde bulunmaktadır. Elektroforez yoluyla globulinler alfa, beta ve gamma parçalarına ayrılabilirler. Alfa ve beta globulinleri çeşitli proteinleri bağlayıp, çeşitli yerlere taşırlar. Gama globulinler kullanılarak çeşitli hastalıklarda bağışıklık sağlayan savunma maddeleri yapılmaktadır. Hücreler normalde plazma proteinlerini içlerine almazlar, amino asitleri kendi proteinlerini yapmak üzere kullanırlar. Bu nedenle, plazma proteinlerine, hücrelere giden ya da oradan gelen ve plazmayı taşınım için kullanan diğer organik içeriklerinden farklı olarak bakılmalıdır [33-36].

Plazmada alınan gıdaların metabolizma ürünleri olan ürik asit, kreatinin, amino asitler gibi bir grup organik moleküller de bulunmaktadır. Diğer organik maddeler ise glikoz, yağlar ve kolesteroldür. Plazmanın ana inorganik bileşenleri elektrolitlerdir. Bunlar; sodyum ( $\text{Na}^+$ ), klor ( $\text{Cl}^-$ ), kalsiyum ( $\text{Ca}^{++}$ ), fosfat ( $\text{PO}_4^{-3}$ ), sulfat ( $\text{SO}_4^{-2}$ ) ve magnezyumdur ( $\text{Mg}^{++}$ ) [34].

## 2.2. Şekilli Elemanlar (Kan Hücreleri)

Kanın % 45'lik kısmı, kanın şekilli elemanlarından (kan hücreleri) oluşur. Kan hücreleri 3'e ayrılır; alyuvarlar (eritrositler, kırmızı kan hücreleri, RBC), akyuvarlar (lökositler, beyaz kan hücreleri, WBC) ve trombositler (kan pulcukları, platelet, plt). Eritrositlerin kandaki miktarı yaklaşık % 45, lökosit ve trombositlerin ise yaklaşık  $< \% 1$ 'dir. Erişkin bir insanda alyuvarlar, trombositler ve birçok akyuvarlar kemik iliğinde üretilmektedir. Bir kısım akyuvar kemik iliği dışında üretilmektedir [35].

### 2.2.1. Alyuvarlar (Eritrositler, Kırmızı kan hücreleri, RBC)

Kana kırmızı rengi veren hücrelerdir.  $1 \text{ mm}^3$  kanda ortalama 4,2-6,2 milyon eritrosit bulunur. Kanın hücre bölümünün neredeyse tamamını meydana getirirler. Alyuvarlar bikonkav disk şeklinde olup, ortalama çapları yaklaşık  $7,8 \mu\text{m}$  ve kalınlıkları da en kalın noktada  $2,5 \mu\text{m}$  merkezde ise  $1 \mu\text{m}$  veya daha azdır. Alyuvar ortalama hacmi ise  $90-95 \mu\text{m}^3$ 'tür. Alyuvarların şekli, kapillerden geçerken belirgin olarak değişebilir [33]. Çekirdek ve organelleri olmadığı için bölünemezler ve yaşam süreleri kısıtlıdır (120 gün).  $1 \text{ mm}^3$  kanda kadınlarda ortalama 4,8 milyon, erkeklerde 5,4 milyon alyuvar bulunmaktadır [34-37].

Eritrositlere kırmızı rengini veren taşımakta oldukları hemoglobin denilen bir proteindir ve hücre ağırlığının  $1/3$ 'ünü oluşturur. Hemoglobin, 4 hem (demir) ve bir globin molekülünden oluşmaktadır. Hücre içindeki hemoglobin mükemmel bir asit-baz tamponudur, bu yüzden alyuvarlar tam kanın tamponlama gücünün önemli bir kısmından sorumludurlar. Eritrositlerin esas işlevi akciğerlerden dokulara oksijeni ileten hemoglobini taşımaktır. Hemoglobin molekülündeki hemoglobin zincirlerinin tipi, hemoglobin oksijen bağlama eğilimini belirler. Hemoglobin, dolaşımda kalabilmek için eritrosit içinde olmalıdır [33,35].

Hemoglobin molekülünün en önemli özelliği oksijenle gevşek ve tersinir olarak bağlanma yeteneğidir. Vücutta hemoglobinin başlıca fonksiyonu akciğerlerde oksijenle bağlanabilme ve ardından, oksijen gaz basıncı akciğerlerden çok daha düşük olan doku kapillerinde bu oksijeni bırakma yeteneğine bağlı olduğundan, oksijen, hemoglobin molekülündeki demirin iki pozitif bağı ile birleşmez. Bunun yerine demir atomunun koordinasyon bağlarından bir tanesi ile gevşekçe bağlanır. Bu aşırı derecede zayıf bir bağıdır, bu yüzden birlik kolayca bozulabilir. Ayrıca oksijen iyonik oksijen değildir, moleküler oksijen halinde taşınır, dokularda bağlantının zayıflığı ve kolayca tersinir olması nedeniyle iyonik oksijen yerine çözülmüş moleküler oksijen halinde doku sıvılarına geçer [33].

### **2.2.2. Akyuvarlar (Lökositler, Beyaz kan hücreleri, WBC)**

Akyuvarlar, belirli şekilleri olmayan, çekirdekli kan hücreleridir. Pigment bulundurmadıklarından bunlara beyaz kan hücreleri de denmektedir. Vücudumuzun savunma sisteminin hareketli elemanları olan lökositler, organizmayı bakterilere, virüslere, parazitlere ve tümörlere karşı savunurlar. Bir çekirdekleri ve diğer hücre organelleri bulunur. 10-20 mikron çapında bulduklarından alyuvarlardan daha büyüklere. 1 mm<sup>3</sup> kandaki sayıları 4 000-10 000 arasında değişebilir. Lökositler kılcal damar duvarını aşarak çevre bağdokuya geçebilir ve burada bizzat savunma görevi üstlenebilirler [34,35].

Beyaz hücrelilerin en önemlileri granülositler, lenfositler ve monositlerdir. Akyuvarlar yaklaşık % 60-70 granülositler, % 25-30 lenfositler ve % 3-8 monositlerden oluşmaktadır. Granülositler de kendi aralarında nötrofil (% 60-70), bazofil (% 0,5-1) ve eozinofil (% 2-4) olmak üzere üçe ayrılırlar [34-37].

Kısmen kemik iliğinde ve kısmen de lenf dokusunda oluşurlar. Akyuvarların gerçek önemleri çoğunun özellikle ciddi enfeksiyon ve inflamasyon bölgelerine taşınmalarıdır, böylece enfeksiyon etkenlerine karşı hızlı ve güçlü bir savunma sağlarlar. Bu hücreler bir arada çalışarak, iki yolla hastalıkları önlerler: 1) Yayılımcı bakteri veya virüsleri fagositoz ile harap ederek ve 2) antikorlar ve duyarlı lenfositler oluşturarak. Granülositler ve monositler yayılımcı organizmayı esas olarak sindirerek, yani fagositoz ile vücudu korurlar. Lenfosit ve plazma hücrelerinin işlevi ise temelde immün sistem ile ilişkilidir [33].

### 2.2.3. Kan pulcukları (Trombositler, Plateletler)

Trombositler, renksiz, çekirdek içermeyen, yuvarlak ya da oval, 1-4 mikrometre çapında küçük diskler olup, kemik iliğinde bulunan ve akyuvarlara benzeyen bir başka hücre tipi olan megakaryositlerden (trombosit üretiminden sorumlu kemik iliği hücresi) türemiş hücrelerdir. Hematopoetik (kan yapıcı kök hücreler) sistemin büyük hücreleri olan megakaryositler, kemik iliğinde ya da kana geçtikten sonra parçalanarak trombositleri oluşturur. Çekirdeği olmayan trombositlerde diğer hücrelerden farklı birçok organel gelişmiştir ve çoğalamalarına karşın trombositler hücrenin birçok fonksiyonel özelliklerini taşırlar [38,39]. Çapları 1-2 mikrondur. 1 mm<sup>3</sup> kanda 150 000-350 000 trombosit bulunur. Dolaşımdaki ömrü 7-10 gündür. Kandaki trombosit sayısının artması durumuna trombositoz, azalmasına ise trombositopeni (trombopeni) denilmektedir. Ayrıca, pıhtılaşma mekanizmasını başlatan "tromboplastin" (doku faktörü) enzimini üretirler [33,34]. En önemli özellikleri; biçimsel değişme ve yapışkanlık göstermeleridir. Kanın pıhtılaşmasını uyarıp, damarlardaki çatlakların onarılmasını sağlar ve kanın damar dışına çıkmasına engel olurlar. Trombositler damar yaralanmalarında, damarın iç yüzüne yapışarak yaralı bölgeyi tıkarlar. Salgıladıkları trombokinaz (kalsiyum iyonlarının varlığında protrombini trombine dönüştüren enzim; bir proteinaz) enzimiyle pıhtılaşmada rol oynarlar. Pıhtı meydana geldiğinde katılarak yaranın ağzını bürerler ve kanamayı durdururlar [35].



### 3. KANAMA

Damar bütünlüğünün bozulması sonucu kanın damar dışına çıkmasına, kanama (hemoraji) denir. Kanamaya; yaralanma, kırık, çıkık, hipertansiyon, aşırı basınç değişiklikleri vb. durumlar neden olur [19].

Yetişkin bir insan vücudunda yaklaşık 5-6 litre kan bulunur. Yaklaşık vücut ağırlığının  $1/13=7$  ml/kg kadar kan kaybı (% 10) durumunda destek gerekir. Kan kaybı, % 20'nin üzerine çıkarsa hayati tehlike oluşur. Bu nedenle kanama, kan kaybına bağlı ölümü engellemek için hemen müdahale edilmesi gereken acil bir tablodur [19]. Kanamanın ciddiyetini belirleyen unsurlar:

- Kanamanın hızı
- Vücutta kanın aktığı bölge
- Kanama miktarı
- Kişinin fiziksel durumu
- Kişinin yaşı [19].

#### 3.1.Kanamaya Çeşitleri

Kanamalar, vücutta kanın aktığı bölgeye göre dış kanama, iç kanama ve burun, kulak gibi dışarı açıklığı olan organlardan gelen kanama olarak üç şekilde sınıflandırılır:

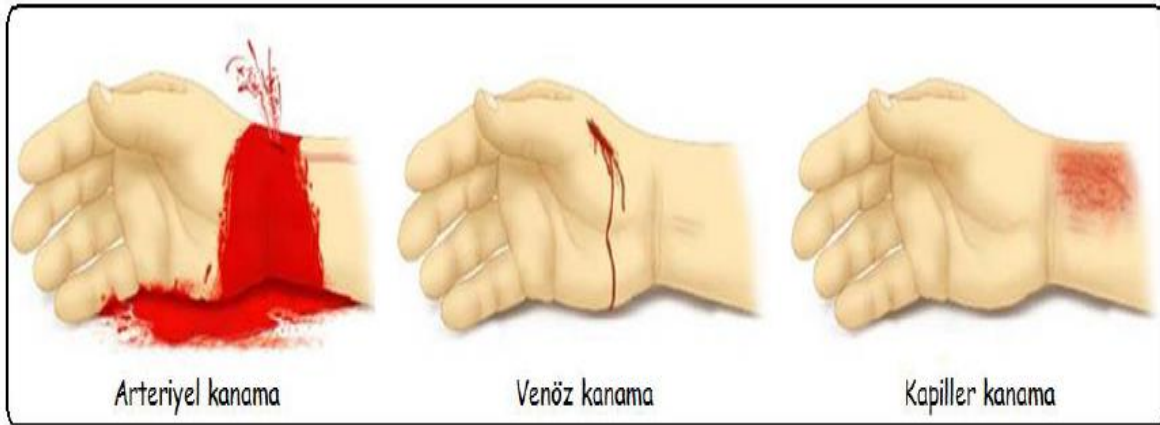
- 1)Dış kanama: Deri bütünlüğünün bozulması sonucu vücut dışına olan ve gözle görülebilen kanamadır [19].
- 2)İç kanama: Vücut içinde vücut boşluklarına ve dokular arasına olan, gözle görülemeyen, belirti ve bulgularla izlenen kanamadır [19].
- 3)Dışarı açıklığı olan organlardan kaynaklanan kanama: Kulak, burun, ağız, anüs, üreme organlarında oluşan kanamadır [19].

Dış kanamalar, kanayan damarın türüne göre arteriyel, venöz ve kapiller kanama olmak üzere üçe ayrılır:

Arteriyel kanama: Arterlerin elastik olması ve kalbin itici kuvvetinden dolayı arterler içinde yüksek bir kan basıncı vardır. Arter kanamalarında kan, parlak kırmızı renkte, kalp atışı ile senkronize ve fişkirir tarzdadır. Kanayan arterin üst noktasına bastırıldığında kanamanın durduğu gözlenir [19].

Venöz kanama: Venöz kanamada kan koyu kırmızı renktedir, venalarda basınç çok düşük olduğundan kanama fişkirir gibi değil, sürekli akar tarzdadır. Venöz kanda CO<sub>2</sub> fazla olduğundan akan kanın rengi koyu kırmızı renktedir [19].

Kapiller kanama: Kanama sızıntı şeklindedir ve birden çok kanayan nokta vardır. Kanama bası ile durur [19].



Resim 3.1. Kanayan damarın türüne göre kanama çeşitleri [19]

Vücut, küçük çaplı kanamaları kontrol altına alabilir ve çoğu zaman 6-10 dk arasında kanama kendiliğinden durur. Bu şekilde kanamanın durdurulmasına hemostaz denir. Bir sonraki bölümde ayrıntılı olarak anlatılacak olan hemostaz ve kan pıhtılaşmasında, kanamalı bölgede kan önce hızla akar, sonra bütünlüğü bozulan damarda gelişen vazokonstrüksiyonla birlikte damar çeperi daralacağından kan kaybı azaltılmaya çalışılır. Trombosit tıkaçının oluşması ve koagulyasyonla damar duvarında meydana gelen hasar kapatılır ve böylece kanama durdurulur. Büyük çaplı kanamalarda ise bu mekanizma yetersiz kalır, kanama durdurma yöntemleri ile kanama kontrol altına alınmalıdır [19].

#### 4. KANAMAYI DURDURMA (HEMOSTAZ)

Hemostaz, travma sırasında ve/veya sonrasında damar bütünlüğünün bozulmasıyla meydana gelen ve kanamayı durdurmak için organizmanın geliştirdiği bir dizi reaksiyondur. Hemostaz, kan kaybının önlenmesi ve kanamanın durdurulması olarak da tanımlanmaktadır. Damar duvarındaki yaralanmayı takiben pıhtı oluşumunu ve doku tamiri ile sonuçlanan süreçleri içerir. Damar duvarı, plazma proteinleri ve trombositler arasındaki ilişkilerin düzenlenmesi ile kan kaybı önlenir [31,40,41].

Normalde, vasküler endotelyum (iç damar zarı), fibrinoliz aktivasyonu ve damar duvar elastikiyeti düzenlenmesi, trombosit kümeleşmesinin ve kan pıhtılaşmasının engellenmesi ile kan akışkanlığını korur. Damar kopmuş ise, kan pıhtılaşma mekanizması başlatılır. Sağlam damarlarda dolaşan kanın dışarı sızmasını önlemek ve travmaya uğramış damarlarda meydana gelen kanamayı durdurmakta sırasıyla damar duvarı, trombositler ve pıhtılaşma mekanizması rol oynar. Kan kaybının önlenmesi enzim-koenzim kan pıhtı oluşumunu başlatan maddenin aktivasyonunu içeren kademeli reaksiyonlarından oluşur. Normal hemostaz meydana gelmesi için, kan damarları sağlıklı olmalı, trombositler yeterli sayıda olmalı ve gerekli pıhtılaşma mekanizmaları kusursuz olmalıdır. Bir pıhtının, görevini yerine getirdikten sonra fibrinolitik sistem tarafından ortadan kaldırılması gerekir [42-47].

Bir damar zedelendiği zaman çeşitli mekanizmalarla hemostaz sağlanır. Bunlar:

- 1)Vazokonstriksiyon veya vazospazm: Damar büzüşmesi, damar yaralanmalarından sonra kanamayı durdurmak için oluşan ilk mekanizmadır.
- 2)Trombosit tıkaçı oluşumu: Trombositlerin damarın hasarlı bölgesinde toplanarak tıkaç oluşturmasıdır. Kan akışına engel olmadan yaralı bölgedeki deliği tıkarlar.
- 3)Koagülasyon (Pıhtılaşma): Kanamanın durması için önemli olan üçüncü mekanizma koagülasyondur. Koagülasyonda bulunan aşamalar;

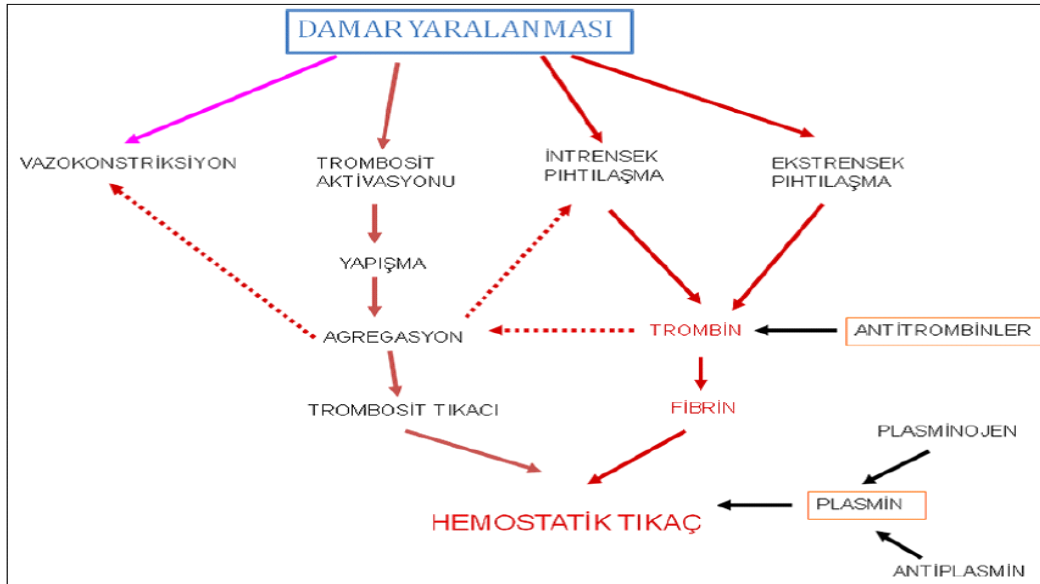
-Protrombin aktivatörünün oluşması: Damarın yırtılması ya da kanın kendisinin hasarlanmasına cevap olarak kanda bir düzineden fazla pıhtılaşma faktörünün rol oynadığı bir dizi kimyasal reaksiyonlar kompleksi meydana gelir. Net sonuç, aktive olan tüm maddelerin protrombin aktivatörü denen bir kompleks oluşturmasıdır.



- Protrombin → Trombine dönüşmesi (Kalsiyum iyonları  $Ca^{++}$  gerekli): Protrombin aktivatörü protrombinin trombine dönüşümünü katalizler.
- Fibrinojenin → Fibrin'e dönüşmesi: Trombin bir enzim görevi yaparak fibrinojeni fibrin iplikçilerine çevirir, daha sonra fibrin iplikçileri trombositler, kan hücreleri ve plazmayı da içine alarak pıhtıyı oluşturur [33].

#### 4.1. Kanamayı Durdurma Mekanizmaları

Damar zedelendiği zaman meydana gelen kanamayı durdurma mekanizmalarını dört ayrı bölümde ayrıntılı olarak belirtmek gerekirse: 1) damar spazmı (vasküler faz, vazokonstrüksiyon), 2) trombosit tıkaçı oluşumu (trombosit faz, primer faz), 3) kanın koagülasyonu sonucu kan pıhtısı oluşumu (koagülasyon fazı, sekonder faz), 4) fibröz dokunun pıhtı içine doğru büyümesiyle damardaki deliğin kalıcı olarak kapatılmasıdır (fibrinoliz fazı) [31,33,45,41,48]. Bu aşamalar birbirleri ile kesin sınırlar oluşturmazlar, iç içe geçmişlerdir. Hemostaz, koagülasyon ve fibrinoliz arasındaki hassas dengenin korunduğu fizyolojik bir süreçtir (Şekil 4.1) [39,41,49].



Şekil 4.1. Hemostatik tıkaç oluşumu [41]

##### 4.1.1. Vazokonstrüksiyon (Vasküler faz, Damar spazmı)

Kan damarı kesildikten veya yırtıldıktan hemen sonra, travmanın damar üzerine etkisi ile damar duvarında kas spazmı (kasılma), vazokonstrüksiyon meydana gelir, böylece daha

fazla kan kaybının oluşması engellenir. Kasılmayı başlatan faktörler; lokal miyojenik spazm (yerel kas kasılması), hasarlanan dokular (endotel) ve trombositlerden kaynaklanan lokal hümorale (vücut sıvıları ile ilgili) faktörler ve sinirsel refleksleri içerir. Vazokonstriksiyonun büyük kısmı travma sonucu damar duvarına doğrudan hasarla başlayan lokal miyojenik (kasta üreyen) kasılmalar sonucu gelişir. Daha küçük damarlarda vazokonstriksiyonun büyük kısmından vazokonstriktör (damarları daraltmaya yarayan madde, damar büzücü) bir madde olan Tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)'yi serbestleştiren trombositlerin aktivasyonu sorumludur [33,39,41,45,49-53].

Damar hasarını takiben çevre dokularda oluşan ağrı uyarısı da sinirsel refleksleride başlatarak vazokonstriksiyona eşlik eder. Damar ne kadar çok zedelenirse spazmın derecesi o kadar büyük olur. Bu lokal damar spazmı dakikalar ve hatta saatlerce sürebilir ve bu süre içinde trombosit tıkaçı oluşumu ve kan pıhtılaşması gelişir. Sonrasında vazokonstriksiyonu, vazodilatasyon (kan damarlarının genişlemesi) takip etmektedir. [31,33,41,45,48,51,52].

#### **4.1.2. Trombosit tıkaçı oluşumu (Trombosit fazı, Primer hemostaz)**

Trombosit fazı, yaralanma yerlerindeki trombosit tıkaç oluşum sürecidir ve saniyeler içinde meydana gelir. Bir kan hücresi olan trombositin öncelikli görevi pıhtı oluşturmaktır. Trombositlerin, sitoplazmalarında çeşitli aktif faktörler vardır. Bunlar; trombositlerin kasılmasını sağlayan aktin ve miyozin molekülleri ile diğer bir kasılabilir protein olan trombostenin, çeşitli enzimleri sentezleyen ve çok miktarda kalsiyum iyonlarını (Ca<sup>+2</sup>) depolayan endoplazmik retikulum ve Golgi aparatının kalıntıları, mitokondri, adenosin tri fosfat (ATP) ve adenosin di fosfat (ADP) oluşturabilen enzim sistemleri, birçok damarsal ve diğer lokal doku reaksiyonlarını sağlayan lokal hormonlar olan prostaglandinleri sentezleyen enzim sistemleri, pıhtılaşmasıyla ilişkili olarak pıhtılaşma mekanizmasında görev alan önemli bir protein olan fibrin stabilize edici faktör, damar endotel hücrelerinin, damar düz kas hücrelerinin ve fibroblastların çoğalma ve büyümelerini ve böylece hasarlı damar duvarlarının tamiri için gerekli hücre sel büyümeyi sağlayan büyüme faktörü [33,39,50,51].

Trombositlerin hücre membranı da önemlidir. Hücre zarındaki glikoprotein örtüsü trombositlerin normal endotel duvarına yapışmasını önlerken, damar çeperlerinin

hasarlanan alanlarına, özellikle zedelenen endotel hücrelerine ve damar çeperlerinde daha derinlerde açığa çıkan kollajene yapışmalarını sağlar [33]. Hücre zarında bulunan fosfolipitler, pıhtılaşma mekanizmasında aktive edici görev alır [50,51]. Bir damar zedelendiğinde eğer damardaki hasar çok küçükse, hasar genellikle kan pıhtısı yerine trombosit tıkaçı ile kapatılır. Vücutta hergün birçok küçük damarsal delikler oluşur. Trombosit tıkaç mekanizması, gün içinde yüzlercesi görülen çok küçük damarlardaki ve endotel hücrelerindeki yırtıkların kapatılması için son derece önemlidir. Gerçekte, endotel hücrelerindeki çok sayıda küçük delikler genellikle trombositler tarafından kapatılırlar; trombositler endotel hücreleriyle kaynaşarak bir endotel hücre membranı oluşmasını sağlarlar [33]. Kapiller kan kaybını durdurmada esas önceliğe sahiptir. Normal koşullar altında trombositler diğer trombositlerle ya da damar endoteli ile etkileşmeden serbestçe kan damarında dolaşırlar. Endotelde zedelenme olması durumunda pıhtı oluşumuna neden olan bir olaylar zinciri tetiklenir. Kan damarında bir kesik meydana geldiği zaman trombositlerden adenazin difosfat açığa çıkar. Bu, trombositleri kümeleştirme özelliğine sahip bir nukleotiddir. Böylece trombositler birbirlerine tutunduğu gibi lezyona uğramış kollajene de tutunarak o bölgede bir trombosit tıkaçı meydana getirirler [46]. Trombosit tıkaçı, damarın herhangi bir noktasındaki yırtılma, damar duvarı ya da damar dışı dokuların etkisiyle, trombositlerin aktive olmasına ve bu aktiflenen trombositlerinde yeni trombositleri aktive etmesiyle, gelişen bir kısır döngü ile oluşur. Bu kısır döngü içinde trombositler hasarlı bölgeye gelerek adezyon, aktivasyon, sekresyon (salınım) ve agregasyon (kümeleşme) fonksiyonlarını yerine getirirler. Başlangıçta zayıf olan tıkaç, damar hasarı küçükse, kan kaybını önlemede başarılı olmaktadır [31,41,51,54-56].

Trombosit tıkaçı oluşumunda gerçekleşen trombosit fonksiyonlarını kısaca açıklamak gerekirse; endotel zarının bozulması, trombosit ve pıhtılaşma sürecini aktive eden subendotelial dokuyu ortaya çıkarır. Trombositlere adeziv özellik kazandıran ve subendotelial dokulara bağlayan temas aktivasyonu yoluyla adezyon işlemi başlar [47]. Hücre zarında bulunan glikoprotein reseptörleri damar yüzeyindeki kollajen liflere ve hasarlı endotel hücrelerine yapışarak trombositlerin aktive olmasını sağlar [57]. Vasküler hasar sonucu açığa çıkan subendotelial bölgedeki kollajene ya doğrudan glikoprotein Ia/IIa reseptörü aracılığı ile veya trombosit yüzeyindeki spesifik bir reseptör olan trombosit glikoproteini Ib-IX kompleksi ile damar endotelial hücreler tarafından sentezlenen von Willebrand (vWF) faktörüne bağlanarak yapışırlar [39]. Von Willebrand Faktörü, plazmada kanın pıhtılaşmasını sağlayan hücreler olan trombositlerin içerisinde ve damar

duvarında bulunan bir proteindir. Trombositlerin damar yaralanması sonucunda ortaya çıkan, damar yüzeyinin daha altındaki katmanlara yapışmalarını sağlar. Pıhtılaşma süreci, ancak bu aşama gerçekleşikten sonra başlayabilir ve etkili olabilir. Bu işlemler sırasında trombositler hasara uğrayan damar yüzeyine, örneğin damar yüzeyindeki kollajen liflere ve hatta hasarlı endotel hücrelerine dokundukları zaman özelliklerini açık bir şekilde değiştirirler, şişmeye başlarlar, düzensiz bir şekil alarak, yüzeylerinden sayısız psödopodlar uzatırlar, kasılabilir proteinleri güçlü bir şekilde kasılarak çok sayıda aktif faktörler içeren granüllerin serbestlemelerini sağlarlar, yapışkan hale gelirler ve dokulardaki kollajene ve plazmadan hasarlı doku içine sızan von Willebrand faktörü adı verilen proteine tutunurlar. Bu olayda, endotel hücreleri tarafından yapılan vWF, trombosit ile subendoteliumu birleştiren köprü vazifesi görür [33]. Bu aşamada ilk gevşek trombosit plağı oluşur. Trombositlerin kollajen dokuya adezyonu ile alfa granüllerinden "salınım reaksiyonu" başlar. Bu sırada trombositlerden başta adenosin difosfat (ADP) olmak üzere fibrinojen, fibronektin, trombosit faktör-4 (PF4), kalsiyum ( $Ca^{++}$ ), transforme edici büyüme faktörü-beta ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü salgınır. Burada ADP, diğer trombositleri de, agregasyon oluşması için stimüle ederek lezyon bölgesine çağıran faktördür. Enzimleri tromboksan  $A_2$ 'yi oluştururlar. ADP ve tromboksan daha sonra çevredeki trombositleri etki ile onları aktive ederler ve bu yeni aktiflenmiş ilave trombositler de yapışkanlıkları sayesinde başlangıçta aktiflenmiş trombositlere yapışırlar. Böylece, damarın yırtılan herhangi bir noktasında, hasara uğrayan damar duvarı gittikçe artan sayıda trombositin aktive olması ve bu aktiflenen trombositlerin de yeni trombositleri aktive etmesiyle gelişen bir kısır döngüyü başlatarak trombosit tıkaçının oluşumunu sağlarlar. Damarda küçük bir hasar mevcutsa kan pıhtısı yerine trombosit tıkaçıyla onarım sağlanır. Pıhtılaşma sürecinin sonraki basamaklarında, fibrin iplikleri oluşarak trombositlere bağlanır ve böylece sıkı ve dayanıklı bir tıkaç oluşur [31,33,41,54,58].

Trombosit agregasyonunun olmadığı "trombasteni" hastalığında, trombosit membran glikoproteinleri olan Glikoprotein IIb ve IIIa'nın bulunmadığı saptanmıştır. Buna göre, trombosit agregasyonu için özellikle GIIb ve IIIa yüzey reseptörleri gerekmektedir. Agregasyon için bir diğer gerekli madde fibrinojendir. Fibrinojen GIIb/ IIIa'ya bağlanarak, trombositler arasında bağlantı kurmaktadır [31,54].

Hasarlı bölgede trombositlerin de katkılarıyla oluşan pıhtının büzüşerek yara uçlarını birbirine yaklaştırdığı kabul edilmektedir (retraksiyon). Pıhtı büzüşmesinde trombosit aktin

iskeletinin görev yaptığı ve bu süreçte integrin GPIIb/IIIa'nın düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir [41,59,60].

#### **4.1.3. Koagülasyon fazı (Yırtılan damarda kan pıhtılaşması)**

Hemostazın üçüncü mekanizması koagülasyon fazı (sekonder faz) yani kan pıhtısı oluşumudur. Koagülasyon, kandaki birçok protein veya koagülasyon faktörünün kimyasal reaksiyonu sonucu fibrin formasyonu ile sonuçlanan bir mekanizmadır [31,33,54]. Koagülasyon mekanizması, trombosit tıkaçının kanamayı durdurmakta yetersiz kaldığı daha büyük yaralanma durumlarında koagülasyon proteinlerinin de aktive olmasıyla başlamakta olup, fibrin oluşumu ile sonuçlanan plazma koagülasyon sistemi reaksiyonlarını içerir [41]. Koagülasyon mekanizmasının temeli, 1872 yılında Schmidt tarafından trombinin keşfi ve 1905 yılında Morawitz tarafından basit koagülasyon şemasının formüle edilmesi ile gösterilmiştir ve bu şekil günümüzdeki koagülasyon mekanizmasının temelini oluşturmaktadır [51,61].

Kan ve dokularda kan pıhtılaşmasını etkileyen maddelerin bir kısmı pıhtılaşmaya yardımcı olurken (prokoagülan), diğerleri ise pıhtılaşmayı engellemektedir (antikoagülan). Pıhtı mekanizmasının işlevini prokoagülan ve antikoagülan maddeler arasındaki denge belirler [33]. Normal vasküler sistemde antikoagülanlar baskındır ve kan pıhtılaşmaz, ancak damar hasarlandığında bu bölgedeki prokoagülanlar aktiflenerek, antikoagülanlara baskın hale gelir ve pıhtıyı oluşturur [50,51]. Damar duvarı ağır biçimde hasarlanmışsa 15-20 saniye içinde pıhtı gelişmeye başlar. Hasarlanma hafifse, pıhtılaşma 1-2 dakika içinde ortaya çıkar. Hasarlanan damar duvarı ve trombositlerden kaynaklanan aktivatör maddeler ve hasarlanan damar duvarına yapışan kan proteinleri pıhtılaşma sürecini başlatır [33]. Pıhtılaşma genel olarak üç basamakta gerçekleşir;

- 1.Damarın yırtılması ve/veya hasarlanması, kanda bulunan pıhtılaşma faktörlerinin aktive olmasına ve protrombin aktivatörü olarak adlandırılan bir kompleksin oluşturulmasına yol açar.
- 2.Protrombin aktivatörü, protrombinin trombine dönüşümünü katalizler.
- 3.Trombin enzimi fibrinojeni fibrin ağına çevirir ve bu fibrin ağı trombositleri, kan hücreleri ve plazmayı da içine alarak pıhtıyı oluşturur [50-51,62].

Protrombin 68 700 molekül ağırlığında alfa2-globülin özellikte bir plazma proteindir ve normalde plazmada yaklaşık olarak 15 mg/dl konsantrasyonda bulunur. Stabil olmayan bir proteindir ve kolaylıkla daha küçük bileşiklere parçalanabilir. Bu bileşiklerden biri 33 000 molekül ağırlığında olan trombindir. 340 000 molekül ağırlığında ve plazmada normal konsantrasyonu 100-700 mg/dl olan fibrinojen ise karaciğerde sentezlenir [50-51,56].

Pıhtılaşma mekanizmasında çok sayıda pıhtılaşma faktörü tesbit edilmiş ve farklı araştırmacıların bunlara değişik isimler vermiş olmasından dolayı, 1960 yılında konu ile ilgili olarak toplanan internasyonal komite, pıhtılaşma faktörlerini romen rakamları ile belirtmiş ve eş anlamlı kelimeleri bir araya getirmiştir. Kanda bulunan pıhtılaşma faktörleri ve eş anlamları Çizelge 4.1’de verilmiştir [39,46,63]. Çoğunlukla proteolitik enzimlerin inaktif formları olan pıhtılaşma faktörleri, aktive edildiklerinde enzimatik etkileri ile pıhtılaşma mekanizmasında seri reaksiyonlara yol açarlar. Pıhtılaşma faktörlerinin aktif formları için romen rakamının ardına “a” harfi konular; örneğin faktör VIII aktif formu, faktör VIIIa olarak gösterilir [51]. Pıhtılaşma faktörlerine verilen numaralandırma, faktörlerin pıhtılaşma reaksiyonuna giriş sırasına göre değil, faktörün bulunuş sırasına göre yapılmıştır. Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi faktör VI mevcut değildir. Önceleri akselerin adlı faktöre VI rakamı verilmiş, fakat sonradan bunun V. faktör yani proakselerinin aktif şekli olduğu anlaşılmıştır [46].

Damar duvarı ve/veya damar içi yapıların travmaya uğraması, hasarlanmış endotel hücrelerinin, damar endoteli dışında bulunan kollajene ve diğer doku elemanlarıyla teması pıhtılaşma mekanizmasını aktive eder. Bu aktivasyonda protrombin aktivatörü iki yol ile gerçekleşir;

- i.Kanın kendi içinde başlayan intrensik yol (yavaş ve en önemli basamak)
- ii.Damar duvarı ve çevre dokuların travmaya uğraması sonucu başlayan ekstrensik yoldur (hızlı ve erken aktive olan basamak) [41,50,51,62].

Bu iki yol, birbirinden bağımsız değildir; intrensik yol yükseltme aşaması olarak hizmet ederken, ekstrensik yol ilk aşaması olarak hareket eder [45,64-65].

Çizelge 4.1. Kanda bulunan pıhtılaşma faktörleri [31,33,39,46]

Pıhtılaşma Faktörü	Açık Adı
Faktör I	Fibrinojen
Faktör II	Protrombin, protrombin kompleks, pretrombin
Faktör III	Tromboplastin, Doku faktörü, doku tromboplastini
Faktör IV	Kalsiyum
Faktör V	Proakselerin, labil faktör, Ac-globulin (Ac-G)
Faktör VII	Prokonvertin, serum protrombin konverziyon akseleratör (Serum protrombin konversiyon akseleratörü, SPCA), Stabil faktör, otoprotrombin I, kotromboplastin
Faktör VIII	Antihemolifik faktör A (AHF), Antihemolifik globülin (AHG), trombosit kofaktör J, faktör antihemofilik A, tromboplastinojen
Faktör IX	Plazma tromboplastin komponenti (PTC), Christmas faktörü, Antihemolifik faktör B, Trombosit kofaktör II, otoprotrombin II, faktör antihemofilik B
Faktör X	Stuart faktörü, Stuart-Prower faktörü, Otoprotrombin III, protrombokinaz
Faktör XI	Plazma tromboplastin antesedanı (PTA), Antihemolifik faktör C
Faktör XII	Hageman faktörü (HF), kontakt faktör
Faktör XIII	Fibrin stabilize edici faktör (FSF), Laki-Lorand (L-L) faktör, fibrinaz, plazma transglutaminaz
Prekallikrein	Fletcher faktörü
Yüksek molekül ağırlıklı kininojen	Fitzgerald faktörü, HMWK (High-Molecular-Weight-Kininogen)
Trombositler	

Damardan alınan kanın bir tübe konmasında ve bu suretle yabancı bir yüzeye temasa gelmesinde 4-8 dakika içinde pıhtılaşır ki, bu intrinsik mekanizma ile olur. Eğer kana doku tromboplastini ilave edersek, pıhtılaşma çok daha çabuk, 10-15 saniyede vuku bulur. Bu şartlarda pıhtının oluşumu ekstrinsik sistemle açıklanır. Kesilen bir damardan akan kanın kısa bir sürede pıhtılaşması, her iki mekanizmanın işbirliği ile sağlanır. Sağlam damar endoteli ile temasta olan kanda pıhtılaşma faktörleri inaktif bir halde bulunurlar. Damar endotelinde en ufak bir zedelenme, doku tromboplastininin açığa çıkmasına neden olur ve ekstrinsik sistemi faaliyete geçirir. Aynı zamanda, kanın zedelene damar kesiti ve subendotel doku ile temasa gelmesi sonucunda intrinsik sistemin aktivasyonu başlar [46].

Kan damarının yırtılmasından sonra pıhtılaşma ekstrensik ve intrensik sistemlerin aynı anda aktivasyonu ile başlatılır. Doku faktörü ekstrensik yolu başlatırken, faktör XII ve trombositlerin damar duvarındaki kollajenle teması intrensek yolu aktive eder [33]. Ekstrensik ve intrensik sistemlerin her ikisinde de inaktif faktörler aktif hale gelmektedir. Öncülerden ürün oluşumunun katalize edilmesi ve son ürün meydana gelene kadar daha fazla faktörün aktive edilmesiyle devam etmektedir. İntrensik yol hasarlanma ya da değişimle, yaralı dokudan kanın serbest kalması ile başlarken, ekstrensik yol hasarlı dokudan gelen faktörlerin açığa çıkması ile başlar [31,40].

Bu sistemlere katılan proteinler fonksiyonel olarak dört grupta değerlendirilebilir:

1. Proenzimler: Bunlar inaktif prekürsörlerdir (öncü madde, önenzim, bir enzimin katalitik olarak etkin olmayan öncül durumu) (faktör XIII, XII, XI, X, IX, VII, II ve prekallikrein).
2. Kofaktörler: Bunlar proenzim aktivasyonunu arttıran maddelerdir (faktör VIII, V ve yüksek molekül ağırlıklı kininojen).
3. Fibrinojen: Pıhtı oluşumu için gerekli son ürünüdür.
4. İnhibitörler: Bunlar pıhtı yapımını sınırlayan veya pıhtıyı ortadan kaldıran maddelerdir (Plazmin, Protein C ve S, doku faktör yolu inhibitörü (TFPI, Antitrombin III)) [31,54].

Günümüzde koagülasyonun başlamasında primer yolun ekstrensik yol olduğu bilinmektedir. Pıhtılaşmayı oluşturan olaylar zincirinin, pıhtılaşmanın plazmadaki (intrensik) veya dokudaki (ekstrensik) başlatıcı sistemlerinin aktivasyonu ile başlatılmasında yalnızca ilk kısım farklıdır. Sonraki kısım fibrin yapımı için gerekli son basamaktır ve her iki durum için de ortaktır [41,66-67].

Ekstrensik yol: Protrombin aktivatörü oluşumunu başlatan ekstrensik yol, damar duvarı ve ekstravasküler sıvıların travmaya uğraması ile başlar. Hasarlı dokudaki doku membranından gelen fosfolipidler ve proteolitik enzim içeren doku faktörü (doku tromboplastini) olarak adlandırılan çeşitli faktör kompleksi serbestlenir [51]. Koagülasyonu başlatan en önemli fizyolojik faktör olan doku faktörü bir hücre zarı glikoproteinidir. Bu yol, dokuda oluşan tromboplastin olarak bilinen doku faktörü (TF/Faktör III) tarafından başlatılan ve hızla aktive olan bir yoldur. Doku faktörü, primer olarak endotel hasarlanması ile salınmaktadır. Ayrıca trombositler ve monosit/makrofajlar tarafından da sentezlenmektedir. Doku faktörü ortama salındığında,  $Ca^{++}$  iyonunun



varlığında hızla faktör VII (FVII)“yi aktive edip (FVIIa), faktör VIIa ile fosfolipid bir yüzey üzerinde birleşerek katalitik etkinliği olan doku faktörü–faktör VIIa kompleksini oluştururlar [39,68-69]. TF/FVIIa kompleksi de hızla bir taraftan faktör IX (FIX)“u aktive ederken, diğer yoldan da direk olarak faktör X (FX) üzerine enzimatik etki göstererek FXa'yı oluşturur. Faktör III hem direkt olarak, hem de FIX'u aktive etmek suretiyle indirekt olarak, Ca<sup>++</sup> yardımı ile, FX'u aktive eder; yolun bundan sonraki kısmı endojen (intrensik, içsel) yol ile ortaktır. Aktive olan FXa, FVa ve FII (protrombin) ile beraber protrombinaz adı verilen kompleksi oluşturur ve protrombinin trombine (FIIa) dönüşümü sağlar. Trombinin primer rolü fibrinojenden fibrin oluşturarak hemostatik plağın inşa edilmesidir. Trombin, fibrinojen molekülünden önce fibrinopeptid A ve B fragmanlarını kopararak fibrin monomerlerini ve daha sonra monomerlerin bir araya gelmesi ile fibrin polimerlerini oluşturur. Aynı zamanda fibrin stabilize eden faktör olan FXIII“ü aktive ederek fibrin polimerlerinin çapraz bağlarının oluşmasını ve güçlü fibrin pıhtısının meydana gelmesini sağlar. Oluşan bu pıhtı içinde fibrin lifleri, kan hücreleri ve plazma vardır [31,33,41,44,45,54,64,66,70-72].

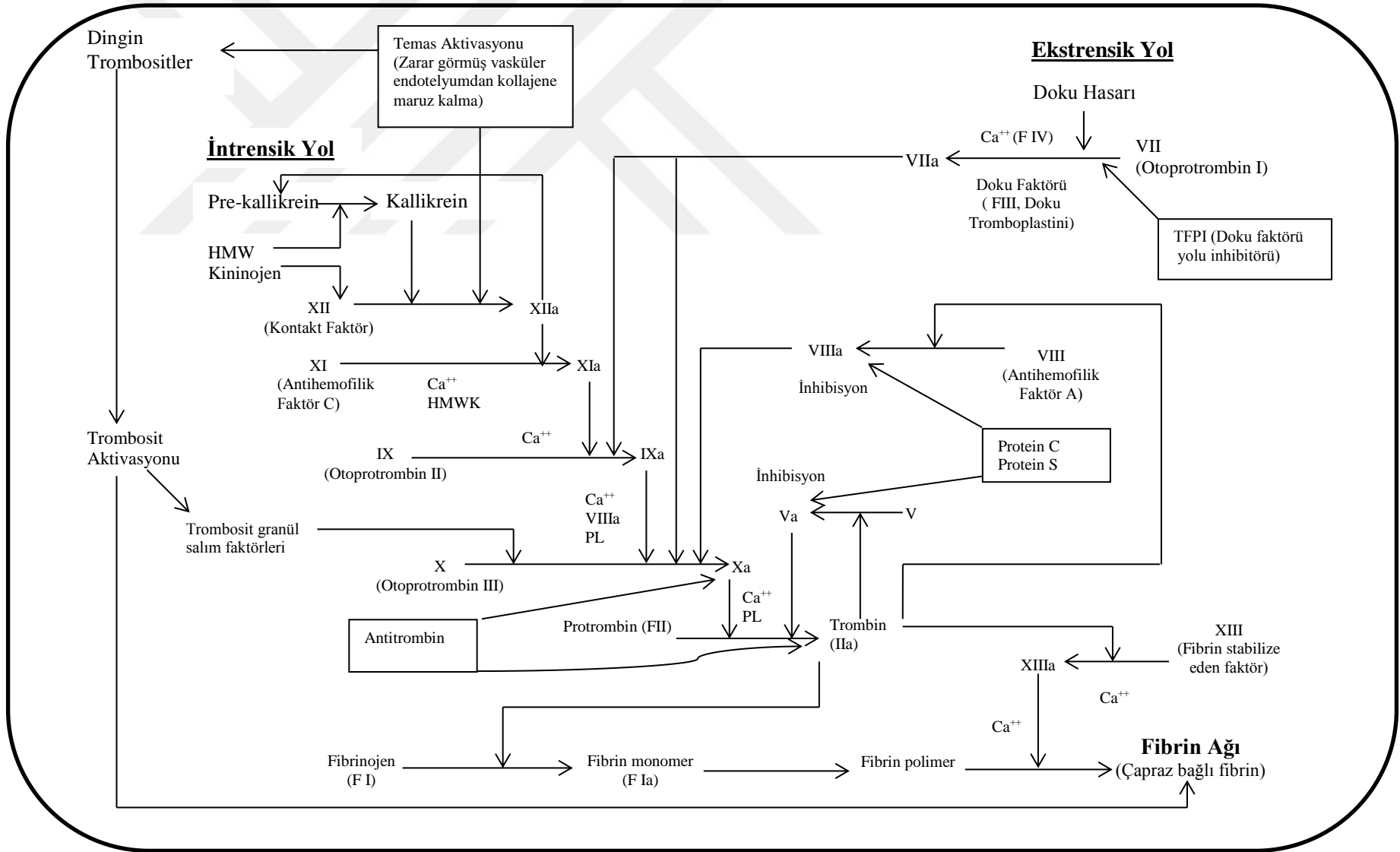
Polimerizasyonun ilk aşamasında, fibrin monomer molekülleri zayıf kovalent olmayan hidrojen bağlarıyla bir arada tutunur ancak yeni oluşan her bir ağ, diğerleriyle çapraz bağlar yapmaz. Bu özelliğinden dolayı oluşan pıhtı zayıftır ve kolayca çözünebilir. Plazma globulinlerinde az miktarda bulunan ve pıhtı içindeki trombositlerden de salınan fibrin stabilize edici faktör (F XIII), trombinle (F IIa) aktive edilir ve fibrin monomer molekülleri ve komşu fibrin ağları arasında çok sayıda çapraz bağların kurulmasına imkan sağlar ve böylece suda çözünmeyen ve plazmin ve diğer proteolitik enzimlere oldukça dirençli olan fibrin oluşur [50,62]. Koagülasyon mekanizması böylelikle pıhtı oluşumu ve büyümesiyle sonuçlanır. Pıhtı oluştuktan sonra birkaç dakika içinde kasılmaya başlar ve genellikle 20 ile 60 dk içinde pıhtıdaki sıvının çoğu ayrılarak serumu oluşturur. Serumu plazmadan ayıran özelliği, içinde fibrinojen ve diğer birçok pıhtılaşma faktörlerinin bulunmamasıdır. Pıhtı büzüşmesinde trombositler önemli rol oynar ayrıca pıhtının kasılmaması dolaşımdaki trombosit sayısındaki azalmanın bir göstergesidir [41,51,66,71,73].

İntrensik yol: İntrensik yol, kan elemanlarının travmaya uğraması ve hasarlı damar duvarındaki kollajenle teması sonucu aktive olur [51]. Bu yol, plazma içinde oluşur. İntrensik yolun başlangıcı son derece komplekstir ve FXII“nın herhangi bir proteolitik basamak gerektirmeden kanın herhangi bir yabancı yüzeye teması ile aktive olmaktadır.

Bu yüzey, *in vitro* olarak bir cam, silikon veya plastik olabilir. *İn-vivo* olarak da kollajendir [31,54]. Kanın travmaya uğraması ya da damar duvarındaki kollajenle teması kanda iki önemli pıhtılaşma faktörünü değiştirir: faktör XII ve trombositler. Bu aktivasyon, kanda bulunan faktör XII'nin aktivasyonuna, trombosit fosfolipitlerinin (PL) aktivasyonuna ve trombosit fosfolipitlerinin serbestlenmesine neden olur [33,51]. Zedelenen damar çeperindeki subendotelyal kollajene teması sonucunda Hegeman faktörü (Faktör XII) aktive olarak faktör XIIa olarak adlandırılan proteolitik bir enzime dönüşür. Bu aşamada, trombositlerde kollajene yapışarak trombosit faktör 3 olarak adlandırılan ve lipoprotein içeren trombosit fosfolipidleri ortama serbestlenir. Faktör XII, herhangi bir proteolitik basamak gerekmeden kanın herhangi bir yabancı yüzeyle teması ile aktive olmaktadır. Aktive olan faktör XII aynı zamanda birçok reaksiyonun zayıf aktivatörüdür [31,54]. Faktör XIIa, kallikrein tarafından faktör XII'nin aktivasyonunu teşvik etmek için bir kofaktör olarak da işlev gören yüksek molekül ağırlıklı kininojenin varlığında, Faktör XI aktive hale ve prekallikreini kallikreine dönüştürür [45,74-75]. Faktör XIIa faktör XI'yi enzimatik olarak aktive edebilmesi için, ortamda yüksek molekül ağırlıklı kininojen ve prekallikreine gereksinim vardır. Bu reaksiyonlar daima feed-back mekanizması ile birbirlerini etkilerler [31,54]. Aktive olan faktör XII (FXIIa), faktör XI'yi aktif hale (FXIa) geçirir. Faktör XIa enzimatik etki ile faktör IX'u aktive eder. Faktör XIa, Ca<sup>++</sup>, TF, faktör VII ve fosfolipid yüzeyin varlığında, faktör IX'u aktif hale (faktör IXa) getirir. Daha sonra Factor IXa, kalsiyum iyonları, Faktör VIIIa (VWF ile kompleks dolaşan ve trombinin proteolitik etkisi ile aktive edilen) ve trombosit fosfolipidleri (PL) ile Factor X aktive etmek için kompleks bir yapı oluşturur [76]. Bu kompleks tenaz olarak adlandırılır ve kabiliyetleri sayesinde Faktör X'a yapışır ve faktör X'u aktive (F Xa) eder [45]. Burada faktör VIII etkisinin, trombin varlığında arttığını belirtmekte yarar vardır. Bundan sonraki aşamada yine ekstrensik yolun aktivasyonuna bağlı koagülasyonun son aşamasında olduğu gibi, protrombinaz kompleksi (protrombin aktivatörü kompleksi) aracılığı ile trombin ve fibrin oluşumu görülür. Bu aşamaya ortak yol da denir. Faktör XIIa'nin başlattığı reaksiyon zincirindeki faktörlerden her biri Ca<sup>++</sup> ve diğer bazı faktörlerin yardımıyla kendisinden sonra gelen faktörü aktive eder [31,41,54,66,71-72]. İntrensik yolun ilk iki basamağı dışında, bütün reaksiyonların başlatılabilmesi veya hızlandırılabilmesi için kalsiyum iyonlarına (Ca<sup>++</sup>) gereksinim vardır. Canlılarda kalsiyum iyon konsantrasyonu hiçbir zaman kanın pıhtılaşma kinetiğini etkileyecek düzeylere düşmez. Diğer yandan, bir kişiden kan alındığında kalsiyum iyon konsantrasyonu pıhtılaşma için eşik düzeyin altına düşürülerek kanın pıhtılaşması engellenebilir [33].

Bu koagülasyon reaksiyonlarının büyük çoğunluğu fosfolipid yüzeyde gerçekleşir. Negatif yüklü fosfolipidlerle temas, tenaz (fosfolipid yüzeyde faktör IXa, kofaktör VIIIa, Ca) ve protrombinaz (fosfolipid yüzeyde faktör Xa, kofaktör Va, Ca) komplekslerinin oluşmasına yol açar. Bu iki kompleks, faktör Xa ve trombin oluşumlarının hızını artırır. Örneğin protrombinden trombin oluşumu, protrombinaz kompleksi varlığında sadece faktör Xa varlığına göre 300 000 kat hızlıdır [39,77-78]. Kan pıhtılaşma mekanizmasının şematik gösterimi Şekil 4.2’de verilmiştir.

Koagülasyon reaksiyonları ile trombin oluşumu belirli bir düzeyde sınırlanmalıdır. Eğer bu oluşum sınırlanmazsa, tüm dolaşım sisteminde yaygın olarak koagülasyon reaksiyonları gelişir ve sonuçta koagülasyon faktörlerinin tüketimi sonucu yaygın tromboz (damarda kan pıhtılaşması) bulgularına yaygın kanama bulguları da eklenir. Bu tabloya dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) denir [81]. Bu durumu engellemek için direkt proteaz inhibitörleri ve indirek proteoliz proteinleri olmak üzere iki farklı doğal antikoagulan mekanizması vardır. Direkt proteaz inhibitörleri antitrombin ve doku faktörü yolu inhibitörü (TFPI)’dür. İndirekt sistemde ise prokoagulan kofaktörleri proteolize uğratan protein C ve protein C’nin kofaktörü olan protein S vardır [39,82].



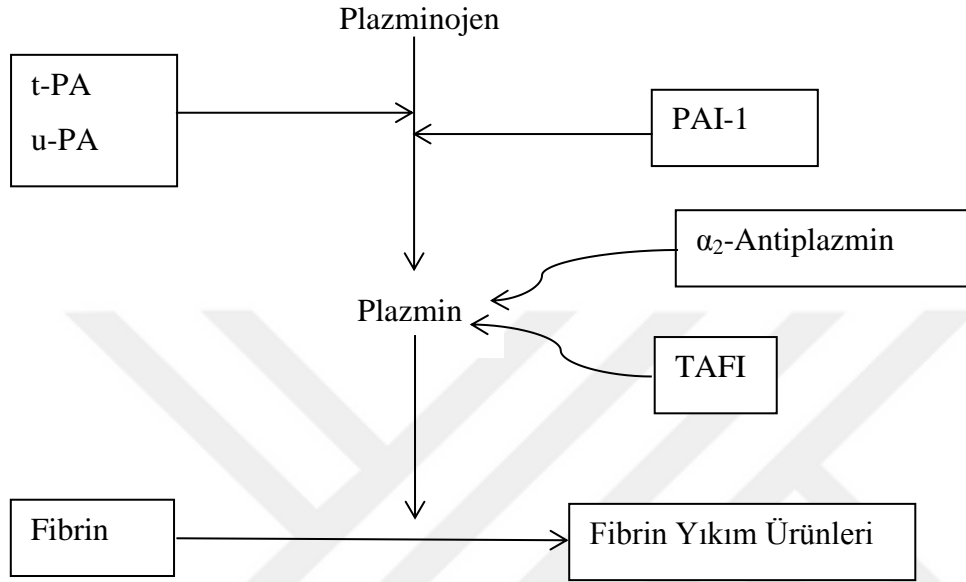
Şekil 4.2. Kan pıhtılaşma mekanizmasının şematik gösterimi [39,41,45,46,51,52,56,79,80]

#### 4.1.4. Fibrinoliz fazı (Fibröz organizasyon, Kan pıhtısının erimesi)

Fibrinoliz, kan pıhtısının engellenmesi ve çözülmesi için fibrinin fiziksel yıkımı olarak açıklanmaktadır [41]. Damar sisteminin, pıhtının ilerlemesini durdurmak ve dolaşan kanı sıvı halde tutmak için kurduğu bir denge mekanizmasıdır [31,83]. Pıhtı bir kez oluştuktan sonra, iki ayrı yönde gelişme gösterebilir: 1) Hasarlı alanı kapatan pıhtı bölümüne fibroblastlar yerleşir ve burada bir bağ dokusu oluşur. Damar duvarındaki küçük bir delikte oluşan pıhtı genellikle birkaç saat içinde fibroblastlarca istilaya uğrar. Fibroblastlar bağ dokunun ana hücreleridir ve yaraların iyileşmesinde işlevi olan kollajen adlı proteinin yapımından sorumlu hücrelerdendirler. 2) Dokular içine sızan kanın oluşturduğu veya damar içinde fazladan oluşan pıhtı bölümü enzimatik yıkıma uğrayarak pıhtı eriyebilir [33,39].

Fibrinolitik sistemin ana maddesi, plasminojen aktivatörleri tarafından plasmine dönüştürülen plasminojendir [31]. Plasminojen (profibrinolizin) kan plazmasında bulunan pıhtının çözünmesinde görevli olan plazminin etkin olmayan biçimidir. Bir pıhtı oluştuğunda, çok miktarda plasminojen de diğer plazma proteinleri ile birlikte pıhtının içinde tutulur, fakat aktive olana kadar plasmine dönüşmez ya da pıhtıyı eritmez [33,84,85]. Fibrinolizin düzenlenmesi endotel yüzeyinde olur [41]. Parçalanması esnasında trombosit kaynaklı adherensi ve koagülasyon aşamasını başlatan damar endoteli; aynı zamanda plasminojen aktivatörlerinin de başlıca kaynağıdır [31,83]. Plasminojenin plasmine dönüşümü, trombinin yüksek konsantrasyonuna tepki olarak endotelin hücrelerinden salınan iki aktivatör içerir; doku tipi plasminojen aktivatörü (t-PA) ve ürokinaz tipi plasminojen aktivatörü (u-PA). Damar içi fibrinolitik aktivite, doku tipi (t-PA) ve ürokinaz tipi (u-PA) plasminojen aktivatörleri ve PAI-1 (Plasminojen Aktivatör İnhibitör-1) ve  $\alpha_2$ -antiplazmin gibi inhibitörler arasındaki denge ile gerçekleştirilir [31,86]. Fibrin, plasminojenin aktivasyonu için bir kofaktör olarak rol oynarken, plazmin için de substrat görevi görür. Yaralanan dokular ve damar endoteli çok yavaş olarak doku plasminojen aktivatörü (t-PA) salgırlar ve t-PA pıhtı kanamayı durdurduktan birkaç gün sonra, fibrin varlığında plasminojeni aktif plazmin haline çevirir [33,84,85]. Plazmin fibrin yıkımı yaparak pıhtı erimesini sağlar. Fibrinoliz çoğunlukla  $\alpha_2$ -antiplazmin, PAI-1 ve trombin aktive edici fibrinoliz inhibitörü (TAFI) tarafından kontrol edilir [41,87,88]. Plazminin fibrinolitik işlem ürünü fibrin bölünmüş ürünleridir. Plazmin, fibrin matriksini çözer ve çözünür fibrin peptitleri ve D-dimer oluşur. Plazmin aynı zamanda hasarlı dokuyu

parçalayan metalloproteinazları da etkin hale getirir. Fibroblastlar ve lökositler yara içine göç ederler. Bu hücreler, lökositlerden ve aktif hale gelmiş trombositlerden salınan büyüme faktörleri ile uyumlu olarak damarın onarımı ve dokunun yenilenmesi için çalışırlar [31,33,41,51,56,83].



Şekil 4.3. Fibrinoliz fazının şematik gösterimi [39,41]



## 5. KAN DURDURUCU (HEMOSTATİK AJAN)

### 5.1. Kan Durdurucu

Genel olarak vücut dışı yaralanmalar, travmatik kesikler, kopmalar ve parçalanmalar, dış operasyonları, spontan ya da cerrahi girişimler sonrası oluşan minör ve majör kanamaların durdurulmasında kullanılan tıbbi cihaz ve ilaçlara verilen isimdir. Aynı zamanda, hemostatik ajan, hemostatik matriks, hemostatik tıkaç, hemostat ve kanama durdurucu olarak da tanımlayıcı isimler kullanılmaktadır [29,31].

Meskûn mahal ve kırsal arazide icra edilen her türlü Gayri Nizami Harp (GNH) harekâtlarında, özellikle taşıma ve kullanma kolaylıklarından dolayı özel kuvvet unsurlarının yaptığı her türlü operasyonda kullanılabilirler. Burada ürünün kullanım anında acı vermemesi icra edilen harekâtın gizliliği açısından önemlidir. Sahada görev yapan mayın temizleme ve patlayıcı madde imha ekiplerinde, eğitim amaçlı atışların yapıldığı alanlara görevlendirilen ekiplerde, acil müdahale olanaklarının kısıtlı olduğu hudut karakollarında, merkeze uzak karakollarda ve müstakil görev yapan unsurlarda, her türlü kontrol noktasında, göreve çıkan tüm araçların ilk yardım çantalarında, sıhhiye birliklerinde, ilk müdahaleyi yapacak Kıt'a unsuru sıhhiye personeline, deniz seyrüseferlerindeki revirlerde, devriye ve kontrol görevi yapan her türlü araçta, kullanıcı ve teknik personel için her türlü hava aracında, askeri ve sivil arama-kurtarma ekiplerinde, doğal afet yardım görevlerinde, istihbarat timlerinde, iş güvenliği anlamında şirket ilk yardım dolabında, evlerde, trafik acil setlerinde, doğa sporlarını yapanların ilk yardım kitlerinde, hastane, klinik, poliklinik ve sağlık ocaklarında, 112 ve itfaiye birliklerinde, veteriner kliniklerinde, dış hekimlerince kan durdurucular kullanılabilir [33].

İyi bir hemostatik ajanda bulunması gereken özellikler şunlardır:

- Öncelikle etkinliği iyi olmalıdır.
- Biyoyumlu olmalıdır.
- Güvenli olmalıdır.
- Esnek (bükülebilir) olmalıdır.
- Basit (sade) olmalıdır.



- Stabil olmalıdır.
- Alım gücü olmalıdır. Ekonomik olmalıdır.
- Ölçeklenebilir olmalıdır.
- FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) uyumlu olmalıdır.
- Tek kişi tarafından kolaylıkla taşınabilmelidir.
- Paketlerin taşınabilmesi için ilave bir tedbir, özel bir muhafaza gerekmemelidir.
- Kullanımı için özel bir eğitim gerektirmemelidir.
- Zorlu saklama koşullarından etkilenmemeli sıcak, soğuk ve nemli ortamlarda saklanabilmelidir.
- Paketlerin gece görüş teçhizatı ile okunabilir etiketleri olmalıdır.
- Kan sulandırıcı kullanan hastalarda kesin sonuç vermelidir.
- Hipotermik yaralılarda sonuç vermelidir.
- Yerleştirme sorunu olmamalıdır.
- Hem arter hem de venöz yaralanmalarda hızlıca pıhtılaşmalı ve tekrar kanamaya imkân vermemelidir.
- Isı üretmemeli ve kullanım anında acı vermemelidir.
- Yara bölgesinde ilave tahriş ve tahribat oluşturmamalıdır.
- Kullanım sonrası müdahale esnasında ilave tedbir gerektirmemelidir.
- Travma bölgesine uygulandıktan sonra kolay temizlenmelidir.
- Paketler darbelere dayanıklı olmalı, ancak ambalajı kolaylıkla açılabilmelidir.
- Tek kişi, başkasına olduğu kadar kendi kendine de kolaylıkla uygulayabilmelidir.
- Yan etki yaratmamalı ve alerjik reaksiyona sebep olmamalıdır.
- Vücut tarafından emiliminde risk yaratmamalıdır.
- Travma bölgesinde antimikrobiyal, antibakteriyel ve antifungal ortam yaratarak enfeksiyon riskini en aza indirmelidir [31,83,89].

Hemostatik ajanlar genel olarak, lokal olarak uygulanabilen (topikal) ve sistemik ajanlar olmak üzere iki kısımda incelenebilir. Geleneksel olarak kullanılan lokal hemostatik ajanların içinde kitosan bazlı, jelatin bazlı, selüloz bazlı ürünler, fibrin yapıştırıcılar, sentetik yapıştırıcılar ve daha birçok çeşit mevcuttur. Ancak hangi ürünün en iyi kanama kontrolü sağladığına yönelik olarak kabul görmüş bir strateji yoktur. Piyasada bulunan topikal hemostatik ajanların her biri kendine özgü özelliklere sahiptir ve bu tür malzemeleri kullanan cerrahların, bunların avantaj ve dezavantajlarına aşina olmaları esastır. Bu maddelerin her birinin mekanizması, maliyeti ve uygulaması farklıdır. Cerrahlar

bazı cerrahi işlemlerde kullanılmak üzere bir hemostatik ajan veya doku yapıştırıcısı seçerken etkinliği, yan etkileri, uygulama ve maliyet gibi birçok faktörü göz önünde bulundurmalıdır [31].

## **5.2. Topikal Hemostatik Ajanlar**

Geleneksel cerrahi kanama kontrolü yöntemlerine ek olarak, şu anda topikal hemostatik ajanların geniş bir spektrumu mevcuttur. Topikal hemostatik ajanların içinde selüloz bazlı ürünler, fibrin ve sentetik yapıştırıcılar mevcuttur. Son zamanlarda, kitosan ve zeolit gibi yeni ürünlerin etkinliği, yeni nesil lokal hemostatik ajanların faydaları devam eden çalışmalarda araştırılmaktadır [30].

### **5.2.1. Kitin/Kitosan bazlı hemostatikler**

En başarılı sonuçların elde edildiği biyoteknolojik açıdan en gelişmiş hemostatik tıkaçların hammaddesi kitinden elde edilen kitosandır [33]. Kitosan, yengeç, karides, ıstakoz gibi eklembacaklıların kabuklarında, bazı bakteri ve mantarların hücre duvarlarında bulunan ve doğada selülozdan sonra en yaygın olarak bulunan polimer kitinin ( $\beta$ -(1-4)-poli-N-asetil-D-glukozamin) deasetilasyonu ile elde edilen bir polimerdir [90]. Kitin ve kitosanın her ikisinde kan durdurucu özelliklere sahiptir [91,92].

Kitosanın getirdiği hemostatik özellikler vücut pıhtılaşma mekanizmasından tamamen bağımsız bir etki mekanizmasına sahip olsa da biyolojik olarak vücut tarafından kabul görmesi, antibakteriyel oluşu, antifungal, antimikrobik ve polielektrolit yapısı ile ilaçların vücuda kontrollü salınımı gibi ek faydalar da sağlamaktadır. Aynı zamanda kitosan iyileşmeye de yardımcı olan bir biyopolimerdir. Yapılan ilk deneylerde 4,4 mm'lik aort damarının kanamasında kullanıldığında, kitosanın en az 2 saatlik bir tekrar kanama yapmayan pıhtı oluşturduğu görülmüştür [33].

Kitosanın hemostatik mekanizması klasik pıhtılaşmadan bağımsız olup eritrosit hücre membranı ile kitosan arasındaki etkileşmeye bağlıdır [90,93]. Kitosanın, vazospazm indüksiyonu, kanama yerine eritrositlerin ve trombositlerin çekimi ve muko-yapışkan özellikleri de dâhil olmak üzere muhtemelen çok faktörlü bir hareket mekanizması vardır [26,92,94-99]. Kitin sargı için, bu özellikler, vazokonstriksiyon ve eritrositlerin, pıhtılaşma

faktörlerinin ve trombositlerin yaralanma tarafına harekete geçirilmesi sonucu olduğuna inanılmaktadır [91,99].

Kitosan bazlı sargılar, kitin bazlılara göre daha iyi kanama durduruculuk sağladığı gösterilmiş. Kitosanın kanın pıhtılaşmasını artırıcı etkisi kitine göre daha belirgin, kitinin trombositleri agrege etmesi ise kitosandan daha fazladır. Kan pıhtılaşma zamanının kitosan tarafından kısaltılmasının nedeni trombosit agregasyonu ve aynı zamanda eritrosit agregasyonudur [90]. Genelde, kitin bazlı sargıların, yüksek hacimli atardamar kanamalı modellerde ve daha ciddi yaralanmaların tedavisinde sınırlı etkiye sahip oldukları görülür [95,97].

Kitin ve kitosan bazlı sargıların birçok avantajları vardır. Bunlar kullanım kolaylığı, uzun raf ömrü, değişken sıcaklıklarda stabilitesi, protein kontaminasyonu eksikliği ve toksik olmamasıdır. Kitosanın antimikrobiyal özellikte olması ekstra bir avantajdır. Polikasyonik doğası gram-negatif bakterinin membranlarını bozmasını sağlar [26,94-98,100-104].

Kitosan içerikli emilebilir hemostatik maddelerin üretimi sırasında deasetilasyon derecesi (DA), moleküler ağırlık (MW) ve yapışkanlık gibi kitosanın fizyokimyasal özelliklerinin hemostatik aktiviteleri en iyi şekilde yürütmek için en uygun değerlerini temin etmek gerekir [51,105].

Kitin/Kitosan bazlı hemostatik ajanlar, piyasada Celox™ (Medtrade, Newport, OR), HemCon® (HemCon Medical Technologies, Inc, Portland, OR) ve RDH™ bandaj (Rapid Deployment Hemostat, Marine Polymer Technologies, Danvers, MA) olarak bulunmaktadır [12,30-31]. Kitosan esaslı hemostatik maddelerden günümüzde en çok kullanılanı Celox™'tur [51,106].

Kanama durdurucu Celox™, bilim adamı Edwim Lee Johnson'nun, Washington eyaletinin değişik okyanus kıyılarında yaptığı şaşırtıcı gözlemleri sonucunda bulunmuştur. Sahil boyunca parçalanmış ve bacakları kopmuş yengeçlerin herhangi bir kanamaya maruz kalmadıklarını tespit ettikten sonra, araştırmalarını bu yönde yoğunlaştıran Dr. Edwim Lee Johnson, yengeçlerin kanamalarının olmamasının ve de yaraların hızlı, temiz ve sorunsuz iyileşmesinin nedeninin, kabukluların kabuklarındaki kitosan maddesinin olduğunu belirledikten sonra Celox Kanama Durdurucu'nun geliştirilmesi için çalışmalara

başlamıştır. Haziran 2006 tarihinde de FDA'den onay alarak kanama durdurucuyu bulmuştur [30-31,106]. Celox Kanama Durdurucu, vücut dışı yaralanmalar, travmatik kesikler, diş operasyonları, spontan ya da cerrahi girişimler sonrası oluşan minör ve majör kanamaların durdurulmasında kullanılan tıbbi bir üründür. FDA'ndan ruhsatlı ve 93/42/CE Tam Kalite Belgesiyle vücut içinde kullanılır bir hemostatik ajan statüsündedir [51,106].

Celox markasının anlamı hücre kitlemedir [51,106]. Celox™, kitosan karbonhidrat yapısı içeren maddelerin bir karışımından üretilmiştir. Biyobozunur kompleks polisakkariddir [12,97,107,108]. Ağır moleküler yapıya emilebilir tozdur. Nanoteknoloji kullanılarak geliştirilmiştir. Granüller artı yüklü kitosan parçacıklarıdır. Nano teknoloji ile manyetik alan etkisi oluşturur. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte dokuda adeziv bir yapı oluşturarak dolaşımdaki kanın şekilli elemanlarının o bölgede toplanmasını sağlamakta, nitrik oksit yardımıyla vazospazm yapmakta ve trombositlerin fonksiyonlarını artırmaktadır [12,18,26]. Doğal pıhtılaşma mekanizmasından bağımsız olarak eksi yüklü eritrositler ile güçlü çapraz bağ oluştururlar. Eritrositleri manyetik alanla birbirine bağlar, trombositleri aktif hale getirir, fibrin pıhtısını en hızlı şekilde yapar. Kandaki su moleküllerini absorbe ederek ve pıhtılaşma faktörlerini konsantre ederek pıhtılaşmayı sağlar. Uzun süre (3-8 saat arasında) tekrar kanama yapmaz, ısı üretmez, biyolojik bir üründür, toksik değildir, hipoallerjiktir, antibakteriyel antimikrobiyal, antifungal, antikanserojen, antiasit, yara iyileşmesini hızlandırıcı, kemik iyileşmesini hızlandırıcı özellikleri vardır. Bilinen bir yan etkisi yoktur. Kanın pıhtılaşmasını engellemek veya oluşan pıhtıyı çözmek için heparin eklenmiş kanda da etkili olduğu ifade edilmektedir [12,33,83].

Etkinliği % 96-100 olan Celox, Silahlı Kuvvetlerde ve ameliyatlarda (organ nakilleri, kalp damar cerrahi vs.) aktif olarak kullanılıyor. İç kanamalarda kullanılması için aparat gerektirir [33,83]. Mevcut formları; granüler, eriyen paketler içinde granüler, aplikatör (derin ve giriş bölgesi zor olan alanlar için), ev ve diş hekimlerine yönelik paketler, çeşitli ebatlarda spanç/tampon şeklindedir. Granüler formundaki ürün, vücut dışı yaralanmalar ve travmatik kesiklerde kanamanın yoğunluğuna göre kanama durdurucu granüller, kanama bölgesine uygulanır ve 3-5 dakikalık tampon baskıdan sonra kanama tekrar etmeyecek şekilde durdurulur. Aplikatör formundaki ürün, vücut dışı yaralanmalar ve travmatik kesiklerde kanamanın yoğunluğuna ulaşılması imkânsız olan durumlarda kullanılmalıdır. Kullanımdan sonra serum fizyolojik ile yıkanarak temizlenir [31,106].

Ürünün granüler yapısı sayesinde, sıvı formunda bulunan birçok kanama durdurucunun sebep olduğu emboli riski yoktur. Sıvı ve ıslak formdaki kanama durdurucular ABD, NATO ve birçok silahlı kuvvetler tarafından diskalifiye edilmiştir. Ürün, nemli havada ve ıslak zeminde etkinliğini kaybetmemektedir [18,51]. Nanoteknoloji kullanılmadan üretilen hemostatik tıkaçların katyonik bağlama özelliği çok zayıftır ve trombositleri etkin bir şekilde aktif hale getiremezler. Bu yüzden kanamanın yeniden başlama riski yüksektir [109].

Ürünün ilk kullanıcılarının silahlı kuvvetler olması yapılan birçok araştırmaların askeri kökenli hastaneler olması dikkat çekmektedir. Özellikle ABD donanmasının bağımsız çalışmasında 48 denek femoral arter tam kesisini  $p=0,001$  olmak kaydıyla % 100 durdurması, 180 dakika süresince tekrar kanama yapmaması ve ürünün antibakteriyel, antimikrobik ve fungusit olması ürünün ABD, NATO ve birçok ülkenin silahlı kuvvetlerinin envanterine girmesini sağlamıştır [51,110].

HemCon®'un etken maddesi kitosan ( $\beta/\alpha$  Poly-N-asetil-D-glukozamin) biyopolimeridir. HemCon®, emilemeyen arka destek üzerine yapışmış aktif bir bileşen olarak liyofilize kitosan asetattan oluşan kitosan esaslı sargıdır [45]. Dikdörtgen HemCon bandajda 2 taraf vardır: yaraya yapışması gereken kitosan içerikli aktif bir taraf ve üzerine basınç uygulanabilecek yapışmaz bir taraf [91]. Plakalar halindedir ve plakalar emilmez. HemCon®'un hemostatik mekanizması, kitosanın pozitif yüklü özelliğinin bir sonucu olarak, pıhtı oluşumunu teşvik etmek ve sargı üzerine eritrositlerin uyarılmasını içerir. Sıvıyı emer ve organellerin konsantrasyonunu artırır. Etkinliği % 62'dir. Bakteriyostatik, antimikrobik, antikanserojen, antiasit olmasının yanında yara ve kemik iyileşmesini hızlandırıcı etkisi vardır. Aktif olarak silahlı kuvvetlerde kullanılıyor. Ameliyatlarda da kullanımı mevcuttur. İç kanamalarda kullanılmaz. Plakalar yara büyüklüğünde kesilmelidir. Eğitim gerektirdiği için uygulaması zordur. Oda sıcaklığında saklanmalıdır [33,83]. HemCon® gibi kitosan pansumanlar, çevre dokuya yapışarak ve mekanik olarak yaraları yapıştırarak sızdırmazlık işlevi görür. HemCon, Irak ve Afganistan'daki ABD güçleri tarafından şu anda kullanılıyor ve bir değerlendirmede, askeri kullanımda 64 olgunun % 97'sinde başarılı olduğunu göstermiştir [108].

Kitin sargı malzemelerinden en göze çarpanı, Amerikan Deniz Kuvvetleri'ne ait polimer teknolojisi firması olan Marine Polymer Technologies tarafından üretilmiş özel bir formüle

sahip “Rapid Deployment Hemostat” (RDH) bandaj hastane öncesi ve hastane içinde yaygın olarak kullanımdadır. Genetik olarak koagülopatik ya da kanamaya meyilli olan hastalarda da güvenle kullanılabilir [12]. HemCon® gibi kitosan sargılar şu anda RDH gibi kitin sargılardan daha çok kanıtlanmış durumdadır. Bir yaraya düzgün uygulandığında, HemCon etkili bir şekilde kan kaybını azaltabilir ve antibakteriyel özelliklerinin yararı da eklenir [91].

### 5.2.2. Kuru fibrin sargılar

1999 yılında, Amerika Kızılhaç ve US ordusu, dondurularak kurutulmuş (liyoofilize edilmiş) fibrinojen ve trombin gazlı beze ekleyerek, yaralanma bölgesinde bu pıhtılaşma faktörlerinin konsantrasyonunu arttırmak için, kuru fibrin yapıştırıcı sargıyı oluşturdu [91]. Kuru fibrin yapıştırıcı sargı, fizyolojik kan pıhtılaşmasında fibrin oluşumunda ana bileşenler olan, kuru, toz haline getirilmiş fibrinojen, trombin ve kalsiyum klorürden oluşur [18,22,45,111,112]. Ancak, kısa raf ömrü ve her bir kullanımdan önce karıştırılması gerekliliği savaş alanında kullanılabilirliğini sınırlar ve uygulama için kuru, stabil bir ortam gereği vurgulanmıştır. Stabilitesi, kullanım kolaylığı ve biyoemilebilir ajan olması ile savaşta ilk başarılarını göstermiştir. Sınırlamalarında kırılabilirliğinin (güçlü bir koruyucu ambalaj gerektiren) yanı sıra, 4 X 4 in<sup>2</sup> için 500 \$ -1000 \$ bir maliyeti vardır [91].

Kuru fibrin yapıştırıcı sargı hayvan çalışmalarında çok başarılı olmuştur. Liyoofilize fibrinojen ve trombinin gazlı beze eklenmesi arteriyel, venöz ve arka bacak kurşun yarası nedeniyle keçilerde kanama yayılımında olduğu gibi domuzda atardamar kanamasına rağmen kan kaybını azalttığı gösterilmiştir. Domuzda aort ve femoral arter transeksiyonu gibi karaciğer ve böbrek yaralanmaları normal ve koagülopatik olarak, kuru fibrin yapıştırıcı sargı, standart gazlı bez tedaviye kıyasla kan kaybını azaltır. İnsan trombin ve fibrinojen kullanımıyla ilgili olası virüs bulaşma hakkında ilk endişeler, kan donör tarama ve viral inaktivasyonu yoluyla elimine edilmiştir [22,45,91,111].

### 5.2.3. Mineral zeolit

QuikClot® (Z-Medica LLC Wallingford, CT) gibi mineral zeolit hemostatik ajanlar, silikon, alüminyum, magnezyum ve sodyum oksitler gibi inert minerallerden oluşan moleküler elekler içeren granül tozlardır [91]. Zeolit mineral, % 65-85 oranında kalsiyum

sodyum aluminosilikat, % 25-35 oranında magnezyum aluminosilikat ve ölçülebilir sınırın altında kuartz'dan (fibröz SiO<sub>2</sub>) oluşur ve % 1'lik artık nem içerir [12,26]. ABD'de piyasada bulunan QuikClot<sup>®</sup>, pıhtı oluşumunu artırmak için moleküler bir elek gibi çalışır, ekzotermik reaksiyonda yaralanma bölgesinden su emer ve pıhtılaşma faktörleri, trombositler, eritrositler ve kan pıhtılaşma faktörlerinin hemostaz teşvik etmek için konsantrasyonunu artırır [91]. Kan, plazma absorpsiyonu ile konsantre olur. Trombosit ve pıhtılaşma faktörlerinin çok daha hızlı bir şekilde pıhtı oluşturması sağlanır. Önerilen diğer bir mekanizma, pıhtılaşma yolunda protein aktivasyonunu tetikleyen zeolit granülün negatif yüzey yükü ile trombositlerin aktivasyonudur [45,113,114]. Bu malzeme, şu anda sadece eksternal kullanım için FDA tarafından 2002 yılında onaylanmıştır. Eksternal kanamalı hayvan modellerinde, QuikClot<sup>®</sup> (QC<sup>®</sup>)'un kan kaybı ve ölümden azalma sağladığı kanıtlanmıştır [30,31]. Alerjik değildir, biyolojik olarak inerttir, sterildir ve kolayca kanayan yaraların içine dökülür [94]. Değişik versiyonları vardır. Toz ve spanç formları mevcuttur. En etkin olanı ısı ve Ca<sup>+2</sup> ile kanamayı durduranıdır. İç kanamalarda kullanılmaz, 140 °C'ye kadar ısı üretir. Üçüncü dereceden yanık ve doku tahribine yol açar. Uzun vadede zeolit kullanımında peritonel mezotelyoma riski vardır. Aktif kullanılır fakat ameliyatlarda kullanılmaz [33]. Kullanımı kolay ve stabildir. Afganistan ve Irak'daki yaralanmalar sonrasında kullanıldığı bildirilmektedir [12,26,91].

Önceki çalışmalar vasküler yaralanma hayvan modellerinde kullanımı ile kan kaybının düştüğü ve hayatta kalmayı geliştirdiğini göstermiştir. Bu ürünün üç büyük sınırlamaları vardır. Birincisi, su adsorpsiyonu ile sonuçlanan kimyasal reaksiyon ekzotermiktir [94]. Uygulandığı bölgede yüksek termal etki nedeniyle doku hasarına yol açabilmektedir [12]. Çalışmaya bağlı olarak, sonuçta meydana gelen sıcaklıklar (159,4 °F ile 107,6 °F) 42 °C ile 70,8 °C arasında değişmektedir. Kullanımı sonrasında histolojik olarak minimal doku yaralanmaları saptanmıştır [12,27]. Klinik raporda, rahatsızlık, ağrı ve bunun yanı sıra çok sayıda yanık durumları rapor edilmiştir. Bu reaksiyondan lokal doku yıkımı büyük bir endişeye ve araştırılacak bir alana neden olmuştur. Kaolin emdirilmiş gazlı bez gibi, granül zeolit sadece harici kullanım için onaylanmıştır. Bu ürün ile ilgili ikinci problem granüler formülasyonudur. QuikClot tozu ile tedavi edilmiş yaraların değerlendirilmesi üzerine, uygun uzaklaştırma ve granüllerin yıkanması son derece zordur. Kalan granüller cansız doku ile birlikte yabancı cisim enflamatuvar reaksiyon yol açabilir, enfeksiyon için bir yuva olarak hareket edebilir. Granüler örtü ile ilgili üçüncü konu, yüksek basınçlı kanayan yaralarda kullanımı ile ilgilidir. Düşük basınçlı kanama durumlarında ekzotermik

dehidrasyon reaksiyonu zamanla yaralama bölgesinde oluşur, ancak toz hızlı kanama olan yara içine yerleştirildiği zaman, kanama yerinde etkinliğini sınırlayan, yaraların bağlı bölümleri yer değiştirmektedir [94,95].

Zararlı olabilecek bir başka etkisi ise partiküllerin parçalanması ile solunumsal irritasyona neden olabileceği, ateşe atıldığında yanabileceği ve sıvı ile reaksiyona girdiğinde ısı oluşturabileceği bilinmelidir. Cilde doğrudan temas ettiğinde irritasyona neden olabilir. Mukozaya direkt olarak kullanılmamalıdır. Toz formunun kullanımı sırasında başka bölgelere yayılarak zarar verici etkisi olabilmektedir. Özellikle rüzgarlı bir ortamda kullanılırsa uygulayan ve uygulanan kişinin gözüne kaçarak zarar verici etkileri olabilmektedir. Gözle temas ettiğinde göz yaşarması ya da kızarıklık gibi irritasyonlara neden olabilir. Böyle durumlarda göz bol su ile yıkanmalı ve uzman seviyesinde konsülte edilmelidir. Sindirim sistemine yönelik bir zararlı etkisi bilinmemektedir [12].

QuikClot üreticisi, kendi formülasyonunda önemli değişiklikler yaparak yukarıda belirtilen sorunları gidermek için çalışmıştır. Ürün şuan mineral zeolit ile emdirilen cerrahi bir sargı olarak sunulmaktadır. Bu sargıyı sıkıştırma ile kullanılmasına olanak sağlar, teoride sargının doğrudan kanayan bölgeye uygulanmasını sağlar, yıkanmasına gerek yoktur ve aynı zamanda bazı kullanımlarda yarada tanelerin tutulmasını önler. Mineral bileşikler ayrıca, ekzotermik reaksiyonu azaltmak ve lokal doku hasarını en aza indirmek için önceden hidratlanmıştır. İlk sonuçlar, bu değişimlerin olumlu etkisini teyit etmiş görünse de, yeniden formüle edilmiş ürünün etkinliğini göstermek için klinik kullanımda daha ileri araştırma gereklidir [26,92,94,95,98,99,115].

#### **5.2.4. Kaolin sargılar**

Kaolin, bir alüminyum fillosilikat kil mineralidir ve pıhtılaşmanın intrensik yolunun güçlü bir katyon tabanlı aktivatörüdür. Mevcut sargı formülasyonu kaolin tozunun önemli bir miktarının (yaklaşık % 10 toplam ürün ağırlığı) (QuikClot Combat Gauze, Z-Medica Corporation Wallingford, Connecticut) bir gazlı bez malzemeye (% 50 polyester ve % 50 rayon) emdirilmesini içerir. Bu tasarım, açık yaraların tamponu ve kullanım kolaylığı gibi çok uyumlu bir ürün yapısı sağlar [94].



Kaolin-emdirilmiş gazlı bez, kanamanın kısa bir süre sonrasında uygulama ile intrensik pıhtılaşma yolunu geliştirerek, hemostatik pıhtı gelişimini destekler. Kaolin emdirilmiş gazlı bez, 3-5 dakika sürekli manuel basınç uygulandığı zaman en etkilidir. Ürün emilemeyen olduğu için yaralardan kaldırılması zorunludur, ancak bu kanama sürüyorsa ve direkt vasküler (damarsal) maruz kalma durumu varsa daha kontrollü şartlar altında yapılabilir [94].

Kaolinin, pıhtı oluşumunun hızını düzenleyen aktif pıhtılaşma faktörlerinin varlığına dayanıyor olması olası bir eksikliklerdir. Bu nedenle etkinliği önemli ölçüde fonksiyonel veya dilüsyonel koagülopati ortamında azalabilir. Bu sargı türü şu anda ABD askeri kuvvetleri tarafından sahada kanama için başlangıç tedavi yönetimi olarak kullanılmaktadır. Kaolin emdirilmiş gazlı bez FDA tarafından sadece harici kullanım için onaylanmıştır [94].

#### **5.2.5. Oksitlenmiş rejenere/oksitlenmiş selüloz**

En yaygın kullanılan hemostatik ajanlar, okside selülozdan elde edilir [30-31]. Oksitlenmiş selüloz ilk 1942 yılında Frantz tarafından tanıtıldı, 1960 yılında okside rejenere selüloz piyasaya sürüldü. Bu malzeme, selülozik asit oluşturmak için azot dioksit ile okside edilen bitki malzemesinden oluşturulmaktadır. Rejenere formu, sürekli selüloz elyaflarının gevşek örme yapısından dolayı etrafını çevreleyen ortama daha kolay bir şekilde uymasını sağlar [91,94-96]. Diğer biyolojik fiziksel ajanlar gibi, trombosit agregasyonu ve hemostaz için bir platform görevi görür. Uygulandıkları yerde dokudan su çekerek şişerler ve selülozik aside dönüşerek yapay bir pıhtı oluştururlar. Bu durum, doğal pıhtılaşma olayını teşvik eder [51]. Oksitlenmiş selülozun her iki formu da çevresinin pH'ını azaltır. Bu düşük pH, kan ile temas ettikten sonra, maddenin kahverengi renk değişikliğini açıklayan kırmızı hücre lizisine (hücre zarının parçalanması ve hücre içeriğinin salınımı) neden olur. Serbest hemoglobin, asit hematin oluşturulması için asit ile reaksiyona girer [94,95]. Düşük pH'ın teorik avantajlarından biri, çeşitli patojenik organizmalara karşı görülen antimikrobiyal etkisidir. Bundan başka, düşük pH, yapay bir pıhtı üreterek, hemostaz oluşturan kostik bir madde olarak hareket eder [91].

Sargı bezi, gazlı bez, fibriler kümeleri, pamuk tampon ve sünger olmak üzere çok farklı çeşitlerde üretilir. Kuru uygulandığında daha fazla hemostatik etki gösterdiği için kullanım öncesi nemlendirilmiş olmamalıdır. Tüm formlar emilebilir ve genellikle kullanılan yere ve

miktarına bağılı olarak 1-6 haftalık süre içinde tam olarak parçalanırlar [94,96]. Bununla birlikte, kalp cerrahisi sonrasında okside selüloz liflerinin birkaç yıl histolojik olarak tarifedildiği raporlar vardır [91]. Absorbe olma süreleri, uygulandıkları bölgeden geçen kan akımı ile ters ve uygulanan kitlenin büyüklüğü ile doğru orantılıdır. Ufak miktarda uygulanmışlarsa 2-7 günde absorbe edilebilir. Hücresel reaksiyon veya yara dokusu (yara izi) oluşumuna neden olmadan uygulama yerinden absorbe edilirler. Kesilen kemik yüzeylerinde devamlı bırakılmamalıdır, yeni kemik oluşumunu engeller [51].

Oksitlenmiş selüloz birçok avantajlı niteliklere sahiptir. Kullanımı kolay, cerrahi aletlere yapışmaz, uygulama yerine uyum sağlar ve formuna bağılı olarak bir boyutta kesilebilir [94,96]. Kanama kontrolü gerçekleşinceye kadar kanayan dokuya karşı kolayca sıkıca tutunabilir [91]. Bir diğer önemli yararı, patojenik bakterilerin bir serisine karşı antimikrobiyal özellikleridir. Bunlar, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, metisiline dirençli *Staphylococcus epidermidis*, vankomisine dirençli *Enterococcus* ve penisilin dirençli *Streptococcus pneumoniae* gibi antibiyotik dirençli suşlar içermektedir. Bu antibakteriyel kalitesi, oksitlenmiş selüloz ürünlerinin oluşturduğu düşük pH ortamına dayandırılır. Oksitlenmiş selüloz ürünlerinin çeşitli dezavantajları vardır. Önemli miktarda yara içinde kalır ise yabancı cisim reaksiyonları oluşabilir. Bu nedenle hemostaz elde etmek için gerekli olan en küçük miktar kullanılmalıdır. Diğer dezavantajlar oksitlenmiş selüloz asiditesi ile ilgilidir. Düşük pH değeri, trombin gibi diğer biyolojik topikal ajanların aktifliğini bozarak parçalanmasına neden olur. Bu nedenle diğer ajanlarla birlikte kullanımı tavsiye edilmez. Ayrıca düşük pH, artmış yangıya ve gecikmiş iyileşmeye yol açabilir [94,96].

ABD'de ticari olarak Surgicel<sup>®</sup> ve Nu-Knit<sup>®</sup> (Ethicon, Inc, Cincinnati, OH) olarak bulunur. Bu sınıf ajanlar, öncelikle lokal pıhtılaşmayı aktive yeteneklerine dayalı hemostatik özellikleri ile tampon olarak kullanım için tasarlanmıştır. Herhangi bir iç pıhtılaşma bileşeni içermese de, pıhtı oluşumunu uyarmak ve pıhtı organizasyonu için uygun bir üç boyutlu yapı sağlamak üzere tasarlanmıştır. Bu ürünlerin işlevi için, işlevsel bir pıhtılaşma sisteminin bulunması gerekir [30-31].

ActCel kimyasal işleme tabi tutulmuş ve sterilize edilmiş selülozdan yapılmış ve Surgicel<sup>®</sup> ile benzer yapıya sahip yeni bir topikal hemostatik ajandır. Kan ile temas halinde 3-4 katına kadar genişler ve hemen jel kıvamına geçer. Tamamen çözünmesi 1-2 hafta kadar

süre alır. ActCel'in etki mekanizması çok yönlüdür. Biyokimyasal olarak koagülasyonu artırır ve fiziksel olarak pıhtı stabilizasyonunu sağlar. Pıhtı oluşturmak için meydana gelen çoğu enzimatik reaksiyon kalsiyuma ( $Ca^{++}$ ) bağlıdır. Yapılan çalışmalarda ActCel'in kalsiyum iyonlarına bağlanarak kalsiyumu pıhtılaşma için daha kullanışlı hale getirdiği görülmüştür. Bu malzemenin bir diğer karakteristik özelliği ise bakteriostatik özellikte oluşudur. Özellikle steril alan oluşturmanın zor veya imkansız olduğu vücut kavitesi ve kontamine yaralarda bu özellik önem kazanmaktadır [33].

### 5.2.6. Mikrofibriller kollajen

Mikrofibriller kollajen (MFC) Hait tarafından 1970 yılında geliştirilmiştir. Sığır alt derisinden elde edilir ve toz halinde mevcuttur (Davol tarafından Avitene Flour, Integra tarafından Helitene, Ethicon tarafından Instat), düzensiz yüzeylere iyi bir şekilde uygulanabilen, yumuşak, beyaz görünümlü kuru malzemedir. Toz, tabaka, sünger ve ped dahil olmak üzere çeşitli formülasyonları mevcuttur [91,94]. Çoğu kez jel veya yaprakçık formunda üretilmiştir. Hazır formları yanında, sahada polietilenglikol veya trombin içerikleri karıştırılarak hazırlanan kollajen bileşimleri mevcuttur [12]. Bunlar sığır kollajeninden yapılmışlardır ve toksik değildirler. Ürünler yüksek bir emiciliğe sahiptirler ve kendi ağırlıklarından çok daha fazla sıvıyı tutabilirler [33]. Kollajenin genellikle hayvanlardan elde edilmesi nedeniyle hastalık taşıma kaygıları içermektedir. Aynı zamanda bağışıklık uygulamaları gerektirmekte, sterilizasyon ve test işlemleri için yüksek üretim maliyetine yol açmaktadır. Kardiyovasküler torasik cerrahi, pankreas ve ortopedik cerrahi uygulamalarında sık kullanılırlar [12].

MFC, kanamanın mekanik olarak durdurulmasının yanında, koagülasyon mekanizmasına yardımcı olurlar [33]. Kan ile temasta olduğu zaman, kendi fibrillerine trombositlerin yapışmasına izin veren ve serbest reaksiyona maruz kalan bir matris olarak, trombositlerin adezyonu ve çekimi için geniş bir yüzey alanı sağlar. Bu trombosit aktivasyonu, trombosit toplanması ve tromboz (damar içi pıhtı) oluşumu ile takip edilir. Trombositlerin adezyonunda artma ve fibrin formasyonu, hızlı bir pıhtı formasyonu sağlar [51]. Ayrıca yara bölgesindeki kollajen miktarını önemli ölçüde arttırmak ve mevcut pıhtılaşma sürecini belli bir dereceye kadar hızlandırmak şeklinde de etki gösterirler [12]. Hemostaz (kanama durması) genellikle 2 ile 5 dakika içinde gerçekleşir. Etki mekanizması trombosit aktivasyonuna bağlı olduğundan, şiddetli trombositopeni olan hastalarda daha az etkili

olduğu, ancak şiddetli heparinizasyonda (heparin tedavisi alan hastalarda) kanama durdurmada etkilidir [91,94]. Önemli ölçüde şişmez ve en az 8 hafta içinde emilir. Ameliyatta, mikrofibriler kollajenin cerrahi eldiven veya nemli araçlara yapışma eğilimi nedeniyle kuru aletler kullanılarak uygulanmalıdır [91]. Tutma güçlüğü kullanımı için önemli dezavantajlarından biridir. Ayrıca, nüfusun küçük bir yüzdesinin (% 2 - % 4) sığır kollajenine alerjisi vardır [94]. Mikrofibriler kollajen, oksitlenmiş selüloz gibi dokulara yapışma eğilimi göz önüne alındığında, işlemin tamamlanmasından önce ameliyat alanından aşırı ürünün kaldırılması tavsiye edilir. Bu özellikle ameliyat sonrası sinir yapıları çevreleyen ağrı ya da uyuşma riski nedeniyle önemlidir [33,91,94].

Mikrofibriler kollajenin, hemostaza hızlı ve etkili başlangıç, minimal doku tepkileri ve tekrar emilebilir olma yeteneği gibi avantajları vardır. Oksitlenmiş selüloz ve jelatin ürünleri ile karşılaştırıldığında, mikrofibriler kollajen çeşitli çalışmalarda üstün hemostatik etkinlik göstermiştir. Çoğu hemostatik ajan gibi kollajenlerde, enfeksiyonlu veya kontamine yaralarda kullanılmazlar. Ajanlar yara bölgesinde bakteri girişimini meydana getirebilirler [33,94].

Mikrofibriler kollajen hemostat, uygulandığı doku yüzeyine iyice yapıştığı için arada ince bir film oluşturur. Oluşan film oldukça sağlamdır ve altında meydana gelen hematoma gizleyebilir ve cerahat toplanmasına neden olabilir. Sağlam organ ve doku yüzeylerine yapışıp adezyona yol açabilir. Bu nedenle sadece kanamalı yüzeye uygulanmalı ve etrafa yayılmaması için uygulamadan önce kuru bir kompresle o bölgedeki sıvı emdirilerek uzaklaştırılmalıdır [51].

### **5.2.7. Jelatin köpükler**

Jelatin tabanlı hemostatik ürünler ilk kez Correll ve Wise tarafından 1945 yılında tanımlanmıştır. Sığır ve domuz derisinden üretilen jelatin kullanılır. Bunlar tabaka, film, sünger ve toz formlarda üretilir. Toz formülasyonu çoğunlukla steril tuz çözeltisi ile karıştırılır ve kanama bölgesine macun olarak tatbik edilir [94-96]. Jelatin aşırı miktarda higroskopik olmakla beraber, bu da önemli miktarda sıvı absorblamasına ve yerleştirildiği yerde genişleyerek boşluğu doldurmasına neden olur. Bu da selüloz ve kolajenle karşılaştırıldığında jelatin köpüklerin baskılayıcı bir hemostatik özelliğe sahip olduğunu gösterir. Bu nedenle sinir hücrelerinin etrafında jelatin kullanıldığında dikkat edilmek

zorundadır. Ayrıca, bu özellik jelatini düzgün olmayan bölgeler için ideal bir ürün yapar [94]. Pıhtılaşmayı başlatmak için fiziksel bir matris sağlar ve Pharmacia ve Upjohn Şirketi (Pharmacia Corporation, Pfizer iştiraki) tarafından Gelfilm ve Gelfoam olarak piyasada mevcuttur. Gelfoam macun, kemik mumu ile karşılaştırıldığında daha az enfeksiyon ve kemik iyileşmesi inhibisyonu ile ilişkilidir, bu nedenle, sternotomi kesi gibi kemik yüzeylerden kanama durdurmak için kullanımı iyi bir alternatiftir. Gelfoam'un, kollajen veya selüloz ürünlerden daha fazla şişmesi ve hacmini iki katına çıkarabilmesi önemli bir nottur [12,91,94-96,102].

Gelfoam küçük kanamaların kontrolü için kullanılan en yaygın hemostatik ajanlardan birisidir. Gözenekli, geçirgen, bükülebilir süngerdir ve kurutulmuş, steril edilmiş domuz derisi jelatininden yapılmıştır. Bu ajan kendi ağırlığının 45 katı ağırlıkta kanı tutabilir. Jelatinin aşırı miktarda sıvı absorblaması ve yerleştiği yerde genişleyerek boşluğu doldurması iyi bir mekanik hemostatik eylemi sağlasa da, özellikle sinirler yakınında veya kapalı alanlarda kullanıldığı zaman basınç ve komplikasyonlara neden olabilir [91]. Gelfoam bir haftada sıvılaşır ve 4-5 haftada tamamen emilir. Rapor edilen reaksiyonlar, dev hücreli granülom, yabancı vücut reaksiyonu ve toksik şok sendromudur [33].

Jelatin bir kez kan ile temas ettiğinde cerrahi aletlere kolayca yapışır ve işlemi arzu edilen yerde tutmak zor olabilir. Ayrıca jelatin köpükler ve süngerler etrafındaki dokulara çok güçlü bağlanmadığından kolayca yerinden çıkarılabilir. Jelatin inert ve emilir olsa da uygulama yeterince uzunsa, bu bölge enfeksiyon nidusu (yuvası) gibi davranabilir. Bu nedenle genelde enfeksiyonlu bölgelere uygulanması kontrendikedir (uygulanması uygun değil). Önceki çalışmalarda, jelatin süngerle oksidize selülozun beraber kullanılması göstermiştir ki, enfeksiyon riski yaratmasından dolayı jelatinin oksidize selülozla olan ilişkisi değersizdir [94,96].

Oksitlenmiş selülozdan farklı olarak, jelatin köpüklerin pH'ı nötrdür. Nötral pH'ından dolayı hemostatik eylemini artırmak için, Trombine daldırılabilir veya başka bir nötr pH biyolojik ürünler ile bağlantılı olarak kullanılabilir [91]. Bu yöntem klinik uygulamalarda sıklıkla kullanılır. Bu adım, daha sonra, doğrudan bir trombosit aktivasyonu ve pıhtılaşma kaskadı ile, trombinin fizyolojik özellikleriyle jelatinin pasif fiziksel hemostatik özelliklerini bir araya getirir [94-96].

### 5.2.8. Fibrin doku yapıştırıcıları

Fibrin yapıştırıcılar, trombin oluşturan ve uygulama yerinde fibrinden zengin bir pıhtı çökeltten, fizyolojik pıhtılaşmanın son adımını taklit eden insan ya da sığır fibrinojeni olan biyolojik bir doku yapıştırıcı grubudur. Fibrin yapıştırıcı, fibrin köpük ve fibrin bandajı olarak üretilmiş formları vardır. Piyasada bulunan birçok form kaynak bileşenleri ve fiziksel özellikleri ile farklılıklar göstermektedir ve bu ürünler, hemofili ve diğer kanama bozukluğu olan insanların yanı sıra, çok çeşitli cerrahi alt dallarında da kullanımı önerilmiştir [30-31]. Uygulama esnasında iki aşamalı olarak pıhtılaştırıcı faktörlerin kanama bölgesinde konsantrasyonunu artırır. Bu yolla pıhtılaşma sürecini önemli ölçüde hızlandıran bir bileşim meydana getirmektedir. Uygulandığı yüzeyde pıhtı ya da trombüs oluşumuna neden olur [12,25]. Fibrin yapıştırıcılar son yıllarda lokal hemostazın sağlanmasında, dokuların yapıştırılmasında ve yara iyileşmesine katkı sağlamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Fibrin Glue tıpkı doğal koagülasyon mekanizmasında olduğu gibi fibrinojen ve trombinin kalsiyum desteği ve uygun ortamda bir araya getirilerek fibrin elde edilmesi, elde edilen bu biyolojik materyalin lokal yara iyileşmesi veya hemostaz desteği için uygulanması prensibi ile kullanılmaktadır [51].

Esas olarak, kalp-damar ve yumuşak doku cerrahisinde kullanılırlar. Temel maddeler insandan alınmış kan örneklerinden elde edilmiş olup, imalat ve ambalajlamadan önce kapsamlı sterilizasyon işlemlerini gerektirmektedir. Bileşimin aktivitesini korumak için titiz saklama kontrolleri gerektirmektedir. Hazırlama için gereken yüksek maliyet ve süre, bu maddelerin acil durumlarda kullanılmasını sınırlandırmıştır [3,12].

Sıvı formunun saklanması zordur. Hemostatik ajan olarak kuru fibrin formunun kullanımı ve depolanması kolaydır. Bu nedenle teknolojik gelişmelere bağlı olarak Amerikan Kızıl Haçı tarafından 1990 yıllarında tekrar üretilmeye başlanmıştır. Kuru fibrinin etken maddesi sığır fibrinidir. Toz halinde bulunur. Emilir materyaldir. Kuru fibrin örtüleri içerdikleri fibrinojen, trombin, faktör XIII ve kalsiyumu aktive ederek etkili olmaktadır. Çalışma mekanizmasını normal hemostaz mekanizmasını tetikleyerek gösterir. Yapılan çalışmalar pek çok farklı alandaki etkinliğini göstermiştir. Renal yaralanmalar, karaciğer yaralanmaları, aort yaralanmalarında da etkili olduğu belirtilmektedir [12,22-23,28]. Fibrin yapıştırıcı preparatlarına ne kadar viral inaktivasyon işlemi uygulansa da viral bulaş açısından % 100 güvenli görülmektedir [51].

### 5.2.9. Trombin-jelatin ajan

FloSeal (Trombin with jelatin), Baxter tarafından şu anda piyasada bulunan kolay uygulama için enjektör biçiminde üretilen bir topikal hemostatik üründür. İnsan trombini ve glutaraldehit çözeltisinin bir sığır kolajen içeren mikrogranüllerden jelatin bazlı matris ile çapraz bağlanmış bir kombinasyonudur. Uygulama üzerine, trombin çözeltisi bir fibrin pıhtısı meydana getirmek üzere, hastanın kendi kanında mevcut fibrinojeni aktive ederken, kan ile temas ettiğinde jelatin parçacıkları şişer ve bir tampon etkisine neden olur. Bu özellik, orta derecede arteriyel kanama kontrolünde FloSeal'i diğer maddeler ile karşılaştırıldığında, daha etkili olmasını sağlar. Önceki çalışmalar, kardiyak (kalp) cerrahisi veya nefrektomide (böbreğin ameliyatla çıkarılması) Floseal'in Gelfoam-trombin'e üstün olduğunu göstermiştir [91,94,95].

FloSeal, açık ve laparoskopik nefrektomide kullanıldığında başarılı bir şekilde kanamayı durdurabildiğini göstermiştir. Son zamanlarda bu bileşenlerin perkütan cerrahide kullanımı çok sayıda raporda görülmektedir (fibrin yapıştırıcı, taş çıkarılmasından sonra, bir kalıcı nefrostomi tüpü için olan ihtiyacı ortadan kaldırarak perkütan kılıfın çıkarılması sırasında prosedürünün bitiminde perkütan yolu içine damlatılır) [91].

### 5.2.10. Trombosit jel (Vitagel)

CoStasis (Orthovita, Malvern, PA) hastanın trombosit ve fibrinojen içeren kendi plazması ile kombinasyon halinde olan mikrofibriler kollajen ve trombinden oluşmaktadır. 2000 yılında FDA tarafından onaylanmış ve şu anda Vitagel olarak pazarlanmaktadır. Cerrahi işlem sırasında, hastanın kendi kanı 10 mL alınır, santrifüjlenir ve plazma bir şırınga içinde toplanır. Bu plazma daha sonra uygulama esnasında, hastanın plazması ve Vitagel içinde ihtiva edilen trombin ve mikrofibriler kollajen ile birleştirecek çift odalı şırınga dağıtım sistemine yerleştirilir. Trombositlerin varlığının (hastanın plazmasından elde edilen) pıhtı gücünü artıracak ve pıhtı büyüme faktörlerini daha da güçlendireceğine inanılmaktadır. Trombosit jellerde proteinler, daha sonraki doku yenilenmesini kolaylaştırır. Vitagel, ortopedik, kardiyak, hepatik ve genel cerrahi işlemler gibi, rekonstrüktif cerrahi işlemlerde başarıyla kullanılmaktadır. Diğer kombinasyon ürünleri gibi pahalıdır ve başarılı kullanımı operatör deneyimine bağlıdır. Santrifüj ve ön işleme ihtiyaç, ürünü daha az çekici hale getirir [91].

### 5.2.11. Topikal trombin (Thrombin-JMI, Recothrom, Evithrom)

Trombin, hemostaz (kanama durdurma), iltihap ve hücre sinyali rolleri ile karakterize edilmiş doğal olarak elde edilen bir enzimdir. Bu, iç (intrensik) ve dış (ekstrensik) pıhtılaşma yollarının aktivasyonu sonucu protrombinden oluşturulur. Trombin, fibrinojenin fibrine dönüşümünü teşvik ederek bir fibrin pıhtısının temelini oluşturur. Trombin, çok sayıda kaynaktan saflaştırılmış ve 60 yıldan fazla topikal hemostaz için klinik yardımcı olarak kullanılmaktadır. Yakın zamana kadar, tek başına ticari olarak bulunan trombin, sığır plazmasından (King Pharmaceuticals, Inc tarafından pazarlanan Trombin-JMI) elde edilir. Son zamanlarda insan plazmasından ve rekombinant kaynaklardan elde edilen trombin mevcuttur [91]. Trombin tozu genellikle steril tuz çözeltisi ile sulandırılır. Bu durum kullanıcıya uygulama yerinin durumuna bağlı olarak trombin konsantrasyonunu ayarlamasını sağlar. Trombin solüsyonu şırınga ile püskürtülebilir veya solüsyon gazlı bez veya jelatin süngere emdirilerek uygulanabilir [94,96].

Trombin kanamayı durdurmak için etkin bir araç olarak kullanılmış olsa da, sığırdan elde edilmiş trombin, insan maruziyetinden sonra güçlü bir bağışıklık tepkisi oluşturduğunu göstermiştir. Araştırmacılar insan plazması türevi trombin (Evithrom, OMRIX, Johnson & Johnson) ve rekombinant insan trombinini (rhThrombin) (Recothrom, ZymoGenetics, Inc) geliştirmişlerdir [91,94].

### 5.2.12. Siyanoakrilatlar (Dermabond)

Siyanoakrilatlar, su mevcudiyetinde hızlı bir şekilde polimerleri oluşturan ve böylece hızlı bir şekilde birbirine bitişik yüzeyleri yapışan sıvı monomerlerdir. Siyanoakrilatlar kimyager Harry Coover tarafından 1942 yılında icat edildi ve daha sonra Superglue ve Crazy Glue olarak pazarlandı. Vietnam Savaşı sırasında siyanoakrilatlar, yaralı bir asker sağlık tesisine sevk ediliyor iken kanama geciktirmek için açık kanamalı yaraların üzerine püskürtülmüştür [91]. Süper yapıştırıcı konseptini temel alan ürünlerdir. Son yıllarda önemli bir evrim geçirerek uygulamayla ilişkili yanma ve tahriş etkisi giderek azaltılmışlardır. Bileşim yan yana getirilen dokuyu yapıştırmak ve yarayı etkili bir şekilde kapatmak üzere kullanılmaktadır. En sık ameliyat sonrası topikal yara kapatmada kullanılır. Yeni medikal kalitede siyanoakrilatların, oda sıcaklığında raf ömrü uzatılmıştır. İntraoperatif uygulamalarda sınırlı endikasyonla kullanılmaktadır. Biyoemilimli değildir.



Doku hücreleri yenilenirken atılırlar [12]. Ancak, Superglue gibi etil siyanoakrilatlar, bozunması sırasında enfeksiyona ve gecikmeli yara iyileşmesi neden olabilen toksik yan ürünler (siyanoasetat ve formaldehid) oluşturur. Butil-2-siyanoakrilat (Histoacryl, Braun, Melsungen, Almanya) Asya, Avrupa ve Kanada'da mevcut iken sadece oktil-2-siyanoakrilat ABD'de mevcuttur ve Dermabond gibi Ethicon tarafından pazarlanmaktadır [91].

Doku tamiri için siyanoakrilatların avantajları, küçük yaralar için standart suture kozmetik olarak eşdeğer sonuçlar ile daha hızlı uygulama ve onarım zamanı vardır. Bundan başka, doku yapıştırıcı su geçirmez bir engel oluşturur. Ancak, yapıştırıcı, antibiyotik merhem ya da vazelin ile bozulacaktır, böylece hastalara yaraya uygulamada ya da yaklaşık 7 gün içinde alanı temizlemek için talimat gerekir [91].

Doku yapıştırıcıları ellerde veya ayaklarda, eklemlerin etrafındaki yaralanmalarda, aşırı kopmuş dokuları ya da yırtık mukoza yüzeyleri onarmak için kullanılır olmayabilir. Küçük yaralar, laserasyonların ve cerrahi kesilerin kapanması için, örneğin laparoskopik kolesistektomi sonrası trokar sitesi kesiler üzerine derinin yakınlaştırılması, aşırı gerginlik olmadan elde edilebilir olması nedeniyle siyanoakrilatların kullanımı önerilir [91].

### **5.2.13. Polietilen glikol hidrojel (CoSeal)**

CoSeal (2001 yılında FDA tarafından onaylanmış, Baxter Healthcare Corporation, Fremont, CA) sentetik hidrojel matris oluşturmak için doku üzerine püskürtülebilen, sodyum fosfat tamponu içinde yüksek molekül ağırlıklı polietilen glikolün iki çözeltisinden oluşmaktadır. Önceden oluşturulmuş polimer bir matris yerine, CoSeal'deki polimerler birbirleriyle ve asıl yerindeki temas dokuyla çapraz bağlanır. Bu çapraz bağlanmış yapı daha sonra doku sıvıları için bir doku yapıştırıcısı oluşturur. CoSeal, ekzotermik değildir, inflamasyona (yangı, iltihaplanma) neden olmaz ve bakteriyel enfeksiyonu artırmaz [91].

Coseal uygulamadan sonra birinci günde ilk hacminin 4 katına kadar şişer ve bundan sonra daha da şişmeye devam edebilir. Bu nedenle, sıkıştırmanın zarar verebileceği anatomik yapıların çevrelerinde kullanılmamalıdır. CoSeal, şişlik ve genişlemenin endişe olmadığı, damar ve kalp cerrahisi uygulamaları için çok etkili bir hemostatik ajandır. Onun

anastomoz sızdırmazlık performansı Gelfoam/trombin eşdeğerdir, ancak CoSeal'in ana avantajı hemostazı elde etme hızında yatıyor. Buna ek olarak, CoSeal damar cerrahisinde sahip olduğu performansa, kısmi nefrektomide kullanıldığı zaman sahip değildir. Fibrin yapıştırıcı ile karşılaştırıldığında, Coseal böbrek parankimine yetersiz yapışma gösterir [91].

#### **5.2.14. Gluteraldehit çapraz bağlı albumin (BioGlue)**

Coseal™ (Baxter A.Ş., Deerfield, IL) veya BioGlue® (1999'da FDA tarafından onaylanmış, Cryolife Inc) olarak piyasada bulunan sentetik yapıştırıcılardır, fibrin bazlı yapıştırıcılara bir alternatif teşkil etmektedir, oda sıcaklığında saklanabilir ve karmaşık bir hazırlık gerektirmez. Mevcut klinik deneyimin çoğu, saflaştırılmış (% 45) sığır serum albümini çözültisi ve (% 10) gluteraldehit çözültisinden oluşan sentetik iki bileşenli cerrahi yapıştırıcı olan BioGlue® nun kullanımı ile elde edilmiştir. Bağlayıcı bir madde olan albumin, gluteraldehitle birleşerek, güçlü bir yapışkan oluşturmaktadır. Yapışma işlemi karışmanın hemen ardından gerçekleştirilmelidir. Bu nedenle hazırlık işlemi uygulama noktasında yapılmalıdır. Topikal hemostatik etkinliği açısından sık kullanılan bir uygulama değildir [12]. Etki mekanizması, kanama yerinde bir mekanik kapama için albumin ve doku yüzey proteinleri ile kovalent bağ oluşturarak olmaktadır. Ancak, bu ürünler fibrin bazlı hemostatiklere göre daha pahalıdır [12,30-31].

BioGlue etkili bir hemostatik ajandır ve kalp cerrahisinde ameliyat dikiş hatlarını mekanik olarak kuvvetlendirmek için kullanılır. Ancak, pediatrik hastalarda gelişen yapıların etrafını kuşatarak kullanılmamalıdır, çünkü doku gelişimini sınırlayabilir. Yeniden yapılanma ve modellenme gerektiren dokular üzerinde tüm hastalarda kullanımından kaçınılmalıdır [91].

#### **5.2.15. Bone wax (Kemik mumu)**

Sir Victor Horsley 1886 yılında, köpeklerde kafatası kanamasında hemostaz sağlamak için, balmumu, salisilik asit ve badem yağı karışımından 'antiseptik mumu' icat etti [91]. Günümüzde cerrahlar tarafından Bone Wax (Kemik Mumu), balmumu, parafin, izopropil palmitat ve bir mum-yumuşatıcı maddenin emilemeyen bir karışımı olarak bilinir. 1963'ten beri ortopedi ve nörocerrahlar tarafından kullanıla gelmiştir. Johnson&Johnson, Ethicon

Inc, Somerville, NJ tarafından pazarlanmaktadır. Kemik mumu, kemikte ve sonraki tampon etkisinde kanama kanallarının tıkanması yoluyla hemostazı sağlar. Sistemik olarak etkisinin olmaması kemik mumunu vazokonstriktörlere nispeten üstün hale getirmiştir [51]. Kullanımı kolaydır ve neredeyse anında kanama durdurur. Kemik mumu, vasküler kanallara yerleştirilebilecek kadar bükülebilirdir ve hemen vasküler kaynağı tamponlayabilir. Diğer hemostatik ajanlar ile karşılaştırıldığında düşük maliyetlidir. Ancak, kemik mumu vücut tarafından emilir değildir, osteogenezise ters etki ihtimalinden dolayı kemik rejenerasyonunun beklendiği yerlere dikkatle uygulanmalıdır [33,91]. Ayrıca, kemik mumu bakteriyel açıklığı engeller görünüyor ve yabancı cisim olarak enfeksiyon için bir yuva gibi hareket eder [91]. Kemik mumunun bir komplikasyonu kemik iliği içine doğru bastırıldığında akciğerlerde emboli oluşturmasıdır [51].

Yapılan araştırmalar kemik mumunun kavite içerisinde kaldığı müddetçe hemostatik etkisini koruduğunu göstermektedir. Bone Wax kaviteden uzaklaştırıldığında postoperatif kanamalar oluşabilmektedir. Oluşan taze kan yara iyileşmesini kolaylaştırır. Yapılan işlemlerden sonra, çalışılan sahadan tüm mum artıkları temizlenmelidir. Yoksa kalan parçalar yabancı cisim reaksiyonuna yol açabilir [51]. Yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı, birçok durumda kemik mumu kullanımının önüne geçilmesi gerektiğini düşünülmektedir. Ancak, bir cerrah kemik mumu kullanmak zorunda hissediyor ise, kemik füzyon iyileşmesinin kritik olduğu yerlerde ürünü bırakmamalı ve yeterli kanama kontrolü sağlandığı zaman mümkün olduğu kadar çok ürünü uzaklaştırmalıdır. Son olarak, kemik mumu, kontamine bir cerrahi alanda asla kullanılmamalıdır [91].

### **5.2.16. Ostene**

Kemik mumuna alternatif, emilebilir ve biyoyumlu bir hemostatik ajan olarak “Pluronik kopolimer karışımı” olan alkilen oksit kopolimerlerinden oluşur. Kemik mumu gibi kemik büyümesini engellemez. Alkilen oksit kopolimerleri Ceremed Inc., Los Angeles, CA tarafından Ostene olarak pazarlanmaktadır. Ostene, cerrahın elinde kemik mumu gibi hissettirir, hidrofiliktir ve suda çözünür. Biyokimyasal olarak insan vücudu tarafından emilebilir. Bu özellikleri nedeniyle, kemik mumundan üstün olduğu düşünülmektedir [91].

Ostene, kemik oluşumu veya kemik büyümesini bozarak veya enfeksiyon teşvik etmeden hemostaz sağlıyor gibi görünüyor olsa da insan üzerinde hiçbir randomize kontrollü

çalışma bugüne kadar yayınlanmamıştır. Duke Üniversitesi Tıp Merkezi'nde, kardiyopulmoner bypass (yayınlanmamış veri) ile sternotomi uygulanan Yorkshire domuz üzerinde Ostene kullanılan deneyimde, Ostene'nin yeterli hemostazı sağladığı ve sternotomiden kanamanın kontrol edilemediği zaman kemik mumu yerine kullanılabilirdiği belirtilmiştir [91].

### **5.2.17. Ankaferd blood stopper (Ankaferd kan durdurucu)**

Ankaferd, daha önce geleneksel Türk tıbbında hemostatik ajan olarak kullanılan şifalı bir bitki özüdür. Glycyrrhiza glabra, Vitisvinifera, Alpinia officinarum ve Urtica dioica, Thymus vulgaris bitkilerinin standart bir karışımından oluşur. Tıbbi bir ürün olarak Ankaferd Blood Stopper (ABS) Türkiye'de eksternal kanama (deri) ve dental cerrahi kanamalarının tedavisinde onaylanmıştır. Ürün güvenlik ve etkinlik raporları, ürünün sterilitesini ve toksik olmadığını göstermiştir [31]. Muharebede etkisizdir. Tekrar kanama yapar. Vücut tarafından emilimi, kan dolaşımına karışması halinde risk yaratır [33].

Etki mekanizması; Ankaferd Blood Stopper, plazma ve serum içinde saliseler düzeyinde kısa sürede bir yapı ağı oluşturur. Yapılan genel hemostatik ve biyokimyasal testler sonucu bu yapı ağının, Ankaferd Blood Stopper'ın kan içindeki proteinler ve asıl olarak da fibrinojenle kurduğu karşılıklı etkileşim ile birlikte oluştuğu ve Ankaferd Blood Stopper'ın fibrinojen ve diğer proteinleri, muhtemelen bu moleküllerin aglütinasyonu (kümeleşmesi) yoluyla etkileyebildiği belirtilmiştir. Bu süreçte doku onarımına izin verecek düzeyde kanamanın durdurulması işlemi, temel olarak protein-eritrosit etkileşimi ile bağlantılıdır. Eritrositlerin tek bir noktada konsantrasyonu ile vücudun pıhtı oluşturma mekanizmasından bağımsız bir şekilde kanama durdurur. Ankaferd Blood Stopper ağında fizyolojik hemostatik işlem, doku faktörü bağlantılı kan pıhtılaşımı yapısından bağımsız olarak, bu sistemi bozmadan gelişir. Bu nedenle Ankaferd Blood Stopper hem normal hemostatik değerlere sahip bireylerde hem de birincil ya da ikincil hemostatik bozuklukları olan bireylerde etkilidir. Ankaferd Blood Stopper klinik kullanım için yardımcı ürün olarak mukoza çatlakları dahil yoğun dış kanamaları durdurmakta da güvenle kullanılabilir. Ankaferd Blood Stopper damar içine ya da dolaşım sistemine yerleştirilmemelidir [31,33].

### 5.2.18. Mikrogözenekli polisakkarit küresel parçacıkları (MPH)

TraumaDEX™ (MPH, Medafor, Inc., Minneapolis, MN) piyasadaki ürün şeklidir. Mikrogözenekli polisakkarit partiküllerinden oluşmaktadır. Kanayan bölgeye doğrudan dökülebilmektedir. Temelde bitkisel kökenli olarak elde edilmiş steril biyolojik materyaldir. Partiküller plazmanın sulu kısmını absorbe ederek trombosit, eritrosit, albümin, trombin ve fibrinojen gibi kan proteinlerini konsantre ederek jel kıvamında matris yaratır. Jelleşmiş, sıkışmış hücreler ve bileşenler, saniyeler içinde bir fibrin pıhtısının meydana gelmesi için iskele işlevini yerine getirerek, normal pıhtılaşma sürecini hızlandırır. Sonuçta ortaya çıkan pıhtı, son derece yapışkan olmakla birlikte, normalde mikrogözenekli polisakkarit küresel parçacıkları ile birlikte bozunur. Yaklaşık yedi gün içinde yara bölgesinde herhangi bir iz veya madde bırakmaz [12].

Biyolojik olarak uyumludur ve emilebilir. Aktif olarak kanayan bir yaraya direkt olarak baskıyla uygulandığında, parçacıklar kandaki sıvıları çeken moleküler bir süzgeç görevi görmektedir. Ozmotik akış, 25 000 dalton'dan büyük serum proteinlerini, trombosit ve eritrositleri dışarıda bırakarak parçacıkların yüzeyinde konsantre edilmelerine yol açmaktadır [12,15]. Etkisini 120-180 saniye içerisinde hızlıca göstermektedir. Bu da bölgede trombosit ve pıhtılaşma faktörlerinin o bölgeye toplanmasını sağlamaktadır. Hayvan deneylerinde minör kanamalarda etkili olduğu ancak çok geniş olan ve arteriyel kanamalarda yetersiz olduğu gösterilmiştir [12]. FDA onaylıdır. İç kanamalarda kullanılmaz. Muharebede yeterli değildir. Ameliyatlarda kullanılıyor [12,33].

### 5.2.19. Plazma proteinleri

FastAct™ olarak piyasada bulunan sığır pıhtı faktörleridir. Köpük şeklindedir. Oda sıcaklığında saklanamaz. Normal pıhtı mekanizmasını tetikler. Hayvansal (sığır, öküz gibi büyükbaş hayvanlar) plazma proteinlerinden faktör II, VII, IX ve X'nun aktif formlarını içerir. Fizyolojik pıhtılaşma sisteminde bulunan faktör II, V, VIII ve XIII'ü aktifleştirip pıhtının 2-3 saniye içinde oluşmasını sağlayarak etki eder [12,15]. Steril, pirojenik olmayan, serbest iyonu olmayan, proteinlere bağlı ve % 0,1 betadin içeren aseptik, tek bileşenli kanama durdurucu topikal ajan olarak üretilmiştir. Kanama üzerine doğrudan uygulanabilen ve adezyon etkisi olmayan hemostatik ajandır. Pıhtılaşma sisteminde katalizör olarak etki gösterir. Piyasada likit, sprey, spanç, köpük, bandaj, strip formlarının

olması kullanımında kolaylık sağlar. Likit formu damar içine enjekte edilmemelidir. Muharebede yeterli değil ameliyatlarda kullanılıyor [12,33].

### **5.2.20. Kostik (yakıcı) ajanlar**

Kostik ajanların çalışma mekanizması protein koagülasyonu ve çökmesi ile sonuçlanan yerel doku tahribatıdır, bu da trombus (tıkaç, damarı tıkayan pıhtı) oluşumu ve küçük damarların kapatılmasına (yapışmasına) neden olur. Yıkıcı doğası nedeniyle, bu maddelerin kullanımı yüzeysel cilt kanamalarının tedavisi için izole edilir [94,96].

Monsel Solüsyonu: Monsel solüsyonu, küçük yaralar için topikal hemostat olarak kullanılan, % 20 demir subsülfat solüsyonudur. Subsülfat grubunun oksitleyici potansiyeli ve asitliğinden dolayı protein pıhtılaşması ürettiği düşünülür. Deri yüzeyinde veya mukozal biyopsilerde etkili bir hemostattır. Doymuş pamuk çubuğu ile tatbik edilebilir. Bu madde için en önemli endişe, dermis içinde kalıcı cilt renk değişimine sebep olabilecek, demir birikimi potansiyelinin olması. Diğer potansiyel sakıncaları, artmış melanosit aktivitesine ikincil hiperpigmentasyon, artan dermal fibrozis, enfeksiyon riski ve gecikmiş epitelizasyonu içerir [94,96].

Gümüş Nitrat: En yaygın formu, kimyasal ile emdirilmiş pamuk çubuk benzeri çubuklardır. Etki mekanizması doku proteinleri ile serbest gümüş iyonlarının ikincil bağlanmasıdır, bu da çökelmelerine ve küçük damarların tıkanmasına neden olur [94,96].

Uygulamadan sonra ince bir yara izi oluşturulur. Bu yara izi derin doku nekrozu önlemek için yardımcı olur; ancak, yara iyileşmesinde gecikmeye yol açan, bazı çevre doku hasarından kaçınılması mümkün değildir. Bir yanma hissi şeklinde lokal bir rahatsızlık uygulama sırasında oluşabilir. Genel olarak uygulama sonrası gelişen siyah renk değişikliği geçicidir ve yara izinin kabuklaşarak dökülmesi ile giderilir. Ancak, büyük yüzey alanlarına uygulanması ile, gümüş parçacıkların emdirilmesi nedeniyle kalıcı koyu renk potansiyel riski vardır. Eğer çok fazla uygulandıysa, çözelti içindeki gümüşün çökeltirek gümüş nitratı nötralize etmek için tuzlu çözelti kullanılabilir [94,96].

Alüminyum Klorür: Birçok uygulamada Monsel çözeltisinin yerine geçebilir. En yaygın olarak traş ve biyopsi deliği sonrası kullanılır. Su, alkol, eter veya gliserol içinde % 20'den

% 40 kadar formülasyon aralığında kalem aplikatör olarak hazırlanır. Etki mekanizmasının hidroklorik asitin (HCl) hidroliz olması olduğu düşünülür, bu da pıhtılaşma yolunda doku faktörünün aktivasyonu veya doku pıhtılaşması, vazokonstrüksiyona neden olur. Monsel solüsyonu ile karşılaştırıldığında alüminyum klorürün öncelikli avantajı kalıcı renk değişimi riski oluşturmaz. Bu ajanların dezavantajları, lokal deri irritasyonu ve parestezi (uyuşma veya yanma hissi gibi duyuşal bozukluklar) içerir. Fazla miktarda uygulanırsa, alüminyum klorür yara iyileşmesini geciktirebilir [94,96].

### **5.3. Sistemik Kan Durdurucular**

Lokal hemostatikler ile karşılaştırıldığında, koagülopatik travma hastalarında kullanılabilen sınırlı sayıda sistemik hemostatik ajan vardır. Ancak son zamanlarda, rekombinant faktör VIIa (rFVIIa), inatçı kanama tedavisi için konvansiyonel hemostatik tekniklere, gelecek vaat eden bir potansiyel yardımcı olarak ortaya çıkmıştır. Başlangıçta allo-antikör inhibitörlü hemofili hastalarının tedavisinde kullanılırken, yakın zamanda daha geniş bir hasta grubunda hemostatik bir ajan olarak rFVIIa kullanımı incelenmiştir [31].

Faktör VII 'nin etken maddesi eptakog alfadır. Sıvı şeklindedir. Ölümlere sebep olabilir. Oda sıcaklığında saklanamaz. Normal pıhtı mekanizmasını tetikler. Ameliyatlarda kullanılıyor [33].

Çizelge 5.1'de topikal olarak uygulanan hemostatik ajan çeşitleri, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları verilmiştir [12,15,30-32].

Çizelge 5.1. Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik ajan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Kitin/Kitosan bazlı hemostatikler	Celox, Hemcon, Rapid Deployment Hemostat (RDH)	-N-acetyl-glucosamine polimerleri [33]. -Celox™, kitosan karbonhidrat yapısı içeren kompleks polisakarittir [12, 97,107,108]. Granüler, eriyen paketler içinde granüler, aplikatör, ev ve dış hekimlerine yönelik paketler, çeşitli ebatlarda spanç/tampon şeklinde üretilir. -HemCon®, emilemeyen üzerine basınç uygulanabilecek yapışmaz bir taraf ve yaraya yapışması gereken kitosan içerikli aktif bir taraf içerir [45]. Plakalar halindedir ve plakalar emilmez [33,91].	-Dokulara yapışır, fiziksel olarak bariyer kurar, mekanik olarak kapatır, kandaki su moleküllerini absorbe eder ve pıhtılaşma faktörlerini konsantre eder, kırmızı kan hücrelerini (RBCs) ve trombositlerin konsantrasyonunu hızlandırır, yapı iskelesi kurar, vazokonstrüktör (damar büzücü)dür, pıhtılaşma aktivasyonu sağlar. -Eritrosit hücre membranı ile kitosan arasında etkileşme vardır. Filtre edilen ekşi yüklü eritrositler ile güçlü çapraz bağ oluştururlar. Eritrositleri manyetik alanla birbirine bağlar, trombositleri aktif hale getirir ve fibrin pıhtı oluşumu sağlar [12,18,26,31,45, 94].	-Kolay uygulanabilir. Uzun raf ömrü vardır. Değişken sıcaklıklarda stabildir. Toksik değildir. Emilebilir. Isı üretmez [26,94,96-98,100]. - Celox FDA tarafından onaylıdır. Hemcon sadece harici kullanımlar için FDA tarafından onaylıdır. -Antibakteriyel, antikanserijen, antifungal, antimikrobiyal, antiasid, yara ve kemik iyileşmesini hızlandırıcı etkisi vardır [31,33,94]. -Aktif olarak Silahlı Kuvvetlerde kullanılıyor. Ameliyatlarda da kullanımı mevcuttur. -Celox biyobozundur [97,107,108]. -Celox uzun süre (3-8 saat arasında) tekrar kanama yapmaz. - Granüler Celox'da, sıvı formunda bulunan birçok kanama durdurucunun sebep olduğu emboli riski yoktur. Ürün, nemli havada ve ıslak zeminde etkinliğini kaybetmemektedir [18,51,106]. -Celox, atar ve toplardamar kanamalarını hızlı bir şekilde durdurur. -Pıhtılaşma faktörlerinin yokluğunda etkin pıhtılaşma sağlar. -Kan sulandırıcı kullanan hastalarda pıhtılaşma süresini kısaltır [33].	- Alerji riski olabilir. - Hastanın pıhtılaşma mekanizmasına dayanır. -Yapışmadan dolayı ortamdaki uzaklaştırırken pıhtıyı parçalayabilir. -Hemcon dokuya zayıf bağlanır. -Celox bazı dokularda güçlü inflamatuvar (yangısal, iltihaplı) cevap gösterebilir. -Gazlı bezli ürünler emilemez. - Kitin bazlı sargılar, yüksek hacimli atardamar kanamalı modellerde ve daha ciddi yaralanmaların tedavisinde sınırlı etkiye sahip oldukları görülür. - Hemcon, iç kanamalarda kullanılmaz. Plakalar yara büyüklüğünde kesilmelidir [33].
Kaolin sargılar	QuikClot Combat Gauze	Bir alüminyum fillosilikat kil mineralidir. Mevcut sarğı formülasyonu kaolin tozunun önemli bir miktarının (yaklaşık % 10 toplam ürün ağırlığı), bir gazlı bez malzemeye (% 50 polyester ve % 50 rayon) emdirilmesini içerir [94,122-124].	-Pıhtılaşmanın intrinsik yolunun güçlü bir katyon tabanlı aktivatörüdür. -Kaolin-emdirilmiş gazlı bez, kanamanın kısa bir süre sonrasında uygulama ile intrinsik pıhtılaşma yolunu geliştirerek, hemostatik pıhtı gelişimini destekler [94,122].	-Yaraya kolaylıkla uyum sağlar. -Granüler değildir ve uzaklaştırırken herhangi bir artık bırakmaz. -Gazlı beze emdirilmesi, açık yaraların tamponu ve kullanım kolaylığı gibi çok uyumlu bir ürün yapısı sağlar [94,122-124]. - FDA tarafından sadece harici kullanım için onaylanmıştır [94].	-Pıhtı oluşumunun hızını düzenleyen, aktif pıhtılaşma faktörlerinin varlığına dayanır. Etkinliği önemli ölçüde fonksiyonel veya dilüsyonel koagülopati ortamında azalabilir -Emilemez, yaradan uzaklaştırılmıdır. Uzaklaştırma esnasında pıhtıyı bozabilir [94,122].



Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik ajan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Mineral Zeolit	QuikClot	<p>-Mineral zeolit hemostatik ajanlar, silikon, alüminyum, magnezyum ve sodyum oksitler gibi inert minerallerden oluşan moleküler elekler içeren granül tozlardır [91].</p> <p>-Zeolit mineral, % 65-85 oranında kalsiyum sodyum aluminosilikat, % 25-35 oranında magnezyum aluminosilikat ve ölçülebilir sınıırın altında kuartz'dan oluşur, inerttir [12,26]. Toz ve spanç formları mevcuttur [33].</p>	<p>-Moleküler bir elek gibi çalışır, ekzotermik reaksiyonda yaralanma bölgesinden su emer, plazma absorpsiyonu ile pıhtılaşma faktörleri, trombositler, eritrositler ve kan pıhtılaşma faktörlerinin hemostaz teşvik etmek için konsantrasyonunu artırır [15,91]. Trombosit ve pıhtılaşma faktörlerinin çok daha hızlı bir şekilde pıhtı oluşturması sağlanır.</p> <p>-Pıhtılaşma yolunda protein aktivasyonunu tetikleyen zeolit granülün negatif yüzey yükü ile trombositlerin aktivasyonudur [45,113,114]. Sıvıyı emer, yıkararak ve kation salınımla pıhtılaşma sağlar [33].</p>	<p>-Alerjik değildir, biyolojik olarak inerttir ve granüler formu kolayca düşük akımlı kanayan yaraların içine dökülür [94].</p> <p>-Cerrahi sargıya emdirilen formu yüksek-akımlı yaralar için daha uygundur, sıkıştırma ile kullanılmasına olanak sağlar.</p> <p>-Pahalı değildir.</p> <p>-Hazırlık gerektirmez.</p> <p>-Sadece harici kullanım için FDA onayı vardır [30,31,94].</p> <p>-Aktif kullanılır [33].</p> <p>-Kullanımı kolay, stabildir [10,12,26].</p> <p>-Yeni ürünlerde mineral bileşimler, ekzotermik reaksiyonu azaltmak ve lokal doku hasarını en aza indirmek için önceden hidratlanmıştır. Etkinliğini göstermek için klinik kullanımda daha ileri araştırmalar gereklidir [94,96-98].</p>	<p>-Ekzotermik reaksiyon doku hasarına ve rahatsızlığa neden olur [10,12,33].</p> <p>-Granül formunu yaradan uzaklaştırmak zordur. Kalan granüller, enfeksiyon için bir yuva olarak hareket edebilir.</p> <p>-Yabancı cisim reaksiyonlarının yara dokusuna katıldığı ve komplikasyonlara neden olduğu rapor edilmiştir [94,120,121].</p> <p>-Yüksek basınçlı kanamalarda toz formu yaradan uzaklaştırabileceği için önlem gerekir [94,120].</p> <p>-Hastanın pıhtılaşma mekanizmasına bağlıdır. Ameliyatlarda kullanılmaz [33].</p> <p>-Toz formu solunumsal, cilt, göz yaşarması veya kızarıklığı gibi irritasyonlara neden olabilir. Sıvı ile reaksiyona girdiğinde ısı oluşturabilir. Mukozaya direkt olarak kullanılmamalıdır [12].</p>
Kuru fibrin sargılar	Dry Fibrin Sealant Dressings	<p>-Dondurularak kurutulmuş (liyo-filize edilmiş) fibrinojen ve trombin gazlı beze (polyglactin meş) ekleyerek, yaralanma bölgesinde bu pıhtılaşma faktörlerinin konsantrasyonunu arttırmak için, kuru fibrin yapıştırıcı sargı oluşturulmuştur [91,116-119]. Fiziyojik kan pıhtılaşmasında fibrin oluşumunda ana bileşenler olan, kuru, toz haline getirilmiş fibrinojen, trombin ve kalsiyum klorürden oluşur [18,45,22,111,112].</p>	<p>-Yaralanma bölgesinde fibrinojen ve trombin pıhtılaşma faktörlerinin konsantrasyonunu arttırmak.</p> <p>-Emilebilir yapı iskelesi üzerinde pıhtı oluşumu.</p>	<p>-Atardamar, toplardamar ve karmaşık hemorajik (kanamaya ilişkin) yaralarda kanamayı durdurur.</p> <p>-Geniş yüzey aşınmalarında etkin bir şekilde kanamayı durdurur.</p> <p>-Oda sıcaklığında stabildir, kullanım kolaylığı vardır ve biyoemilebilir bir ajandır [91,97].</p> <p>-Uygulama yerinde ön karıştırma gereksinimi yoktur.</p> <p>-Fibrin yapıştırıcılara göre daha uzun raf ömrü vardır.</p> <p>-İnsan faktörlerine az bağımlıdır.</p>	<p>-Pahalıdır [91,97].</p> <p>-Kırılgan yapısı nedeniyle zayıf dayanıklılık, gevrek olduğu için tutmak zor.</p> <p>-Kırılganlığından dolayı güçlü paketlemeye ihtiyaç duyar.</p> <p>-Minimum Faktör XII aktivitesi vardır.</p> <p>-Plazma türevidir.</p> <p>-Kısa raf ömrü vardır.</p> <p>-Uygulama için kuru, stabil bir ortam gereği vardır [91].</p> <p>-Kuru fibrin yapıştırıcı sargı henüz klinik kullanımı için FDA onayı almamıştır [91,97].</p>

Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik ajan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Bone wax	Bone Wax	-Balmumu, parafin, izopropil palmitat, ve bir mum-yumuşatıcı maddenin emilemeyen bir karışımıdır. -Gözle görülebilen kesik kemik yüzeyinden gelen kanamalar için kullanışlıdır [51,134].	-Kemikte kanama kanallarının tıkanması yoluyla tamponad (baskılama) etki gösteriyor. -Kemik mumunun hemostatik etkisi mekaniksel tampon tesirinde, basınçla vasküler ağzların tıkanması şeklindedir. Sistemik olarak etkisinin olmaması kemik mumunu vazokonstriktör türlerine nispeten üstün hale getirmiştir [51,134].	-Kemik yüzeyinden kanamayı etkin bir şekilde kontrol edebilir. (ör. Sternotomi) -Hastaya bağlı değildir. -Kullanımı kolaydır, hızlı etki gösterir. Diğer hemostatik ajanlar ile karşılaştırıldığında düşük maliyetlidir [33].	-Bakteriyel arındırmaya engel olabilir ve enfeksiyon için bir yuva gibi davranabilir, bu nedenle kontamine (mikroplu) alanlarda kullanımından kaçınılmalıdır [51,134]. -Emboli (tıkanma) olabilir. -Vücut tarafından absorbe olmadığı için kemik kaynaşmasının kritik olduğu yerlerde kullanılmamalıdır. -Kemik sınırlıdır. -Yapılan işlemlerden sonra tüm mum artıkları temizlenmelidir. Yoksa kalan parçalar yabancı cisim reaksiyonuna yol açabilir [91].
Mikrofibriller Kollajen	Avitene Flour, Avitene Ultrafoam, Avitene Ultrawrap, Helistat, Helitene, Instat, Endoavitene	-Sığır alt derisinden elde edilir ve toz, tabaka, sünger ve ped dahil olmak üzere çeşitli formülasyonları mevcuttur [91,94]. -Hazır formları yanında, sahada polietilenglikol veya trombin içerikleri karıştırılarak hazırlanan kollajen bileşimleri mevcuttur [12,131].	-Kanamanın mekanik olarak durdurulmasının yanında, pıhtılaşma mekanizmasına yardımcı olurlar [33]. -Yara bölgesindeki kollajen miktarını önemli ölçüde arttırmak ve mevcut pıhtılaşma sürecini belli bir dereceye kadar hızlandırmak [12]. -Kendi fibrillerine trombositlerin yapışmasına izin veren bir matris olarak, hareket için geniş bir yüzey alanı sağlar. Pıhtılaşma yapı iskelesi hazırlar. Trombosit yapışması, trombosit aktivasyonu, trombosit toplanması ve tromboz (damar içi pıhtı) oluşumu ile takip edilir [91,94,130].	-Geniş parenkimal kanamayı kontrol edebilir. -Toksik değildirler. Biyobozunur. -Nötral pH. -Heparin tarafından etkilenmez [91,94,130]. -Kardiyovasküler torasik cerrahi, pankreas ve ortopedik cerrahi uygulamalarında sık kullanılırlar. -Hemostaz (kanama durması) genellikle 2 ila 5 dakika içinde gerçekleşir. -Hemostaza hızlı ve etkili başlangıç sağlar. -Minimal doku tepkileri verir [94]. -Önemli ölçüde şişmez ve en az 8 hafta içinde emilir [91]. -Ürünler yüksek bir emiciliğe sahiptirler ve kendi ağırlıklarından çok daha fazlası sıvıyı tutabilirler [33].	-Etki mekanizması trombosit aktivasyonuna bağlı olduğundan, şiddetli trombositopeni (kandaki trombosit sayısının azlığı) olan hastalarda daha az etkili [91,94,130]. -Operatörün eldivenlerine yapışır, tutmak zordur, kuru aletler kullanılarak uygulanmalıdır [91]. -Sinirsel yapılara bağlanabilir, ağrı ya da uyuşma riski olabilir. Ameliyat alanından aşırı ürünün kaldırılması tavsiye edilir [91,94]. -Nüfusun küçük bir yüzdesinin (% 2 ile % 4) sığır kollajenine alerjisi vardır [94]. -Kollajenin genellikle hayvanlardan elde edilmesi nedeniyle hastalık taşıma kaygıları içermektedir [12]. -Muharebede yeterli değil. Ameliyatlarda kullanılıyor. - Enfeksiyonlu veya kontamine yaralarda kullanılmazlar. Yara bölgesinde bakteri girişimini meydana getirebilirler [33].

Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik ajan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Jelatin köpükler	Gelfoam, Gelfilm, Surgifoam	-Kurutulmuş sığır ve domuz derisi jelatininden üretilir. -Tabaka, film, sünger ve toz formlarda üretilir. -Toz formülasyonu çoğunlukla steril tuz çözeltisi ile karıştırılır ve kanama bölgesine macun olarak tabdik edilir [94].	-Aşırı miktarda higroskopik, önemli miktarda sıvı absorblar ve yerleştirildiği yerde genişleyerek boşluğu doldurur ve tampon etkisi gösterir [94]. -Pıhtılaşmayı başlatmak için fiziksel matris(yapı iskelesi) oluşturur [12].	-Küçük damar kanamalarını etkin bir şekilde kontrol eder. -Vücut tarafından 4-6 hafta içinde emilir. -Antijenik değildir. -Nötral pH'ından dolayı biyolojik ajanlar ile kullanılabilir. Hemostatik eylemini artırmak için, Trombine daldırılabilir veya başka bir nötr pH biyolojik ürünler ile birleştirilerek kullanılabilir [91].	-Aşırı miktarda şişme özelliği gösterdiği için sinirlere baskı yapabilir [91,94]. Damar içi bölümlerde tıkanma olabilir. -Şiddetli atardamar kanaması etrafında kullanımı süngeri yerinden çıkarabilir. -Jelatin bir kez kan ile temas ettiğinde cerrahi aletlere kolayca yapışır ve işlemleri arzu edilen yerde tutmak zor olabilir [94]. -Jelatin köpükler ve süngerler etrafındaki dokulara çok güçlü bağlanmadığından kolayca yerinden çıkarılabilir. -Jelatin inert ve emilir olsa da uygulama yeterince uzunsa, bu bölge enfeksiyon nidusu (yuvası) gibi davranabilir. Bu nedenle genelde enfeksiyonlu bölgelere uygulanması tavsiye edilmez [94]. -Rapor edilen reaksiyonlar, dev hücreli granuloma, yabancı cisim reaksiyonu ve toksik şok sendromudur [33].
Fibrin doku yapıştırıcıları	-Tisseel (insan plazma türevi fibrinojen ve trombin), -Evicel (insan plazma türevi fibrinojen ve trombin), -Crosseal (insan plazma türevi fibrinojen ve trombin + plazminojen inhibitörü (engelleyci, durdurucu)	-Trombin ve fibrinojen kombinasyonudur [91]. -Uygulamadan hemen önce 2 bileşenin karıştırıldığı çift-şırınga dağıtım sistemi ile ayrı viallerde temin edilir. Bileşenler fibrinin kararlı bir pıhtı oluşması için uygulama sırasında etkileşir [91]. -Piyasada bulunan birçok form kaynak bileşenleri ve fiziksel özellikleri ile farklılıklar göstermektedir. -Fibrin yapıştırıcı, fibrin köpük ve fibrin bandajı, toz, sıvı olarak bulunur [12, 25].	-Trombin ve fibrinojen uygulama yerinde karıştırılır; konsantrasyonları artırılır, trombin, fibrinojeni pıhtı oluşturan fibrine dönüştürür. -Uygulandığı yüzeyde pıhtı ya da trombüs (damarı tıkayan pıhtı) oluşumuna neden olur [12, 25]. -Fibrin yapıştırıcılar, trombin oluşturan ve uygulama yerinde fibrinden zengin bir pıhtı çökeltir, fizyolojik pıhtılaşmanın son adımını taklit eder [30,31,51]. -Çalışma mekanizmasını normal hemostaz mekanizmasını tetikleyerek gösterir [12,28,97].	-Kanın pıhtılaşmasını önleme veya pıhtıyı çözme amacıyla heparin enjekte edilen hastalarda etkilidir. -Cilt aşılama, dural (statik) yapıştırma, kemik tamiri, dalak yaralanmaları, kolostomi kapanması, tekrar edilebilir kalp ameliyatlarında, kozmetik cerrahide kullanılabilir. -Ürolojik ameliyatlarda kanamayı kontrolde kullanımı önerilir. -Tisseel ve Evicell açık yaralardan toplardamar sızıntısı için etkilidir. -Hastanın pıhtılaşma mekanizmasından bağımsızdır. -Emilir materyaldir [12,28,97].	-Uygulamadan önce yara antiseptik içeren alkol, iodin veya ağır metal iyonlarından temizlenmelidir, bunlar trombin ve fibrinojenin doğasını değiştirir. -Savaş alanı, arteriyel (atardamar) kanamalarında yararlı değildir. - Sıvı formunun saklanması zordur. Hemostatik ajan olarak kuru fibrin formunun kullanımı ve depolanması kolaydır [12,28,97]. - Fibrin yapıştırıcı preparatlarına ne kadar viral inaktivasyon işlemi uygulansa da viral bulaş açısından % 100 güvenli görülmemektedir [51].

Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik ajan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Oksitlenmiş selüloz, Oksitlenmiş rejenere selüloz	Surgicel, Nu-Knit, Fibrillar, Oxycel, ActCel	-Selülozik asit oluşturmak için azot dioksit ile okside edilen bitki malzemesinden oluşturulmaktadır. Odun hamurudur. Rejenere formu sürekli selüloz elyaflarının gevşek örme yapısından dolayı etrafını çevreleyen ortama daha kolay bir şekilde uymasını sağlar [91,94]. -Sargı bezi, gazlı bez, fibriler kümeleri, pamuk tampon ve sünger şeklinde mevcuttur [94].	-Trombosit aktivasyonu ve yapışması için yapı iskelesi oluşturur, pıhtı oluşumu için üç boyutlu yapı (fiziksel matris) sağlar [30,31]. -Düşük pH pıhtılaşmaya neden olan doku ölümüne katkı yapar. -Dokudan su çekerek şişerler, tampon oluştururlar ve selülozik aside dönüşerek yapay bir pıhtı oluştururlar. Bu durum, doğal pıhtılaşma olayını teşvik eder [51,128]. -Surgicel'in etkinliği pıhtılaşma mekanizmasının fizyolojik özelliğine bağlı kalmamakta yapay pıhtı nedeniyle olmaktadır [51,129].	-Pamuk benzeri bir rahatlık sağlar, yumuşak, bükülebilirdir. -Düşük pH'ından dolayı, çeşitli patojenik organizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterir [91,94,124]. -Tüm formlar emilebilir ve genellikle kullanılan yere ve miktarına bağlı olarak 1-6 haftalık süre içinde tam olarak parçalanırlar. -Kullanımı kolay, tutmak kolaydır, cerrahi aletlere yapışmaz, uygulama yerine uyum sağlar ve formuna bağlı olarak bir boyutta kesilebilir [94]. -Kanama kontrolü gerçekleşinceye kadar kanayan dokuya karşı kolayca sıkıca tutunabilir [91,125].	-Kesilen kemik yüzeylerinde bırakılmamalıdır, yeni kemik oluşumunu engeller [51,127]. -Olası uzun dönem komplikasyonları, yabancı cisim reaksiyonları oluşabilir, gerekli en küçük miktar kullanılmalıdır [94]. -Düşük pH değeri trombin gibi diğer biyolojik topikal ajanların etkinliğini bozar, parçalanmasına neden olur, diğer ajanlarla birlikte kullanımı tavsiye edilmez. [91,94,126 ]. -Düşük pH çevre dokularda yangıyı arttırabilir, gecikmiş iyileşmeye yol açabilir [91,94]. -Epitel dokusunun çoğalmasını engeller, kanayan yüzeyler üzerinde devamlı bırakılmamalıdır [51,127]. - Islak ortamda dokuya yapışmaz, etkinliğini kısıtlar [31]. - Koagülopatik hastalara yararları sınırlıdır [31]. -Hafif bir kanamanın lokal kontrolünde kullanılmalıdır [31]. -Omurilik yakınında kapalı yerde kullanımı ikaz edilmeli çünkü şişme yapar ve Surgicel lifleri omurilik sıkıştırmasına neden olan omurlararası delikten geçebilir.
Trombin - Jelatin	Floseal	-İnsan plazma-türevi trombin+jelatin -İnsan trombin ve glutaraldehit çözeltisinin bir sığır kolajen içeren mikrogranüllerden jelatin bazlı matris ile çapraz bağlanmış bir kombinasyonudur [91,94,132].	-Aktifleşmiş trombin + yapı iskelesi. -Trombin çözeltisi bir fibrin pıhtısı meydana getirmek üzere, hastanın kendi kanında mevcut fibrinogeni aktive ederken, kan ile temas ettiğinde jelatin parçacıkları şişer ve bir tampon etkisine neden olur [91,94,133].	-Jelatin granüllerin tampon etkisinden dolayı fibrin yapıştırıcıya göre atardamar kanamasını daha iyi kontrol eder. -Açık ve laparoskopik nefrektomi (böbrek ameliyatı) yanı sıra kalp ameliyatında kullanımı önerilmektedir [91,133].	-Fibrinojen kaynağı olan kan ile temas etme gereği vardır. -Uygulamadan 10 dk sonra % 20 şişebilir. -Hasta pıhtılaşma faktörlerine gereksinim duyar. -Plazma türevidir. -Şişme komplikasyonları riski vardır.

Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik ajan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Topikal trombin	-Thrombin-JMI (sığır trombini), -Evithrom (insan plazma-türevi trombin), -rh Thrombin/Recothrom (rekombinan insan trombini)	-Sığır plazmasından ve son zamanlarda insan plazması türevi ve rekombinant insan trombini (rhThrombin) kullanılmakta [91]. -Trombin solüsyonu şırınga ile püskürtülebilir veya solüsyon gazlı bez veya jelatin süngere emdirilerek uygulanabilir. -Aktifleşmiş trombin. -Trombin tozu genellikle steril tuz çözeltisi ile sulandırılır. Bu kullanıcıya uygulama yerinin durumuna bağlı olarak trombin konsantrasyonunu ayarlamasını sağlar [94].	-Pıhtı oluşturmak için fibrinojeni fibrine dönüştürür, pıhtılaşma faktörlerini aktifleştirir [91].	-Basınç veya kan damarını bağlamak için kullanılan iplik yetersiz olduğu zaman küçük damarlar ve kılcal damarlardan hafif kanamaları kontrol etmekte etkilidir. -Hızlı etki gösterir. -Küçük damar kanamalarının kontrolünde iyidir. -Diğer hemostatik ajanlarla birlikte kullanılabilir. -Kullanımı kolay.	- Koagülopati (pıhtılaşma bozukluğu) ve trombozda (damarda kan pıhtılaşması) olası artış ve immünolojik müdahale nedeniyle sığır trombinin kullanımından kaçınılmalıdır. -Damar içi (intravasküler) tıkanma, yaygın damar içi pıhtılaşmaya (disemine intravasküler koagülasyon, DIC) neden olabilir. - Hasta pıhtılaşma faktörlerini gerektirir. -Thrombin JMI alerjeniktir.
Siyanoakrilatlar	Dermabond	-Siyanoakrilatlar, su mevcudiyetinde hızlı bir şekilde polimerleri oluşturan ve böylece hızlı bir şekilde birbirine bitişik yüzeyleri yapışan sıvı monomerlerdir [91]. - Süper yapıştırıcı konseptini temel alan ürünlerdir [12].	- Bileşim yan yana getirilen dokuyu yapıştırmak ve yarayı etkili bir şekilde kapatmak üzere kullanılmaktadır [12].	-Yüzde, eller ve ayaklarda ve gövdede ki yaralarda dikiş ipliği (≤5-0) yerine kullanılabilir. -2.5 dk içinde tam bağlanma dayanımı, 7 gün sonra iyileşmiş doku dayanımına ulaşır. -Su geçirmez bariyer oluşturur. -En sık ameliyat sonrası topikal yara kapatmada kullanılır [12]. -Küçük yaralar için standart suture kozmetik olarak eşdeğer sonuçlar ile daha hızlı uygulama ve onarım zamanı vardır [91].	-Çentikli (tırtıklı) yaralanmalarda kullanımı zordur. Isırma, delme ve ezilme yaralarında kullanılamaz. -Mukoza yüzeyleri, koltukaltı ve bacak arasında kullanılması önerilmez [91]. -Biyoeamilimli değildir. Doku hücreleri yenilenirken atılırlar [12]. -Etil siyanoakrilatlar, bozunması sırasında enfeksiyona ve gecikmeli yara iyileşmesi neden olabilen toksik yan ürünler oluşturur. -Antibiyotik merhem ya da vazelin ile bozulacaktır [91].

Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik ajan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Polietilen Glikol Hidrojel (yapıştırıcı)	CoSeal	- CoSeal sentetik hidrojel matris oluşturmak için doku üzerine püskürtülebilen, sodyum fosfat tamponu içinde yüksek molekül ağırlıklı polietilen glikolün iki çözeltisinden oluşmaktadır [91].	-Polietilen glikol polimerleri karıştırılır ve yaralı doku ile çapraz bağlanır [91]. -Yaraya tutunma, yapıştırma sağlar.	-Damar aşısı için iyi yapıştırıcıdır. -Damarın yeniden oluşumu için iyi bir mekanik yapıştırıcıdır. -Ekzotermik reaksiyon vermez, inflamasyona (yangı, iltihaplanma) neden olmaz ve bakteriyel enfeksiyon için potansiyel oluşturmaz. -Hızlı etki gösterir. -Şişlik ve genişlemenin endişe olmadığı, damar ve kalp cerrahisi uygulamaları için çok etkili bir hemostatik ajandır [91].	- İlk uygulamadan bir gün sonra 4 katına şişer ve şişmeye devam eder. -Belirgin şişmeden dolayı sıkıştırma riski vardır. Sıkıştırmanın zarar verebileceği anatomik yapıların çevrelerinde kullanılmamalıdır [91]. -Kısmi böbrek ameliyatlarında performansı iyi değildir. -Böbrek parenkimine (özekdoku, kanserli doku) zayıf yapışma gösterir.
Trombosit jel (yapıştırıcı)	Vitagel	-Hastanın trombosit ve fibrinojen içeren kendi plazması ile kombinasyon halinde olan mikrofibriller kollajen ve trombinden oluşmaktadır [91,96]. - Cerrahi işlem sırasında, hastanın kendi kanı 10 mL alınır, santrifüjlenir ve plazma bir şırınga içinde toplanır. Bu plazma daha sonra uygulama esnasında, hastanın plazması ve Vitagel içinde ihtiva edilen trombin ve mikrofibriller kollajen ile birleştirecek çift odalı şırınga dağıtım sistemine yerleştirilir [91,96].	-Yapı iskelesi oluşturur. - Fibrin yapıştırıcı ve trombosit aktivitelerini birleştirir. -Jeldeki proteinler doku yenilenmesini kolaylaştırırken hastanın trombositleri pıhtıyı sağlamlaştırır [91,96].	-Vitagel, ortopedik, kardiyak, hepatik ve genel cerrahi işlemler gibi, rekonstrüktif cerrahi işlemlerde başarıyla kullanılmaktadır. -Trombositlerin (hastanın plazmasından elde edilen) varlığının pıhtı gücünü artıracak ve pıhtı büyüme faktörlerini daha da güçlendireceğine inanılmaktadır. Trombosit jellerde proteinler, daha sonraki doku yenilenmesini kolaylaştırır [91,96].	-Santrifüje ve kullanmadan önce ön işleme ihtiyaç vardır [91]. -Hasta plazmasından ürün toplamayı içeren karmaşık hazırlama gerektirir. -Bypass işleminde kullanımında ikaz gerektirir. -Metilmetakrilat veya diğer akrilik yapıştırıcılar ile birlikte kullanılmamalıdır çünkü dayanımları düşebilir. - Renal pelvis (böbrek havuzcuğu) veya idrar yolu yakınında kullanıldığı zaman ikaz gerektirir çünkü fokus taş oluşumuna neden olabilir. - Diğer kombinasyon ürünleri gibi, pahalıdır ve başarılı kullanımı operatör deneyimine bağlıdır.
Ostene	Ostene (alkylene oxide copolymers)	-Alkilen oksit kopolimeri -Kemiğin kesik yüzeyinden kanamalarda [91,135].	-Kemikte kanama kanallarına tıkama ve tamponad (baskılama) etkisi yapar.	-Kemik yüzeyinde kanama kontrolü için önerilir. -Kemik gelişimine engel olmaz ve zamanla absorbe olabilir. -Hızlı etki gösterir. -Hastaya bağlı değildir. -Hidrofiliktir ve suda çözünür. Biyokimyasal olarak insan vücudu tarafından emilebilir [91,135]. -Biyoyumludur.	-Aktif veya gizli (durağan) enfeksiyon olan yerlerde kullanılmamalıdır. -Kemiğe yapısal destek veren alanlarda kullanımından sakınılmalıdır.

Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik alan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Glutaraldehit çapraz bağlı Albumin (yapıştırıcı)	BioGlue	<p>-BioGlue, bir ikili kartuş ayrı bölmeleri içinde tutulan, % 10 glutaraldehid çözeltisi ve 45% sığır serum albumin çözeltisinden oluşur. Bu kartuş tek-meme dağıtıcı içine yüklenir ve bileşenler uygulamada karıştırılır [91].</p> <p>-Bağlayıcı bir madde olan albumin, glutaraldehit ile birleşerek, güçlü bir yapışkan oluşturmaktadır [12].</p> <p>-Yapışma işlemi karışmanın hemen ardından gerçekleştirilmelidir. Bu nedenle hazırlık işlemi uygulama noktasında yapılmalıdır [12].</p>	<p>-Kanama yerinde bir mekanik kapama için albumin, glutaraldehitin oluşturduğu güçlü bağ ile yarada hücrel proteinlere kovalent bağ ile çapraz bağlanır [30,31].</p> <p>-Yaraya tutunma, yapıştırma, pıhtı yapı iskelesi sağlar.</p>	<p>-Atardamar kanamalarında etkindir.</p> <p>-Hızlı bir şekilde tam dayanıma ulaşır. Dikiş ve iğne hatlarında deliklerde iyi sızdırmazlık sağlar.</p> <p>-20 saniye içinde % 65 bağlanma gücüne ulaşır, sıcaklık, hava veya suya rağmen 2 dk. içinde tam dayanıma ulaşır.</p> <p>-Dokuya çapraz bağlanır.</p> <p>-Sıvı veya sıcaklıktan etkilenmez.</p> <p>-Oda sıcaklığında saklanabilir ve karmaşık bir hazırlık gerektirmez. [30,31].</p>	<p>-Gelişen yapılarda büyümeyi sınırladığı için kuşatarak kullanılmamalıdır [91].</p> <p>-Sinirlere yakın yerde fonksiyon bozukluğu riski vardır.</p> <p>-Reaksiyona girmeyen glutaraldehit, genetik mutasyona yol açan etkilere sahip olabilir.</p> <p>-Kalp içi veya kapakçığı gibi yapılarda uygulanmamalıdır.</p> <p>-Aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olabilir</p> <p>-Topikal hemostatik etkinliği açısından sık kullanılan bir uygulama değildir [12].</p> <p>-Fibrin bazlı hemostatiklere göre daha pahalıdır [30,31].</p>
Mikrogözenekli Polisakkarit Küresel Partiküller	TraumaDEX	<p>-Mikroporöz polisakkarid partiküllerinden oluşmaktadır.</p> <p>-Temelde bitkisel kökenli olarak elde edilmiş steril biyolojik materyaldir.</p> <p>-Kanayan bölgeye direk olarak dökülebilmektedir [12,97].</p>	<p>-Moleküler süzgeç görevi görerek, trombosit, eritrosit, albumin, trombin ve fibrinojen gibi kan proteinlerini dışarıda bırakarak parçacıkların yüzeyinde konsantrasyon edip jel kıvamında matris yaratır. Jelleşmiş, sıkışmış hücreler ve bileşenler, saniyeler içinde bir fibrin pıhtısının meydana gelmesi için iskele işlevini yerine getirerek, normal pıhtılaşma sürecini hızlandırır [12,97].</p>	<p>-Biyolojik olarak uyumludur.</p> <p>-Emilebilir [12,15].</p> <p>-Etkisini 120-180 saniye içerisinde hızlıca göstermektedir [12].</p> <p>-Minör kanamalarda etkilidir.</p> <p>-FDA onaylıdır [12,97].</p>	<p>-Çok geniş olan ve arteriyal kanamalarda yetersiz olduğu gösterilmiştir.</p> <p>-İç kanamalarda kullanılmaz.</p> <p>-Muharebede yeterli değil. Ameliyatlarda kullanılıyor [33].</p>

Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik alan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Bitkisel kaynaklı hemostatik	Ankaferd Blood Stopper (ABS)	-Glycyrrhiza glabra, Vitisvinifera, Alpinia officinarum ve Urtica dioica, Thymus vulgaris bitkilerinin standart bir karışımından oluşur [31,136].	-Kan içindeki proteinler ve asıl olarak da fibrinojenle kurduğu karşılıklı etkileşim ile birlikte, plazma ve serum içinde kısa sürede bir yapı ağı oluşturur. -Fibrinojen ve diğer proteinleri kümeleştirme yoluyla etkiler. Bu süreçte doku onarımına izin verecek düzeyde kanamanın durdurulması işlemi, temel olarak protein-eritrosit etkileşimi ile bağlantılıdır. -Eritrositlerin tek bir noktada konsantrasyonu ile vücudun pıhtı oluşturma mekanizmasından bağımsız bir şekilde kanama durdurur. -ABS ağında fizyolojik hemostatik işlem, doku faktörü bağlantılı kan pıhtılaşması yapısından bağımsız olarak, bu sistemi bozmadan gelişir [31,33,136].	-Türkiye'de eksternal kanama ve dental cerrahi kanamalarının tedavisinde onaylanmıştır. -Toksik değildir [31,136]. -Birincil ya da ikincil hemostatik bozukluğu olan bireylerde etkilidir [31,33,136].	-Damar içine ya da dolaşım sistemine yerleştirilmemelidir. -Muharebe de etkisizdir. -Tekrar kanama yapar. -Vücut tarafından emilimi, kan dolaşımına karışması halinde risk yaratır [33].
Plazma Proteinleri	FastAct	-Hayvansal (sığır, öküz gibi büyükbaş hayvanlar) plazma proteinlerinden faktör II, VII, IX ve X'nun aktif formlarını içerir [12,15,33]. Steril, non-pirojenik, serbest iodini olmayan, proteinlere bağlı ve %0.1 betadin içeren aseptik, tek bileşenli kanama durdurucu topikal ajan olarak üretilmiştir. -Likit, sprey, spanç, köpük, bandaj, strip formlarının olması kolaylık sağlar [12,33].	-Fizyolojik pıhtılaşma sisteminde bulunan faktör II, V, VIII ve XIII'ü aktiveleştirip pıhtının 2-3 saniye içinde oluşmasını sağlayarak etki eder. [12,33]. -Kanama üzerine direkt olarak uygulanabilen ve adezyon etkisi olmayan hemostatik ajandır. -Pıhtılaşma sisteminde katalizör olarak etki gösterir.	-Pıhtılaşmayı hızlandırır. -Travma sonrası gelişen kanamalı olguların yanı sıra antikoagülan ilaç kullanımı, faktör eksikliğine bağlı hastalıklardaki kanamalarda da hızlı pıhtılaşma sağlayarak kanamayı durdurabilir. -Doku kaybına yol açmaz. İyileşme daha hızlı olmaktadır. -Doğal yoldan hemostaz sağlar. Emboli riski olmamaktadır [12,33]. -Köpük formu topikal hemostatik ajanlar içerisinde en avantajlı olanlardır. Kavite şeklindeki yaralarda veya intraoperatif ulaşılması zor olan sahalarda etkilidir [12].	-Muharebede yeterli değil ameliyatlarda kullanılıyor [33]. -Likit formu damar içine enjekte edilmemelidir [12,33].



Çizelge 5.1. (Devam) Topikal hemostatik ajanlar, mevcut ürünler, yapıları, etkinlik mekanizmaları, avantajları ve dezavantajları

Hemostatik ajan	Mevcut ürünler	Yapıları	Etkinlik Mekanizmaları	Avantajları	Dezavantajları
Kostik (Yakıcı) Ajanlar (cerahi topikal hemostatik ajan)	Monsel Solüsyonu	-Monsel solüsyonu, küçük yaralar için topikal hemostat olarak kullanılan, %20 demir subsülfat solüsyonudur. -Doygun pamuk çubuğu ile tatbik edilebilir [94,96].	-Kostik ajanlar protein koagülasyonu ve çökmesi ile sonuçlanan yerel doku tahribatı, trombus (damarı tıkayan pıhtı) oluşumu ve küçük damarların kapatılmasını (yapışmasına) sağlar. -Monsel solüsyonunun Subsülfat grubunun oksitleyici potansiyeli ve asitliğinden dolayı protein pıhtılaşması ürettiği düşünülür [94,96].	-Deri yüzeyinde veya mukozal biyopsilerde etkili bir hemostatdır [94,96]. -Pahalı değildir.	-Kostik ajanlar yıkıcı olduğu için yüzeysel cilt kanamasında kullanılır. -Monsel solüsyonu için en önemli endişe, dermis içinde kalıcı cilt renk değişimine sebep olabilecektir, demir birikimi potansiyelinin olması. -Diğer potansiyel sakıncaları, artmış melanosit aktivitesine ikincil hiperpigmentasyon, artan dermal fibrozis, enfeksiyon riski ve gecikmiş epitelizasyonu içerir [94,96].
	Gümüş Nitrat	-En yaygın formu, kimyasal ile emdirilmiş pamuk çubuk benzeri çubuklardır. - Genel olarak deri yaralarının hipertrofik granülasyon dokusunun tedavi ve kanama kontrolü için kullanılır [94,96].	-Etki mekanizması doku proteinleri ile serbest gümüş iyonlarının ikincil bağlanmasıdır, bu da çökelmelerine ve küçük damarların tıkanmasına neden olur [94,96].	-Pahalı değildir. -Bu iyonlar, bu ajanın antibakteriyel özelliklerini vererek, bakteriyel proteinler üzerine de etki ederler. -Uygulamadan sonra ince bir eskar (yara kabuğu) oluşturulur. Bu eskar derin doku nekrozu önlemek için yardımcı olur [94,96].	-Bir yanma hissi şeklinde lokal bir rahatsızlık uygulama sırasında oluşabilir. -Yara iyileşmesinde gecikmeye yol açan, bazı çevre doku hasarından kaçınılması mümkün değildir. -Genel olarak uygulama sonrası gelişen siyah renk değişikliği geçicidir ve eskarın kabuklaşarak dökülmesi ile giderir. Ancak, büyük yüzey alanlarına uygulanması ile gümüş parçacıkların emdirmesi nedeniyle kalıcı koyu renk potansiyel riski vardır [94,96].
	Alüminyum Klorür	-Su, alkol, eter veya gliserol içinde % 20 den % 40 kadar formülasyon aralığında kalem aplikatör olarak hazırlanır. -En yaygın olarak traş ve biyopsi deliği sonrası kullanılır [94,96].	-Etki mekanizmasının hidroklorik asitin (HCl) hidroliz olması olduğu düşünülür, bu da pıhtılaşma yolunda doku faktörünün aktivasyonu veya doku pıhtılaşması, vazokonstriksiyona (kan damarlarının daralması) neden olur [94,96].	-Monsel solüsyonu ile karşılaştırıldığında alüminyum klorürün öncelikli avantajı kalıcı renk değişimi riski oluşturmaz [94,96].	-Lokal deri irritasyonu ve parestezi (uyuşma, karıncalanma veya yanma hissi gibi duyu bozukluklar) içerir. -Fazla miktarda uygulanırsa, alüminyum klorür yara iyileşmesini geciktirebilir [94,96].

## 6. BİYOMEDİKAL MALZEME

Biyomedikal teknoloji ve biyoteknoloji, esas olarak tıpta teşhis ve tedavi amacıyla kullanılabilen tüm madde, malzeme, aparat ve cihazların üretimi ile ilgilenen disiplinlerarası bir teknoloji dalıdır. Sağlık sektöründe farklı amaçlar için kullanılan maddelerin (ilaçlar, aşular, büyüme faktörleri, hormonlar, proteinler, oligopeptidler, oligonükleotidler vb.) özellikle modern biyoteknoloji teknikleri kullanılarak üretimi, kısaca “Sağlık için Biyoteknoloji” günümüzde uluslararası düzeyde (özellikle gelişmiş ülkelerde) en çok yatırım yapılan bilim ve teknoloji dalları arasında ön sırada yer almaktadır, hızla gelişmektedir ve “Biyomedikal Teknoloji” ‘nin önemli bir bölümüyle örtüşmektedir. Biyomedikal Teknolojinin önemli bir dalı yine teşhis ve tedavi amacıyla malzeme üretimidir [137].

Biyomalzemeler, vücudumuzda hasar görmüş dokuların ve bozulmuş organlarımızın tedavisinde kullanılan, kısmen ya da tamamen, kısa ya da uzun sürelerle vücutla sürekli temas halinde olan yapay malzemelerdir. Bu malzemelerin, biyolojik yönden uyumlu olması, toksik ve karsinojenik (kanserojenik) olmaması, kimyasal açıdan inert ve stabil olması, yeterli mekanik kuvvete sahip olması, yoğun bir yaşama uyum gösterebilmesi, uygun ağırlık ve dansitede olması, büyük miktarlarda işlenebilme ve fabrikasyon kolaylığı göstermesi, ekonomik olması istenmektedir. Biyomalzemelerin, fiziksel, kimyasal, mekanik ve termal özelliklerinin iyi bilinmesi ve doku ile allerjik, toksik, karsinojenik reaksiyon vermemesi istenir [137-140].

Biyomedikal ürünlerde kullanılacak malzemelerin, biyolojik sistemlerle etkileştiğinde uyum sağlayabilmeleri ve yan etki oluşturmamaları için yoğun çaba harcanmaktadır [140]. Biyomalzemeler, insan vücudunun çok değişken koşullara sahip olan ortamlarında kullanılır ve sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas ederler. Biyomalzemelerin tüm bu zor koşullara dayanıklı olması gerekir [141]. Doku veya kan ile temas eden herhangi bir malzeme, bazı reaksiyonlara sebep olarak sağlık açısından potansiyel bir risk oluşturabildiğinden, sistemin avantaj ve dezavantajları, uygulamadan önce çok iyi hesaplanmalıdır [138].

Biyomalzemeler doğal ya da yapay polimerler başta olmak üzere, metaller ve alaşımlar, özel seramikler, karbon ve bunların kompozitlerinden oluşur. Metallerin stabilitesi yüksektir ve sterilizasyonu kolaydır, ancak biyolojik ortamda paslanabilmektedirler. Seramiklerin, doğal maddelerin ve kompozitlerin biyouyumluluğu çok yüksektir, fakat işlenmeleri ve şekillendirilmeleri zordur. Biyomateryaller içinde en yaygın kullanım alanı olanlar ise, polimerik materyallerdir. Polimerik materyaller kullanıma uygun olarak değişik formlarda kolaylıkla hazırlanabilirler, metallerle karşılaştırıldığında, vücut içinde paslanmazlar (ancak bu parçalanmazlar anlamında değildir), doğal dokulara çok büyük benzerlik gösterdiklerinden dolayı, heparin gibi maddelerle bağlanabilmeleri mümkündür, adheziv özellikte polimerlerin kullanımı organlara dikiş atılmadan uygulanabilmelerini sağlar, yoğunlukları doğal dokuların yoğunluklarına çok yakındır [137-141].

Biyomalzemeler, rejeneratif tıp, implant malzemeleri, yapay organlar, sert ve yumuşak doku protezleri, ve teşhis ve tedavi amaçlı cihazların yapımı ve doku mühendisliği için doku iskelelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyomalzeme uygulamalarına, doku implantları, stentler, doku yapıştırıcıları, deri, yanık ve yara örtüleri, ilaç salım sistemleri, sütürler, kalp kapakçıkları, vasküler greftler, kalp pilleri, vidalar, kemik çimentosu, yapay eklemler (kalça, diz, dirsek), kemik defekt dolguları, kornea implantları, kırık (sabitleme) plakları, yapay kan, tendonlar ve ligamentler, kontakt ve intraoküler lens, total kalça protezi, yapay kalp ve ventriküler assist cihazları örnek olarak verilebilirler [137-141].

Araştırmacılar, “biyomalzeme” ve “biyouyumluluk” terimlerini, malzemelerin biyolojik performanslarını belirtmek için kullanmışlardır. Biyouyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliği olup, vücut ile uyuşabilirlik olarak tanımlanabilir [140]. Biyouyumluluk, uygulama sırasında malzemenin vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneği olup, malzeme ve vücut sıvılarının kimyasal etkileşimi ve bu etkileşimin fizyolojik sonuçlarının vücutta ne kadar zarar verip vermediğidir. Bir malzemenin biyouyumlu olması için bulunduğu canlıdaki fizyolojik ortam tarafından kabul edilmesi yani vücutla uyuşabilir olması, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmaması ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) meydana getirmemesi gerekir. Wintermantel ve Mayer bu terimi biraz genişleterek biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlar. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur.

Biyouyumluluğu yüksek olan malzemeler, bedene yerleştirilebilir cihazların hazırlanmasında kullanılırlar [140,141].

Bir biyomalzemenin biyoyuymuluğunun belirlenmesi için yapılması önerilen testler şunlardır:

a)Fizikokimyasal ve mekanik testler

Tablo 6.1'de biyomalzemelere ve medikal sistemlere uygulanan fizikokimyasal ve mekanik testler sınıflandırılmıştır.

Çizelge 6.1. Malzemelerin özelliklerini belirlemede kullanılan fizikokimyasal ve mekanik testler [138]

Test Grupları	Kütle Özellik Testleri	Yüzeysel Özellik Testleri
I	Yoğunluk Sertlik IR spektrumu NMR spektrumu Polimerin tanınması Gerilim-gerinim ilişkisi	Temas açısı IR spektrumu Morfoloji (Işık mikroskobu)
II	Yarılma Elektriksel iletkenlik Elementel kompozisyon ve ekstre edilebilme Molekül ağırlığı dağılımı Morfoloji (Taramalı Elektron Mikroskobu) Optik özellik Osilasyon Çözücü Yanıtı Gerilme esnekliği Termal özellikler Açı genişliği X-Ray Spektrum	Temas açısı Morfoloji Protein adsorpsiyonu Yüzey kimyasal bileşimi (XP3)

1.grupta ön testlere yer verilmiştir. Bunlar, uygulaması oldukça basit testlerdir ve yeni biyomalzemelerin özelliklerini az da olsa meydana çıkarmada ihtiyaç duyulan testlerdir.

2.grupta ise daha gelişmiş testlere yer verilmiştir. Bunlardan birkaç tanesi spesifik sistemler için ihtiyaç duyulabilecek testlerdir [138].

b)Biyolojik testler

Medikal sistemlerin güncel kullanımında biyolojik performansını önceden belirlemede, kullanılacak in vitro ve in vivo testler vardır ve geliştirilmektedir. Bu testlerin çoğu

kullanılması düşünölen medikal ürünün herhangi bir potansiyel toksisite olasılığını belirlemek içindir. Yapılacak uygulama için testlerin uygun seçimi, anlamlı sonuçların bulunması ve gereksiz harcamalardan kaçınmak için önemlidir. İmplant edilebilen ilaç salım sistemlerinin araştırma ve geliştirmelerinde bunların etkinlik ve güvenilirliklerinin belirlenmesinde in vivo biyoyumluluk çalışmaları çok önemli rol oynamaktadır. Esas olan implant edilebilen ilaç salım sistemlerinin in vivo biyoyumlarının değerlendirilmesine yenilik getirmektir. Çizelge 6.2'de uygulanabilir biyolojik test işlemleri ve sistem uygulamalarının esasları verilmiştir. Hangi sisteme hangi testlerin uygulanabileceği bu tabloda gösterilmektedir [138].

Çizelge 6.2. İmplant sistemlere etkin olarak uygulanabilen biyolojik testler [138]

Materyal/Araç Uygulamaları ve Sınıflandırılması	Testler												
	Hücre Toksisitesi	Deri İritasyonu	I.M. İmplantasyon	Kan Uyumu	Hemoliz	Karsinojeniklik	Uzun Süreli İmplant	Mukoz Membran İritasyonu	Sistemik İnj. Akut Toksisite	I.C. İnjesiyon (İritasyon)	Hassasiyet	Öldürücülük	Pirojen Testi
Harici Sistemler													
Sağlıklı yüzey		x									x		
Yarık yüzey	x	x							x	x			
Haricen Temastaki Sistemler :													
Sağlam doğal kanallar								x			x		
Vücut dokuları ve sıvıları													
Operasyon sırasında	x							x	x	x			x
Kısa süreli	x		x					x		x			x
Kronik	x		x					x	x	x	x		x
Kan damarları, indirek	x		x	x	x				x	x	x		x
Kan damarları, direk, kısa süreli	x			x	x				x	x	x		x
Kan damarları, indirek, uzun süreli	x		x	x	x					x	x		x
Temastaki İmplant Sistemler													
Kemik	x					x	x		x		x	x	x
Doku ve doku sıvılar	x		x			x	x		x	x	x	x	x
Kan	x		x	x	x	x			x	x	x	x	x

Bu testler materyalin kendisinde ve sistemde yapılmaktadır. Testlerin birçoğunda çeşitli sıvılardaki sistem veya araçların ekstresi kullanılmaktadır. Bu işlemdede test ortamı olarak en sık kullanılan yapay vücut sıvıları; enjesiyonluk su, serum fizyolojik, alkol:serum fizyolojik (1:20), polietilenglikol, pamuk tohumu yağı, yapay ekstrasellöler sıvıdır [138].

Sentetik bir malzeme biyomalzeme olarak kullanıldığında, bu malzemenin canlı dokuyla teması sırasında yaşam sistemini herhangi bir şekilde etkilememesi gerekmektedir. Canlı dokuya yerleştirilmiş tüm malzemeler, bu dokudan tepki alırlar. Çeşitli faktörlere bağlı olarak implant malzemeye olan doku cevabının dört türünden bahsedilir [138].

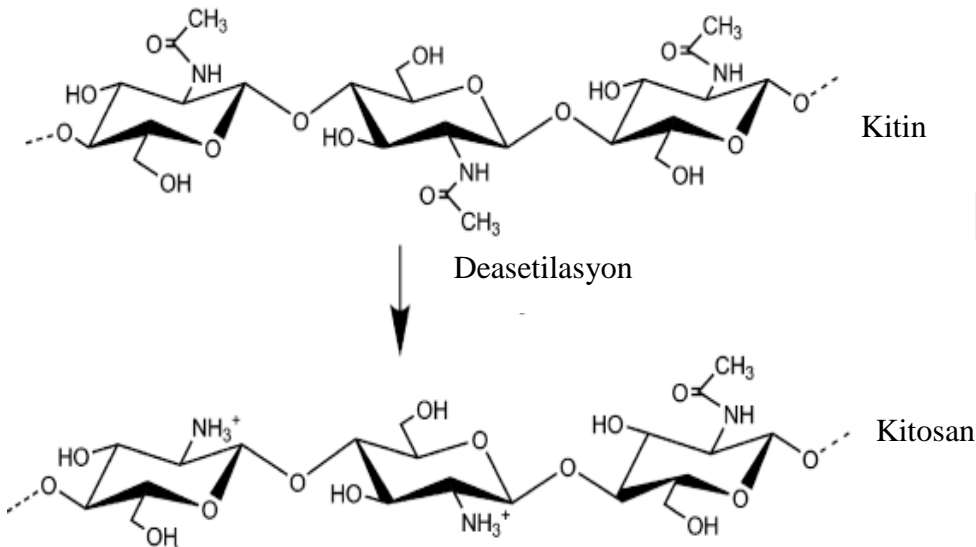
- 1.Malzeme toksikse, çevresindeki doku ölür.
- 2.Malzeme toksik değil biyo inertse, değişik kalınlıkta fibröz doku oluşur.
- 3.Malzeme toksik değil de biyoaktifse, doku implant ara yüzeyinde bağlanma gerçekleşir.
- 4.Malzeme toksik değil, fakat çözünür yapıdaysa, çevresindeki doku, implantın yerini alır [138].

Biyomalzemeler doku ile etkileşimlerine göre biyo inert, biyoaktif ve biyobozunur malzemeler olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Biyo inert malzemelerin doku ile etkileşimleri mekanik bağ şeklindedir. Mekanik bağ biyo inert malzemenin dokuyu değiştirmeden doku ile birarada bulunması anlamına gelmektedir. Biyoaktif malzemeler kemikle ya da canlı organizmanın yumuşak dokusu ile kimyasal bağ yaparak etkileşirler. Biyobozunur malzemeler ise biyolojik olarak bozularak zamanla doku ile yer değiştirir [138].



## 7. KİTOSAN

Bu çalışmada temel hemostatik ajan olarak, doğal bir polimer olan kitosan kullanılmıştır. Kitosan, yengeç, karides, istakoz gibi eklembacaklıların kabuklarında, bazı bakteri ve mantarların hücre duvarlarında bulunan kitinin ( $\beta$ -(1-4)-poli-N-asetil-D-glukozamin) deasetilasyonu ile elde edilen, kimyasal yapı olarak selüloza benzeyen biyopolimerdir [90]. Selülozda C<sub>2</sub> karbonundaki hidroksil grubu yerine kitinde asetamido grubu bulunmaktadır. Kitosan ise, kitinin alkali ortamda deasetilasyonu sonucu elde edilen (1-4) bağlı D-glukozamin ünitelerinden oluşan lineer bir polisakkarittir. Kitosan, iyi bir biyoyuymululuk ve biyolojik bozunabilirliğe sahip, doğada bol bulunan tek polikatyonik biyopolimerdir [90,142,143].



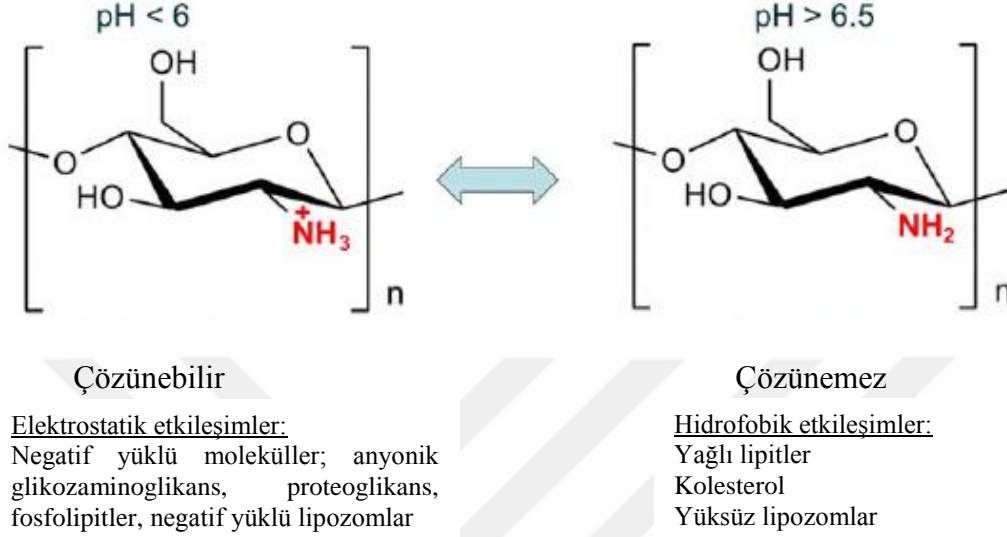
Şekil 7.1. Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı [90,143]

Kitosanın, sentetik polimerler gibi, DNA, aljinatlar, pektinler, ksantan, glukozaminoglikanlar, karboksimetil selüloz ve jelatin gibi çok sayıda farklı polianyonla kompleks oluşturduğu gösterilmiştir. Bu komplekslerin kararlılığı, polimer yük yoğunluğu, molekül ağırlığı, net şarj oranları, çözücünün özellikleri, iyonik kuvvet, pH ve sıcaklık gibi parametrelere büyük ölçüde bağlıdır [143-146].

Kitosanın biyolojik özellikleri, suda ve yaygın olarak kullanılan diğer çözücülerdeki çözünürlüklerine bağlıdır. Kristalin formunda, kitosan normalde pH 7'nin üstündeki sulu



solüsyonlarda çözünmez; bununla birlikte, seyreltik asitlerde, protonlanmış serbest amino grupları molekülün çözünürlüğünü kolaylaştırır [147].



Şekil 7.2. Kitosan değişkenliğinin şematik gösterimi [148]

Solüsyonda  $\text{pH} > 6,5$  durumunda kitosan solüsyonları faz ayrımı gösterir;  $\text{pH} < 6,5$  olduğunda kitosan çözünür, protonlanmış amino gruplarının varlığı nedeniyle pozitif bir yük taşır [149]. D-ünitelerinin amin grupları oldukça düşük bir pKa değerine sahiptir, bu da amin gruplarının ağırlıklı olarak  $\text{pH} 6,5$  değerlerinin altında pozitif yüklü olduğu anlamına gelir [150]. Bu aynı zamanda, kitosan çeşitinin suda çözünürlüğünü  $\text{pH}$ 'ın bir fonksiyonu olarak etkiler ve kitosanın elektrotlara çökeltmesinde kullanılan bir özelliktir [151,152]. Solüsyonda  $\text{pH}$  değeri 6,0 ve 6,5 arasında iken, kitosan moleküllerinin serbest amino grupları daha az protonlanmış hale gelir ve kitosan zinciri boyunca hidrofobiklik artar. Bu nedenle, kitosan öz-agregaları, molekül içi ve moleküller arası hidrofobik etkileşimler vasıtasıyla asetat tampon çözeltilerinde oluşturulabilir. Katyonik bir polielektrolit olarak, düşük  $\text{pH}$ 'da (yaklaşık 6'dan az) kitosan, negatif yüklü moleküller veya polimerlerle, örneğin anyonik glikosaminoglikanlar, proteoglikanlar ve diğer negatif yüklü moleküller ile elektrostatik olarak etkileşime girebilir. Daha yüksek  $\text{pH}$ 'larda (yaklaşık 6,5'in üstünde), kitosan amino grupları deprotonize olur ve çeşitli substratlar (örneğin yağ asitleri ve kolesterol) ile hidrofobik etkileşimler ortaya çıkabilir [148,153].

Kitosanın kimyasal bileşimini büyük oranda değiştirebilme imkanı, biyopolimeri oldukça özel kılar ve sadece yüzey aktivite özelliklerini değil aynı zamanda biyolojik bozunum

kinetiğini de belirler [154]. D-ünitelerinin birincil bir amino grubunun bulunması, kitosanı, çeşitli kimyasal grupların kovalent bağlanmasıyla kimyasal modifikasyon için cazip bir polimer yapar ve farklı kimyasal türevlerinin üretilmesini sağlar [143,155].

Kitosan, düşük toksik, biyolojik olarak parçalanabilir ve (asidik pH değerlerinde) pozitif yüklü biyopolimer olduğundan, biyolojik sistemleri içeren birçok uygulamada popüler bir malzeme veya ilaç katkı maddesi haline gelmiştir [143].

Herhangi bir toksisitesinin bulunmaması, alerji ve iritasyon yapıcı olmamasının yanı sıra, biyoparçalanabilir, biyoyenilenebilir, biyobozunur, biyofonksiyonel, biyoadezif ve biyogeçimli oluşu farmasötik ve medikal alanda kitosanı önemli ve ilgi çekici bir biyomateryal yapmaktadır. Kitosan aynı zamanda önemli biyoaktif özelliklere sahiptir. Bunlar arasında hemostatik, antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidant, antiülser, antitümör, antikolesteremik, antiasit, antikanserojen, yara iyileşmesini hızlandırıcı, kemik iyileşmesini hızlandırıcı ve immün sistem stimulan, doku yenileyici, antienflamatuvar, tümör inhibisyonu, osteojenik, kanda kolesterolü kontrol edici, immunojenik özellikleri sayılabilir [90,156-162]. Bu özellikleriyle kitosan, farmasötik açıdan tablet katkı maddesi, ilaç taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında; kozmetikte saç, deri ve diş bakım ürünlerinde; tıp/dişçilikte yapay deri, cerrahi iplik, kontakt lens, antikoagülan, diş dolgu maddesi olarak; biyoteknolojide enzim, canlı hücre immobilizasyonu, hücre enkapsülasyonu gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bunların dışında, tarım, ziraat, tekstil, besin endüstrisi, fotoğrafçılık gibi çeşitli alanlarda çok sayıda uygulamaları vardır [163-167]. Çizelge 7.1'de kitin, kitosan ve türevlerinin uygulama alanları yer almaktadır.

Kitosan, hemostatik özellikte bir polimerdir. Kitosanın hemostatik mekanizması klasik pıhtılaşma yolundan bağımsız olup eritrosit (kırmızı kan hücrelerini (RBCs)) hücre membranı ile kitosan arasındaki etkileşmeye bağlıdır. Hemostaz, normal olarak, pıhtılaşma mekanizmasının başlangıcından sonra bir tıkaç oluşturmak için temel sağlamak üzere, trombosit agregasyonu ve trombosit tapası ile başlar. Kitosan trombosit agregasyonundan önce (ya da aynı anda) hemen kırmızı kan hücrelerinin çapraz bağlanmasıyla bir bariyer başlatarak avantaj sunabilir. Eritrosit hücre membranı ile kitosan arasında etkileşim nedeniyle filtre edilen eksi yüklü eritrositler ile güçlü çapraz bağ oluştururlar [157].

Çizelge 7.1. Kitin, kitosan ve türevlerinin uygulama alanları [157]

Uygulama Alanı	Spesifik kullanımları
Su arıtımı	Kirlenmiş atık sular için koagülasyon ve flokülasyon
	Atık sudaki metal iyonlarının uzaklaştırılması ve geri kazanımı
Ziraat	Bitki katkı maddesi
	Antimikrobiyal madde
	Bitki tohumu kaplanması
	Gübre yapımı
	Insektisid ve nematositlerde
Biyoteknoloji	Kromatografik yöntemlerde
	Enzim immobilizasyonunda
Gıda	Doğal kıvamlaştırıcı
	Hayvan yemlerini de içeren yiyecek katkı maddesi
	Yiyecek işlemede (örneğin şeker işleme)
	Filtreleme ve temizleme
	Hipokolestrolemik madde (zayıflama maddesi)
	Atık yiyeceklerin tekrar işlenmesi
Kozmetik	Saç şekillendirici yapımı
	Cilt nemlendirmede (nemlendirici kremlerde)
	Antikolestrol ve yağ bağlayıcı olarak zayıflama maddesi
	Aftershave, deodorantlarda koku giderici madde
Medikal Alan	Hayvan ve insanlar için yara bandı yapımında
	Sargı bezi yapımında ve yara tedavisinde (yara tedavisini % 30 oranında hızlandırmaktadır.)
	Yanık tedavisinde acıyı dindirme ve iyileştirme etkisi
	Kanı pıhtılaştırıcı madde
	Hidrojel yapımı
	Antikoagülant ve antitrombojenik materyaller (sülfatlanmış-kitin türevleri olarak)
	Hemostatik madde
	Kontakt lens yapımı
İlaç salınımı	

Kitosan, hemostatik ajan olarak; dokulara yapışır, fiziksel olarak bariyer kurar, mekanik olarak kapatır, kandaki su moleküllerini absorbe eder ve pıhtılaşma faktörlerini konsantre eder, eritrosit kümeleşmesini sağlar ve trombositlerin konsantrasyonunu hızlandırır, moleküler elek gibi davranır, yapı iskelesi kurar, vazokonstrüktördür (damar büzücü), pıhtılaşma aktivasyonu sağlar [12,18,26,31,45,94,157].

Kitosan, yara iyileşmesini hızlandırmada da oldukça etkin rol oynamaktadır. Başta diyabet hastaları olmak üzere vücuttaki yaraların iyileşme hızı hastalar için büyük önem taşımaktadır. Kitin ve kitosan, uzun süredir yara iyileştirme özellikleri bakımından araştırılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Kitosan, heparin (- yüklü) ile polielektrolit kompleks oluşturma özelliği sayesinde yara tedavisine etkin rol oynamaktadır. Heparin, kanın pıhtılaşmasını önleyen (antikoagülan) bir polisakkarittir. Oluşan bu kompleks ve beraberinde hücre büyüme faktörünün de artmasıyla doku gelişimini desteklemektedir [157].

Kitosan, polietilen oksit (PEO), polivinil alkol (PVA) ve poliakrilik asit (PAA) gibi suda çözünebilir polimerler ile iyonik kompleksler oluşturabilir. Farklı biyoinert polimerler, özellikle polivinil alkol ve polietilen oksit ile karıştırılarak elde edilen kitosanın modifikasyonu, kitosanın fizikomekanik özelliklerinin değiştirilmesine ve medikal uygulamalar için bunların lifli ve filmleri materyallerinin hazırlanmasına olanak sağlar [168-169].

Bu çalışmada, elde edilen ürün özelliklerini geliştirmek için kitosan ile birlikte, polivinil alkol (PVA) ve polietilen oksit (PEO) gibi malzemeler de kullanılmıştır.

Kitosan avantajlarına rağmen, mekanik direnci düşüktür ve mekanik özelliklerini iyileştirmek için toksik olmayan ve biyolojik olarak parçalanabilir bir sentetik polimer olan polivinil alkol (PVA) gibi diğer polimerlerle karıştırılır. Dolayısıyla, kitosan ve PVA'nın harmanlanmasından elde edilen filmler, sadece kitosan ya da PVA'dan hazırlanan filmlere kıyasla, modifiye edilmiş fiziksel özelliklere sahiptir [170-175].

Polivinil alkol (PVA), toksisitesi, biyoyumluluk, hidrofilitiklik, mukavemet, kimyasal direnç ve iyi film ve elyaf oluşturma yeteneği gibi olumlu özelliklerinden dolayı çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılan suda çözünür, yarı kristalin bir polimerdir.

PVA'nın kimyasal yapısı molekül içi hidrojen bağının oluşumunu desteklemektedir; dolayısıyla membranlar ve hidrojellerin hazırlanmasında kullanılır. Kitosan, sodyum alginat (SA), ksilan, jelatin gibi doğal polimerler ve polietilen oksit (PEO), polivinil pirrolidon (PVP) gibi sentetik polimerler ile kombine edilerek oluşturulan PVA filmleri, çeşitli biyomedikal uygulamalar için araştırılmaktadır [176].

PVA, çok sayıdaki hidroksil gruplarından dolayı, kitosandan daha hidrofilik bir polimerdir. Buna karşılık, kitosan, moleküller içi ve moleküller arası hidrojen bağları oluşturabilen hidroksil ve asetat gruplarının varlığına bağlı olarak hidrofilikliğı azaltmaya katkıda bulunur [175,177,178].

PEO, biyoyumluluk, nontoksisite, nonpolarite, nonantijenisite ve nonimmünojenisite sergileyen bir hidrofilik yarı kristalin polieterdir. Bu nedenlerle, PEO hidrojelleri, yara bandajları, hemodiyaliz membranı ve ilaç salım sistemleri olarak kullanılır [176].

## 8. LİTERATÜR

Broekema ve diğeri (2011), sentetik, biyobozunabilir hemostatik ajanın geliştirilmesini amaçlamışlardır. Bu amaçla farklı şekilde hazırlanmış oldukları poliüretan köpükleri, piyasada mevcut olan jelatin (Spongostan, absorbable gelatin sponge) ve kollajen (Novacol, absorbable collagen hemostat)‘den oluşan ürünlerle karşılaştırmışlardır. Kanama zamanı ve hacmi ölçümleri için vücut dışı test modeli kullanmışlardır. Bu test modelinde Thrombostat 4000 cihazı kullanılmıştır ve test numunesinden insan kanının akışı ile ölçümler yapılmıştır. En iyi pıhtılaşma değerine kollajen malzeme ile ulaşılmıştır. Poliüretan köpük ve jelatin arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Poliüretan köpüğün sonuçları polietilen glikol miktarı artırılarak belirgin bir şekilde geliştirilmiştir. Bu nedenle, PEG konsantrasyonunun artırılması gelecek vaat eden bir yaklaşım olarak görülmüştür.

Chen ve diğeri (2013) yaptıkları çalışmada, kitosan bazlı kompozit süngerlerin, yara örtüsü, antibakteriyel ve hemostatik uygulamaları açısından sentezini incelemiştir. Tipik gözenekliliği % 50 ve gözenek boyutu 100-300 µm olan makrogözenekli kitosan-polivinil alkol (PVA) kompozit süngerlerin oluşturulması için CO<sub>2</sub> kabarcıkları kalıp dondurarak kurutma yöntemi geliştirilmiştir. Kabarcıkla desteklenmiş dondurarak kurutma yöntemi, makrogözenekli kitosan süngerlerin oluşturulmasını sağlamıştır. Oluşturulan süngerler, çapraz bağlayıcı ve PVA içeriğinin etkileri, morfolojisi, mekanik özellikleri, su alımı ve nem geçirgenliği değerleri açısından incelenmiştir. Geliştirilmiş makrogözenekli kitosan/PVA kompozit süngerler geleneksel dondurarak kurutma yöntemi ile hazırlanan mikrogözenekli kompozit süngerlere göre daha yüksek su absorpsiyon kapasitesi göstermiştir. PVA varlığında kitosan süngerlerin dayanım ve esnekliğinin geliştirilmiş olduğu, uygun nem geçirgenliği değerlerinin elde edilmiş olduğu gözlenmiştir. Antibakteriyel ve hemostatik etkinlikleri de incelenmiştir. Kitosan/PVA kompozit süngerler, saf kitosan süngerler ve çözeltilerinden daha yüksek antimikrobiyal ve hemostatik etkinlik değeri göstermiştir. Vücut dışı kan pıhtılaşma test raporları kitosanın hemostatik mekanizmasının doğrudan eritrosit hücreleri ile reaksiyonuna dayandığını desteklemiştir. Kitosan/PVA süngerlerin, yüksek sıvı absorplama, uygun nem geçirgenliği, antimikrobiyal özelliği ve kendine özgü hemostatik davranışı ile yara bakım ürünü uygulamalarında kullanılabilir oldukları rapor edilmiştir.

Behrens ve diğeri (2014), mevcut hemostatik ajanların çoğunlukla pahalı, etkisiz ve güvenlik endişelerinin fazla olması nedeniyle uygun maliyette sentetik hidrojel parçacıkları üzerine çalışma yapmışlardır. Çalışmada, N-(3-aminopropyl) methacrylamide (APM) hidrojel parçacıkları sentezlenmiş, özellikleri saptanmış ve hemostatik malzeme olarak kullanımları araştırılmıştır. APM hidrojel parçacıkları, dar boyut dağılımı ve hızlı şişme davranışı ile ters süspansiyon polimerizasyonu yoluyla sentezlenmiştir. Hidrojel parçacıkların vücut içi ortamda davranışını tahmin etmek için potansiyometrik titrasyon, zamana bağlı şişme deneyleri ve pıhtılaşma zamanı deneyleri yapılmıştır. Vücut dışı pıhtılaşma çalışmaları hidrojel parçacıkların kan kümeleşme formasyonu oluşturduğunu göstermiştir. Birçok fare yaralanması ve küçükbaş karaciğer yırtılması modelleri kullanılarak yapılan vücut içi çalışmalar, hızlı hemostaza ulaşmak için parçacıkların etkinliğini, standart gazlı bez ile karşılaştırılarak kanıtlamışlardır. Çalışmada, yığılma pıhtılaşma aktivitesinde genel bir düşme olurken, bu katyonik hidrojel parçacıkların elektrostatik etkileşimle trombositler ve kırmızı kan hücrelerinin yığılmasını kolaylaştırdığını ve kümeleşme oluşumu ile kan kaybına fiziksel bariyer oluşturduğunu belirtmişlerdir. Yüksek pozitif yükü düşük çapraz bağlanma yoğunluğu ile, yığın kan pıhtılaşması gecikirken, % 1000 zaman boyutlu hidrojinin şişme yeteneği hemostaz için uygun değerleri verdiği ve lokal kümeleşmeye neden olduğu bildirilmiştir. Bu mekanizmanın, hidrojinin kan akışını hızlı bir şekilde bloke etmesine izin verdiği, vücut içinde kanıtlandığı gibi ve pıhtılaşma aktivitesinden dolayı merkezden uzaklaşan trombozu (kan pıhtılaşmasını) riskini hafifletebildiği belirtilmiştir. Mevcut formunda uygulamadan sonra malzemeyi uzaklaştırma ihtiyacının olduğu fakat ileri çalışmaların biyobozunur kimyasallar ve sentez yöntemleri bu ihtiyacı ortadan kaldıracabileceği bildirilmiştir. APM hidrojellerin hemostatik malzeme olarak potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Periayah ve diğeri (2013) yaptıkları çalışmada, in vitro ortamda trombosit yapışması ve kümeleşmesini artırmak için hemostatik ajan olarak kitosan türevlerinin farklı formülasyonlarının yeteneklerini incelemişlerdir. Bu amaçla % 2 NO-CMC (N,O-carboxymethylchitosan), % 7 NO-CMC (0,45 ml kolajen ile), % 8 NO-CMC, O-C 52 (Oligo-chitosan), % 5 O-CMC-47 (O-carboxymethylchitosan), NO-CMC-35 ve O-C 53 kitosan türevleri kullanılmıştır. Kitosan türevi numuneler 5 mg tartılmış ve 50 µL fosfat tampon çözelti ile (PBS) (pH 7,4) 37 °C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Trombositlerin kitosana yapışmalarının morfolojik özellikleri, taramalı elektron mikroskobu kullanılarak (SEM) incelenmiştir. Trombosit sayısı, Automated Hematology Analyzer kullanılarak

analiz edilmiştir. Trombositlerle bağı O-C 52 membran yüzeyinde yaklaşık olarak % 70-80 kapsama ile trombosit kümeleşmesi ve yığınları ortaya çıkmıştır. Sonuçlar, O-C 53 ve O-C 52 numunelerinin kitosanın diğer türlerine göre hemostaza ulaşmada daha üstün olduğunu, pıhtılaşmayı tetikleyebildiğini, hemostaz sürecini yapan trombositlerin salgılanması potansiyeline sahip olduklarını göstermiştir. Trombositler üzerinde kitosan türlerinin etki mekanizmalarını tam olarak aydınlatmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir.

Rahmany ve diğerleri (2013), hemostatik ajan olarak kullanılan biyomalzemelerde birçok sınırlama varken, keratin biyomalzemelerin daha önceki kanamalı hayvan modellerinde kan kaybını hafifletmede etkinlik gösterdiğini belirtmişlerdir. Keratinlerin, koagülasyona aktif olarak katılmasını, sıcaklıktan ve pıhtılaşma faktörlerinin seyrelmesinden bağımsız potansiyel hareket mekanizması hipotezini araştırmışlar. Çalışmadan elde edilen sonuçlarda, keratinlerin plazma pıhtılaşma gecikme sürelerinde belirgin düşmeyle hemostaza katkıda bulunduğu ve koagülopati (pıhtılaşma bozukluğu) şartlarına benzetilen ortamda etkinliğini sürdürebildiği bildirilmiştir. Plazma ve izole edilmiş fibrinojen/trombin sistemlerin her ikisinde de, keratin normal fizyolojik şartlardan daha erken zaman noktalarında ve daha hızlı oranda fibrinojenin fibrine dönüşmesine neden olduğunu göstermiştir. Önemli bir şekilde, bu mekanizma pıhtılaşma faktörlerinin konsantrasyonu ve sıcaklıktan bağımsız, koagülopati (pıhtılaşma bozukluğu) hastalarında hemostaz için uygun karakteristik özellikte olduğunu göstermiştir.

Song ve diğerleri (2014) yaptıkları çalışmada, gözenek arttırıcı olarak amonyum bikarbonat (AB) parçacıkları kullanarak, organik çözücülerle iyi uyumluluğu, düşük yüzey gerilimi, düşük viskozitesinden dolayı süperkritik karbondioksit (CO<sub>2</sub>) prosesi kullanılarak kitosan bazlı hemostatik gözenekli süngerler hazırlamışlardır. FT-IR spektrumu, kitosan sünger (CS) ve poly-(methyl vinyl ether-co-maleic anhydride) (PVM/MA) 'nın kimyasal bileşiminin faz ayrışma prosesi esnasında değişmediğini göstermiştir. Süperkritik akışkan prosesinden (SCF) sonra süngerlerin morfolojisi ve yapısı SEM kullanılarak incelenmiştir. Sonuçta oluşan hemostatik süngerler 0,1 den 200 µm kontrol edilebilir gözenek boyutu aralığı ile göreceli olarak yüksek gözeneklilik (yaklaşık % 80) göstermiştir. PVM/MA'nın eklenmesi süngerin gözenekliliğinde belirgin bir etki göstermemiştir, fakat su absorpsiyon oranını, in vivo ve in vitro pıhtılaşma yeteneğini geliştirmiştir. Oluşturulan süngerin biyolojik değerlendirmesi ve hemostatik etkisi, piyasada mevcut ürün Avitene® ile



karşılaştırılarak yapılmıştır. PVM/MA'nın kitosan bazlı süngerin içine birleştirilmesi, süngerin su absorpsiyon oranını belirgin bir şekilde artırmış ve CS-PVM/MA sünger, Avitene benzer su absorpsiyon oranı (yaklaşık % 90) göstermiştir. Hayvan çalışmaları ve tüm kan pıhtılaşma denemelerinin sonuçları, CS-PVM/MA süngerin, Avitene benzer pıhtılaşma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmada, üretilen hemostatik süngerin hemostaz için uygun olduğunu ve hemostatik gözenekli sünger üretmek için süperkritik akışkan prosesinin (SCF) uygulanabilir olduğu bildirilmiştir.

Nie ve diğerleri (2013), yapıştırıcı bant ve hemostatik malzeme olarak, doğal olarak elde edilen malzemelerden, polisakkarit/polipeptit hidrojel geliştirmişlerdir. Tiyollenmiş kitosan ve maleimid modifiyeli  $\epsilon$ -polylysine içeren hidrojel yapıştırıcı geliştirilmiştir. Tiyol modifiye kitosan (CSS),  $\epsilon$ -polylysine üzerine maleimide gruplarının uygulanması ile hazırlanan yeterli polipeptit çapraz bağlayıcı ile yerinde hızlı çapraz bağlanmıştır. Jelleşme, maleimide grupların süstitüsyon (yerdeğiştirme) derecesine (DS), tiyol gruba göre maleimide grubun molar oranına ve CSS konsantrasyonuna bağlı olarak 15-215 s içinde hızlı bir şekilde gerçekleşmiştir. Sonuçlar, hidrojinin saklama modülünün, maleimidin süstitüsyon derecesi ve CSS konsantrasyonundaki artış ile çarpıcı biçimde arttığını göstermiştir. Elde edilen yapışkan hidrojinin, ticari olarak bulunan fibrin yapıştırıcıdan 4 kat daha yüksek yapışma dayanımına sahip olduğu görülmüştür. Sıçan karaciğer hasarına uygulandığı zaman mükemmel hemostatik özellik gösterdiği ve özellikle L929 hücrelerine non-toksik olduğu belirtilmiştir. Bu şekilde oluşturulan hidrojinin, doku yapıştırıcısı, hemostatik malzeme, ilaç salınım ve doku yenileme sistemlerinde kullanılabileceği rapor edilmiştir.

He ve diğerleri (2013), kitosan filmleri farklı protonasyon dereceleri ile, sulu NaOH veya etanol solüsyonu ile asit giderme yaparak hazırlamışlardır. Filmler daha sonra kan pıhtılaşmasında kitosanın pozitif yükünün etkisini araştırmak için model olarak kullanılmıştır. Sonuçlar, pozitif şarjlı kitosanın iki taraflı keskin kılıç gibi davranıp, eritrosit yapışmasını, fibrinojen adsorpsiyonunu ve trombosit adezyonunu ve aktivasyonunu desteklediğini, fakat temas sistemin aktivasyonunu engellediğini göstermiştir. Genel görüşlerin aksine, pozitif şarjlı kitosan filmler üzerinde trombin üretimi ve pıhtı oluşumunun gecikmiş olduğunu bulmuşlardır. Bu fenomenden en az iki neden sorumlu tutulmuştur. Birincisi, pozitif yük temas aktivasyonunu engellemiş ve ikincisi, pozitif yük pıhtılaşmanın erken döneminde yığın fazda yapışkan olmayan trombositlerin

aktivasyonu belirgin olarak teşvik edememiştir. Mevcut bulguların kitosan filmlerin kan pıhtılaşmasına yol açan olaylarda anlayışımızı geliştirecektir, yeni kitosan bazlı hemostatik malzemeleri geliştirmede yararlı olacağı rapor edilmiştir.

Pandima ve diğerleri (2012), yara iyileşmesinde uygulanabilirliğini tespit etmek için kitosan-fibrin ile yapılan karma filmlerin hazırlanması ve değerlendirilmesini incelemişlerdir. Geçici biyolojik yara örtüleri, gözenek artırıcı olarak PVP ile fizyolojik olarak pıhtılaşmış fibrin ve kitosan kullanılarak film (FC) şeklinde hazırlanmıştır. Bu filmlerin, denge su içeriği yüzdesine (% EWC), su buharı geçiş hızına (WVTR), bakteriyel penetrasyona, yüzey morfolojisine ve hayvan modeli olarak sıçanlarda in vivo biyobozunurluğuna bakılarak karakterize edilmiştir. Fibrin 10 ml (% 40, katı) ve kitosan çözeltisi 5 ml (0,3 N asetik asit içinde % 4 kullanılarak hazırlandı) kullanılarak hazırlanan film daha iyi sonuçlar sergilemiştir. FC filmler, bakteriyel penetrasyon (nüfuz etme) için mükemmel bir engelleme göstermiştir. Islak zar için alınan mikrograflar, filmin hidrojel doğasını belirten yüzeyi boyunca genişleyen fibrinin şişmiş ipliklerini göstermiştir. İn vivo çalışmalar, FC filmlerin biyoyumluluğunu belirten herhangi olumsuz bir yabancı cisim reaksiyonu olmadan 30 gün içinde tamamen biyobozunur olduğunu göstermiştir. Malzemenin uygulandığı bölgede herhangi bir akut inflamatuvar etki veya yabancı cisim reaksiyonu göstermediği için biyoyumlu olduğu rapor edilmiştir.

Wattanuchariya ve diğerleri (2012), Thailand'da doğal kaynakları kullanarak hemostatik ajan üretmeyi amaçlamışlardır. Yerel malzeme olarak pirinç nişastası ve kalem kalamardan elde edilen kitosan kullanılmıştır. Her iki malzemeninde biyoyumlu ve genellikle biyomedikal uygulamalarda kullanıldığını, ve hatta antimikrobiyal özelliğe sahip kitosanın, yara enfeksiyonunu önleyen hemostatik ajan olarak kullanıldığını bildirmişlerdir. Dondurarak kurutma yöntemiyle farklı oranlarda kitosan ve pirinç nişastası içeren hemostatik süngerler üretmişlerdir. En uygun kan absorpsiyonunu ve şişme davranışını elde etmek için kitosan ve pirinç nişastası oranları belirlenmiştir. Kitosan ve pirinç nişastası hacim oranı 50:50 ile elde edilen hemostatik ajan, kabul edilebilir fiziksel özelliğine bağlı olarak kanama kontrolü için hızlı kan absorpsiyon oranı ve düşük hemoglobin sızıntı ile uygun özellikler göstermiştir. Gözeneklilik, şişme özelliği, su içeriği ve hemostatik ajanın kan absorpsiyonu ticari ürün SURGIFOAM ile karşılaştırılmıştır. Saf kitosan ile yapılan numunede % 74,46, saf pirinç nişastası ile % 82,16 gözeneklilik elde edilirken 50:50 oranında hazırlanan numunede % 86,84 gözeneklilik elde edilmiştir.

SURGIFOAM ise sadece % 36,39 gözeneklilik değeri vermiştir. Su içeriği değerini en yüksek saf kitosanla yapılan numuneler vermiştir. Saf kitosanla yapılan numunede % 98,88, saf pirinç nişastası ile yapılan numunede % 91,67 ve SURGIFOAM'da ise % 90,69 su içeriği değeri elde edilmiştir. Şişme davranışına bakıldığında kitosan içeriği arttıkça şişme özelliği artmıştır. En düşük kan absorplama hızı 0,4 ml insan kanı için 5 saniye ile saf pirinç ile yapılan numunede elde edilmiştir. SURGIFOAM'da ise bu değer 45 saniye ölçülmüştür. Hemoglobın sızdırma değerlerine bakılmış, 180 saniye distile suda tutulmuş, saf kitosanla yapılan numune en düşük hemoglobın kaçağı yaparken, saf pirinç nişastası ile yapılan numune en yüksek hemoglobın kaçağı göstermiştir. Ayrıca ticari olarak bulunan ürün kitosan-pirinç nişastası hemostatik ajana göre daha fazla hemoglobın sızıntısı vermiştir. Elde edilen sonuçlardan kitosan-pirinç nişastası hemostatik ürünün ticari ürünlere göre düşük üretim maliyeti ve çok az daha üstün özellikler ile yakın gelecekte medikal uygulamalar için potansiyele sahip olduğu rapor edilmiştir.

Dowling ve diğerleri (2011) yaptıkları çalışmada, bir "geri dönüşümlü" hemostatik ajan olarak amfifilik biyopolimerin kullanımı araştırmışlardır. Hızlı bir şekilde kan jel benzer yeteneği sergileyen bir amfifilik biyopolimer ve kendiliğinden oluşan jelleşme altında kolaylıkla şeker bazlı supramolekülün (molekül üstü) eklenmesi yoluyla tekrar sıvı hale dönüşümünü rapor etmişlerdir. Biyopolimer hidrofobik olarak düzenlenmiş (hm) bir polisakkarit, kitosan türevidir. Doğal (amfifilik olmayan) biyopolimer olan kitosan, doğal anti-mikrobiyal özelliklere sahip, ucuz ve yaygın olarak bulunabilen bir malzemedir. Kitosan omurgasına küçük hidrofobik gruplar (kuyruk) eklemişler, böylece hidrofobik olarak modifiye edilmiş veya hm-kitosan oluşturmuşlardır. Hemostatik etkinlikte in vivo ve in vitro olarak çalışmalar yapmışlardır. hm-kitosan heparinlenmiş insan kanı ile temas ettirildiği zaman, sıvıyı hızlı bir şekilde elastik bir jel haline dönüştürmüştür. Karşıt olarak, tabi kitosan (hidrofob içermeyen) kanı jelleştirmedeği bildirilmiştir. Bu çalışmada hm-kitosanın hemostatik hareket mekanizmasının, kan hücre zarının hidrofobik iç kesimlerine polimerin hidrofoblarının bağlanmasını içerdiği belirtilmiştir. Böylece, kan hücreleri biyopolimerin zincirleri ile bağlanır ve numuneyi kapsayan jel ağ örgüsü oluşturur ve kan akışını potansiyel olarak durdurabildiği belirtilmiştir. Jelleşmenin,  $\alpha$ -cyclodextrin ilavesi ile tersine çevrilebildiği görülmüştür. Küçük ve büyük hayvan yaralanma modelleri ile ön testler hemostaza ulaşmada etkinliğin arttığını göstermiş, örneğin, bir sıçan modelinde femoral ven kesiler için kontroller üzerinde kanama zamanında % 90 azalma görülmüştür. Hm-kitosanın jelleşme yeteneği fibrin bazlı yapıştırıcılar ile aynıdır, fakat daha düşük fiyat

ve geniş mevcudiyet alanı vardır. Çalışmada, hm-kitosanın iç ve dış kanama için travma merkezleri ve ordu tarafından kullanılmak üzere etkili, güvenli ve düşük maliyetli bir hemostatik ajan olarak hizmet potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir.

Gu ve diğerleri (2010) sinek larva kabuk türevi kitosandan sünger yapımı ve bunun sıçan hepatik kanama modelinde hemostatik ajan olarak iç kullanımda etkisini araştırmışlardır. Kitosan sünger (CS) üretilip, diğer hemostatikler (jelatin sünger (GS), oksitlenmiş selüloz (OS)) ile karşılaştırmışlardır. Kitosan süngerin (CS), akut ve kronik kanama modellerinin her ikisinde de jelatin sünger (GS) ve oksitlenmiş selülozdan (OS) daha iyi bir implante edilebilir hemostatik malzeme olduğu bildirilmiştir. Kitosan süngerin, GS ve OS'den daha iyi olan etkinliği, onun uygulandığı yerde, trombosit aktivasyonu, eritrosit kümeleşmesi ve morfolojik olarak değiştirmesi, ve trombin üretimini geliştirme yeteneğine bağlıdır. Bunun dışında, ön güvenlik araştırmaları, hemoreolojik ölçümlerde, kan pıhtılaşma analizlerinde, histolojik değerlendirmeler ve hepatosit (karaciğer gözesi) kültür denemelerinde muhteşem kan ve hücre uyumluluğu göstermiştir. Malzemelerden hiç biri, akut inflamasyon veya diğer olumsuz etkiye neden olmamıştır ve uygulanmalarından 4 hafta sonraki durumlarında normal doku gelişimi ve damar oluşumu (vaskülarizasyon) görülmüştür.

Alfars ve diğerleri (2008) kitosan süngerlerin hemostatik kabiliyeti, yapışma yeteneği ve biyouyumluluğu kontrol grup olarak geleneksel metod kullanılarak karşılaştırılmıştır. Hazırlanan süngerler, tavşandaki yaraya uygulanmadan önce % 20 amonyak sulu solüsyonuna daldırılmıştır. Hemostaz sağlanıncaya kadar kontrol grup ve kitosan süngerin her ikisinde de, yaralı bölgeden toplam kanama miktarı, hemostaz tamamlama başarı oranı benzer bulunmuştur. Kontrol grup göz önünde bulundurulduğunda, hemostaz altında kitosan sünger tavşan dokularına güçlü bir şekilde yapışmıştır. Ancak, ıslak şartlar altında her iki grup arasında belirgin bir yapışma yeteneği farkı görülmemiştir. İmplantasyon sırasında kitosan sünger daha fazla esneklik ve kırılma dayanımı göstermiştir. Amonyak kullanılan pıhtılaşma işlemi kitosan yapısında ve özelliklerinde az bir etkisi olduğu ve kitosan süngerin esnekliğini artırdığı böylece doku ile sünger arasındaki etkileşimi geliştirdiği rapor edilmiştir.

Lih ve diğerleri (2012), potansiyel doku yapıştırıcı malzeme olarak kitosan esaslı biyoyapışkan hidrojelere üretmişlerdir. Çalışmada kitosan-poly(ethylene glycol)-tyramine (CPT) hidrojelere, yabanturpu peroksidaz (HRP) ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kullanarak

yerinde çapraz bağlanma yapılmıştır. Polietilen glikol, tyramine ile modifiye edilmiş ve kitosanın çözünürlüğünü geliştirmek ve üç boyutlu ağ yapı ile çapraz bağlamak için kitosana aşılannmıştır. Hidrojelin elastik modülü çapraz bağlanma şartları değiştirilerek kontrol edilebilmiş ve mekanik dayanımı hidrojelin doku yapışkanlığını etkilemiştir. Hidrojeller, fibrin yapıştırıcıya (Greenplast) göre 3'ten 20 kata kadar bir aralıkta daha fazla yapıştırıcılık özelliği göstermiştir. Hidrojellerin yapışkanlığı gibi mekanik dayanımı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in farklı konsantrasyonları kullanılarak ayarlanılabilmektedir. Bu ayarlanabilir yapışkanlık hidrojelleri, farklı yapışkanlık dayanımı aralığı gerektiren çeşitli medikal uygulamalarda etkili biyoyapıştırıcılar olarak uygun yapmaktadır. Hidrojellerin hemostatik yetenekleri değerlendirilmiş ve hidrojellerin yapışma etkisi ve kitosan malzemenin hemostatik özelliğinin birleşimi ile karaciğer hasarından kanama, önemli biçimde durdurulmuştur. Farede karaciğer hasarına veya cilt insizyonu modeline uygulandığı zaman, enzimatik çapraz bağlanma metoduyla kürleştirilen hidrojeller 5 saniye içinde mükemmel hemostatik özellikler ve yara iyileşme etkileri göstermiştir. Enzimatik çapraz bağlanma yöntemi suda çözünür kitosana, sıçanların kesilen cildi içine 5 saniye içinde hızlı bir şekilde hidrojel formu oluşturmasına olanak sağlamıştır. Histolojik (doku bilimsel) sonuçlar, CPT hidrojellerin cilt kesliğinde, dikiş atma, fibrin yapıştırıcı ve siyanoakrilatlara göre üstün iyileşme etkileri gösterdiğini kanıtlamıştır. Yerleştirmeden iki hafta kadar sürede, kesik içinde CPT hidrojellerin varlığından dolayı, yara yeni oluşmuş dermis ile tamamen iyileşmiştir. Çalışmada, kitosan hidrojellerin, yerinde tedavi edilebilir biyomedikal uygulamalar için umut verici doku yapıştırıcı cihazlar olduğu rapor edilmiştir.

Gu ve diğerleri (2013), nanolifli bir hemostatik malzeme üretmek için saf kitosana elektrospining (elektro lif çekimi yöntemi) uygulamışlardır. Asidik kitosan nanoelyafların suda çözünürlüğü nedeniyle, çözünmeyen malzeme yapabilmek için en uygun nötralizasyon şartları çeşitli alkali solüsyonlarıyla test edilmiştir. Nötral nanolif hasırların (keçelerin) gözenek boyutu ve kalınlığı ultrasonikasyon kullanılarak kontrol edilebilmiştir. Kitosan keçenin gözenekliliği 1 dk ultrasonikasyon (ultrasonik banyoda tutmak) uygulaması ile % 79,9'dan % 97,2 değerine arttırılmış ve su absorpsiyon zamanı 110s'den 9s değerine düşürülmüştür. Ultrasonik banyoda tutulan kitosan keçenin kan pıhtılaştırma etkinliği ölçülmüş ve ticari ürün Surgicel ve kitosan süngerden sırasıyla 1,35 kat ve 3,41 kat daha iyi etkinliğe sahip olduğu görülmüştür. Buna ek olarak, 7 günlük kültürden sonra, ultrasonik banyoda tutulan nanolif keçe üzerinde normal insan dermal fibroblastların çoğalması, ultrasonik banyoda tutulmayan malzemeye göre 1,4 kat yüksek bulunmuştur.

Ultrasonik banyoda tutulan kitosan nanolif keçelerin hemostatik yara örtüsü ve doku mühendisliği uygulamalarında kullanımı için büyük bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Aiyuan ve diğerleri (2011) yaptıkları çalışmada, iyonik jelleşme yoluyla ortalama 60,2 nm boyutlarında kitosan nanoparçacıkları hazırlamışlar ve X ışınları kırınımı ve FT-IR kullanarak karakterize etmişlerdir. Hazırlanan kitosan nanoparçacıkların, şiddetli kanamalı hayvan modelinde, hemostaz yanında yara iyileşmesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sonuçlar iyi hemostaz etkilerine ulaştığını ve hatta şiddetli kanamadan sonra yara iyileşmesini tetiklediğini göstermiştir. Kan hücreleri kitosan parçacıkları tarafından absorbe edilmiş ve kanama durdurulmuştur. Kitosan nanoparçacıkları yara iyileşmesini diğer malzemelere göre daha uzun sürdürmüştür. İşlemden sonra 15. günde 58,3 nm boyutunda kitosan nanoparçacıkları yenilenmiş hepatik dokuda hala görülebilmektedir. Kitosan-TPP (Sodyum tripolifosfat) nanoparçacıkları, kollajen sentezi ve inflamatuvar hücrelerin göçü yoluyla yara iyileşmesini tetikler. Böylece, kitosan nanoparçacıklar parankimal organlarda yara iyileştirme yeteneğini ve hemostazı göstermiştir. Hayvan modelinde, kitosan-TPP nanoparçacıkları hemostazda ideal etkinlik göstermişler. Önemli olan kısmı, hızlı granülasyon oluşumu ve kollajen sentezi yoluyla yara iyileşmesini bile tetikleyebilmesi olduğu belirtilmiştir. Kitosanla karşılaştırıldığında yara iyileşme tedavisini daha uzun süre sürdürebilmiştir. Şiddetli kanama ve sonraki yara iyileşme tedavisinde kitosan-TPP nanoparçacıkları ideal malzeme olabileceği rapor edilmiştir.

Baik ve diğerleri (2010) yaptıkları çalışmada, yeni bir hemostatik yapıştırıcı imal etmek ve performanslarını değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Bleestop A (% 75 ethanol içinde % 2 esterleşmiş atelo kollajen + % 1 CaCl<sub>2</sub> + % 0,71 DOPA (3,4-dihidroksifenilalanin) + DW (distile su) içinde % 0,1 tranaksemik asit) ve Bleestop B (DW içinde % 2 esterleşmiş atelo kollajen + % 1 CaCl<sub>2</sub> + % 0,71 DOPA + DW içinde % 0,1 aminokaproik asit) olarak adlandırdıkları iki atelo kollajen bazlı hemostatik yapıştırıcıyı üretmişlerdir. Atelo kollajen, hayvan derisinde ve kemiklerde bulunan kollajendir ve güvenliği ve biyouyumluluğu enzim ve alkali iyileştirme ile artar. Bu yapıştırıcılar, herhangi bir yapıştırıcı kullanılmayan negatif kontrol grubu ve plazma türevi fibrin yapıştırıcı olan Tissucol Duo Quick pozitif kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçan modeli kabul edilmiştir ve her bir grubun hemostatik yapışma faaliyetleri olan yapışma mukavemeti testi ile yapışması ve morfolojik özellikleri değerlendirilmiştir. Karaciğer dokular

kullanılmıştır. Yapışma histolojik değerlendirmesi ışık mikroskobu kullanılarak belirlenmiştir. Kanama Bleestop A uygulandıktan sonra hemen kontrol altına alınmış ve 30 saniye sonra kısmi adhezyon görülmüştür. 1 dakika sonra kesilen yüzeyin % 9'dan fazla alanı yapışmıştır. Bleestop B'de kısmi adhezyon 30 saniye sonra görülmüş ve kesilen yüzeyin % 95'ten fazla alanı 45 saniye sonra yapışmıştır. Histolojik değerlendirme, Bleestop A ve Bleestop B her ikisinin de kesilen yüzeyleri hızlı bir şekilde yapıştırdığını göstermiştir. Bleestop A ve Bleestop B'nin yapışma dayanımı negatif kontrol gruptan daha iyi ve pozitif kontrol gruba göre 3 dakika sonra aynı yapışma dayanımını göstermiştir. Bleestop A ve Bleestop B, pozitif gruba benzer olarak, 1 dakika içinde belirgin hemostaz ve yapışma yeteneği göstermiştir.

Dai ve diğerleri (2010) yaptıkları çalışmada, kanama kontrolü için makrogözenekli kitosan tabakalarla kaplı mesogözenekli silika kserojel (az oranda sıvı içeren jel) boncuklar (CSSX) geliştirilmiş ve hemostatik etkinliği yanında biyouyumluluğu araştırılmıştır. Modifiye edilmiş sol-jel prosesi ve polietilen glikol (PEG) moleküler damgalama tekniği kullanılarak, mezogözenekli silika kserojel çekirdekleri ve makroyapılı kitosan tabakalarından oluşmuştur. CSSX boncukların dokusal özellikleri, kan pıhtılaşması in vivo ve in vitro değerlendirmelerle belirlenmiştir. Hazırlanan CSSX boncuklar pıhtılaşma mekanizmasının temas aktivasyon yolunu belirgin bir şekilde hızlandırmış ve istenen hemostazı sağlamıştır. CSSX-25 (% 2 kitosan ve % 5 PEG) kompozisyonu ile hazırlanmış CSSX boncuklar en iyi etkinlik değeri vererek, kan pıhtılaşmasını teşvik etmek için eritrositlerin hareketini kısıtlamış, multimodal (çok kipli, çok doruklu) mekanizma işlemi yoluyla şiddetli arteriyel kanamalı tavşan modelinde hemostaz sağlamıştır. Ayrıca ekzotermik reaksiyon, dokuda termal hasar ve 7 gün sonra sitotoksiste görülmemiştir. Sitotoksiste değerlendirme sonuçları göstermiştir ki, farklı zamanlar için hücreler ile temas halinde CSSX boncuklar, hücre hasar bulgusu olmadan ve yüksek hücre canlılığı ile fare miyoblast (kas gözesi) çoğalmasına izin vermiştir. Tavşan femoral (uyluk kemiğine ilişkin) damarlarının yaralanma yerinde histolojik değerlendirmesi, nekroz, damar duvarının iltihap (yangı) ya da bozulması veya düz kas olmadığını göstermiştir. Çalışmada elde edilen CSSX boncukların güvenli hemostatik sistem oluşturduğu, spesifik yaralanma modelleri için hemostatik malzeme olarak en uygun malzeme geliştirilmesinde bir platform oluşturacağı, diğer yara iyileştirici ajanların geliştirilmesini büyük ölçüde kolaylaştıracağı, gelecekte enzimler ve antibiyotikleri sabitlemek için yaygınlaştırılabileceği rapor edilmiştir.

Kheirabadi ve diğeri (2008) yaptıkları çalışmada, sıkıştırma veya damarsal kontrol olmadan şiddetli parankimal kanamayı kontrol edebilecek bir fibrin yapıştırıcı köpük (FSF) formüle etmeyi amaçlamışlardır. Yüksek fibrinojen konsantrasyonu (20 mg/ml) ve düşük trombin aktivitesi (5 U/mL) ile FSF, sıvı gaz itici ilavesi ile hazırlanmış ve basınçlandırılmıştır. Bu köpüğün etkinliği, şiddetli parankimal kanamaya karşı test edilmiştir, antikoagüle tavşanlarda karaciğer lobların kısmi rezeksiyon (parça alma, bir organ veya vücut sıvısının kısmen çıkarılması) ile oluşturulmuştur ve muamele edilmemiş yaralanma ve plasebo tedavisi ile karşılaştırılmıştır. Basınçlı FSF'nin hemostatik etkinliği, aynı zamanda, ticari olarak temin edilebilir bir sıvı fibrin yapıştırıcı ve gelişmekte olan bir kuru toz fibrin yapıştırıcı ürün ile aynı modelde karşılaştırılmıştır. Karaciğer zedelenmesi, muamele edilmemiş tavşanlarda 1 saat içinde (3,2-3,4 kg) % 75 ölüm ve  $122 \pm 11,5$  mL kan kaybı ile sonuçlanmıştır. Plasebo köpük tedavisinin kan kaybı veya ölüm oranı üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Basınçlı FSF belirgin bir şekilde % 100 hayatta kalma oranı ile, tedavi edilmemiş veya plasebo ile tedavi edilen hayvanlar ile karşılaştırıldığında, sırasıyla, % 56 ve % 66 kan kaybında azalma sonucuyla kanamayı azalttığı görülmüştür. Basınçlı FSF, sıvı ve toz formdaki fibrin yapıştırıcı ile karşılaştırıldığı zaman, tedavi edilmemiş kontrol grubuna göre, sadece köpük belirgin olarak tavşanların kaybını azaltmış (% 49) ve ölüm oranını (% 54) azaltmıştır. Elde edilen ürünün tedavi başına daha az insan fibrinojen ve trombin gerektirdiğinden, sıvı veya toz FS üründen daha etkin maliyetli olabileceği bildirilmiştir. Alternatif FS maddeleri ile karşılaştırıldığında, 1 dakikadan daha az sürede hızlı hazırlanması ve köpüğün büyük hacmi sayesinde detaylı kanama alanları kapsayabilmesi ürünün büyük bir avantajı olarak değerlendirilmiştir. Biyolojik doğa, hızlı hazırlama, büyük yara alanların kapsamı ve etkin hemostatik özellikleri basınçlı FSF'yi hasar kontrol prosedürlerinde ameliyat edilemeyen parankimal yaralanmaların tedavisi için ideal bir malzeme yapacağı rapor edilmiştir.

Kabiri ve diğeri (2011) yaptıkları çalışmada, 1-etil-3-(3-dimetil aminopropil) karbodiimit (EDC) ile çapraz bağlanmış emilebilir jelatin sünger üretmeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla hazırladıkları süngerlerde, çeşitli jelatin içerikleri ve çapraz bağlayıcı ajan konsantrasyonunun etkisi, mekanik özellikleri üzerinde donma sıcaklığı, 24 saat içinde bozunma oranı ve süngerlerin hemolitik yeteneği ve hücre canlılığı incelenmiştir. Taramalı elektron mikroskopisinden (SEM) elde edilen sonuçlar, donma sıcaklığının, sünger yapısı ve yoğunluğu üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Süngerin SEM görüntüleri ortalama 180-200 mm çaplarında gözeneklere



sahip olduklarını göstermiştir. Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektrumları, C-N bağların (üre türevleri) yokluğu nedeniyle nihai jelatin sünger yapısında çapraz bağlayıcı kalıntısının olmadığını göstermiştir. % 1 jelatin ve % 0,05 EDC içeren -25 °C'de (dondurarak kurutma işleminden önce) dondurulan numune, yarım saat içinde, kan pıhtılaşması veya  $0,37 \text{ cm}^{-1}$  UV'den daha fazla hemoglobin Emilimi göstermiştir. Aynı numunenin sıkışma modülü 150 kPa'dan fazla ve bozunma oranı 24 saat içinde yaklaşık % 28 bulunmuştur. EDC ile jelatin süngerlerin çapraz bağlanması, süngerin biyouyumluluk ve mekanik özelliklerini birleştirmiştir. Genel olarak, bu teknikler elde tutabilme kolaylığını arttırmak için kullanılabilir. Özellikle elde edilen sonuçlara dayanarak, EDC ara konsantrasyonları spesifik olarak kütlece % 0,025 hatta % 0,05, sitotoksiklik etkisi yok iken, jelatin sünger dayanımı ve kararlılığını arttırmıştır. Hemostatik yeteneği çalışmasında numunelerin absorpsiyon değerlerine bakılmıştır. Yüksek absorpsiyon değeri daha fazla hemoglobin salıverme ve hemolitik yeteneğin olduğunu göstermiştir. Yüksek jelatin konsantrasyonu olan sünger güçlü hemoliz (alyuvar erimesi/yıkılması) değeri vermiş ki bu da jelatinin doğası gereği hemostatik etkinliğe sahip olduğunu doğrulamıştır. Dondurma sıcaklığı düştükçe hemolitik yetenek artmıştır, çünkü, düşük dondurucu sıcaklıkta gözenek boyutu daha geniş ve dolayısıyla potansiyel hemoglobin yakalama daha yüksek bulunmuştur. Zamanda ve çapraz bağlayıcı miktarındaki değişiklik hemolitik yeteneğinde belirgin bir etki göstermemiştir. Bu avantajların, cerrahi uygulamada sünger performansını artırmak için katkıda bulunabileceği rapor edilmiştir.

Wang ve diğerleri (2006) kitosan süngerleri, ticari kollajen süngerler ile biyouyumluluğu, adezyon yeteneği ve hemostatik etkinliği açısından karşılaştırmışlardır. Kitosan sünger tavşan boyun damar yaralanmasına uygulanmadan önce sulu % 20 amonyak solüsyonuna daldırılmıştır. Toplam kanama miktarı yaralı damardan kitosan ve kollajen süngerler için benzer bulunmuştur. Tamamıyla hemostaz sağlama oranı her iki sünger için benzer bulunmuştur. Hemostaz altında kitosan süngerler tavşan damarlarının yüzeyine güçlü bir şekilde tutunmuş, kollajen süngerler ise damarlardan kolayca ayrılmıştır. Ancak ıslak şartlar altında her iki sünger içinde yapışma kabiliyetinde belirgin bir fark görülmemiştir. İmplantasyon sırasında kitosan süngerlerin kollajen süngerlerden daha esnek ve kırılmaya karşı daha dayanıklı olduğu görülmüştür. Tavşanlarda deri altına yerleştirme işlemi yapıldıktan sonra iki sünger için de biyouyumluluk ve biyobozunurluk oranları tamamıyla farklı bulunmuştur. Kitosan sünger için doku tepkileri kollajen süngerlere göre çok daha

fazla iken, kitosan sünger kollajen süngerden çok daha yavaş bozunmuş olduğu bildirilmiştir.

Stęplewski ve diğerleri (2006), medikal uygulamalar için kitosan-alginat lifleri üretmişlerdir. İki bileşenli lifleri üretmek için iki ayrı metod kullanmışlardır. Lif oluşturmada birinci metod (A), koagülasyon banyosuna kitosanın beslenmesi ile lif çekimini içerir, bu da maksimum % 3,1 kitosan içerikli alginat-kitosan liflerin çekimini sağlamıştır. İkinci metod (B), daha etkili bulunmuştur. Bu metotta kitosan prosesin son aşamasında kullanılıyor ve % 9,2'den fazla kitosan içerikli alginat-kitosan lifleri elde edilmiştir. B metoduyla elde edilen kitosan-alginat liflerde kitosan içeriğini daha da artırma çalışmaları yapmışlardır. Sodyum alginat % 4'ten % 20 değerine kadar polivinilpirolidon lif çekme solüsyonuna eklenmiştir. % 11,6 kitosan içeren iki bileşenli lifler PVP kullanımı ile üretilmiş ve 22,2 cN/tex çekme mukavemeti ve % 19 kırılmada uzama ile karakterize edilmiştir. Sodyum alginat çekme solüsyonunun içine PVP eklenmesi, alginat liflerinin içine kitosan solüsyonunun daha iyi nüfuz etmesini, lifler üzerine çökelen kitosanın toplam miktarında artışı ve alginat çekirdek ile kitosanın daha iyi bağlanmasını sağlamıştır. Ek olarak, bu şekilde alginat-kitosan lifleri, % 1300 üzerinde çok yüksek su tutma gücü (WRV) ile karakterize edilmiş ki bu liflerin, sağlık ve medikal ürünlerde kullanımında uygun oldukları rapor edilmiştir.

Lan ve diğerleri (2015) yaptıkları çalışmada, ipekböceği kozası ve jelatinden elde edilen bir kitosan kompozitin hemostatik özelliklerini test etmişlerdir. Bu süngerimsi gözenekli malzeme, tanenlerle çapraz bağlanmış ve sonra farklı oranlarda kitosan ve jelatin içeren kompozitler elde etmek için vakum altında dondurularak kurutulmuştur. Sonuçlar, in vitro en iyi kan pıhtılaşma indeksinin (BCI), 5/5 (w/w) oranında bir kitosan/jelatin sünger (CG) oranı ile elde edildiğini göstermiştir. In vitro kanama testi uygulayarak ve in vivo hayvan kanama modelleri kullanarak, tek başına kitosan ve jelatin süngerle karşılaştırıldığında, CG'nin daha iyi hemostatik etkileri olduğunu bulmuşlardır. CG, tavşan arter kanaması ve karaciğer model testlerinde, ayrı ayrı kitosan ve jelatin süngerle karşılaştırıldığında, en iyi hemostatik etkiye sahip bulunmuştur. CG, sıvı emiliminde ve trombosit agregasyonunda, ayrı ayrı kitosan ve jelatin süngerinden daha iyi performans göstermiştir; bu durumun, CG'nin kararlı üç boyutlu ağsı gözenekli yapısından kaynaklandığı belirtilmiştir. CG'nin daha iyi hemostatik etkisinin, kan trombositlerini kolayca emme yeteneği ve daha yüksek sıvı adsorbsiyon oranına bağlı olabileceği düşünölmüştür. Bununla birlikte, hem aPTT hem

de PT testleri ile trombin oluşumunda belirgin farklılıklar gözlenmemiştir. L929 hücreleri ile hücre toksisitesi testi, CG'nin bariz bir sitotoksositeye neden olmadığını göstermiştir. Ek olarak, CG'nin tavşanlara subkutan transplante edilmesi, 6 hafta sonra CG'nin neredeyse tamamen bozulmasına ve transplantasyon bölgesinde zengin vasküler çoğalma ve proliferasyona neden olduğu bildirilmiştir. CG'nin etkili bir emici hemostatik malzeme olduğu bildirilmiştir.

Huang ve diğerleri (2017) yaptıkları çalışmada, hemostaz üzerindeki etkinliklerini saptamak için kendi kendine birleşen hidrofobik modifiye kitosan (HM-CHI) süngerlerini incelemişlerdir. CHI moleküllerinin nitrojen atomlarına dodesil gruplarının aşılmasını belirlemek için Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) kullanmışlardır. Trombosit agregasyon tahlili, HM-CHI'nin trombosit agregasyon oranını hızlandırdığını ortaya koymuştur. Floresan spektroskopisi, HM-CHI'nin kandaki fibrinojenin yapısını değiştirdiğini göstermiştir. Aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı, protrombin zamanı, fibrinojen zamanı ve tromboelastografik testleri, HM-CHI'nin otolog kan koagülasyon yolu üzerindeki etkisini araştırmak için kullanılmıştır. Son olarak, HM-CHI ve ZSM-5 zeolit ile dondurarak kurutma ile hemostatik bir sünger yapılmış ve fare femoral arteri hemostaz modeline uygulanmıştır. Hemostaz süresi  $86 \pm 5$  saniye ile, saf CHI ile oluşturulanlara göre anlamlı derecede iyi elde edilmiştir. Çalışma HM-CHI'nin hem dış hem de iç kanama yaralanmalarının tedavisinde etkili, toksik olmayan bir hemostatik ajan olabileceğini göstermiştir.

Periayah ve diğerleri (2014) yaptıkları çalışmada, biyolojik olarak parçalanabilir, % 7 N,O-karboksimetilkitosan (NO-CMC) (0,45 mL kolajen ile), % 8 NO-CMC, oligo-kitosan (OC) ve oligo-kitosan 53 (OC 53)'ün hemostatik kapasitesini ölçmek için karşılaştırmalı çalışmalar yürütmüşlerdir. O-C ve NO-CMC, değişik sıcaklık ve pH seviyelerine yanıt olarak değişen moleküler ağırlıklar, deasetilasyon dereceleri ve fiziksel ve kimyasal özellikler ile üretilmiştir. Bu kitosanların fosfat tampon tuz çözeltisi (PBS) (0-30 gün) ve lizozim (0-14 gün) içindeki biyolojik bozunabilirlikleri (kütle kaybı) ölçülmüştür. Kan pıhtılaşma kabiliyetleri (0-15 dakika) gözlenmiştir. Pıhtılaşma profilleri koagülasyon cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Kan morfolojileri taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve ışık mikroskopisi (Nikon Eclipse E200) ile değerlendirilmiştir. PBS'de tüm kitosanlar için 5. güne kadar hızlı ağırlık kaybı gözlenmiş, ardından ağırlık sabit kalmıştır. NO-CMC'ler 12. günde lizozim tarafından tamamen bozunmuştur ( $p < 0,05$ ). Yüksek deasetilatlı

kitosanların (O-C) yavaşça bozunduğu bildirilmiştir. Makroskopik gözlemler üzerine, NO-CMC, eritrosit agregasyonunu 7 dakika içinde ilerletmiştir. Mikroskopik analiz, yüzeyi üzerinde en fazla trombosit agregasyonunu, %90'a yaklaşan çevrelemeyle %7'lik NO-CMC göstermiştir. Mevcut bulgular, hemostazı hızlandırmak için eritrositleri ve trombositleri kümeleştiren, şişen ve enzimatik olarak parçalanabilen tüm test edilen biyomalzemeleri anlamamıza büyük ölçüde katkıda bulunmuştur. Kanıtlar, test edilen en iyi biyolojik olarak bozunur hemostatik ajan olarak %7 NO-CMC'yi ve bunu takiben O-C olduğunu ileri sürmüştür. Farklı moleküler ağırlık ve deasetilasyon derecesine sahip olmak için kimyasal olarak değiştirilmiş olan kitosanlar, kan hücrelerinin hemostazını farklı dereceye yükseltmiştir. Kitosan yapılarının kalınlık, gerilme mukavemeti, morfolojisi ve mekanik özelliklerini belirlemek için daha ileri araştırmalar ve deneyler yapılması gerektiğini vurgulamışlardır.

Chan ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada, pozitif yüklü kitosan gazlı bezleri, eritrositlerin negatif yüklü hücre membranları ile elektrostatik olarak etkileşime girerek eritrosit aglütinasyonuna neden olduğu ve doku adezyonuyla yaraları sızdırmaz hale getirerek yaralardan kanamayı durdurduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada, geliştirilmiş hemostatik etkinliğe sahip PolySTAT/kitosan gazlı bezler üretmek için, dokusuz kitosan gazlı bez, çapraz bağlanan fibrin ile pıhtılaşmayı arttıran sentetik bir polimer olan PolySTAT ile emprenye edilmiştir. Dokusuz kitosan ve PolySTAT/kitosan, ticari olarak temin edilebilen bir kitosan içeren gazlı bez (Celox® Rapid) ile kıyaslandığında lif boyutu, morfolojisi ve gözenek boyutunda belirgin bir fark gözlenmemiştir. Bununla birlikte, PolySTAT/kitosan Celox® Rapid'a kıyasla daha hızlı kan emilimi göstermiştir. Femoral arter hasarına ait bir sıçan modelinde, PolySTAT/kitosan gazlı bezleri, hemostatik olmayan kontrollere ve Celox® Rapid'e kıyasla kan kaybını düşürmüş ve sağkalım oranını artırmıştır. Celox® Rapid, PolySTAT/kitosan gazlı bezlere kıyasla dokulara daha sıkı yapışırken, Celox® altında hematom oluşumundan dolayı kan kaybı daha fazla bulunmuştur. PolySTAT/kitosan gazlı bezleri ile muamele gören hayvanlar, kan basıncını hedef kan basıncının (60 mmHg) üzerinde tutmak ve iyileştirmek için daha az salin infüzyonu gerektirirken, diğer tedavi grupları yaradan devam eden kanama nedeniyle daha fazla salin gerektirmiştir. Bu sonuçlar, PolySTAT/kitosan gazlı bezlerinin, kan pıhtılaşmasını arttırabildiğini ve fibrin çapraz bağlı hemostatik mekanizmasının eklenmesiyle artan arteriyel basınca dayanabileceğini göstermiştir.

Huang ve diğeri (2015) emilebilir sargı olarak, deasetilasyon derecesi % 40 (CS-40) ve % 73 (CS-73) olan kitosanı, modifiye edilmiş bir yöntemle sünger haline getirmişlerdir. Süngerlerin morfolojisi, gözenekliliği, şişme kabiliyeti ve bozunma davranışını in vitro incelenmiştir. Hemostatik, biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilir özellikler, in vivo deneylerle değerlendirilmiştir. Jelatin sünger (GS) ile karşılaştırıldığında, kitosan süngerleri daha küçük gözenekler ve yüksek yüzey pürüzlülüğü ve şişme oranı göstermişlerdir. Karaciğer kanaması modelinde, mükemmel kan uyumluluğuna sahip olan kitosan süngerler, jelatin süngerinden (GS) daha az kan kaybı sağlamıştır. İlavenen, CS-40, CS-73'e göre daha iyi hemostatik kapasite ve biyolojik bozunabilirlik göstermiştir. İmplantasyondan sonra, histolojik bir analiz, CS-40'ın en iyi biyolojik bozunabilirlik, doku rejenerasyonu ve en az doku yapışması sergilediğini göstermiştir. CS-40 ve CS-73 karşılaştırılması ile deasetilasyon derecesinin, hemostatik etki, biyolojik bozunabilirlik, biyoyumluluk ve doku rejenerasyonu için bir anahtar faktör olduğu doğrulanmıştır.

## 9. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

### 9.1. Malzemeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar aşağıda sıralanmıştır ve Çizelge 9.1’de moleküler yapıları verilmiştir.

- Kitosan: China Eastar Group Co., Ltd.’den temin edilen % 88,5 DA derecesine sahip, 248 mPa.s viskozitede kitosan kullanılmıştır.
- Asetik asit: % 100 (glacial) EMSURE® Merck asetik asit kullanılmıştır.
- Polivinil alkol (PVA): 130 000 moleküler ağırlığında, 16-20 mPa.s, % 4 H<sub>2</sub>O içinde (20 °C) viskoziteye sahip Sigma-Aldrich®’ten temin edilen Mowiol 18-88 kullanılmıştır.
- Polietilen oksit (PEO): 100 cps (5,0 g/l de) viskoziteye sahip SNF S.A.S.’den temin edilen Flopol FA 10 kullanılmıştır.
- Hidroksietil selüloz (HES): ASHLAND®’den temin edilen 5100 mPa.s viskoziteye sahip Natrosol 250 HHX PHARM kullanılmıştır.
- Mono propilen glikol: INEOS Manufacturing Deutschland GmbH’den temin edilen Monopropylene glycol USP/EP Pharma Grade kullanılmıştır.
- Sodyum metabisülfid (SMS): Akkim’den temin edilen sodyum metabisülfid kullanılmıştır.
- Sodyum polifosfat: Sigma-Aldrich’ten temin edilen kristalin, % 96’lık, +200 mesh sodyum polifosfat kullanılmıştır.
- Kalsiyum fosfat monobazik: Sigma-Aldrich’ten temin edilen molekül ağırlığı 234,05 g/mol olan kalsiyum fosfat monobazik kullanılmıştır.

Çizelge 9.1. Kullanılan kimyasallar ve moleküler yapıları

Kimyasal	Moleküler Yapı	Kimyasal	Moleküler Yapı
Kitosan		Polivinil alkol	
Polietilen oksit		Asetik asit	
Hidroksietil selüloz		Monopropilen glikol	
Sodyum metabisülfid		Sodyum polifosfat	
Kalsiyum fosfat monobazik			

## 9.2. Kan Durdurucu Numunelerin Hazırlanması

Kan durdurucu malzemeler: toz, sünger, sıvı, jel, lif kümeleri, yapıştırıcı, sargı bezi, gazlı bez, pamuk tampon gibi farklı şekillerde üretilmektedir. Çalışmada sünger, film ve toz şeklinde kan durdurucu numuneler hazırlanmıştır. Özellikle sıvı formda ürün denemesi yapılmamıştır, çünkü sıvı formunda bulunan birçok kanama durdurucunun emboli riski vardır. Sıvı ve ıslak formdaki kanama durdurucular ABD, NATO ve birçok silahlı kuvvetler tarafından diskalifiye edilmiştir [18,51].

Sünger numuneler hazırlanırken dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi uygulanmıştır. Dondurarak kurutma (liyofilizasyon), sulu çözelti veya nadiren sulu süspansiyon halindeki katıların kurutulmaları için uygulanan yöntemlerden biridir. Liyofilizasyon, maddenin kurutulması için süblimasyon adı verilen bir süreçten geçen kurutma tekniğidir. Ürünlerin içinde bulunan su en başta dondurulur ve bu haldeyken süblimasyon ile su uzaklaştırılır. Süblimasyon maddenin katı (buz) halden gaz (su buharı) haline, maddenin sıvı hali atlanarak yani buzun erimesine imkân olmaksızın geçiştir. Buz haline gelmiş su, düşük basınç ortamında, belli belirsiz bir sıcaklık artışı durumunda doğrudan buharlaşır. Böylelikle kurumunun elde edilmesi için yüksek sıcaklıklara ihtiyaç kalmaz ve ürünlerin moleküler ve hücre yapısında yarıma vb. değişikliklere yol açmaz. İç ve dış yapısı bozulmaz neredeyse en baştaki hallerini korurlar. Bu yöntemle kurutma işlemleri, dondurarak kurutma aleti olarak da adlandırılan liyofilizatörlerle yapılır [206,207].

Kan durdurucu numuneler hazırlanırken Çizelge 9.2’de belirtilen oranlarda malzemeler kullanılmıştır. Yapılan ön testler sonucunda, numunelerde kullanılan kütlece yüzdeler belirlenmiştir. Numuneler gruplandırılırken film numuneler için F, toz numuneler için T, sünger numuneler için S harfi ile gruplandırma yapılmıştır. Aşağıda sırasıyla sünger, film ve toz numunelerin hazırlanma yöntemi verilmiştir.



Çizelge 9.2. Hazırlanan numuneler ve yüzde bileşimleri

Numune grupları	Kullanılan Maddeler ( Küttele, % )									
	Ultra saf su	Kitosan	PVA	Asetik Asit	PEO	Sodyum Polifosfat	Kalsiyum Fosfat	Hidroksietil Selüloz	M. Propilen Glikol	Sodyum Metabisülfid
F1	90,82	1,93	1,16	1,62	-	-	-	0,27	4,18	0,02
F2	89,61	1,48	0,88	0,34	-	-	-	0,47	7,19	0,03
F3	89,80	0,52	0,35	0,91	0,40	-	-	0,49	7,50	0,03
F4	83,71	0,94	0,41	1,08	-	-	-	2,56	11,27	0,03
F5	67,86	2,67	0,23	0,53	10,73	-	-	5,49	12,46	0,03
F6	79,35	0,44	0,29	0,76	5,61	-	-	8,00	5,52	0,03
T1	87,75	9,51	-	1,70	0,16	-	-	0,05	0,80	0,03
T2	90,21	6,34	-	1,52	0,16	-	-	0,11	1,60	0,06
T3	95,62	0,51	0,34	0,87	0,24	2,42	-	-	-	-
T4	92,83	2,39	0,34	0,60	0,24	3,60	-	-	-	-
T5	93,92	0,90	0,61	1,43	1,45	-	1,69	-	-	-
T6	92,49	0,93	0,65	1,30	1,85	-	2,78	-	-	-
T7	94,58	0,60	0,40	0,90	0,30	3,22	-	-	-	-
T8	87,58	10,02	0,10	2,00	0,30	-	-	-	-	-
T9	86,85	10,33	0,30	2,10	0,42	-	-	-	-	-
T10	83,40	5,21	1,52	1,37	0,50	8,00	-	-	-	-
T11	88,11	2,40	0,35	0,63	0,50	8,01	-	-	-	-
S1	94,35	2,32	1,39	1,94	-	-	-	-	-	-
S2	94,92	2,00	1,19	1,67	0,22	-	-	-	-	-
S3(48H50ML)	94,69	2,01	1,20	1,70	0,40	-	-	-	-	-
S3(72H50ML)	94,69	2,01	1,20	1,70	0,40	-	-	-	-	-
S3(96H50ML)	94,69	2,01	1,20	1,70	0,40	-	-	-	-	-
S3(48H40ML)	94,69	2,01	1,20	1,70	0,40	-	-	-	-	-
S4(72H50ML)	97,15	0,40	0,26	0,60	1,59	-	-	-	-	-

### 9.2.1. Sünger numunelerin hazırlanması

Çalışmada kitosan içerikli sünger numuneleri hazırlayabilmek için dondurarak kurutma (liyofilizasyon) tekniği kullanılmıştır. Sünger numuneleri hazırlarken Çizelge 9.2’de belirtilen oranlarda malzemeler kullanılmıştır. Çizelge 9.2’de sünger numuneler için S harfi ile gruplandırma yapılmıştır. Şekil 9.1’de verilen akış diyagramı doğrultusunda numuneler hazırlanmıştır.

Sünger numune gruplarından Çizelge 9.2’de verilen S2 numunesinin hazırlanması;

- Belirtilen orandaki su miktarının kütlece % 14,55’i içinde PEO, oda sıcaklığında 1 gün süre ile karıştırılarak çözdürülmüştür.
- Diğer bir tarafta belirtilen orandaki suyun kütlece % 85,45’ine kitosan ve PVA, karıştırılarak eklenmiştir. Daha sonra asetik asit karıştırılarak eklenmiştir. Solusyon 24 h süre ile 50 °C’de çözünmesi için karıştırılmıştır.
- Elde edilen PEO ve kitosanlı çözeltiler karıştırılarak birleştirilmiştir ve karışım yaklaşık yarım saat süre ile karıştırılmıştır.
- Hazırlanan çözeltiler liyofilizatör flasklarına yaklaşık 50 ml olacak şekilde konularak, 24 h süre ile -40 °C’de dondurulmuştur. Daha sonra -85 °C’de 48 h liyofilize edilmiştir.

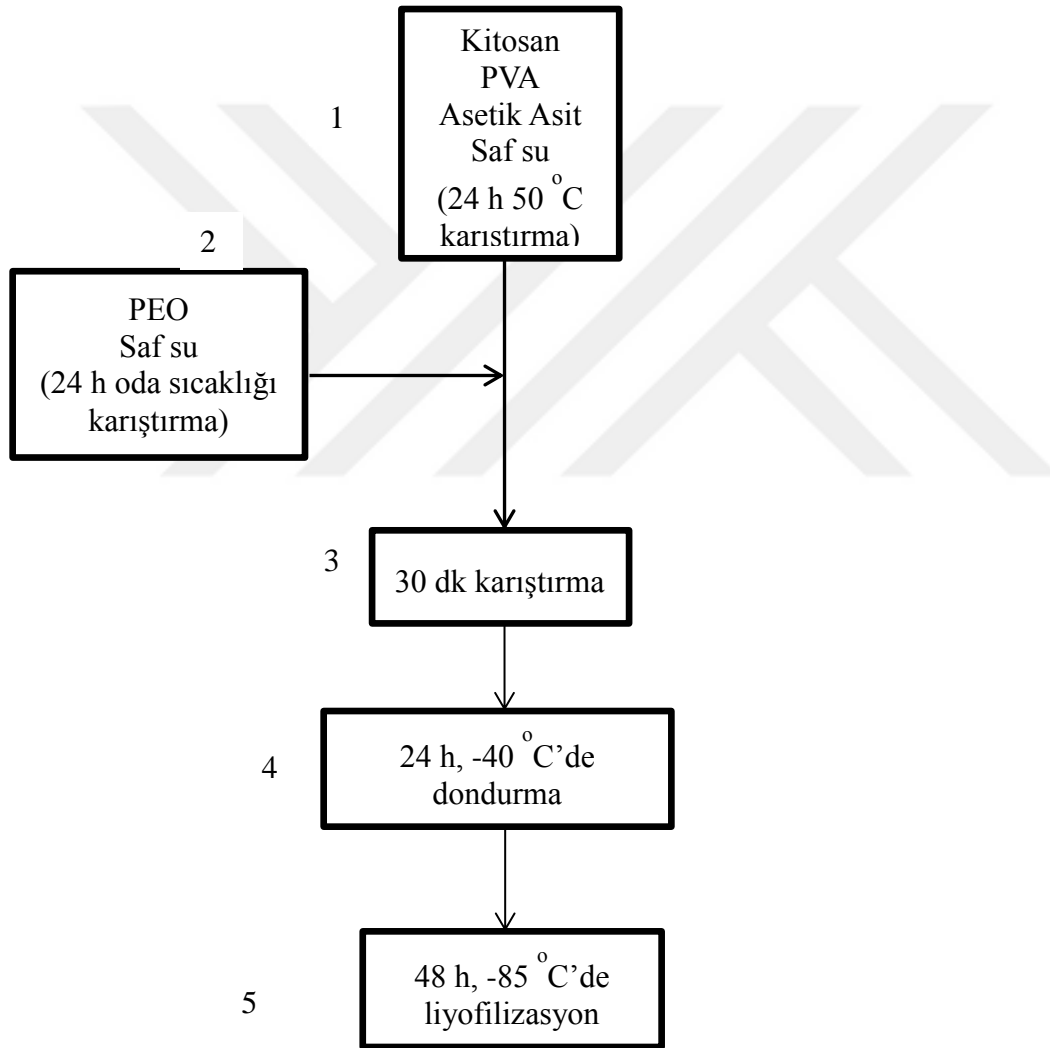
PEO içerdikleri için S3 ve S4 numune grupları da S2 numune grubunun hazırlanması örneğinde verildiği gibi, Çizelge 9.2’de belirtilen oranlar dahilinde, Şekil 9.1’de verilen akış diyagramı doğrultusunda hazırlanmıştır.

S1 numune grubunun diğer gruplardan farklı olarak PEO içermediği için Şekil 9.1’de verilen akış diyagramında 1. basamaktan sonra 2. ve 3. basamak atlanarak doğrudan 4. basamağa geçilerek hazırlanmıştır.

Çizelge 9.2’de verilen S3 ve S4 numune gruplarının grup adlarının açıklaması Çizelge 9.3’te verilmiştir.

Çizelge 9.3. S3 ve S4 sünger numune grupları ve grup adlarının açıklaması

Numune Grupları	Grup Açıklaması
S3(48H50ML)	Liyofilizatör flaskına yaklaşık 50 ml konulmuştur ve 48 h liyofilize edilmiştir.
S3(72H50ML)	Liyofilizatör flaskına yaklaşık 50 ml konulmuştur ve 72 h liyofilize edilmiştir.
S3(96H50ML)	Liyofilizatör flaskına yaklaşık 50 ml konulmuştur ve 96 h liyofilize edilmiştir.
S3(48H40ML)	Liyofilizatör flaskına yaklaşık 40 ml konulmuştur ve 48 h liyofilize edilmiştir.
S4(72H50ML)	Liyofilizatör flaskına yaklaşık 50 ml konulmuştur ve 72 h liyofilize edilmiştir.



Şekil 9.1. Sünger numunelerin hazırlanma yöntemi akış diyagramı



Resim 9.1. Sünger numunelerin liyofilizasyon flaskında ve flasktan çıkarıldıktan sonraki görünümleri

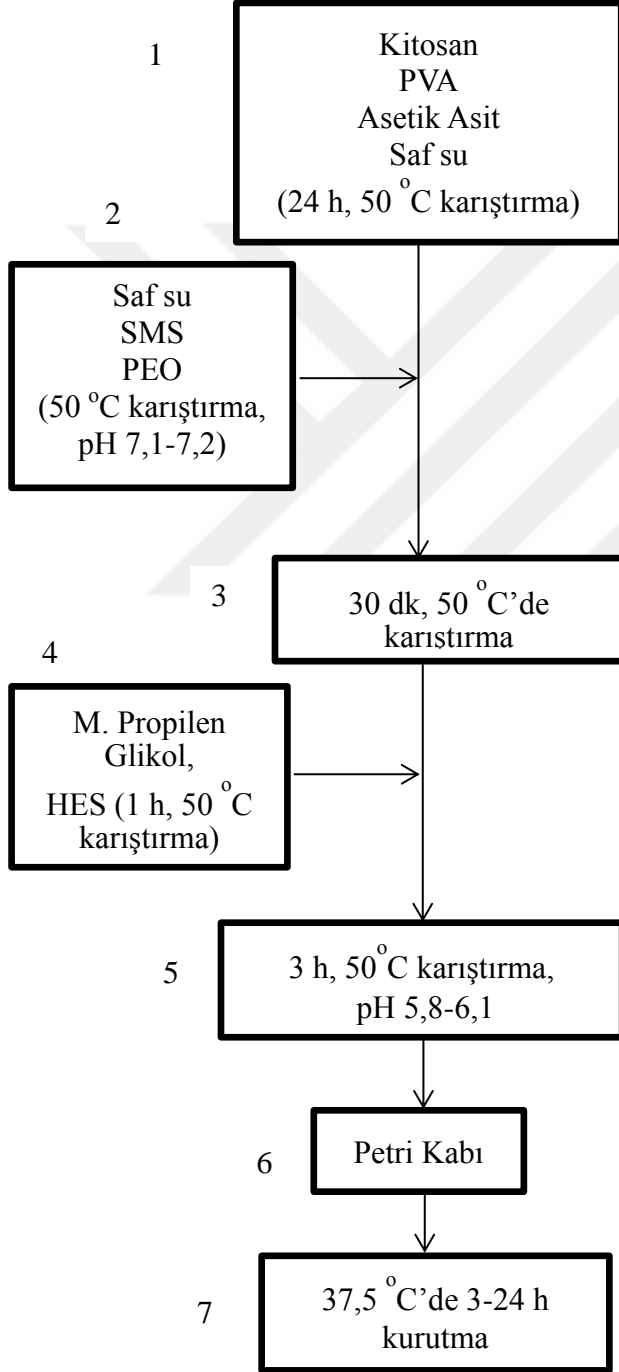
### 9.2.2. Film numunelerin hazırlanması

Çalışmada kitosan içerikli film numuneler Çizelge 9.2’de belirtilen oranlarda malzeme kullanılarak hazırlanmıştır. Çizelge 9.2’de film numuneler için F harfi ile gruplandırma yapılmıştır. Şekil 9.2’de verilen akış diyagramı doğrultusunda numuneler hazırlanmıştır.

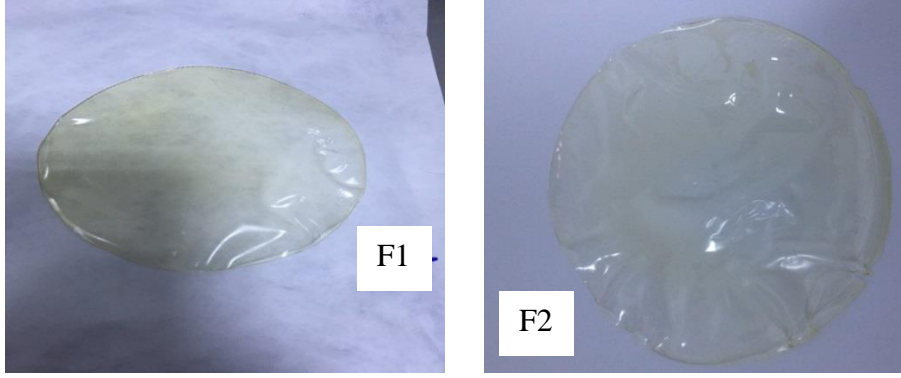
Film numune gruplarından Çizelge 9.2’de verilen F3 numunesinin hazırlanması;

- İlk olarak belirtilen su miktarının % 52’sinin içine kitosan ve PVA karıştırılarak eklenmiştir. Karışıma asetik asit eklenmiştir ve solusyon 50 °C’de 24 h süre ile çözünmesi için karıştırılmıştır.
- Daha sonra ayrı bir yerde Monopropilen glikol içerisine HES karıştırılarak eklenmiştir ve 50 °C’de 1 saat süre ile karıştırılmıştır.
- Yine ayrı bir yerde 50 °C’de, Çizelge 9.2’de belirtilen su miktarının % 48’i içine SMS karıştırılarak eklenmiştir ve çözünmesi sağlanmıştır. SMS çözüldükten sonra 4 M NaOH ile pH 7,02 değerine ayarlanmıştır. Daha sonra PEO eklenerek çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra bu çözelti içerisine, Kitosan ve PVA içeren çözelti karıştırılarak eklenmiştir. Yaklaşık yarım saat karıştırdıktan sonra HES içeren çözelti hızlı bir şekilde karışıma eklenmiştir ve 3 h süre ile karıştırmaya devam edilmiştir. Jel halinde elde edilen karışımın son pH değeri 6,02 olarak ölçülmüştür. Elde edilen jel, petri kaplarına farklı yüksekliklerde dökülmüştür ve 37,5 °C’de eklenen yüksekliğe göre 3-24 h arasında kurutmaya bırakılmıştır.

PEO içerdikleri için F5 ve F6 numune grupları da F3 numune grubunun hazırlanması örneğinde verildiği gibi, Çizelge 9.1'de belirtilen oranlar dahilinde, Şekil 9.2'de verilen akış diyagramı doğrultusunda hazırlanmıştır. F1, F2 ve F4 numune grupları ise PEO içermedikleri için, Şekil 9.2'de verilen akış diyagramında 1. basamaktan sonra 2. ve 3. basamak atlanarak doğrudan 4. basamağa geçilerek hazırlanmıştır.



Şekil 9.2. Film numunelerin hazırlanma yöntemi akış diyagramı



Resim 9.2. F1 ve F2 numunelerinin görünüşü

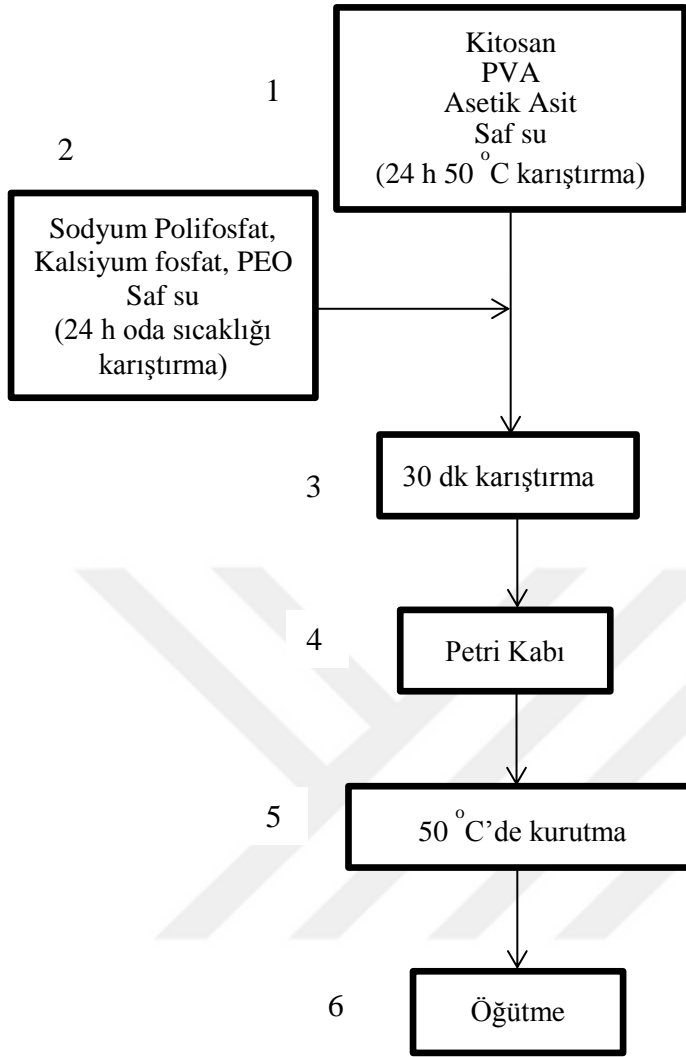
### 9.2.3. Toz numunelerin hazırlanması

Çalışmada kitosan içerikli toz numuneler Çizelge 9.2’de belirtilen oranlarda malzeme kullanılarak hazırlanmıştır. Çizelge 9.2’de toz numuneler için T harfi ile gruplandırma yapılmıştır. Şekil 9.3’de verilen akış diyagramı doğrultusunda numuneler hazırlanmıştır.

Çalışmada hazırlanan numune gruplarından Çizelge 9.2’de verilen T5 numunesinin hazırlanmasını örnek vermek gerekirse;

- Belirtilen su miktarının % 52’sinin içine kitosan ve PVA karıştırılarak eklenmiştir. Karışıma asetik asit eklenmiştir ve solusyon 50 °C’de 24 h süre ile çözünmesi için karıştırılmıştır.
- Ayrı bir yerde Çizelge 9.2’de belirtilen su miktarının % 48’i içine kalsiyum fosfat eklenerek çözünmesi için karıştırılmıştır. Daha sonra PEO eklenmiştir ve çözünmesi için karıştırmaya devam edilmiştir. PEO çözüldükten sonra içerisine kitosan içeren çözelti eklenmiştir ve yaklaşık yarım saat karıştırmaya devam edilmiştir.
- Belirtilen oranlarda kimyasallar kullanılarak hazırlanan çözeltiler petri kaplarına dökülerek 50 °C etüvde kurutulmuştur. Daha sonra elde edilen kuru malzemeler öğütücü kullanılarak toz haline getirilmiştir.

Şekil 9.3’de toz numune içeriklerinin en genel hali ile hazırlanma yöntemi akış diyagramı verilmiştir. Çizelge 9.2’de verilen toz numunelerin içeriklerine göre Şekil 9.3’de verilen diyagramda kullanılan maddeler çıkarıp eklenerek diyagram doğrultusunda numuneler hazırlanmıştır.



Şekil 9.3. Toz numunelerin hazırlanma yöntemi akış diyagramı



Resim 9.3. T5 numunesinin görünüşü

### 9.3. Kan Durdurucu Numunelerin Karakterizasyonu

#### 9.3.1. Gözeneklilik testi

Hazırlanan numunelerin gözeneklilik ve diğer gözenek parametreleri referanslarda tarif edilen yöntemlere göre belirlenmiştir.

İlk olarak piknometre susuz etanol ile doldurulmuş ve toplam ağırlık kaydedilmiştir (W1); numune tartılmış (Ws) ve piknometre içine konulmuştur. Ultrasonik gaz giderme işleminden sonra piknometre tekrar etanol ile doldurulmuş ve tartılmıştır (W2). Numune çıkarılmış, arda kalan etanol ile birlikte piknometre tartılmış ve kaydedilmiştir (W3). Numunenin gözenek parametreleri aşağıdaki formüllerden hesaplanmıştır [184,188,208,209].

$$\varepsilon = \frac{(W2 - W3 - Ws)}{(W2 - W3)} \quad (9.1)$$

$$\rho_s = \frac{\rho W_s}{(W1 - W3)} \quad (9.2)$$

$$\pi = \frac{(W2 - W3 - Ws)}{\rho W_s} \quad (9.3)$$

Burada;  $\rho$ ,  $\varepsilon$ ,  $\rho_s$  ve  $\pi$  sırasıyla etanolün yoğunluğu, gözeneklilik, numune yoğunluğu ve her 1 gramdaki gözenek hacmini göstermektedir [184,188,208,209].

#### 9.3.2. Su absorplama oranı

Hazırlanan numunelerin su absorplama oranı 25 °C ve 7,4 pH değerine sahip fosfat tampon tuz çözeltisi (PBS) içindeki şişme davranışına göre belirlenmiştir. Kuru numuneler PBS içine daldırılmadan önce tartılmıştır. Şişmiş numuneler çıkarılmıştır ve dikkatli bir şekilde, filtre kağıdı ile yüzeyindeki aşırı su alınmıştır ve hemen tartılmıştır. % su absorplama oranı (% S) aşağıdaki formülden hesaplanmıştır.



$$\%S = \frac{M_t - M_o}{M_o} \times 100 \quad (9.4)$$

Burada;

Mt: t anındaki şişen numunenin ağırlığı

Mo: t=0 anındaki kuru numunenin ağırlığı

Başlangıçtaki kuru numunelerin su alımı numunenin dayanma durumuna göre yaklaşık 24 h için takip edilmiştir [180,184,188,210-212].

### 9.3.3. Geçirgenlik testi

Geçirgenlik testinde toz numunelerin, kırmızı gıda boyası ile renklendirilmiş suyu absorplama davranışına bakılmıştır. Numunelere uygulanan geçirgenlik testinde, test tüpüne 5 ml distile su konulmuştur. Bir damla kırmızı gıda boyası suya eklenmiştir. 3 g toz numune suyun üzerine bir tabaka oluşturacak şekilde yavaşça dökülmüştür. 1 dakika sonra toz numune içine yayılan suyun mesafesi ölçülmüştür [213].

Geçirgenlik testinde daha fazla boya absorblanması, pratikte daha stabil ve dayanıklı pıhtı sağlayacağını göstermektedir [213].

### 9.3.4. Hemostatik etkinlik testi

Bir hemostatın bentonit gibi parçacıklar ile bağlanma becerisi, hemostatik etkinliğinin bir ölçüsüdür. Numunelere uygulanan hemostatik etkinlik testinde, 30 ml distile su içeren bir kap içine 0,5 g toz numune eklenmiştir. Karışım 3 dakika magnetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra Whatman #1 filtre kağıdı ile süzölmüştür. Aynı yerde % 0,5'lik bentonit çözeltisi hazırlanmıştır. % 0,5'lik bentonit çözeltisinin 50 ml'sinin topaklanması için gerekli olan süzöntünün miktarı tespit edilmiştir [213].

1 ml'den daha az süzöntü kullanımı etkili bir hemostat olduğunu gösterir. Az sıvı kullanılması hemostatik etkinlik testi açısından yaradan kan akışını en aza indirdiğini gösterir [213].

### 9.3.5. Kan absorpsiyon testi

Kan absorpsiyon testinde, biyokimyasal olarak herhangi bir rahatsızlığı olmayan, ilaç kullanmayan bireylerden temin edilen insan kanı kullanılarak yapılmıştır. Numunelerin kan ile ıslatılarak (üzerine dağıtılıyor) absorplama davranışı gözlenmiştir. Ayrıca farklı tüplere alınan kan numuneleri santrifüj edilerek plazma ve serum elde edilmiş ve numunelerin serum ve plazma ile etkileşimine de bakılmıştır. Kan absorpsiyon testine ek olarak kan emdirilmiş numune distile suya daldırılmış ve numuneden hemoglobin sızıntısı gözlenmiştir. Bu çalışmada kan absorpsiyon testinde herhangi bir süreli çalışma yapılmamıştır, sadece görsel olarak numunelerin davranışları izlenmiştir. Kullanılan serum, plazma ve kan miktarları kısıtlı olduğu için belli gözlemlerden elde edilen sonuçlara göre testler yapılmıştır.

### 9.3.6. Kan ile etkileşim testleri

EN ISO 10993-1 “Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi” ve EN ISO 10993-4 “Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-Bölüm 4: Kan ile etkileşim deneylerinin seçimi” rehberlerinde bulunan prosedürler izlenerek, numunelerin in vitro hemostatik etkisine bakılmıştır.

Çalışmada numunelerin temel hemostatik laboratuvar testlerindeki etkileri, birincil ve ikincil hemostatik sistem elementlerinin durumunu belirlemek için aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT), protrombin zamanı (PT), trombin zamanı (TT) ve fibrinojen (FIB) testleri gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca, belirlenen numunelere Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları (KUBTAL)-Biyoyumluluk Laboratuvarı’nda trombosit agregasyonu (kümelenmesi) ve hemoliz testi yaptırılmıştır.

#### APTT, PT, FIB ve TT testleri

Kan koagülasyon sonuçları pıhtılaşma faktör kaskadı aktivitesi ile değerlendirilir. Koagülasyon testi sayesinde kontrol edilen numunenin kanamayı durucu etkinliğinin, pıhtılaşma kaskadı dışında bağımsız olup olmadığı incelenmektedir. Aktive edilmiş kısmi

tromboplastin zamanı (APTT), protrombin zamanı (PT), trombin zamanı (TT) ve fibrinojen (FIB) testleri plazmada intrinsek, ekstrinsek ve fibrin oluşum yollarının aktivitesini göstermektedir. Temas sisteminin aktivasyonu intrinsek koagülasyon yolunun ilk basamağıdır bu da trombin oluşumuna öncülük eder. Aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT) ise intrinsek pıhtılaşma yolunun aktivitesini göstermektedir. APTT intrinsek pıhtılaşma yolunu incelemede kullanılan en yaygın testtir. APTT, plazmada koagülasyon faktörü V, VIII, IX, XI ve XII'nin seviyesini yansıtan, endojen koagülasyon sistemi için hassas ve yaygın olarak kullanılan bir tarama testidir. Protrombin zamanı (PT) ekstrinsek pıhtılaşma yolunun aktivitesini göstermektedir. PT, plazmada pıhtılaşma faktörü II, VII, IX ve X'un genel aktivitesini yansıtan ekstrinsek (dışsal) koagülasyon sistemi için hassas ve yaygın olarak kullanılan bir tarama testidir [185,203,214-217].

Trombin zamanı (TT), trombin çözeltisi ilave edildiğinde, plazmanın pıhtılaşması için gerekli olan süredir. TT pıhtılaşma mekanizmasının ortak yolunun aktivitesini göstermektedir [218,219]. TT, öncelikli olarak fibrinojenin fibrine dönüştüğü pıhtılaşma sürecinin ortak yolunda normal olmayan bir seviyede fibrinojen, antikoagülan ve fibrinolitik madde bulunduğunu yansıtır. FIB (aynı zamanda pıhtılaşma faktörü I olarak adlandırılır) pıhtılaşma süreci boyunca akut bir faz proteindir [220-222].

APTT, PT, FIB ve TT ölçümleri için HumaClot Junior yarı otomatik koagülasyon cihazı kullanılmıştır. Hemostat Control Plasma ve Hemostat aPTT-EL, Hemostat Thromboplastin-SI, Hemostat Fibrinogen ve Hemostat Thrombin Time kitleri testlerde kullanılmıştır. Herbir test için, kullanılan kitin prosedürü uygulanarak testler gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol gruptan (numune uygulanmadan) elde edilen sonuçlar ile, numuneler uygulanarak elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda kanama kontrolünde kullanılan gazlı bez için de testler gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar karşılaştırılmıştır.

#### Agregasyon testi

Trombositlerin kanamayı önlemedeki anahtar rolünden dolayı hazırlanan numunelerin trombosit kümelenmesine etkisi incelenmiştir.

İnsandan alınan tam kan ile numune etkileştirilip, periferik yayma yöntemiyle lama yayılmış ve havada kurutularak mikroskopta incelenmiştir. Pozitif kontrol olarak agregasyona neden olduğu bilinen polietilamin kullanılmıştır.

### Hemoliz testi

Hemoliz, kısmen hasara uğramış, ancak bütünlüğü bozulmamış veya tamamen tahrip olmuş eritrositlerden hemoglobinin serbest bırakılmasıdır. Bu deney uygun bir şekilde gerçekleştirilirse, artmış plazma hemoglobin seviyesi hemolizi gösterir ve malzeme veya cihazlarla temastaki eritrosit zar parçalanabilirliğini yansıtır [223].

Bu çalışmada, hemoliz testi ELISA Okuyucu kullanarak, ISO 10993-4, ASTM F756-00 standartlarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. İnsandan alınan tam kan, % 32 konsantrasyonunda EDTA'lı tüplere alınmıştır. Ayrı tüplere alınan kan 0,1 g/ml (ISO 10993-12 numune hazırlama standardına göre) numune ile etkileştirilmiştir. Negatif kontrol olarak serum fizyolojikte seyreltilen kan, pozitif kontrol olarak ise distile suda seyreltilen kan kullanılmıştır. 15 dakikalık süre içerisinde hemoliz oranı tespit edilmiştir. Numune ile etkileşen kan ve kontrol grupları 4200 g'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Üstte kalan plazmanın optik yoğunluğu 590 nm dalga boyunda spektrofotometride ölçülmüştür. Hemoliz oranı, aşağıdaki formüle göre hesaplanıp sonuç raporu hazırlanmıştır.

$$HR = [ (OD_t - OD_n) / (OD_p - OD_n) ] \times 100\% \quad (9.5)$$

Burada;

OD<sub>t</sub>= test edilen grubun optik yoğunluğu

OD<sub>n</sub>= negatif kontrolün optik yoğunluğu

OD<sub>p</sub>= pozitif kontrolün optik yoğunluğu

ISO 10993-4 Standardının yönlendirmiş olduğu ASTM F756-00 standardına göre hemoliz oranı;

<2 % ise hemolitik değil

% 2-5 ise hafif hemolitik

>5 % ise hemolitiktir [223,224].

### 9.3.7. Antibakteriyel etkinlik testi

Antibakteriyel etkinlik testi, Ekoteks Laboratuvar ve Gözetim Hizmetleri A.Ş.'de, "ASTM E2149:2013-Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions" standardına göre yapılmıştır.

Bu test metodunda numunenin antibakteriyel aktivitesi, konsantre bir bakteri süspansiyonunda 1 saat süreyle çalkalayarak belirlenir. Süspansiyon, temas öncesi ve sonrası seri olarak seyreltilir ve kültürlenir. Süspansiyondan 1 saat ve 24 saat sonundaki canlı organizmaların sayısı belirlenir ve yüzde indirgeme (veya log 10 indirgeme) uygun kontrollerden elde edilenlerle karşılaştırarak hesaplanır [225].

Çalışmada her bir mikroorganizma için gerçekleştirilen test parametreleri:

- Bakteri konsantrasyonu (kob/ml):  $1,5 \times 10^5$ ,
- Inokülüm hacmi: 50 ml,
- Numune miktarı: 1 g,
- İnkübasyon süresi, sıcaklık: 24 saat,  $35 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ ,
- Temas süresi: 24 saat

Burada:

kob: koloni oluşturan birim demektir.

Antibakteriyel aktivite (% R=% indirgenme):

$$\% R = ((B-A)/B) \times 100 \quad (9.6)$$

$$\% R = ((C-A)/C) \times 100 \quad (9.7)$$

formüllerinden birine göre hesaplanmıştır.

Burada:

A=belirlenmiş temas süresi sonunda test numunesindeki bakteri sayısı (kob/ml),

B=belirlenmiş temas süresi sonunda inokülümdeki bakteri sayısı (kob/ml),

C=belirlenmiş temas süresi sonunda kontrol numunedeki bakteri sayısı (kob/ml) demektir.

### 9.3.8. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Kimyanın, malzeme biliminin, jeoloji ve biyolojinin birçok çalışma alanında katı yüzeylerin fiziksel niteliği hakkında ayrıntılı bilgi sağlamak büyük bir önem taşır. Taramalı elektron mikroskopi (SEM), katı yüzeyler hakkında morfolojik ve topografik bilgi sağlar. Bu genellikle yüzeylerin davranışlarının anlaşılması için gereklidir [226].

Taramalı elektron mikroskopta, katı numune yüzeyi kafes düzeninde yüksek enerjili bir elektron demetiyle taranır. Yöntem, elektron demetindeki elektronların örnek yüzeyindeki atomlar ile yaptığı fiziksel etkileşimler sonucu ortaya çıkan sinyallerin görüntüye dönüştürülmesi temeline dayanır [226].

Bu çalışmada elde edilen numunelerin yüzey karakterizasyonunu belirlemek için Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları (KUBTAL)'nda SEM testi gerçekleştirilmiştir. Deney numunelerinin yüzeyleri, iletken yüzey elde etmek ve daha iyi görüntü alabilmek için palladyum ile kaplanmıştır. JSM-5600 30 kV'luk Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak numuneler incelenmiştir. İncelemeler sonucunda, numunelerin gözenekliliği, gözenek yapıları hakkında bilgi edinilmiştir.

### 9.3.9. Parçacık boyut dağılımı

Parçacık şeklinde bulunan malzemeler için en önemli fiziksel özellik parçacık boyutudur. Bu çalışmada elde edilen toz numunelerin parçacık boyutu, lazer tane boyutu ve şekil analiz cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışmada belirlenen numunelere, Anka Analitik Mekatronik San. ve Tic. Ltd. Şti.'nde, Cilas PSA1190LD (PSA No. 3916) cihazı kullanılarak 0,04 µm-2500,00 µm aralığında parçacık boyut dağılımı testi yapılmıştır. Analizler, Size Expert software kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir numuneye üç ayrı ölçüm yapılmıştır ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

### 9.3.10. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) bir molekülde belirli fonksiyonel grupların olup olmadığının belirlenmesi için kullanılmaktadır. Infrared ışınması mikrodalgalar ile görünür ışık arasında bulunmaktadır. Bu spektroskopide yaygın olarak kullanılan iki türetme birimi vardır. Bunlar; mikrometre ve dalgasayıdır. Dalgasayıları enerji ile doğru orantılı olduğundan tercih edilmektedir. Karakteristik bir spektrumda  $4000\text{ cm}^{-1}$  en yüksek enerjiye,  $400\text{ cm}^{-1}$  ise en düşük enerjiye denk gelmektedir. Bir malzemedeki fonksiyonel gruplar belli frekanslarda infrared enerjiyi absorpladıklarından spektrum üzerinde pik vermekteler. Bu piklerden yola çıkılarak da malzemenin moleküler yapısının araştırılması mümkün olmaktadır [227,228].

Çalışmada elde edilen numunelerin FT-IR spektrumları, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları (KUBTAL)'nda analiz edilmiştir. Numunelerin FT-IR spektrumları, Bruker marka Vartex 70 V FT-IR spektromu cihazı kullanılarak  $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.

### 9.3.11. Termal karakterizasyon

Termal analiz, bir maddenin kontrollü biçimde ısıtılması ya da soğutulması sırasındaki fiziksel özellik değişimlerinin sıcaklığın fonksiyonu olarak ölçülmesi ve yorumlanmasıdır. Tam bir termal analiz sisteminde maddenin ağırlık kaybı, dönüşüm sıcaklıkları ve enerjileri, boyut değişimleri, viskoelastiklik özellikleri gözlenir [229].

#### Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC)

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile termal karakterizasyon, değişimlerin absorplanan veya açığa çıkan ısının, sıcaklığın fonksiyonu olarak ölçülmesi ve tanımlanması temeline dayanmaktadır. DSC yöntemi ile maddelerin camsı geçiş sıcaklığı, erime, kaynama, kristallenme ve termal bozunma yapıları incelenir.

### Termogravimetrik analiz (TGA)

Bu analiz tekniği bir maddenin sıcaklığındaki değişim sırasında meydana gelen dönüşümlerdeki ağırlık değişimlerini kantitatif olarak verir. Örneğin bir maddenin dehidratasyonu veya bozunması sırasındaki ağırlık değişimlerini zaman veya sıcaklığa bağlı olarak gözlemek olanağı vardır. Ağırlık değişimi yüksek sıcaklıklarda fiziksel veya kimyasal bağların kopması veya oluşumu sonucunda meydana gelir. Bu esnada ortaya çıkacak uçucu maddeler sistemden ayrılacağı için ağırlıkta azalma kaydedilir [229].

Termogravimetrik yöntemden elde edilen bilgiler, DSC yönteminden elde edilen bilgilere oranla daha sınırlı olup, bunun başlıca nedeni sıcaklık değişiminin analitin kütleinde bir değişim oluşturması gerektiği içindir. Enerji değişimi yaratan dönüşümler (fiziksel veya kimyasal) mutlaka bir ağırlık değişimi yaratmayabilir. Böyle bir değişim prosesinin DSC termogramı alınabileceken, termogravimetrik incelemede hiçbir şey gözlenmeyecektir. Saf bir katı maddenin ergimesi buna örnektir. Ergime sırasında dışarıdan enerji absorplanır fakat hiçbir ağırlık değişimi olmaz. Ancak bunun aksi doğrudur. Yani genellikle her ağırlık değişim prosesinde mutlaka bir enerji değişimi de olur. Bu esnada absorplanan veya serbest kalan enerji miktarı veya DSC yoluyla ölçülebilir [226].

Numunelerin ısı etkisi ile oluşan değişimlerini izleyebilmek için Termogravimetrik analiz (TGA) ve Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) testleri uygulanmıştır. Numunelere uygulanan termal karakterizasyon testleri, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Laboratuvarları (KUBTAL)'nda gerçekleştirilmiştir.

TGA analizleri için TA Q500 analiz cihazı kullanılmıştır. Analiz azot atmosferinde 10 °C/min ısıtma hızında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen termogramlara dayanarak numune gruplarının termal özellikleri belirlenmiştir.

DSC analizleri için TA Q2000 analiz cihazı kullanılmıştır. Analiz azot atmosferinde 10 °C/min ısıtma hızında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen termogramlara dayanarak numune gruplarının termal özellikleri belirlenmiştir.





## 10. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

### 10.1. Sünger Numunelere Uygulanan Testler

#### 10.1.1. Gözeneklilik ve su absorplama oranı testi

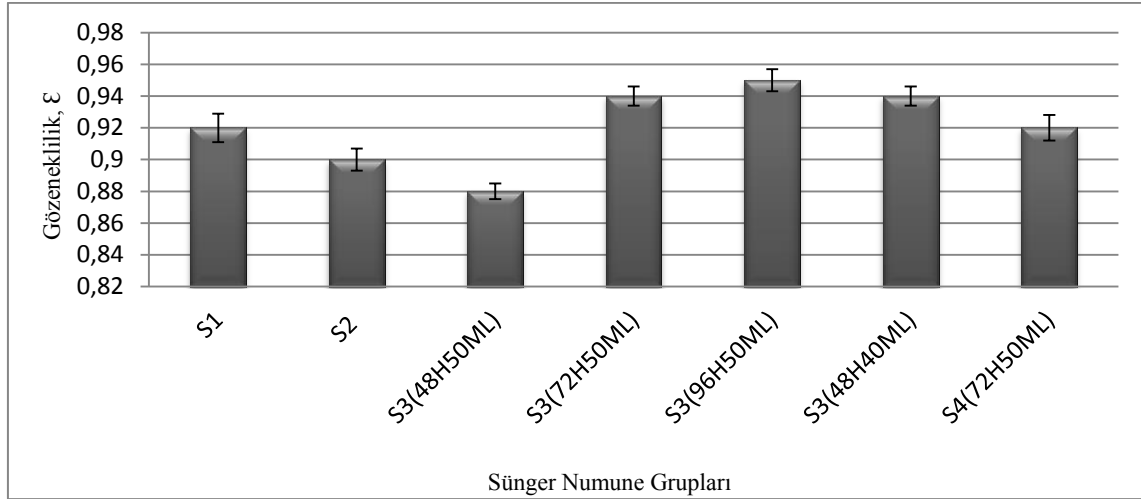
Bölüm 9.2.1’de anlatılan yöntemle hazırlanan sünger numune grupları, Bölüm 9.3.1’de anlatıldığı gibi gözeneklilik testi ve Bölüm 9.3.2’de anlatıldığı gibi su absorpsiyon oranı testine tabi tutulmuştur. Testler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir ve her numune grubu için gözeneklilik, yoğunluk, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerleri hesaplanmıştır. Çizelge 10.1’de hazırlanan sünger numune grupları ve yüzde bileşimleri verilmiştir. S3 ve S4 numune gruplarının grup adlarının açıklaması Çizelge 9.3’te verilmiştir. Çizelge 10.2’de sünger numunelerin gözeneklilik, yoğunluk, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerleri verilmiştir.

Çizelge 10.1. Hazırlanan sünger numuneler ve yüzde bileşimleri

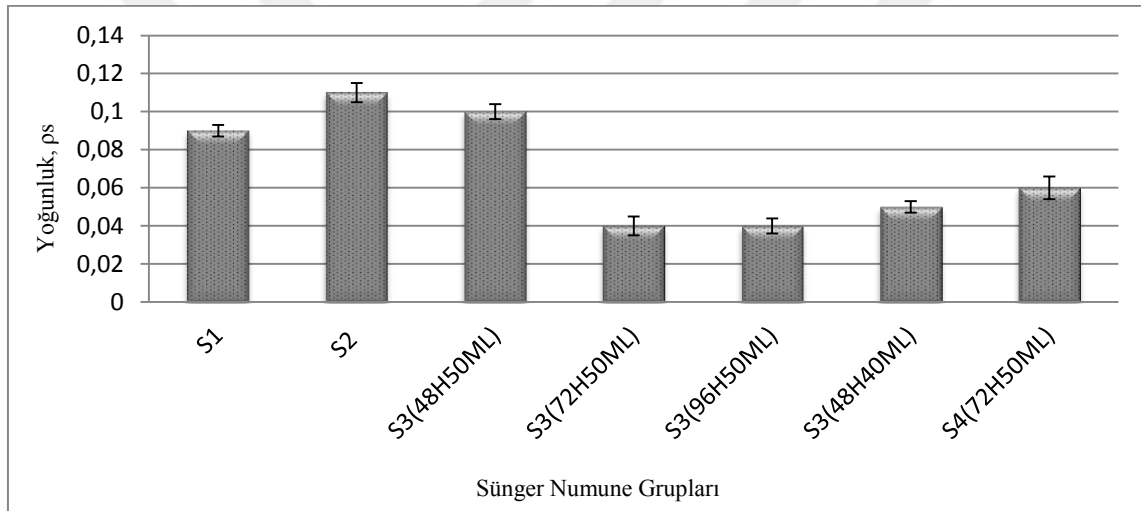
Numune grupları	Kullanılan Maddeler (Kütlece, %)				
	Ultra saf su	Kitosan	PVA	Asetik Asit	PEO
S1	94,35	2,32	1,39	1,94	-
S2	94,92	2,00	1,19	1,67	0,22
S3(48H50ML)	94,69	2,01	1,20	1,70	0,40
S3(72H50ML)	94,69	2,01	1,20	1,70	0,40
S3(96H50ML)	94,69	2,01	1,20	1,70	0,40
S3(48H40ML)	94,69	2,01	1,20	1,70	0,40
S4(72H50ML)	97,15	0,40	1,19	1,67	1,59

Çizelge 10.2. Sünger numunelerin gözeneklilik, yoğunluk, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerleri

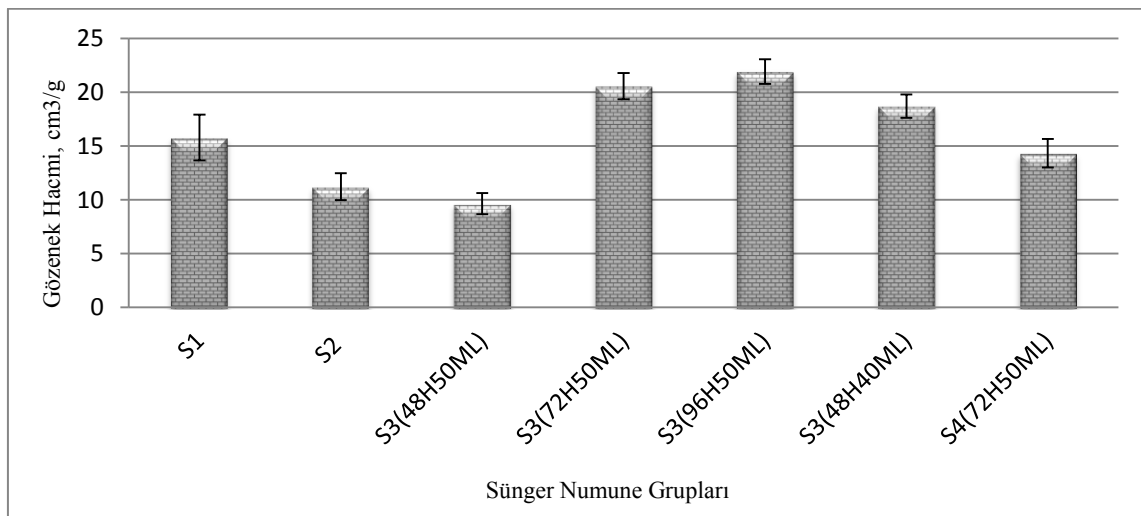
Numune Grupları	Gözeneklilik, $\epsilon$	Yoğunluk, $\rho_s$	Gözenek Hacmi, $\text{cm}^3/\text{g}$	Su Absorpsiyon Oranı, %S
S1	0,92±0,009	0,09±0,003	15,77±2,13	1449,00±37,08
S2	0,90±0,007	0,11±0,005	11,21±1,24	2452,00±85,16
S3(48H50ML)	0,88±0,005	0,10±0,004	9,64±0,98	2066,33±48,25
S3(72H50ML)	0,94±0,006	0,04±0,005	20,55±1,21	1354,39±50,23
S3(96H50ML)	0,95±0,007	0,04±0,004	21,90±1,15	1100,67±40,38
S3(48H40ML)	0,94±0,006	0,05±0,003	18,70±1,09	1485,72±28,71
S4(72H50ML)	0,92±0,008	0,06±0,006	14,32±1,33	Jel kıvamında eridi, ölçülemedi



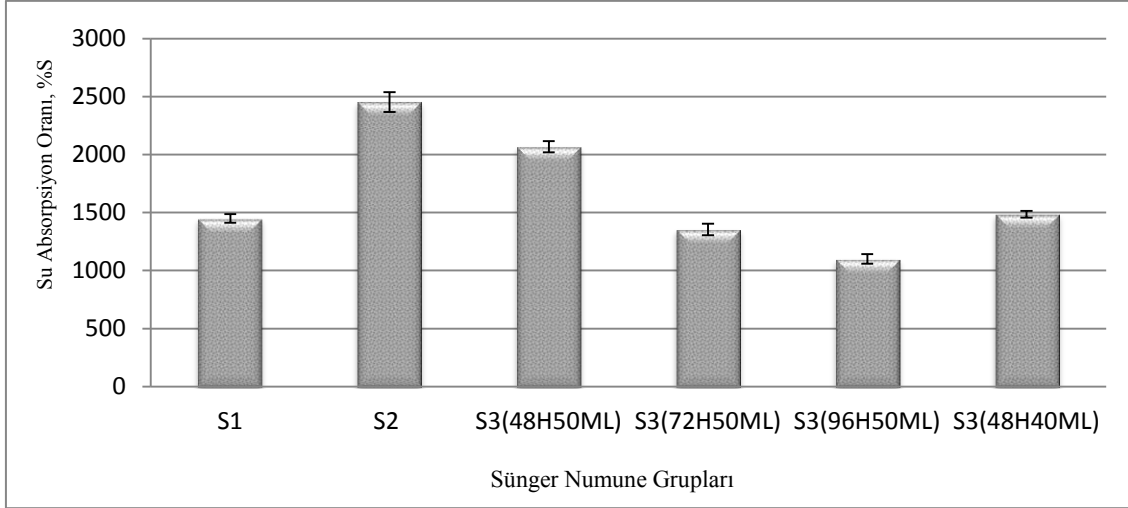
Şekil 10.1. Sünger numunelerin gözeneklilik değerleri



Şekil 10.2. Sünger numunelerin yoğunluk değerleri



Şekil 10.3. Sünger numunelerin gözenek hacmi değerleri



Şekil 10.4. Sünger numunelerin su absorpsiyon oranı değerleri

Çizelge 10.2'den ve yukarıda verilen grafiklerden görüldüğü üzere, sünger numuneler içinde en yüksek gözeneklilik ve gözenek hacmi değerlerini, 0,95 gözeneklilik ve 21,90 cm<sup>3</sup>/g gözenek hacmi değerleri ile S3(96H50ML) numunesi, en yüksek su absorplama oranı ve yoğunluk değerlerini ise, % 2452 su absorpsiyon oranı ve 0,11 g/cm<sup>3</sup> yoğunluk değerleri ile S2 numunesi vermiştir.

Su absorpsiyon oranı testleri sırasında, sünger numuneler içerisinde S1 numunesi kısa sürede parçalandığı için 24 saatlik süreyi tamamlayamamış ve yaklaşık 1,5 saatte test sonuçlanmıştır. S1 numunesi, kütlece % 2,32 kitosan içermektedir ve PEO içermemektedir. S1 numunesinin su absorpsiyon oranı değeri % 1449'dur. Kütlece % 2,00 kitosan ve % 0,22 PEO içeren S2 numunesi ve kütlece % 2,01 kitosan ve % 0,40 PEO içeren S3 numune gruplarının hızlı bir şekilde absorplama davranışı gösterdikleri ve 24 h sonunda bile yapılarının bozulmadığı görülmüştür. PEO miktarının kütlece % 1,59'a arttırılıp, kitosan miktarının ise % 0,40 miktarına düşürüldüğü S4(72H50ML) numunesinde ise su absorpsiyon oranı değeri ölçülememiştir. Fosfat tampon tuz çözeltisi ile temasından hemen sonra jel kıvamında parçalanıp erimiştir.

Polivinil alkol (PVA), hidrofilik, suda çözünür ve yarı kristalin bir polimerdir. PVA'nın kimyasal yapısı molekül içi hidrojen bağının oluşumunu desteklemektedir. PVA, çok sayıdaki hidroksil gruplarından dolayı kitosandan daha hidrofilik bir polimerdir. PEO, hidrofilik yarı kristalin bir polieterdir. Buna karşılık, kitosan, molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları oluşturabilme özelliğinden dolayı hidrofilikliğı azaltma yönünde

eğilim gösterir [175-178]. Bu polimerler arasındaki etkileşimler sayesinde elde edilmek istenen ürünün hidrofilikliği, kimyasal ve fiziksel özellikleri geliştirilebilir.

Çizelge 10.2 ve yukarıda verilen grafikler incelendiği zaman numune içerikleri açısından PEO içeren S2 numunesinin, PEO içermeyen S1 numunesine göre, su absorpsiyon oranı ve yoğunluk değerleri artmış, gözeneklilik ve gözenek hacmi değerleri azalmıştır. S2, S3(48H50ML), S3(72H50ML) ve S4(72H50ML) numuneleri karşılaştırıldığı zaman, PEO oranı arttıkça, gözeneklilik, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerlerinin azalmış, yoğunluk değerinin ise değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Nasir ve diğerlerinin (2005) yaptıkları çalışmada da, Kitosan-PEO karışım membranlarının su emme yeteneğinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Tek başına kitosan kullanıldığı zaman su emme değerini % 50,67 bulurken, Kitosan-PEO 100 K karışım membranlarının su emme yeteneğini % 58,78 bulmuşlardır. Kitosan-PEO karışımlarının su emme kabiliyetinin, kullanılan PEO'in molekül ağırlığına kuvvetle bağlı olduğunu da belirtmişlerdir. Bu durumun, kitosanın kristalleşme özelliğinde azalma ve PEO'in kitosan ile moleküller arası etkileşimlerinden kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, kristalinite daha da bastırılmış olmasına rağmen, molekül ağırlığı çok yüksek (600 K) PEO, kitosan ile harmanlandıktan sonra su alım yüzdesinin azaldığını (% 55,60) göstermişlerdir [231].

Liyofilizasyon süresinin numune özellikleri üzerine etkisinin incelendiği, liyofilizasyon flaskına yaklaşık 50 ml konulan ve 48 h, 72 h ve 96 h liyofilizasyona tabi tutulan S3 numune gruplarında, liyofilizasyon süresi 48 h'ten 96 h'e arttırıldığında; su absorpsiyon oranı değerinin % 2066,33 değerinden, % 1100,67 değerine azalmış, yoğunluk değerinin  $0,10 \text{ g/cm}^3$  değerinden  $0,04 \text{ g/cm}^3$  değerine azalmış, gözeneklilik değerinin 0,88 değerinden 0,95 değerine artmış ve gözenek hacmi değerinin  $9,64 \text{ cm}^3/\text{g}$  değerinden  $21,90 \text{ cm}^3/\text{g}$  değerine artmış olduğu görülmüştür. Liyofilizasyona tabi tutulan numune hacminin etkisinin incelendiği 48 h liyofilize edilen, liyofilizasyon flaskına 40 ml ve 50 ml numune konulan, S3(48H40ML) ve S3(48H50ML) numuneleri karşılaştırıldığında, liyofilizasyon uygulanan numune miktarı arttırıldığında; gözeneklilik değerinin 0,94 değerinden 0,88 değerine azaldığı, gözenek hacmi değerinin  $18,70 \text{ cm}^3/\text{g}$  değerinden  $9,60 \text{ cm}^3/\text{g}$  değerine azaldığı, yoğunluk değerinin  $0,05 \text{ g/cm}^3$  değerinden  $0,10 \text{ g/cm}^3$  değerine arttığı ve su absorpsiyon oranı değerinin ise % 1485,72 değerinden % 2066,33 değerine arttığı görülmüştür. Liyofilizasyon uygulanan çözelti miktarının ve liyofilizasyon süresinin gözeneklilik, gözenek hacmi, yoğunluk ve su absorpsiyon oranı üzerinde etkili

birer faktör oldukları belirlenmiştir. Liyofilizasyon uygulanan çözelti miktarı azaldıkça ve liyofilizasyon süresi arttıkça gözeneklilik ve gözenek hacmi değerleri artmış, yoğunluk ve su absorpsiyon oranı değerleri ise azalmıştır.

Liyofilizasyon (dondurarak kurutma) işleminde elde edilmek istenen ürün özellikleri; dondurma şekli, dondurma hızı, ön dondurma sıcaklığı, vakum basıncı, dondurma zamanı, dondurarak kurutma zamanı, dondurarak kurutma sıcaklığı, ürünün doğası, kurutulacak malzeme miktarı, malzemenin konulduğu kap çeşiti gibi bir çok faktöre bağlıdır [207]. Literatürde liyofilizasyon parametrelerinin etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Atelokollajen/jelatin (ACG) süngerin gözenek yapıları üzerine liyofilizasyon faktörlerinin ve jelatin konsantrasyonunun etkilerinin incelendiği çalışmada, üç farklı liyofilizasyon sıcaklığı (-30 °C, -80 °C ve -196 °C), üç farklı liyofilizasyon süresi (1 h, 2 h ve 24 h), üç farklı jelatin konsantrasyonları (% 0,6 AC + % 0,15 G, % 0,6 AC + % 0,6 G ve % 0,6 AC + % 2,4 G) denemeleri yapılmıştır. -30 °C ve -80 °C için altıgen şeklinde tipik gözenek yapıları gözlenirken, -196 °C elde edilen süngerde düzenli gözenek oluşumları görülmemiştir. -196 °C grubundaki gözenekler son derece küçük olduğundan gözeneklilik ve gözenek boyutu ölçümleri yapılmamıştır. -30 °C ve -80 °C liyofilizasyon uygulanan numuneler, % 76,5 ile aynı gözenekliliğe sahip iken gözenek alanı ve çapı -30 °C grubunda nispeten daha yüksek bulunmuştur. -30 °C grubunda ortalama gözenek alanı  $6,334 \pm 94 \mu\text{m}^2$  ve çap  $114 \pm 1 \mu\text{m}$  iken -80 °C grubunda ortalama gözenek alanı  $4,286 \pm 63 \mu\text{m}^2$  ve çap  $93 \pm 1 \mu\text{m}$  bulunmuştur. Sıcaklık arttıkça gözenek alanı ve gözenek çapı artmıştır. Yüksek jelatin konsantrasyonu içeren grubun (% 0,6 AC + % 2,4 G) gözeneklilik ve gözenek boyutunu azalttığı belirlenmiştir. % 0,6 AC + % 2,4 G grubunda artmış gözenek çeper kalınlığı gözlenmiştir. % 0,6 AC + % 0,15 G grubu en yüksek gözeneklilik ( $86,23 \pm 0,16$ ), % 0,6 AC + % 2,4 G grubu en düşük gözeneklilik ( $66,40 \pm 0,22$ ) değerleri vermiştir. 1 h, 2 h ve 24 h olmak üzere farklı liyofilizasyon sürelerinde ise benzer gözenekli yapıların her üç grupta da gözlendiği ve gözeneklerin altıgen şeklinde olduğu görülmüştür. Gözeneklilik açısından, üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Üç grubun ortalama gözenekliliği yaklaşık % 76,5 bulunmuştur. Buna ek olarak, üç grup arasındaki gözenek alanı ve çapları istatistiksel olarak farklı değildir. Ortalama gözenek alanı yaklaşık  $4,300 \mu\text{m}^2$  ve çap yaklaşık  $93 \mu\text{m}$  elde edilmiştir [232].

Hottot ve diğerleri (2007) tarafından, dondurarak kurutma işleminde buz kristallerinin boyut dağılımlarının sadece donma oranına (iyi bilinen) değil aynı zamanda kullanılan şişe

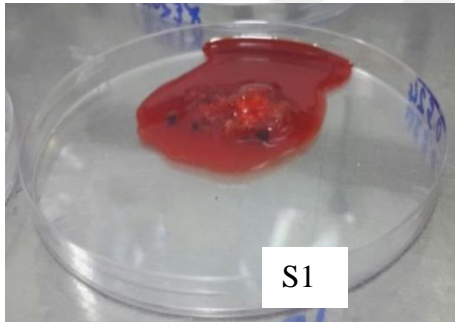
boyutuna, şişe türüne ve dolun yüksekliğine de bağlı olduğu gözlenmiştir. Örneğin kalıplanmış şişeler veya daha yüksek doldurma yüksekliği değerleri, aşırı soğutma derecesinin değişkenliğinden kaynaklanan morfolojinin heterojenliğini azalttığı ve daha homojen buz kristal boyutu dağılımını sağladığı görülmüştür. Bu davranış, genellikle buz kristali morfolojisinin geniş ve homojen olmayan dağılımlarına yol açan, süper soğutma etkisinin azalmasıyla açıklanmıştır [233]. Haugh ve diğerleri (2010) ise kollajen-glikosaminoglikan (CG) yapı iskeleleri hazırladıkları çalışmada, dondurma sıcaklığını değiştirerek (-10 °C'den -70 °C'ye kadar farklı sıcaklıklarda), 85 µm ile 325 µm arasında gözenek boyutları elde etmişlerdir. Sonuçlar, dondurucu sıcaklık düştükçe gözenek boyutunun azaldığını göstermektedir. Hızlı bir dondurma işleminin küçük gözeneklere neden olan küçük kristaller ürettiğine, yavaş yavaş dondurma işleminin ise büyük kristaller ve buna bağlı olarak büyük gözenekler ürettiğine ilişkin hipotezi desteklemiştir. Dondurma hızı gözenek boyutunu belirlerken numunedeki sıcaklık eğimi, yapının homojenliğini belirler [234]. Petrauskaite ve diğerleri (2016) ise seluloz bazlı yapı iskeleri oluşturdukları çalışmalarında çözücünün, dondurarak kurutma öncesi gözenek boyutu üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Farklı özücüler suyun kristalleşmesini etkileyebileceğinden, şekillendirme matrisinde gözenekleri etkileyeceğini düşünmüşlerdir. Çözücü olarak su, % 10'dan % 40'a kadar etanol içeren ve ön dondurma sıcaklığı -25 °C ve -80 °C olan çalışmalar yaparak gözeneklilik üzerine etkilerini incelemişlerdir. Jelin gözenekli yapısının, dondurarak kurutulmadan önce kesintili fazda kullanılan çözeltiye bağlı olduğu bulunmuştur. Süreksiz fazdaki etanol konsantrasyonunu değiştirerek, liyofilize matrisin morfolojisi makrogözenekli yapıdan yoğun yapıya kadar değişebileceğini görmüşlerdir. Matrisin en uygun yapısı, % 20 etanol ile doldurulmuş ve -25 °C'de dondurulmuş selüloz jelinin liyofilizasyonu ile elde edilmiştir. Matrisin gözenek boyutu, mikro-makro skala arasında değişerek, hücre adezyonunu, çoğalmasını ve vaskülarizasyon (damarlanma) için alan sağlamıştır [235].

### **10.1.2. Kan absorpsiyon testi**

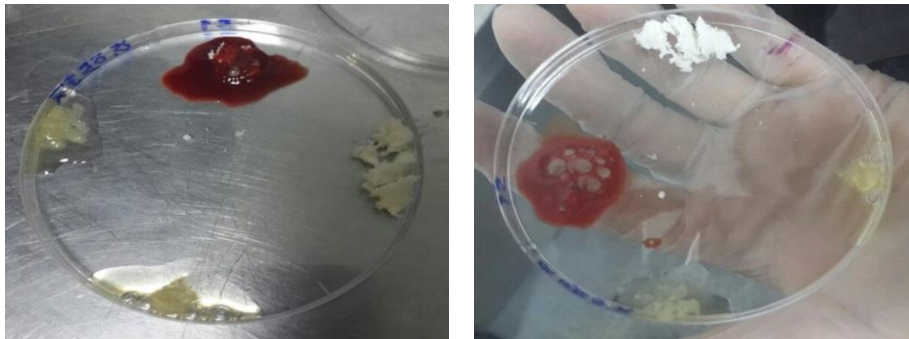
Kan absorpsiyon testi insan kanı kullanılarak yapılmıştır. Numuneler kan ile ıslatılarak (üzerine dağıtılıyor) absorplama davranışı gözlenmiştir. Yapılan ilk çalışmalarda farklı tüplere alınan kan numuneleri santrifüj edilerek, plazma ve serum elde edilmiş ve numunelerin serum ve plazma ile etkileşimine de bakılmıştır. Kan absorpsiyon testine ek olarak kan emdirilmiş sünger distile suya daldırılarak numuneden hemoglobun sızıntısı

gözlenmiştir. Bu çalışmada kan absorpsiyon testinde herhangi bir süreli çalışma yapılmamıştır, sadece görsel olarak numunelerin davranışları izlenmiştir. Kan absorpsiyon testinde 0,1 g ağırlığında sünger numuneler kullanılmıştır. Numunelerin üzerine 1 ml kan ilave edilerek kan absorpsiyon davranışları kontrol edilmiştir. Kullanılan serum, plazma ve kan miktarları kısıtlı olduğu için belli gözlemlerden elde edilen sonuçlara göre testler yapılmıştır.

Resim 10.1’de S1 numunesinin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü verilmiştir. S1 numunesinde, kan ile ıslatıldığı zaman herhangi bir pıhtılaşma, absorplama davranışı gözlenmemiştir. Test sırasında numuneler zorla kanla ıslatılmıştır. Resim 10.1’de görülen pıhtılar, kanın bulunduğu tüpte pıhtılaşmasından kaynaklı olmuştur. Numunenin bir etkisi olmamıştır. Resim 10.2’de S1 numunesinin kan ve plazma ile etkileşimi öncesi ve sonrası görünüşleri verilmiştir. Yine S1 numunesinin kan ile temasında bir etkileşim gözlenmemiştir fakat plazma ile temasında pıhtılaşma olduğu görülmüştür.



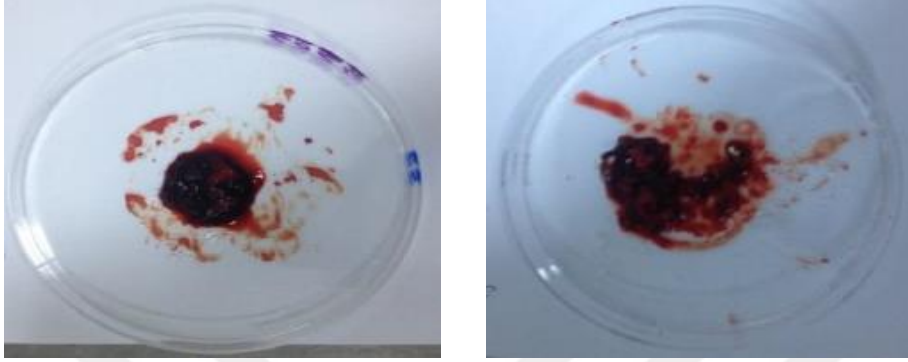
Resim 10.1. S1 numunesinin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü



Resim 10.2. S1 numunesinin kan ve plazma ile etkileşimi öncesi ve sonrası görünüşü

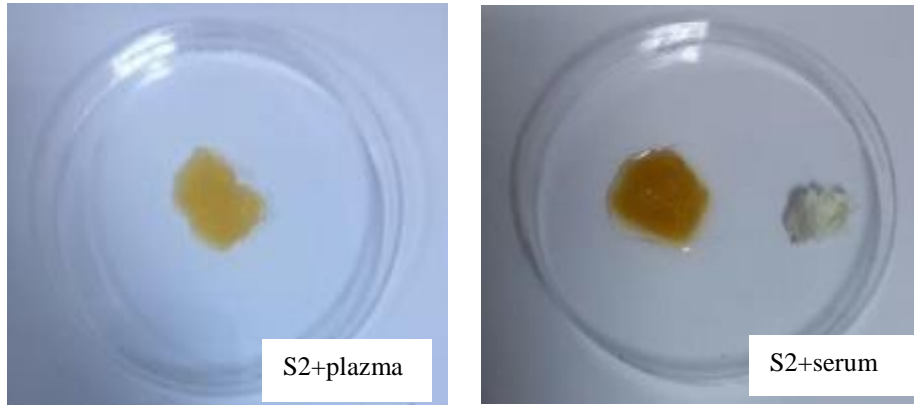


Resim 10.3'te S2 numunesinin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü verilmiştir. S2 numunesi üzerine kan eklendikçe numunenin kolay bir şekilde kanı absorpladığı ve pıhtılaşma oluştuğu görülmüştür.



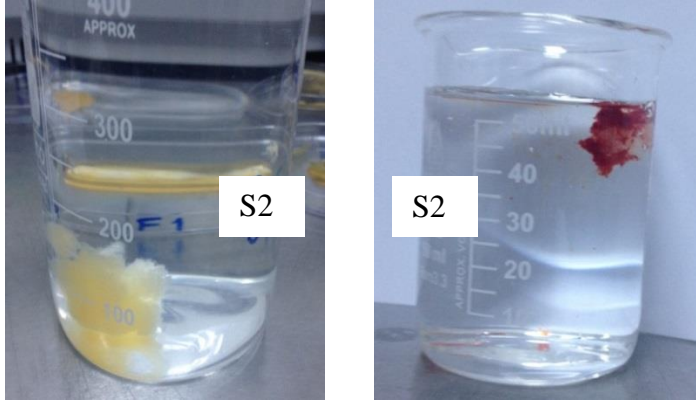
Resim 10.3. S2 numunesinin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü

Resim 10.4'te S2 numunesinin plazma ve serum ile etkileşimi öncesi ve sonrası görünüşü verilmiştir. S2 numunesi plazma ve serum ile etkileştirildiğinde numunenin plazma ve serumu kolay bir şekilde absorpladığı ve pıhtılaşma oluştuğu gözlenmiştir. Kütlece % 2,32 kitosan içeren fakat PEO içermeyen S1 numunesi kan absorplama davranışı göstermezken, kütlece % 2,00 kitosan ve % 0,22 PEO içeren S2 numunesi kan, plazma ve serumu absorplama davranışı göstermiştir.



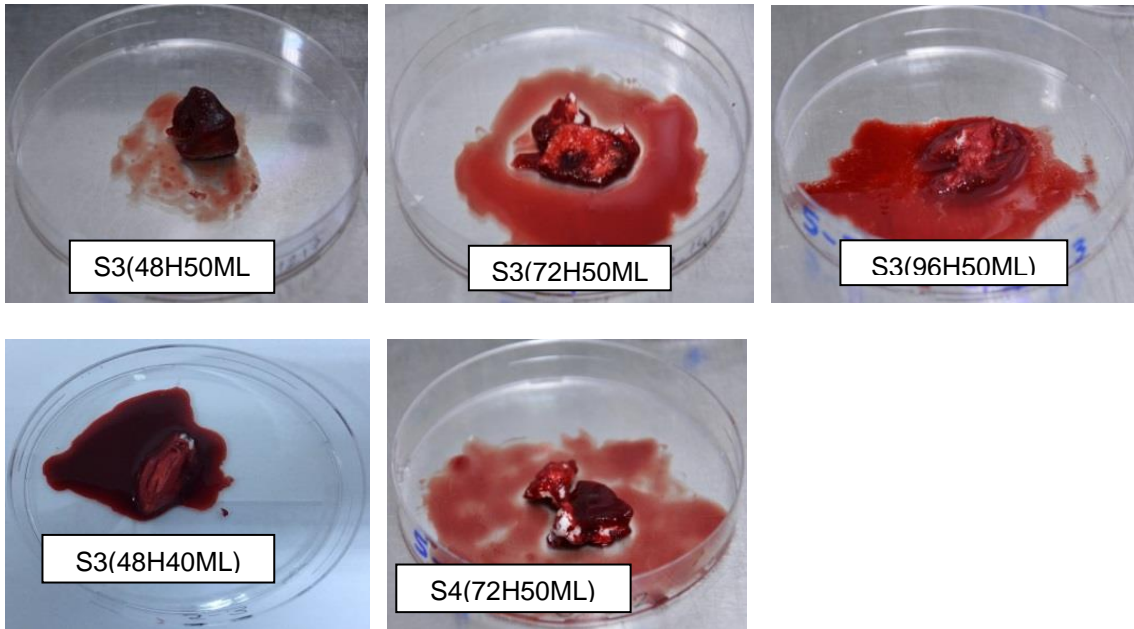
Resim 10.4. S2 numunesinin plazma ve serum ile etkileşimi öncesi ve sonrası görünüşü

Resim 10.5'te S2 numunesinin plazma ve kan ile etkileşimi sonrası plazma ve hemoglobin salıverme görüntüsü verilmiştir. S2 numunesinin plazma ve kan ile etkileşimi sonrası plazma ve hemoglobin salıverme testinde numunenin şişmesi sırasında salınımın olmadığı, numune üzerindeki parçacıkların ayrılması sırasında hafif bir salınım olduğu görülmüştür.



Resim 10.5. S2 numunesinin plazma ve kan ile etkileşimi sonrası plazma ve hemoglobin salıverme görüntüsü

Elde edilen testler sonucunda S2 numaralı numunenin kan, serum ve plazma absorplama ve kümeleştirme davranışı göstermesi üzerine kitosan içeren sünger numunede PEO kullanımının numunenin kan absorplama özelliğini artırdığı belirlenmiştir. Bunun üzerine S2 numaralı numuneyi geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Bu amaçla, PEO oranında ve numune hazırlama işlemlerinde değişiklikler yapılarak, S3 ve S4 numaralı numuneler hazırlanmıştır. Hazırlanan numunelere kan absorpsiyon testi uygulanmıştır. Resim 10.6'da numunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşleri verilmiştir.

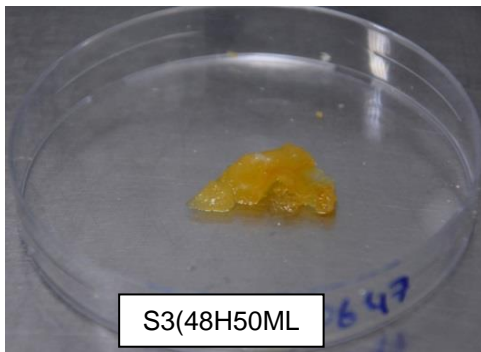


Resim 10.6. Sünger numunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşleri

Sünger numuneler kan ile ıslatıldığı zaman, kütlece % 2,01 kitosan ve % 0,40 PEO içeren, liyofilizasyon flaskına 50 ml konulan ve 48 h liyofilize edilen S3(48H50ML) numunesinin

kanı hızlı bir şekilde absorpladığı ve pıhtılaşma olduğu gözlenirken, liyofilizasyon süresi arttıkça yani 72 h liyofilizasyon uygulanan S3(72H50ML) numunesinin ve 96 h liyofilizasyon uygulanan S3(96H50ML) numunesinin kanı absorplamadıkları görülmüştür. Aynı zamanda, S3(48H50ML) numunesinin liyofilizasyona tabi tutulan miktarı yaklaşık 50 ml'den 40 ml'ye azaltılan ve 48 h liyofilize edilen S3(48H40ML) numunesine uygulanan kan absorplama testi sonucunda, numunenin kanı absorplamadığı görülmüştür. Bu durum liyofilizasyon süresinin ve liyofilizasyona tabi tutulan numunenin miktarının kan absorplama davranışında da etkili olduğunu göstermiştir. Liyofilizasyon süresi arttıkça ve liyofilizasyona tabi tutulan numunenin miktarı azaldıkça kan absorplama özelliği azalmıştır.

Tüm sünger numuneler içerisinde en hızlı ve en iyi kan absorplama davranışını kütlece % 2,01 kitosan ve % 0,40 PEO içeren liyofilizasyon flaskına 50 ml konulan ve 48 h liyofilize edilen S3(48H50ML) numunesi göstermiştir. Kütlece % 2,00 kitosan ve % 0,22 PEO içeren liyofilizasyon flaskına 50 ml konulan ve 48 h liyofilize edilen S2 numunesi S3(48H50ML) numunesi ile karşılaştırıldığında, S3(48H50ML) numunesi daha iyi kan absorplama davranışı göstermiştir. S3(48H50ML) numunesi plazma ile etkileştirildiğinde, numunenin plazmayı da kolay bir şekilde absorpladığı ve pıhtılaşma olduğu gözlenmiştir. S3(48H50ML) numunesinin plazma ile etkileşimi sonrası görünüşü Resim 10.7'de verilmiştir.



Resim 10.7. S3(48H50ML) numunesinin plazma ile etkileşimi sonrası görünüşü

Kütlece % 0,40 kitosan ve % 1,59 PEO içeren, liyofilizasyon flaskına 50 ml konulan ve 72 h liyofilize edilen S4(72H50ML) numunesi kan ile ıslatıldığı zaman herhangi bir pıhtılaşma, absorplama davranışı gözlenmemiştir. Test sırasında numuneler zorla kan ile ıslatılmıştır. S4(72H50ML) numunesi, kütlece % 2,01 kitosan ve % 0,40 PEO içeren ve

liyofilizasyon flaskına 50 ml konularak 72 h liyofilize edilen S3(72H50ML) numunesi ile karşılaştırıldığı zaman, S3(72H50ML) numunesi daha iyi absorplama davranışı göstermiştir.

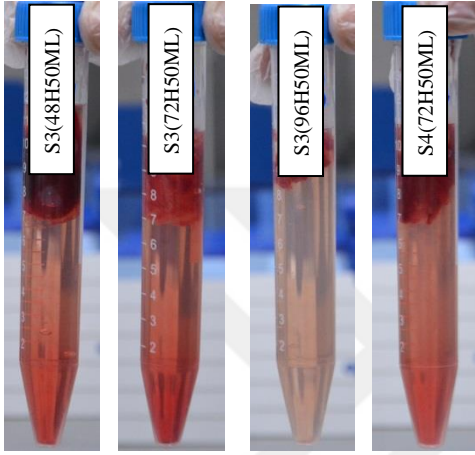
Elde edilen sonuçlardan, kitosan ile birlikte PEO içeren sünger numunenin kan absorplama davranışının daha iyi olduğu görülmüştür. PEO oranı % 0,22'den % 0,40 değerine arttırıldığı zaman kan absorplama davranışının arttığı görülmüştür. Fakat PEO oranı % 0,40 değerinden % 1,59 değerine arttırılıp, kitosan oranı % 2,01'den % 0,40 değerine azaltıldığı zaman ise kan absorplama davranışı azalmıştır. Tüm bu sonuçlara dayanarak sünger numuneler içerisinde en iyi kan absorplama davranışını, kütlece % 2,01 kitosan, % 1,2 PVA ve % 0,40 PEO içeren, liyofilizasyon flaskına 50 ml konulan ve 48 h liyofilize edilen S3(48H50ML) numunesi göstermiştir. 0,1 g ağırlığındaki numunenin üzerine 1 ml kan ilave edilmiştir ve kan eklendikçe numunenin kanı absorpladığı görülmüştür.

Bölüm 10.1.1'de PEO içeren S2 numunesinin, PEO içermeyen S1 numunesine göre su absorplama oranının artmış, gözenek hacmi ve gözeneklilik değerlerinin azaldığı görülmüştü. PEO oranı arttıkça ise gözeneklilik, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerlerinin azaldığı belirlenmişti. S3(48H50ML) numunesinde elde edilen % 2066,33 su absorpsiyon oranı, 9,64 cm<sup>3</sup>/g gözenek hacmi ve 0,88 gözeneklilik değerlerinin kan absorplama davranışında en uygun değerler olduğu belirlenmiştir. PEO oranı arttırılıp kitosan oranı azaldıkça kan absorplama davranışı azalmıştır. Bu durum, kitosanın kan absorplama davranışında PEO'e göre daha etkili olduğunu göstermiştir.

Literatürde Wattanutchariya ve diğerleri (2012) dondurarak kurutma yöntemiyle farklı oranlarda kitosan ve pirinç nişastası içeren hemostatik süngerler üretmişlerdir. Gözeneklilik, şişme özelliği, su içeriği ve hemostatik ajanın kan absorpsiyonu ticari ürün SURGIFOAM ile karşılaştırılmıştır. Sadece kitosan kullanarak oluşturdukları süngerde % 76,46 gözeneklilik ve % 98,88 su absorpsiyonu, saf pirinç nişastası ile % 82,16 gözeneklilik ve % 91,67 su absorpsiyonu, kitosan ve pirinç nişastası hacim oranı 50:50 ile elde edilen hemostatik süngerde, % 86,84 gözeneklilik ve % 97,33 su absorpsiyonu elde etmişlerdir. SURGIFOAM ise sadece % 36,39 gözeneklilik ve % 90,69 su absorpsiyonu değeri elde etmişlerdir. En düşük kan absorplama hızı 0,4 ml insan kanı için 5 saniye ile saf pirinç ile yapılan numunede elde edilmiştir. SURGIFOAM'da ise bu değer 45 saniye ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında, kitosanla birlikte kullanılan PEO

ve PVA'ün, gözeneklilik ve su absorpsiyonu açısından pirinç nişastasından daha etkili oldukları kanısına varılmıştır.

Resim 10.8'de numunelerin kan ile etkileşimi sonrası hemoglobin salıverme görüntüsü verilmiştir. Hemoglobin salınımı testi sonrası numunelerin hemoglobin salınımı gerçekleştirdiği görülmüştür.



Resim 10.8. Numunelerin kan ile etkileşimi sonrası hemoglobin salıverme görüntüsü

### 10.1.3. Kan ile etkileşim testleri

EN ISO 10993-1 “Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi” ve EN ISO 10993-4 “Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi - Bölüm 4: Kan ile etkileşim deneylerinin seçimi” rehberlerinde bulunan prosedürler izlenerek, numunelerin in vitro hemostatik etkisine bakılmıştır.

#### APTT, PT, FIB ve TT testleri

Kan koagülasyon sonuçları pıhtılaşma faktör kaskadı aktivitesi ile değerlendirilir. Koagülasyon testi sayesinde kontrol edilen numunelerin kanamayı durdurucu etkinliğinin, pıhtılaşma kaskadı dışında bağımsız olup olmadığı belirlenmiştir. Bölüm 4.1 ve Şekil 4.2’de belirtilen kan pıhtılaşma mekanizması göz önüne alındığında, aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT) intrinsik, protrombin zamanı (PT) ekstrinsik, trombin zamanı (TT) ve fibrinojen (FIB) ise ortak yolun aktivitesini göstermektedirler.

APTT, plazmada koagulasyon faktörü V, VIII, IX, XI ve XII'nin, PT ise plazmada pıhtılaşma faktörü II, VII, IX ve X'un genel aktivitesini yansıtan testlerdir [185,203,214-217]. Trombin zamanı (TT), trombin çözeltisi ilave edildiğinde, plazmanın pıhtılaşması için gerekli olan süredir. TT pıhtılaşma mekanizmasının ortak yolunun aktivitesini göstermektedir [218,219]. TT, öncelikli olarak fibrinojenin fibrine dönüştüğü pıhtılaşma sürecinin ortak yolunda normal olmayan bir seviyede fibrinojen, antikoagülan ve fibrinolitik madde bulunduğunu yansıtır. FIB (aynı zamanda pıhtılaşma faktörü I olarak adlandırılır) pıhtılaşma süreci boyunca akut bir faz proteindir [220-222].

Sünger numunelere Bölüm 9.3.6'da anlatıldığı şekilde APTT, PT, FIB ve TT testleri gerçekleştirilmiştir. Herbir test için, kullanılan kitin prosedürü uygulanarak testler gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol gruptan (numune uygulanmadan) elde edilen sonuçlar ile, numuneler uygulanarak elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda kanama kontrolünde kullanılan gazlı bez için de testler gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Sünger numunelere uygulanan APTT, PT, FIB ve TT testlerinin sonuçları Çizelge 10.3'te ve Şekil 10.5'te verilmiştir. Negatif kontrol ile karşılaştırıldığında, tüm sünger numunelerin APTT, PT ve TT değerlerinin, negatif kontrolden daha düşük olduğu, FIB değerlerinin ise negatif kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Tüm sünger numunelerin kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığı, numunelerin kanamayı durdurucu etkinliğinin pıhtılaşma kaskadından bağımsız olmadığı belirlenmiştir. Numuneler ekstrensik, intrensik ve ortak yolu etkileyerek, pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırmıştır. Sünger numuneler içerisinde en düşük APTT, PT ve TT değerlerini ve en yüksek FIB değerini S3(48H50ML) numunesi vermiştir. S3(48H50ML) numunesinin APTT, PT, TT ve FIB değerleri sırasıyla 13,7 s, 5,5 s, 5,7 s ve 3,34 dg/dl elde edilmiştir.

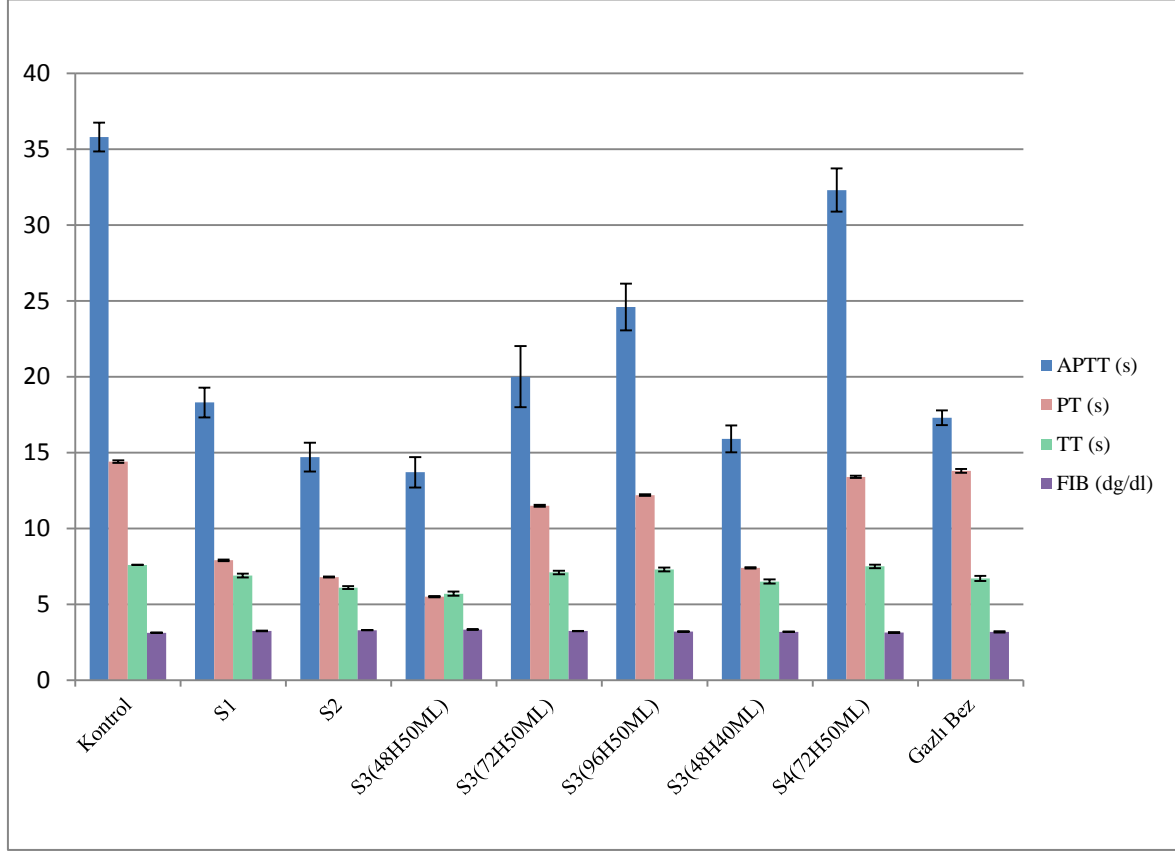
Çizelge 10.3. Sünger numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri

Numune Grupları	APTT (s)	PT (s)	FIB (dg/dl)	TT (s)
Kontrol	35,80±0,95	14,40±0,08	3,13±0,01	7,60±0,01
S1	18,30±0,98	7,90±0,06	3,25±0,02	6,90±0,12
S2	14,70±0,95	6,80±0,04	3,30±0,01	6,10±0,10
S3(48H50ML)	13,70±1,00	5,50±0,04	3,34±0,01	5,70±0,14
S3(72H50ML)	20,00±2,01	11,50±0,06	3,24±0,01	7,10±0,12
S3(96H50ML)	24,60±1,54	12,20±0,05	3,21±0,02	7,30±0,13
S3(48H40ML)	15,90±0,89	7,40±0,04	3,19±0,01	6,50±0,14
S4(72H50ML)	32,30±1,42	13,40±0,08	3,15±0,02	7,50±0,12
Gazlı Bez	17,30±0,48	13,80±0,13	3,16±0,04	6,70±0,17

En iyi sonuçların elde edildiği S3(48H50ML) numunesi gazlı bez ile karşılaştırıldığında, S3(48H50ML) numunesinin APTT, PT ve TT değerlerinin, gazlı bezin değerlerinden düşük, FIB değerinin ise gazlı bezin değerinden yüksek olduğu belirlenmiştir. S3(48H50ML) numunesi, gazlı beze göre kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırmada daha etkilidir. Beş ayrı bitki karışımından oluşturulan Ankaferd Blood Stopper (ABS) kanama durdurucu ile yapılan çalışmada ise, ABS'in plazma ve seruma eklendiği zaman hızlı bir şekilde protein ağı ve eritrosit kümelenmesi oluşturduğu, fakat bu çalışmadaki sünger numunelerden elde edilen sonuçların tersine plazma içindeki ABS oranı arttıkça PT, aPTT ve TT değerlerinin arttığı, buna paralel olarak fibrinojen aktivitesi değerinin ise azaldığı görülmüştür [236]. Lan ve diğerlerinin (2015) yaptıkları çalışmada ise kitosan/jelatin kompozit sünger (CG), ayrı ayrı kitosan ve jelatin süngerle karşılaştırıldığında, CG'nin daha iyi hemostatik etkileri olduğunu bulmuşlardır. Negatif kontrolle karşılaştırıldığında üç numuneninde aPTT değerlerinin kontrol gruptan daha düşük olduğu, PT değerlerinde ise kontrol gruba göre belirgin fark olmadığı görülmüştür. Negatif kontrolün aPTT değeri 45s iken, CG'nin 33s, CS'nin 34s ve GEL grubun 38s bulunmuştur.

Bu çalışmada APTT, PT, FIB ve TT testlerinden elde edilen sonuçlar, kan absorpsiyon testinden elde edilen sonuçları desteklemektedir. Kitosan, kandaki su moleküllerini absorbe ederek, pıhtılaşma faktörlerini konsantre eder, moleküler elek gibi davranır, yapı iskelesi kurar ve böylece pıhtılaşma aktivasyonu sağlar [12,18,26,31,45,94,157]. Aynı zamanda, PVA ve PEO polimerleri hidrofilik özelliğe sahiptirler. Numunelerin su absorpsiyon oranı değerlerinin yüksek olması nedeniyle, su moleküllerini absorbe edip,

pıhtılaşma faktörlerini konsantre ederek pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdıkları düşünülmüştür.



Şekil 10.5. Sünger numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri

Kanı hızlı bir şekilde absorplaması, APTT, PT ve TT değerlerinin düşük olması, FIB değerinin yüksek olması ve diğer testlerden elde edilen veriler doğrultusunda S3(48H50ML) numunesine hemoliz ve trombosit agregasyonu testleri gerçekleştirilmiştir.

#### Hemoliz testi

S3(48H50ML) numunesine Bölüm 9.3.6'da anlatılan yöntemle hemoliz testi gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometrik ölçümler sonucunda 15 dk'lık inkübasyonun ardından S3(48H50ML) numunesi için hemoliz oranı  $\% 4,40 \pm 0,01$  olarak hesaplanmıştır. Bu sonuca göre S3(48H50ML) numunesinin hemolitik olduğu belirlenmiştir.

Lokal hemostatların anahtar fonksiyonu hemostaz yeteneğidir [212]. Kitosanın hemostatik mekanizması klasik pıhtılaşma yolundan bağımsız olup eritrosit (kırmızı kan hücreleri,



RBCs) hücre membranı ile kitosan arasındaki etkileşmeye bağlıdır. Hemostaz, normal olarak, pıhtılaşma mekanizmasının başlangıcından sonra bir tıkaç oluşturmak için temel sağlamak üzere, trombosit agregasyonu ve trombosit tapası ile başlar. Kitosan trombosit agregasyonundan önce (ya da aynı anda) hemen kırmızı kan hücrelerinin çapraz bağlanmasıyla bir bariyer başlatarak avantaj sunabilir. Eritrosit hücre membranı ile kitosan arasında etkileşim nedeniyle filtre edilen eksi yüklü eritrositler ile güçlü çapraz bağ oluştururlar [157]. Elektrostatik etkileşim sayesinde, kitosan yüzeyi üzerine eritrositleri agrega edebilir ve hareketsiz bırakabilir. Nötralize edilmiş eritrositler yük dağılımlarını değiştirirler ve bu nedenle pıhtılaşma sürecini hızlandıran geri dönüşü olmayan deformasyona neden olurlar. Kitosan, kan pıhtılaşmasını hızlandırmak için kompleman sistemi, fibrin ve kan içindeki diğer bileşenlerle etkileşime girebilir ve kitosanın fiziko kimyasal özellikleri farklı bileşenlere farklı şekilde etki gösterebilir [237-241]. S3(48H50ML) numunesinin hemoliz oranının yüksek çıkması, eritrositlerle bağ oluşturduğunu ve eritrosit yıkımına neden olarak pıhtılaşmayı hızlandırdığını göstermektedir.

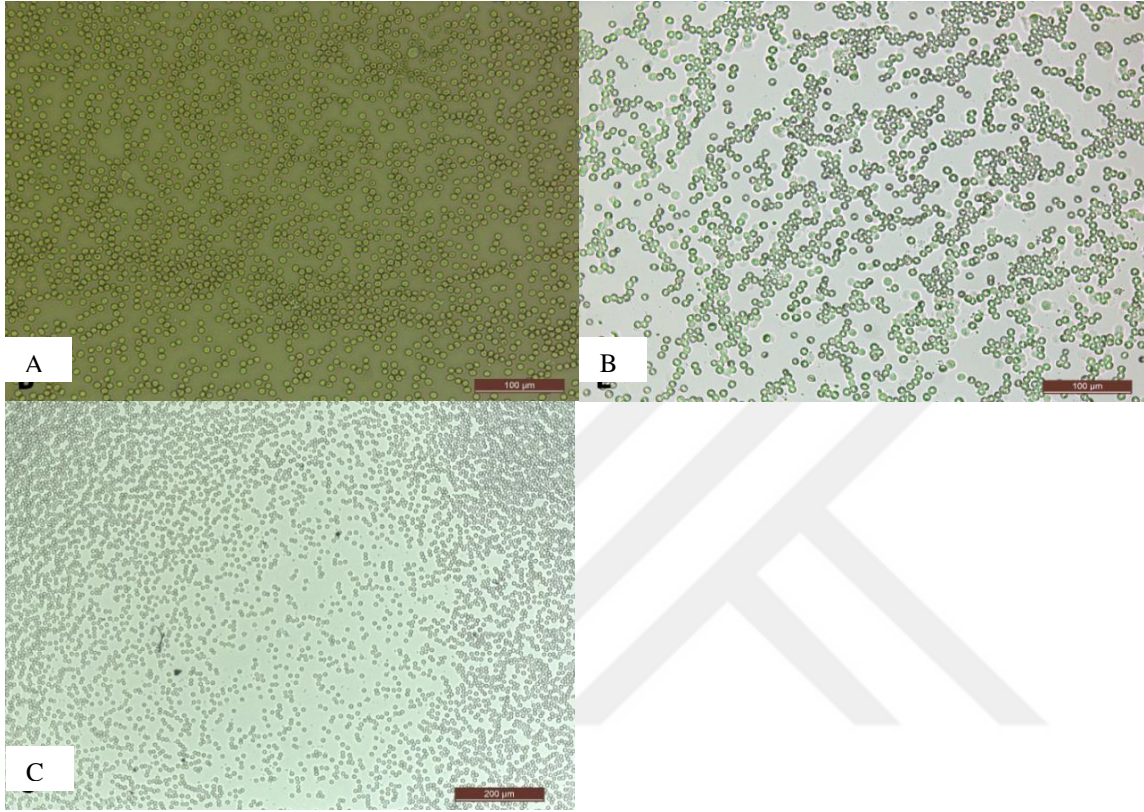
#### Agregasyon testi

S3(48H50ML) numunesine Bölüm 9.3.6'da anlatılan yöntemle agregasyon testi gerçekleştirilmiştir. Resim 10.9'da negatif kontrol, pozitif kontrol ve S3(48H50ML) numunesinin agregasyon testi sonucunda alınan mikroskopik görüntüleri yer almaktadır.

Yapılan mikroskopik incelemelere göre S3(48H50ML) numunesinin trombosit agregasyonuna neden olmadığı gözlenmiştir.

Bölüm 4.1.2'de ayrıntılı olarak verilen trombosit tıkaçı oluşumu, vücudun kanamayı durdurmak için gerçekleştirdiği mekanizmalardan biri olan, trombositlerin yaralı damar bölgesinde bir araya toplanarak bir tıkaç oluşturmasıdır. Damarın herhangi bir noktasındaki yırtılma, damar duvarı ya da damar dışı dokuların etkisiyle, trombositlerin aktive olmasına ve bu aktiflenen trombositlerinde yeni trombositleri aktive etmesiyle, gelişen bir kısır döngü ile oluşur. Bu kısır döngü içinde trombositler hasarlı bölgeye gelerek adezyon, aktivasyon, sekresyon (salınım) ve agregasyon (kümeleşme) fonksiyonlarını yerine getirirler. Kan akımını engellemeden zedelene bölgedeki deliği tıkarlar. Başlangıçta zayıf olan tıkaç, damar hasarı küçükse kan kaybını önlemede başarılı

olmaktadır [31,33,41,51,54-56]. S3(48H50ML) numunesinin trombosit kümeleşmesini sağlamaması, numunenin kanamayı durdurma mekanizmalarından trombosit tıkaçı oluşturmaya etkisi olmadığını gösterir.

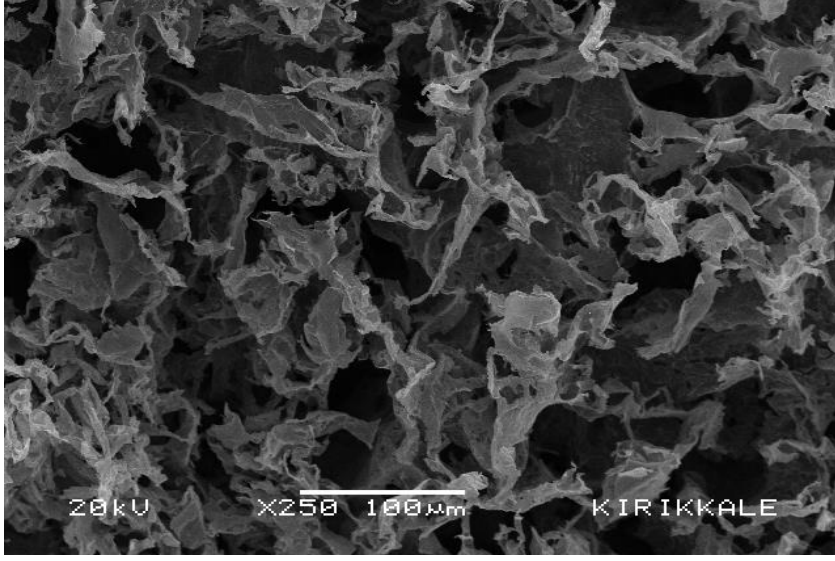


Resim 10.9. A) Negatif kontrol, B) Pozitif kontrol ve C) S3(48H50ML) numunesinin agregasyon testi mikroskopik görüntüleri

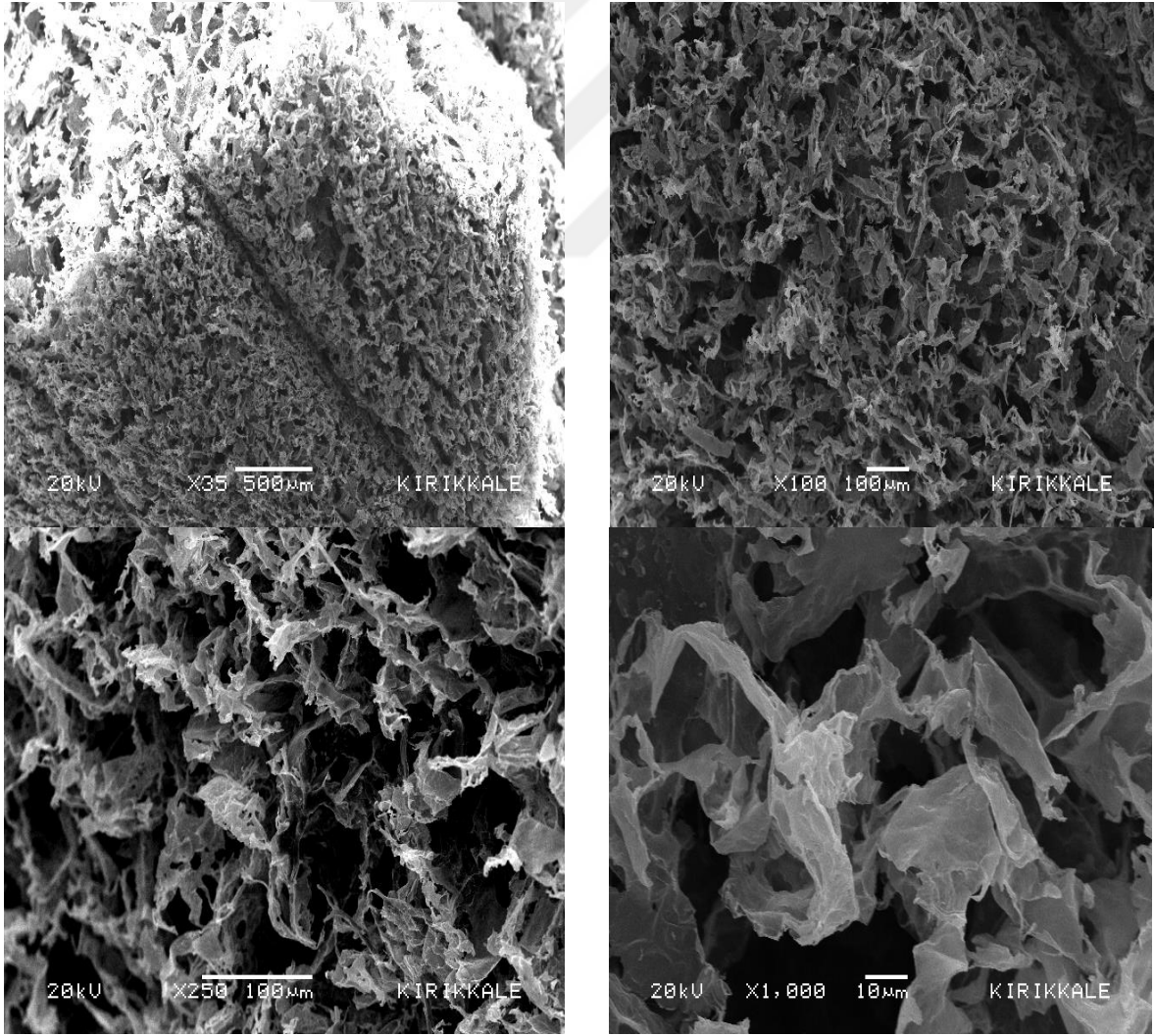
Kan absorpsiyonu, APTT, PT, TT, FIB, hemoliz ve agregasyon testleri sonucunda S3(48H50ML) numunesinin, hızlı bir şekilde kan absorpsiyonu gerçekleştirerek pıhtılaşma oluşturduğu, kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığı, eritrositlerle bağ oluşturduğu ve eritrosit yıkımına neden olarak pıhtılaşmayı hızlandırdığı belirlenmiştir fakat pıhtılaşma mekanizmalarından trombosit kümeleşmesine etkisi olmadığı görülmüştür.

#### 10.1.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Bölüm 9.2.1’de anlatılan yöntemle hazırlanan S3(48H50ML) sünger numunesi, Bölüm 9.3.8’de anlatılan şekilde yüzey karakterizasyonuna tabi tutulmuştur. İncelemeler sonucunda, S3(48H50ML) numunesinin gözenekliliği ve gözenek yapısı hakkında bilgi edinilmiştir. Resim 10.10 ve Resim 10.11’de numunenin SEM mikrografları verilmiştir.



Resim 10.10. S3(48H50ML) numune grubunun X250 büyütmede SEM mikrografi



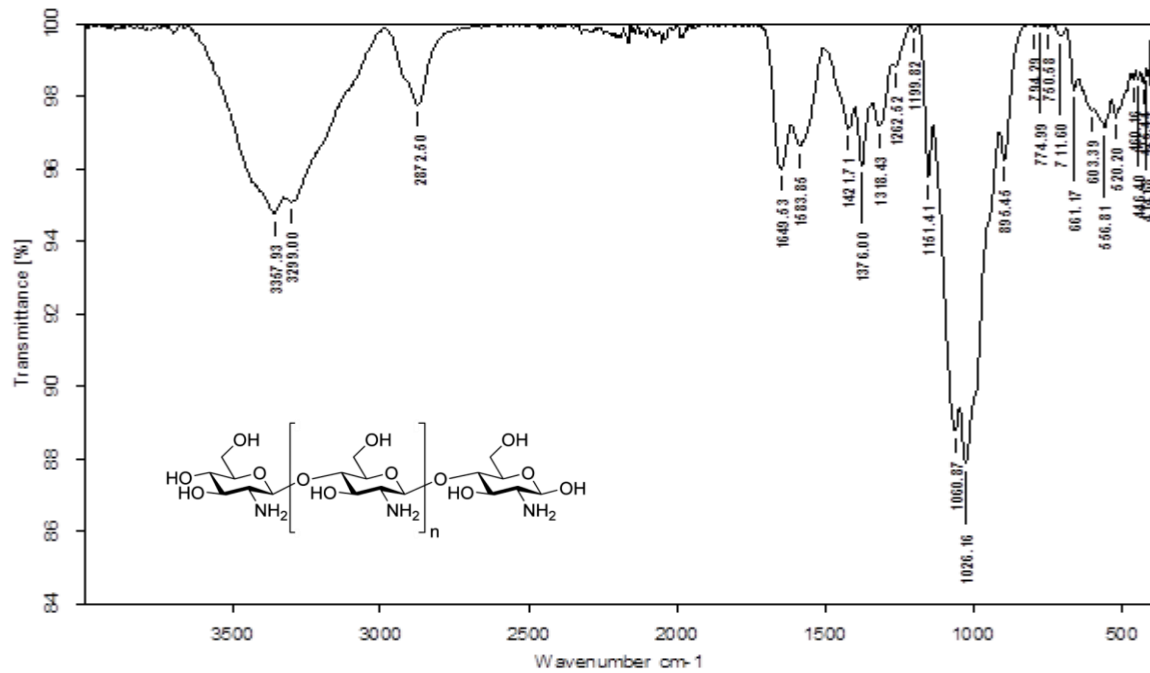
Resim 10.11. S3(48H50ML) numune grubunun X35, X100, X250 ve X1000 büyütmede SEM mikrografi

S3(48H50ML) numunesinin SEM mikrografları incelendiğinde, yüksek derecede birbirine bağlanmış gözenekli yapı görülmüştür. Gözeneklerin, heterojen dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Gözenekler, birbirinden farklı şekil ve boyutlarda rastgele dağılım göstermiştir.

Huang ve diğerleri (2015) yaptıkları çalışmada, emilebilir sargı olarak, deasetilasyon derecesi % 40 (CS-40) ve % 73 (CS-73) olan kitosanı, modifiye edilmiş bir yöntemle sünger haline getirmişlerdir. Jelatin sünger (GS) ile karşılaştırıldığında, kitosan süngerleri daha küçük gözenekler ve yüksek yüzey pürüzlülüğü ve şişme oranı göstermişlerdir.

### 10.1.5. Fourier dönüştürülmüş kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)

FT-IR spektrumu, her bir spesifik kimyasal bağ genellikle kendine özgü bir enerji absorpsiyon bandına sahip olduğu için, bir molekül içindeki belirli fonksiyonel grupların varlığını tanımlamada kullanılan faydalı bir tekniktir [242]. S3(48H50ML) numunesinin moleküler yapısının belirlenmesi için, kitosanın, polietilen oksitin, polivinil alkolün ve S3(48H50ML) numunesinin FT-IR spektrumları alınmıştır. Şekil 10.6'da kitosanın infrared spektrumu verilmiş ve temel kitosan absorpsiyon pikleri Çizelge 10.4'te özetlenmiştir.



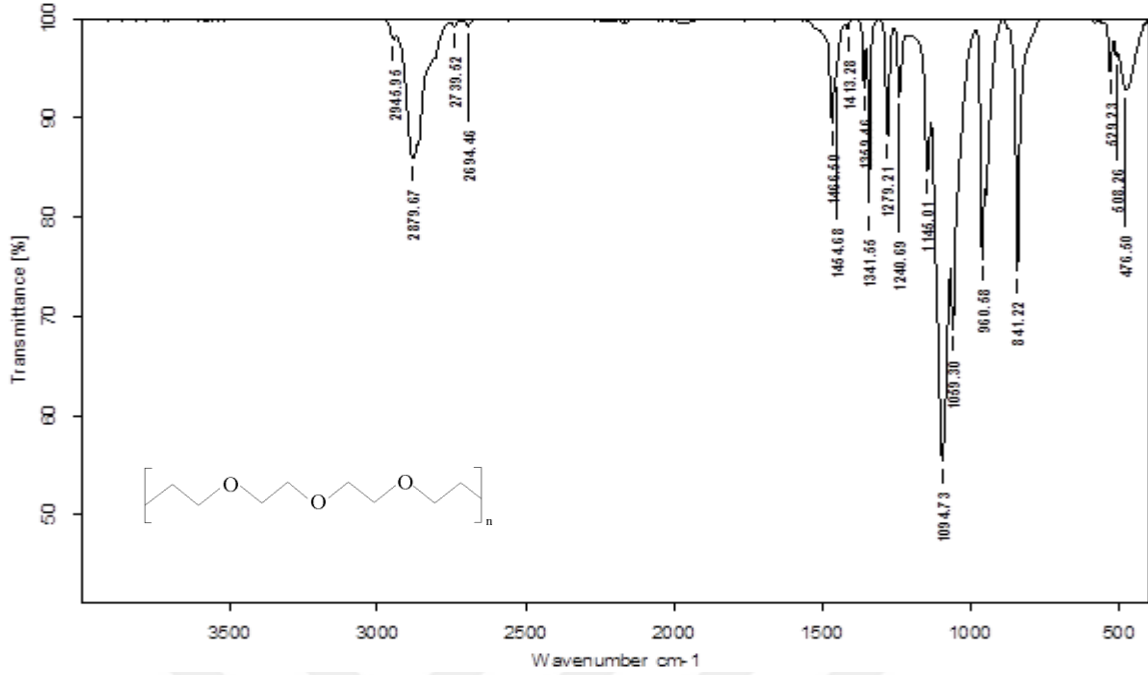
Şekil 10.6. Kitosanın FT-IR spektrumu

Çizelge 10.4. Kitosanın FT-IR spektrumundan elde edilen pikler

Pik pozisyonu (cm <sup>-1</sup> )	İşaretleme
3357, 3299	O-H ve N-H gerilmesi
2872	C-H gerilmesi
1649, 1583	C-N eğilme titreşimi
1421	-COO <sup>-</sup> 'nin asimetric gerilmesi
1262-1376	C-H eğilme titreşimi
1151-895	C-O-C ve C-O, (sakkarit yapı-β-1-4) gerilmesi

Kitosanın FT-IR spektrumunda, 3357-3299 cm<sup>-1</sup>'deki pikler O-H gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. N-H gerilme titreşimleri, amin grubu, 3300-3500 cm<sup>-1</sup>'de pik vermektedir. Bu sebeple bu bölgedeki geniş pik O-H gerilimi, amin N-H simetric titreşimi ve moleküller içi hidrojen bağlarının birleşmiş pikleridir. Kitosan için en belirgin karakteristik pikler 895 ve 1151 cm<sup>-1</sup>'de (kitosanın tekrarlanan birimleri için) görülen sakkarit yapıya ait piklerdir. 1151 cm<sup>-1</sup> ve 1060 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler (C-O-C köprüsünün anti-simetric gerilmesi) ve 895 cm<sup>-1</sup> ve 1026 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler (C-O gerilmeyi içeren iskelet titreşimleri) kitosan sakkarit yapısının karakteristikleridir. 2872 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik C-H gerilme titreşimini, 1649-1583 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler kitosanın amid (amid I ve amid II) grubunun eğilme titreşimlerini, 1421 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik -COO<sup>-</sup>'nin asimetric gerilmesini, 1262-1376 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler C-H eğilme (-CH<sub>2</sub> bükülme) titreşimini göstermektedir [170,175,194,242-245].

Şekil 10.7'de polietilen oksitin (PEO) infrared spektrumu verilmiş ve temel polietilen oksit absorpsiyon pikleri Çizelge 10.5'te özetlenmiştir.



Şekil 10.7. PEO'in FT-IR spektrumu

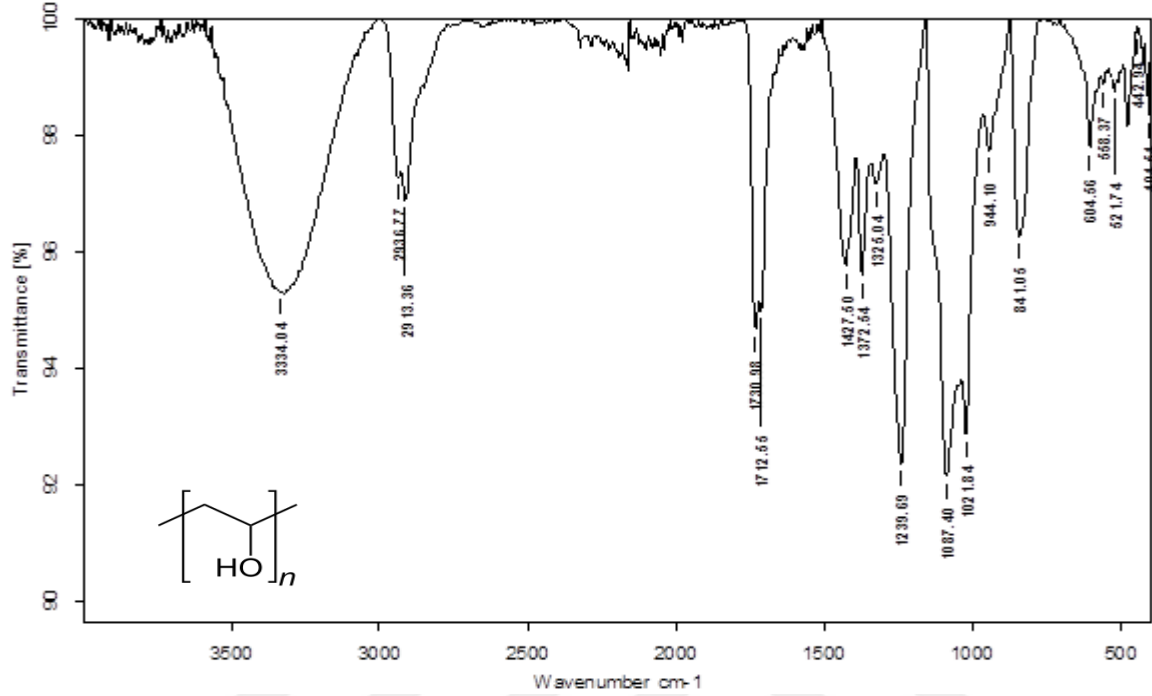
Çizelge 10.5. PEO'in FT-IR spektrumundan elde edilen pikler

Pik pozisyonu (cm <sup>-1</sup> )	İşaretleme
2879 ve 2945	C-H gerilmesi
1466	CH <sub>2</sub> makaslama modu
1240,1279	CH <sub>2</sub> eğilme titreşimi
1341, 1359	CH <sub>2</sub> dalgalanma modu
1059-1145	C-O-C gerilmesi
960	CH <sub>2</sub> sallanma titreşimi ve C-O-C titreşimi
841	C-C gerilmesi
529	C-O-C eğilmesi

PEO'in infrared spektrumunda, 2879 cm<sup>-1</sup> ve 2945 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler C-H alkil gerilme titreşimlerini gösterir ki bunlar, PEO ile ilgili karakteristik piklerdir. 1466 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik CH<sub>2</sub> makaslama modu, 1240-1279 cm<sup>-1</sup> arasında görülen pikler CH<sub>2</sub> eğilme titreşimlerini, 1341 cm<sup>-1</sup> ve 1359 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler CH<sub>2</sub> dalgalanma modunu, 1059 cm<sup>-1</sup>, 1094 cm<sup>-1</sup> ve 1145 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler C-O-C (eter grupları) gerilmesini, 960 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik CH<sub>2</sub> sallanma modu ve C-O-C titreşimi, 841 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik CH<sub>2</sub> sallanma modu ve 529 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik C-O-C eğilmesini göstermektedir [176,246].



Şekil 10.8’de polivinil alkolün (PVA) infrared spektrumu verilmiş ve temel polivinil alkol absorpsiyon pikleri Çizelge 10.6’da özetlenmiştir.



Şekil 10.8. PVA’ün FT-IR spektrumu

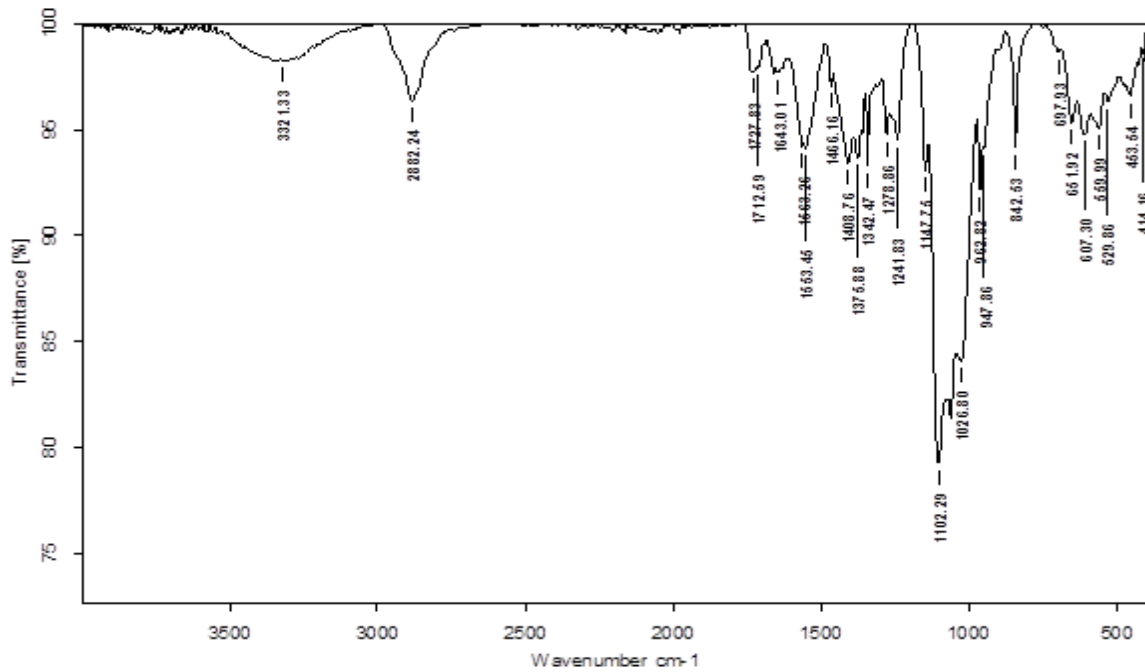
Çizelge 10.6. Polivinil alkolün FT-IR spektrumundan elde edilen pikler

Pik pozisyonu (cm <sup>-1</sup> )	İşaretleme
3334	O-H gerilmesi
2913 ve 2936	C-H gerilmesi
1712-1730	C=O karbonil gerilmesi
1427-1372	C-H eğilme titreşimi
1239	C-O bükülme deformasyonu
1021,1087	C-O gerilmesi
944	CH <sub>2</sub> sallanma modu
841	C-C gerilmesi

PVA için karakteristik pikler, 3334 cm<sup>-1</sup>’de görülen molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağı etkileşimleri O-H gerilme piki, 2913 cm<sup>-1</sup> ve 2936 cm<sup>-1</sup>’de görülen alkil grubuna ait C-H gerilme piki (CH-CH<sub>2</sub> asimetrik gerilme titreşimine), 1712-1730 cm<sup>-1</sup>’de görülen pikler PVA’nın kalan hidrolize olmamış bulunan vinil asetat grubuna ait karbonil (C=O ve C-O gerilme titreşimleri) etkileşimlerini göstermektedir.

1239-1427  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen pikler C-H eğilme titreşim pikleri, 1021-1087  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen pikler PVA'nın kristalinitesinden kaynaklanır ve karboksil germe bandı (C-O gerilmesi) ile ilişkili yarı kristalin yapıyı, 944  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen pik  $-\text{CH}_2$ 'nin salınımlı titreşimi, 841  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen pik C-C gerilmesini göstermektedir [175,176,242,244,247-251].

Şekil 10.9'da S3(48H50ML) numune grubunun infrared spektrumu verilmiş ve temel absorpsiyon pikleri Çizelge 10.7'de özetlenmiştir. Şekil 10.10'da S3(48H50ML) sünger numunesi, PVA, Kitosan ve PEO'in FT-IR spektrumları verilmiştir.



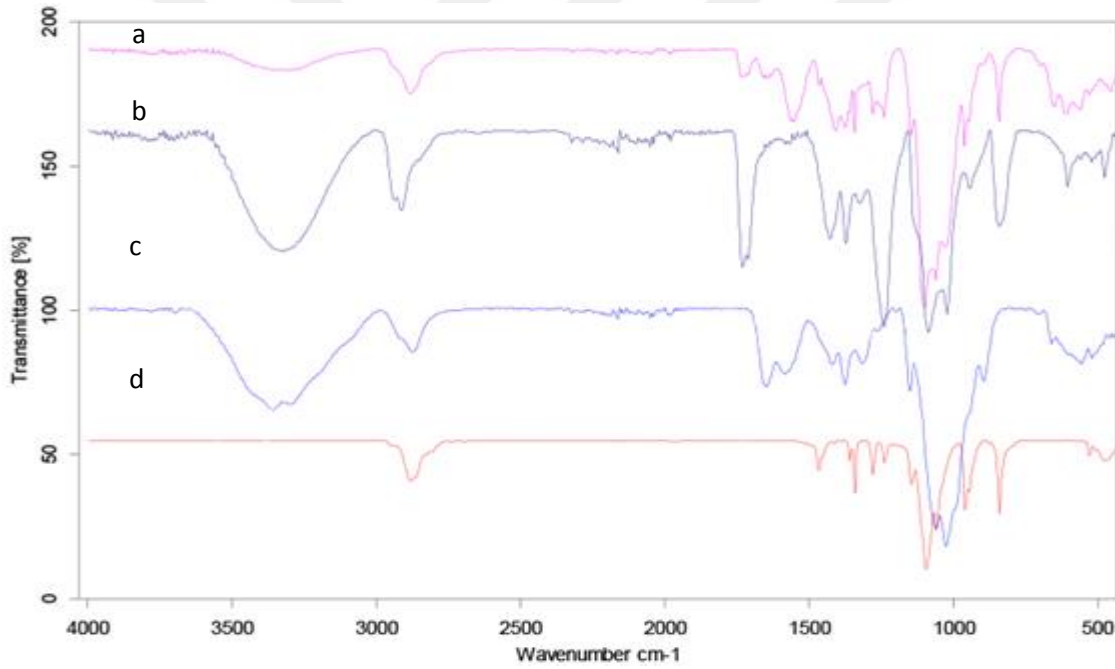
Şekil 10.9. S3(48H50ML) numune grubunun FT-IR spektrumu

Çizelge 10.7. S3(48H50ML) numune grubunun FT-IR spektrumundan elde edilen pikler

Pik pozisyonu ( $\text{cm}^{-1}$ )	İşaretleme
3321	O-H gerilmesi, N-H gerilmesi
2882	C-H gerilmesi
1712-1727	C=O karbonil gerilmesi
1643-1553	C-N eğilme titreşimi
1408	$-\text{COO}^-$ 'nin asimetrik gerilmesi
1342-1466	$\text{CH}_2$ eğilme titreşimleri
1241-1278	C-O bükülme deformasyonu
947-1147	C-O-C ve C-O, (sakkarit yapı- $\beta$ -1-4) gerilmesi
842	C-C gerilmesi



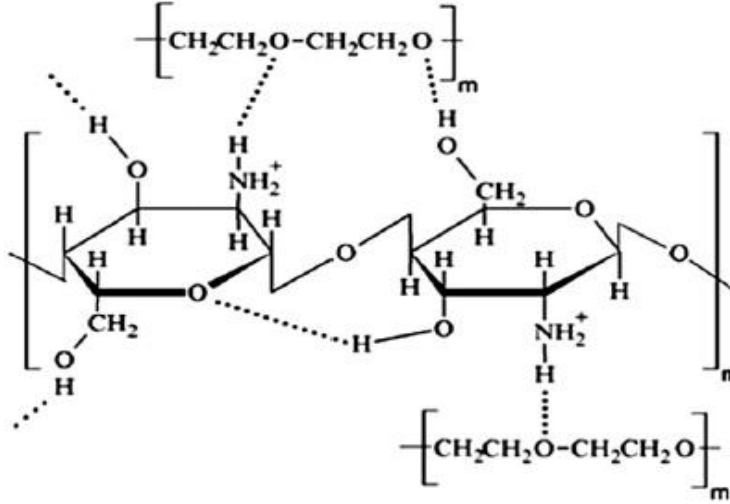
S3(48H50ML) numune grubunun infrared spektrumunda,  $3321\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pik O-H ve N-H gerilmesini göstermektedir. Saf kitosanda (N-H ve O-H gerilmesi) ve PVA'de (O-H gerilmesi)  $3000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$  bölgesinde bulunan amin ve hidroksil bantlarındaki pik şiddeti azalmış ve kayma gösterdiği görülmüştür. Kitosan içerisindeki hidroksil, karbonil (C=O-NHR), amin ( $\text{NH}_2$ ) ve eter grupları molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları oluşturur. Kitosanın, PEO'te eter grupları ile kitosandaki hidroksil grupları ya da kitosandaki amin grupları ve PVA'daki hidroksil grupları arasındaki güçlü hidrojen bağları sayesinde, PEO ve PVA polimerleri ile iyonik kompleksler oluşturabileceği öngörülmüştür [143,168]. Polietilen oksit, kitosanın kendiliğinden birleşmesini bozarak kitosan molekülleri ile etkileşime girebilir, polimer çözeltisinin genel viskozitesini düşürür [252,253].



Şekil 10.10. a) S3(48H50ML) sünger numunesi, b) PVA, c) Kitosan ve d) PEO'in FT-IR spektrumları

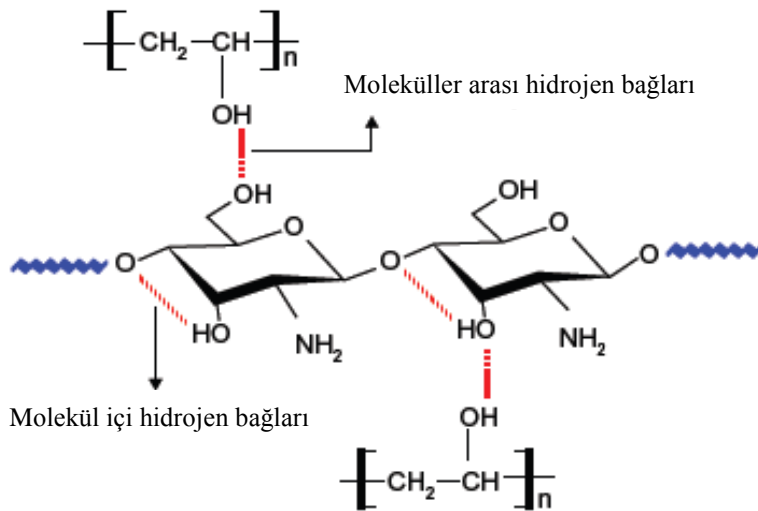
S3(48H50ML) numune grubunun infrared spektrumunda,  $2882\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pik alkil grubuna ait C-H gerilmesini,  $1712\text{-}1727\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pikler PVA'e ait karakteristik karbonil (C=O) gerilme etkileşimlerini,  $1643\text{-}1553\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pikler kitosanın amid (amid I ve amid II) grubunun eğilme titreşimlerini gösterir.  $1241\text{-}1278\text{ cm}^{-1}$  aralığında görülen pikler C-H eğilme titreşimini,  $895$  ve  $1151\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pikler C-O-C ve C-O gerilmesini,  $1026\text{-}1147\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen absorpsiyon piki tipik eter (C-O-C) grubunun titreşim gerilmesini göstermektedir.  $842\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pik C-C gerilmesini

göstermektedir.  $1342-1466\text{ cm}^{-1}$ 'de  $\text{CH}_2$  eğilme titreşimleri,  $1408\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pik karboksilik asit  $-\text{COO}^-$ 'nin asimetrik gerilmesine bağlanır [175,176,244,254,255].



Şekil 10.11. Kitosan ve PEO arasında molekül içi ve moleküller arası bağlanma şekillerinin şematik gösterimi [254,256]

Şekil 10.11'de gösterildiği gibi, sırasıyla PEO ve kitosanda polieter oksijen ve amino hidrojen arasında hidrojen bağları oluşabilir. Bu nedenle, kitosan ve PEO arasındaki etkileşimlerin, PEO'da eter grupları ile kitosandaki amin ve hidroksil grupları arasında oluşan kuvvetli hidrojen bağlarının sonucu olduğu düşünülmektedir [254]. Şekil 10.12'de kitosan ve PVA arasında öngörülen, molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarının şematik gösterimi yer almaktadır.



Şekil 10.12. Kitosan ve PVA arasında molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarının şematik gösterimi [244]

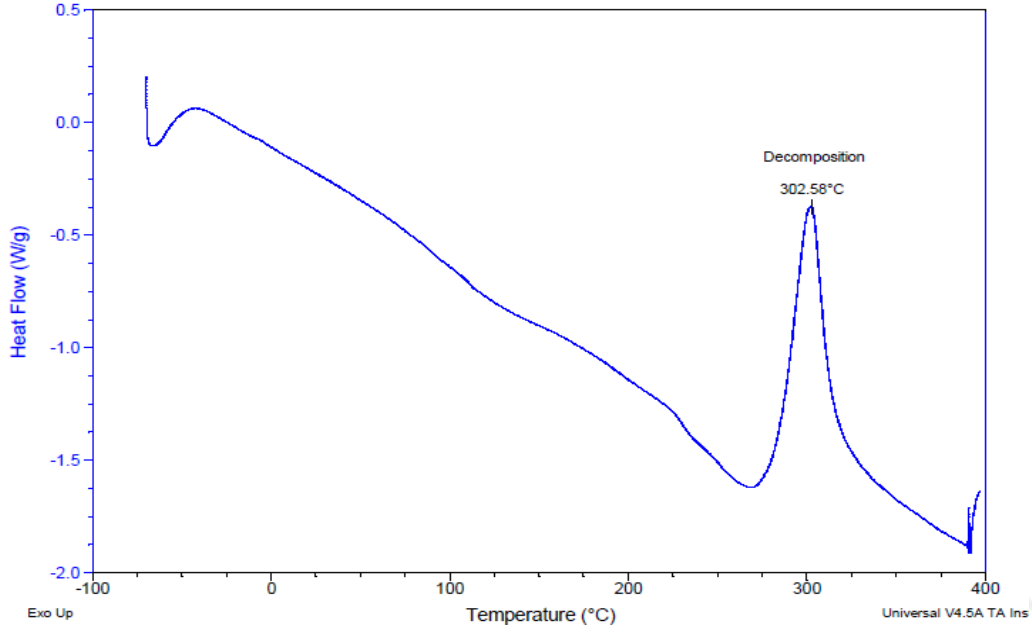
Amin ve hidroksil bantlarındaki kayma, moleküller arası veya molekül içi hidrojen bağlanmasına bağlı olarak, PVA, PEO ve kitosan arasındaki polimerik bağlantıya atfedilir. Buna ek olarak, kitosan, PVA ve PEO'nun tüm karakteristik bantları S3(48H50ML) numune grubunun spektrumunda hafif kayma görülerek bulunduğu gözlenmektedir. Bu durum polimerlerin güçlü hidrojen bağlarıyla birbirine bağlandığını göstermektedir [170,176,244,254].

PEO ve PVA karışımlarında, PEO'nun eter gruplarının hidrojen bağları oluşturması veya PVA'nın hidroksil gruplarıyla etkileşime girmesi beklenir. Bununla birlikte, PVA/PEO karışım solüsyonunun sulu ortamda faz ayrımı gösterdiği ve birbirine karışmayan karışımlar oluşturduğu saptanmıştır. PVA ve PEO'nun karşılıklı geniş çözünürlük eğilimi olmayan, birbirine karışmayan sistemler olduğu bulunmuştur. Sawatari ve diğerleri (1999) sadece ikincil hidroksil gruplarına sahip olan PVA'nın PEO üzerindeki iskelet oksijeni ile etkileşime girmeyeceğini bildirmiştir. Bu nedenle, PVA ve PEO'nun karışabilir harmanlarını hazırlamak için, bir selüloz türevinin bağdaştırıcı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bu fikri aynı zamanda, bir selüloz türevinin, moleküler düzeyde iki kristalimsi sentetik polimeri karışabilir veya kısmen karışabilir hale getirdiği araştırmalardan desteklenmektedir [176,257]. Kitosan, PVA ve PEO kullanılarak hazırlanan numunelerin karışımlarında da faz ayrımı görülmemiştir. Kitosanın kimyasal yapısı, poli-[ $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranoz] şeklindedir. Kitin ve kitosan polisakkaridleri, kimyasal yapı olarak selüloza benzemektedir. Selülozda, ikinci karbon atomuna bağlı hidroksil (-OH) grubu yerine, kitinde asetamid (-NHCOCH<sub>3</sub>), kitosanda ise amin (-NH<sub>2</sub>) grubu bulunmaktadır [90,143].

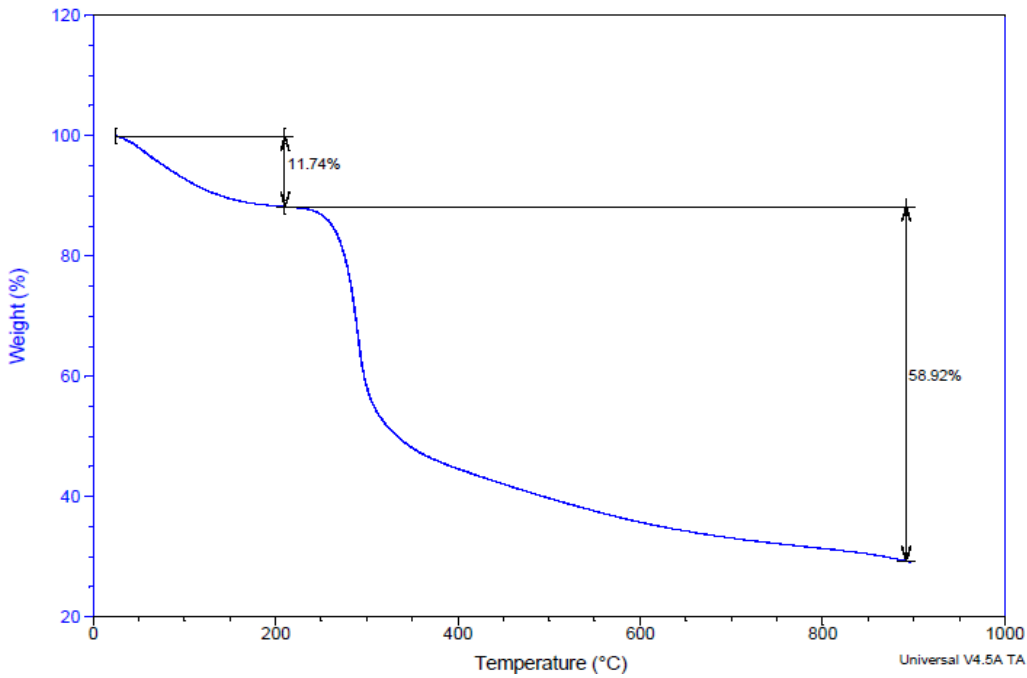
Gupta ve diğerleri (2013) yaptıkları çalışmada, karboksi metil selüloz (CMC) ilavesinin, tek bileşenli sistem şeklinde, PVA ve PEO'nun karışabilirliğinde önemli görünür değişiklikler sağladığını belirtmişlerdir. Karışımdaki uyumluluk, yani faz ayrımı olmaması, CMC konsantrasyonu % 5'ten % 20'ye yükseldiğinde artmıştır. Bu nedenle, CMC ilavesinin iki polimer arasında bazı etkileşime neden olduğu ve çözeltiyi daha fazla karışabilir hale getirdiğini belirtmişlerdir. Polimerler arasındaki bu karışabilirliği, yukarıda belirtilen kitosan ile PVA ve PEO arasındaki etkileşimlere benzer olarak, CMC'nin hidroksil grupları ile PEO'nun eter grupları ve PVA'nın hidroksil grupları arasındaki hidrojen bağlarının oluşumuna bağlı olabileceğini vurgulamışlardır.

### 10.1.6. Termal karakterizasyon

S3(48H50ML) numunesinin ısı etkisi ile oluşan değişimlerini izleyebilmek için kitosan, polietilen oksit, polivinil alkol ve S3(48H50ML) numunesine, termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) testleri uygulanmıştır.

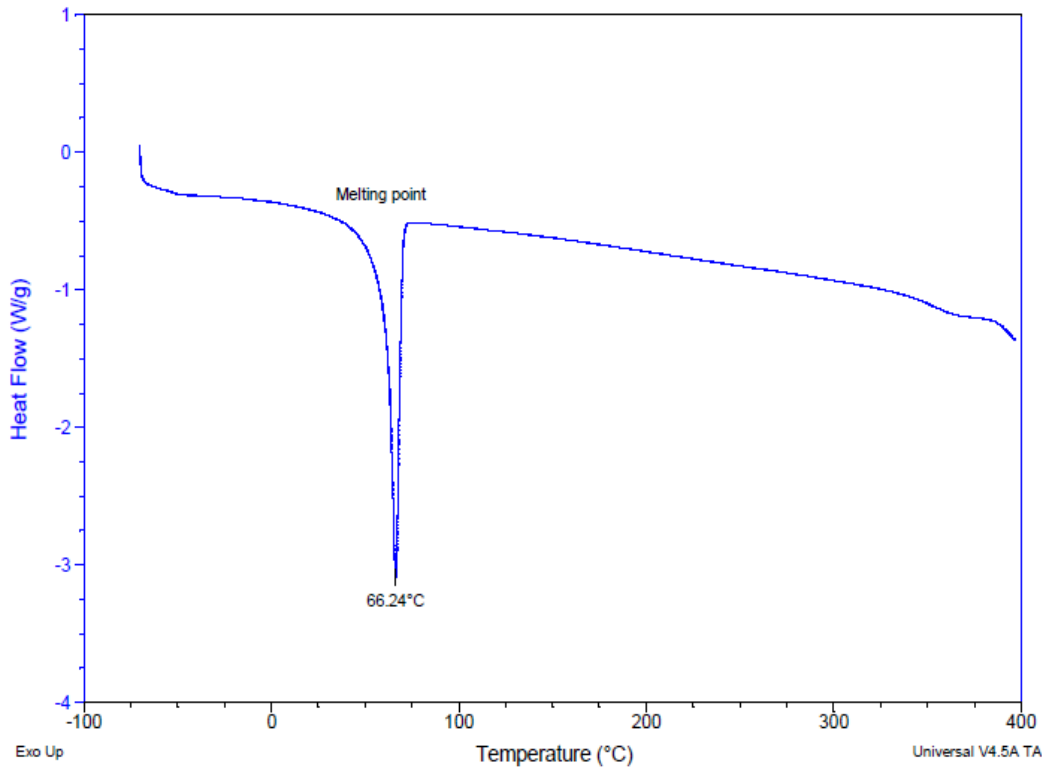


Şekil 10.13. Kitosanın DSC termogramı

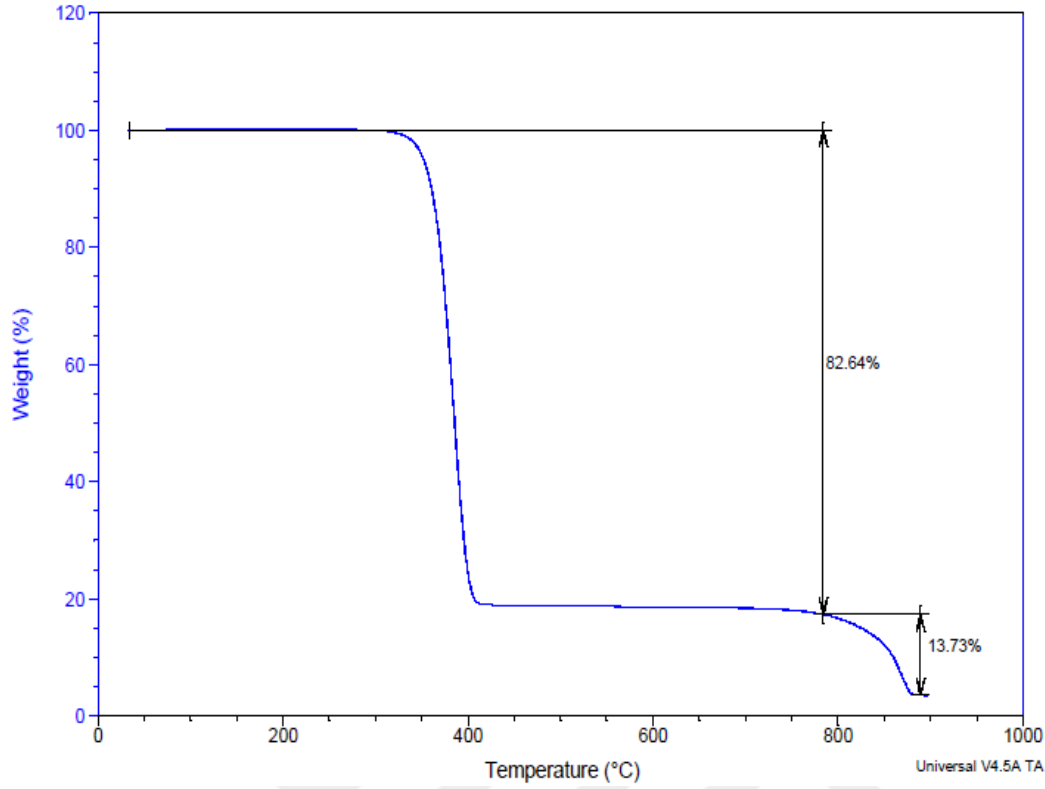


Şekil 10.14. Kitosanın TGA termogramı

Kitosanın TGA eğrisi incelendiğinde, iki basamakta kütle kaybı olduğu görülmektedir. 20-210 °C arasında meydana gelen toplam kütlede % 11,74'lük azalma yapıdaki su ve diğer küçük moleküllerin uzaklaşması olarak değerlendirilebilir. 230 °C'deki ağırlıkta meydana gelen hızlı bir azalma 380 °C'ye kadar devam etmiştir. Kitosanın bozunma sıcaklığı 302,58 °C olarak bulunmuştur. Kütle kaybının kitosanın ana zincirindeki glikosidik bağın bozunması ve ayrılmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Bu durum DSC termogramındaki ekzotermik pik ile de doğrulanmıştır. DSC termogramındaki ekzotermik pik, kütle kaybı ile ısı salınımı olduğunu göstermektedir. 800 °C sonunda ortamda kalan madde miktarı açısından bakıldığında başlangıç miktarına göre % 30 termal kararlılık göstermiştir. Yapıda en son kalan madde miktarı kitosanın oluşumunda yer alan, 1000 °C'ye kadar dayanıklı olan inorganik bileşiklerin (safsızlıkların) varlığından kaynaklanmaktadır [175].

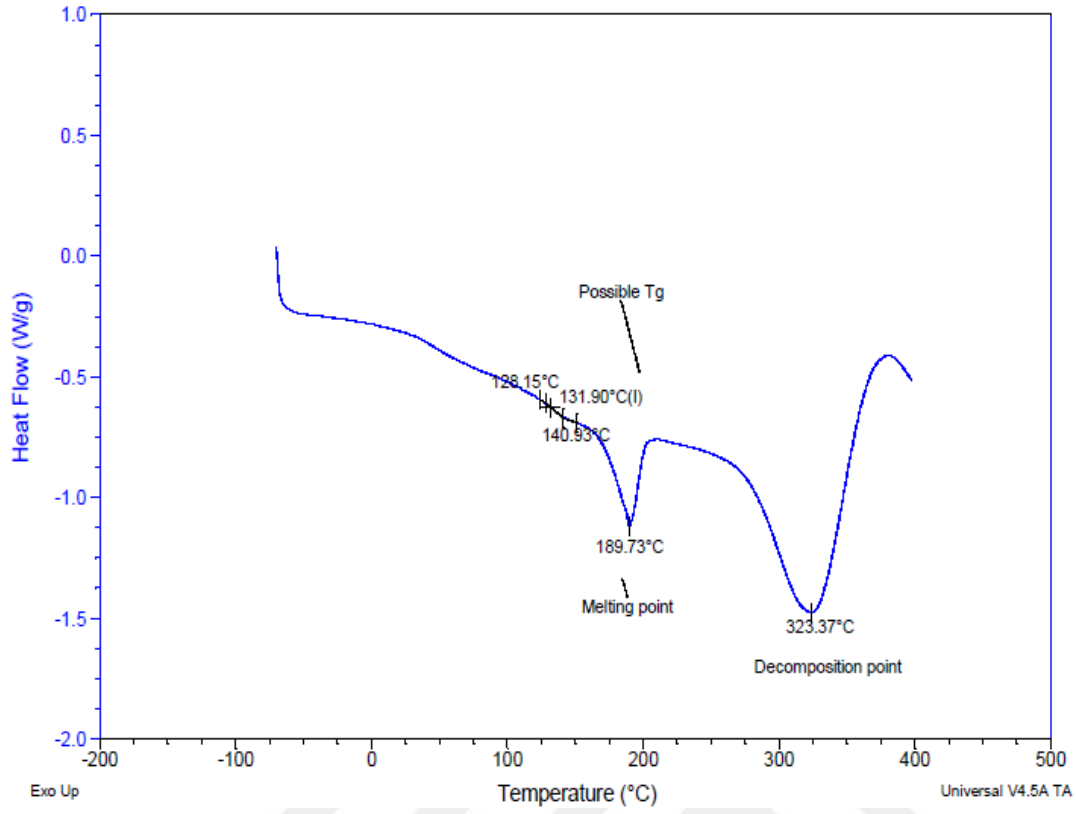


Şekil 10.15. Polietilen oksitin (PEO) DSC termogramı

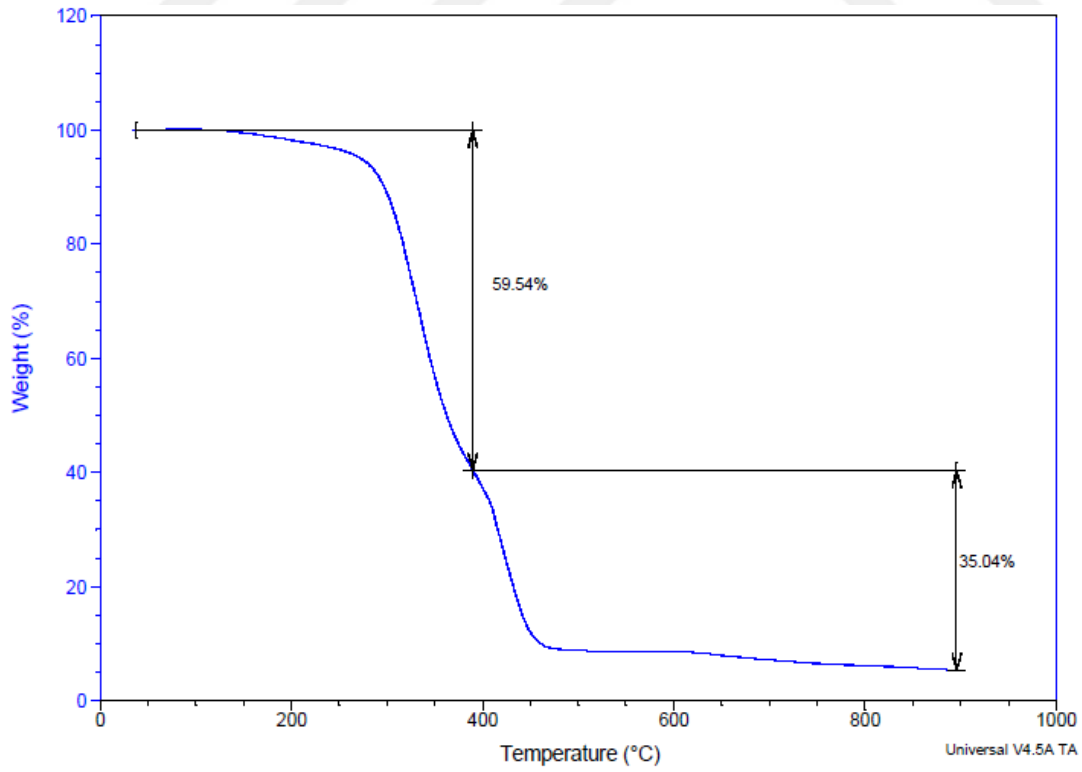


Şekil 10.16. Polietilen oksitin (PEO) TGA termogramı

PEO'in TGA eğrisi incelendiğinde iki basamakta kütle kaybı olduğu görülmektedir. 320-400 °C arasında toplam kütlede % 82,64'lük azalma ve 800-875 °C arasında % 13,73'lük azalma görülmektedir. DSC termogramındaki endotermik pik, ısı alımı olduğunu göstermektedir. PEO'in camsı geçiş sıcaklığı yaklaşık -67 °C, erime sıcaklığı 66,24 °C ve bozunma sıcaklığı 360 °C'dir. 800 °C sonunda ortamda kalan madde miktarı açısından bakıldığında başlangıç miktarına göre % 17,24 termal kararlılık göstermiştir.

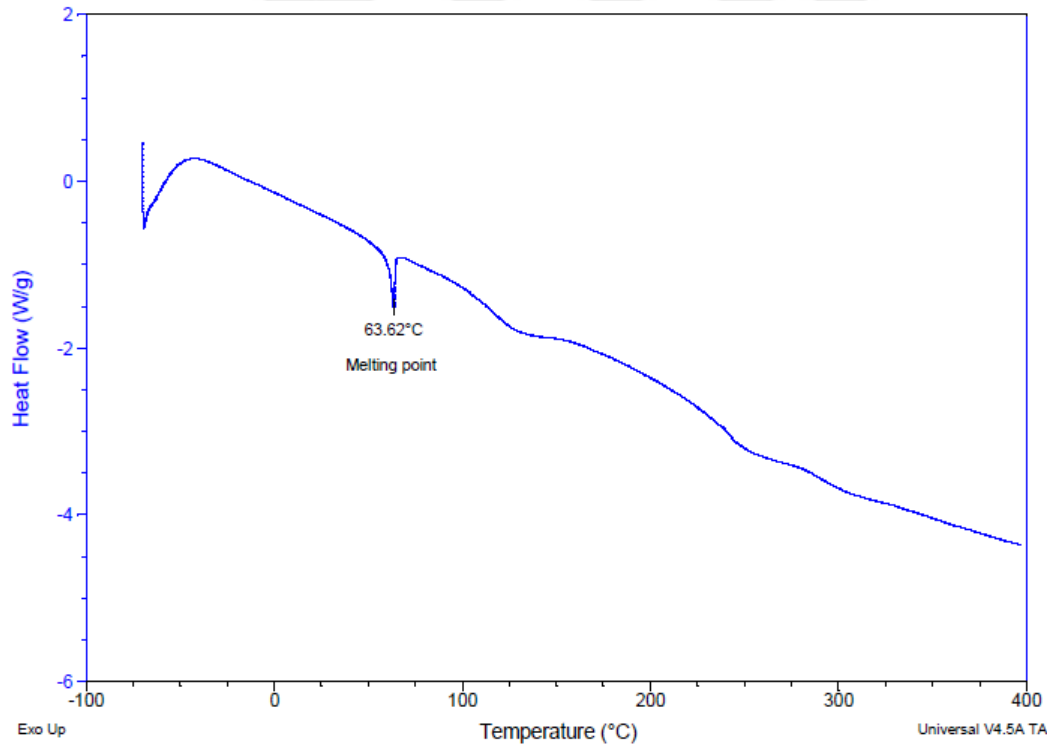


Şekil 10.17. Polivinil alkolün (PVA) DSC termogramı



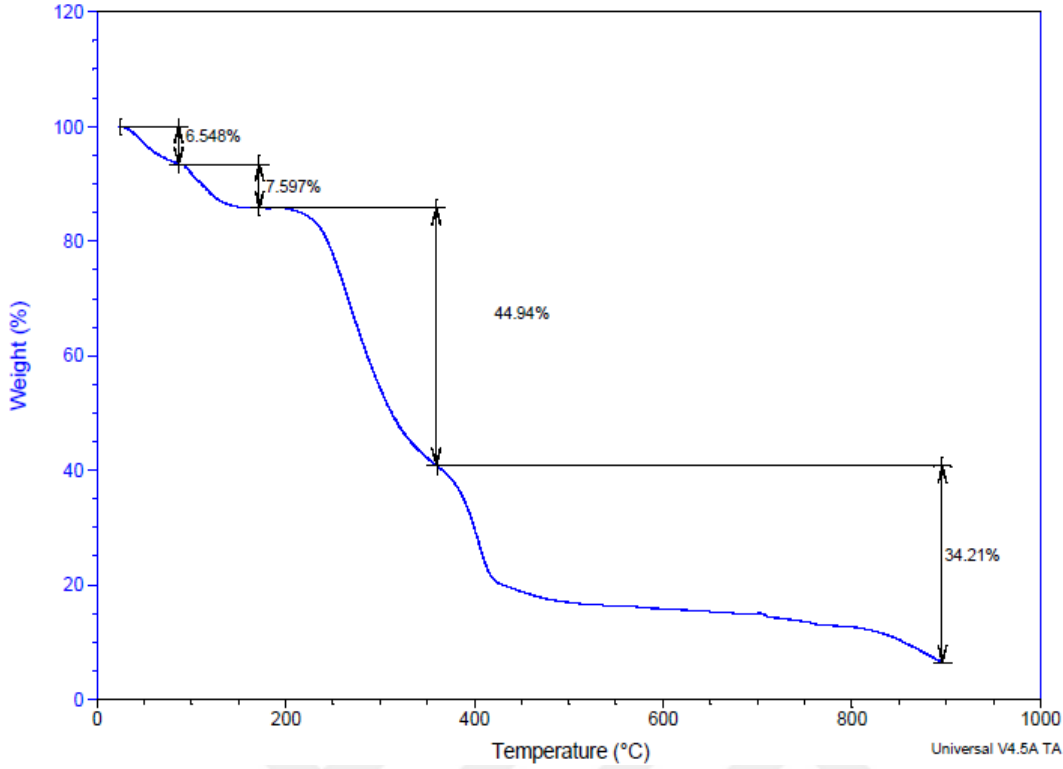
Şekil 10.18. Polivinil alkolün (PVA) TGA termogramı

PVA'nun TGA eğrisi incelendiğinde iki basamakta kütle kaybı olduğu görülmektedir. 200 °C'ye kadar olan sıcaklıklardaki oluşan kütle kaybının, yapısında bulunan suyun buharlaşmasından kaynaklandığı ileri sürülebilir. 125-390 °C arasına tekabül eden toplam kütlede % 59,54'lük azalma yapıdaki su ve diğer küçük moleküllerin uzaklaşması, PVA'da bozunmanın başlaması ve ana yapıdaki dehidrasyon olarak değerlendirilebilir. 390-450 °C arasında meydana gelen % 35,04'lük kütle kaybı ise ana zincirin ayrılması ile yapısal bozunmanın meydana geldiğini göstermektedir. DSC termogramında 189,73 °C'deki endotermik pik, uçucu ürünlerin oluşmasıyla birlikte, literatür ve kalitatif testlerle desteklenerek, polimer zincirinin dehidrasyonu ve polimer erimesiyle ilişkilendirilmiştir. 323,37 °C'deki endotermik pik PVA'nın dehidroksilasyonundan kaynaklanmaktadır. PVA'nun camsı geçiş sıcaklığı 131,90 °C, erime sıcaklığı 189,73 °C ve bozunma sıcaklığı 323,37 °C olarak bulunmuştur. 800 °C sonunda ortamda kalan madde miktarı açısından bakıldığında başlangıç miktarına göre % 14 termal kararlılık göstermiştir [175,258] .



Şekil 10.19. S3(48H50ML) numune grubunun DSC termogramı





Şekil 10.20. S3(48H50ML) numune grubunun TGA termogramı

S3(48H50ML) numune grubunun TGA eğrisi incelendiğinde dört basamakta kütle kaybı olduğu görülmektedir. Termal bozunmanın ilk aşamasında yüzeye adsorplanmış su uzaklaşmaktadır. İkinci aşamada 100-200 °C arasında içsel suyu ve diğer küçük molekülleri kaybetmesinden kaynaklı kütle kaybı görülmüştür. 210-360 °C arasına tekabül eden % 44,94'lük kütle kaybı PVA'nın dehidroksilasyonuna ve kitosanın parçalanmasına bağlı olarak, su, karbondioksit, metan ve amonyak oluşumunu teşvik ederek polisakkarit yapısının pirolitik dehidrasyon ve depolimerizasyonu içeren termal bozulmayı temsil eder [175,259]. Kitosan molekülünün ana zincirindeki glikosidik bağın bozunması ve polisakkarit zincirinin dekarboksilasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. 360-420 °C arasındaki % 34,15'lik kütle kaybı ise yapısal bozunmanın meydana geldiğini göstermektedir. Bu ağırlık kaybı, karışım bileşenlerinin ana zincir C-C- bağlarının termal bozunmasına bağlanmıştır [176]. DSC termogramındaki endotermik pik, ısı alımı ile numunenin erime noktasının 63,62 °C olduğunu göstermektedir. 360 °C'deki ağırlıkta meydana gelen azalma, 900 °C'ye kadar devam etmiştir. 800 °C sonunda ortamda kalan madde miktarı açısından bakıldığında başlangıç miktarına göre % 13 termal kararlılık göstermiştir. S3(48H50ML) numune grubu içeriğinde bulunan kimyasallara göre daha az termal kararlılık göstermiştir.

Çizelge 10.8'de kitosan, PVA, PEO ve S3(48H50ML) numune grubunun camsı geçiş, erime ve bozunma sıcaklıkları verilmiştir. Saf PVA örneği 189,73 °C'de nispeten büyük bir erime endotermi olan pik vermiştir. Öte yandan PEO'nun erime noktasının 66,24 °C olduğu bulunmuştur. Kitosan, çoğu polisakkaritin belirli bir sıcaklığın üzerine ısıtılmasıyla erime değil de bozunmasına bağlı olarak erime geçişini göstermemektedir [176,260]. Karışımın erime sıcaklığı 63,62 °C bulunmuştur. Erime sıcaklığının düşük olması, polimerlerin fonksiyonel grupları arasındaki etkileşimlere bağlı olarak polimerlerin kristalleşme sürecini engellediğini gösterir [176].

Çizelge 10.8. Kitosan, PVA, PEO ve S3(48H50ML) numune grubunun camsı geçiş, erime ve bozunma sıcaklıkları

Numune	Camsı geçiş sıcaklığı, °C	Erime sıcaklığı, °C	Bozunma sıcaklığı, °C
Kitosan	-	-	302,58
PVA	131,90	189,73	323,37
PEO	- 67,00	66,24	360,00
S3(48H50ML)	-	63,62	-

Djokic ve diğerleri (2012) yaptıkları çalışmada, kitosan/PEO karışımlarından film oluşturmuşlardır. Kitosan/PEO oranı 90/10'dan 0/100'e kadar arttırıldığında, kristalinite derecesinde artış ve amorf faz miktarında azalma göstermiştir. PEO içeriğindeki ilerleyici artış, polimer karışımında kristalin PEO'in yüksek miktarının bir yansıması olan,  $T_m$  ve  $\Delta H_m$ 'nin değerlerinde artış göstermiştir. Erime sıcaklığı, erime entalpisi ve kristalinite değerleri 80/20 kitosan/PEO oranında sırasıyla 61,99 °C, 30,97 Jg<sup>-1</sup> ve % 43 iken, bu değerler 0/10 kitosan/PEO oranında 66,82 °C, 168,70 Jg<sup>-1</sup> ve % 79 değerlerine yükselmiştir. PEO içeriğindeki artışla kristalinite derecesi, erime entalpisi ve erime sıcaklığında artış görülmüştür. Bu bulgular, molekül içi zincir oluşumu ve polimer zincirleri arasındaki birincil hidrojen bağ oluşumuna bağlı olarak, kitosan ve PEO arasında uyumluluk olduğuna işaret etmektedir.

El-hefian ve diğerleri (2011) yaptıkları çalışmada ise 90/10'dan 50/50'ye kadar oranlarda kitosan/PVA filmlerinin erime sıcaklığını sırasıyla 214,9 °C ve 217,3 °C bulmuşlardır. Bu durum, karışımlardaki artan kitosan içeriğiyle düşük sıcaklığa endotermik erime geçişinde kaymanın olduğunu göstermektedir. CS/PVA karışımlarındaki erime geçişlerinin, iki polimer arasındaki etkileşimlere bağlı olduğu belirtilmiştir.

## 10.2. Toz Numunelere Uygulanan Testler

### 10.2.1. Geçirgenlik, hemostatik etkinlik testi ve su absorplama oranı testi

Bölüm 9.2.3'te anlatılan yöntemle hazırlanan toz numune grupları, Bölüm 9.3'te anlatıldığı gibi geçirgenlik ve hemostatik etkinlik testine tabi tutulmuştur. Toz numunelere su absorpsiyon oranı testi uygulanmıştır. Ağırlığı bilinen her bir numune, ağırlığı bilinen petri kaplarına konulmuştur. Üzerine belirli aralıklarla fosfat tampon tuz çözeltisi uygulanmıştır ve çözelti, toz tarafından absorplandıktan sonra tartım yapılmıştır. Toz doygunluğa ulaşmaya kadar fosfat tampon tuz çözeltisi uygulanmaya devam edilmiştir. Doymuşluğa ulaşan numunenin ağırlığı alınarak su absorpsiyon oranı değeri bulunmuştur.

Testler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir ve her numune grubu için geçirgenlik, hemostatik etkinlik ve su absorpsiyon oranı değerleri hesaplanmıştır. Çizelge 10.9'de hazırlanan toz numuneler ve yüzde bileşimleri verilmiştir. Çizelge 10.10'da toz numunelerin geçirgenlik, hemostatik etkinlik ve su absorpsiyon oranı değerleri verilmiştir.

Çizelge 10.9. Hazırlanan toz numune grupları ve yüzde bileşimleri

Numune grupları	Kullanılan Maddeler (Kütlece, %)									
	Ultra saf su	Kitosan	PVA	Asetik Asit	PEO	Sodyum Polifosfat	Kalsiyum Fosfat	Hidroksietil Selüloz	M. Propilen Glikol	Sodyum Metabisülfid
T1	87,75	9,51	-	1,70	0,16	-	-	0,05	0,80	0,03
T2	90,21	6,34	-	1,52	0,16	-	-	0,11	1,60	0,06
T3	95,62	0,51	0,34	0,87	0,24	2,42	-	-	-	-
T4	92,83	2,39	0,34	0,60	0,24	3,60	-	-	-	-
T5	93,92	0,90	0,61	1,43	1,45	-	1,69	-	-	-
T6	92,49	0,93	0,65	1,30	1,85	-	2,78	-	-	-
T7	94,58	0,60	0,40	0,90	0,30	3,22	-	-	-	-
T8	87,58	10,02	0,10	2,00	0,30	-	-	-	-	-
T9	86,85	10,33	0,30	2,10	0,42	-	-	-	-	-
T10	83,40	5,21	1,52	1,37	0,50	8,00	-	-	-	-
T11	88,11	2,40	0,35	0,63	0,50	8,01	-	-	-	-

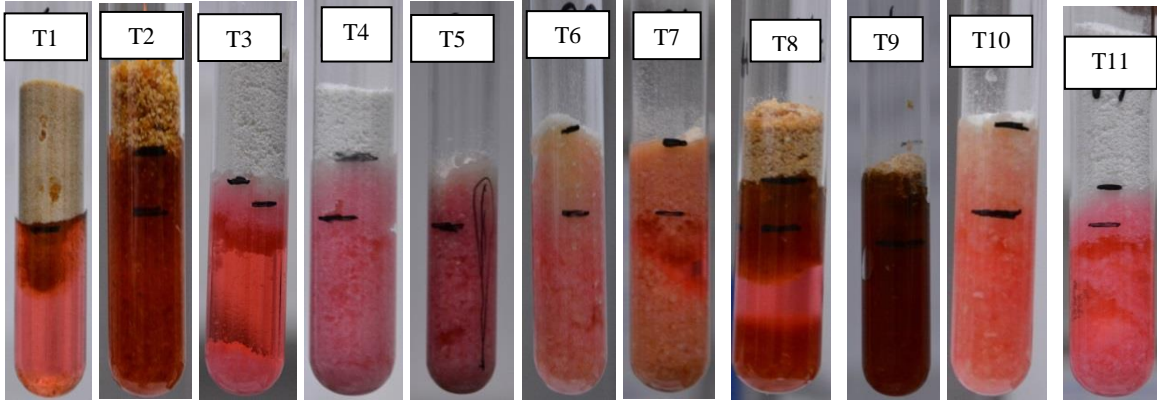
Çizelge 10.10. Toz numunelerin geçirgenlik, hemostatik etkinlik ve su absorpsiyon oranı değerleri

Numune Grupları	Geçirgenlik Testi (cm)	Hemostatik Etkinlik (ml)	Su Absorpsiyon Oranı, %S
T1	1,40±0,05	0,75±0,01	928,01±37,51
T2	4,00±0,90	0,75±0,03	495,95±28,30
T3	1,20±0,02	1,00±0,01	140,99±11,85
T4	4,00±0,86	0,80±0,04	205,78±22,54
T5	4,00±0,81	>1,00±0,03	139,53±13,89
T6	4,50±0,93	>1,00±0,04	151,17±21,02
T7	4,20±0,29	1,00±0,01	151,47±15,77
T8	1,50±0,04	0,30±0,01	988,25±26,32
T9	1,80±0,01	0,30±0,01	950,37±35,12
T10	3,50±0,08	0,50±0,02	1018,50±48,07
T11	2,00±0,06	0,50±0,04	1176,48±51,05



Resim 10.12. Numunelere uygulanan hemostatik etkinlik testinin görünüşü

Toz numunelere uygulanan hemostatik etkinlik testinin görünüşü Resim 10.12’de verilmiştir. Yapılan ilk çalışmalarda bentonit çözeltisinin topaklanması için kullanılan süzüntü miktarı bazı numunelerde  $1\text{ml} \leq$  bulunurken, ürün geliştirme çalışmaları sonucunda 0,5 ml ve 0,3 ml değerlerine düşürülmüştür. T3, T5, T6 ve T7 numunelerinde kullanılan süzüntü miktarları 1 ml ve daha fazla olduğu için etkili birer hemostat değildir. Diğer toz numunelerde kullanılan süzüntü miktarları 1 ml’den daha az olduğu için etkili birer hemostat malzemelerdir. T8 ve T9 numunelerinde 0,3 ml ile en düşük süzüntü miktarı kullanılmıştır. Dolayısıyla bu numunelerin hemostatik etkinliğinin daha fazla olduğu düşünülmüştür. Bu numuneleri 0,5 ml süzüntü miktarı ile T10 ve T11 numuneleri takip etmiştir.



Resim 10.13. Numunelerin geçirgenlik testi sonrası görünüşleri

Toz numunelere uygulanan geçirgenlik testinin görünüşü Resim 10.13'te verilmiştir. Toz numunelere uygulanan geçirgenlik testi sonucunda bütün toz numunelerde 1 dakika sonra toz içine yayılan suyun mesafesi 0,5 cm'den daha fazla olduğu için etkili birer hemostat oldukları belirlenmiştir. Elde edilen en yüksek geçirgenlik değeri 4,5 cm'dir. Literatürde Hardy ve diğerleri (2009) yaptıkları çalışmada, geçirgenlik değerini en fazla 3,5 cm, hemostatik etkinlik değerini de en düşük 0,15 ml olarak elde etmişlerdir.

Hemostatik etkinlik testinde az sıvı kullanılması, yaradan kan akışını en aza indirdiğini, geçirgenlik testinde daha fazla boya absorblanması ise, pratikte daha stabil ve dayanıklı pıhtı sağlayacağını göstermektedir [213].

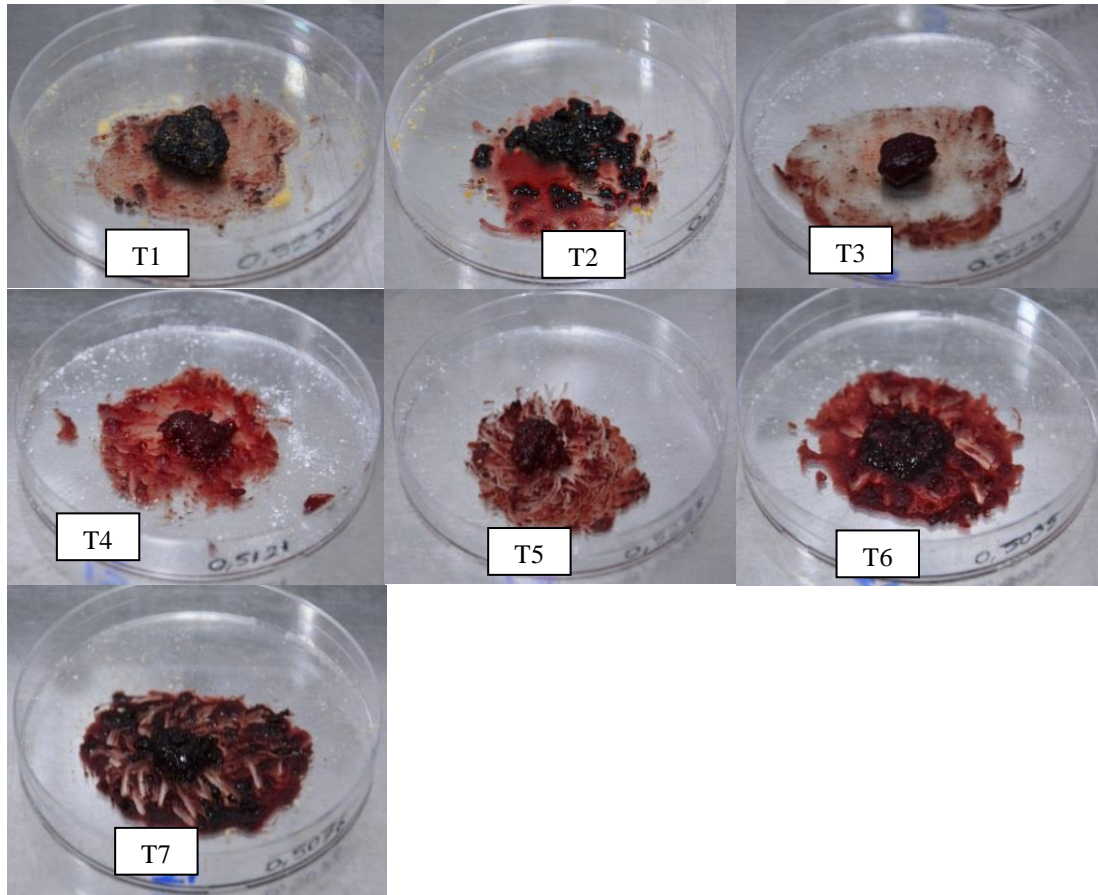
Su absorpsiyon oranı testi sonucunda, kütlece % 2,40 kitosan, % 0,35 PVA, % 0,50 PEO ve % 8,01 sodyum polifosfat içeren T11 numunesi, % 1176,48 değeri ile en yüksek su absorpsiyon oranı değerini vermiştir. Kitosan ve PEO miktarı arttıkça su absorplama oranı değerinin arttığı görülmüştür.

### 10.2.2. Kan absorpsiyon testi

Toz numunelere Bölüm 9.3.5'te anlatılan şekilde kan absorpsiyon testi uygulanmıştır. İlk yedi toz numuneye gerçekleştirilen testlerden sonra numunelerin görünüşleri Resim 10.14'te verilmiştir. Kan absorpsiyon testinde 0,5 g ağırlığında toz numuneler kullanılmıştır. Numunelerin üzerine 1 ml kan ilave edilerek kan absorpsiyon davranışları kontrol edilmiştir. Toz numuneler kan ile ıslatıldığı zaman bütün numunelerin kanı belli bir süre sonra absorpladığı görülmüştür. Test sırasında kan absorplama davranışı açısından T1

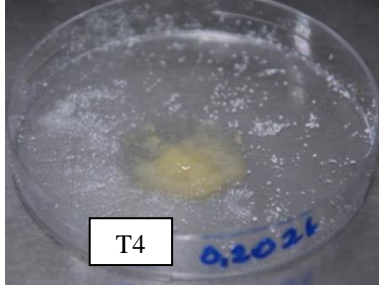
ve T2 numaralı numunelerin absorplamasının daha iyi olduğu görülmüştür. Sodyum polifosfat içeren T3 ve T4 numaralı numunelere işlem uygulanırken absorplama davranışının yanında fibrin ağları olduğu düşünülen ipliksi lifler (ağ yapılar) görülmüştür. Polifosfat canlı organizmalar içinde yaygın olarak bulunmaktadır. Hemostaz, tromboz ve inflamasyonda kan pıhtılaşma sisteminin güçlü bir düzenleyicisidir. Plazma pıhtılaşma sisteminde prokoagülant (pıhtı oluşumunu başlatan madde) özellik gösterir [262-267]. T3 ve T4 numaralı numunelerde görülen liflerin sodyum polifosfatın etkisinden kaynaklı olduğu düşünülmüştür.

Resim 10.15'te T4 numaralı numunenin plazma ile etkileşimi sonrası görünüşü verilmiştir. T4 numunesi plazma ile etkileştirildiğinde, numunenin plazmayı absorpladığı ve pıhtılaşma oluştuğu gözlenmiştir.

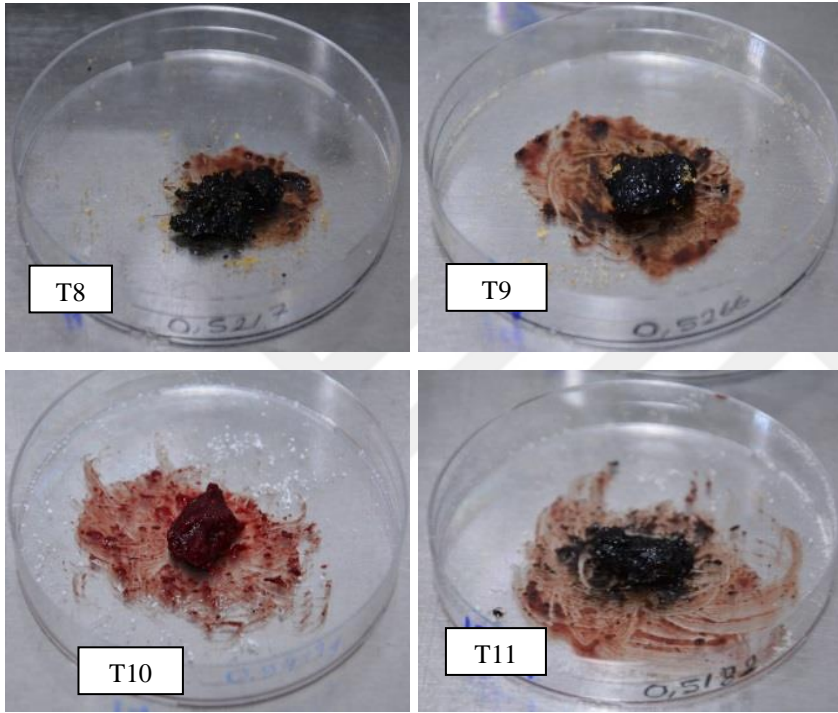


Resim 10.14. Toz tumunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü





Resim 10.15. T4 numunesinin plazma ile etkileşimi sonrası görünüşü

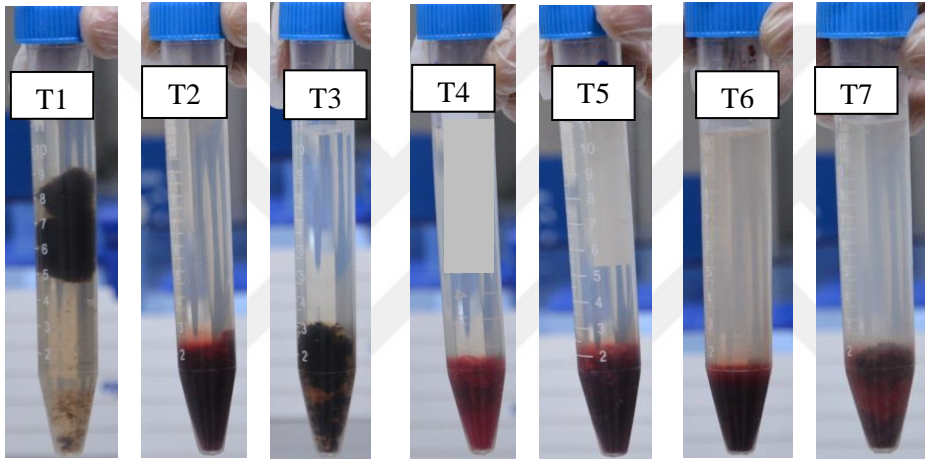


Resim 10.16. T8, T9, T10 ve T11 numaralı toz tumunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü

Resim 10.16'da T8, T9, T10 ve T11 numaralı numunelerin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşleri verilmiştir. T8, T9, T10 ve T11 numaralı numuneler kan ile ıslatıldığı zaman bütün numunelerin kanı belli bir süre sonra absorpladığı görülmüştür. Test sırasında kütlece % 10,33 kitosan, % 0,30 PVA ve % 0,42 PEO içeren T9 numunesi ve kütlece % 5,21 kitosan, % 1,52 PVA, % 0,50 PEO ve % 8,00 sodyum polifosfat içeren T10 numunesinin absorplama davranışının diğer numunelere göre daha iyi olduğu görülmüştür. T9 ve T10 numuneleri karşılaştırıldığında ise T9 numunesinin kan absorplama davranışının, T10 numunesinden daha iyi olduğu belirlenmiştir. Toz numunelerde kitosan ve PEO arttıkça kan absorpsiyonunun arttığı, daha çabuk pıhtılaşma oluştuğu görülmüştür.

Bölüm 10.2.6’da belirtilen parçacık boyut dağılımı testi sonucunda, T1 numune grubunun ortalama parçacık boyutu 186,02  $\mu\text{m}$ , T9 numune grubunun ortalama parçacık boyutu 107,46  $\mu\text{m}$  ve T10 numune grubunun ortalama parçacık boyutu ise 130,38  $\mu\text{m}$  bulunmuştur. Parçacık boyutu küçüldükçe kan absorpsiyonunun arttığı ve pıhtılaşmanın daha çabuk olduğu görülmüştür.

Numunelerin kan absorpsiyon testi sonrası, hemoglobin salıverme görüntüsü Resim 10.17’de verilmiştir. Test sonucunda bütün numunelerin hemoglobin salınımı yaptığı, en düşük hemoglobin salınımını T1 ve T2 numaralı numunelerin verdiği görülmüştür.



Resim 10.17. Numunelerin kan ile etkileşimi sonrası hemoglobin salıverme görüntüsü

### 10.2.3. Kan ile etkileşim testleri

#### APTT, PT, FIB ve TT testleri

Toz numunelere Bölüm 9.3.6’da anlatıldığı şekilde APTT, PT, FIB ve TT testleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, yine aynı şekilde testlere tabi tutulan gazlı bezin test sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Toz numunelere uygulanan APTT, PT, FIB ve TT testlerinin sonuçları Çizelge 10.11 ve Şekil 10.21’de verilmiştir. Negatif kontrol ile karşılaştırıldığında, tüm toz numunelerin APTT, PT ve TT değerlerinin, negatif kontrolden daha düşük olduğu, FIB değerlerinin ise negatif kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Tüm toz numunelerin kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandığı belirlenmiştir.



Toz numuneler içerisinde en düşük APTT, PT, TT değerlerini ve en yüksek FIB değerlerini, kütlece % 10,33 kitosan, % 0,30 PVA ve % 0,42 PEO içeren T9 numunesi ve kütlece % 5,21 kitosan, % 1,52 PVA, % 0,50 PEO ve % 8,00 sodyum polifosfat içeren T10 numunesi vermiştir.

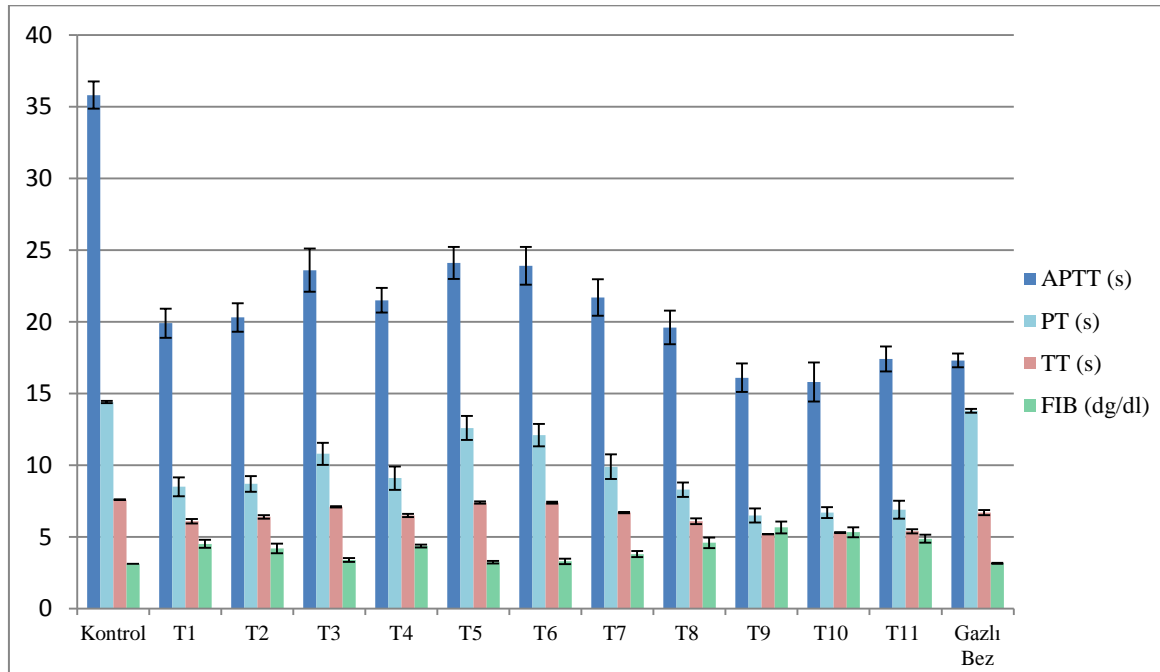
Elde edilen sonuçlardan görüldüğü üzere, kontrol edilen toz numunelerin kanamayı durdurucu etkinliği pıhtılaşma kaskadından bağımsız değildir. Numuneler ekstrensik, intrensik ve ortak yolu etkileyerek, pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırmıştır. Kitosan, kandaki su moleküllerini absorbe ederek, pıhtılaşma faktörlerini konsantre eder, moleküler elek gibi davranır, yapı iskelesi kurar ve böylece pıhtılaşma aktivasyonu sağlar [12,18,26,31,45,94,157]. Numunelerin su absorpsiyon oranı değerlerinin yüksek olması nedeniyle, su moleküllerini absorbe edip, pıhtılaşma faktörlerini konsantre ederek pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdıkları düşünülmektedir.

T9 ve T10 numaralı numunelerden elde edilen sonuçlar gazlı bez ile karşılaştırıldığında, T9 ve T10 numaralı numunelerin APTT, PT ve TT değerlerinin, gazlı bezin değerlerinden düşük, FIB değerlerinin ise gazlı bezin değerinden yüksek olduğu belirlenmiştir. T9 ve T10 numaralı numuneler gazlı beze göre kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırmada daha etkilidir.

Çizelge 10.11. Toz numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri

Numune Grupları	APTT (s)	PT (s)	FIB (dg/dl)	TT (s)
Kontrol	35,80±0,95	14,40±0,08	3,13±0,01	7,60±0,01
T1	19,90±1,02	8,50±0,66	4,52±0,28	6,10±0,15
T2	20,30±0,99	8,70±0,54	4,20±0,33	6,40±0,12
T3	23,60±1,50	10,80±0,77	3,40±0,14	7,10±0,05
T4	21,50±0,86	9,10±0,81	4,37±0,11	6,50±0,11
T5	24,10±1,11	12,60±0,83	3,25±0,09	7,40±0,08
T6	23,90±1,32	12,10±0,79	3,30±0,19	7,40±0,07
T7	21,70±1,27	9,90±0,85	3,81±0,21	6,70±0,04
T8	19,60±1,17	8,30±0,50	4,60±0,37	6,10±0,20
T9	16,10±0,99	6,50±0,49	5,67±0,41	5,20±0,01
T10	15,80±1,36	6,70±0,38	5,33±0,35	5,30±0,03
T11	17,40±0,87	6,90±0,63	4,88±0,28	5,40±0,15
Gazlı Bez	17,30±0,48	13,80±0,13	3,16±0,04	6,70±0,17

APTT, PT, FIB ve TT testlerinden elde edilen sonuçlar, kan absorpsiyon, hemostatik etkinlik, geçirgenlik ve su absorpsiyon oranı testlerinden elde edilen sonuçları desteklemektedir. Kanı hızlı bir şekilde absorplamaları, APTT, PT ve TT değerlerinin düşük olması, FIB değerlerinin yüksek olması ve diğer testlerden elde edilen veriler doğrultusunda toz numuneler içerisinde hemolitik etkilerinin en yüksek olduğu düşünülen, T9 ve T10 numunelerine hemoliz ve trombosit agregasyonu testleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 10.21. Toz numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri

### Hemoliz testi

T9 ve T10 numunelerine Bölüm 9.3.6'da anlatılan yöntemle hemoliz testi gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometrik ölçümler sonucunda 15 dk'lık inkübasyonun ardından T9 numunesi için hemoliz oranı % 110,58±0,02 olarak hesaplanmıştır. T10 numunesi kanı tamamiyle absorbe ettiği için hemoliz oranı hesaplanamamıştır. Elde edilen test sonuçlarında T9 numunesinin hemolitik olduğu belirlenmiştir. Hemoliz değeri (absorbansı) yüksek olduğu için hemostatik etkinliği yüksektir.

Kitosanın hemostatik özelliğinin, eritrositlerin negatif yüklü hücre membranlarıyla olan elektrostatik etkileşiminin sonucu eritrosit kümeleşirmesine neden olması ve yaralanma yerinde hemostatik tıkaç oluşturması şeklinde olduğu düşünülmektedir [204].

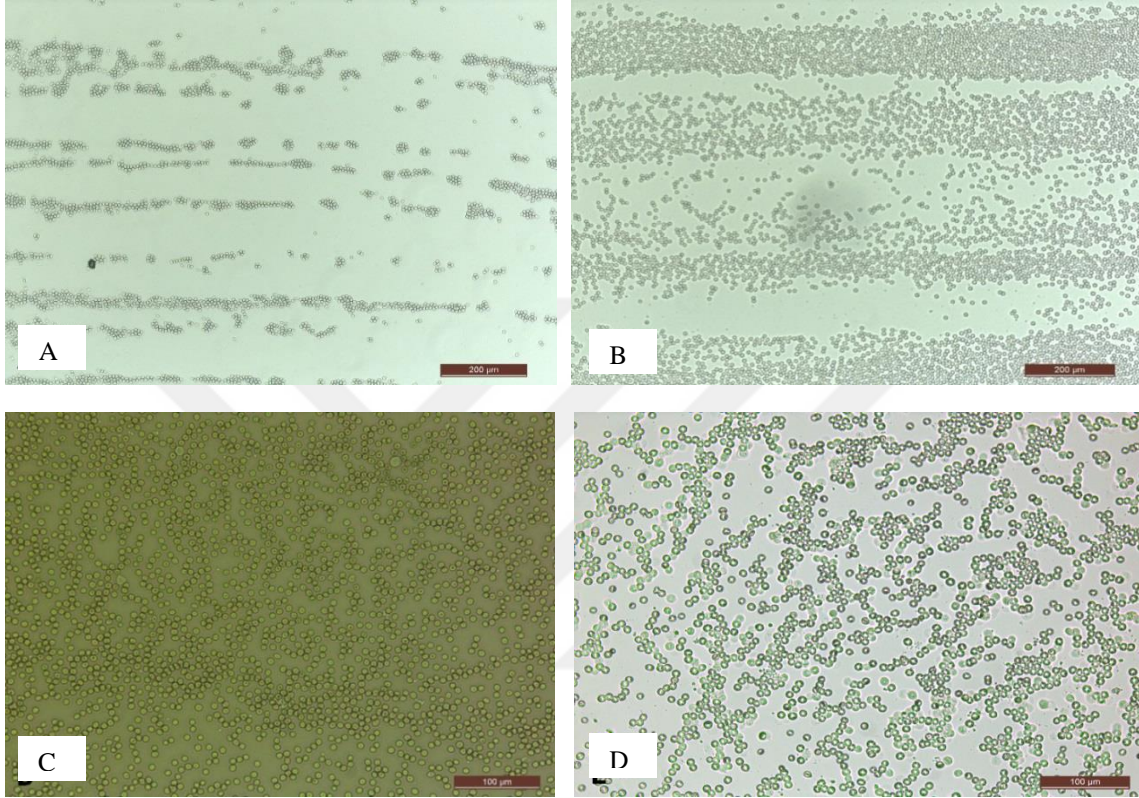
Bu çalışmada, kitosanın eritrosit agregasyonuna ve deformasyonuna neden olduğu açıkça görülmektedir. Eritrositler yani kırmızı kan hücreleri (RBC'ler) kan pıhtılarının önemli bir bileşeni olarak hemostaz yoluna katılırlar. RBC kümelenmesi doğrudan kan pıhtılaşması ile bağlantılı olduğu ve RBC kümelenmesindeki belirgin bir artışın trombozu teşvik ettiği bildirilmiştir. Kitosan, RBC toplanması üzerinde artırıcı bir etki göstermiştir. Eritrosit yüzeyi, negatif yüklü nöraminik asit kalıntıları yüzünden negatif elektrokinetik potansiyele sahip iken kitosan üzerindeki deasetilasyonlu tekrar ünitesindeki protonlanmış amin grupları kitosanın pozitif yüküne katkıda bulunur. Elektrostatik etkileşim sayesinde, kitosan yüzeyi üzerine eritrositleri agrega edebilir ve hareketsiz bırakabilir. Nötralize edilmiş eritrositler yük dağılımlarını değiştirirler ve bu nedenle pıhtılaşma sürecini hızlandıran geri dönüşü olmayan deformasyona neden olurlar. Kitosan, kan pıhtılaşmasını hızlandırmak için kompleman sistemi, fibrin ve kan içindeki diğer bileşenlerle etkileşime girebilir ve kitosanın fiziko kimyasal özellikleri farklı bileşenlere farklı şekilde etki gösterebilir [237-241]. T9 numune grubunun hemoliz oranının yüksek çıkması, eritrosit hücre membranları ile etkileşime girdiğini ve eritrosit yıkımına neden olarak pıhtılaşmayı hızlandırdığını göstermektedir.

#### Agregasyon testi

T9 ve T10 numunelerine Bölüm 9.3.6'da anlatılan yöntemle agregasyon testi uygulanmıştır. Resim 10.18'de negatif kontrol, pozitif kontrol, T9 ve T10 numunelerinin agregasyon testi sonucunda alınan mikroskopik görüntüleri yer almaktadır. Yapılan mikroskopik incelemelere göre T9 ve T10 numunelerinin trombosit agregasyonuna neden olduğu gözlenmiştir.

Vücudun kanamayı durdurmak için gerçekleştirdiği mekanizmalardan biri, trombositlerin yaralı damar bölgesinde biraraya toplanarak bir tıkaç oluşturmalarıdır. Damarın herhangi bir noktasındaki yırtılma sonucunda, damar duvarı ya da damar dışı dokuların etkisiyle, trombositler kümeleşme yapar ve kan akımını engellemeden zedelene bölgedeki deliği tıkarlar [31,33,41,51,54-56]. T9 ve T10 numunelerinin trombosit kümeleşmesini sağlamaları, numunelerin kanamayı durdurma mekanizmalarından olan, trombosit tıkaçı oluşturmaya katkılarının olduğunu göstermiştir.

T9 numunesine gerçekleştirilen testler sonucunda numunenin, hızlı bir şekilde kan absorpsiyonu gerçekleştirdiği, kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığı, eritrositlerle etkileşime girerek, eritrosit yıkımına neden olduğu ve pıhtılaşmayı hızlandırdığı, trombosit kümeleşmesi sağlayarak trombosit tıkaçı oluşturmaya katkı sağladığı belirlenmiştir.



Resim 10.18. A) T9 uygulanan kan örneği, B) T10 uygulanan kan örneği, C) negatif kontrol ve D) Pozitif kontrol agregasyon testi mikroskopik görüntüleri

#### 10.2.4. Antibakteriyel etkinlik testi

T9 numunesine, Bölüm 9.3.7’de belirtilen şekilde antibakteriyel etkinlik testi gerçekleştirilmiştir. T9 numunesinin antibakteriyel etkinliği, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538 (Gram (+))) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922 (Gram (-))) mikroorganizmalarına karşı test edilmiştir. Çizelge 10.12’de her bir mikroorganizmaya karşı, işlem görmemiş (kontrol) numune ve işlem görmüş test numunesinin temas süresi sonundaki bakteri sayıları verilmiştir. Eş. 9.7’ye göre T9 numunesinin antibakteriyel etkinlik değerleri hesaplanmıştır.

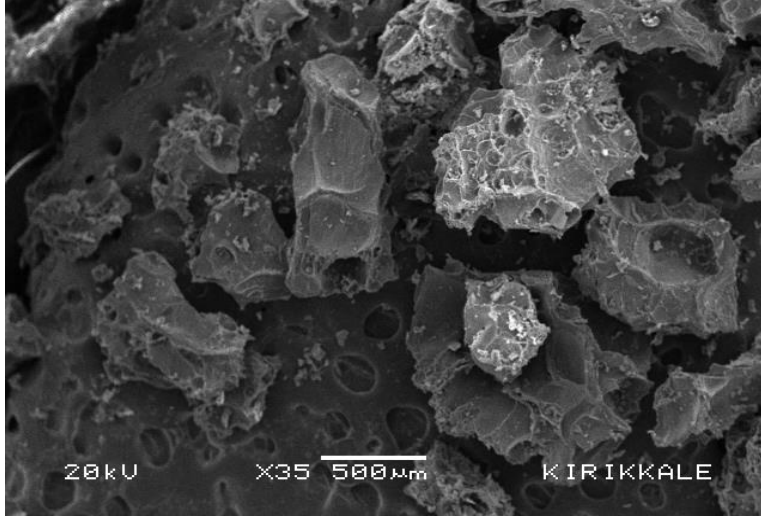
Elde edilen test sonuçlarına göre T9 numunesi, *Staphylococcus Aureus*'a (ATCC 6538 (Gram (+))) karşı % 98,8 etkili, *Escherichia Coli*'ye (ATCC 25922 (Gram (-))) karşı % 91,1 etkili çıkmıştır.

Çizelge 10.12. T9 numunesinin antibakteriyel etkinlik testi sonuçları

Mikroorganizma	Sonuçlar	
	İşlem Görmemiş (Kontrol) Numune Temas süresi sonundaki bakteri sayısı	İşlem Görmüş Test Numunesi Temas süresi sonundaki bakteri sayısı
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538(Gram(+)))	1,5x10 <sup>5</sup> kob/ml 5,18 log	1,7x10 <sup>3</sup> kob/ml 3,24 log
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922 (Gram (-)))	7,2x10 <sup>3</sup> kob/ml 3,86 log	6,4x10 <sup>2</sup> kob/ml 2,81 log

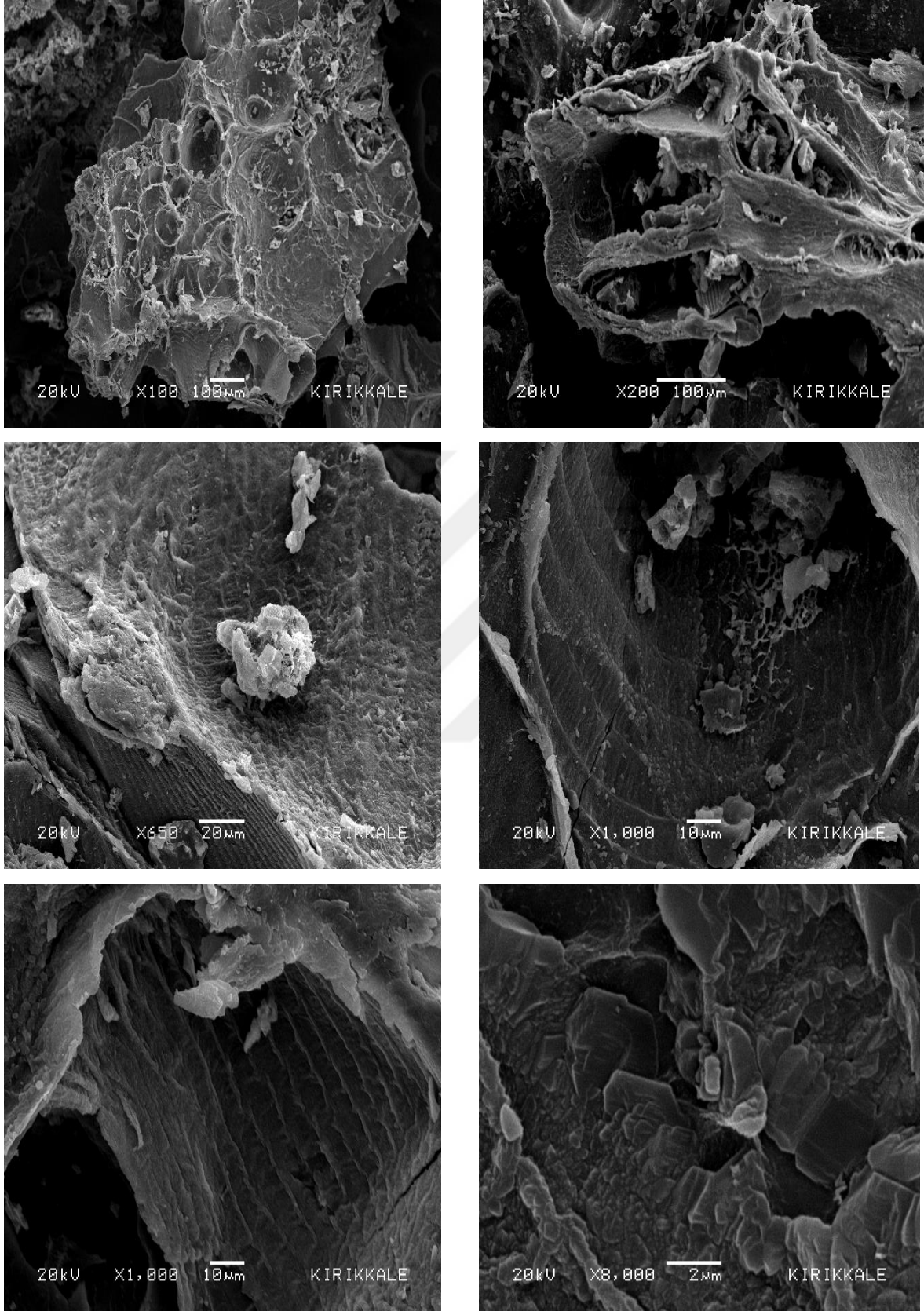
### 10.2.5. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Bölüm 9.2.3'te anlatılan yöntemle hazırlanan T9 numunesinden alınarak Bölüm 9.3.8'de anlatılan şekilde yüzey karakterizasyonuna tabi tutulmuştur. İncelemeler sonucunda T9 numunesinin gözenekliliği, gözenek yapısı ve yüzey özellikleri hakkında bilgi edinilmiştir. Resim 10.19 ve Resim 10.20'de T9 numunesinin SEM mikrografları verilmiştir.



Resim 10.19. T9 numune grubunun X35 büyütmede SEM mikrografi

T9 numunesinin SEM mikrografları incelendiği zaman, toz parçacıklarının küresel olmadığı, pürüzlü yüzeye sahip oldukları, öğütmeden kaynaklı birçok farklı boyutta parçacık içerdiği görülmüştür. Numunede tabakalı yapıda bağlanma gerçekleştiği görülmüştür.



Resim 10.20. T9 numune grubunun X100, X200, X650, X1000 ve X8000 büyütmede SEM mikrografi



### 10.2.6. Parçacık boyut dağılımı

Üç ayrı toz numuneye, Anka Analitik Mekatronik San. ve Tic. Ltd. Şti.'nde, Cilas PSA1190LD (PSA No. 3916) cihazı kullanılarak 0,04  $\mu\text{m}$ -2500,00  $\mu\text{m}$  aralığında parçacık boyut dağılımı testi yapılmıştır. Analizler, Size Expert software kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir numuneye üç ayrı ölçüm yapılmıştır ve sonuçların ortalaması alınmıştır. EK-1'de numunelere gerçekleştirilen ölçümlerin sonuçları verilmiştir.

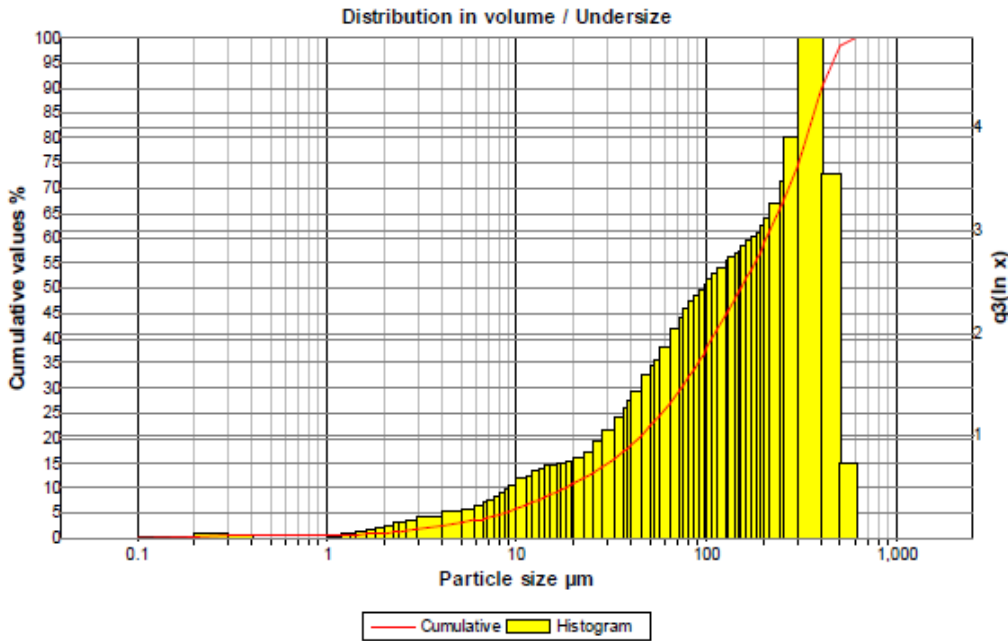
T1 numune grubuna uygulanan test sonucunda:

d(% 10): 17,47  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq$  17,47  $\mu\text{m}$ )

d(% 50): 150,35  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq$  150,35  $\mu\text{m}$ )

d(% 90): 400,23  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq$  400,23  $\mu\text{m}$ )

D[4,3]: 186,018  $\mu\text{m}$  (numunenin ortalama partikül boyutu)



Şekil 10.22. T1 numune grubunun parçacık boyut dağılımı

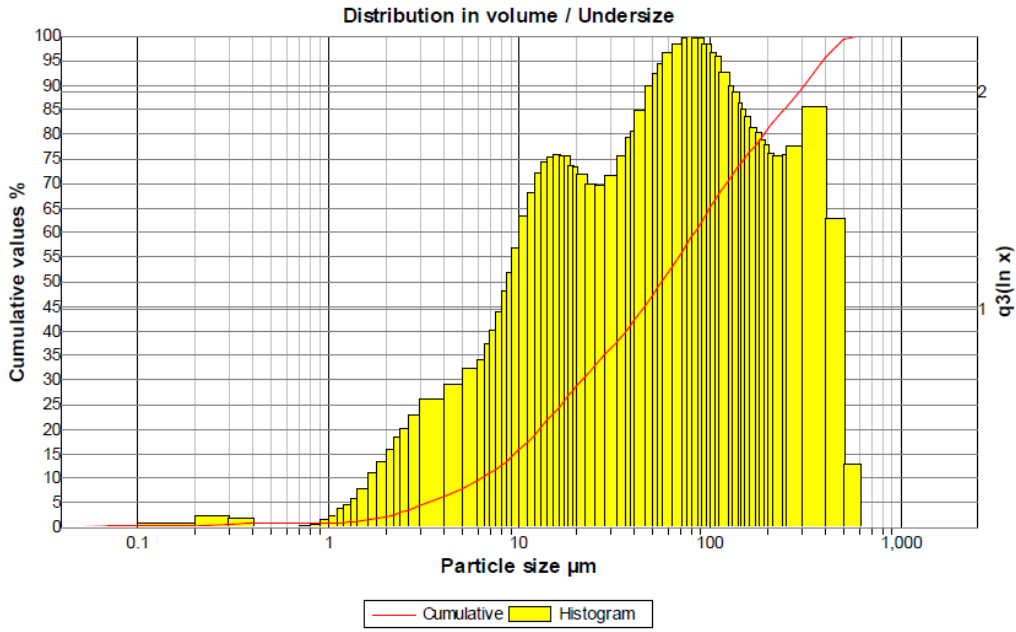
T9 numune grubuna uygulanan test sonucunda:

d(% 10): 6,27  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq$  6,27  $\mu\text{m}$ )

d(% 50): 55,85  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq$  55,85  $\mu\text{m}$ )

d(% 90): 312,62  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq$  312,62  $\mu\text{m}$ )

D[4,3]: 107,462  $\mu\text{m}$  (numunenin ortalama partikül boyutu)



Şekil 10.23. T9 numune grubunun parçacık boyut dağılımı

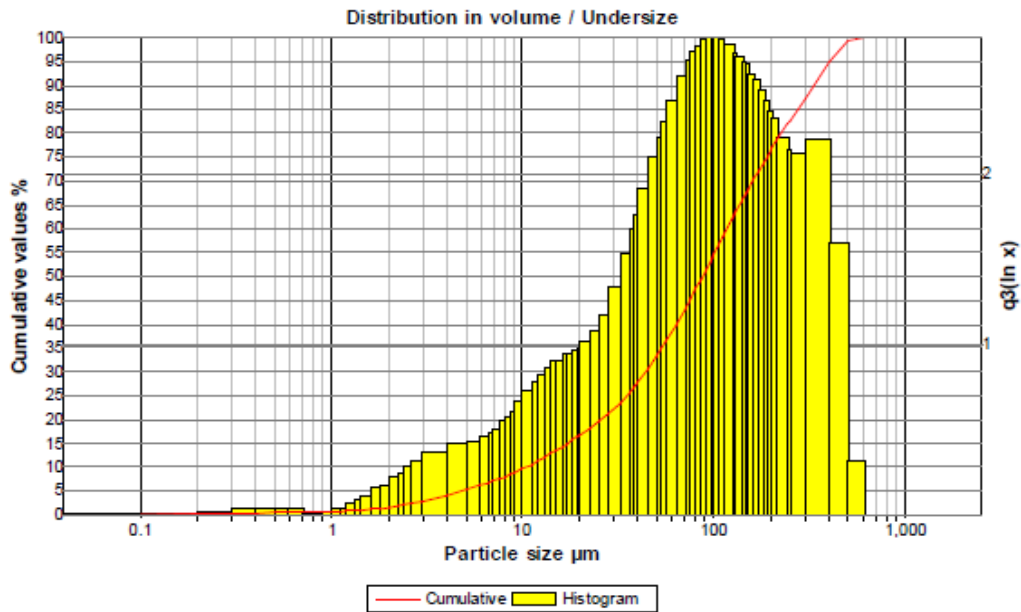
T10 numune grubuna uygulanan test sonucunda:

d(% 10): 10,39  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 10,39 \mu\text{m}$ )

d(% 50): 86,74  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 86,74 \mu\text{m}$ )

d(% 90): 334,16  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 334,16 \mu\text{m}$ )

D[4,3]: 130,380  $\mu\text{m}$  (numunenin ortalama partikül boyutu)



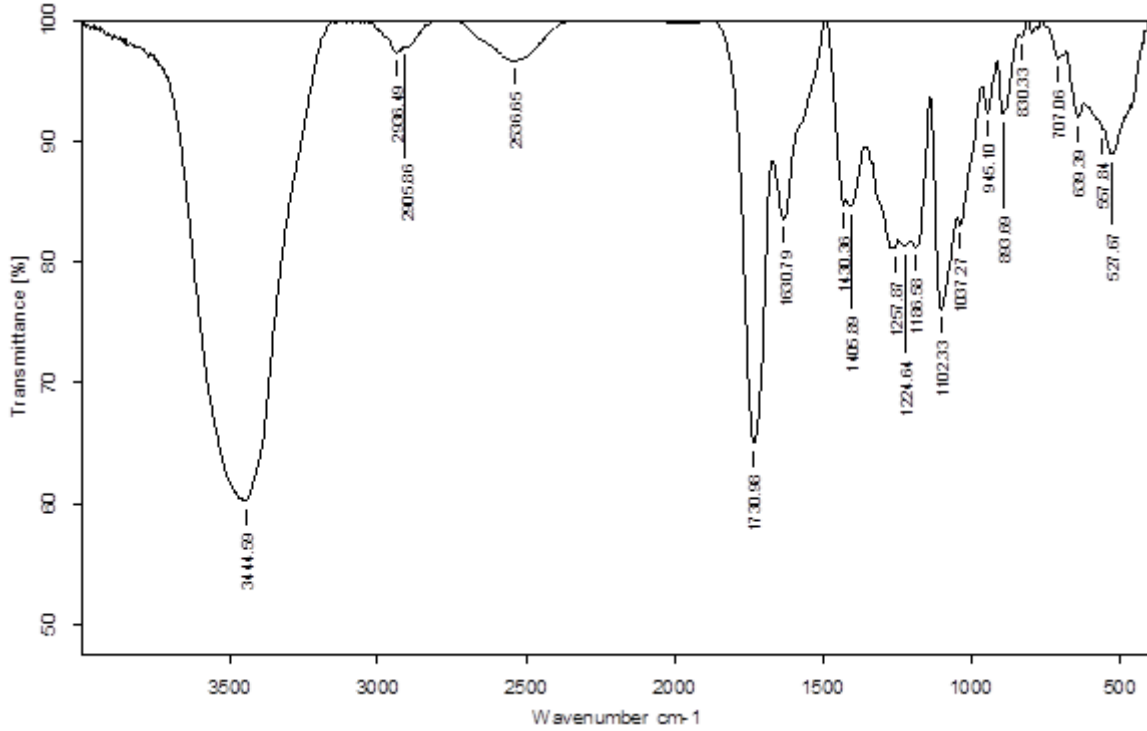
Şekil 10.24. T10 numune grubunun parçacık boyut dağılımı



Numunelere uygulanan partikül boyutu ölçümü testi sonuçlarına göre numunelerin partikül boyut dağılımı geniş bir aralıkta (yaklaşık 0,07  $\mu\text{m}$ -600  $\mu\text{m}$  aralığında) bulunmuştur. Ortalama partikül boyutları T1 için 186,018  $\mu\text{m}$ , T9 için 107,462  $\mu\text{m}$  ve T10 için 130,380  $\mu\text{m}$  olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar SEM görüntülerini desteklemektedir.

### 10.2.7. Fourier dönüştümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)

T9 numunesinin moleküler yapısının belirlenmesi için FT-IR spektrumları alınmıştır. Kitosan, polivinil alkol, polietilen oksit ve S3(48H50ML) sünger numunesinin FT-IR spektrumları Bölüm 10.1.6'da verilmiştir. Bu bölümde ise Şekil 10.25'te T9 numune grubunun infrared spektrumu verilmiş ve temel absorpsiyon pikleri Çizelge 10.13'te özetlenmiştir. Şekil 10.26'da PVA, T9 numunesi, Kitosan ve PEO'in FT-IR spektrumları verilmiştir.

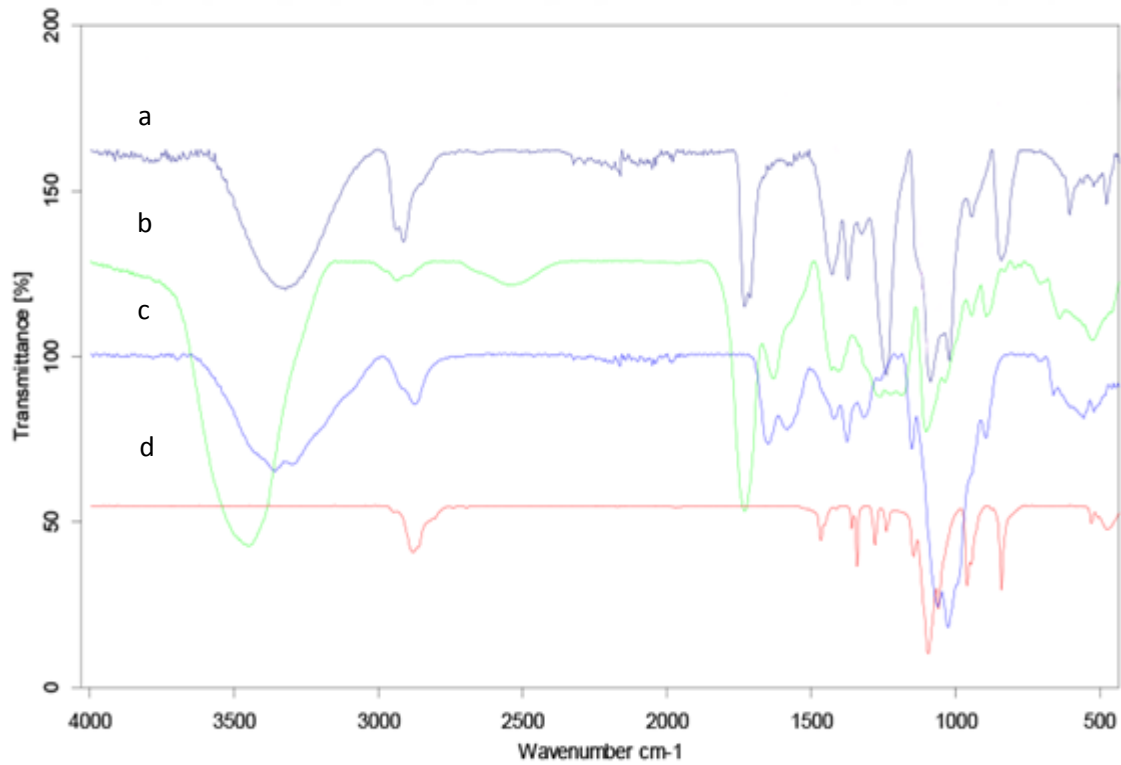


Şekil 10.25. T9 numune grubunun FT-IR spektrumu

Çizelge 10.13. T9 numune grubunun FT-IR spektrumundan elde edilen pikler

Pik pozisyonu (cm <sup>-1</sup> )	İşaretleme
3444	O-H ve N-H gerilmesi
2905, 2936	C-H gerilmesi
2536	O-H gerilmesi
1730	C=O karbonil gerilmesi
1630	C-N eğilmesi
1405, 1430	-COO <sup>-</sup> 'nin asimetrik gerilmesi
1186-1257	C-H eğilmesi
945-1102	C-O-C ve C-O gerilmesi
893	C-C gerilmesi

T9 numune grubunun infrared spektrumunda, 3444 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik O-H ve N-H gerilmesini, 2905-2936 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler C-H gerilme titreşimini, 2536 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik O-H gerilmesini, 1730 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik karbonil grubu C=O gerilme etkileşimlerini, 1630 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik N-H eğilmesini, 1405-1430 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik karboksilik asit -COO<sup>-</sup>'nin asimetrik gerilmesini, 1186-1257 cm<sup>-1</sup>'de aralığında görülen pikler C-H eğilme titreşimini, 945-1102 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler C-O gerilmesini, 893 cm<sup>-1</sup>'de görülen pik C-C gerilmesini göstermektedir.



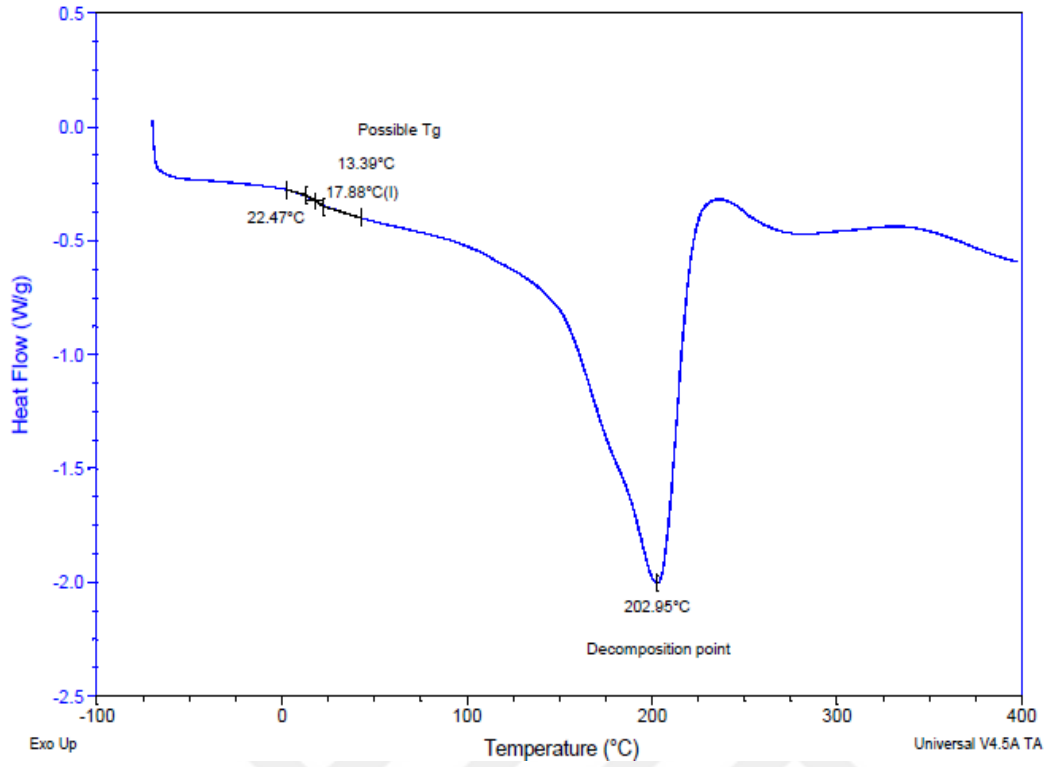
Şekil 10.26. a) PVA, b) T9 numunesi, c) Kitosan ve d) PEO'in FT-IR spektrumları

T9 numunesinde saf kitosanda  $3300\text{ cm}^{-1}$  civarında bulunan O-H ve N-H gerilme pikinin  $3444\text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı görülmüştür. Amin ve hidroksil bantlarındaki kayma, moleküller arası veya molekül içi hidrojen bağlanmasına bağlı olarak, PVA, PEO ve kitosan arasındaki polimerik bağlantıya atfedilir. Buna ek olarak, kitosan, PVA ve PEO'in tüm karakteristik bantları T9 numune grubunun spektrumunda hafif kayma görülerek bulunduğu gözlemlenebilir. Bu durum polimerlerin güçlü hidrojen bağlarıyla birbirine bağlandığını gösterir. Saf kitosanda  $1649\text{-}1583\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen kitosanın amid (amid I ve amid II) grubunun eğilme titreşimleri, PVA'de  $1712\text{-}1730\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen karbonil gerilmesi ile birleşmiş  $1730\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ 'de daha şiddetli ve geniş pik vermiştir.  $1583\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen  $\text{-NH}_2$  grubunun titreşimine atfedilen bant eksiktir. Böylece, PEO ve kitosan arasındaki etkileşim nedeniyle  $\text{-NH}_2$  deformasyon bandı görülmemiştir. Bu durum, hidrojen bağının artmasına bağlanmıştır [170,176,230,244,254,258,259,261,268].

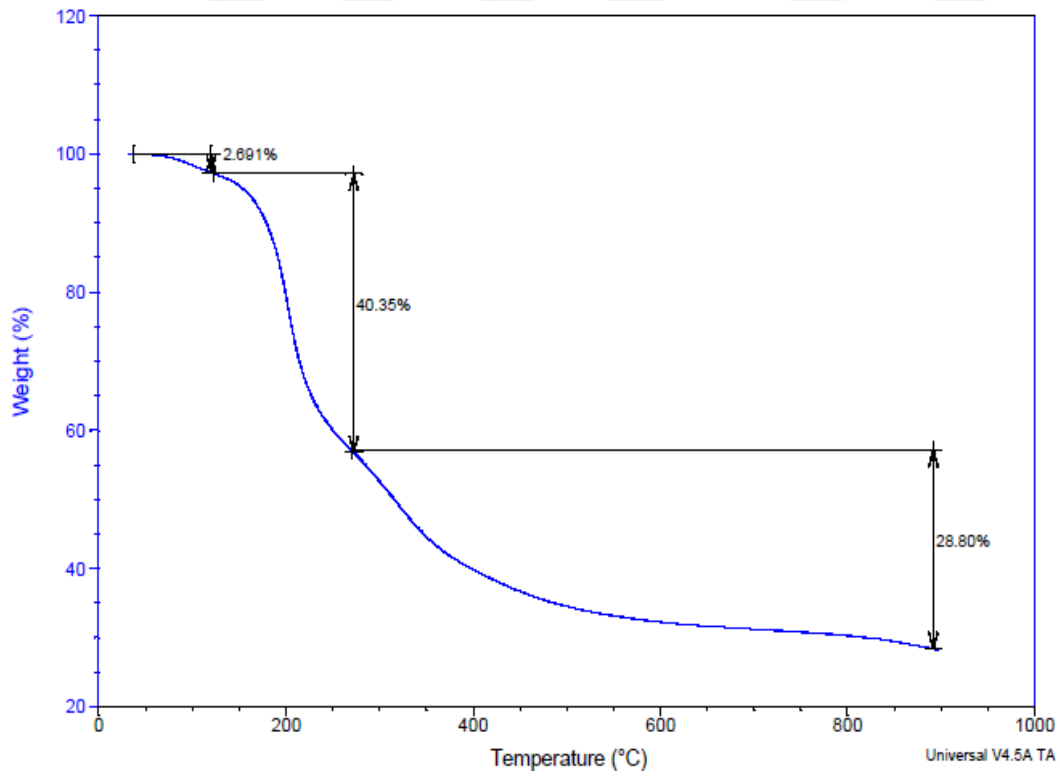
Bölüm 10.1.5'te belirtildiği gibi, kitosanın, PEO'da eter grupları ile kitosandaki hidroksil grupları ya da kitosandaki amin grupları ve PVA'daki hidroksil grupları arasındaki güçlü hidrojen bağları sayesinde, PEO ve PVA polimerleri ile iyonik kompleksler oluşturabileceği öngörülmüştür [168].

#### **10.2.8. Termal karakterizasyon**

T9 numunesinin ısı etkisi ile oluşan değişimlerini izleyebilmek için termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) testleri uygulanmıştır. Bölüm 10.1.7'de kitosan, polivinil alkol ve polietilen oksitin TGA ve DSC termogramları verilmiştir. Bu bölümde ise sadece T9 numune grubunun termogramları verilmiştir.



Şekil 10.27. T9 numune grubunun DSC termogramı



Şekil 10.28. T9 numune grubunun TGA termogramı

T9 numune grubunun TGA eğrisi incelendiğinde üç basamakta kütle kaybı olduğu görülmektedir. 60-125 °C arasında toplam kütlede % 2,691'lik azalma yapıdaki su ve diğer küçük moleküllerin uzaklaşması olarak değerlendirilebilir. 125-275 °C arasında meydana gelen % 40,35'lik azalma kitosan molekülünün ana zincirindeki glikosidik bağın bozunması ve ayrılması, polisakkarit zincirinin dekarboksilasyonu ve PVA'nın dehidroksilasyonundan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. PVA'nın dehidroksilasyonuna ve kitosanın parçalanmasına bağlı olarak, su, karbondioksit, metan ve amonyak oluşumunu teşvik ederek polisakkarit yapısının pirolitik dehidrasyon ve depolimerizasyonu içeren termal bozunmayı temsil eder. 275-900 °C arasına tekabül eden % 28,80'lik azalma, yapısal bozunmanın meydana geldiğini göstermektedir. Bu ağırlık kaybı, karışım bileşenlerinin ana zincir C-C- bağlarının termal bozunmasına bağlanmıştır. 800 °C sonunda ortamda kalan madde miktarı açısından bakıldığında başlangıç miktarına göre % 30 termal kararlılık göstermiştir [175,176,259,261].

Çizelge 10.14'te kitosan, PVA, PEO ve T9 numune grubunun camsı geçiş, erime ve bozunma sıcaklıkları verilmiştir. Daha önce Bölüm 10.1.7'de kitosan, polivinil alkol ve polietilen oksitin camsı geçiş, erime ve bozunma sıcaklıkları verilmişti. T9 numune grubunun DSC termogramındaki endotermik pik, ısı alımı ile numunenin bozunma sıcaklığının 202,95 °C olduğunu göstermektedir. Numunenin camsı geçiş sıcaklığı 17,88 °C olarak bulunmuştur. PVA'nın erime sıcaklığı 189,73 °C ve PEO'nun erime sıcaklığı 66,24 °C bulunmuştur. Kitosan, çoğu polisakkaritin belirli bir sıcaklığın üzerine ısıtılmasıyla erime değil de bozunmasına bağlı olarak erime geçişini göstermemiştir. T9 numune grubu, karışımdaki malzemelere göre daha düşük sıcaklıkta bozunmaya uğramıştır. Bu durum polimerler arasında etkileşim olduğunu göstermektedir [176,261].

Çizelge 10.14. Kitosan, PVA, PEO ve T9 numune grubunun camsı geçiş, erime ve bozunma sıcaklıkları

Numune	Camsı geçiş sıcaklığı, °C	Erime sıcaklığı, °C	Bozunma sıcaklığı, °C
Kitosan	-	-	302,58
PVA	131,90	189,73	323,37
PEO	- 67,00	66,24	360,00
T9	17,88	-	202,95

### 10.3. Film Numunelere Uygulanan Testler

#### 10.3.1. Gözeneklilik ve su absorpsiyon oranı testi

Bölüm 9.2.2’de anlatılan yöntemle hazırlanan film numune grupları, Bölüm 9.3.1’de anlatıldığı gibi gözeneklilik testi ve Bölüm 9.3.2’de anlatıldığı gibi su absorpsiyon oranı testine tabi tutulmuştur. Testler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir ve her numune grubu için gözeneklilik, yoğunluk, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca elde edilen film numunelerin kalınlıkları kumpas kullanılarak ölçülmüştür. Çizelge 10.15’te hazırlanan film numuneler ve yüzde bileşimleri verilmiştir. Çizelge 10.16’da film numunelerin gözeneklilik, yoğunluk, gözenek hacmi, su absorpsiyon oranı ve film kalınlığı değerleri verilmiştir.

Çizelge 10.15. Hazırlanan film numuneler ve yüzde bileşimleri

Numune grupları	Kullanılan Maddeler (Kütlece, %)							
	Ultra saf su	Kitosan	PVA	Asetik Asit	PEO	Hidroksietil Selüloz	M. Propilen Glikol	Sodyum Metabisülfid
F1	90,82	1,93	1,16	1,62	-	0,27	4,18	0,02
F2	89,61	1,48	0,88	0,34	-	0,47	7,19	0,03
F3	89,80	0,52	0,35	0,91	0,40	0,49	7,50	0,03
F4	83,71	0,94	0,41	1,08	-	2,56	11,27	0,03
F5	67,86	2,67	0,23	0,53	10,73	5,49	12,46	0,03
F6	79,35	0,44	0,29	0,76	5,61	8,00	5,52	0,03

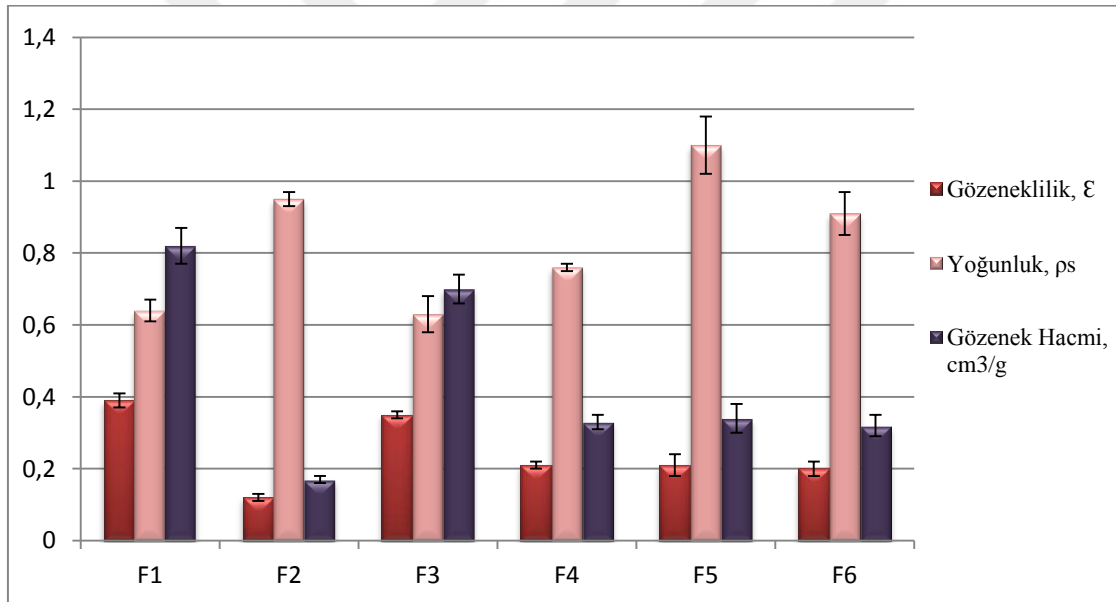
Çizelge 10.16. Film numunelerin gözeneklilik, yoğunluk, gözenek hacmi, su absorpsiyon oranı ve film kalınlığı değerleri

Numune Grupları	Gözeneklilik, $\epsilon$	Yoğunluk, $\rho_s$	Gözenek Hacmi, $\text{cm}^3/\text{g}$	Su Absorpsiyon Oranı, %S	Film Kalınlığı, mm
F1	0,39±0,02	0,64±0,03	0,82±0,05	227,00±20,87	0,52±0,01
F2	0,12±0,01	0,95±0,02	0,17±0,01	168,00±15,75	0,49±0,02
F3	0,35±0,01	0,63±0,05	0,70±0,04	259,98±26,20	0,77±0,03
F4	0,21±0,01	0,76±0,01	0,33±0,02	409,68±35,02	0,81±0,01
F5	0,21±0,03	1,10±0,08	0,34±0,04	6012,58±64,23	2,89±0,04
F6	0,20±0,02	0,91±0,06	0,32±0,03	1110,42±14,02	2,22±0,01

Çizelge 10.16 ve Şekil 10.29 incelendiği zaman, film numunelerin yapısına bağlı olarak gözeneklilik ve su absorpsiyon oranı değerleri değişkenlik göstermiştir. Film numuneler

içinde en yüksek gözeneklilik ve gözenek hacmi değerini F1 numunesi, en yüksek su absorplama oranı ve yoğunluk değerini ise F5 numunesi vermiştir.

Genel olarak bakıldığında, kitosan ve PEO oranı ve film kalınlığı arttıkça su absorpsiyon oranı ve yoğunluk değerlerinin arttığı görülmüştür. Kütlece % 0,52 kitosan, % 0,40 PEO içeren ve film kalınlığı 0,77 mm olan F3 numunesinin su absorpsiyon oranı % 259,98 ve yoğunluk değeri  $0,63 \text{ g/cm}^3$  iken, kütlece % 2,67 kitosan, % 10,73 PEO içeren ve film kalınlığı 2,89 mm olan F5 numunesinin su absorpsiyon oranı değeri % 6012,58 ve yoğunluk değeri  $1,10 \text{ g/cm}^3$  bulunmuştur. PEO hidrofilik özellikte bir polimerdir. PEO miktarının artmasıyla numunelerin hidrofilikliği artmıştır. Bu durum aynı zamanda polimerler arasında etkileşim olduğunu göstermektedir.



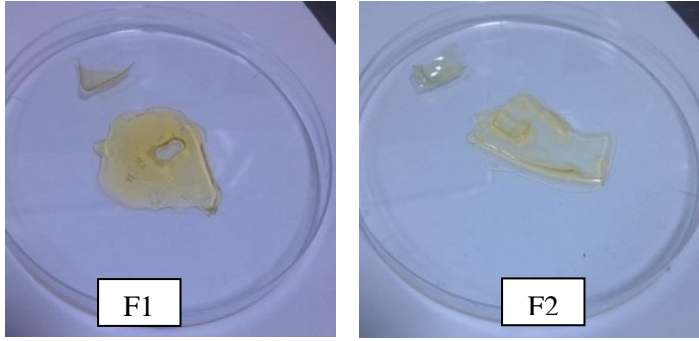
Şekil 10.29. Film numunelerin gözeneklilik, yoğunluk ve gözenek hacmi değerleri

### 10.3.2. Kan absorpsiyon testi

Film numunelere Bölüm 9.3.5'te anlatılan şekilde kan absorpsiyon testi uygulanmıştır. Kan absorpsiyon testinde 0,5 g ağırlığında film numuneler kullanılmıştır. Numunelerin üzerine 1 ml kan ilave edilerek kan absorpsiyon davranışları kontrol edilmiştir.

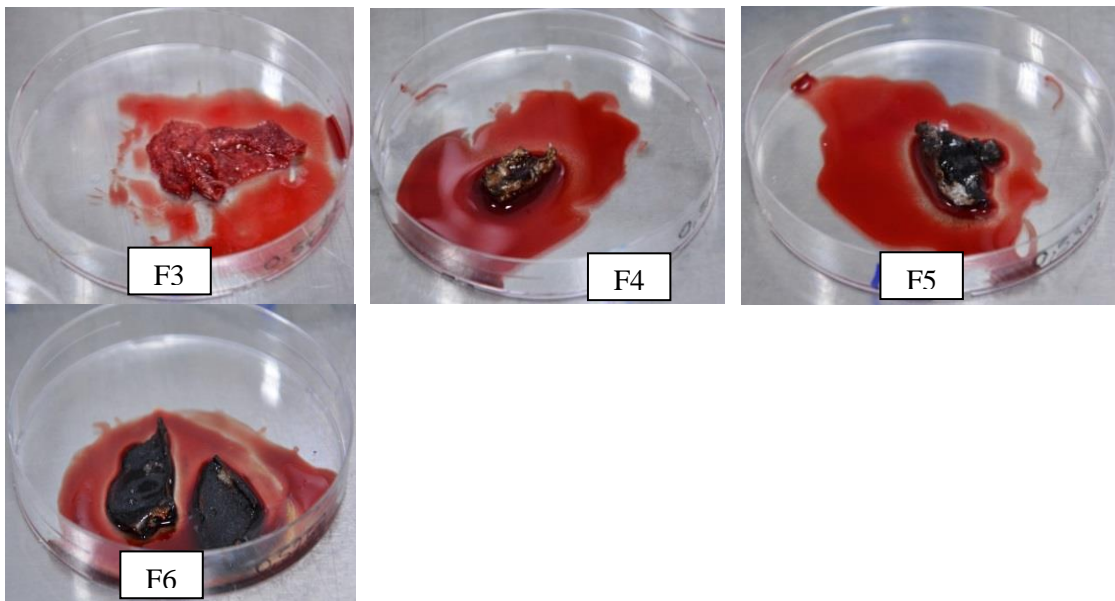
Resim 10.21'de F1 ve F2 numunelerinin serum ile etkileşimi öncesi ve sonrası görüntüleri verilmiştir. F1 ve F2 numunelerinin serum ile etkileşimi öncesi ve sonrası görüntüleri

incelendiği zaman numunelerin şişme davranışı gösterdiği ve herhangi bir kümeleşmenin olmadığı görülmüştür. Yine bu numuneler kan ile etkileştirildiği zaman az bir miktarda şişme gözlenmiş, kümeleşme ve pıhtılaşma görülmemiştir.



Resim 10.21. F1 ve F2 numunelerinin serum ile etkileşimi öncesi ve sonrası görünüşleri

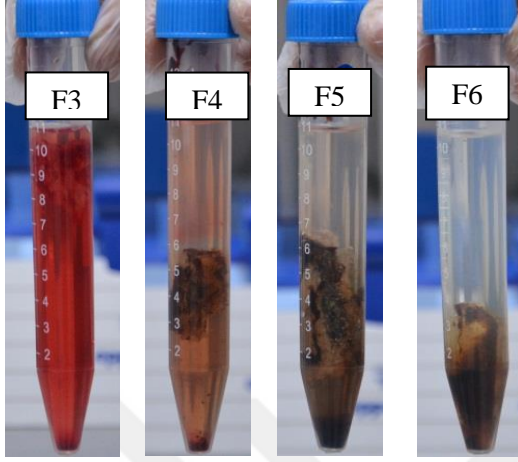
Resim 10.22'de F3, F4, F5 ve F6 film numunelerinin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşleri verilmiştir. Film numuneler kan ile ıslatıldığı zaman, numunelerin az bir miktarda şişme davranışı gösterdiği gözlenmiş fakat herhangi bir kümeleşme, pıhtılaştırma davranışı göstermemişlerdir. Hazırlanan film numunelerde kan absorpsiyonu ile ilgili olarak toz ve sünger numunelere göre geçerli bir sonuç alınamamıştır. Kan ile ıslatıldığı zaman sünger ve toz numuneler hızlı bir şekilde kanı absorplayıp pıhtılaşma oluştururken, film numuneler aynı miktardaki kan için benzer şekilde kan absorplama ve pıhtılaşma davranışı göstermemiştir.



Resim 10.22. Film numunelerinin kan absorpsiyon testi sonrası görünüşü



Numunelerin kan ile etkileşimi sonrası hemoglobin salıverme görüntüsü Resim 10.23'te verilmiştir. Test sonucunda numuneler hemoglobin salınımı göstermiştir.



Resim 10.23. Numunelerin kan ile etkileşimi sonrası hemoglobin salıverme görüntüsü

### 10.3.3. Kan ile etkileşim testleri

#### APTT, PT, FIB ve TT testleri

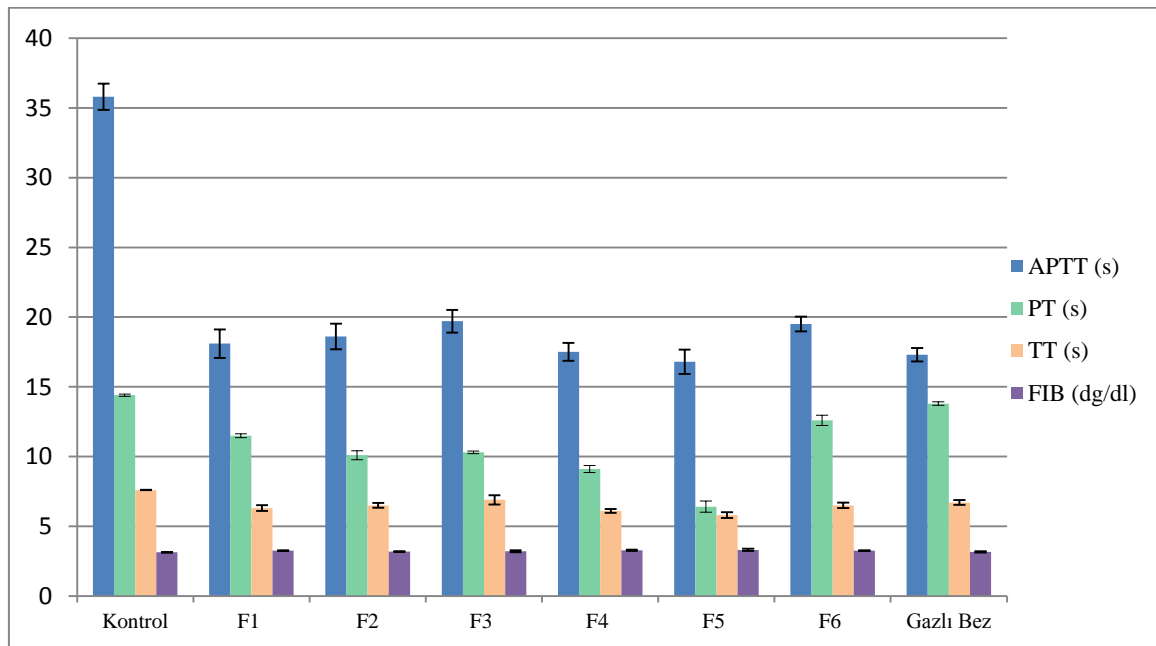
Film numunelere Bölüm 9.3.6'da anlatıldığı şekilde APTT, PT, FIB ve TT testleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, yine aynı şekilde testlere tabi tutulan gazlı bezin test sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Film numunelere uygulanan APTT, PT, FIB ve TT test sonuçları Çizelge 10.17 ve Şekil 10.30'da verilmiştir. Negatif kontrol ile karşılaştırıldığında, tüm film numunelerin APTT, PT ve TT değerlerinin, negatif kontrolden daha düşük olduğu, FIB değerlerinin ise negatif kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Tüm film numunelerin, kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığı görülmüştür. Film numuneler içerisinde en düşük APTT, PT ve TT değerini ve en yüksek FIB değerini F5 numunesi vermiştir. F5 numunesinden elde edilen sonuçlar gazlı bez ile karşılaştırıldığında, F5 numunesinin APTT, PT ve TT değerlerinin, gazlı bezin değerlerinden düşük, FIB değerinin ise gazlı bezin değerinden yüksek olduğu belirlenmiştir. F5 numunesi gazlı beze göre kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırmada daha etkilidir.

Çizelge 10.17. Film numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri

Numune Grupları	APTT (s)	PT (s)	FIB (dg/dl)	TT (s)
Kontrol	35,80±0,95	14,40±0,08	3,13±0,01	7,60±0,01
F1	18,10±1,02	11,50±0,14	3,25±0,03	6,30±0,21
F2	18,60±0,92	10,10±0,32	3,19±0,02	6,50±0,18
F3	19,70±0,82	10,30±0,09	3,21±0,07	6,90±0,33
F4	17,50±0,64	9,10±0,25	3,27±0,05	6,10±0,14
F5	16,80±0,87	6,40±0,40	3,31±0,08	5,80±0,20
F6	19,50±0,53	12,60±0,37	3,25±0,02	6,50±0,19
Gazlı Bez	17,30±0,48	13,80±0,13	3,16±0,04	6,70±0,17

APTT, PT, FIB ve TT testlerinden elde edilen sonuçlardan görüldüğü üzere, kontrol edilen numunelerin kanamayı durdurucu etkinliği pıhtılaşma kaskadından bağımsız değildir. Numuneler ekstrensik, intrensik ve ortak yolu etkileyerek, pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırmıştır. Numunelerin su absorpsiyon oranı değerlerinin yüksek olması nedeniyle, su moleküllerini absorbe edip, pıhtılaşma faktörlerini konsantre ederek pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdıkları düşünülmektedir. Sonuçlar film numunelerin pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığını gösterse de, kan ile temasında film numuneler, sünger ve toz numuneler gibi hızlı bir şekilde pıhtılaşma davranışı göstermemiştir. Elde edilen test sonuçlarına dayanarak film numunelerin kanama durdurucu özelliklerinin geliştirilebileceği öngörülmüştür.



Şekil 10.30. Film numunelerin APTT, PT, FIB ve TT değerleri



## 11. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sivil ve askeri travmalarda önlenebilir ölümlerin en sık nedeni kontrolsüz kanamalardır. Vücut, tedavi uygulamadan, ağır kan kaybını kontrol altına almada etkisizdir. Yaralanma anında etkin olarak, hızlı, zamanında ve doğru teknikle yapılan kanama kontrolü ölüm oranında belirgin azalmaya neden olacaktır. Bunu da yapacak kişi yaralının kendisi ya da ona ilk yardımı uygulayacak olan kişidir. Son dönemlerde topikal uygulanması önerilen bazı kan durdurucu ajanların kullanılmasıyla travma sonrası ölüm oranlarında dramatik azalmalar saptandığı belirtilmektedir.

Etkili hemostatik ajanlar günümüzde acil tıp teknisyeni veya askeri sıhhiye tarafından, hızlı kanama kontrolünde kullanılmak için önemli bir potansiyele sahiptir. Ancak, mevcut ürünlerin kullanım avantajları ve dezavantajları göz önüne alındığında hangi ürünün en iyi kanama kontrolü sağladığına yönelik olarak kabul görmüş bir strateji yoktur. Genel olarak bakıldığında mevcut hemostatik ajanlar çoğunlukla pahalı, etkili değil ve güvenlik endişeleri fazladır. Bu doğrultuda, kan durdurucu özellik içeren biyomedikal malzeme geliştirilmesi bu çalışmada hedeflenmiştir. Çalışmada sünger, toz ve film şeklinde numuneler hazırlanmıştır. Temel hemostatik madde olarak kitosan kullanılmıştır. Kitosanla birlikte, polivinil alkol ve polietilen oksit gibi maddeler de kullanılarak kan durdurucu özelliğe etkileri incelenmiştir. Üretim tekniği olarak dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ve öğütme yöntemleri kullanılmıştır.

Hazırlanan kan durdurucu sünger, toz ve film numunelerin karakterizasyonu aşamasında ilk olarak, gözeneklilik, su absorplama oranı, geçirgenlik, hemostatik etkinlik ve kan absorpsiyon testleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan ilk testlerin sonucunda elde edilen gözlemler ve verilere dayalı olarak en iyi kan pıhtılaştırma özelliği gösteren sünger ve toz numunelere, hemoliz, trombosit agregasyonu, taramalı elektron mikroskobu (SEM), fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) testleri ve yine en iyi kan pıhtılaştırma özelliği gösteren toz numuneye bu testlere ek olarak antibakteriyel etkinlik ve partikül boyut dağılımı testleri uygulanmıştır.

Film numunelerde gözeneklilik, su absorplama oranı ve kan absorpsiyon testleri sonrası kan pıhtılaştırma özelliği açısından sünger ve toz numunelere göre geçerli sonuç alınmadığı için diğer testler uygulanmamıştır. Ayrıca elde edilen tüm sünger, toz ve film numunelerin, kan pıhtılaşma mekanizması üzerine etkilerini belirlemek için, aktive edilmiş kısmi tromboplastin zamanı (APTT), protrombin zamanı (PT), fibrinojen aktivite (FIB) ve trombin zamanı (TT) testleri gerçekleştirilmiştir.

Sünger numunelere uygulanan gözeneklilik, su absorpsiyon oranı ve kan absorpsiyon testleri sonucunda, liyofilizasyon süresi arttıkça ve liyofilizasyon uygulanan çözelti miktarı azaldıkça, gözeneklilik ve gözenek hacmi değerlerinin arttığı, yoğunluk, su absorpsiyon oranı ve kan absorplama hızının azaldığı görülmüştür. Bu durum, liyofilizasyon uygulanan çözelti miktarının ve liyofilizasyon süresinin gözeneklilik, gözenek hacmi, yoğunluk, su absorpsiyon oranı ve kan absorplama davranışı üzerinde etkili birer faktör olduklarını göstermiştir.

PEO eklenen numunede, su absorpsiyon oranı ve yoğunluk değerleri artmış, gözeneklilik ve gözenek hacmi değerleri azalmıştır. S1 numunesi, kütlece % 2,32 kitosan içermektedir ve PEO içermemektedir. S1 numunesinden 0,92 gözeneklilik, 0,09 g/cm<sup>3</sup> yoğunluk, 15,77 cm<sup>3</sup>/g gözenek hacmi ve % 1449 su absorpsiyon oranı değerleri elde edilirken, kütlece % 2,00 kitosan ve % 0,22 PEO içeren S2 numunesi 0,90 gözeneklilik, 0,11 g/cm<sup>3</sup> yoğunluk, 11,21 cm<sup>3</sup>/g gözenek hacmi ve % 2452 su absorpsiyon oranı değerleri göstermiştir. PEO oranı arttıkça, gözeneklilik, gözenek hacmi ve su absorpsiyon oranı değerleri azalmış, yoğunluk değeri ise değişkenlik göstermiştir. Kitosan ile birlikte PEO içeren sünger numunenin kan absorplama davranışının daha iyi olduğu görülmüştür. PEO oranı arttırılıp, kitosan oranı azaltıldığında ise kan absorplama davranışı azalmıştır. Elde edilen sonuçlardan ve literatürden elde edilen bilgilerden, polimer molekülleri arasında etkileşim olduğu, polimer miktarları, kullanılan polimerlerin özellikleri (molekül ağırlığı, DA derecesi gibi), liyofilizasyon süresi ve liyofilizasyona tabi tutulan çözelti miktarında değişiklikler yapılarak istenilen ürün özelliklerinin sağlanabileceği öngörülmüştür. Sünger numuneler içerisinde en iyi kan absorplama davranışını kütlece % 2,01 kitosan, % 1,20 PVA ve % 0,40 PEO içeren, liyofilizasyon flaskına 50 ml konulan ve 48 h liyofilize edilen numune (S3(48H50ML)) göstermiştir.

Sünger numunelere uygulanan APTT, PT, FIB ve TT testlerinin sonuçlarında, negatif kontrol ile karşılaştırıldığında, tüm sünger numunelerin APTT, PT ve TT değerlerinin, negatif kontrolden daha düşük olduğu, FIB değerlerinin ise negatif kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Tüm sünger numunelerin kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığı belirlenmiştir. Numunelerin su moleküllerini absorbe edip, pıhtılaşma faktörlerini konsantre ederek pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdıkları düşünülmektedir. APTT, PT, FIB ve TT testlerinden elde edilen sonuçlar, kan absorpsiyon, gözeneklilik ve su absorpsiyon oranı testlerinden elde edilen sonuçları desteklemektedir. Tüm sünger numuneler içerisinde en hızlı ve en iyi kan ve plazma absorplama davranışını, en düşük APTT, PT ve TT değerini, en yüksek FIB değerini, yine S3(48H50ML) numune grubu göstermiştir. Aynı numuneye gerçekleştirilen trombosit agregasyonu ve hemoliz testi sonucunda, numunenin trombosit agregasyonuna neden olmadığı ve hemolitik olduğu belirlenmiştir. Gözeneklilik ve gözenek yapısının incelendiği SEM mikrograflarından ise, yüksek derecede birbirine bağlanmış gözenekli yapı olduğu, gözeneklerin heterojen dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Gözenekler, birbirinden farklı şekil ve boyutlarda rastgele dağılım göstermiştir.

Toz numunelere uygulanan geçirgenlik testi sonucunda, bütün toz numunelerde 1 dakika sonra toz içine yayılan suyun mesafesi 0,5 cm'den daha fazla olduğu için etkili birer hemostat oldukları belirlenmiştir. Elde edilen en yüksek geçirgenlik değeri 4,5 cm'dir. Hemostatik etkinlik testinin sonucunda, bentonit çözeltisinin topaklanması için kullanılan süzüntü miktarı bazı numunelerde  $1 \text{ ml} \leq$  bulunurken, yapılan çalışmalar sonucu 0,5 ml ve 0,3 ml değerlerine düşürülmüştür. Kitosan ve PEO miktarı arttıkça toz numunelerde hemostatik etkinliğin arttığı, bentonit çözeltisinin topaklanması için gereken süzüntü miktarının azaldığı görülmüştür.

Toz numunelere uygulanan su absorpsiyon oranı testi sonucunda da benzer olarak, kitosan ve PEO miktarı arttıkça su absorplama oranı artmıştır. Gerçekleştirilen çalışmada en yüksek su absorpsiyon oranı değeri % 1176,48 olarak bulunmuştur. Kan absorpsiyon testi sonucunda ise, numuneler kan ile ıslatıldığı zaman bütün numunelerin kanı belli bir süre sonra absorpladığı görülmüştür. Test sırasında absorplama hızı açısından % 10,33 kitosan, % 0,42 PEO içeren numune (T9) ve % 5,21 kitosan, % 0,50 PEO ve % 8,00 sodyum polifosfat içeren numunenin (T10) absorplama hızının daha iyi olduğu görülmüştür. Toz numunelerin parçacık boyutu küçüldükçe, absorplama hızının arttığı kanı daha iyi

topladığı, pıhtılaşmanın daha hızlı olduğu görülmüştür. Yine bu iki numunenin sırasıyla su absorpsiyon oranı değerleri % 950,37 ve % 1018,50 olarak bulunmuştur.

Toz numunelere uygulanan APTT, PT, FIB ve TT testlerinin sonuçlarında, negatif kontrol ile karşılaştırıldığında, tüm toz numunelerin APTT, PT ve TT değerlerinin, negatif kontrolden daha düşük olduğu, FIB değerlerinin ise negatif kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Tüm toz numunelerin kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığı belirlenmiştir. Toz numuneler içerisinde en düşük APTT, PT ve TT değerini ve en yüksek FIB değerini yine T9 ve T10 numune gruplarının verdiği görülmüştür. Bu numunelerin sonuçları gazlı bezin sonuçları ile karşılaştırıldığında, gazlı beze göre kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırmada daha etkili oldukları belirlenmiştir. Numunelerin su moleküllerini absorbe edip, pıhtılaşma faktörlerini konsantre ederek pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdıkları düşünülmektedir. Yine bu iki numuneye uygulanan trombosit agregasyonu ve hemoliz testleri sonucunda, her iki numuneninde trombosit agregasyonu oluşturduğu, T9 numune grubunun hemolitik olduğu belirlenmiştir. T10 numune grubu kanı tamamiyle absorbe ettiği için hemoliz oranı hesaplanamamıştır.

T9 numunesine uygulanan antibakteriyel etkinlik testi sonucunda, numune *Staphylococcus Aureus*'a (ATCC 6538 (Gram (+))) karşı % 98,8 etkili, *Escherichia Coli*'ye (ATCC 25922 (Gram (-))) karşı % 91,1 etkili çıkmıştır. Aynı numunenin gözenekliliği, gözenek yapısı ve yüzey özelliklerinin incelendiği SEM mikrograflarından, toz parçacıklarının küresel olmadığı, pürüzlü yüzeye sahip oldukları, öğütmeden kaynaklı birçok farklı boyutta parçacık içerdiği görülmüştür. Numunede tabakalı yapıda bağlanma gerçekleştiği görülmüştür. Üç ayrı toz numune grubuna uygulanan partikül boyutu ölçümü testi sonuçlarına göre, öğütmeden kaynaklı olarak numunelerin partikül boyut dağılımı geniş bir aralıkta (yaklaşık 0,07 µm-600 µm aralığında) bulunmuştur ve ortalama partikül boyutları 186,018 µm, 107,462 µm ve 130,380 µm olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar SEM görüntülerini desteklemiştir.

Kitosan, PVA, PEO, S3(48H50ML) numunesi ve T9 numunesine uygulanan FT-IR testi sonucunda, özellikle amin ve hidroksil bantlarında kayma görülmüştür. Bu durum, moleküller arası veya molekül içi hidrojen bağlanmasına bağlı olarak, PVA, PEO ve kitosan arasındaki polimerik bağlantıya atfedilmiştir. Buna ek olarak, S3(48H50ML) ve T9 numune gruplarının spektrumlarında kitosan, PVA ve PEO'in tüm karakteristik bantları

için hafif kayma gözlenmiştir. Bu durum polimerlerin güçlü hidrojen bağlarıyla birbirine bağlandığını göstermektedir [170,176,244,254]. Kitosanın, PEO'da eter grupları ile kitosandaki hidroksil grupları ya da kitosandaki amin grupları ve PVA'daki hidroksil grupları arasındaki güçlü hidrojen bağları sayesinde, PEO ve PVA polimerleri ile iyonik kompleksler oluşturabileceği öngörülmüştür [168].

Kitosan, PVA, PEO, S3(48H50ML) numunesi ve T9 numunesine uygulanan TGA-DSC testleri ve literatürden elde edilen bilgiler sonucunda, bu polimerlerin karışımlarında erime sıcaklığının düştüğü, bozunma sıcaklığının düştüğü, PEO ve PVA'nın erime sıcaklığını arttırdığı, kitosanın ise erime sıcaklığını düşürdüğü görülmüştür. Kitosanın DSC termogramında, çoğu polisakkaritin belirli bir sıcaklığın üzerine ısıtılmasıyla erime değil de bozunma görülmesinde olduğu gibi, erime geçişi görülmemiştir [176,261]. Erime sıcaklığının düşük olması, polimerlerin fonksiyonel grupları arasındaki etkileşimlere bağlı olarak polimerlerin kristalleşme sürecini engellediğini göstermiştir [176].

Film numunelere uygulanan gözeneklilik ve su absorpsiyon oranı testlerinin sonucunda, film numunelerin yapısına bağlı olarak, gözeneklilik ve su absorpsiyon oranı değerleri değişkenlik göstermiştir. Genel olarak bakıldığında, film kalınlığı, kitosan ve PEO oranı arttıkça su absorpsiyon oranı ve yoğunluk değerlerinin arttığı görülmüştür. Kütlece % 0,52 kitosan, % 0,40 PEO içeren ve film kalınlığı 0,77 mm olan F3 numunesinin su absorpsiyon oranı % 259,98 ve yoğunluk değeri  $0,63 \text{ g/cm}^3$  iken, kütlece % 2,67 kitosan, % 10,73 PEO içeren ve film kalınlığı 2,89 mm olan F5 numunesinin su absorpsiyon oranı değeri % 6012,58 ve yoğunluk değeri  $1,10 \text{ g/cm}^3$  bulunmuştur. Kan absorpsiyon testi sonucunda ise, kan ve serum ile etkileşimi sonrası numunelerin az bir miktarda şişme davranışı gösterdiği, herhangi pıhtılaşma ve kümeleşmenin olmadığı görülmüştür. Film numunelerde, kan absorpsiyonu ile ilgili olarak, toz ve sünger numunelere göre geçerli bir sonuç alınamamıştır. Kan ile ıslatıldığı zaman sünger ve toz numuneler hızlı bir şekilde kanı absorplayıp pıhtılaşma oluştururken, film numuneler aynı miktardaki kan için benzer şekilde kan absorplama ve pıhtılaşma davranışı göstermemiştir.

Film numunelere uygulanan APTT, PT, FIB ve TT testleri sonucunda, negatif kontrol ile karşılaştırıldığında, tüm film numunelerin APTT, PT ve TT değerlerinin, negatif kontrolden daha düşük olduğu, FIB değerlerinin ise negatif kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Tüm film numunelerin, kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandığı



görülmüştür. Kütlece % 2,67 kitosan, % 10,73 PEO içeren F5 numunesinin değerleri gazlı bez ile karşılaştırıldığında, gazlı beze göre kan pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırmada daha etkili olduğu belirlenmiştir. Numunelerin su moleküllerini absorbe edip, pıhtılaşma faktörlerini konsantre ederek pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdıkları düşünülmektedir. APTT, PT, FIB ve TT testlerinden elde edilen sonuçlar film numunelerin pıhtılaşma mekanizmasını hızlandırdığını gösterse de kan ile temasında film numuneler, sünger ve toz numuneler gibi hızlı bir şekilde pıhtılaşma davranışı göstermemiştir.

Liyofilizasyon ile sünger numune elde edilmesinde kullanılan liyofilizatör cihazında numunenin konulduğu liyofilizasyon flaskının yapısından dolayı küçük çapta numuneler elde edilmiştir ve numunelerin flasktan çıkarılması zor olduğu için parçalanarak çıkarılmıştır. Rafli sistem liyofilizatör kullanılırsa daha farklı boyutlarda, daha büyük çapta numune kaplarına (petri kapları gibi) konularak daha düzgün ve büyük çapta numuneler elde edilebilir. Bu da biyoyumluluk çalışmaları, hayvan çalışmaları gibi çalışmalarda numunelerin kullanımını daha etkin hale getirebilir. Toz numune elde edilmesi sırasında kahve öğütücüsü kullanılmıştır. Öğütücünün yapısına, parçalama büyüklüğüne, çalıştırma süresine, numunenin yapısına bağlı olarak farklı boyutlarda toz numuneler elde edilmiştir. Elde edilen numuneler ortalama 186 µm, 107 µm ve 130 µm partikül boyutlarına sahiptir. Nano boyutta öğütme yapan öğütücü kullanılarak toz numunelerin partikül boyutları küçültülebilir. Bu sayede malzeme özellikleri geliştirilebilir. Farklı molekül ağırlık ve deasetilasyon derecesine sahip kitosanlar denenerek ürün özelliklerini geliştirme çalışmaları yapılabilir. Bu çalışmadan elde edilen kan durdurucu özellik içeren numunelere daha ileri çalışmalarda: paketlenme, gama sterilizasyonuna tabi tutma, sterilizasyon sonrası testlerin yenilenmesi, “EN ISO 13485-Tıbbi Cihazlar İçin Kalite Yönetim Sistemi” ve “EN ISO 10993 Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirilmesi” kapsamında yapılması gereken Sensitizasyon, İritasyon, Sitotoksite, Projenite, Akut Sistemik Toksikite, Genotoksikite, Kan ile etkileşim ve İmplantasyon testleri, biyobozunurluk çalışmaları, hızlandırılmış yaşlanma testi, stabilite çalışmaları ve hayvan çalışmaları yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Shackford, S. R., Mackersie, R. C., Holbrook, T. L., Davis, J. W., Hollingsworth-Fridlund, P., Hoyt, D. B., and Wolf, P. L. (1993). The epidemiology of traumatic death. A population-based analysis. *Archives of Surgery*, 128, 571-575.
2. Hoyt, D. B. (2004). A clinical review of bleeding dilemmas in trauma. *Seminars in Hematology*, 41(1), 40-43.
3. Holcomb, J. B. (2004). Methods for improved hemorrhage control. *Critical Care*, 8(2), S57-S60.
4. Gofrit, O. N., Leibovici, D., Shapira, S. C., Shemer, J., Stein, M., and Michaelson, M. (1997). The trimodal death distribution of trauma victims: military experience from the Lebanon War. *Military Medicine*, 162, 24-26.
5. Sauaia, A., Moore, F. A., Moore, E. E., Moser, K. S., Brennan, R., Read, R. A. and Pons, P. T. (1995). Epidemiology of trauma deaths: a reassessment. *Journal of Trauma*, 38, 185-193.
6. Acosta, J. A., Yang, J. C., Winchell, R. J., Simons, R. K., Fortlage, D. A., Hollingsworth, F. P. and Hoyt, D. B. (1998). Lethal injuries and time to death in a level I trauma center. *Journal of the American College of Surgeons*, 186(5), 528-533.
7. Bellamy, R. F. (1984). The causes of death in conventional land warfare: implications for combat casualty care research. *Military Medicine*, 149, 55-62.
8. Pope, A., French, G., Longnecker, D.E. (1999). *Fluid resuscitation: State of the science for treating combat casualties and civilian injuries*, Committee on Fluid resuscitation for combat casualties, Report of Institute Medicine, Washington, DC: National Academies Press (US), 1-7.
9. Carey, M. E., (1987). Learning from traditional combat mortality and morbidity data used in the evaluation of combat medical care. *Military Medicine*, 152, 6-13.
10. Alam, H. B., Uy, G.B., Miller, D., Koustova, E., Hancock, T., Inocencio, R., Anderson, D., Llorente, O. and Rhee, P. (2003). Comparative analysis of hemostatic agents in a swine model of lethal groin injury. *Journal of Trauma*, 54(6), 1077-1082.
11. Bellamy, R. F. (1987). How shall we train for combat casualty care?. *Military Medicine*, 152, 617-621.
12. Eryılmaz, M., Mentefi, O., Ozer, M. T., Ersoy, G., Durusu, M., Rodoplu, Ü., Bilgiç, S., Kalemoglu M., Uzar, A. İ. and Öner, K. (2007). Current Principles of Use of Topical Hemostatic Agents in Trauma Cases. *Turkish Journal of Emergency Medicine*, 7(3), 136-143.
13. Naimer, S. A., Nash, M., Niv, A. and Lapid, O. (2004). Control of massive bleeding from facial gunshot wound with a compact elastic adhesive compression dressing. *American Journal of Emergency Medicine*, 22, 586-588.

14. Eryılmaz, M. (2006). Posttravmatik koagülopatide sistemik hemostatik ajanların yeri. In: Pekcan, M., Eryılmaz, M., (Editörler). *Travma olgularında güncel hemostaz seçenekleri*. Ankara, Gesdav Bilimsel Yayınları, 42-52.
15. Alam, H. B., Chen, Z., Jaskille, A., Querol, R. I., Koustova, E., Inocencio, R., Conran, R., Seufert, A., Ariaban, N., Toruno, K. and Rhee, P. (2004). Application of a zeolite hemostatic agent achieves 100% survival in a lethal model of complex groin injury in Swine. *Journal of Trauma*, 56, 974-983.
16. Menten, Ö. (2006). Topikal hemostatik ajanlar ve farklı kullanım alanları, Pekcan, M., Eryılmaz, M. (Editörler). *Travma olgularında güncel hemostaz seçenekleri*. Ankara: Gesdav Bilimsel Yayınları, 33-42.
17. Sondeen, J. L., Pusateri, A. E., Coppes, V. G., Gaddy, C. E. and Holcomb, J. B. (2003). Comparison of 10 different hemostatic dressings in an aortic injury. *Journal of Trauma*, 54, 280-285.
18. Pusateri, A. E., Modrow, H. E., Harris, R. A., Holcomb, J. B., Hess, J. R., Mosebar, R. H., Reid, T. J., Nelson, J. H., Goodwin, C. W., Fitzpatrick, G. M., McManus, A. T., Zolock, D. T., Sondeen, J. L., Cornum, R. L. and Martinez, R. S. (2003). Advanced hemostatic dressing development program: animal model selection criteria and results of a study of nine hemostatic dressings in a model of severe large venous hemorrhage and hepatic injury in Swine. *Journal of Trauma*, 55, 518-526.
19. T.C. Millî Eğitim Bakanlığı. (2011). *Acil Sağlık Hizmetleri, Kanamalar 723H00059*, Ankara.
20. Holcomb, J. B. (2003). Fluid resuscitation in modern combat casualty care: lessons learned from Somalia. *Journal of Trauma*, 54(5), S46-S51.
21. Mabry, R. L., Holcomb, J. B., Baker, A. M., Cloonan, C. C., Uhorchak, J. M., Perkins, D. E., Canfield, A. J. and Hagmann, J. H. (2000). United States Army Rangers in Somalia: an analysis of combat casualties on an urban battlefield. *Journal of Trauma*, 49(3), 515-529.
22. Holcomb, J., MacPhee, M., Hetz, S., Harris, R., Pusateri, A. and Hess, J. (1998). Efficacy of a dry fibrin sealant dressing for hemorrhage control after ballistic injury. *Archives of Surgery*, 133, 32-35.
23. Holcomb, J. B., Pusateri, A. E., Harris, R. A., Charles, N. C., Gomez, R. R., Cole, J. P., Beall, L. D., Bayer, V., MacPhee, M. J. and Hess, J. R. (1999). Effect of dry fibrin sealant dressings versus gauze packing on blood loss in grade V liver injuries in resuscitated swine. *Journal of Trauma*, 46(1), 49-57.
24. Chan, M. W., Schwaitzberg, S. D., Demcheva, M., Vournakis, J., Finkielstein, S., and Connolly, R. J. (2000). Comparison of poly-N-acetyl glucosamine (P-GlcNAc) with absorbable collagen (Actifoam), and fibrin sealant (Bolheal) for achieving hemostasis in a swine model of splenic hemorrhage. *Journal of Trauma*, 48, 454-458.
25. Grey, E. (1915). Fibrin as a hemostatic in cerebral surgery. *Surgery Gynecology and Obstetrics*, 21, 452-454.

26. Alam, H. B., Burris, D., DaCorta, J. A., Rhee, P. (2005). Hemorrhage control in the battlefield:role of new hemostatic agents. *Military Medicine*, 170, 63-69.
27. Wright, J. K., Kalns, J., Wolf, E. A., Traweek, F., Schwarz, S., Loeffler, C. K., Snyder, W., Yantis, L. D. and Eggers, J. (2004). Thermal injury resulting from application of a granular mineral hemostatic agent. *Journal of Trauma*, 57(2), 224-230.
28. Pusateri, A. E., Holcomb, J. B., Kheirabadi, B. S., Alam, H. B., Wade, C. E., and Ryan, K. L. (2006). Making sense of the preclinical literature on advanced hemostatic products. *Journal of Trauma*, 60, 674-682.
29. Emilia, M., Luca, S., Francesca, B., Luca, B., Paolo, S., Giuseppe, F., Gianbattista, B., Carmela, M., Luigi, M. and Mauro, L. (2011). Topical hemostatic agents in surgical practice. *Transfusion and Apheresis Science*, 45(3), 305-311.
30. Recinos, G., Kenji, I., Dubose, J., Demetriades, D. and Rhee, P. (2008). Local and systemic hemostatics in trauma: a review. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 14, 175-181.
31. Yılmaz, H. (2011). *Yeni Nesil Hemostatik Ajanlar*, Bitirme Tezi, T.C. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir.
32. Kheirabadi, B. S., Acheson, E. M., Deguzman, R., Sondeen, J. L., Ryan, K. L., Delgado, A., Dick, E. J. and Holcomb, J. B. (2005). Hemostatic efficacy of two advanced dressings in an aortic hemorrhage model in Swine. *Journal of Trauma*, 59(1), 25-35.
33. Keskin, Ö. (2010). *Kanama ve Pıhtılaşma Bozukluklarının Dişhekimliği Cerrahisindeki Önemi Ve Yeri*, Bitirme Tezi, T.C Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir.
34. İnternet: URL:  
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Ftr.wikipedia.org%2Fwiki%2FKan&date=2017-08-22> Son Erişim Tarihi: 22.08.2017.
35. İnternet: URL:  
[http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.phschool.com%2Fatschool%2Fflorida%2Fpdfbooks%2Fsci\\_Marieb%2Fpdf%2FMarieb\\_ch17.pdf&date=2017-08-22](http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.phschool.com%2Fatschool%2Fflorida%2Fpdfbooks%2Fsci_Marieb%2Fpdf%2FMarieb_ch17.pdf&date=2017-08-22) Son Erişim Tarihi: 22.08.2017.
36. İnternet:URL:  
[http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.kmtd.org.tr%2Fpdf%2FF4\\_3\\_11\\_kan\\_bilesenlerinin\\_tanimi.pdf&date=2017-08-22](http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.kmtd.org.tr%2Fpdf%2FF4_3_11_kan_bilesenlerinin_tanimi.pdf&date=2017-08-22), Son Erişim Tarihi: 22.08.2017.
37. İnternet: URL:  
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.dicle.edu.tr%2FContents%2Fe2fa2945-9886-45ed-98c0-15292d3727df.pdf&date=2017-08-22> Son Erişim Tarihi: 22.08.2017.
38. McNicol, A. and Gerrard, J. M. (1997). Platelet morphology, aggregation and secretion. *Advances in Molecular and Cell Biology*, 18, 1-29.

39. Kınacı, E. (2007). *Karaciğer Parenkim Kanamasında Kalsiyum Alginatın Etkinliği: Deneysel Çalışma*, Genel Cerrahi Tıpta Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üçüncü Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul.
40. Pototski, M. and Amenabar, J. (2007). Dental management of patients receiving anticoagulation or antiplatelet treatment. *Journal of Oral Science*, 4, 253-258.
41. Karabıyık, A. (2011). *Ankaferd ve Defibrotid'in Endotel Hücre Modelinde Endotelial Protein C Reseptörü (Epcr), Plazminojen Aktivatör İnhibitör-1 (Pai-1) ve Trombin Reseptörü (Par-1) Gen Ekspresyonları Üzerindeki Etkisinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
42. Colman, R. W., Hirch, J., Marder, V. J., Clowes, A. W. and George, J. N. (Editors). (2006). *Hemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice*. (Fourth edition). Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins.
43. Davie, E. W. and Ratnoff, O. D. (1964). Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science*, 15, 1310-1312.
44. Macfarlane, R. G. (1964). An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. *Nature*, 202, 498-499.
45. Jirapun, P. (2010). *Biomedical Application of Nanofiber*. Doctor of Philosophy, Chemistry, The University of Akron, Ohio, United States.
46. İnternet: URL:  
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fdergiler.ankara.edu.tr%2Fdergiler%2F11%2F580%2F7390.pdf&date=2017-08-22> Son Erişim Tarihi: 22.08.2017.
47. Partridge, C. G., Campbell, J. H. and Alvarado, F. (2008). The Effect of Platelet-Altering Medications on Bleeding From Minor Oral Surgery Procedures. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, 66, 93-97.
48. Guyton, A. C. and Hall, J. E. (2007). *Tıbbi Fizyoloji* (11. Baskı). Ankara: Nobel Yayıncılık, 457-467.
49. Plaisier, B. R. (2001). Surgical perspectives to control bleeding in trauma. *Seminars in Anesthesia, Perioperative Medicine and Pain*, 20, 11-17.
50. Guyton, A. C. and Hall, J. E. (2001). *Textbook of Medical Physiology*. (10th edition). Philadelphia:WB Saunders, 419-429.
51. Köybaşı, Ö. (2010). *Günümüz Dişhekimliğinde Kullanılan Hemostatik Maddeler*, Bitirme Tezi, T.C. Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir.
52. Guyton, A. C. and Hall, J. E. (1996). *Textbook of medical physiology. Hemostasis and blood coagulation*, (9. Edition). Philadelphia:WB Saunders company, 463-473.
53. Wang, W. Z., Guo, S. Z., Tsai, T. M. Anderson, G. L. and Miller, F. N. (2000). Platelet-activating factor contributes to postischemic vasospasm. *Journal of Surgical Research*, 89, 139-146.

54. Yılmaz, H. (2011). *Yeni Nesil Hemostatik Ajanlar*, Bitirme Tezi, T.C. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Hastalıkları Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir.
55. Weiss, H. J. (1975). Platelet physiology and abnormalities of platelet function (first of two parts). *The New England Journal of Medicine*, 293(11), 531-541.
56. Duygu, G. (2007). *Minör Oral Cerrahi İşlemlerde Antitrombosit İlaçların Kanama Üzerindeki Etkisinin Değerlendirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, İstanbul.
57. Blinder, D., Manor, Y., Martinowitz, U., Taicher, S. and Hashomer, T. (1999). Dental extractions in patients maintained on continued oral anticoagulant; comparison of local hemostatic modalities. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, 88(2), 137-140.
58. Nurden, P., Savi, P., Heilmann, E., Bihour, C., Herbert, J. M., Maffrand, J. P. and Nurden, A. (1995). An inherited bleeding disorder linked to a defective interaction between ADP and its receptor on platelets. Its influence on glycoprotein IIb-IIIa complex function. *The Journal of Clinical Investigation*, 95 (4), 1612-1622.
59. Kayaalp, O. (1990). Koagulasyon ve Hemostaz. *Tıbbi Farmakoloji* (Cilt 2, 5. Baskı). Ankara: Feryal Matbacılık, 1353-1421.
60. Koca, E., Haznedaroğlu, İ. C. and Büyükaşık, Y. (2007). Trombosit aktivasyonu. *Türkiye Klinikleri Journal of Cardiology*, 10, 82-90.
61. Johnson, B. S. and Mardirossian, G. (1998). *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*. (4th edition). St Louis: Mosby, 420-436.
62. Scoop, I. W. and Frederics, F. (1958). Dental Extraction In Patients Undergoing Anticoagulant Theraphy. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*, 11, 470-474.
63. Peper, W. A., Allor, D. R., Peterson, E. L. and Magilligan, D. J. (1986). Pigskin as a topical hemostat in arterial, liver, and splenic injuries. *Surgery*, 99, 557-563.
64. Mackman, N., Tilley, R. E. and Key, N. S. (2007). Role of the Extrinsic Pathway of Blood Coagulation in Hemostasis and Thrombosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 27, 1687-1693.
65. Roberts, H. R., Monroe, D. M., Oliver, J. A., Chang, J. Y. and Hoffman, M. (1998). Newer concepts of blood coagulation. *Hemophilia*, 4(4), 331-334.
66. Weitz, J. I. (1997). Low-molecular-weight heparins. *The New England Journal of Medicine*, 337(10), 688-698.
67. Colman, R. W., Hirsh, J. and Moider, V. J. (2004). *Hemostasis And Trombosis, Basic Principles And Clinical Practice*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 381-400.
68. Kerr, R., Stirling, D. and Ludlam, C.A. (2001). Interleukin 6 and haemostasis. *British Journal of Haematology*, 115, 3-12.

69. Versteeg, H. H., Peppelenbosch, M. P. and Spek, C. A. (2001). The pleiotropic effects of tissue factor: a possible role for factor VIIa-induced intracellular signalling?. *Thrombosis Haemostasis*, 86, 1353-1359.
70. Hoyer, L. W. (1981). The factor VIII complex: Structure and function. *Blood*, 58(1), 1-13.
71. Greenfield, L. (1994). Venous and lymphatic disease. *Principles of Surgery*, 6, 989-1014.
72. Ferhanoğlu, B. (2003). Hemostaz Mekanizması. *Kanama ve Tromboza Eğilim*, 36, 9-16.
73. Mann, K. G. (1999). Biochemistry and physiology of blood coagulation. *Thrombosis Haemostasis*, 82 (2), 165-174.
74. Liu, C. Y., Scott, C. F., Bagdasarian, A., Pierce, J. V., Kaplan, A. P. and Colman, R.W. (1977). Potentiation of the function of Hageman Factor fragments by high molecular weight kininogen. *The Journal of Clinical Investigation*, 60(1), 7-17.
75. Thompson, R. E., Mandle, R. and Kaplan, A. P. (1977). Association of Factor XI and High Molecular Weight Kininogen In Human Plasma. *The Journal of Clinical Investigation*, 60, 1376-1380.
76. Hultin, M. B. (1982). Role of human factor VIII in factor X activation. *The Journal of Clinical Investigation*, 69, 950-958.
77. Davie, E. W. and Ratnoff, O. D. (1964). Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science*, 145, 1310-1312.
78. Mann, K. G., Butenas, S. and Brummel, K. (2003). The dynamics of thrombin formation. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 23, 17-25.
79. Traver, M. A. and Assimos, D. G. (2006). New Generation Tissue Sealants and Hemostatic Agents: Innovative Urologic Applications. *Reviews In Urology*, 8(3), 104-111.
80. Samudrala, S. (2008). Topical Hemostatic Agents in Surgery: A Surgeon's Perspective. *Association of periOperative Registered Nurses Journal*, 88(3), S1-S11.
81. Levi, M., de Jonge, E., van der Poll, T. and ten Cate, H. (1999). Disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis Haemostasis*, 82, 695-705.
82. Spronk, H. M, Govers-Riemslog, J. W. and Cate, H. (2003). The blood coagulation system as a molecular machine. *Bioessays*, 25, 1220-1228.
83. İnternet: URL:  
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.kanamadurdurucu.org&date=2017-08-22> Son Erişim Tarihi: 22.08.2017.
84. Büyüköztürk, K. (2007). *İç Hastalıkları cilt-1*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 743-768.

85. Erol, Ç. (2008). *İç Hastalıkları cilt-1*. Ankara: MN Medikal&Nobel Tıp Kitabevleri, 747-760 .
86. Cesarman-Maus, G. and Hajjar, K. A. (2005). Molecular mechanisms of fibrinolysis. *British Journal of Haematology*, 129 (3), 307-321.
87. Mosnier, L. O. and Bouma, B. N. (2006). Regulation of fibrinolysis by thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, an unstable carboxypeptidase B that unites the pathways of coagulation and fibrinolysis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 26 (11), 2445-2453.
88. Wiman, B. and Collen, D. (1978). Molecular mechanism of physiological fibrinolysis. *Nature*, 272 (5653), 549-550.
89. Pekcan, M. and Eryılmaz, M. (2006). Travma olgularında güncel hemostaz seçenekleri. *GESDAV Bilimsel Yayınları*, 1, 34-35.
90. Duman, S. and Senel, S. (2004). Chitosan and Its Applications in Veterinary Medicine. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 10(3-4), 62-72.
91. Achneck, H. E., Sileshi, B., Jamiolkowski, R. M., Albala, D. M., Shapiro, M. L. and Lawson, J. H. (2010). A Comprehensive Review of Topical Hemostatic Agents Efficacy and Recommendations for Use. *Annals of Surgery*, 251(2), 217-228.
92. Kulling, D., Vournakis, J. N., Woo, S., Demcheva, M. V., Tagge, D. U., Rios, G., Finkielstein, S. and Hawes, R. H. (1999). Endoscopic injection of bleeding esophageal varices with a poly-N-acetyl glucosamine gel formulation in the canine portal hypertension model. *Gastrointestinal Endoscopy*, 49(6), 764-771.
93. Rao, S. B. and Sharma, C. P. (1997). Use of chitosan as a biomaterial: Studies on its safety and hemostatic potential. *Journal of Biomedical Materials Research*, 34, 21-28.
94. Kunio, N. R. and Schreiber, M. A. (2013). Topical Hemostatic Agents. *In Consultative Hemostasis and Thrombosis*. (Third Edition). 538-545.
95. Achneck, H. E., Sileshi, B., Jamiolkowski, R. M., Albala, D. M., Shapiro, M. L. and Lawson, J. H. (2010). A Comprehensive Review of Topical Hemostatic Agents Efficacy and Recommendations for Use. *Annals of Surgery*, 251(2), 217-228.
96. Palm, M. D. and Altman, J. S. (2008). Topical hemostatic agents: a review. *Dermatologic Surgery*, 34, 431-445.
97. Neuffer, M. C., McDivitt, J., Rose, D., King, K., Cloonan, C. C. and Vayer, J. S. (2004). Hemostatic dressings for the first responder: a review. *Military Medicine*, 169(9), 716-720.
98. McManus, J. G. and Wedmore, I. (2005). Modern hemostatic agents for hemorrhage control-a review and discussion of use in current combat operations (business briefing). *Emergency Medicine Critical Care*, 75-79.



99. Ikeda, Y., Young, L. H., Vournakis, J. N. and Lefer, A. M. (2002). Vascular effects of poly-N-acetylglucosamine in isolated rat aortic rings. *Journal of Surgical Research*, 102(2), 215-220.
100. Schwaitzberg, S. D., Chan, M. W., Cole, D. J., Read, M., Nichols, T., Bellinger, D., and Connolly, R. J. (2004). Comparison of poly-N-acetyl glucosamine with commercially available topical hemostats for achieving hemostasis in coagulopathic models of splenic hemorrhage. *Journal of Trauma-Injury, Infection and Critical Care*, 57(1), S29-S32.
101. Tsai, G. J. and Su, W. H. (1999). Antibacterial activity of shrimp chitosan against *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*, 62, 239-243.
102. Rabea, E. L., Badawy, M. E., Stevens, C. V., Smagghe, G. and Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4, 1457-1465.
103. Burkatovskaya, M., Castano, A. P., Demidova-Rice, T. N., Tegos, G. P. and Hamblin, M. R. (2008). Effect of chitosan acetate bandage on wound healing in infected and noninfected wounds in mice. *Wound Repair and Regeneration*, 16, 425-431.
104. Burkatovskaya, M., Tegos, G. P., Swietlik, E., Demidova, T. N., Castano, P. A. and Hamblin, M. R. (2006). Use of chitosan bandage to prevent fatal infections developing from highly contaminated wounds in mice. *Biomaterials*, 27, 4157-4164.
105. Gu, R., Sun, W., Zhou, H., Wu, Z., Meng, Z., Zhu, X., Tang, Q., Dong, J. and Dou, G. (2010). The performance of a fly-larva shell-derived chitosan sponge as an absorbable surgical hemostatic agent. *Biomaterials*, 31(6), 1270-1277.
106. Pusateri, A. E., Holcomb, J. B., Kheirabadi, B. S., Alam, H. B., Wade, C. E. and Ryan, K. L. (2006). Making Sense of the Preclinical Literature on Advanced Hemostatic Products. *Journal of Trauma*, 60(3), 674-682.
107. Pusateri, A. E., McCarthy, S. J., Gregory, K. W., Harris, R. A., Cardenas, L., McManus, A. T. and Goodwin, C. W. Jr. (2003). Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *Journal of Trauma*, 54, 177-182.
108. Wedmore, I., McManus, J. G., Pusateri, A. E. and Holcomb, J. B. (2006). A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations. *Journal of Trauma*, 60, 655-658.
109. Balçık, E. (2009). *Oral cerrahide antikuagülan kullanan hastalarda yaklaşım ve yeni uygulamalar*, Bitirme tezi, E.Ü Diş Hekimliği Fakültesi.
110. Devlin, J. J., Kircher, S., Kozen, B. G., Littlejohn, L. F. and Johnson, A. S. (2011). Comparison of ChitoFlex®, Celox™, and QuikClot® in control of hemorrhage. *Journal of Emergency Medicine*, 41 (3), 237-245.
111. Holcomb, J. B., Pusateri, A. E., Harris, R. A., Reid, T. J., Beall, L. D., Hess, J. R. and MacPhee, M. J. (1999). Dry fibrin sealant dressings reduce blood loss,

- resuscitation volume, and improve survival in hypothermic coagulopathic swine with grade V liver injuries. *Journal of Trauma*, 47(2), 233-242.
112. Jackson, M. R., Friedman, S. A., Carter, A. J., Bayer, V., Burge, R., MacPhee, M. J., Drohan, W. N. and Alving, B. M. (1997). Hemostatic efficacy of a fibrin sealant-based topical agent in a femoral artery injury model: A randomized, blinded, placebo-controlled study. *Journal of Vascular Surgery*, 26(2), 274-280.
  113. Arnaud, F., Tomori, T., Saito, R., McKeague, A., Prusaczyk, W. K. and McCarron, R. M. (2007). Comparative efficacy of granular and bagged formulations of the hemostatic agent QuikClot. *Journal of Trauma*, 63(4), 775-782.
  114. Internet: URL:  
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.quikclot.com%2F.&date=2017-11-15> Son Erişim Tarihi:15.11.2017.
  115. Kozen, B. G., Kircher, S. J., Henao, J., Godinez, F. S. and Johnson, A. S. (2008). An alternative hemostatic dressing: comparison of CELOX, HemCon, and QuikClot. *Academic Emergency Medicine*, 15(1), 74-81.
  116. Ochsner, M. G., Maniscalco-Theberge, M. E. and Champion, H. R. (1990). Fibrin glue as a hemostatic agent in hepatic and splenic trauma. *Journal of Trauma*, 30, 884-887.
  117. Brands, W., Haselberger, J., Mennicken, C. and Hoerst, M. (1983). Treatment of ruptured kidney by gluing with highly concentrated human fibrinogen. *Journal of Pediatric Surgery*, 18, 611-613.
  118. Seguin, J. R., Frapier, J. M., Colson, P. and Chaptal, P. A. (1992). Fibrin sealant for early repair of acquired ventricular septal defect. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 104, 748-751.
  119. Marchac, D. and Renier, D. (1990). Fibrin glue in craniofacial surgery. *Journal of Craniofacial Surgery*, 1, 32-34.
  120. Acheson, E. M., Kheirabadi, B. S., Deguzman, R., Dick, E. J. Jr. and Holcomb, J. B. (2005). Comparison of hemorrhage control agents applied to lethal extremity arterial hemorrhages in swine. *Journal of Trauma*, 59, 865-875.
  121. Rhee, P., Brown, C., Martin, M., Salim, A., Plurad, D., Green, D., Chambers, L., Demetriades, D., Velmahos, G. and Alam, H. (2008). QuikClot use in trauma for hemorrhage control: case series of 103 documented uses. *Journal of Trauma*, 64, 1093-1099.
  122. Kheirabadi, B. S., Scherer, M. R., Estep, J. S., Dubick, M. A. and Holcomb, J. B. (2009). Determination of efficacy of new hemostatic dressings in a model of extremity arterial hemorrhage in swine. *Journal of Trauma*, 67, 450-460.
  123. Kheirabadi, B. S., Mace, J. E., Terrazas, I. B., Fedyk, C. G., Estep, J. S., Dubick, M. A. and Blackbourne, L. H. (2010). Safety evaluation of new hemostatic agents, smectite granules, and kaolin-coated gauze in a vascular injury wound model in swine. *Journal of Trauma*, 68, 269-278.

124. Kheirabadi, B. S., Mace, J. E., Terrazas, I. B., Fedyk, C. G., Valdez, K. K., MacPhee, M. J., Beall, D., Estep, J. S., Dubick, M. A. and Blackburne, L. H. (2010). Clot-inducing minerals versus plasma protein dressing for topical treatment of external bleeding in the presence of coagulopathy. *Journal of Trauma*, 69, 1062-1073.
125. Frantz, V. K.. (1943). Absorbable cotton, paper and gauze: (oxidized cellulose). *Annals of Surgery*, 118, 116-126.
126. Tomizawa, Y. (2005). Clinical benefits and risk analysis of topical hemostats: a review. *Journal of Artificial Organs*, 8, 137-142.
127. Kayaalp, O. (1982). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Ankara:Nüve Matbaası, 51, 1055-1069.
128. Ibarrola, J. L., Bjorenson, J. E., Austin, B. P. and Gerstein, H. (1985). Osseous reactions to three hemmostatic agents. *Journal of Endodontics*, 11, 75-83.
129. Ertürk, S. (1978). Aviten ve Surgicel'in hemostazis ve kemik iyileştirmelerine etkileri, *E.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 3(4), 381-411.
130. Abbott, W. M. and Austen, W. G. (1975). The effectiveness and mechanism of collagen induced topical hemostasis. *Surgery*, 78, 723-729.
131. Agus, G. B., Bono, A. V., Mira, E., Olivero, S., Peilowich, A., Homdrum, E. and Benelli, C. (1996). Hemostatic efficacy and safety of TachoComb in surgery. Ready to use and rapid hemostatic agent. *International Surgery*, 81, 316-319.
132. Sileshi, B. (2008). Management of surgical hemostasis: topical agents. *Vascular*, 16(1), S22-S28.
133. Richter, F., Schnorr, D., Deger, S., Trk, I., Roigas, J., Wille, A. and Loening, S. A. (2003). Improvement of hemostasis in open and laparoscopically performed partial nephrectomy using a gelatin matrix-thrombin tissue sealant (FloSeal). *Urology*, 61, 73-77.
134. Howard, S. (1970). Bone Wax as an effectice hemostat in periapical surgery. *Oral Surgery*, 29, 262-264.
135. Wellisz, T., Armstrong, J. K., Cambridge, J., An, Y. H., Wen, X., Kang, Q., Hill, C. M. and Fisher, T. C. (2008). The effects of a soluble polymer and bone wax on sternal healing in an animal model. *The Annals of Thoracic Surgery*, 85, 1776-1780.
136. Cipil, H. S., Kosar, A., Kaya, A., Uz, B., Haznedaroglu, I. C., Goker, H., Ozdemir, O., Koroglu, M., Kirazli, S. and Firat, H. C. (2009). In Vivo Hemostatic Effect of the Medicinal Plant Extract Ankaferd Blood Stopper in Rats Pretreated With Warfarin. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 15(3), 270-276.
137. İnternet: URL:  
<http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Ftr.wikipedia.org%2Fwiki%2FBiyomedikal&date=2017-08-22> Son Erişim Tarihi:22.08.2017.

138. Özalp, Y. and Özdemir, N. (1996). Biyomateryaller ve Biyouyumluluk. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 25(2), 57-72.
139. Gümüşdereioğlu, M. (Temmuz 2002). Biyomalzemeler. *Bilim ve Teknik*, 1-23.
140. Pasinli, A. (2004). Biyomedikal Uygulamalarda Kullanılan Biyomalzemeler. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4, 25-34.
141. Mutlu, B. and Kurt, M. (Nisan 2005). Kırık Kemik Tedavilerinde Kullanılan Fiksatorlerin Mekanik Özellikleri Ve Üç Değişik Malzemeden Yapılmış Halka Tipi Fiksatorlerin Mekanik Testleri. *Mühendis ve Makine*, 46(543), 29-38.
142. Peter, M. G. (2005). Chitin and chitosan from animal sources. *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry*; Steinbüchel, A. and Rhee, S. K., (Editors). Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH Weinheim, 115-208.
143. Nygaard, J. N., Strand, P. S., Vårum, K. M., Draget, K. I. and Nordgård, C. T. (2015). Chitosan: Gels and Interfacial Properties. *Polymers*, 7, 552-579.
144. Luo, Y. and Wang, Q. (2014). Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, 64, 353-367.
145. Tsuchida, E. and Abe, K. (1982). Interactions between macromolecules in solution and intermolecular complexes. *Advances in Polymer Science*, 45, 1-119.
146. Sæther, H. V., Holme, H. K., Maurstad, G., Smidsrød, O. and Stokke, B. T. (2008). Polyelectrolyte complex formation using alginate and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 74, 813-821.
147. Pillai, C. K. S., Paul, W. and Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*, 34, 641-678.
148. Kumirska, J., Weinhold, M. X., Thöming, J. and Stepnowski, P. (2011). Biomedical Activity of Chitin/Chitosan Based Materials-Influence of Physicochemical Properties Apart from Molecular Weight and Degree of *N*-Acetylation. *Polymers*, 3, 1875-1901.
149. Elsabee, M. Z., Morsi, R. E. and Al-Sabagh, A. M. (2009). Surface active properties of chitosan and its derivatives. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces*, 74, 1-16.
150. Strand, S. P., Tømmeraas, K., Vårum, K. M. and Østgaard, K. (2001). Electrophoretic light scattering studies of chitosans with different degrees of *N*-acetylation. *Biomacromolecule*, 2, 1310-1314.
151. Vårum, K. M., Ottøy, M. H., Smidsrød, O. (1994). Water-solubility of partially *N*-acetylated chitosans as a function of pH: Effect of chemical composition and depolymerisation. *Carbohydrate Polymers*, 25, 65-70.
152. Kim, E., Xiung, Y., Cheng, Y., Wu, H. C., Liu, Y., Morrow, B. H., Ben-Yoav, H., Ghodssi, R., Rubloff, G. W., Shen, J., Bentley, W. E., Shi, X. and Payne, G. F. (2015).

- Chitosan to connect biology to electronics: Fabricating the bio-device interface and communicating across this interface. *Polymers*, 7, 1-46.
153. Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M. and Chiellini, E. (2011). Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 36, 981-1014.
154. Vårum, K. M., Holme, H. K., Izume, M., Torger Stokke, B. and Smidsrød, O. (1996). Determination of enzymatic hydrolysis specificity of partially *N*-acetylated chitosans. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1291, 5-15.
155. Nordtveit, R. J., Vårum, K. M. and Smidsrød, O. (1996). Degradation of partially *N*-acetylated chitosans with hen egg white and human lysozyme. *Carbohydrate Polymers*, 29, 163-167.
156. Onishi, H. and Machida, Y. (1999). Biodegradation and distribution of water-soluble chitosan in mice. *Biomaterials*, 20, 175-182.
157. Demir, A. and Seventekin, N. (2009). Chitin, Chitosan and General Application Areas. *Electronic Journal of Textile Technologies*, 392-103.
158. Bostan, K., Aldemir, T. and Aydın, A. (2007). Chitosan and its antimicrobial activity. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37(2), 118-127.
159. Entsar, I. R., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G. and Steurbaut, W. (2003). Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action. *BioMacromolecules*, 4, 1457-1465.
160. Vinsova, J. and Vatrikova, E. (2008). Recent Advances in Drugs and Prodrugs Design of Chitosan. *Current Pharmaceutical Design*, 14, 1311-1326.
161. Sahoo, D., Sahoo, S., Mohanty, P., Sasmal, S. and Nayak, P. L. (2009). Chitosan: a New Versatile Bio-polymer for Various Applications. *Designed Monomers and Polymers*, 12, 377-404.
162. Prashanth, K. V. H. and Tharanathan, R. N. (2007). Chitin/Chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 117-131.
163. No, H. K., Park, N. Y., Lee, S. H. and Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 65-72.
164. Ravikumar, M. N. V. (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, 46, 1-27.
165. Shigemasa, Y. and Minami, S. (1995). Applications of chitin and chitosan for biomaterials. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 13, 383-420.
166. Singla, A. K. and Chawla, M. (2001). Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects-an update. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53, 1047-1067.

167. Senel, S., Kas, H. S., Squier, C. A., (2000). Application of chitosan in dental drug delivery and therapy, in: R. A. A. Muzzarelli (Ed), *Chitosan per os: From Dietary Supplement to Drug Carrier*, Atec, Grottammare, Italy, 241-256.
168. Mucha, M. (1998). Rheological properties of chitosan blends with poly(ethylene oxide) and poly(vinyl alcohol) in solution. *Reactive & Functional Polymers*, 38, 19-25.
169. Grebennikov, S. F., Vnuchkin, A. V. and Sashina, E. S. (2010). Thermodynamic Features of Mixing of Chitosan with Polyvinyl Alcohol and Polyethylene Oxide. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 8(7), 1189-1195.
170. Bonilla, J., Fortunati, E., Atares, L., Chiralt, A. and Kenny, J. M. (2014). Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463-470.
171. Kittur, F. S., Kumar, K. R. and Tharanathan, R. N. (1998). Functional packaging properties of chitosan films. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 206(1), 44-47.
172. Tripathi, S., Mehrotra, G. K. and Dutta, P. K. (2009). Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan-PVA film for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45(4), 372-376.
173. Vimala, K. (2011). Fabrication of curcumin encapsulated chitosan-PVA silver nanocomposite films for improved antimicrobial activity. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 02(01), 55-64.
174. Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K. and Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4), 1173-1182.
175. Pereira, V. A., Arruda, I. N. Q. and Stefani, R. (2015). Active chitosan/PVA films with anthocyanins from Brassica oleraceae (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids*, 43, 180-188.
176. Gupta, B., Agarwal, R. and Alam, M. S. (2013). Preparation and Characterization of Polyvinyl Alcohol-Polyethylene Oxide-Carboxymethyl Cellulose Blend Membranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 1301-1308.
177. Costa, E. S. and Mansur, H. S. (2008). Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(alcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. *Química Nova*, 31, 1460-1466.
178. Ginani, F., Navarro, M. V., Nascimento, E. G. and Oliveira, U. O. B. (1999). Estudo da influencia da natureza de reticulantes aditivos organicos sobre o comportamento de filmes de quitosana. *Química Nova*, 22, 801-804.
179. Broekema, F. I., van Oeveren, W., Zuidema, J., Visscher, S. H. and Bos, R. R. M. (2011). In vitro analysis of polyurethane foam as a topical hemostatic agent. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 22, 1081-1086.

180. Chen, C., Liu, L., Huang, T., Wang, Q. and Fang, Y. (2013). Bubble template fabrication of chitosan/poly(vinyl alcohol) sponges for wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 188-193.
181. Behrens, A. M., Sikorski, M. J., Li, T., Wu, Z. J., Griffith, B. P., Kofinas, P. (2014). Blood-aggregating hydrogel particles for use as a hemostatic agent. *Acta Biomaterialia*, 10, 701-708.
182. Periyah, M. H., Halim, A. S., Hussein, A. R., Saad, A. Z. M., Rashid, A. H. A., Noorsal, K. (2013). In vitro capacity of different grades of chitosan derivatives to induce platelet adhesion and aggregation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 52, 244-249.
183. Rahmany, M. B., Hantgan, R. R. and Dyke, M. V. (2013). A mechanistic investigation of the effect of keratin-based hemostatic agents on coagulation. *Biomaterials*, 34, 2492-2500.
184. Song, H. F., Chen, A. Z., Wang, S. B., Kang, Y. Q., Ye, S. F., Liu, Y. G. and Wu, W. G. (2014). Preparation of Chitosan-Based Hemostatic Sponges by Supercritical Fluid Technology. *Materials*, 7, 2459-2473.
185. Nie, W., Yuan, X., Zhao, J., Zhou, Y. and Bao, H. (2013). Rapidly in situ forming chitosan/ε-polylysine hydrogels for adhesive sealants and hemostatic materials. *Carbohydrate Polymers*, 96, 342-348.
186. He, Q., Gong, K., Ao, Q., Ma, T., Yan, Y., Gong, Y. and Zhang, X. (2013). Positive charge of chitosan retards blood coagulation on chitosan films. *Journal of Biomaterials Applications*, 27, 1032-1045.
187. Pandima, D. M., Sastry, T. P. and Meignanalakshmi, S. (2012). Preparation and characterization of fibrin-chitosan composite and its in vivo studies. *International Organization of Scientific Research Journal of Pharmacy*, 2(6), 21-32.
188. Wattanuchariya, W. and Changkowchai, W. (2012). Development of Hemostatic Agent from Local Material. *Proceedings of the Asia Pacific Industrial Engineering and Management Systems Conference*, 1184-1189.
189. Dowling, M. B., Kumar, R., Keibler, M. A., Hess, J. R., Bochicchiod, G. V. and Raghavan, S. R. (2011). A self-assembling hydrophobically modified chitosan capable of reversible hemostatic action. *Biomaterials*, 32, 3351-3357.
190. Gu, R., Sun, W., Zhou, H., Wu, Z., Meng, Z., Zhu, X., Tang, Q., Dong, J. and Dou, G. (2010). The performance of a fly-larva shell-derived chitosan sponge as an absorbable surgical hemostatic agent. *Biomaterials*, 31, 1270-1277.
191. Alfars, A. A. and Khashjoori, B. K. (2008). Evaluation of effectiveness of chitosan hydrogel as haemostatic from dorsal nasal veins in rabbits. *Basrah Journal of Veterinary Research*, 7(1), 19-25.
192. Lih, E., Lee, J. S., Park, K. M. and Park, K. D. (2012). Rapidly curable chitosan-PEG hydrogels as tissue adhesives for hemostasis and wound healing. *Acta Biomaterialia*, 8, 3261-3269.

193. Gu, B. K., Park, S. J., Kim, M. S., Kang, C. M., Kim, J. I. and Kim, C. H. (2013). Fabrication of sonicated chitosan nanofiber mat with enlarged porosity for use as hemostatic materials. *Carbohydrate Polymers*, 97, 65-73.
194. Aiyuan, Z., Taoyuan, W., Min, Y. and Hongwei, L. (2011). Effects of chitosan-TPP nanoparticles on hepatic tissue after severe bleeding. *Journal of Medical Colleges of PLA*, 26, 283-292.
195. Baik, S. H., Kim, J. H., Cho, H. H., Park, S. N., Kim, Y. S. and Suh, H. (2010). Development and Analysis of a Collagen-Based Hemostatic Adhesive. *Journal of Surgical Research*, 164, 221-228.
196. Dai, C., Liu, C., Wei, J., Hong, H. and Zhao, Q. (2010). Molecular imprinted macroporous chitosan coated mesoporous silica xerogels for hemorrhage control. *Biomaterials*, 31, 7620-7630.
197. Kheirabadi, B. S., Sieber, J., Bukhari, T., Rudnicka, K., Murcin, L. A. and Tuthill, D. (2008). High-Pressure Fibrin Sealant Foam: An Effective Hemostatic Agent for Treating Severe Parenchymal Hemorrhage. *Journal of Surgical Research*, 144, 145-150.
198. Kabiri, M., Emami, S. H., Rafinia, M. and Tahriri, M. (2011). Preparation and characterization of absorbable hemostat crosslinked gelatin sponges for surgical applications. *Current Applied Physics*, 11, 457-461.
199. Wang, X., Yan, Y. and Zhang, R. (2006). A Comparison of Chitosan and Collagen Sponges as Hemostatic Dressings. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 21, 39-54.
200. Stęplewski, W., Wawro, D., Niekraszewicz, A. and Ciecchańska, D. (2006). Research into the Process of Manufacturing Alginate-Chitosan Fibres. *Fibres and Textiles in Eastern Europe*, 4(58), 25-31.
201. Lan, G., Lu, B., Wang, T., Wang, L., Chen, J., Yu, K., Liu, J., Dai, F. and Wu, D., (2015). Chitosan/gelatin composite sponge is an absorbable surgical hemostatic agent. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 136, 1026-1034.
202. Huang, Y., Feng, L., Zhang, Y., He, L., Wang, C., Xu, J., Wu, J., Kirk, T. B., Guo, R. and Xue, W. (2017). Hemostasis mechanism and applications of N-alkylated chitosan sponge. *Polymers Advanced Technologies*, 28(9), 1107-1114.
203. Periyah, M. H., Halim, A. S., Hussein, A. R., Saad, A. Z. M., Rashid, A. H. A., Noorsal, K. (2014). In Vitro Comparative Coagulation Studies Of Novel Biodegradable N,O-Carboxymethylchitosan (NO-CMC) And Oligo-Chitosan (O-C). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5 (11), 4689-4698.
204. Chan, L. W., Kim, C. H., Wang, X., Pun, S. H., White, N. J. and Kim, T. H. (2016). PolySTAT-modified chitosan gauzes for improved hemostasis in external hemorrhage. *Acta Biomaterialia*, 31, 178-185.



205. Huang, X., Sun, Y., Nie, J., Lu, W., Yang, L., Zhang, Z., Yin, H., Wang, Z. and Hu, Q. (2015). Using absorbable chitosan hemostatic sponges as a promising surgical dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 322-329.
206. İnternet: Doğanay, Tanver. Kurutma. URL: [http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fekutuphane.teb.org.tr%2Fpdf%2Ftebakademi%2Fmodern\\_farmasotk%2F5.pdf&date=2017-08-22](http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fekutuphane.teb.org.tr%2Fpdf%2Ftebakademi%2Fmodern_farmasotk%2F5.pdf&date=2017-08-22) Son Erişim Tarihi:22.08.2017.
207. İnternet: URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Ffreeze-drying.com%2Ffreeze-dryers%2Fgeneral-principles-of-freeze-drying%2F&date=2017-08-22> Son Erişim Tarihi: 22.08.2017.
208. Huang, W., Shi, X. T., Ren, L., Du, C. and Wang, Y. J. (2010). PHBV microspheres-PLGA matrix composite scaffold for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 31, 4278-4285.
209. Jiankang, H., Dichen, L., Yaxiong, L., Bo, Y., Bingheng, L. and Qin, L. (2007). Fabrication and characterization of chitosan/gelatin porous scaffolds with predefined internal microstructures. *Polymer*, 48, 4578-4588.
210. Pei, H. N., Chen, X. G., Li, Y. and Zhou, H. Y. (2007). Characterization and ornidazole release in vitro of a novel composite film prepared with chitosan/poly(vinyl alcohol)/alginate. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 566-572.
211. Denkbaz, E. B., Oztürk, E., Ozdemir, N., Keçeci, K. and Agalar, C. (2004). Norfloxacin-loaded chitosan sponges as wound dressing material. *Journal of Biomaterials Applications*, 18, 291-303.
212. Imani, R., Rafienia, M. and Emami, S. H. (2013). Synthesis and characterization of glutaraldehyde-based crosslinked gelatin as a local hemostat sponge in surgery: An in vitro study. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 23, 211-224.
213. Hardy, C., Johnson, E. L., Luksch, P. (July, 2009). *Hemostatic Material*. United States Patent Application Publication, US 2009/0186851 A1.
214. Jang, D. H., Weaver, M. D. and Pizon, A. F. (2013). In vitro study of N-acetylcysteine on coagulation factors in plasma samples from healthy subjects. *Journal of Medical Toxicology*, 9, 49-53.
215. Tibbs, R. F., Elghetany, M. T., Tran, L. T., Bonn, W. V., Romano, T. and Cowan, D. F. (2005). Characterization of the coagulation system in healthy dolphins: The coagulation factors, natural anticoagulants, and fibrinolytic products. *Comparative Clinical Pathology*, 14, 95-98.
216. Lin, W. C., Yu, D. G. and Yang, M. C. (2005). Blood compatibility of thermoplastic polyurethane membrane immobilized with water-soluble chitosan/dextran sulfate. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 44, 82-92.
217. Asmis, L. M., Sulzer, I., Furlan, M. and Lammle, B. (2002). Prekallikrein deficiency: the characteristic normalization of the severely prolonged APTT following

- increased preincubation time is due to autoactivation of factor XII. *Thrombosis Research*, 105, 463-470.
218. Miale, J. B. (1982) . *Laboratory medicine hematology*. (Sixth edition). St. Louis: CV Mosby.
  219. Romani, A. A., Ippolito, L., Riccardi, F., Pipitone, S., Morganti, M., Baroni, M. C., Borghetti, A. F. and Bettini, R. (2013). In vitro blood compatibility of novel hydrophilic chitosan films for vessel regeneration and repair. *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*, 157-175.
  220. Xiong, L. F. and Li, S. R. (2003). *Basis of Clinical Examination*. (3rd edition). Beijing: People's Medical Publishing House, 88-93.
  221. Jaeger, B. R. and Labarrere, C. A. (2003). Fibrinogen and atherothrombosis: Vulnerable plaque or vulnerable patient?. *Herz*, 28(6), 530-538.
  222. Zhang, W., Sun, Y. L. and Chen, D. H. (2014). Effects of Chitin and Sepia Ink Hybrid Hemostatic Sponge on the Blood Parameters of Mice. *Marine Drugs*, 12, 2269-2281.
  223. EN ISO 10993-4:2009, *Biological Evaluation of Medical Devices-Part 4: Selection of tests for interactions with blood*.
  224. ASTM F 756-00, *Standard practice for assessment of hemolytic properties of materials*.
  225. ASTM E2149-13, *Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions*.
  226. Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. (1998). *Principles of Instrumental Analysis*. (5<sup>th</sup> edition). London: Saunders College Publishing, 798-808, 546 -553.
  227. Yavuz, H. (2007). *Plazma polimerizasyon yöntemiyle polimerik malzemelere yanmazlık özelliğinin kazandırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 32-43.
  228. Atkins, R.C. and Carey, F.A. (1997). *Organic Chemistry: A Brief Course*. (Second Edition). The McGraw-Hill Companies, 490, 491, 516, 517, 520.
  229. Toğrul, T. (Editör). (1995). *İnstrümental Analiz*. Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü, 101-117.
  230. Nasir, N. F. M., Zain, N. M., Raha, M. G. and Kadri, N. A. (2005). Characterization of Chitosan-poly (Ethylene Oxide) Blends as Haemodialysis Membrane. *American Journal of Applied Sciences*, 2 (12), 1578-1583.
  231. Amiji, M. (1995). Permeability and blood compatibility properties of chitosan-poly (ethylene oxide) blend membranes for haemodialysis. *Biomaterials*, 16, 593-599.
  232. Yang, L., Tanabe, K., Miura, T., Yoshinari, M., Takemoto, S., Shintani, S. and Kasahara, M. (2017). Influence of lyophilization factors and gelatin concentration on

- pore structures of atelocollagen/gelatin sponge biomaterial. *Dental Materials Journal*, 36(4), 429-437.
233. Hottot, A., Vessot, S. and Andrieu, J. (2007). Freeze drying of pharmaceuticals in vials: Influence of freezing protocol and sample configuration on ice morphology and freeze-dried cake texture. *Chemical Engineering and Processing*, 46, 666-674.
234. Haugh, M. G., Murphy, C. M. and O'Brien, F. J. (2010). Novel Freeze-Drying Methods to Produce a Range of Collagen–Glycosaminoglycan Scaffolds with Tailored Mean Pore Sizes. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 16(5), 887-894.
235. Petrauskaite, O., Juodzbaly, G., Viskelis, P. and Liesiene, J. (2016). Control Of The Porous Structure Of Cellulose-Based Tissue Engineering Scaffolds By Means Of Lyophilization. *Cellulose Chemistry And Technology*, 50(1), 23-30.
236. Göker, H., Haznedaroğlu, I. C., Erçetin, S., Kirazlı, S., Akman, U., Öztürk, Y. and Fırat, H. C. (2008). Haemostatic Actions of the Folkloric Medicinal Plant Extract Ankaferd Blood Stopper. *The Journal of Internation Medicinal Research*, 36, 163-170.
237. Wua, S., Huang, Z., Yue, J., Liu, D., Wang, T., Ezanno, P., Ruan, C., Zhao, X., Lu, W. W. and Pan, H. (2015). The efficient hemostatic effect of Antarctic krill chitosan is related to its hydration property. *Carbohydrate Polymers*, 132, 295-303.
238. Yu, F. T. H., Armstrong, J. K., Tripette, J., Meiselman, H. J. and Cloutier, G. (2011). A local increase in red blood cell aggregation can trigger deep vein thrombosis: Evidence based on quantitative cellular ultrasound imaging. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 9(3), 481-488.
239. Zhang, J. L., Xia, W. S., Liu, P., Cheng, Q. Y., Tahirou, T., Gu, W. X., and Li, B. (2010). Chitosan modification and pharmaceutical/biomedical applications. *Marine Drugs*, 8(7), 1962-1987.
240. Okamoto, Y., Yano, R., Miyatake, K., Tomohiro, I., Shigemasa, Y. and Minami, S. (2003). Effects of chitin and chitosan on blood coagulation. *Carbohydrate Polymers*, 53(3), 337-342.
241. Yang, J., Tian, F., Wang, Z., Wang, Q., Zeng, Y. J. and Chen, S. Q. (2008). Effect of chitosan molecular weight and deacetylation degree on hemostasis. *Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials*, 84(1), 131-137.
242. Shawky, H. A. (2009). Synthesis of Ion-Imprinting Chitosan/PVA Crosslinked Membrane for Selective Removal of Ag(I). *Journal of Applied Polymer Science*, 114, 2608-2615.
243. Li, D., Li, P., Zang, J. and Liu, J. (2012). Enhanced Hemostatic Performance of Tranexamic Acid-Loaded Chitosan/Alginate Composite Microparticles. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1-9.
244. Alhosseini, S. N., Moztafzadeh, F., Mozafari, M., Asgari, S., Dodel, M., Samadikuchaksaraei, A., Kargozar, S. and Jalali, N. (2012). Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by

- blending with chitosan for neural tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 25-34.
245. Wan, Y., Lu, X., Dalai, S. and Zhang, J. (2009). Thermophysical properties of polycaprolactone/chitosan blend membranes. *Thermochimica Acta*, 487, 33-38.
246. Cheng, F., Gao, J., Wang, L. and Hu, X. (2015). Composite chitosan/poly(ethylene oxide) electrospun nanofibrous mats as novel wound dressing matrixes for the controlled release of drugs. *Journal of Applied Polymer Science*, 1-8.
247. Wang, T., Turhan, M., Gunasekaran, S. (2004). Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan-poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Polymer International*, 53(7), 911-918.
248. Shigemasa, Y., Matsuura, H., Sashiwa, H. and Saimoto, H. (1996). Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 18(3), 237-242.
249. Mansur, H. S., Sadahira, C. M., Souza, A. N. and Mansur, A. A.P. (2008). FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde. *Materials Science and Engineering C*, 28(4), 539-548.
250. Anicuta, S. G., Dobre, L., Stroescu, M. and Jipa, I. (2010). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for characterization of antimicrobial films containing chitosan. *Analele Universitații din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie și Tehnologii de Industrie Alimentară*, 815-822.
251. Rodrigues, I. R., de Camargo Forte, M. M., Azambuja, D. S. and Castagno, K. R. L. (2007). Synthesis and characterization of hybrid polymeric networks (HPN) based on polyvinyl alcohol/chitosan. *Reactive & Functional Polymers*, 67, 708-715.
252. Yuan, T. T., Jenkins, P. M., Foushee, A. M. D., Jockheck-Clark, A. R. and Stahl, J. M. (2016). Electrospun Chitosan/Polyethylene Oxide Nanofibrous Scaffolds with Potential Antibacterial Wound Dressing Applications. *Journal of Nanomaterials*, 2016, 1-10.
253. Kriegel, C., Kit, K. M., McClements, D. J. and Weiss, J. (2009). Electrospinning of chitosan-poly(ethylene oxide) blend nanofibers in the presence of micellar surfactant solutions. *Polymer*, 50(1), 189-200.
254. Pakravan, M., Heuzey, M. C. and Aiji, A. (2011). A fundamental study of chitosan/PEO electrospinning. *Polymer*, 52, 4813-4824.
255. Li, D. and Xia, Y. (2004). Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel? *Advanced Materials*, 16(14), 1151-1170.
256. Martinová, L. and Lubasová, D. (2008). Electrospun Chitosan Based Nanofibers. *Research Journal of Textile and Apparel*, 12(2), 72-79.

257. Sawatari, C. and Kondo, T. (1999). Interchain Hydrogen Bonds in Blend Films of Poly(vinyl alcohol) and Its Derivatives with Poly(ethylene oxide). *Macromolecules*, 32(6), 1949-1955.
258. Lewandowska, K. (2009). Miscibility and thermal stability of poly(vinyl alcohol)/chitosan mixtures. *Thermochimica Acta*, 493, 42-48.
259. Zohuriaan, M. J. and Shokrolahi, F. (2004). Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer Testing*, 23, 575-579.
260. Djokić, J. D., Kojović, A., Stojanović, D., Marinković, A., Vuković, G., Aleksić R. and Uskoković, P. S. (2012). Processing and nanomechanical properties of chitosan/poly(ethylene oxide) blend films. *Journal of Serbian Chemical Society*, 77(12), 1723-1733.
261. El-Hefian, E. A., Nasef, M. M. and Yahaya, A. H. (2011). Preparation and Characterization of Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) Blended Films: Mechanical, Thermal and Surface Investigations. *E-Journal of Chemistry*, 8(1), 91-96.
262. Muller, F., Mutch, N. J., Schenk, W. A., Smith, S. A., Esterl, L., Spronk, H. M., Schmidbauer, S., Gahl, W. A., Morrissey, J. H. and Renné, T. (2009). Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell*, 139(6), 1143-1156.
263. Smith, S. A., Mutch, N. J., Baskar, D., Rohloff, P., Docampo, R. and Morrissey, J. H. (2006). Polyphosphate modulates blood coagulation and fibrinolysis. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 103(4), 903-908.
264. Smith, S. A. and Morrissey, J. H. (2008). Polyphosphate enhances fibrin clot structure. *Blood*, 112(7), 2810-2816.
265. Smith, S. A. and Morrissey, J. H. (2008). Polyphosphate as a general procoagulant agent. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 6(10), 1750-1756.
266. Smith, S. A., Choi, S. H., Harrison, R. D., Huyck, J., Boettcher, J., Rienstra, C. M. and Morrissey, J. H. (2010). Polyphosphate exerts differential effects on blood clotting, depending on polymer size. *Blood*, 116(20), 4353-4359.
267. Smith, S. A. and Morrissey, J. H. (2014). Polyphosphate: a new player in the field of hemostasis. *Current Opinion in Hematology*, 21(5), 388-394.
268. Samuels, R. J. (1981). Solid state characterization of the structure of chitosan films. *Journal of Polymer Science Part B*, 19, 1081-1105.



**EKLER**

## EK-1. Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

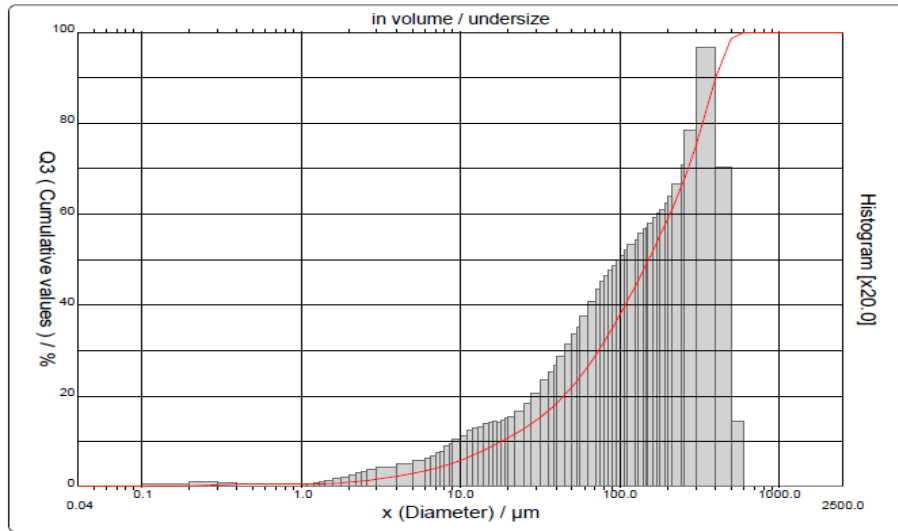
Bölüm 9.3.9’da belirtilen şekilde T1, T9 ve T10 numune gruplarına parçacık boyut dağılımı testi gerçekleştirilmiştir. Aşağıda test sonuçları sırasıyla verilmiştir.

T1 numunesine gerçekleştirilen 1. ölçüm sonuçları:

d(% 10): 17,98  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10’unun partikül boyutu  $\leq$  17,98  $\mu\text{m}$ )

d(% 50): 151,15  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50’sinin partikül boyutu  $\leq$  151,15  $\mu\text{m}$ )

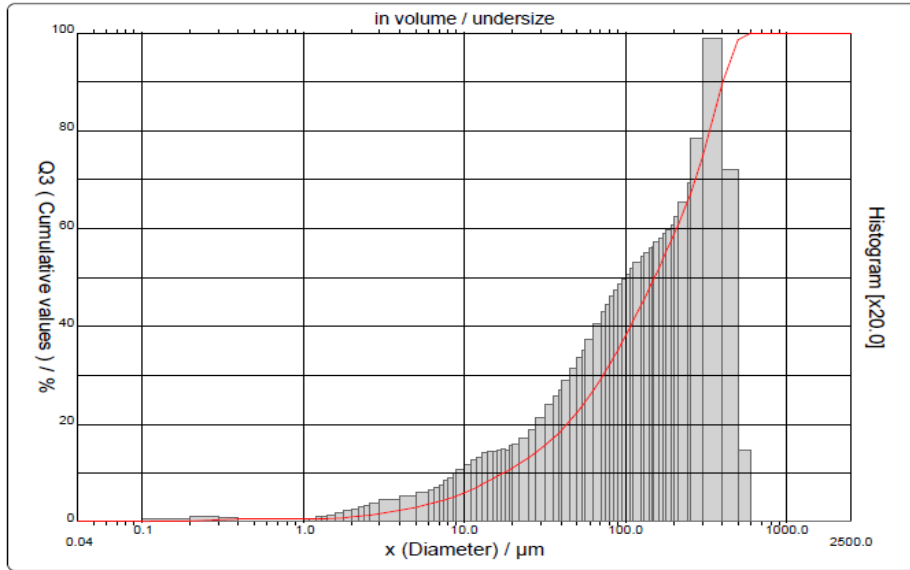
d(% 90): 399,39  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90’ının partikül boyutu  $\leq$  399,39  $\mu\text{m}$ )



x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.11	0.11	0.12	0.27	0.49	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61
q3	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.61	0.61	0.63	0.65	0.68	0.72	0.82	0.93	1.05	1.18
q3	0.00	0.00	0.02	0.02	0.03	0.05	0.07	0.09	0.10	0.13
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	1.32	1.46	1.74	2.42	3.02	3.58	3.85	4.12	4.40	4.67
q3	0.15	0.16	0.18	0.22	0.25	0.28	0.31	0.33	0.37	0.38
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	4.96	5.25	5.84	6.42	7.00	7.56	8.09	8.61	9.10	9.57
q3	0.44	0.47	0.51	0.56	0.61	0.64	0.66	0.69	0.70	0.71
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	10.01	10.44	10.86	11.65	12.80	13.93	15.42	16.92	17.66	18.40
q3	0.71	0.73	0.75	0.76	0.83	0.92	1.02	1.17	1.26	1.32
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	20.23	22.03	23.09	24.14	26.54	29.18	30.47	32.05	33.58	35.06
q3	1.43	1.57	1.67	1.75	1.87	2.03	2.16	2.25	2.32	2.38
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	36.49	37.88	39.49	41.05	44.23	45.39	47.63	48.71	49.76	51.79
q3	2.43	2.49	2.54	2.60	2.66	2.72	2.78	2.83	2.84	2.89
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	53.74	55.61	57.40	59.14	61.16	65.95	67.20	74.98	90.08	98.59
q3	2.95	3.00	3.04	3.12	3.18	3.32	3.53	3.92	4.82	3.50
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.71	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution

## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

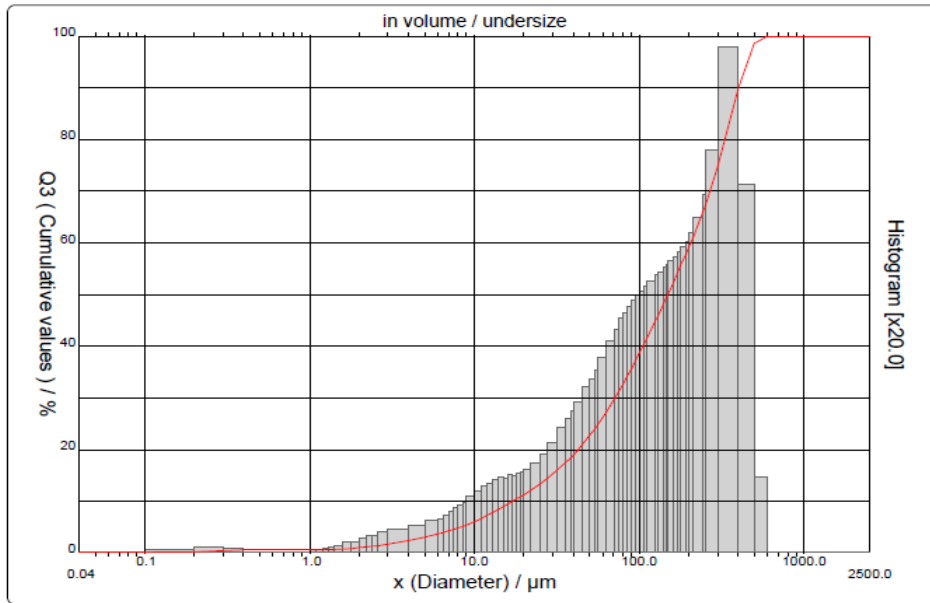
T1 numunesine gerçekleştirilen 2. ölçüm sonuçları:d(% 10): 17,41  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 17,41 \mu\text{m}$ )d(% 50): 150,88  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 150,88 \mu\text{m}$ )d(% 90): 401,24  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 401,24 \mu\text{m}$ )

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.11	0.11	0.12	0.27	0.49	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61
q3	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.61	0.61	0.63	0.65	0.69	0.73	0.82	0.93	1.06	1.19
q3	0.00	0.00	0.02	0.02	0.05	0.05	0.06	0.09	0.11	0.13
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	1.33	1.47	1.76	2.45	3.07	3.65	3.93	4.21	4.49	4.78
q3	0.15	0.16	0.19	0.22	0.26	0.29	0.32	0.35	0.38	0.42
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	5.07	5.37	5.98	6.58	7.17	7.74	8.30	8.83	9.33	9.81
q3	0.44	0.49	0.54	0.58	0.63	0.66	0.70	0.71	0.72	0.73
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	10.27	10.70	11.13	11.94	13.12	14.27	15.80	17.32	18.07	18.82
q3	0.74	0.73	0.77	0.79	0.85	0.94	1.06	1.19	1.28	1.35
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	20.66	22.45	23.51	24.55	26.91	29.53	30.80	32.35	33.86	35.32
q3	1.44	1.57	1.68	1.75	1.85	2.03	2.14	2.22	2.30	2.36
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	36.74	38.11	39.70	41.24	44.38	45.53	47.73	48.79	49.82	51.81
q3	2.43	2.47	2.52	2.58	2.64	2.71	2.74	2.79	2.81	2.85
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	53.71	55.53	57.27	58.95	60.91	65.58	66.80	74.52	89.88	98.56
q3	2.90	2.94	2.97	3.03	3.11	3.26	3.47	3.91	4.93	3.59
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.73	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution



## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

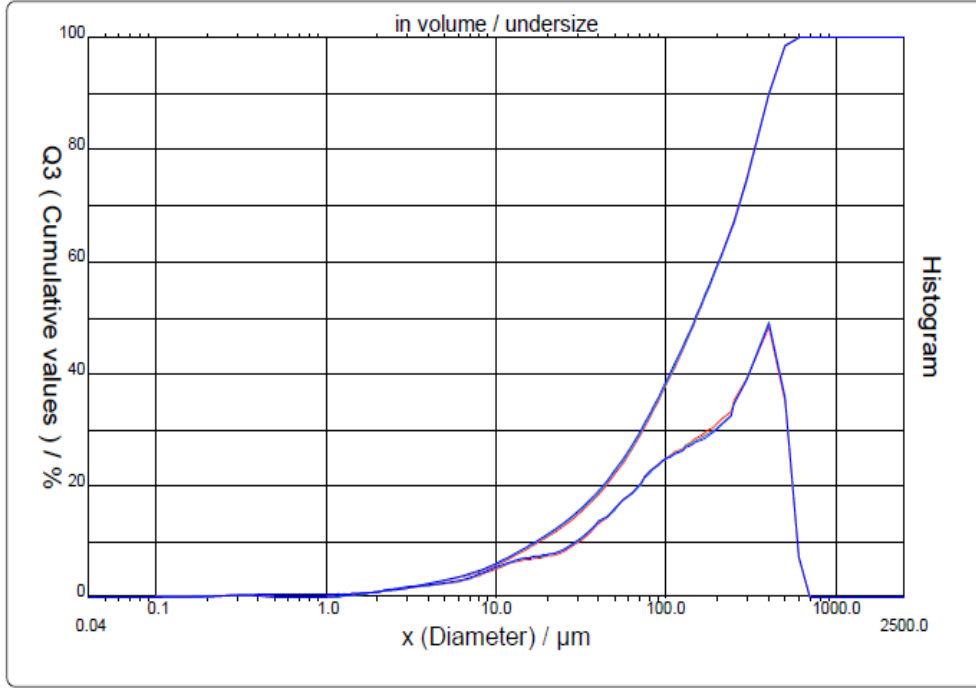
T1 numunesine gerçekleştirilen 3. ölçüm sonuçları:d(% 10): 17,04  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 17,04 \mu\text{m}$ )d(% 50): 148,91  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 148,91 \mu\text{m}$ )d(% 90): 400,21  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 400,21 \mu\text{m}$ )

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.11	0.11	0.11	0.26	0.47	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58
q3	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.58	0.58	0.60	0.63	0.66	0.70	0.80	0.92	1.04	1.18
q3	0.00	0.00	0.02	0.03	0.03	0.05	0.07	0.09	0.11	0.14
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	1.33	1.47	1.77	2.48	3.12	3.72	4.00	4.29	4.58	4.88
q3	0.16	0.16	0.19	0.23	0.26	0.30	0.32	0.36	0.39	0.43
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	5.18	5.48	6.10	6.71	7.31	7.89	8.45	8.99	9.49	9.98
q3	0.46	0.48	0.54	0.59	0.64	0.67	0.70	0.72	0.72	0.75
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	10.44	10.89	11.32	12.14	13.33	14.50	16.04	17.58	18.34	19.10
q3	0.74	0.77	0.77	0.79	0.86	0.95	1.06	1.21	1.30	1.37
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	20.95	22.77	23.83	24.88	27.28	29.93	31.21	32.79	34.31	35.78
q3	1.45	1.59	1.68	1.76	1.88	2.05	2.16	2.26	2.31	2.37
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	37.21	38.59	40.18	41.71	44.83	45.97	48.15	49.20	50.22	52.19
q3	2.44	2.48	2.52	2.57	2.62	2.68	2.72	2.76	2.78	2.82
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	54.06	55.86	57.59	59.26	61.21	65.85	67.07	74.75	89.98	98.57
q3	2.85	2.91	2.95	3.01	3.09	3.24	3.46	3.89	4.89	3.55
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.72	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution

EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

T1 numunesine gerçekleştirilen üç ölçümün eğrilerinin üst üste bindirilmesi:



T1 numunesine uygulanan üç ölçümün ortalaması:

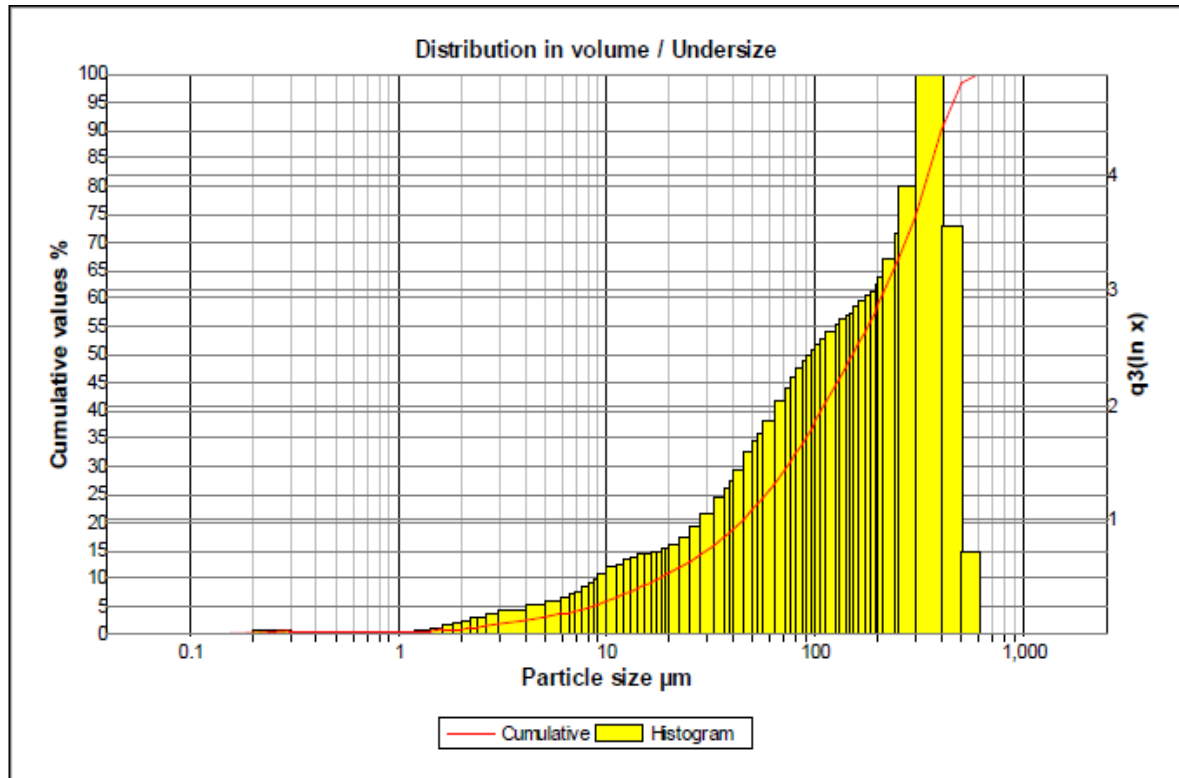
d(% 10): 17,47  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq$  17,47  $\mu\text{m}$ )

d(% 50): 150,35  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq$  150,35  $\mu\text{m}$ )

d(% 90): 400,23  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq$  400,23  $\mu\text{m}$ )

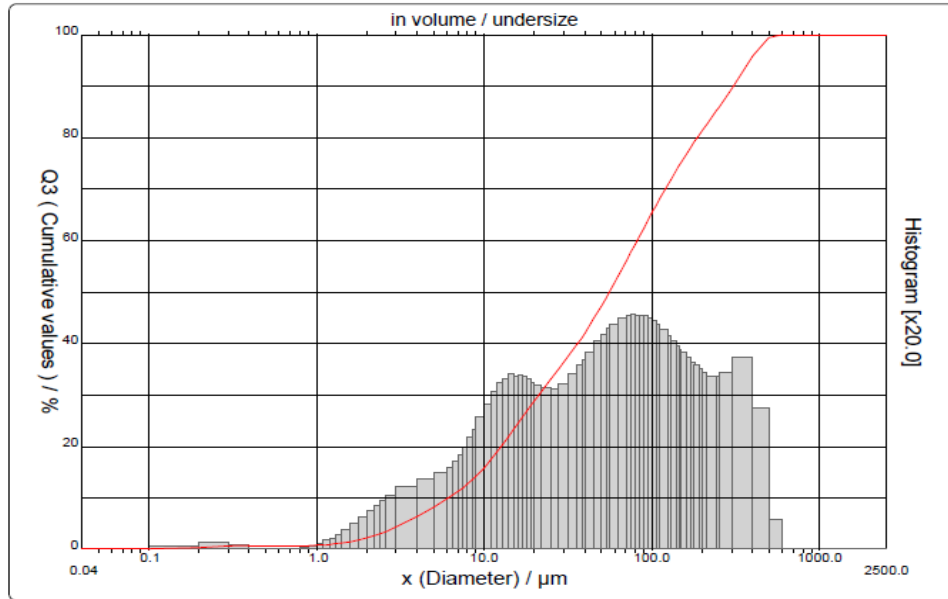
D[4,3]: 186,018  $\mu\text{m}$  (numunenin ortalama partikül boyutu)

## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları



Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %
0.040	0.11000	2.400	1.33000	18.000	10.24000	95.000	36.81000	600.000	100.00000
0.070	0.11000	2.600	1.47000	19.000	10.68000	100.000	38.19000	700.000	100.00000
0.100	0.12000	3.000	1.76000	20.000	11.10000	106.000	39.79000	800.000	100.00000
0.200	0.27000	4.000	2.45000	22.000	11.91000	112.000	41.33000	900.000	100.00000
0.300	0.48000	5.000	3.07000	25.000	13.08000	125.000	44.48000	1000.000	100.00000
0.400	0.60000	6.000	3.65000	28.000	14.23000	130.000	45.63000	1100.000	100.00000
0.500	0.60000	6.500	3.93000	32.000	15.75000	140.000	47.84000	1200.000	100.00000
0.600	0.60000	7.000	4.21000	36.000	17.27000	145.000	48.90000	1300.000	100.00000
0.700	0.60000	7.500	4.49000	38.000	18.02000	150.000	49.93000	1400.000	100.00000
0.800	0.60000	8.000	4.78000	40.000	18.77000	160.000	51.93000	1500.000	100.00000
0.900	0.60000	8.500	5.07000	45.000	20.61000	170.000	53.84000	1600.000	100.00000
1.000	0.60000	9.000	5.37000	50.000	22.42000	180.000	55.67000	1700.000	100.00000
1.100	0.62000	10.000	5.97000	53.000	23.48000	190.000	57.42000	1800.000	100.00000
1.200	0.64000	11.000	6.57000	56.000	24.52000	200.000	59.12000	1900.000	100.00000
1.300	0.68000	12.000	7.16000	63.000	26.91000	212.000	61.09000	2000.000	100.00000
1.400	0.72000	13.000	7.73000	71.000	29.55000	242.000	65.79000	2100.000	100.00000
1.600	0.81000	14.000	8.28000	75.000	30.83000	250.000	67.02000	2200.000	100.00000
1.800	0.93000	15.000	8.81000	80.000	32.40000	300.000	74.75000	2300.000	100.00000
2.000	1.05000	16.000	9.31000	85.000	33.92000	400.000	89.98000	2400.000	100.00000
2.200	1.18000	17.000	9.79000	90.000	35.39000	500.000	98.57000	2500.000	100.00000

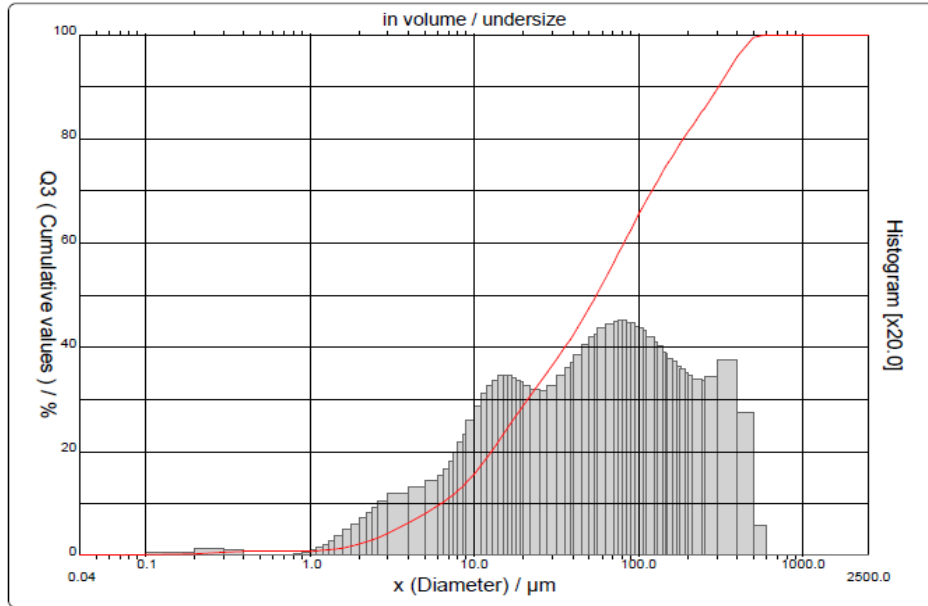
## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

T9 numunesine gerçekleştirilen 1. ölçüm sonuçları:d(% 10): 6,13  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 6,13 \mu\text{m}$ )d(% 50): 55,71  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 55,71 \mu\text{m}$ )d(% 90): 306,65  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 306,65 \mu\text{m}$ )

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.15	0.16	0.18	0.38	0.66	0.80	0.80	0.80	0.80	0.81
q3	0.00	0.00	0.00	0.02	0.06	0.04	0.00	0.00	0.00	0.01
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.83	0.87	0.93	1.02	1.12	1.24	1.53	1.87	2.25	2.66
q3	0.01	0.03	0.05	0.09	0.11	0.14	0.19	0.25	0.31	0.37
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	3.09	3.53	4.41	6.46	8.22	9.80	10.54	11.28	12.02	12.77
q3	0.42	0.47	0.52	0.61	0.67	0.74	0.79	0.85	0.91	0.99
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	13.54	14.32	15.90	17.47	19.02	20.53	21.96	23.33	24.60	25.80
q3	1.08	1.16	1.28	1.40	1.52	1.61	1.65	1.69	1.68	1.69
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	26.92	27.96	28.93	30.71	33.05	35.10	37.61	39.96	41.09	42.19
q3	1.67	1.64	1.61	1.59	1.56	1.54	1.60	1.70	1.78	1.83
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	44.83	47.33	48.75	50.13	53.13	56.26	57.71	59.43	61.04	62.56
q3	1.91	2.02	2.08	2.14	2.17	2.23	2.26	2.27	2.27	2.27
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	63.99	65.34	66.85	68.26	71.00	71.95	73.71	74.52	75.29	76.73
q3	2.26	2.24	2.21	2.18	2.13	2.07	2.03	1.97	1.94	1.90
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	78.05	79.26	80.39	81.44	82.61	85.22	85.86	89.52	95.82	99.41
q3	1.86	1.81	1.78	1.75	1.71	1.68	1.68	1.71	1.87	1.37
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution

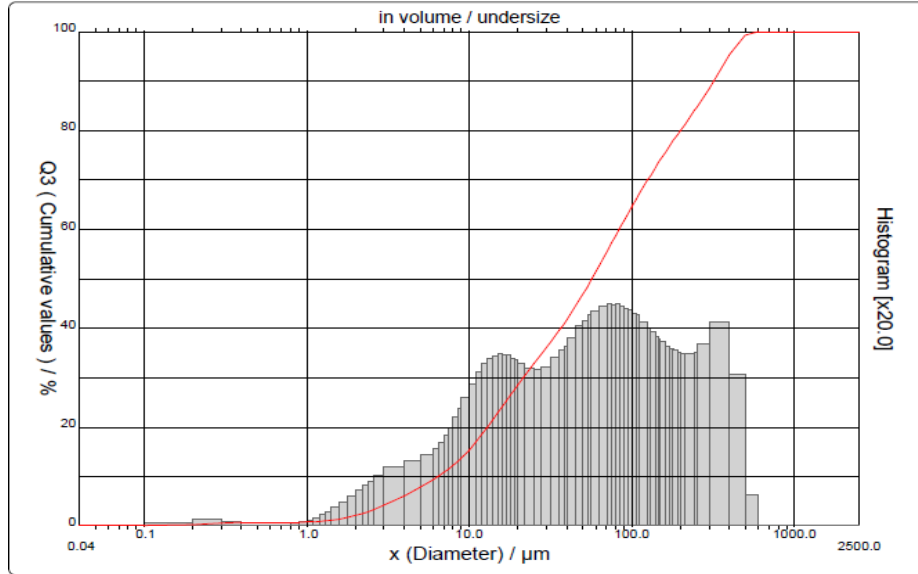
## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

T9 numunesine gerçekleştirilen 2. ölçüm sonuçları:d(% 10): 6,27  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 6,27\mu\text{m}$ )d(% 50): 55,17  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 55,17 \mu\text{m}$ )d(% 90): 307,05  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 307,05 \mu\text{m}$ )

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.16	0.17	0.19	0.40	0.69	0.84	0.84	0.84	0.84	0.85
q3	0.00	0.00	0.00	0.03	0.06	0.04	0.00	0.00	0.00	0.01
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.87	0.91	0.97	1.05	1.15	1.27	1.55	1.89	2.26	2.66
q3	0.01	0.03	0.05	0.08	0.11	0.14	0.18	0.25	0.30	0.36
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	3.08	3.51	4.37	6.37	8.08	9.61	10.33	11.05	11.78	12.53
q3	0.41	0.46	0.51	0.59	0.65	0.72	0.77	0.83	0.90	0.99
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	13.30	14.08	15.67	17.27	18.85	20.38	21.84	23.23	24.53	25.75
q3	1.08	1.16	1.29	1.43	1.55	1.63	1.68	1.72	1.72	1.72
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	26.89	27.95	28.95	30.77	33.15	35.25	37.80	40.17	41.31	42.42
q3	1.70	1.67	1.66	1.63	1.59	1.58	1.63	1.72	1.80	1.85
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	45.07	47.57	49.00	50.37	53.37	56.47	57.91	59.61	61.21	62.70
q3	1.92	2.02	2.09	2.12	2.17	2.21	2.24	2.25	2.25	2.22
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	64.11	65.43	66.92	68.31	71.00	71.94	73.68	74.48	75.25	76.68
q3	2.22	2.20	2.18	2.15	2.09	2.04	2.00	1.94	1.94	1.89
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	78.00	79.21	80.34	81.39	82.57	85.19	85.83	89.49	95.81	99.40
q3	1.86	1.81	1.78	1.75	1.73	1.69	1.68	1.71	1.87	1.37
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution

## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

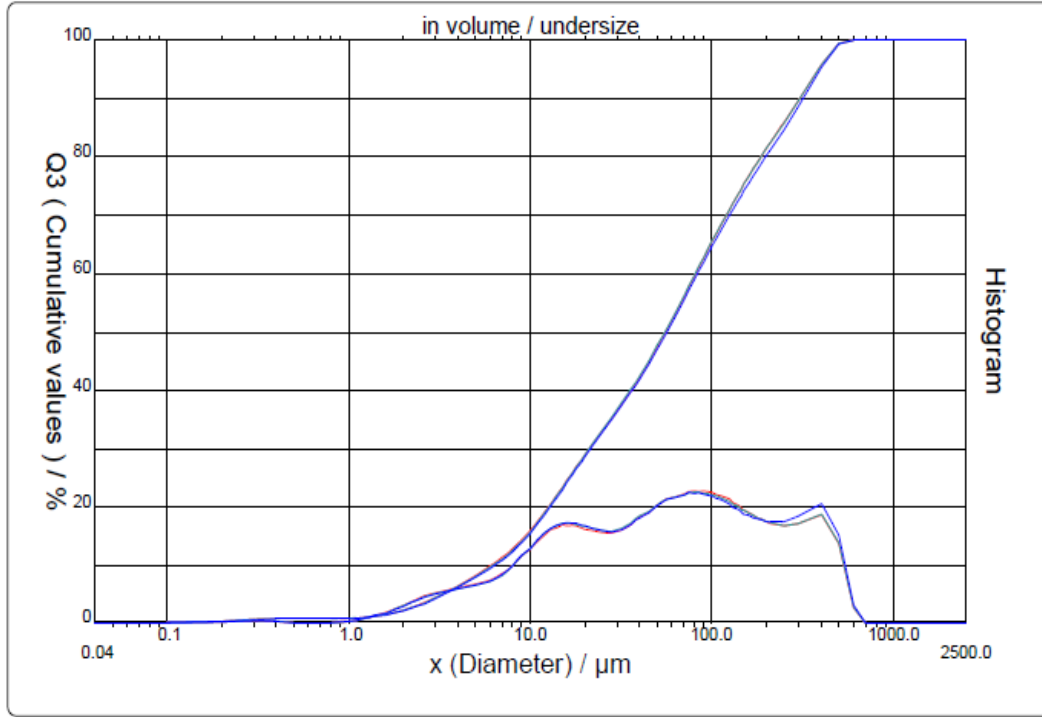
T9 numunesine gerçekleştirilen 3. ölçüm sonuçları:d(% 10): 6,41  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 6,41\mu\text{m}$ )d(% 50): 56,65  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 56,65\mu\text{m}$ )d(% 90): 319,05  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 319,05\mu\text{m}$ )

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.15	0.15	0.17	0.36	0.63	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77
q3	0.00	0.00	0.00	0.02	0.06	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.80	0.84	0.90	0.98	1.08	1.20	1.48	1.81	2.17	2.57
q3	0.02	0.03	0.05	0.08	0.11	0.14	0.18	0.24	0.29	0.36
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	2.98	3.40	4.24	6.20	7.89	9.41	10.13	10.85	11.58	12.32
q3	0.41	0.45	0.51	0.59	0.65	0.72	0.77	0.84	0.91	0.99
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	13.09	13.87	15.45	17.03	18.59	20.11	21.56	22.93	24.23	25.44
q3	1.09	1.17	1.29	1.43	1.54	1.63	1.68	1.71	1.73	1.72
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	26.58	27.64	28.64	30.45	32.81	34.88	37.37	39.69	40.80	41.88
q3	1.72	1.69	1.68	1.63	1.59	1.57	1.60	1.70	1.77	1.81
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	44.48	46.95	48.35	49.71	52.68	55.75	57.18	58.85	60.43	61.90
q3	1.90	2.02	2.07	2.13	2.17	2.21	2.25	2.23	2.24	2.21
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	63.28	64.58	66.03	67.39	70.01	70.92	72.60	73.38	74.12	75.51
q3	2.20	2.18	2.14	2.13	2.05	2.00	1.95	1.91	1.88	1.85
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	76.79	77.98	79.09	80.13	81.31	83.99	84.65	88.53	95.40	99.34
q3	1.82	1.79	1.77	1.74	1.74	1.74	1.75	1.83	2.06	1.52
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution

EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

T9 numunesine gerçekleştirilen üç ölçümün eğrilerinin üst üste bindirilmesi:



T9 numunesine uygulanan üç ölçümün ortalaması:

d(% 10): 6,27  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq$  6,27  $\mu\text{m}$ )

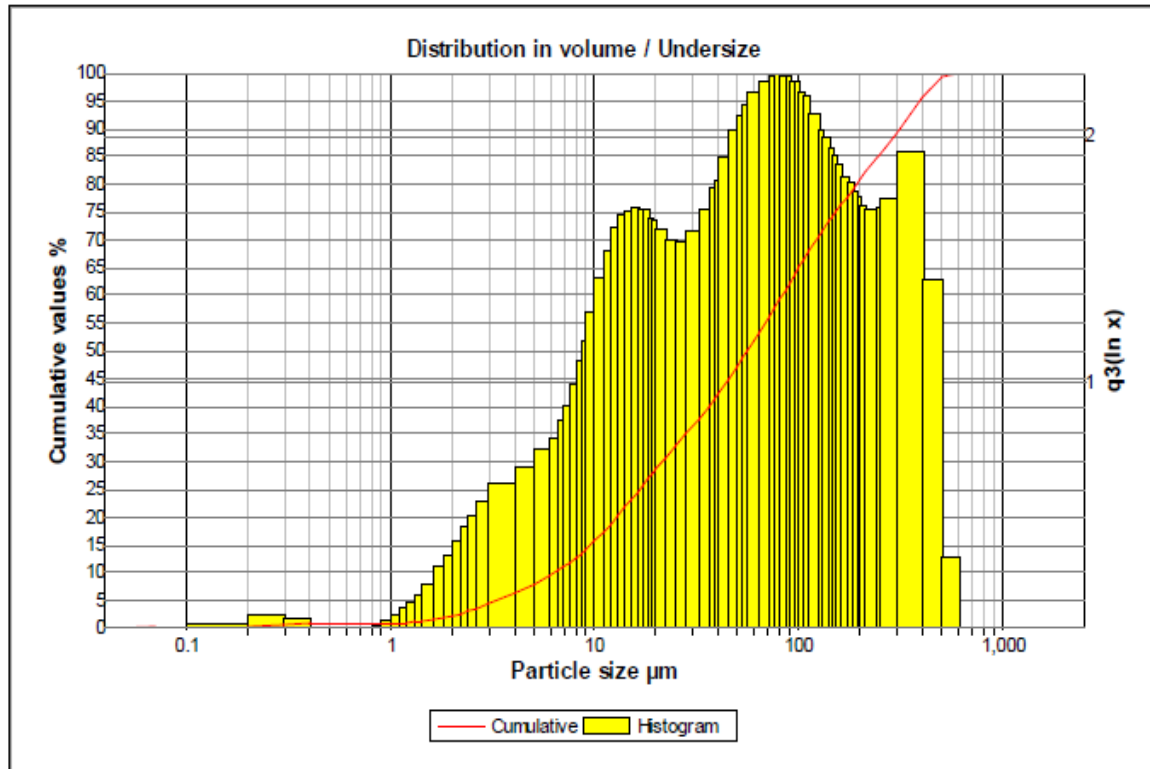
d(% 50): 55,85  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq$  55,85  $\mu\text{m}$ )

d(% 90): 312,62  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq$  312,62  $\mu\text{m}$ )

D[4,3]: 107,462  $\mu\text{m}$  (numunenin ortalama partikül boyutu)



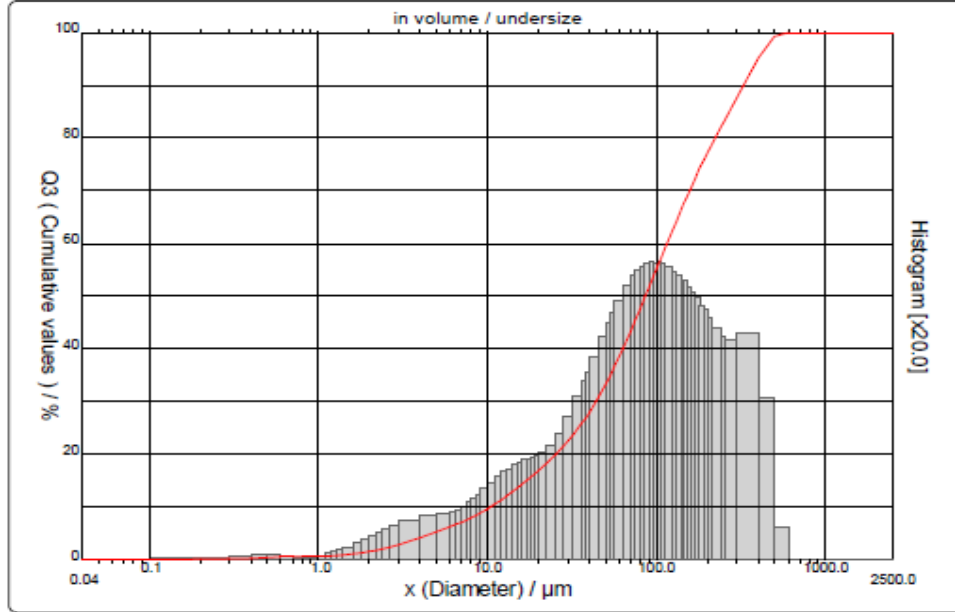
## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları



Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %
0.040	0.15000	2.400	3.05000	18.000	26.80000	95.000	63.79000	600.000	100.00000
0.070	0.16000	2.600	3.48000	19.000	27.85000	100.000	65.12000	700.000	100.00000
0.100	0.18000	3.000	4.34000	20.000	28.84000	106.000	66.60000	800.000	100.00000
0.200	0.38000	4.000	6.34000	22.000	30.64000	112.000	67.99000	900.000	100.00000
0.300	0.66000	5.000	8.06000	25.000	33.00000	125.000	70.67000	1000.000	100.00000
0.400	0.80000	6.000	9.61000	28.000	35.08000	130.000	71.60000	1100.000	100.00000
0.500	0.80000	6.500	10.33000	32.000	37.59000	140.000	73.33000	1200.000	100.00000
0.600	0.80000	7.000	11.06000	36.000	39.94000	145.000	74.13000	1300.000	100.00000
0.700	0.80000	7.500	11.79000	38.000	41.07000	150.000	74.89000	1400.000	100.00000
0.800	0.81000	8.000	12.54000	40.000	42.16000	160.000	76.31000	1500.000	100.00000
0.900	0.83000	8.500	13.31000	45.000	44.79000	170.000	77.61000	1600.000	100.00000
1.000	0.87000	9.000	14.09000	50.000	47.28000	180.000	78.82000	1700.000	100.00000
1.100	0.93000	10.000	15.67000	53.000	48.70000	190.000	79.94000	1800.000	100.00000
1.200	1.02000	11.000	17.26000	56.000	50.07000	200.000	80.99000	1900.000	100.00000
1.300	1.12000	12.000	18.82000	63.000	53.06000	212.000	82.16000	2000.000	100.00000
1.400	1.24000	13.000	20.34000	71.000	56.16000	242.000	84.80000	2100.000	100.00000
1.600	1.52000	14.000	21.79000	75.000	57.60000	250.000	85.45000	2200.000	100.00000
1.800	1.86000	15.000	23.16000	80.000	59.30000	300.000	89.18000	2300.000	100.00000
2.000	2.23000	16.000	24.45000	85.000	60.89000	400.000	95.68000	2400.000	100.00000
2.200	2.63000	17.000	25.66000	90.000	62.39000	500.000	99.38000	2500.000	100.00000



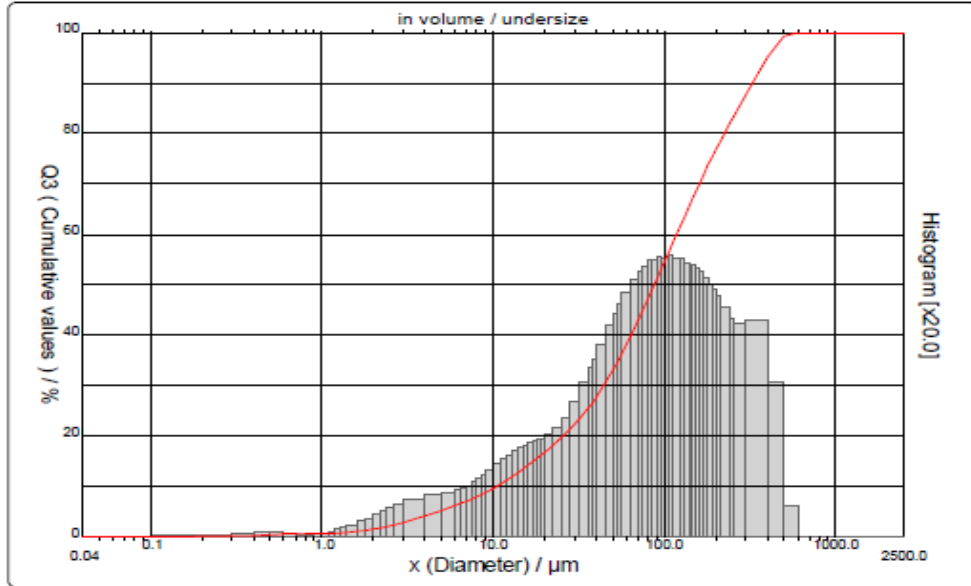
## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

T10 numunesine gerçekleştirilen 1. ölçüm sonuçları:d(% 10): 10,35  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 10,35 \mu\text{m}$ )d(% 50): 85,70  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 85,70 \mu\text{m}$ )d(% 90): 327,27  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 327,27 \mu\text{m}$ )

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.03	0.05	0.16	0.24	0.36	0.49	0.59	0.64	0.66
q3	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.03	0.05	0.05	0.03	0.01
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.68	0.70	0.74	0.80	0.87	0.95	1.14	1.38	1.60	1.86
q3	0.01	0.02	0.03	0.06	0.07	0.09	0.12	0.15	0.19	0.23
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	2.12	2.40	2.95	4.25	5.36	6.31	6.75	7.17	7.59	8.01
q3	0.25	0.29	0.32	0.37	0.41	0.43	0.46	0.47	0.50	0.54
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	8.43	8.85	9.70	10.54	11.38	12.17	12.94	13.69	14.40	15.09
q3	0.57	0.61	0.67	0.73	0.78	0.84	0.86	0.90	0.91	0.94
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	15.74	16.37	16.98	18.15	19.82	21.45	23.62	25.82	26.92	28.02
q3	0.94	0.97	0.99	1.02	1.08	1.19	1.35	1.55	1.69	1.78
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	30.75	33.44	35.01	36.56	40.03	43.78	45.56	47.69	49.72	51.66
q3	1.92	2.12	2.23	2.33	2.44	2.60	2.69	2.74	2.78	2.81
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	53.50	55.24	57.22	59.08	62.75	64.04	66.45	67.57	68.65	70.66
q3	2.82	2.81	2.82	2.80	2.77	2.73	2.70	2.65	2.64	2.58
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	72.51	74.22	75.79	77.25	78.86	82.35	83.18	87.75	95.19	99.32
q3	2.53	2.48	2.41	2.36	2.29	2.19	2.12	2.08	2.14	1.53
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution

## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

T10 numunesine gerçekleştirilen 2. ölçüm sonuçları:d(% 10): 10,37  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 10,37 \mu\text{m}$ )d(% 50): 87,16  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 87,16 \mu\text{m}$ )d(% 90): 327,53  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 327,53 \mu\text{m}$ )

x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.03	0.05	0.16	0.24	0.36	0.49	0.59	0.65	0.67
q3	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.03	0.05	0.05	0.03	0.01
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.68	0.71	0.75	0.80	0.87	0.95	1.14	1.36	1.59	1.84
q3	0.01	0.02	0.03	0.05	0.07	0.09	0.12	0.15	0.18	0.22
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	2.11	2.38	2.92	4.20	5.31	6.27	6.72	7.15	7.57	8.00
q3	0.26	0.28	0.31	0.37	0.41	0.44	0.47	0.48	0.50	0.55
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	8.42	8.84	9.68	10.51	11.32	12.10	12.86	13.60	14.30	14.98
q3	0.57	0.61	0.66	0.72	0.77	0.81	0.85	0.89	0.90	0.93
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	15.63	16.26	16.86	18.03	19.69	21.29	23.44	25.61	26.70	27.79
q3	0.94	0.97	0.97	1.02	1.08	1.17	1.33	1.53	1.67	1.76
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	30.49	33.15	34.70	36.23	39.66	43.34	45.08	47.17	49.17	51.06
q3	1.90	2.09	2.20	2.30	2.41	2.55	2.63	2.68	2.73	2.74
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	52.87	54.58	56.53	58.38	62.03	63.33	65.76	66.90	68.00	70.07
q3	2.77	2.76	2.77	2.78	2.75	2.75	2.72	2.69	2.69	2.66
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	71.99	73.76	75.39	76.91	78.59	82.21	83.06	87.72	95.19	99.32
q3	2.62	2.56	2.50	2.45	2.39	2.27	2.16	2.12	2.15	1.53
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.31	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution

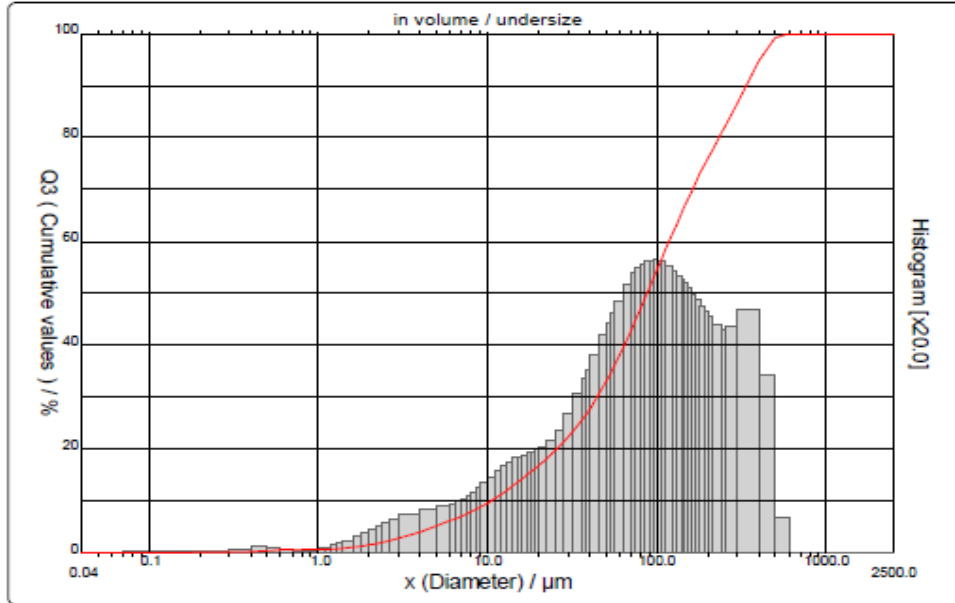
## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

T10 numunesine gerçekleştirilen 3. ölçüm sonuçları:

d(% 10): 10,40  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 10,40 \mu\text{m}$ )

d(% 50): 87,31  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 87,31 \mu\text{m}$ )

d(% 90): 337,82  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 337,82 \mu\text{m}$ )

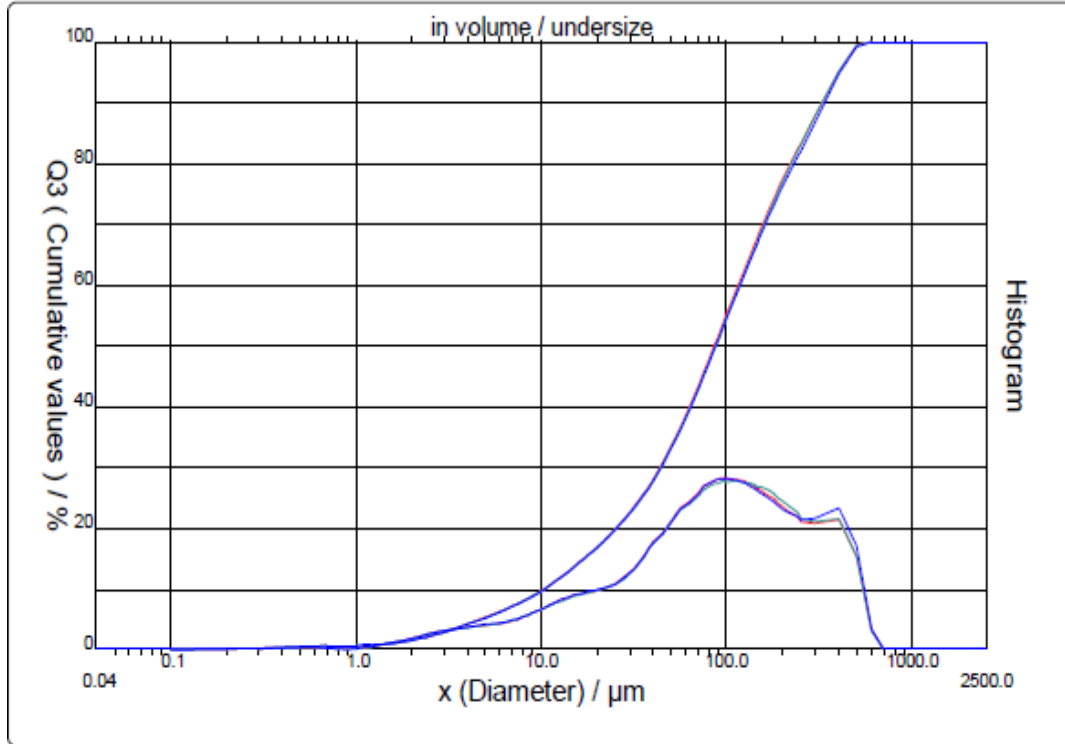


x	0.04	0.07	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80
Q3	0.00	0.03	0.05	0.16	0.24	0.36	0.50	0.60	0.65	0.67
q3	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.03	0.05	0.05	0.03	0.01
x	0.90	1.00	1.10	1.20	1.30	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20
Q3	0.68	0.70	0.75	0.80	0.87	0.95	1.14	1.35	1.59	1.84
q3	0.01	0.02	0.04	0.05	0.07	0.09	0.12	0.15	0.19	0.22
x	2.40	2.60	3.00	4.00	5.00	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
Q3	2.10	2.37	2.91	4.18	5.29	6.26	6.70	7.14	7.56	7.98
q3	0.25	0.28	0.32	0.37	0.42	0.45	0.46	0.50	0.51	0.54
x	8.50	9.00	10.00	11.00	12.00	13.00	14.00	15.00	16.00	17.00
Q3	8.40	8.82	9.66	10.49	11.30	12.10	12.87	13.62	14.33	15.01
q3	0.58	0.62	0.67	0.73	0.78	0.84	0.87	0.91	0.92	0.94
x	18.00	19.00	20.00	22.00	25.00	28.00	32.00	36.00	38.00	40.00
Q3	15.67	16.29	16.90	18.06	19.70	21.30	23.43	25.59	26.67	27.75
q3	0.97	0.96	1.00	1.02	1.07	1.18	1.34	1.54	1.67	1.76
x	45.00	50.00	53.00	56.00	63.00	71.00	75.00	80.00	85.00	90.00
Q3	30.43	33.06	34.80	36.12	39.53	43.22	44.98	47.09	49.10	51.02
q3	1.90	2.09	2.21	2.31	2.42	2.58	2.69	2.74	2.78	2.81
x	95.00	100.0	106.0	112.0	125.0	130.0	140.0	145.0	150.0	160.0
Q3	52.83	54.56	56.51	58.35	61.96	63.23	65.58	66.68	67.73	69.69
q3	2.80	2.82	2.80	2.80	2.75	2.71	2.65	2.62	2.59	2.54
x	170.0	180.0	190.0	200.0	212.0	242.0	250.0	300.0	400.0	500.0
Q3	71.49	73.15	74.68	76.10	77.68	81.14	81.97	86.69	94.71	99.25
q3	2.49	2.43	2.37	2.32	2.27	2.19	2.14	2.17	2.33	1.70
x	600.0	700.0	800.0	900.0	1000.0	1100.0	1200.0	1300.0	1400.0	1500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.34	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
x	1600.0	1700.0	1800.0	1900.0	2000.0	2100.0	2200.0	2300.0	2400.0	2500.0
Q3	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
q3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

x : diameter /  $\mu\text{m}$  Q3 : cumulative value / % q3 : density distribution

EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları

T10 numunesine gerçekleştirilen üç ölçümün eğrilerinin üst üste bindirilmesi:



T10 numunesine uygulanan üç ölçümün ortalaması:

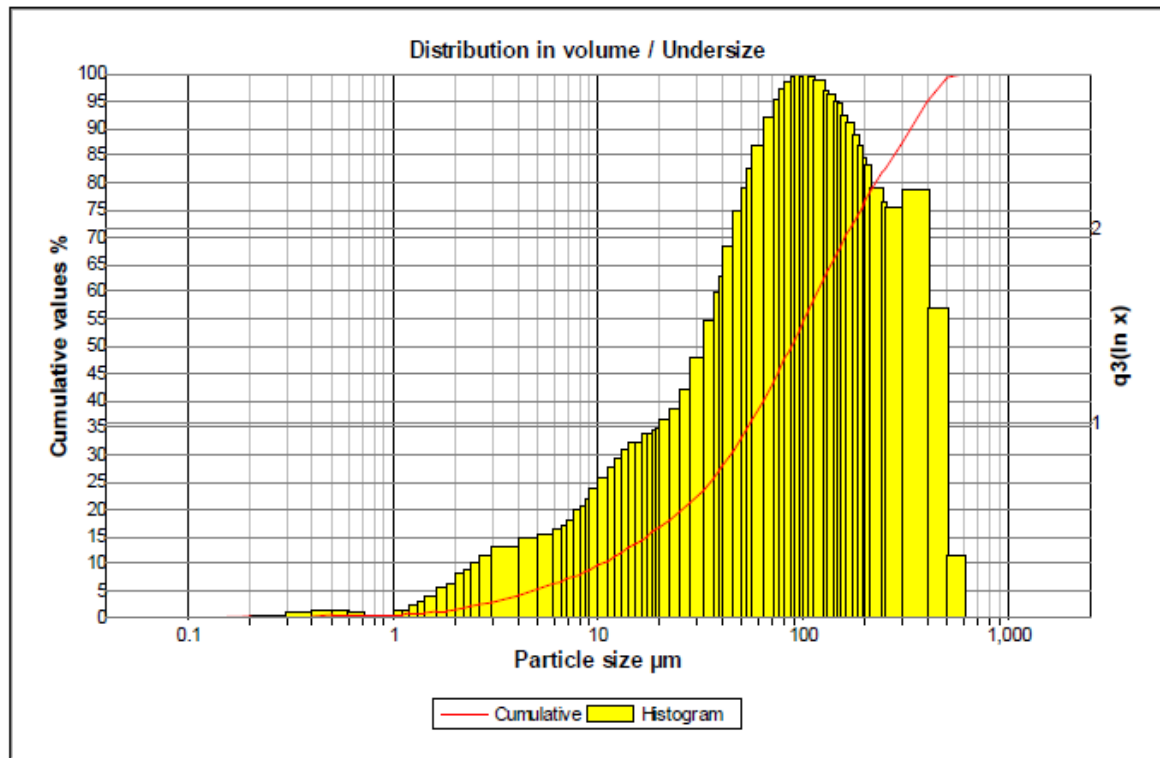
d(% 10): 10,39  $\mu\text{m}$  (numunenin % 10'unun partikül boyutu  $\leq 10,39 \mu\text{m}$ )

d(% 50): 88,74  $\mu\text{m}$  (numunenin % 50'sinin partikül boyutu  $\leq 88,74 \mu\text{m}$ )

d(% 90): 334,16  $\mu\text{m}$  (numunenin % 90'ının partikül boyutu  $\leq 334,16 \mu\text{m}$ )

D[4,3]: 130,380  $\mu\text{m}$  (numunenin ortalama partikül boyutu)

## EK-1. (Devam) Parçacık boyut dağılımı test sonuçları



Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %	Size $\mu\text{m}$	Undersize %
0.040	0.00000	2.400	2.11000	18.000	15.68000	95.000	53.07000	600.000	100.00000
0.070	0.03000	2.600	2.38000	19.000	16.31000	100.000	54.79000	700.000	100.00000
0.100	0.05000	3.000	2.93000	20.000	16.91000	106.000	56.75000	800.000	100.00000
0.200	0.16000	4.000	4.21000	22.000	18.08000	112.000	58.60000	900.000	100.00000
0.300	0.24000	5.000	5.32000	25.000	19.74000	125.000	62.25000	1000.000	100.00000
0.400	0.36000	6.000	6.28000	28.000	21.35000	130.000	63.53000	1100.000	100.00000
0.500	0.49000	6.500	6.72000	32.000	23.50000	140.000	65.93000	1200.000	100.00000
0.600	0.59000	7.000	7.15000	36.000	25.67000	145.000	67.05000	1300.000	100.00000
0.700	0.65000	7.500	7.57000	38.000	26.76000	150.000	68.13000	1400.000	100.00000
0.800	0.67000	8.000	8.00000	40.000	27.85000	160.000	70.14000	1500.000	100.00000
0.900	0.68000	8.500	8.42000	45.000	30.56000	170.000	72.00000	1600.000	100.00000
1.000	0.70000	9.000	8.84000	50.000	33.22000	180.000	73.71000	1700.000	100.00000
1.100	0.75000	10.000	9.68000	53.000	34.77000	190.000	75.29000	1800.000	100.00000
1.200	0.80000	11.000	10.51000	56.000	36.30000	200.000	76.75000	1900.000	100.00000
1.300	0.87000	12.000	11.33000	63.000	39.74000	212.000	78.38000	2000.000	100.00000
1.400	0.95000	13.000	12.12000	71.000	43.45000	242.000	81.90000	2100.000	100.00000
1.600	1.14000	14.000	12.89000	75.000	45.21000	250.000	82.74000	2200.000	100.00000
1.800	1.36000	15.000	13.64000	80.000	47.32000	300.000	87.39000	2300.000	100.00000
2.000	1.59000	16.000	14.34000	85.000	49.33000	400.000	95.03000	2400.000	100.00000
2.200	1.85000	17.000	15.03000	90.000	51.25000	500.000	99.30000	2500.000	100.00000

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DEMİREL, Miyaser  
 Uyuğu : T.C.  
 Doğum tarihi ve yeri : 06.05.1980, Antalya  
 Medeni hali : Bekar  
 Telefon : 0 (506) 277 91 85  
 e-mail : [miyadem@gmail.com](mailto:miyadem@gmail.com)



### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi /Kimya Mühendisliği	2017
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Kimya Mühendisliği	2007
Lisans	Ankara Üniversitesi /Kimya Mühendisliği	2003
Lise	Antalya Karatay Süper Lisesi	1998

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

- 1) Demirci, N., Demirel, M., and Dilsiz, N., (2015). Graft-Polymerization of N-Vinyl-2-Pyrrolidone, Allylamine And Acrylic Acid Onto PVC Film By Plasma Treatments. *Journal of Multidisciplinary Engineering Science Studies*, 1(1), 45-50.
- 2) Demirci, N., Demirel, M. and Dilsiz, N. (2014). Surface Modification of PVC Film with Allylamine Plasma Polymers. *Advances in Polymer Technology*, 33(4), 1-8.
- 3) Demirel, M., Pamuk, V. and Dilsiz, N. (2010). Investigation of flame retardancy and physical-mechanical properties of zinc borate/boric acid polyester composites. *Journal of Applied Polymer Science*, 115(5), 2550-2555.

### Hobiler

Resim yapmak, müzik dinlemek, araştırma-geliştirme yapmak



*GAZİ GELECEKTİR..*