ÜRETERAL STENTLERDE ENFEKSİYON ÖNLEYİCİ ANTİBAKTERİYEL FIRÇA TİPİ POLİMER AŞILAMANIN GELİŞTİRİLMESİ

DEVELOPMENT OF ANTIBACTERIAL POLYMER BRUSH GRAFTING ON URETERAL STENT TO PREVENT INFECTION

MERVE GÜLTEKİNOĞLU

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

BİYOMÜHENDİSLİK Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2013

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan : .....
(Prof. Dr. Tülin KUTSAL)

Üye (Danışman) : .....
(Prof Dr. Kezban ULUBAYRAM)

Üye : .....
(Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ)

Üye : .....
(Doç. Dr. Meral ÖZALP)

Üye : .....
(Doç. Dr. Halil Murat AYDIN)

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 01/02/2013 tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca ...../...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bitanecik Annem ve Babama...

ÜRETERAL STENTLERDE ENFEKSİYON ÖNLEYİCİ ANTİBAKTERİYEL FIRÇA TİPİ POLİMER AŞILAMANIN GELİŞTİRİLMESİ

Merve Gültekinoğlu

ÖZ

Üreteral stentler, obstrüktif üropati (ürolojik taşlaşma), üreterik zedelenmeler, primer ya da malign karsinoma, radyasyon veya retroperitonal fibrozis gibi ürolojik rahatsızlıklar yaşayan hastalarda idrar akışına yardım etmek için sıklıkla kullanılırlar. Bununla birlikte uzun dönem stent kullanımında taşlaşma ve enfeksiyonlar ile aksaklıklar gözlenebilir. Mikroorganizma kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde sistemik antibiyotik kullanımı bakteriyel direncin gelişimi ile efektif olmayabilir. Taşlaşma ve enfeksiyonun önlenmesi amacıyla üreteral stentlere çoğunlukla gümüş iyonları, kuaterner amonyum tuzları, triklosan, antibiyotikler, enzimler ya da diğer ilaçların eklenmesi ve ortama salınması prensibine dayanan çeşitli yüzey kaplamalar denenmiştir. Bu yaklaşımların dezavantajı küçük moleküllü antimikrobiyal ajanların tükenmesiyle ortaya çıkan sınırlı fonksiyonel yaşam süreleridir. Enfeksiyonun klinik önemi sonucu üreteral stentlerin üretiminde fonksiyonelliği kararlı ve uzun dönem koruma sağlayacak antimikrobiyal yüzeylerin geliştirilmesi çok önemli bir ihtiyaçtır.

Bu tezin amacı poliüretan üreteral stent yüzeyine fırça tipi polimerlerin aşılanması ile herhangi bir salım yapmayan özgün bir taşlaşma ve enfeksiyon önleyici tekniğin geliştirilmesidir. Bu amaçla, antibakteriyel aktiviteye sahip hidrofobik polikatyonik polietilenimin (PEI) zincirleri poliüretan stent yüzeyine kovalent olarak bağlanmış ve sonrasında bakteri membranlarını parçalama amaçlı alkillenmiştir. Başarılı fırça tipi yüzey modifikasyonu Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), Atomik Kuvvet Mikroskopu (AFM) ve X Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ile doğrulanmıştır. PEI aşılanmış yüzeyler *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis) ve Escherichia coli* (*E. coli*)'ye karşı anlamlı antibakteriyel etkinlik göstermiştir. Elde edilen yüzeylerin antibakteriyel aktiviteleri yüzeye aşılanmış polimerlerin molekül ağırlıklarına bağlı bulunmuştur. Bağıl olarak yüksek molekül ağırlığına (Mw~750,000 g/mol) sahip yüzeyler *P. mirabilis* ve *E. coli* bakterilerinin her ikisine de işlem görmemiş stente karşı yaklaşık %99'luk tutunma direnci gösterirken, daha kısa zincir uzunluğuna (M_w~2,000 g/mol) sahip PEI aşılanmış yüzeylerin yukarıda sözü geçen bakterilere daha düşük tutunma direncine (sırasıyla %95 ve %89) sahip oldukları bulunmuştur. PEI'nin gövdeye aşılama (grafting onto) tipi kovalent bağlanması ile yüzeyde çevre dokulara sitotoksik etki göstermeyen uzun süreli bir antibakteriyel aktivite sağlanmıştır.

AnahtarKelimeler: Üreteral stent, enfeksiyon, antibakteriyel yüzey, fırça tipi polimer, PEI

Danışman : Prof. Dr. Kezban Ulubayram, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı

DEVELOPMENT OF ANTIBACTERIAL POLYMER BRUSH GRAFTING ON URETERAL STENT TO PREVENT INFECTION

Merve Gültekinoğlu

Abstract

Ureteral stent aids the flow of urine and is profoundly used in the treatment of patients with urological disorders including obstructive uropathy (urological encrustation), ureteric injury, primary or malignant carcinomas, and radiation or retroperitoneal fibrosis. Nevertheless, long-term ureteral stent usage is hindered by encrustation and infection. Systemic use of antibiotics in treatment of infections caused by these microorganisms has been ineffective due to bacterial resistance development. Various surface coatings to ureteral stents have been developed in an attempt to prevent encrustation and infections; most of them work by incorporating and releasing such bactericidal agents as silver ions, quaternary ammonium salts, triclosan, antibiotics, enzymes or other drugs that leach into the environment. The drawback of this approach is that the small-molecule antimicrobial agents will eventually be exhausted, leading to limited functional lifetimes. As a result of clinical importance of infection, there is a considerable demand for the development of stable antimicrobial surfaces which are required for long term usage of ureteral stents.

The aim of this thesis is to develop a novel, non-release technique for creating antibacterial surface which involves polymer brushes attached to on polyurethane ureteral stent surface for preventing encrustation and infection. For this purpose hydrophobic polycation polyethylenimine (PEI) chains with antibacterial activity were covalently attached on polyurethane stent surfaces and then alkylated to disrupt the bacterial membranes. Successful brush-like surface modification was confirmed by FTIR, Scanning Electron Microscope (SEM), Atomic Force Microscope (AFM) and X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS). PEI grafted surfaces have exhibited significant antibacterial activity against *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis)* and *Escherichia coli* (*E. coli*). The antibacterial activity of the resultant surfaces depends on the molecular weight of the polymers grafted to the surface. Surfaces grafted with relatively high Mw PEI polymers (*Mw*~750,000 g/mol) showed almost 99% resistance for both types of *P. mirabilis* and *E. coli* bacterial adhesion whereas a lower resistances to bacterial adhesions to aforementioned bacteria (95% and 89%, respectively) were observed for the surface grafted with shorter PEI chains (M_w~2,000 g/mol). “Grafting Onto” type covalent attachment of PEI provides long-lasting antibacterial activity with no cytotoxicity to the environment.

Keywords : Uretheral stent, infection, antibacterial surface, polymer brush, PEI

Advisor: Prof. Dr. Kezban Ulubayram, Hacettepe University Faculty of Pharmacy Department of Basic Pharmaceutical Sciences

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince gerek akademik gerek sosyal yaşantımda desteğini esirgemeyen, çalışmalarıma bilgi birikimi ve deneyimlerini heyecanla paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Kezban Ulubayram'a;

Tez kapsamında gerçekleştirilen antibakteriyel çalışmalarında bilgi birikimi ve deneyimleri ile destek olan Doç. Dr. Meral Özalp'e;

Hayatıma gerek bilimsel gerek sosyal çevrede hep doğru insanlar katan, doğru zamanda doğru yerde olmama katkı koyan Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş'a;

Fikirlerini, bilgi birikimini ve tecrübelerini paylaşarak akademik gelişmemde pay sahibi olan Dr. Yeliz Tunç Sarısözen'e;

Tezimi değerli katkıları ile zenginleştiren Biyomühendislik Anabilim Dalı öğretim üyeleri değerli hocalarım Prof. Dr. Tülin Kutsal ve Doç. Dr. Halil Murat Aydın'a;

Tezin AFM çalışmalarındaki katkılarından ve değerli dostluğundan dolayı Tayfun Vural'a;

Mikrobiyoloji çalışmalarındaki değerli destek ve katkılarından dolayı Ceren Özkul'a;

Tezin temas açısı ölçüm çalışmalarındaki katkılarından dolayı ve değerli dostlukları için Dr. Ebru Akdoğan ve Dr. Hasret Tolga Şirin'e;

Tezimi dikkatle okuyup incelediği ve kıymetli arkadaşlığı için Sema Tuncer'e;

Moral, motivasyon ve destekleriyle hep yanımda olan değerli çalışma arkadaşlarım Engin Koçak, Semih Çalamak, Gülce Taşkor, Selcen Demir ve Özlem Yurtalan'a;

Hayatım boyunca desteklerini her zaman hissettiğim canım aileme;

Sonsuz Teşekkürler...

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 112M293 nolu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZ i

ABSTRACT ii

TEŞEKKÜR iii

İÇİNDEKİLER DİZİNİ iv

ŞEKİLLER DİZİNİ vii

ÇİZELGELER DİZİNİ xi

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ xii

1. GİRİŞ ve AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1. Medikal Cihazlar 4

2.2. Medikal Cihaz Enfeksiyonları 8

2.2.1. Üreteral stentler ve enfeksiyon 14

2.3. Poliüretan Üreteral Stent Modifikasyonları. 18

2.3.1. Gümüş kaplamalar 18

2.3.2. Antibiyotik kaplamalar 19

2.3.3. Kuaterner amonyum tuzları 20

2.3.4. Hyalüronik asit 20

2.3.5. Politetrafloroetilen (PTFE) 21

2.3.6. Heparin 21

2.3.7. Hidrofilik film kaplamalar 22

2.3.8. Karbon 22

2.3.9. Polimerik yüzey modifikasyonları 23

2.4. Fırça Tipi Polimerler 23

2.4.1. Fiziksel adsorpsiyon (Fizisorpsiyon) 24
2.4.2. Kovalent bağlanma 24
2.4.2.1. Gövdeye aşılanma (Grafting to veya Grafting onto) 24
2.4.2.2. Gövdeden büyüme (Grafting from) 25
2.5. Polietilenimin 28
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR 30
3.1. Kullanılan Malzemeler 30
3.2. Poliüretan Stent Yüzeylerin Temizlenmesi 30
3.3. Antibakteriyel Polimer Zincirlerinin Poliüretan Stent Yüzeyine Aşılanmaları 30
3.3.1. Yüzey aktivasyonu 30
3.3.2. PEI zincirlerinin poliüretan stent yüzeyine aşılanması 31
3.3.3. PEI zincirleri aşılanmış yüzeylerin alkilasyonu 31
3.4. Yüzey Karakterizasyonları 32
3.4.1. Yüzey kimyasının karakterizasyonu 32
3.4.1.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile fonksiyonel grup karakterizasyonu 32
3.4.1.2. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ile elemental karakterizasyon 32
3.4.2. Yüzey temas açılarının belirlenmesi 33
3.4.3. Yüzey morfolojisinin değerlendirilmesi 33
3.4.3.1. Taramalı Elekron Mikroskopisi (SEM) ile yüzeylerin morfolojik karakterizasyonu 33
3.4.3.2. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) ile yüzeylerin morfolojik ve topografik açıdan karakterizasyonu 34
3.5. PEI Aşılanmış Stent Yüzeylerinde Bakteriyel Tutunmanın İncelenmesi 34

3.6. Sitotoksisite Çalışmaları 35
3.7. İstatistiksel Analiz 36
4. BULGULAR ve TARTIŞMALAR 37
4.1. Yüzey Özelliklerinin Aydınlatılması 37
4.1.1. Aktifleştirilmiş poliüretan stent yüzeyler 37
4.1.2. PEI zincirleri aşılanmış poliüretan yüzeyler 44
4.1.3. PEI aşılanmış yüzeylerin alkilasyonu 56
4.1.4. X Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ile
elemental karakterizasyona genel bakış 71
4.2. PEI Aşılanmış Poliüretan Stent Yüzeylerin Antibakteriyel Aktivitesi 74
4.3. PEI Aşılanmış Poliüretan Stent Yüzeylerin Sitotoksisitesi 78
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 79
KAYNAKLAR DİZİNİ 82
ÖZGEÇMİŞ 93

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Poliüretan stent yüzeylerin modifikasyonunda kullanılan yaklaşımın şematik gösterimi. 3
Şekil 2.1. Üriner stentlere örnekler 14
Şekil 2.2. Biyofilm oluşumunun şematik gösterimi 16
Şekil 2.3. Taşlaşma oluşmuş stent görüntüleri 17
Şekil 2.4. Şişe fırçası tipi polimerlerin şematik gösterimi 24
Şekil 2.5. Gövdeye aşılama tipi polimerizasyonun şematik gösterimi..... 25
Şekil 2.6. Gövdeden büyüme tipi polimerizasyonun şematik gösterimi 26
Şekil 2.7. Fırça tipi polimerlerin sınıflandırılmasının şematik gösterimi 27
Şekil 2.8. Polietileniminin kimyasal yapısı 28
Şekil 4.1. Poliüretan yapısındaki üretan grupları 37
Şekil 4.2. Poliüretanın izosiyanat ile verdiği allofanat tepkimesi 38
Şekil 4.3. Poliüretan yüzeyin FTIR spektrumu..... 40
Şekil 4.4. Fonksiyonlandırılmış PU yüzeyin FTIR spektrumu 40
Şekil 4.5. Poliüretan yüzeyin XPS spektrumu..... 41
Şekil 4.6. Fonksiyonlandırılmış PU yüzeyin XPS spektrumu 41
Şekil 4.7. Poliüretan yüzeyin SEM görüntüsü..... 42
Şekil 4.8. Fonksiyonlandırılmış PU yüzeyin SEM görüntüsü. 42
Şekil 4.9. PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü 43
Şekil 4.10. Fonksiyonlandırılmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü..... 43
Şekil 4.11. PEI zincirlerinin PU yüzey üzerine aşılanma mekanizması 44
Şekil 4.12. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeylerin FTIR spektrumları 46

Şekil 4.13. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeylerin FTIR spektrumları..... 46
Şekil 4.14. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (6 saat) 47
Şekil 4.15. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (24 saat) 47
Şekil 4.16. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (48 saat) 48
Şekil 4.17. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (6 saat) 49
Şekil 4.18. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (24 saat) 49
Şekil 4.19. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (48 saat) 50
Şekil 4.20. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış örneklerin SEM görüntüsü 51
Şekil 4.21. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış örneklerin SEM görüntüsü 52
Şekil 4.22. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (6 saat)..... 53
Şekil 4.23. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (24 saat)..... 53
Şekil 4.24. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (48 saat)..... 54
Şekil 4.25. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (6 saat)..... 54
Şekil 4.26. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (24 saat)..... 55

Şekil 4.27. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (48 saat) 55
Şekil 4.28. PEI'nin alkilasyon basamağının mekanizması 56
Şekil 4.29. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve alkillendirilmiş PU yüzeylerin FTIR spektrumları 58
Şekil 4.30. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve alkillendirilmiş PU yüzeylerin FTIR spektrumları 58
Şekil 4.31. PU/LPEI(6)R örneklerin XPS spektrumu 59
Şekil 4.32. PU/LPEI(24)R örneklerin XPS spektrumu 59
Şekil 4.33. PU/LPEI(48)R örneklerin XPS spektrumu 60
Şekil 4.34. PU/HPEI(6)R örneklerin XPS spektrumu 60
Şekil 4.35. PU/HPEI(24)R örneklerin XPS spektrumu 61
Şekil 4.36. PU/HPEI(48)R örneklerin XPS spektrumu 61
Şekil 4.37. Alkilleme işleminde reaksiyon süresinin stent yüzeylerine etkisi… 62
Şekil 4.38. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve alkillenmiş örneklerin SEM görüntüsü 64
Şekil 4.39. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve alkillenmiş örneklerin SEM görüntüsü 65
Şekil 4.40. PU/LPEI(6)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü 68
Şekil 4.41. PU/LPEI(24)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü 68
Şekil 4.42. PU/LPEI(48)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü 69
Şekil 4.43. PU/HPEI(6)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü 69
Şekil 4.44. PU/HPEI(24)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü 70
Şekil 4.45. PU/HPEI(48)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü 70
Şekil 4.46. Poliüretan yüzeylerde PEI aşılanması ve alkilasyon basamaklarının gösterimi 71

Şekil 4.47. *E. Coli*'ye karşı bakteriyel tutunma sonuçları 75

Şekil 4.48. *P. mirabilis*'e karşı bakteriyel tutunma sonuçları 77

Şekil 4.49. Modifiye edilmiş poliüretan yüzeylerin sitotoksisitelerinin karşılaştırılması 78

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Medikal cihazlara örnekler. 5
Çizelge 2.2. Medikal cihazların uygulama alanına göre sınıflandırılması 6
Çizelge 2.3. Medikal malzemelerin kullanıldıkları sistemlere göre sınıflandırılması 6
Çizelge 2.4. Medikal malzemelerin uygulandığı probleme göre sınıflandırılması 7
Çizelge 2.5. Medikal malzemelerin doku ile etkileşimlerine göre sınıflandırılması 7
Çizelge 2.6. Medikal cihaz enfeksiyonları. 10
Çizelge 2.7. Medikal cihazlar için antimikrobiyal teknolojiler. 12
Çizelge 2.8. Antimikrobiyal ajan içeren cihazlar 13
Çizelge 3.1. Poliüretan üreteral stent yüzey modifikasyonu 32
Çizelge 4.1. Örneklerin yüzey pürüzlülüğü ve temas açısı değerleri 67
Çizelge 4.2. Örnek yüzeylerinin kimyasal bileşiminin elemental yüzdeleri ... 72

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AFM	Atomik Kuvvet Mikroskopu
ATCC	American Type Culture Collection
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
XPS	X- ışınları Fotoelektron Spektroskopisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
FBS	Fetal Sığır Serumu
HMDI	Hekzametilendiizosiyanat
MTT	3-(4,5-Dimetiltiyazol-2 il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid
PEI	Polietilenimin
PU	Poliüretan

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Üreteral stentler, böbrek ve mesane arasında üreter bölgeye yerleştirilen dar, içi boş ve delikli plastik tüplerdir. Üreteral stentler, idrar akışının sağlanması için obstrüktif üropati (ürolojik taş hastalığı) ve tedavi sırasında sekonder üreter yaralanmaları, kanser türleri ve ışın tedavisi/retroperitoneal fibrozis gibi ürolojik rahatsızlıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Stentlerin vücut içerisinde kalma süresi (birkaç haftadan 1 yıla kadar) arttıkça; dislokasyon, irritasyon, en önemlisi enfeksiyon ve buna bağlı gelişen taşlaşmadan (enkrustasyon) dolayı tıkanması ve üriner taş oluşumu karşılaşılan en büyük klinik problemlerdir. Üreteral stentlerde taşlaşma oluşumu, genellikle üreaz-pozitif bakterilerin varlığında, *Proteus mirabilis,* alkalinite artışı ile kristalleşmenin başlaması ve hızlanması basamaklarını izler. Çözünürlük ürünleri azaltılarak struvit ve diğer kristal yapılarının oluşumu hızlanır ve böylelikle yüksek pH değeri üriner sistemde taş oluşumuna neden olur. Biyofilm oluşumu, taş oluşumu ve tıkanma süreçleri birbirini tetikleyerek üriner sistem enfeksiyonuna yol açmaktadır. Yapılan çalışmalara göre stent uygulandıktan bir haftadan daha kısa bir süre içinde, yetişkin hastalardaki bakteriyel kolonizasyon hızı % 28'den % 90'a ve üriner enfeksiyon ise % 7'den % 34'e artış göstermektedir. Oluşan enfeksiyonların tedavisinde sistemik antibiyotik kullanımı, bu mikroorganizmaların direnç geliştirmesi ile etkisiz kalmıştır (Cadieux et al., 2009).

Üreteral stent kullanımına bağlı olarak gelişen taşlaşma birçok sorunu da beraberinde getirmektedir. Biyofilm oluşumu taşlaşmayı, taşlaşma ise enfeksiyon ve üriner akışın bloke edilmesini tetiklemekte ve oluşan mukozal hasar sonucu cerrahi müdahele ile üreteral stentin çıkartılması gerekmektedir. Gerçekleşen bu döngünün her bir basamağı öncelikle hastaya acı vermekte ve yaşam kalitesini düşürmektedir. Bunun yanı sıra Sosyal Güvenlik Kurumuna ekstra bir maliyet oluşturmaktadır.

Ticari üreteral stent ürünlerinde altın standart olarak kullanılan malzemeler silikon ve poliüretandır (Percuflex®, Tecoflex®, Hydrothane®, Sof-Flex® vb.). Ancak bu stentlerin uzun dönem kullanımında gösterdiği performans yukarıda belirtildiği üzere bazı komplikasyonları da beraberinde getirmekte ve tedavide yetersiz

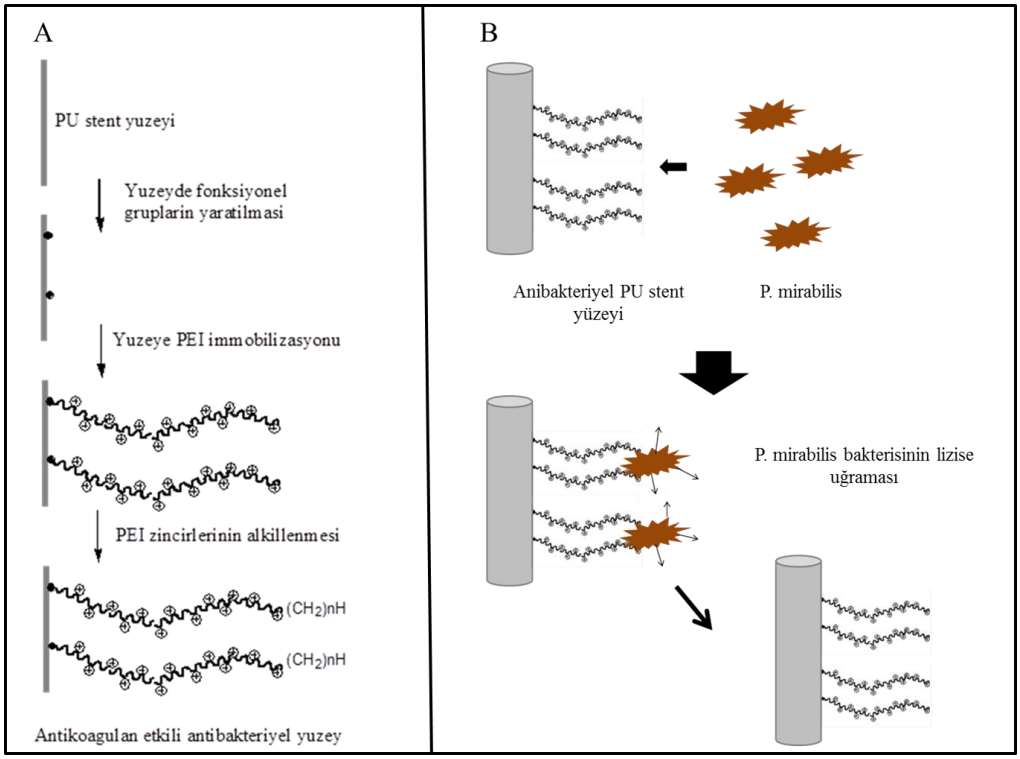
kalmaktadır. Taşlaşma ve enfeksiyon oluşumunu engellemeye yönelik yapılan çalışmaların birçoğunda stent yüzeyine gümüş iyonları, kuaterner amin tuzları, triklosan, antibiyotikler, enzimler ve farklı ilaçların antibakteriyel ajan olarak yüklenmesi hedeflenmiştir. Ancak yapılan bu yaklaşımlar küçük moleküllü antimikrobiyal ajanların salım ve etki sürelerinin kısıtlı olması nedeniyle etkili bir sonuç vermemiştir.

Poliüretan stentler, iyi mekanik özellikleri, biyouyumlulukları ve yüzeyde erken dönem çatlakların olmaması nedenleriyle ürolojik uygulamalarda tercih edilmektedir. Ancak taşlaşmaya ve bakteri tutunmasına açık olması erken dönemde uygulama bölgesinden çıkarılmasını gerektirebilmektedir. Diğer olası klinik sorunlar; ağrı, mesanede rahatsızlık hissi, hematüri, bakteriüri ve ateş olarak rapor edilmiştir. Stentte parçalanma, kırılma, taşlaşma ve çatlama da geç dönem sorunları olarak ortaya çıkabilmektedir. Bu nedenle araştırmacılar ve stent üreticileri stent kalış süresinin sorunsuz bir şekilde uzatılması ve bakteri tutunması ile taşlaşmayı önlemek amacıyla stent yüzeyinde hidrofilik film kaplama üzerine çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır. Ancak hala etkili bir kaplama geliştirilememiştir ve çalışmalar bu konu üzerine devam etmektedir. Sonuç olarak taşlaşma klinikte önemli bir sorundur ve üreteral stentlere taşlaşmaya dirençli bir yüzey geliştirilmesine önemli ölçüde gereksinim duyulmaktadır.

Bu tezin amacı; poliüretan (PU) üreteral stent yüzeylerinde taşlaşma ve enfeksiyonu engellemek üzere antibakteriyel ve antiadesif özelliklere sahip fırça tipi polimer yüzey yaklaşımlarıyla yenilikçi ve ortama herhangi bir aktif madde salmayan antibakteriyel yüzey tasarımlarını geliştirmektir. Yüzey modifikasyonunda fırça tipi aşılanmış polimer uygulaması yaklaşımında amaç taşlaşma probleminin temelinde yatan *Proteus mirabilis'e* karşı antibakteriyel bir yüzey oluşturarak, bu bakterinin yüzeye tutunmasının engellenmesidir. Bu amaçla poliüretan stent yüzeyine hidrofobik bir polikatyon olan polietilenimin (PEI) zincirleri kovalent olarak yüzeye aşılanmış daha sonra alkillenerek bakteri membranlarının işlevinin bozulması için antibakteriyel yüzeyler oluşturulmuştur. Pozitif yükü ve hidrofobik özelliğinden dolayı alkillenmiş PEI bir antibakteriyel ajan olarak dikkat çekmektedir. Aynı zamanda PEI'nin stent yüzeyine fırça tipi polimer zincirleri şeklinde aşılanması ile (klasik yaklaşımların aksine) dinamik hareketlere

sahip bağımsız zincirlerin oluşturulması sayesinde protein adsorpsiyonuna ve bakteri tutunmasına direnç göstermesi ve bu sayede enfeksiyon ve taşlaşmaya karşı dirençli bir yüzey oluşturması hedeflenmiştir. Bu çalışmada kullanılan yaklaşım şekil 1.1.'de şematik olarak özetlenmiştir. Fırça tipi polimer yaklaşımı ile aynı zamanda stent yüzeyinde film kaplamadan kaynaklanan çatlamaların da önüne geçilmesi öngörülmektedir.

Bu tez sonunda erişilmek istenen sonuç stent yüzeylerinde gerek uygulanacak fırça tipi yüzey yaklaşımı ile gerek PEI'nin antibakteriyel özellikleri sayesinde poliüretan stentlerdeki taşlaşma ve protein adsorpsiyonuna olan eğilimlerin önüne geçilmesi ve bu stentlerin belirtilen komplikasyonları minimuma indirerek uzun dönem kullanımlarının sağlanmasıdır.



Şekil 1.1. Poliüretan stent yüzeylerin modifikasyonunda kullanılan yaklaşımın şematik gösterimi. A)Poliüretan stent yüzeyine PEI'nin aşılanması ile fırça tipi antibakteriyel yüzeylerin oluşturulması, B)Stent yüzeyindeki antibakteriyel etkileşim.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Medikal Cihazlar

Son yıllarda sağlık harcamalarındaki artışla birlikte tüm dünyada dikkatler medikal sektöre çekilmiştir. Sağlık sektörünün en pahalı harcama kalemlerini medikal (tıbbi) cihaz ve ilaç harcamaları oluşturmaktadır.

T.C. Medikal Cihaz Yönetmeliği'ne göre medikal cihazlar insanda kullanıldıklarında asli fonksiyonunu farmakolojik, kimyasal, immünolojik veya metabolik etkiler ile sağlamayan; fakat, fonksiyonunu yerine getirirken bu etkiler tarafından desteklenebilen ve insan üzerinde bir hastalığın, yaralanmanın, sakatlığın tanısı, tedavisi, izlenmesi ve kontrol altında tutulması, hafifletilmesi veya mağduriyetin giderilmesi, anatomik veya fizyolojik bir işlevin araştırılması, değiştirilmesi veya yerine başka bir şey konması, doğum kontrolü veya sadece ilaç uygulamak amacıyla üretilmiş, tek başına veya birlikte kullanılabilen, amaçlanan işlevini yerine getirebilmesi için gerekiyorsa bilgisayar yazılımı ile de kullanılan ve cansız hayvanların dokularından da elde edilen ürünler dahil olmak üzere, her türlü araç, alet, cihaz, aksesuar veya diğer malzemeleri kapsamaktadır.

Medikal cihaz tanımının içine, pamuk, gazlı bez, lens, lens solüsyonu ve diyaliz solüsyonundan EKG, anestezi, ultrason ve MR cihazına; kan grubu reaktifleri, gebelik testlerinden oto analizörlere ve vücuda yerleştirilen implantlara kadar geniş bir cihaz grubu girmektedir (Çizelge 2.1.). Yaklaşık olarak 11.000'in üzerinde farklı ürün ve teknolojiyi kapsamaktadır. Ayrıca nanoteknolojinin sağlık alanındaki uygulamaları olarak tanımlanan nanotıp alanında; hastalıkların teşhisi, tedavisi ve önlenmesinde kullanılan nanoboyuttaki malzeme, aygıt/araç ve sistemler de bu sektör içinde yer almaktadır. Diğer taraftan rejeneratif tıp ve doku mühendisliği ürünleri de bu sektör içinde geniş bir yer tutmaktadır.

Çizelge 2.1. Medikal cihazlara örnekler

Anestezi makineleri ve monitörleri	Tıbbi tanı görüntüleme ekipmanı	Tıbbi tanı kit ve testleri
Apne Monitörleri	Diyalizörler	Diyaliz makineleri
Protez gözler	Elektrokoterler	Enteral beslenme sistemi
Protez uzuvlar	Endoskoplar	Engelli ekipmanı
Kan transfüzyon ve filtrasyon cihazları	Cerrahi eldivenler	Hidrosefali şantları
Göğüs implantları	Fetal monitörler	Hasta pedleri
Kardiyak monitörler	İşitme cihazları	İnfüzyon pompa ve setleri
Kardiopulmonar bypass cihazları	Kalp kapakları	İdrar sondaları
Klinik termometreler	Hasta yatakları	Damariçi kateter ve kanüller
Kondomlar	Ameliyat masaları	Laboratuar donanımı
Kontakt lensler	X-Ray görüntüleme cihazları	Böbrek taşı kırma cihazı
Bilgisayarlı Tomografi Cihazı	Pacemaker cihazı	Tıbbi lazerler
Defibrilatörler	Fizyoterapi donanımı	Tıbbi tekstil
Dişçilik ekipmanı	Ortopedik ayakkabılar	Ortopedik implantlar
Radyoterapi cihazları	Bistüriler	Özel oturma destekleri
Elektroşok cihazı	Stentler	Cerrahi aspiratörler
Cerrahi iplikler	Enjektör ve iğneler	Cerrahi el aletleri
Klipler ve zımbalar	Ultrason cihazları	Solunum destek cihazları
Yürümeye yardımcı araçlar	Tekerlekli sandalyeler	Manyetik rezonans cihazı
Kemik çimentoları	Greftler	Korse ve Varis çorapları

Medikal cihaz ve malzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak veya belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan, idrar) temas ederler. Bu malzemeler; uygulama alanlarına (Çizelge 2.2.), kullanıldıkları sisteme (Çizelge 2.3.), uygulandığı probleme (Çizelge 2.4.) ve doku ile etkileşimine (Çizelge 2.5.) göre sınıflandırılabilir.

Çizelge 2.2. Medikal cihazların uygulama alanına göre sınıflandırılması

İntravasküler	Periferal kateterler (venöz, arteriyel) Orta hat kateterleri Santral venöz kateterler Tünelsiz kateterler Tünelli kateterler Pulmoner arter kateterleri Tamamen implante edilen portlar
Kardiyovasküler	Mekanik kalp kapakları İmplante edilebilen defibrilatörler ve ilgili cihazlar Vasküler greftler Koroner stentler İmplante edilebilen hasta monitörleri
Nörolojik Cerrahi ile İlgili olanlar	Ventriküler şantlar Kafa içi basınç cihazları İmplante edilebilen nörolojik stimülatörler
Ortopedik	Eklem protezleri ve diğer rekonstrüktif ortopedik implantlar Spinal implantlar Kırık fiksasyon cihazları
Ürolojik	Şişirilebilen penis implantları
Kulak-Burun-Boğaz	Kohlear implantları Orta kulak implantları
Oftalmolojik	İntra-oküler lensler Glakom tüpleri
Dental	Dental implantlar

Çizelge 2.3. Medikal malzemelerin kullanıldıkları sistemlere göre sınıflandırılması

Kullanıldığı Sistem	**Kullanılan Medikal Malzemelere Örnek**
İskelet Sistemi	Metal plak, vida
Kas Sistemi	Cerrahi iplik
Dolaşım Sistemi	Kardiyovasküler kateter
Solunum Sistemi	Oksijen maskesi
Boşaltım Sistemi	Üriner kateter, **Üriner stentler**

Çizelge 2.4. Medikal malzemelerin uygulandığı probleme göre sınıflandırılması

Karşılaşılan Problem	**Kullanılan Medikal Malzemelere Örnek**
Yaralı/Hasta Dokunun Değiştirilmesinde Kullanılan Materyaller	Yapay kalça protezi
Görevini Yeterince Yerine Getiremeyen Dokuya/Organa İyileştirmede Kullanılan Materyaller	Kontak lens, gözlük, kalp pili
Doku İyileşmesine Yardımcı Materyaller	Ameliyat iplikleri, doku iskeleleri, kemik plakaları
Tedaviye Yardımcı Materyaller	Kardiyovasküler stentler, üniner kateterler, **üreteral stentler**
Kozmetik Amaçla Kullanılan Materyaller	Silikon, diş teli, hyalüronik asit

Çizelge 2.5. Medikal malzemelerin doku ile etkileşimlerine göre sınıflandırılması

Biyomalzeme Tipi	**Doku ile Etkileşimi**	**Biyomalzeme Örnekleri**
Biyobozunur	Yer Değiştirme	TCP (Trikalsiyum fosfat)
Biyoinert	Mekanik Bağ	Ti, Al oksit yapıları
Biyoaktif	Kimyasal Bağ	Hidroksiapatit

İnsan sağlığı için tanı-teşhis ve tedavi basamaklarında sıklıkla kullanılmakta olan medikal cihazlar, farklı bilimsel ve teknolojik alanlarındaki araştırma ve gelişmelerin ortak bir paydada buluşmasıyla gelişmektedir. Kimya, metalurji, malzeme, makine, bilgisayar ve elektrik-elektronik mühendislikleri gibi disiplinlerin interdisipliner ortak çalışmalar yapmasıyla, medikal cihazların araştırma-geliştirme basamakları şekillenmektedir. Medikal cihazlar teknoloji ile birlikte gün geçtikçe daha fonksiyonel hale gelmekte ancak bazı sorunları da beraberinde getirmektedir. Bunların başlıcaları kullanımları sırasında ortaya çıkan komplikasyonlardır. Bu komplikasyonlar cihazın türüne, hastanın durumuna, cerrahın başarısına göre değişmekle birlikte yabancı cisim kaynaklı medikal cihaz enfeksiyonları bu komplikasyonların başında gelmektedir. Tez çalışmasının içeriği nedeniyle ilerleyen bölümlerde bu komplikasyonlardan sadece medikal cihaz enfeksiyonlarına yer verilecektir.

2.2. Medikal Cihaz Enfeksiyonları

Medikal cihazlar kalıcı veya süreli olarak birçok hastalığın tedavisinde sıklıkla kullanılmış ve modern tıbbın kaçınılmazları haline gelmiştir (Pye et al., 2009 ; Von Eiff et al., 2005). Ancak ihtiyacın gerekliliğine rağmen, yabancı materyal kullanımından kaynaklanan özel komplikasyonlara da neden olabilmektedir. Bu komplikasyonlar yabancı cisim kaynaklı enfeksiyonlar olarak isimlendirilmektedir (Von Eiff et al., 2005). Yabancı cisim kaynaklı enfeksiyonlar, kalıcı veya geçici implantasyonla yerleştirilen medikal cihazlarla ilişkili olan, lokal ve/veya kan dolaşımı enfeksiyonları ile ilgili tüm öğeleri kapsamaktadır.

Bakteriyel enfeksiyon türlerine sebep olan komplikasyonlar çoğunlukla implantasyon esnasında hastadan kaynaklanmaktadır, nadir olarak ise ameliyat ya da klinik ekibi tarafından da gerçekleşebilmektedir. Hastanın kendine özgü faktörleri, bulaşan mikroorganizmalar, cihazın tipine göre cihaz kaynaklı enfeksiyonların morbidite ve mortalite oranını değiştirmektedir.

Yabancı cisim enfeksiyonlarına neden olan patojenler Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ile mantar kaynaklı olarak sınıflandırılmaktadır. Medikal malzemelerin implantasyonu sonucu karşılaşılan enfeksiyonların büyük çoğunluğuna insan derisinde yaygın olarak bulunan *Staphylococcus epidermidis* ve diğer koagülaz negatif bakteriler neden olmaktadır (Von Eiff et al., 2005).

Enfeksiyonun gerçekleşebilmesi için ön koşul medikal cihaz üzerine bakteri yapışmasının gerçekleşmesidir (An and Friedman, 1998). Bu fenomende ilk basamak bakterinin cihaz yüzeyine elektrostatik, hidrofobik ve sterik etkiler gibi fizikokimyasal etkileşimlerle gerçekleşen ve geri dönüşümlü olan tutunmasıdır (Razatos, 1998). Ancak yüzeye tutunan bakterinin doku proteinleriyle etkileşimleri ve platelet aktivitasyonu ile cihazın çevresindeki yüzey özelliklerinin değişimi sonucunda bu tutunma geri dönüşümsüz bir hal alır. Bakterilerde bulunan ve “adezin”ler olarak adlandırılan spesifik bağlanma bölgeleri fibrinojen, fibrin, fibronektin, vitronektin, laminin ve kolajen gibi serum ve doku proteinleriyle etkileşime girerek geri dönüşümsüz biyofilm oluşumunu başlatırlar (Jansen and Peters, 1993).

Yabancı cisime karşı ortaya çıkan doku cevabı ilk akut dönemde iyileşme mekanizmasının doğal bir parçasıdır ve serum ile doku proteinlerinin yabancı cihaz çevresinde birikmesi ve bir kapsül oluşturmasıyla gerçekleşir. Bu sırada bakteriler ve konakçı hücreleri cihaz etrafına yerleşebilmek için bir yarışa başlarlar ve eğer bu yarışı bakteriler kazanırsa iyileşme süreci tehlikeye girer.

Biyofilm genellikle bir yüzeyde yapılanmış ve sıklıkla da bir salgı içinde bulunan bakteri topluluğu için kullanılan bir terimdir. Bakteri daha kuvvetli bir tür oldukça protein, polisakkarit ve glikoproteinlerden oluşan bir salgı ya da ekzopolimer meydana getirirler ve bu salgılar bakterileri vücudun bağışıklık sisteminden (antikor ve akyuvarlar) ve antibiyotik tedavisinden korur (Hyde et al., 1998). Biyofilm içindeki bakterilerin serbest bakteri topluluklarına göre sterilanlara karşı 500 ila 1500 kat daha dayanıklı oldukları bilinmektedir ve bu da biyofilm oluşmuş medikal cihazın vücuttan çıkarılmasının başlıca sebebidir.

Çeşitli medikal cihaz kullanımlarında ilgili doku veya organda sıklıkla karşılaşılan komplikasyon ve insidanslar çizelge 2.6.'da verilmiştir.

Medikal cihazlarda enfeksiyon olasılığının düşürülmesi konusunda cihaza göre ekstrinsik (harici) ve intrinsik (içsel) olarak tanımlanabilen yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yaklaşımlardan ektrinsik olanlarında genel olarak steril koşulların iyileştirilmesi yer alır. Cihazın çok dikkatli sterilizasyonu ve kullanımı ile preoperatif ve postoperatif dönemde profilaktik antibiyotik tedavisini içermektedir.

Medikal cihazlara intrinsik olarak yapılan iyileştirmelerde; cihaz dizaynının bakteri tutunmasına dirençli olarak yapılması, yüzeyde lokal doku ile entegrasyonu hızlandırıcı ve bakteri itici bir özellikte kaplamaların yapılması esastır (Reid, 1998). Bakteri tutunmasını tamamen engelleyici bir kaplama için çalışmalar günümüzde halen devam etmektedir ve lubrikant içeren, fosfolipid ve heparin temelli kaplamalar bakteri tutunmasına direnç kazanmak için denenen maddelerdendir.

Çizelge 2.6. Medikal cihaz enfeksiyonları

Medikal cihaz sınıfı	İlgili Doku	Komplikasyon/İnsidans
I. Haricileştirilmiş cihazlar		
Kardiyovasküler kateterler Merkezi venöz kateterleri Hemodiyaliz erişimler	Yumuşak doku, kan	Girişim bölgesi enfeksiyonları, bakteremi, fungemi, endokardit, *S. aureus* ve Gram negatif bölge enfeksiyonları, Enterik bakteriler ve *P. aeruginosa enfeksiyonları*
Endotrakeal tüpler	Soluk borusu	Sinüzit, trakeit, pnömonik bakteremi, nazotrakeal tüplerde orotrakeal tüplere göre daha fazla travma ve Gram negatif bakteri istilası, bağışıklık sistemi zayıf hastalarda mantar ve virüs enfeksiyonları
Peritonel şant ve kateterler	Yumuşak doku	Girişim bölgesi enfeksiyonları, peritonik bakteremi, %1 - %6 peritonit riski, En yaygın olarak *S. epidermidis* ve*, S. aureus* enfeksiyonları
Üriner kateterler	İdrar yolu	Sistit, prostatit, epidimit pileonefrit gibi idrar yolu enfeksiyonları, bakteremi, %20 -%30 oranında bakteriüri, Başta *E. coli* olmak üzere *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* ve Enterokok sp. Gram negatif enfeksiyonları. Kronik kateter kullanımı sonucu *P. aeruginosa* gibi antibiyotiğe dirençli bakteri gelişimi.
Yara örtüleri ve süturlar	Yumuşak doku	Sütur çevresinde enflamasyon ve eksüda, deri enfeksiyonları, bakteremi, yanık vakalarında yüksek ve sürekli enfeksiyon tehlikesi
II. İmplantlar		
Kardiyovasküler implantlar, vasküler greftler	Yumuşak doku, kan	Greft çevresi enflamasyon ve eksüda, septik emboli, bakteremi, fungemi, vasküler fistül, olarak *S. epidermidis* ve*, S. aureus* enfeksiyonları, Yüksek morbidite ve Gram negatif ya da anaerobik organizmalar ile yüksek mortalite.
Kalp kapakçıkları	Kalp, kan	Endokardit, bakteremi, fungemi, yüksek morbidite ve mortalite, %0,4 - %2 enfeksiyon riski, *Stafilokok* ve *mikrokok* enfeksiyonları en yaygın enfeksiyonlardır. Sonrasında *streptokok* ve Gram negatifler yaygındır. %8 oranında *Candida* ve *Aspergillus* mantarları enfeksiyon yaratır.

Yapay kalp	Yumuşak doku, kan	Deprese doku cevabı, greft çevresi enflamasyon ve eksüda, septik emboli, bakteremi, fungemi, yüksek morbidite ve mortalite, *P. aeruginosa, S. epidermidis ve C. albicans* enfeksiyonları.
Kalp pilleri	Yumuşak doku, kalp	Enflamasyon ve eksüda, endokardit, bakteremi, fungemi, yüksek morbidite, *S. aureus* ile septisemi görülür.
Endovasküler stent ve endovasküler greftler	Vasküler intima	Bazı durumlarda *S. aureus* enfeksiyonları.
Dental implantlar	Diş eti, kemik	Periodental hastalıklar, gingivit, *Fusobakteri, Peptokok, Peptostreptokok, Selenomonas, Propionibakteri Aktinomis, Bifidobakter* ve *Enterokok*.
Nöral implantlar ve serebrospinal sıvı	Nöral doku ve merkezi spinal sıvı	Girişim bölgesi enfeksiyonları, menenjit/ ventrikülit (%2/%31 enfeksiyon oranı), *S. epidermidis* ve*, S. aureus* (%75 ve %25) enfeksiyonları. Peritonal şantlarda Gram negatif enfeksiyonları.
Oküler implantlar, lensler	Göz	Konjüktivit/keratit, endoftalmit, göz içi apse, %1 enfeksiyon oranı. *S. epidermidis* ve*, S. aureus* enfeksiyonları.
Ortopedik implantlar, eklem implantları	Kemik, yumuşak doku, eklem kapsülleri	Septik artrit, eklem enfeksiyonu, osteomyelit, bakteremi, %1-%2 enfeksiyon oranı, *S. epidermidis* gibi Gram pozitif enfeksiyonlar.
Kırık/çatlak sabitleyiciler	Kemik, yumuşak doku	Açık kırıklarda %26- %40 enfeksiyon oranı, *S. aureus* başta olmak üzere *Proteus, E. coli, Streptokok, Pseudomonas, Klebsiella ve enterokok* enfeksiyonları.
Rekonstrüktif cerrahi Yumuşak doku implantları	Yumuşak doku	İmplant çevresi enflamasyon ve eksüda, *S. aureus* ve nadiren mukobakteri enfeksiyonları.

Malzeme üzerinde trombus oluşumunun engellenmesi de bakteriyel tutunmanın azaltılması konusunda bir yaklaşım olarak kabul edilebilir; çünkü trombus oluşumunda görevli olan fibrinojen ve fibrin gibi proteinlerin implantasyon bölgesine azaltılması ile bakterilerin bu proteinlere bağlanacak adezinlerinin etkileşime girememesi ve de yüzeye birikmemesi sağlanabilir. Bu yüzden trombodirençli yüzeylerin aynı zamanda bakteri tutunma dirençli yüzeyler olarak da tanımlanabilmesi mümkün olabilir (Helmus, 1995).

Cihaz içine doku entegrasyonunun gerçekleşmesi de bakteriyel tutunmayı azaltıcı bir yaklaşım olarak öngörülebilir. Çünkü doku tarafından hızlı bir şekilde kabul edildikten sonra cihaz üzerinde bakterilerin tutunması için bir substrat bölgesi kalmaz.

Medikal cihazlara uygulanabilen antimikrobiyal teknolojiler çizelge 2.7.'de özetlenmiştir. Geniş spektrumlu kimyasallar ve antibiyotikler gibi antimikrobiyal ajanlar cihaz rezervuarlarına ve tüplerine eklenebilir veya cihazlar öncesinde bu tip çözeltilere daldırılabilir, polimer bileşene karıştırılabilir, kaplama halinde uygulanabilir.

Çizelge 2.7. Medikal cihazlar için antimikrobiyal teknolojiler

Teknoloji	Antimikrobiyal Ajan	Cihaz
Antimikrobiyal ekleme	Taşıyıcı rezervuara klorheksidin, hidrojen peroksit gibi antimikrobiyal çözelti eklenmesi	Üriner toplama çantaları ve tüpleri
Önceden antimikrobiyal çözeltiye batırılma	Antibiyotik çözeltiler	Kateterler, kalp kapakçıkları, ortopedik implantlar
Antimikrobiyal katma: yüzey kaplama	Povidon iyodin, metalik gümüş, antibiyotikler (penisilin ve sefalosporin)/ sürfaktan; gümüşsülfadiazin galvanik gümüş salımı, antimikrobiyal peptidler	Üriner kateterler, Kardiyovasküler kateterler, perkütan konnektörler, kardiyovasküler ve yumuşak doku implantları
Antimikrobiyal katma: matriksten salım (polimer içine karışmış)	Gümüşsülfadiazin, gümüş oksit veya tuzları, galvanik gümüş salımı (gümüş ve soy metal), antibiyotik/antibiyotik kombinasyonları	Yara örtüleri, üriner kateterler, kardiyovasküler kateterler, perkütan konnektörler, hidrosefalöz şantlar

Antimikrobiyal içeren cihaz terimi, biyoaktif ajanların daha yavaş bir sürede ortama verilmesiyle tüm vücuda etki etmeden, yani sistemik bir etki göstermeden, ortamdaki biyolojik etkileşimleri düzenlemeye yardımcı cihazlar için kullanılabilir. Cihazlardan ortama salınacak olan antimikrobiyal bileşenler hem çevredeki mikrobiyolojik oluşumları öldürecek kadar etkili hem de çevre dokularda sitotoksik bir etki yaratmayacak oranda olmalıdır. Geniş spektrumlu pek çok antibiyotiğin efektif fakat aynı zamanda yüksek dozlarda sitotoksik olduğu bilinmektedir.

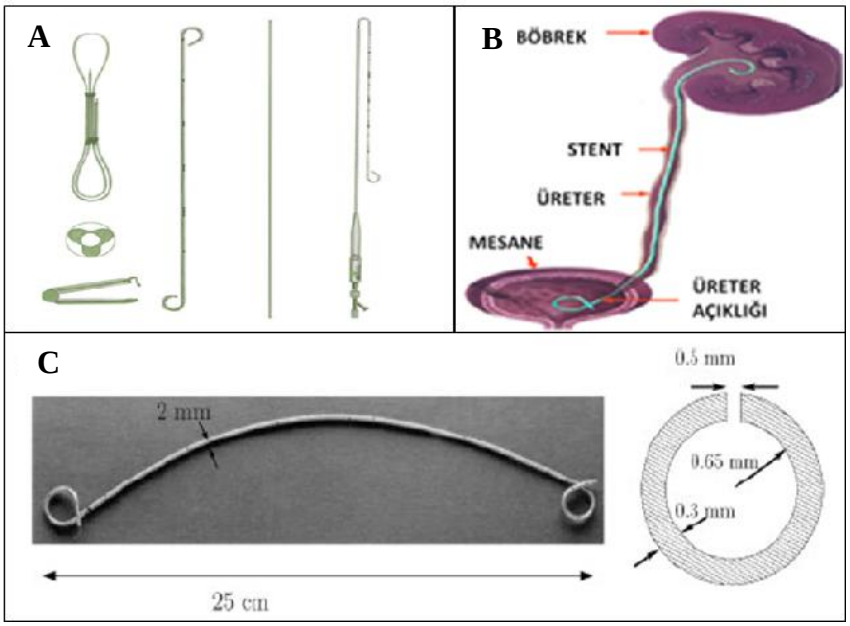
Antimikrobiyal etkin madde içeren cihazlar, etkin madde bir sürfaktan ile kaplanmış veya etkin madde (antimikrobiyal ajan) polimer matriks içine dağıtılmış olarak sınıflandırılabilirler. Matriks içine dağıtılmış olanlar daha fazla aktif ajan içerebilir ve daha uzun salım sürelerine sahip olabilirler. Her iki tipe sahip örnekler de çizelge 2.8.'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.8. Antimikrobiyal içeren cihazlar

Cihaz	Teknoloji
Kardiyovasküler ve yumuşak doku implantları	Metalik gümüş kaplamaları, antibiyotik (penisilin ve sefalosporin) çözeltide ve sürfaktanda bekletme
Kemik çimentosu	Kemik çimentosuna antibiyotik karıştırılması
Yara örtüleri	Polimere klorheksidin karıştırılması, polimere ya da adhesif tabakaya povidon-iyodin kaplama veya karıştırılması, antibiyotik (penisilin ve sefalosporin) sürfaktan, polimere antibiyotik (gentamisin ve klindamisin) karıştırılması, gümüş tuzlu hidrojel yara örtüleri,
Üriner kateterler	Povidin-iyodin kaplamalar, polimere gümüş karıştırılması, metalik gümüş kaplaması
Merkezi venöz kateterleri	Polimere galvanik gümüş karıştırılması, metalik gümüş kaplaması
Hidrosefalöz şantlar	Polimere antibiyotik kaplaması
Peritonal ve diyaliz kateterler	Antibiyotik (penisilin ve sefalosporin) sürfaktan
Perkütan konnektörler	Kolajen matrikste gümüş tuzları katkılanması

2.2.1. Üreteral stentler ve enfeksiyon

Üreteral stentler, böbrek ve mesane arasında üreter bölgeye yerleştirilen dar, içi boş ve delikli plastik tüplerdir (Şekil 2.1.). Üreteral stentler ürolojik cerrahi girişimler, üriner sistem taş hastalığı, ürolojik maligniteler ve diğer nedenlerle (abdominal lenfoma, batında ankiste kitle, serviks ve over CA, rektum CA) klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır. Kullanılan stentin fiziksel formu ise hastanın rahatı ve tıbbi durumunun koşullarına göre seçilmektedir. Ancak genellikle stentin sabit kalabilmesinini sağlayan iki ucu kıvrık Double J (DJ) veya pigtail olarak adlandırılan stentler kullanılmaktadır. DJ stenler (Şekil 2.1. (C)) üreterdeki idrar pasajını açık tutabilmek için yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu stentler kullanılan materyale bağlı olarak 3 ile 8 ay arasında üreterde kalabilmektedirler (Desgrandchamps et al., 1997).



Şekil 2.1. Üriner stentlere örnekler. A) Üriner sistem stentleri, B) Üriner stentin (Double J) vücut içerisindeki anatomik görüntüsü, C) Double J stent ve enine kesiti (Waters et al, 2008).

Ticari üreteral stentlerde altın standart olarak kullanılan malzemeler silikon ve poliüretandır (Percuflex®, Tecoflex®, Hydrothane®, Sof-Flex® vb.). Polimerik malzemelerin kullanımının daha yaygın olmasının nedeni diğer malzemelerden daha inert bir doğaya sahip olmasıdır (Beiko et al., 2003; Venkatesan et al., 2010). Kısa dönem kullanımlar için poliüretan, uzun dönem kullanımlar için ise silikon

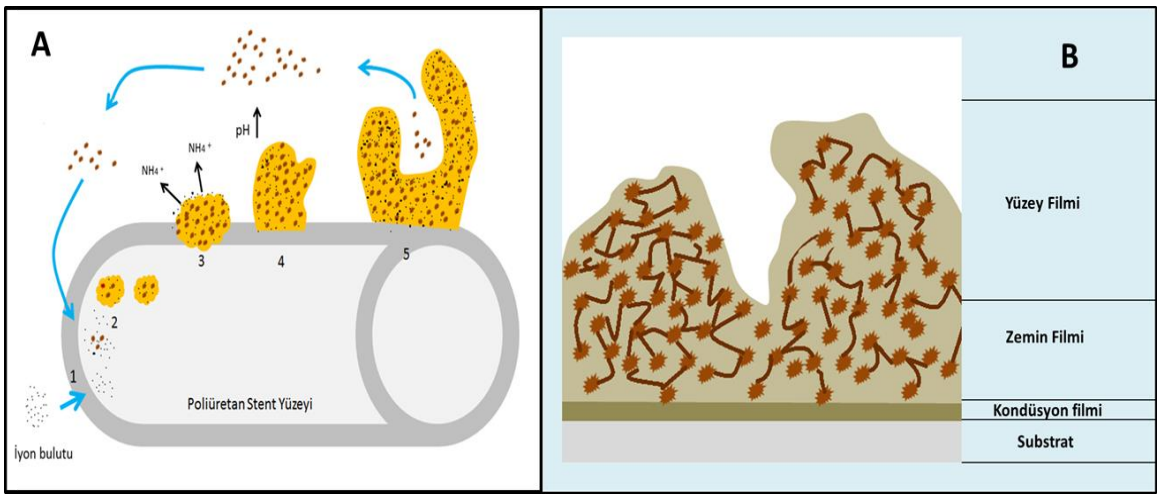
stentler tercih edilmektedir. Kullanılan materyallerdeki farklılıklar, doku ile etkileşimde kısmi farklılıklar göstermektedir.

Üreteral stent uygulamasında, hastalığın etyopatogenezine, stentin yapısına bağlı olarak uzun süreli kullanımlar sonrasında bazı komplikasyonlar görülmektedir. Enfeksiyon, hematüri, migrasyon ve taş oluşumu, bunların belli başlı olanlarıdır. Ürolojik implantlarda oluşan taşlaşma sadece tıkanmaya değil (Milroy and Chapple, 1993; Squires and Ghilti, 1995), aynı zamanda enfeksiyona da yol açmaktadır (Brehmer and Madsen, 1972). Stent uygulandıktan bir haftadan daha kısa bir süre içinde yetişkin hastalardaki bakteriyel kolonizasyon hızı % 28'den % 90'a ve üriner enfeksiyon ise % 7'den % 34'e artış göstermiştir (Ben-Meir et al., 2009).

Ürolojik implantlara tutunan bakteriler (*E. coli, P. mirabilis*) genellikle üreaz-pozitiftir, ortamın pH'sını arttırarak kristalleşmeyi başlatır ve struvit ve diğer kristal yapılarının oluşumunu hızlandırarak taş oluşumuna neden olur. Hesse ve ark. taşlaşmanın *in vitro* ortamda 8.5'den büyük pH değerlerinde gerçekleştiğini *in vitro* tekniklerle göstermişlerdir (Hess et al., 1994). Taşlaşma prosesinde Ca^{2+} ve Mg^{2+} iyon konsantrasyonları önemli yer tutar. Ca^{2+} ve Mg^{2+} iyonları termodinamik olarak magnezyum amonyum fosfat hekzahidrat (struvit) ve kalsiyum fosfat (hidroksi apatit) yapılarının çözünürlük ürünü olarak ortaya çıkar. Üriner tuzların çözünürlük sınırını aşması, pH'nın yükselmesi, iyon konsantrasyonunun artması, dolayısıyla iyon bulutlarının oluşmasına ve kristal yapıların çökmesine neden olur (Edin-Liljegren et al., 1994; Reid and Busscher, 1998).

Taşlaşma oluşumu biyomalzeme yüzeyinin enerjisine ve idrar bileşeni ile sıcaklığına bağlı olarak protein adsorpsiyonu ile başlar ve film tabakasının oluşmasıyla devam eder. Daha sonra bakterilerden gelen organik moleküller protein altyapısı üzerinde birikmeye başlar (Costerton et al., 1987; Elves and Feneley, 1997) ve ardından bakterilerin yaklaşarak yapışmasına neden olur. Bu noktadan sonra proses geri dönüşümsüzdür. Daha sonra bakterilerin çoğalmasıyla, kolonileşme ve biyofilm oluşumu gerçekleşir (Şekil 2.2.). Biyofilm, mikroorganizmalar ve ekstrasellüler ürünlerin katı bir yüzey üzerinde toplu halde yapılaştıkları oluşumlardır. Bu oluşum kateter üzerinde, drenaj boşluğunda ve

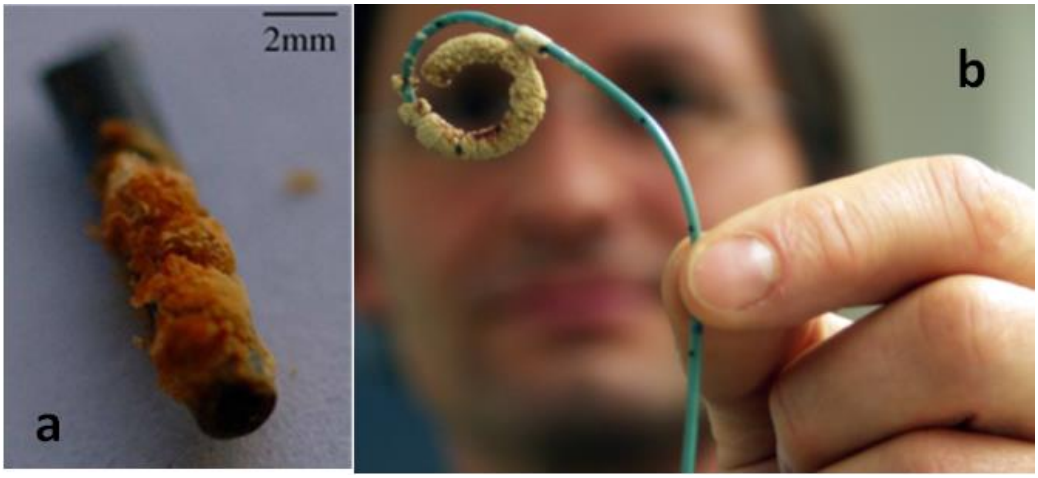
üreoepitelyum bölgesinde görülebilir. Biyofilm yapıları içerdiği proteinler, glikoproteinler, elektrolitler ve karbonhidratlardan kaynaklanan net bir negatif yüke sahiptir (Christensen et al., 1989; Pearle and Roehrborn, 1997). Biyofilm yapısının kalınlığı transfer etkinliği, akışkanın sürtünme direnci, oksijen ve besinlerin transferinden etkilenir (Koch 1990; Schierholz et al., 1999). Bakteriler ekzopolisakkarit yapının içinde immobilize olur ve üreaz üretmeye başlarlar (Santin et al., 1999). İdrarda ve biyofilm çevresinde amonyum iyonlarının üretimi ile pH değerinin artmaya başlaması, Ca^{2+} ve Mg^{2+} iyonlarının matriks yapısına çekilmesi ve düşük çözünürlüğe sahip kalsiyum fosfat ile struvit yapılarının oluşumuyla kristal yapıların çökelmesi ve kristal yapılanmanın kendi kendine büyümesi ile taşlaşma oluşur (Schierholz et al., 2002).



Şekil 2.2. Biyofilm oluşumunun şematik gösterimi. A) Plazma proteinlerinin stent yüzeyine adsorpsiyonu ve iyon bulutlarının stent yüzeyine tutunması (1), serbest haldeki bakterilerin stent yüzeyine tutunmasıyla birlikte bakteri tarafından biyofilmi oluşturacak hücredışı polimerik malzemenin sentezlenmesi (2), artan pH ve üreaz aktivitesi sonucu stent yüzeyinde kristalizasyonun başlaması (3,4) ve stent yüzeyinde biyofilm ve kristal yapının olgunlaşması ile taşlaşma probleminin oluşumu. Stent yüzeyinde artan bakteri sayısı, kristalizasyon ve biyofilm oluşumu sonucunda bakterilerin yeni yüzeylere yapışmak üzere tekrar serbest hale geçmesi (5). B) Üriner stent yüzeylerinde meydana gelen biyofilmin şematik gösterimi.

Taşlaşma ve beraberinde oluşan enfeksiyonların tedavisinde sistemik antibiyotik kullanımı bu mikroorganizmaların direnç geliştirmesi ile etkisiz kalmıştır. Üreteral stentlerde silikon ilk jenerasyonun ürünü (1960) olmakla birlikte bu stentlerin yüksek sürtünme katsayısına sahip olması ve iç çapının kısıtlı olması nedeniyle düşük drenaj verimliliği (Hofmann and Hartung, 1989) ve migrasyon gibi sorunlar

yaşanmaktadır. Yüzey özelliklerinden dolayı poliüretana kıyasla struvit ve hidroksiapatitten oluşan taşlaşmaya daha dirençli (Tunney et al., 1997) olsa da stentin ortalama tıkanma ömrü yaklaşık 47 saat olarak ölçülmüştür (Morris and Stickler, 1998). Poliüretana nazaran bakteri tutunması ise daha fazladır (Tunney and Gorman, 1996). Daha sonraki dönemde (1970'ler) silikon yerini polietilene bırakmıştır ancak bu polimerin üriner ortamdaki kararsızlığı erken dönemde stent üzerinde çatlaklara yol açmıştır. 1980 yılından sonra üçüncü jenerasyon olarak üstün özellikleri nedeniyle poliüretan stentler kullanılmaya başlanmış olup günümüzde en yaygın kullanılan stent materyali olarak yerini almıştır. Ancak poliüretan stentlerin en önemli komplikasyonu ise taşlaşmadır. Bununla birlikte poliüretan yüzeyler bakteri tutunmasına ve protein adsorpsiyonuna da eğilim göstermektedirler (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Taşlaşma oluşmuş stent görüntüleri. A) 196 Gün sonra 58 yaşındaki erkek hastadan izole edilen ürolojik stent yüzeyinde meydana gelen taşlaşma (Waters et al., 2008), B) DJ stent yüzeyinde meydana gelen taşlaşma (Laube, 2007).

Stent üreticileri ve araştırmacılar, stentlerdeki taşlaşma ve enfeksiyonu önlemek için yeni nesil stentlerde ideal materyal kompozisyonunu aramak yerine çalışmalarını mevcut stentlerde (poliüretan ve silikon) antibakteriyel yüzey kaplama stratejileri üzerine yoğunlaştırmışlardır. Özellikle stent yüzeylerinin kaplama yoluyla fonksiyonelleştirilmesi en belirgin gelişme olup çalışmalar bu yönde devam etmektedir (Al-Aown et al., 2010). Çünkü poliüretan ve silikon biyomedikal alanda oldukça çok kullanılan, biyouyumluluğu bilinen polimerlerdir. Üreteral stentlerde yüzey modifikasyonu yapılırken seçilen yöntemlerde; bakteriyel

tutunmanın önüne geçilmesi, bakteriyel üremenin inhibe edilmesi, bakteriüri başlangıcının geciktirilmesi, taşlaşma oluşumunun ya da tıkanmanın geciktirilmesi veya engellenmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Biyofilm oluşumunu engellemek için çeşitli antibiyotikler, bazı kuaterner amin grupları ve gümüş iyonları antibakteriyel ajan olarak stent yüzeyine klasik yöntemlerle kaplanmış ve stent yüzeyinden salınarak belli bir süre etkili olmuşlar ancak derişimlerinin azalmasıyla birlikte taşlaşma ve enfeksiyon yeniden gelişmiştir. Diğer taraftan polimerik stent yapılarında biyouyumluluğu arttıracak, stent ile üreter arasındaki sürtünmeyi azaltabilecek, çözünmeyen, hidrofilik ve hidrofobik polimerler (kitosan, PVP, heparin) kullanılarak çeşitli yüzey modikasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar etkili bir antibakteriyel kaplama için yeni kaplama malzemeleri ve teknikleri üzerine hızla devam etmektedir ve gelişmeler aşağıda ve literatür kısmında verilmiştir.

2.3. Poliüretan Üreteral Stent Modifikasyonları

Üriner stentlerde taşlaşma ve enfeksiyonu önlemek için birçok farklı materyal ve yöntem denenmiştir. Stentlerde modifikasyon sağlamak için; antibakteriyel kaplamalı yüzeyler, hidrofilik/hidrofobik yüzeyler, karbonca zengin materyaller, biyobozunur materyaller, yüksek biyouyumluluğa sahip materyaller, protein aşılanmış yüzeyler ve düşük yüzey enerjisi elde edilen sistemler kullanılmıştır. Bu gelişmeler aşağıda verilmiştir.

2.3.1. Gümüş kaplamalar

Stentlere antibakteriyel özellik kazandırmak için birçok metal iyonu (Ag(I), Cu(II), Zn(II), Al(III), Fe(III) vb) stent malzemesinin içine katılarak kompozit oluşturulmuştur. Ancak metal iyonlarının belirli bir değer üzerinde toksik etki göstermesi kullanımlarındaki en büyük problemdir. Bu metaller arasında gümüş güçlü antibakteriyel özelliğe sahip olması nedeniyle implant kaynaklı enfeksiyonların giderilmesinde 1950 yıllarından itibaren yaygın olarak kullanılmış ve enfeksiyon oranını düşürdüğü savunulmuştur (Winson, 1997). Ancak gümüş kaplamalı üriner stentlerin etkileri birçok araştırmacı tarafından araştırılmış ancak sonuçlar farklılık göstermiştir (Liedberg and Lundeberg, 1990; Saint et al., 1998).

Bu sebeple gümüş kaplamalı üriner stentlerin uygulandığı bölgede bakteriye bağlı olarak enfeksiyon gelişmesinde, stentin uygulama süresinin ve uygulama yapılan kişinin cinsiyetinin önemli etmenler olduğu belirlenmiştir (Saint et al., 1998). Gümüş kaplamalı stentlerin kısa süreli uygulamalarda daha başarılı olduğu belirlenmiştir (Thibon et al., 2000). Gümüşün uzun dönem etkileri için hidrojel polimer yapıları ile birlikte uygulanması denenmiştir (Lawrence and Turner, 2005). Hidrojel/gümüş kaplamalı poliüretan, hidrojel kaplamalı poliüretan, silikon kaplamalı latex ve tamamen silikon materyaller *Proteus mirabilis* bakterisinden kaynaklanan enfeksiyona bağlı gelişen taşlaşma oranları karşılaştırıldığında en başarılı sonuç tamamen silikon yapıda gözlenmiştir. Ayrıca Morris ve Stickler'ın (Morris and Stickler, 1998) yapmış olduğu bir çalışmada antibakteriyel gümüş kaplamalı üriner implantlarda, kaplamasız silikon olanlara oranla daha hızlı ve fazla miktarda taş oluşumu gözlendiği belirtilmiştir.

2.3.2. Antibiyotik kaplamalar

Ürolojik poliüretan implantlara antibakteriyel özellik kazandırma çalışmalarında antibiyotiklerin (safadroksil, sefamandol, vankomisin, siprofloksasin, gentamisin vb.) kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (John et al., 2007). Örneğin; poliüretan yüzeyine rifampisin/minosiklin yüksek konsantrasyonda kaplanmasına rağmen yüksek sayıda bakteri tespit edilmiştir (Schierholz et al., 2002). Bunun nedeninin antibiyotiklerin yüzeye immobilize edildiklerinde yüzeye temas eden vücut sıvısının sürekliliği ve değişkenliğinden dolayı istenen etkiyi gösteremediği şeklinde açıklanmıştır. Diğer taraftan antibiyotik kullanımında karşılaşılan en büyük problemin biyofilm oluşturan mikroorganizmaların antibiyotiğe karşı yüksek direnç kapasitesine sahip olmasıdır (Cadieux et al., 2009). Antibiyotiklere direnç sağlayan bakterilerin gelişmesi ile beraber ilaç dışında kullanılan gümüş ve bakır gibi antiseptiklere de bağışıklık geliştiren türler de ortaya çıkmaktadır (Cooksey, 1993; Silver et al., 2006). Bu yüzden yüzeyle temas halindeyken herhangi bir antibakteriyel ajanın yardımına gerek kalmadan bakterisidal özellik gösteren bir mekanizmanın yararlı olabileceği düşünülmektedir (McCubbin et al., 2006; Silver et al., 2006).

2.3.3. Kuaterner amonyum tuzları

Kuaterner amonyum bileşiklerinin poliüretan yüzeye immobilize edilmesiyle (McCubbin et al., 2006; Sivakumar et al., 2010) veya kuaterner amonyum grupları içeren kimyasalların poliüretan zincir yapısına katılmasıyla (Kébir et al., 2007; Luo et al., 2010) antibakteriyel özellik kazandırılması hedeflenen çalışmalar mevcuttur. Polimer zincirlerine kovalent olarak bağlanan ve bir bileşeni de 8 karbondan daha uzun alkil zincirleri olan kuaterner amonyum tuzlarının bakteri ve mantar gibi mikroorganizmaların hücre çeperleriyle temasa geçtiği anda yapıları yırtarak sitoplazmanın dışarı akmasına neden olduğu ve bakterilerin canlılığını yitirdiği bildirilmiştir (Silver et al., 2006; Zhu et al., 2009)**.** Yapılan çalışmalarda kullanılan tuzlar Gram negatif bakterilere karşı daha efektif olmak üzere hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğu görülmüştür. Klinikte ortaya çıkacak bakteri konsantrasyonu önceden tahmin edilemeyen ve bakteri öldürme etkisi doğrudan doğruya üzerinde bulunan karbon sayısı ile alakalı olan kovalent bağlı kuaterner amonyum bileşiklerinin *in vivo* kullanımı hala araştırılmaktadır (Silver et al., 2006; Zhu et al., 2009). Aynı zamanda kuaterner amonyum tuzlarının temas esnasında konak hücrelerine zarar vermesi de olasıdır.

2.3.4. Hyalüronik asit

Literatürde hyalüronik asit tuzları çekirdekleşme, kümeleşme ve agregasyonunu önleyici bir glikozaminoglikan olmasından ötürü poliüretanlara kaplama materyali olarak kullanılmıştır. Plazma ile aktif hale getirilmiş PU yüzeylerde, hyalüronik asit ile modifiye edilmiş silikona göre daha az taşlaşma oluşmuştur. Plazma müdahelesi ile hyalüronik asit esteri ve polimer yüzey arasında kovalent bir bağ oluşumu sağlanmıştır. Yöntem hidrasyona eğilimli olduğundan düşük protein adezyonu ve dolayısıyla daha az bakteri-hücre adezyonuna yol açtığı rapor edilmiştir (Choong et al., 2000) . *In vitro* sonuçlar modifikasyonun biyouyumlu olduğunu söylese de sonuçları test edecek bir klinik çalışma bulunmamaktadır.

2.3.5. Politetrafloroetilen (PTFE)

PTFE (Teflon) kaplamalı üriner malzemeler, teflon malzemelerin düşük sürtünme kuvveti ve kendiliğinden kaygan özelliklerinden dolayı 1960'lı yıllarda hastaların konforunu arttırmak için ortaya çıkmıştır (Lee and Neville, 1971; Pomfret, 2000). PTFE kaplamalı materyallerin enfeksiyon ve taşlaşma oluşumuna etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, ilk olarak PTFE yüzeyinin pürüzsüz ve hidrofobik yapısından dolayı taşlaşma oluşumunu azaltıcı etki gösterebileceği düşünülmüştür (Lawrence and Turner, 2005). Ancak daha sonraki çalışmalarda PTFE yüzeyinin pürüzsüz olmasının yanı sıra karakteristik olarak belirli noktalardan çatladığı anlaşılmıştır. Yapılarda oluşan çatlak kaynaklı ara boşlukların da bakterilerin rahatça tutunabilmesine, dolayısıyla da enfeksiyon ve taşlaşma oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir (Brannon-Peppas, 1997; Cormio et al., 2000).

2.3.6. Heparin

Glikozaminoglikanlar, kristalleşmeye karşı doğal inhibitörlerdir ve üriner bileşiklere bağlanarak kristallerin büyüme noktalarında blokaj sağlarlar (Angell and Resnick, 1989; Yoshimura et al., 1997). Heparin en yüksek negatif yük yoğunluğuna sahip glikozaminoglikandır. Ayrıca bilinen en kuvvetli kristalleşme inhibitörü olan biyolojik moleküldür (Hildebrandt et al., 2001). Poliüretan stent yüzeyine uygulanan heparin kaplama, yüzeyde yapışmayı önleyici, biyofilm oluşumunu ve taşlaşmayı azaltan etki göstermiştir. Bu nedenle heparin kaplamalı stentlerin 10-12 ay süreyle uygulama süresine sahip olabileceği düşünülmüştür (Cauda et al., 2008). Ancak heparin kaplamanın bakteri tutunmasına karşı inhibe edici özelliği *in vitro* olarak kanıtlanamamıştır (Lange et al., 2009). Heparin kaplama, vasküler malzemelerde ve ürolojide bakteriyel adhezyonu önlemek için (Appelgren et al., 1996), ürolojik stentlerde de taşlaşma ve biyofilm oluşumunu engellemek için kullanılmıştır (Riedl et al., 2002; Cauda et al., 2008). Ancak ürolojik stentler üzerinde heparin kaplama kullanılması, bakteri tutunmasını ve taşlaşmayı engelleyememiştir. Buna sebep olarak da stent uygulanan bölgedeki bakteri ve protein çeşitliliği gösterilmiştir (Lange et al., 2009).

2.3.7. Hidrofilik film kaplamalar

Hidrofilik film kaplamalar, sıvı absorbsiyonu sonucu şişerek temas yüzeyinde pürüzlülüğü ve kayganlığı arttıran ince bir film tabakası oluşturmaktadır. Bu nedenle çözünmeyen hidrofilik kaplamalar stent üreticilerin son yıllarda gözde metodu olmuştur. AQ, Lse, Cook Urological; SL-6 (Applied Medical, CA, USA) ve HydroPlus (Boston Scientific, MA, USA) ürünlerinde (Liatsikos, Kallidonis et al. 2010) LubriLAST DJ (patent no: US 6,238,799; US 6,866,936) polimerik kaplamayı tercih eden üreticilerden bazılarıdır. Ancak bu teknolojik gelişmelere rağmen hidrojel kaplamalı üreter stent uygulamalarında da farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır (Nakagawa et al., 1994; Young et al., 1998). Örneğin; Desgrandchamps ve ark. tarafından yapılan çalışmada üre içerisinde bekletilmiş 5 farklı stent yapısının görüntüleri incelendiğinde en çok taşlaşmanın hidrojel kaplamalı stentte gözlendiği belirtilmiştir (Desgrandchamps et al., 1997).

Ayrıca Chen ve ark. tarafından 2007 yılında yapılan çalışmada hidrojel kaplamasına bağlı olarak poliüretan yüzeyin protein absorbsiyonu ve taşlaşma oluşumunun azaldığı belirtilmiştir. Farklı bir çalışmada ise şişen hidrojel yapısının içine, kristal yapılarının yerleştiği ve taş oluşumunun arttığı savunulmuştur. Çeşitli ticari örnekler ile hidrojel kaplamalı C-Flex stent üzerindeki kristal yapının kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonları karşılaştırıldığında da hidrojel kaplamalı C-Flex stent hem kalsiyum hem de magnezyum konsantrasyonunda maksimum değere sahip bulunmuştur.

2.3.8. Karbon

Plazma ile depozit oluşturulan elmas benzeri amorf karbon kaplamalar karakterize edildiklerinde çok iyi derecede biyouyumlu oldukları saptanmıştır. İlk olarak 10 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada bu işlemin uygulandığı stentlerden umut vaadedici sonuçlar elde edilmiştir. Stent sürtünmesinde, biyofilm oluşumunda ve taşlaşmada azalma tespit edilmiştir (Laube et al., 2007). Ancak bu yeni kaplama yönteminin başarılı olup olmadığına karar vermek için çok daha fazla sayıda hasta grupları ile çalışma yapmak gerekmektedir.

2.3.9. Polimerik yüzey modifikasyonları

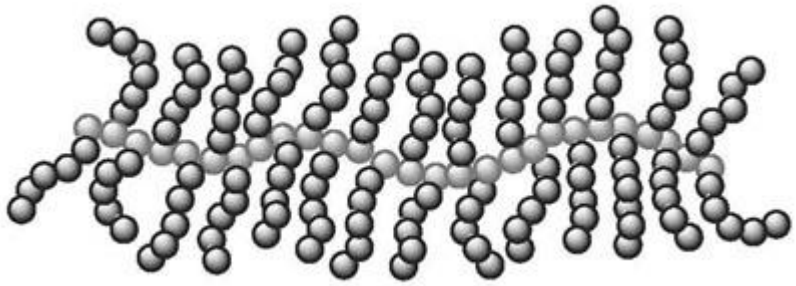
Biyomalzemelerin bulundukları biyolojik ortamla olan etkileşimleri yüzey özellikleri tarafından belirlenmektedir. Bu sebeple, ana malzemenin mekanik ve fiziksel özelliklerinin değiştirilmeden yüzey özelliklerinin biyouyumluluğu arttıracak şekilde kontrol edilebilmesi, geliştirilen malzemenin performansı açısından çok önemlidir.

Organik film kaplamalar, polimerik yüzey modifikasyonları, istenilen fonksiyonel grupların yüzeyde kolaylıkla yaratılabilmesi açısından uygun yüzey modifikasyonlarıdır. Biyomalzemeler üzerine uygulanan yüzey modifikasyonları, daldırarak kaplama veya püskürtmeli kaplama gibi geleneksel kaplama teknikleriyle uygulanabileceği gibi antibakteriyel polimer zincirlerinin, farklı bir polimerden meydana gelen malzeme yüzeyine fırça tipi aşılanmasıyla kopolimerlerin elde edilmesi şeklinde de uygulanabilir. Bu tip yüzey modifikasyonları, biyomalzemelerin biyouyumluluğunun sağlanması amacıyla pek çok çalışmada etkin bir biçimde kullanılmıştır (Zhao and Brittain, 2000; Senaratne et al., 2005; Goddard and Hotchkiss, 2007). Diğer yüzey modifikasyon teknikleriyle hazırlanan yüzeylerle karşılaştırıldığında bu yaklaşımla hazırlanan yüzeylerin daha yüksek fonksiyonel grup derişimine sahip olması bu tekniğin geleneksel yöntemler karşısındaki en önemli üstünlüğüdür. Söz konusu yöntem ile stent yüzeyinde biyofilm oluşumuna direnç gösterecek fonksiyonel grupların yaratılması uygun polimer yapıları ile mümkündür.

2.4. Fırça Tipi Polimerler

Fırça tipi aşılanmış kopolimerler bir yüzey veya ara yüzeye birer birer bağlanan polimer zincirlerinin bir araya gelmesiyle oluşurlar. İyi faz ayrımları sergileyen aşılanmış kopolimerler, termoplastik elastomerler, çarpmaya karşı dirençli plastikler, bir arada tutucular ve polimerik emilsufiyerler gibi çeşitli uygulamalar için kullanılırlar. Dallanmış yapılarından dolayı genellikle proses için avantajlı olan düşük erime viskozitesine sahiptirler. Aşılanmış kopolimerler yapısal çeşitliliklerinden dolayı (bileşim, omurga uzunluğu, dal uzunluğu, dal dağılımı, vb.) yeni özelliklerinin araştırılmasında büyük potansiyele sahiptir (Shinoda et al., 2001).

Fırça tipi graft kopolimerler blok kopolimerlerden veya yüzeyde var olan/oluşturulan fonsiyonel gruplara uçtan aşılanmış polimerlerden hazırlanır. Fırça tipi graft kopolimerler düz, kolloidal, düz olmayan (çarpık) yüzeylerden aşılanarak elde edildiği gibi bir polimer omurgasının tekrar eden her bir biriminden aşılanarak şişe fırçası (bottle-brush) (Şekil 2.4.) oluşturacak şekilde de elde edilebilir.



Şekil 2.4. Şişe fırçası tipi polimerlerin şematik gösterimi (Shinoda et al., 2001).

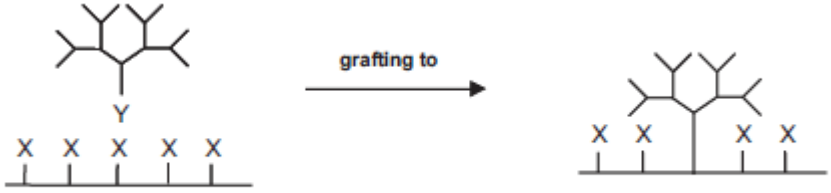
Fırça tipi graft kopolimerlerin hazırlanması için iki farklı metot mevcuttur (Hu and Zhu, 2005).

2.4.1. Fiziksel adsorpsiyon (Fizisorpsiyon): Fiziksel adsorpsiyonda bir diblok kopolimer kullanılır. Bloklardan biri yüzeye güçlü bir şekilde tutunurken (adsorblanırken) diğeri fırça tabakası oluşturmak için ileriye doğru yönelir (Boyes et al., 2003; Mori and Müller 2003). Fırça tipi aşılanmış kopolimerler, Atom Transfer Radikal Polimerleşmesi (ATRP) (Wang et al., 2005), yaşayan anyonik yüzey başlatıcı polimerizasyonu (Advincula et al., 2002; Neugebauer et al., 2003; Qin et al., 2004), dispersiyon polimerizasyonu (Jayachandran and Chatterji, 2000), sulu ortamda ATRP (Kizhakkedathu et al., 2004), Tersinir Katılma-Ayrışma Zincir transfer (RAFT) polimerizasyonu gibi sentetik metotlarla hazırlanmaktadırlar.

2.4.2. Kovalent bağlanma: Polimer ana zincirine büyüyen zincirin bağlanması ile (Gövdeye Aşılanma) veya asılı fonksiyonel gruplara sahip bir makro başlatıcıdan graftların polimerizasyonu (Gövdeden büyüme) ile gerçekleşmektedir**.**

2.4.2.1. Gövdeye aşılanma (Grafting to veya Grafting onto): Polimer ana zincirine büyüyen zincirin bağlanması: Bu yöntemde büyüyen polimer zincirinin bir başka polimer omurgasına ya da önceden fonksiyonlanmış bir yüzeye bağlanması

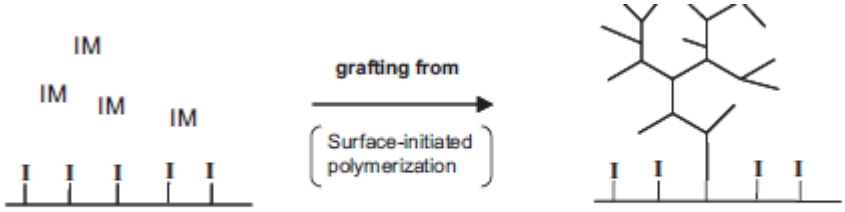
ile fırça tipi graft kopolimerler elde edilir (Şekil 2.5.). Fonksiyonlu yüzeylere poliüretan yüzeyler örnek olarak verilebilir. Substrat yüzey üzerine, polimer bağlanmasında, çözelti içerisinde önceden hazırlanmış bir polimer ve fonksiyonel bir uç grup tepkime vererek reaksiyon oluşumuna öncülük eder.



Şekil 2.5. Gövdeye aşılama tipi polimerizasyonun şematik gösterimi (Shinoda et al., 2001).

Yaygın reaktif uç gruplara, tiyoller, silanlar ve izosiyanatlar örnek verilebilir. Gövdeye aşılanma yaklaşımının dezavantajı, yüksek verimli bir yüzeyle, yüksek moleküler ağırlıklı polimer zincirinin uç grup tepkimesinin zor olması ve bu durumun graft yoğunluğunu çoğu zaman azaltması ve/veya polimer zincirlerinin agregasyonuna sebep olmasıdır (Hullin, 2005).

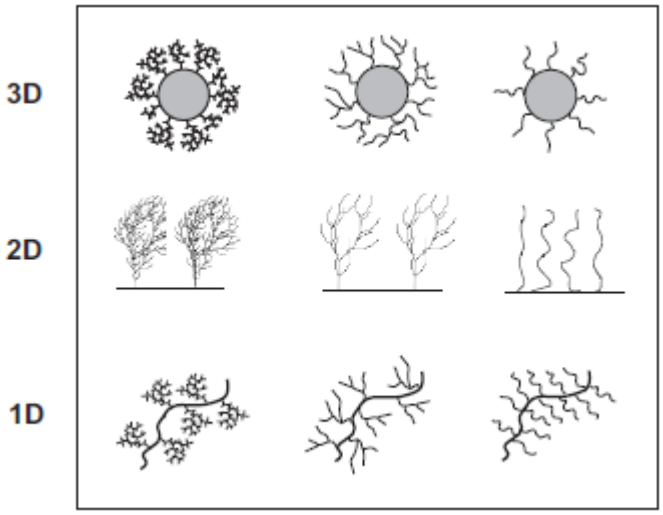
2.4.2.2. Gövdeden büyüme (Grafting from): Gövdeden büyüme tekniğinde polimer zinciri fonksiyonlanmış yüzeyde büyür. Yüzey başlatıcı görevini üstlenir. Bu yolla yüksek yoğunluklu fırça tipi graft kopolimer elde edilebilir. Yüzeyde substratta başlatıcı grubun oluşturulmasıyla başlar ve genellikle kovalent bağlanarak devam eder. Gövdeden büyüme yaklaşımında, yüzey başlatıcılarının bir katmana doğru yüzeyden bağlanmasıyla seçilmiş monomerlerin *in situ* polimerizasyonu sonucu gerçekleşir (Şekil 2.6.). Gövdeden büyüme yaklaşımı genellikle yüzeyde başlatılan polimerizasyonu (Surface-initiated polymerization-SIP) kapsamaktadır. Çözelti içinde monomer serbest değilse polimerizasyon sadece yüzeyde oluşur. Aynı zamanda, yüzey başlatıcısının aşılanma yoğunluğunun değiştirilmesi ile polimer zincirlerinin aşılanma yoğunluğu ayarlanabilir. Kolloidal kararlılık, biyomimetik yüzeyler, organik ve biyometaryellerin kromotografik ayrımı ve organik-inorganik nanokompozitler gibi uygulama alanlarında kullanılabilir (Hullin, 2005).



Şekil 2.6. Gövdeden büyüme tipi polimerizasyonun şematik gösterimi (Advincula et al., 2002)

Fırça tipi graft kopolimer sentezinde uygulanan yöntemlerden bir diğeri makromonomerin homo veya kopolimerizasyonu (Grafting through) yöntemidir. Bu yöntemde, makromonomerlerin homo ya da kopolimerizasyonu uygulanarak fırçalar sentezlenmektedir (Neugebauer et al., 2003; Hu and Zhu, 2005). Başka bir metod da, aşılama yoluyla yüzeye bağlanmış monomerler yöntemidir. Bu yaklaşımda, bir substrat yüzeyin üzerine fonksiyonlanmış monomerlerin tutturulması (bağlanması) ile polimerizasyon uygulanmıştır (Hullin, 2005).

Fırça tipi graft kopolimer; bir yüzeye veya ara yüzeye bir uç ile bağlanan polimer zincirlerinin bir arada bulunmasıdır. Küresel parçacıklar, düzlemsel yüzeyler ve doğrusal polimerlerden oluşan substratlar üzerine aşılanmış ürünlere ait olan 3D, 2D, 1D fırçalar olmak üzere üç alt başlıkta incelenebilir. Kimyasal bileşim ve mimari açısından polimer fırçalar homopolimer fırçalar, karışık homopolimer fırçalar, blok kopolimer fırçalar ve dallanmış polimer fırçalar olarak da sınıflandırılabilir (Şekil 2.7.) (Mori and Müller, 2003).

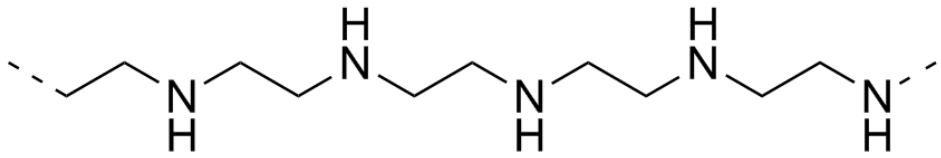


Şekil 2.7. Fırça tipi polimerlerin sınıflandırılmasının şematik gösterimi (Advincula et al., 2002)

Son zamanlarda fırça tipi graft kopolimerin sentezi birçok uygulama alanında kullanılmaktadır. Bunlara, ilaç salımı için ilaç taşıyıcılar, nano-mikro litografi, doku ve sistem mühendisliği, yüzey modifikasyonları (friksiyon, adezyon, lubrikasyon gibi) ve yüzey kayganlaştırıcıları, biyomimetik malzemeler, karbon nanotüpler, çevreye duyarlı ve akıllı (smart) materyaller, gözenekli zarlar, organik ve biyomateryallerin kromatografik ayrımı, mikroelektronik ve optik cihazların fabrikasyonu, kolloid stabilizasyonu, aşındırıcı iyon (ion etching), mikro ve nano akışkanlar, optikal ve kimyasal sensörler örnek olarak verilebilir (Boyes et al., 2004; Granville et al., 2004; Liu et al., 2004; Santer and Rühe, 2004; Hu, 2005; Senaratne et al., 2005; Wang et al., 2005). Ayrıca protein kromatografisinde rekombinant proteinlerin saflaştırma işlemlerinde proteinlerin doğal konformasyonunun ve biyolojik aktivitelerinin korunarak ayrılması işlemlerinde fırça tipi polimerler kullanılmaktadır (Senaratne et al., 2005).

2.5. Polietilenimin

Bu tez kapsamında geleneksel antibakteriyel yaklaşımlara yeni bir alternatif olarak kalıcı antibakteriyel etkiye sahip polimer zincirlerinin yüzeye aşılanması ile enfeksiyona dirençli steril yüzeylerin geliştirilmesi planlanmıştır. Bu amaçla polimer olarak polietilenimin seçilmiştir.



Şekil 2.8. Polietileniminin kimyasal yapısı

Polietilenimin (PEI), başta gen terapisi uygulamalarında gen taşıyıcı polimerik sistemler (Jeon et al., 2008; Shen et al., 2009; Fortune et al., 2011) olmak üzere, dental kompozitlerde (Beyth et al., 2006), protein taşıma sistemlerinde (Zhang et al., 2010) ve kemik yapısı hedeflenmiş taşıyıcı sistemlerde (Zhang et al., 2007) yaygın olarak kullanılan hidrofobik katyonik bir polimerdir. Bu polimerin etkili antibakteriyel özelliği Klibanov ve arkadaşları tarafından pek çok çalışma ile rapor edilmiştir (Tiller et al., 2001; Lin et al., 2002; Milovi et al., 2005; Wong et al., 2010). Bu çalışmalarda, PEI immobilize edilmiş yüzeyler *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichial coli* gibi hem gram pozitif hem gram negatif bakterilere karşı yüksek bir antibakteriyel etkinlik sergilemişlerdir. PEI zincirleri immobilize edilmiş yüzeyler bu bakterilere karşı test edildiğinde uygulanan bakterilerin yaklaşık % 98'nin canlılığını yitirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, bu çalışmalar ışığında PEI'nin yüksek antibakteriyel özelliğinin korunabilmesi yüzeye kovalent bağlarla bağlanmış olan polimer zincirlerinin birbirinden bağımsız fırça tipi aşılanmış polimerler şeklinde olması ile mümkündür.

Bağımsız haldeki hidrofobik polikatyon PEI zincirlerinin bakteri hücrelerinin hücre membranlarının yapısını bozarak bakterileri yok ettiği düşünülmektedir (Tiller et al., 2001). Ayrıca, Chu ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmalar (Chu et al., 2003) bu polimerin trombin katalizli fibrin oluşumunu engelleyerek etkin bir antikoagülan özellik sergilediğini göstermişlerdir.

Antikoagülan özellik gösteren heparin kaplı yüzeyler, vasküler protezlerde uzun yıllardan beridir kullanılmaktadır. Heparin kaplama sayesinde antikoagülan özellik taşıyan yüzeylerin üriner stentlerdeki taşlaşmaya karşı direnci *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla araştırılmıştır (Tenke et al., 2004; Cauda et al., 2008). Bu çalışmalar poliüretan bazlı üriner stentlerde antikoagülan özellik sağlayan modifikasyonların taşlaşma oluşumunu geciktirici etkileri olduğunu göstermiştir. Bir antikoagülan olarak heparinden çok daha ekonomik bir alternatif olan PEI bu özelliğine ek olarak güçlü bir antibakteriyel etkisi sayesinde biyofilm oluşumunu engelleme çalışmaları için son derece cazip bir polimerdir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Malzemeler

Tez çalışmalarında kullanılan (alifatik polieter) poliüretan (Tecoflex®-EG93A) üriner stentler Geotek Medikal Ltd. Şti'nden temin edilmiştir. Yüzey modifikasyon işlemlerinde kullanılan malzemelerden metanol, toluen, trietilamin, kalay klorür, PEI (Mw 750,000), PEI (Mw 2,000), potasyum hidroksit (KOH) ve bromohekzan (Sigma-Aldrich, ABD), hekzametilen diizosiyanat (HMDI) (Alfa Aesar, ABD), ter-amil alkol, triptik soy agar, Mac Conkey agar (Merck, Almanya) firmalarından satın alınmış ve herhangi bir işlem uygulanmadan alındığı şekilde kullanılmıştır. Sitotoksisite testlerinde kullanılan, Tripsin/Edta, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), FBS (Fetal Sığır Serumu), L-glutamin, Penisilin/streptomisin çözeltisi, MTT ((3-4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid) ve fosfat tamponu Biochrom, Almanya'dan sağlanmıştır.

3.2. Poliüretan Stent Yüzeylerin Temizlenmesi

Ticari poliüretan üreteral stent örnekleri (Tecoflex®) eşit uzunluklarda (1 cm) kesilerek sonikatörde önce metanol ile yarım saat süre sonikasyona bırakılmıştır. Bu işlem 3 kez tekrarlanarak örnekler kurutulmuş daha sonra ikinci basamakta örnekler toluen ile 15 dakika süre sonike edilerek ve kurutulmaya bırakılmıştır.

3.3. Antibakteriyel Polimer Zincirlerinin Poliüretan Stent Yüzeyine Aşılanmaları

Antibakteriyel özelliklere sahip polimer zincirlerinin (PEI) yüzeye kovalent olarak bağlanmasını sağlamak amacıyla öncelikle yüzeyde izosiyanat fonksiyonel gurupları oluşturulmuş daha sonra bu yüzeylere polimer (PEI) zincirlerinin aşılanması gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Yüzey aktivasyonu

Yüzey aktivasyonu ticari poliüretan üreteral stent (Tecoflex®) örneklerinin yüzeyindeki üretan gruplarının hekzametilen diizosiyonat ile verdikleri allofanat tepkimeleri sayesinde yüzeyde izosiyonat fonksiyonel gruplarının oluşturulması ile sağlanmıştır (Park et al., 1998; Lin et al., 2002). Yüzey fonksiyonellenmesinde,

hazırlanmış olan stent örnekleri (1 cm); hacimce % 5 hekzametilen diizosiyanat ve hacimce % 0.25 katalizör (kalay klorür) içeren toluen çözeltisinde azot ortamında 60^{o}C'de 90 dakika reaksiyona tabi tutularak yüzeyin fonksiyonellendirilmesi sağlanmıştır. Tepkimeye girmemiş tepkenlerin uzaklaştırılması için fonksiyonellenmiş örnekler toluen ile yıkandıktan sonra kurumaya bırakılmıştır.

3.3.2. PEI zincirlerinin poliüretan stent yüzeyine aşılanması

Örneklerin yüzeyinde oluşturulan izosiyanat gruplarına yüksek (750,000 Mw) ve düşük molekül ağırlığına (2,000 Mw) sahip PEI zincirleri bağlanmıştır. Yüzeye bağlanan bu doğrusal polimer zincirlerine ikinci basamakta uygulanacak alkilasyon ile bakteri membranlarını parçalayabilme özelliğine sahip hidrofobik polikatyonik polimer zincirleri poliüretan yüzeyinde yaratılmıştır.

Yüzeydeki izosiyanat gruplarına PEI zincirlerinin bağlanması için takip edilen yöntem şu şekildedir: 1 cm uzunluğunda fonksiyonellenmiş yüzeyli poliüretan stent örnekleri, 1,3x10^{-6} mol 750.000 ortalama molekül ağırlığında sahip PEI, 20 mL methanol ve 20 mL trietilamin içeren 3,25 x 10^{-5} M çözelti ortamında 45 ^{o}C'de 6, 24 ve 48 saat zaman aralıklarında reaksiyona tabi tutulmuştur.(Tan and Kay Obendorf, 2007) Yüzeyine PEI aşılanan örnekler önce metanol ardından su ile yıkanarak reaksiyon atıklarından arındırılmış ve kurutulmuştur.

3.3.3. PEI zincirleri aşılanmış yüzeylerin alkilasyonu

Yüzeydeki PEI zincirlerinin azot atomu üzerinden hekzil grupları bağlanmasını sağlamak için (Tan and Kay Obendorf, 2007) poliüretan stent yüzeyine PEI aşılanmış örnekler, 3,6x10^{-4} mol KOH ve 2 mL bromohekzan içeren 20 mL tersiyer amil alkol çözeltisi içerisinde, 55 ^{o}C de 6 saat tepkimeye maruz bırakılmıştır. Yüzeyinde alkil grupları oluşturulan örnekler, metanol ve su ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır.

Stent yüzeylerine uygulanan işlemler sonucu elde edilen örnekler çizelge 3.1.'de verildiği gibi isimlendirilmiştir.

Çizelge 3.1. Poliüretan üreteral stent yüzey modifikasyonu

No	Örnek	PEI aşılanması (Düşük Molekül Ağırlıklı)	PEI aşılanması (Yüksek Molekül Ağırlıklı)	PEI aşılanması (saat)	Alkillenmiş yüzeyler
1	PU	-	-	-	-
2	PU*	PEI aşılamadan önce tüm örnek yüzeyindeki üretan gruplarında hekzametilen diizosiyonat ile izosiyonat fonksiyonel grupları oluşturulmuştur.			
3	PU/LPEI(6)	+	-	6	-
4	PU/LPEI(24)	+	-	24	-
5	PU/LPEI(48)	+	-	48	-
6	PU/HPEI(6)	-	+	6	-
7	PU/HPEI(24)	-	+	24	-
8	PU/HPEI(48)	-	+	48	-
9	PU/LPEI(6)R	+	-	6	+
10	PU/LPEI(24)R	+	-	24	+
11	PU/LPEI(48)R	+	-	48	+
12	PU/HPEI(6)R	-	+	6	+
13	PU/HPEI(24)R	-	+	24	+
14	PU/HPEI(48)R	-	+	48	+

3.4. Yüzey Karakterizasyonları

Hazırlanan yüzeylerin analizinde aşağıdaki teknikler kullanılmıştır.

3.4.1. Yüzey kimyasının karakterizasyonu

3.4.1.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (IR) ile fonksiyonel grup karakterizasyonu

FTIR Spektrofotometresi (Perkin Elmer SpectrumOne, Nicolet 520) cihazı ve ATR ataçmanı yardımıyla polimerik yüzeylerin kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.4.1.2. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ile elemental karakterizasyon

Tez çalışmalarında elde edilen örnek gruplarının yüzey kimyasının analizi X-ışınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS, SPECS EA 300) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. X-ışın kaynağı olarak monokromatik Al Kα kullanılmıştır. Yüzeylere genel taramada 200 μm; yüksek çözünürlük taramalarında ise 100 μm çapında noktalar ile analiz yapılmıştır. Işın demetinin açısı 45° olarak sabit

tutulurken; ışın geçiş enerjileri genel taramada 58.70, yüksek çözünürlük taramalarında ise 187.85 eV olarak kullanılmıştır. X-ışınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) kullanılarak gerçekleştirilen örnek gruplarının yüzey kimyasının analizi sonucunda, C1s yüksek çözünürlük taramalarında elde edilen eğrilerin altındaki çoklu pikler XPS PEAK v4.41 yazılımı ile ana eğri altına yerleştirilmiş, pik yerleştirilmesinin öncesinde ilgili bağlanma enerjileri arasında Shirley tipi zemin-değer düzeltmeleri yapılmıştır.

3.4.2. Yüzey temas açılarının belirlenmesi

Tez çalışmalarında elde edilen örnek gruplarının yüzey hidrofilisitesinin değerlendirilmesi temas açı ölçüm cihazı (Attension Theta, Biolin Scientific) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Modifiye edilmiş poliüretan stentlerin yüzey özellikleri malzeme yüzeyinin fizyolojik sıvılar ile etkileşiminin ve adhezyon özelliklerinin aydınlatılması açısından önemlidir. Bu amaçla, modifiye edilmiş poliüretan stent yüzeylerin temas açıları ölçümleri goniometre yardımı ile gerçekleştirilmiştir. Yüzey hidrofiliklikleri yüzeye damlatılacak olan suyun (0.5 µL) yüzey ile gerçekleştirdiği temas açısının ölçümü ile belirlenmiştir.

3.4.3. Yüzey morfolojisinin değerlendirilmesi

Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ve Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) ile görüntüleme ile yüzey morfolojisi aydınlatılmıştır.

3.4.3.1. Taramalı Elekron Mikroskopisi (SEM) ile yüzeylerin morfolojik karakterizasyonu

Yüzey modifikasyonu yapılmış poliüretan yüzeyler altın kaplama yapıldıktan sonra FEI 430 Nano Scanning Electron Microscope (30 kV) cihazında, 10 kV enerji ile görüntü elde edilmiştir. 72x, 4000x, 15000x ve 30000x büyütmelerde farklı noktalardan, farklı büyütmelerde veri toplanmıştır.

3.4.3.2. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) ile yüzeylerin morfolojik ve topografik açıdan karakterizasyonu

AFM cihazında (Nanomagnetics Instruments, Türkiye) silikon nitrür (Si_3N_4) kantilever yardımı ile tapping modu kullanılarak yüzeylerin 3-boyutlu imajları elde edilmiştir. Ayrıca yüzey pürüzlülüğü de hem ortalama değer (Ra), hem de alınan sayısal değerlerin karelerinin toplamının kökü (Rms) değerleri ile belirlenmiştir.

3.5. PEI Aşılanmış Stent Yüzeylerinde Bakteriyel Tutunmanın İncelenmesi

Bakterilerden *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Proteus mirabilis* (İdrar yolu enfeksiyonuna sahip bir hastadan izole edilerek otomotize olarak tanımlanmış suş), standart suşları McFarland 0,5 ($1,5x10^8$ cfu/mL) bulanık standardına uygun olarak ayarlanmıştır.

1 cm uzunluğunda hazırlanmış, 24 kuyucuklu doku kültür kapları içerisindeki steril örnekler, $1x10^8$ koloni/mL konsantrasyonundaki bakteri süspansiyonundan 1'er mL eklenerek 4 saat boyunca 37 °C'de, 110 rpm salınımda inkübe edilmiştir.

Örnek yüzeyi üzerine zayıf tutunmuş bakterileri uzaklaştırmak amacıyla steril pens yardımıyla çıkarılan örnek, 1 mL PBS çözeltisi ile 5 kere yıkanmıştır. Sonrasında örnek tekrar 1 mL PBS çözeltisi içine aktarılarak 15 dakika boyunca ultrasonik banyo (130W/50 Hz) içinde tutulmuştur. Böylece yüzeye tutunmuş bakteriler sonikasyon ile uzaklaştırılmıştır. Bakterilerin yeniden yüzeye tutunmalarını engellemek için örnek sonikasyon sıvısı içinden alınarak, 1 mL PBS çözeltisi içinde bulunan bakteri süspansiyonu 30 saniye vortekslenip seri seyreltmeleri yapılarak *E. coli* için Triptik Soy Agar (Şekil 3.1) ve *P. mirabilis* için Mac Conkey besiyerlerine Miles ve Misra tekniği ile ekimleri yapılmıştır. 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra koloniler sayılarak her bir örnek yüzeyine tutunan canlı bakteri sayısı hesaplanmıştır.

3.6. Sitotoksisite Çalışmaları

PEI aşılanmış stent yüzeylerinin canlı hücreler üzerinde sitotoksik bir etkisinin olup olmadığının incelenmesi ISO10993-5 "Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi– Bölüm 5: *in vitro* sitotoksisite testleri " standartının "Endirekt MTT sitotoksisite testi" prosedürüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir ve hücre hattı olarak L929 fare fibroblast hücreleri (ATCC NCTC clone 929:CCL 1) kullanılmıştır.

Testlerde kullanılan besi yeri; % 90 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), %10 FBS (Fetal Sığır Serumu), 4 mM L-glutamin, 100 IU/mL penicilin/streptomycin çözeltisi olacak şekilde hazırlanmış ve kullanımlardan önce 37°C'deki su banyosunda ısıtılmış geri kalan zamanlarda ise 4°C'de saklanmıştır.

MTT ((3-4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid) çözeltisi steril PBS içinde 5 µg/mL konsantrasyonda çözülerek hazırlanmıştır. Test edilecek örneklerden sağlanan stent parçaları (1-14 arası örnek grupları) yukarıdaki bileşime sahip kültür ortamlarında 6 cm^2/mL orana denk gelecek şekilde 3 gün boyunca 37°C'de ayrı test tüplerinde inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak da örnek malzemesi içermeyen besiyeri de aynı koşullarda bekletilmiştir (Grup 0– negatif kontrol).

75 cm^2 hücre kültür flasklarında çoğaltılan L929 hücreleri kültür tabanını kapladıklarında tripsin/EDTA çözeltsi kullanılarak enzimatik olarak yüzeyden kaldırılmış, 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatan atılmıştır. Elde edilen hücre pelletinden besi ortamı kullanılarak $1x10^5$ hücre/mL konsantrasyonda hücre süspansiyonu elde edilmiştir. Hücre süspansiyonundan 100 µL'lik kısımlar 96 kuyucuklu plakalara her bir örnek grubu ve negatif kontrol için ekim yapılmıştır (n=6). İnkübasyon koşulları yine 37°C, %5 CO_2 ve >%90 nem oranı olarak sabit tutulmuştur.

24 saat inkübe olan hücreler ertesi gün besiyerlerinden arındırılmış ve bu kez kuyucuklara 3 gün malzemeler ile inkübe edilmiş ilgili örnek gruplarından (0 – 14 arası) 100 µL'lik besiyerleri eklenmiş ve 24 saat daha inkübe edilmiştir. Ertesi gün hücre ortamları kuyucuklardan alınmış ve bu kez MTT boyası içeren kültür ortamı (hacimce 10:90, MTT çözeltisi: besiyeri) eklenmiştir. MTT boyası içeren besiyerinde hücreler 4 saat daha inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında ortamdan besiyeri uzaklaştırılmış ve canlı hücreler tarafından MTT'nin metabolize edilmesiyle oluşan mor renkli formazan kristalleri 0.04M HCl içeren isopropanol çözeltisinin (100 µL) eklenmesiyle çözülmüştür. Karanlıkta 30 dakikalık bekleme periyodunun ardından kuyucuklardan alınan 50 µL'lik hacimler yeni bir 96 kuyucuklu kaba aktarılarak ELISA kuyucuklu plak okuyucusunda 570 nm dalga boyunda absorbans ölçümü gerçekleştirilmiştir.

3.7. İstatiksel Analiz

Tez çalışmalarında, sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. İndirekt sitotoksisite ve *E. coli* ile *P. mirabilis* bakteriyel tutunma testlerinde çalışılan örnek grupları arasındaki anlamlı farkların saptanmasında One Way ANOVA testi kullanılmıştır. Farkların istatistiki değerlendirilmesinde Tukey testinden yararlanılmıştır. Değerlendirme esnasında 0.05'in altında olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Bütün istatistiksel incelemeler Origin Pro 8.0 programı yardımıyla yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

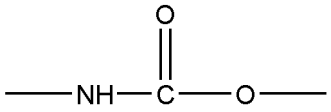
Poliüretan stentlerin iyi mekanik özellikleri ve biyouyumluluklarının yanısıra taşlaşmaya ve bakteri adhezyonuna açık olması nedeniyle erken dönemde uygulama bölgesinden çıkarılması ürolojik uygulamalarında kısıtlamalar getirmektedir. Bu tez kapsamında PU üreteral stent yüzeylerin taşlaşma ve enfeksiyonu engellemek üzere kalıcı, antibakteriyel ve antiadesif özelliklere sahip fırça tipi polimer yüzey yaklaşımlarıyla yenilikçi ve ortama herhangi bir aktif madde salmayan antibakteriyel yüzeylerin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Bu hedef doğrultusunda PU stent yüzeyine hidrofobik polikatyon olan PEI zincirleri kovalent olarak aşılanmış, daha sonra alkillenerek bakteri membranlarının işlevinin bozulması için daha güçlü antibakteriyel yüzeyler oluşturulmuştur. Farklı molekül ağırlığında PEI zincirlerinin yüzeye aşılanması için PU yüzeyler önce HMDI ile reaksiyona sokularak yüzeyde aktif –NCO grupların oluşturulmuş ve daha sonra PEI zincirleri –NCO gruplarına kovalent olarak bağlanmıştır. Daha sonra PEI zincirlerinin alkillenmesiyle bakteri membranlarının işlevinin bozulması için daha güçlü antibakteriyel yüzeyler oluşturulmuştur. Bu şekilde modifiye edilen yüzeylerin kimyasal yapısı, morfolojileri aydınlatılmış, antibakteriyel aktiviteleri ve sitotoksisitileri incelenmiş ve sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.1. Yüzey Özelliklerinin Aydınlatılması

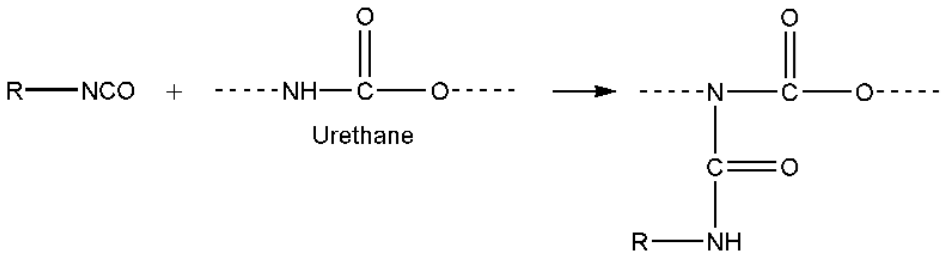
4.1.1. Aktifleştirilmiş poliüretan stent yüzeyler

Poliüretanlar ilk defa Alman bilim adamı Otto Bayer tarafından 1937 yılında diizosiyanatın (1,6-diizosiyonatoheksan), diol (1,4-bütandiol) ile reaksiyonu sonucu elde edilmiştir. Poliüretanlar temel yapılarında üretan (Şekil 4.1.) grubu içerirler.



Şekil 4.1. Poliüretan yapısındaki üretan grupları

Bu çalışmada PEI'nin PU yüzeye aşılanması için önce HMDI PU yüzeye bağlanmıştır. İzosiyanatlar oldukça reaktif N=C=O gruplarına sahip olup karbon-nitrogen çift bağları sayesinde katılma reaksiyonu verirler. Bu gruplar amin, alkol, karboksilik asit gibi birçok bileşik ile (hatta kendi kendilerine) reaksiyon verirler. İzosiyanatlar aynı zamanda PU yapısında bulunan üretan grupları tepkimeye girerek allofanatları oluştururlar (Tan and Kay Obendorf, 2007)(Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Poliüretanın izosiyanat ile verdiği allofanat tepkimesi

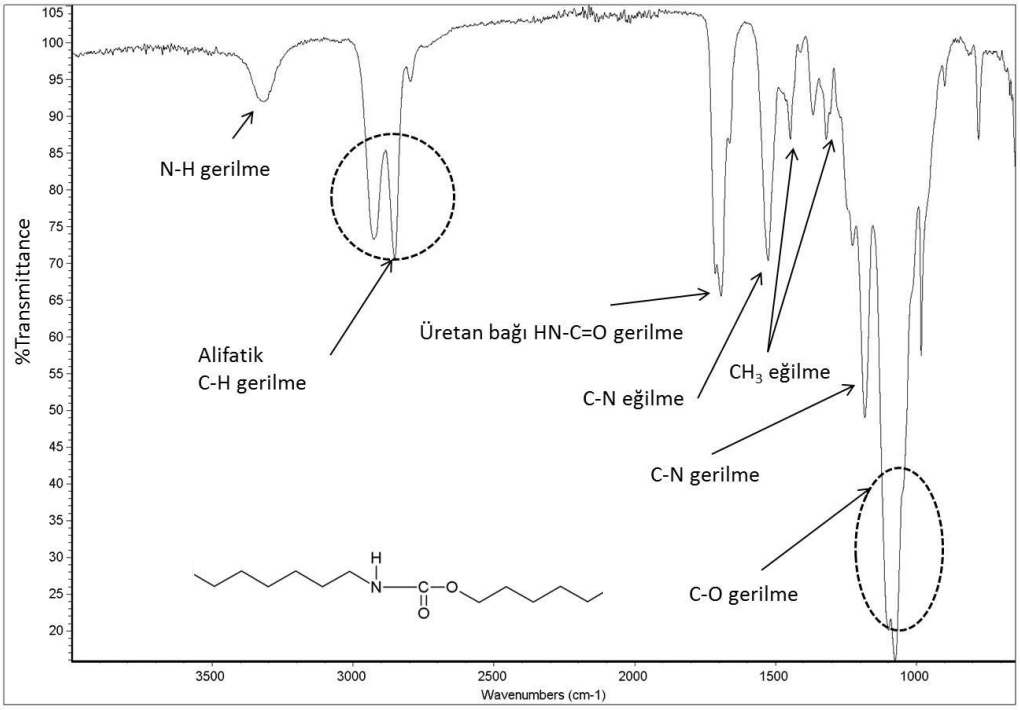
Bu çalışmada PU stent yüzeylerine HMDI bağlanmış ve aktifleştirilmiş yüzeyler FTIR ve XPS ile aydınlatılmıştır. Yüzey aktivasyonunun reaksiyon mekanizması şekil 4.2.'de belirtilmiştir. PU'ın FTIR spektrumu incelediğinde (Şekil 4.3.) 3300 cm^{-1} bölgesinde N-H gerilmenin düşük şiddetli bantı görülmektedir. Alifatik karbon zincirindeki çoklu ve keskin C-H gerilmeleri 2800–2950 cm^{-1} aralığında yer almaktadır. PU zeminde görülen ve 1700-1715 cm^{-1} arasındaki karakteristik HN-C=O gerilmesi keskin bir biçimde ayrı olarak gözlenmekte ve aşılama-alkilleme yapılmamış yüzeylerde bu pik yalın olarak analiz edilmiştir. Spektrumda sağa gidildikçe sırasıyla C-N eğilme 1525 cm^{-1}, uç metil eğilmeleri 1450-1375 cm^{-1} ve C-N gerilme de 1180 cm^{-1} görülmektedir. Üretan bağındaki C-O gerilmesi de yine karakteristik ve güçlü bir biçimde 1000–1100 cm^{-1}'de görülmektedir.

HMDI ile fonksiyonelleştirilen yüzeyin spektrumunda (Şekil 4.4.) göze ilk çarpan değişiklik 2250–2300 cm^{-1} aralığındaki N=C=O karakteristik pikidir. Aynı zamanda HMDI molekülünün 1 ve 6 nolu karbon atomlarının izosiyano gruplarındaki azotlarla bağlarından ötürü C-N eğilme ve C-N gerilme frekansları ilgili bölgelerde birbirine yakın çoklu pikler vermişlerdir (Tan and Kay Obendorf, 2007).

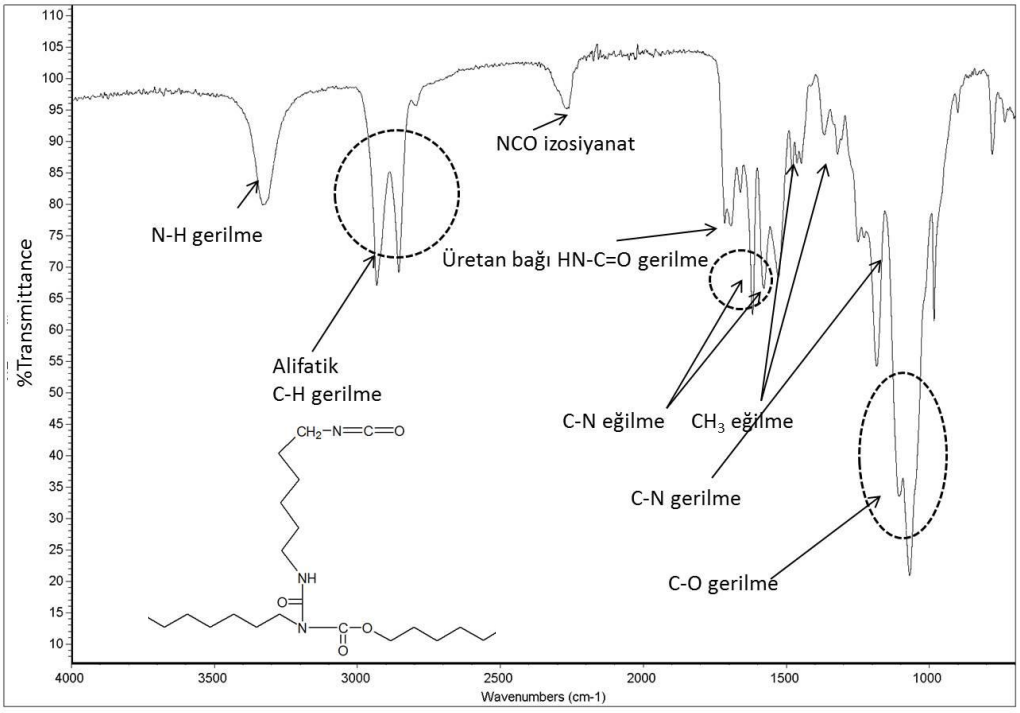
Poliüretan malzemenin aşılama ve fonksiyonellendirme öncesinde sahip olduğu XPS spektrumu şekil 4.5'te "A" ile verilmiştir. Poliüretan yüzeydeki farklı kimyasal bağ içeren karbon atom sayısı "B" çiziminde gösterildiği gibi alifatik karbon (C-C/C-H)(1); azotla bağ yapmış karbon (C-N)(2); oksijen ile bağ yapmış karbon (C-O)(3) ve üretan bağındaki karbon (NCOO) (4) olmak üzere 4 dört çeşittir. Daha elektronegatif atomlarla yaptığı bağlar ile daha çok pozitif polarlanan karbon atomunun 1s elektronlarının sahip oldukları bağlanma enerjileri de pozitif yönde artış göstermektedir. Bu bağlara sahip olan karbon elementlerinin yüzde dağılımı da spektrumdaki ilgili eğrilerin altında kalan alanların hesaplanmasıyla "C" gösteriminde grafik haline getirilmiştir.

Yüzeyin HMDI ile fonksiyonalizasyonundan sonra elde edilen yüzeyin kimyasal yapısı, spektrumu ve karbon türlerinin dağılımları şekil 4.6.' da verilmiştir. Buna göre şekil 4.6. B'de gösterilen yapıda görüldüğü gibi C1s bağlanma enerjisi, üretan (NCOO [B:E=287.6 eV]) ve tekli oksijen (C-O [B.E=285.6 eV]) arasında yer alan yeni bir tür karbon atomu olarak izosiyanat (NCO [B.E=287.1 eV]) yüzey bileşiminde yerini almıştır (% 4.95).

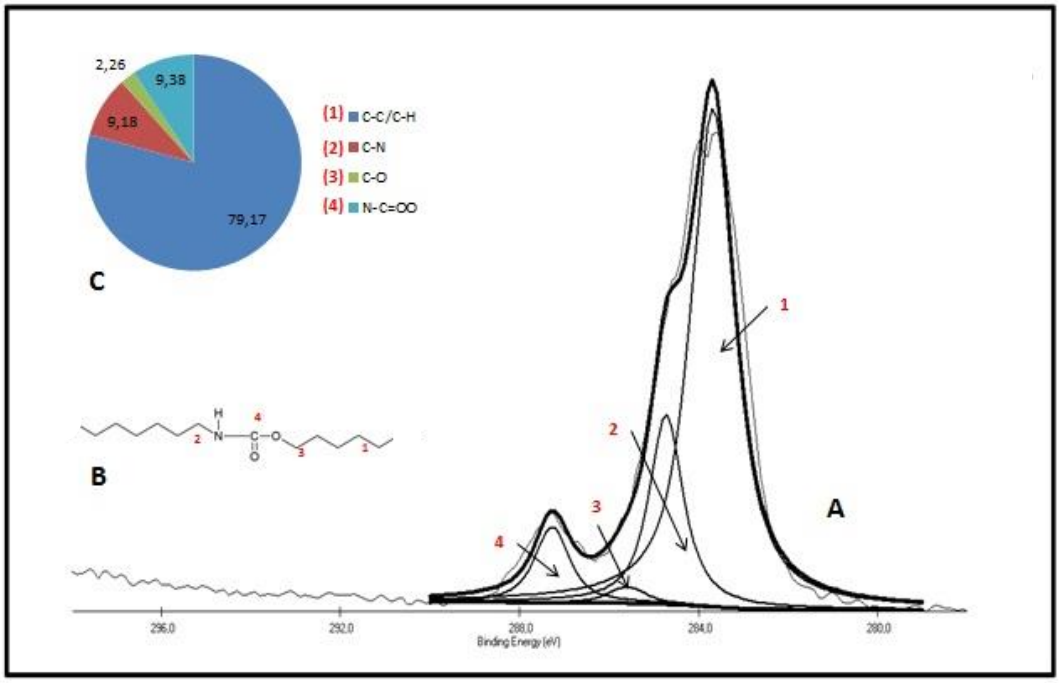
Fonksiyonelleştirme sonrası yüzeye bağlanan HMDI molekülünün omurgasındaki 1 ve 6 nolu karbonların (2) (C-N) numaralı karbon türünü temsil etmesiyle C-N bağıl oranı % 20,72'ye çıkarak artış göstermiştir. (3) (C-O) ve (5) (N-C=OO) nolu karbon türlerinin HMDI fonksiyonalizasyonu ile bağıl oranlarında da % 1.55 ve % 2.82 olarak bir önceki kimyasal kompozisyona göre düşüş görülmüştür.



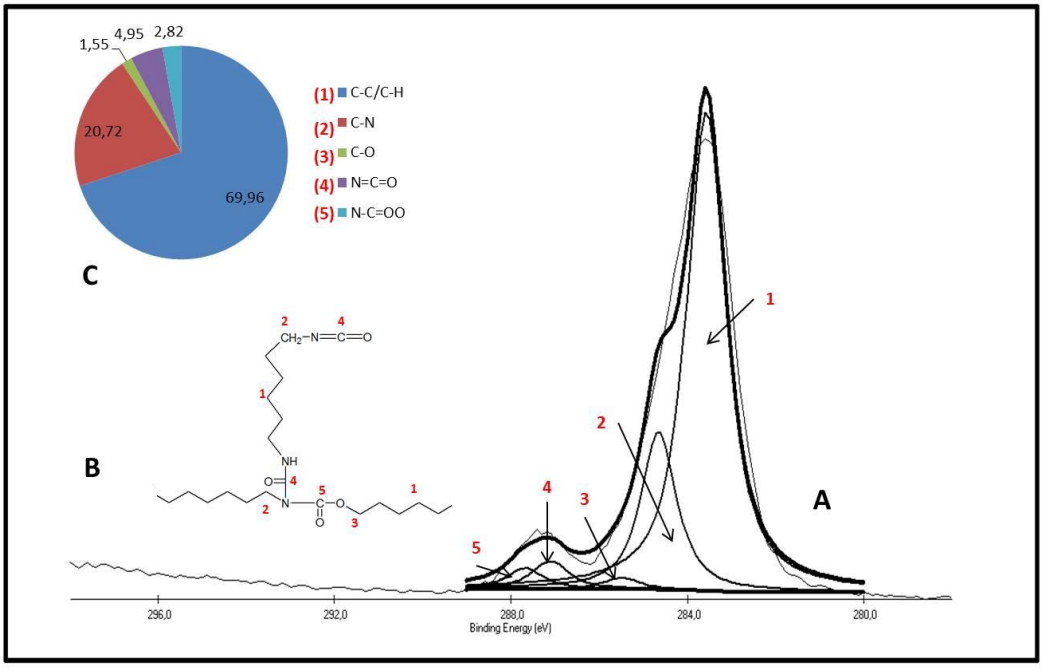
Şekil 4.3. Poliüretan yüzeyin FTIR spektrumu



Şekil 4.4. Fonksiyonlandırılmış PU yüzeyin FTIR spektrumu

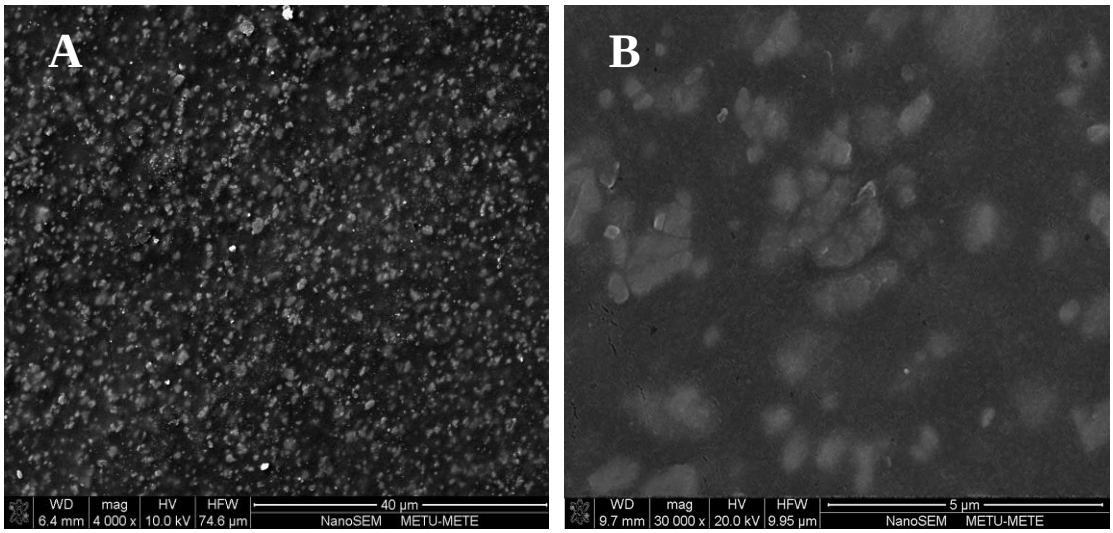


Şekil 4.5. Poliüretan yüzeyin XPS spektrumu

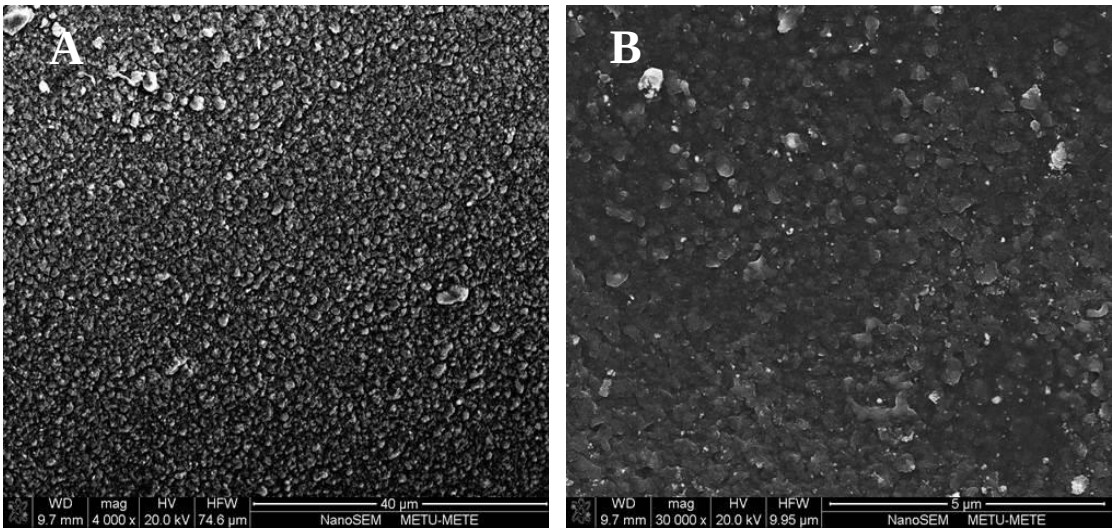


Şekil 4.6. Fonksiyonlandırılmış PU yüzeyin XPS spektrumu

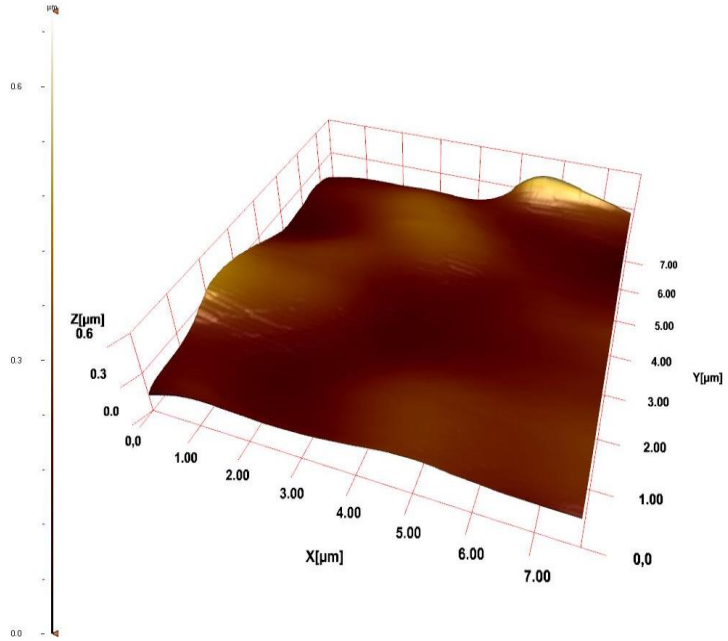
Herhangi bir işlem görmemiş poliüretan yüzey (Şekil 4.7. ve 4.9.) ve HMDI-fonksiyonellendirilmiş yüzeylerin (Şekil 4.8. ve 4.10.) SEM ve AFM görüntüleri karşılaştırıldığında, yüzeyinlerin fonksiyonelleşmesi sonrasında pürüzlülüğün arttığı gözlenmektedir. Elde edilen AFM Rms verileri de nicel olarak bu yargıyı destekler niteliktedir.



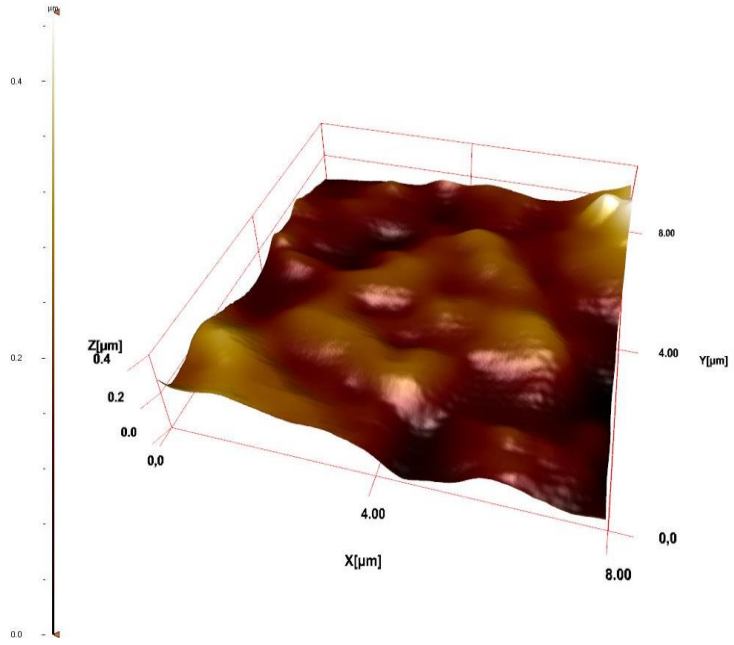
Şekil 4.7. Poliüretan yüzeyin SEM görüntüsü A) 4000x büyütme, B) 30000x büyütme



Şekil 4.8. Fonksiyonlandırılmış PU yüzeyin SEM görüntüsü
A) 4000x büyütme, B) 30000x büyütme



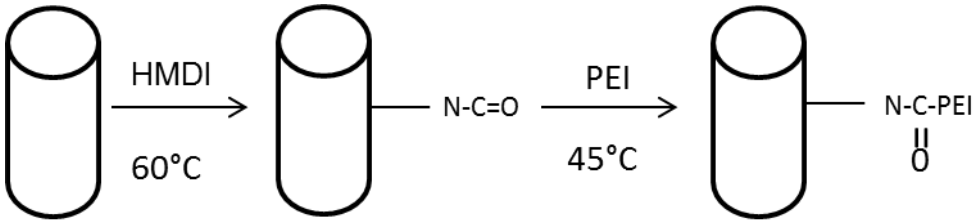
Şekil 4.9. PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü



Şekil 4.10. Fonksiyonlandırılmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü

4.1.2. PEI zincirleri aşılanmış poliüretan yüzeyler

Antibakteriyel ve antiadesif özelliklere sahip fırça tipi polimer yüzey oluşturmak üzere PEI, 2 farklı molekül ağırlığında (Mw~750,000 ve M_w~2,000) PU stent yüzeylere aşılanmıştır. PEI zincirleri PU yüzeyde oluşturulan aktif –NCO gruplara kovalent olarak bağlanmıştır (Şekil 4.11.). Zamanın PEI aşılanmasına etkisini izlemek için bu basamak farklı 6, 24 ve 48 saatlik zaman aralıklarında gerçekleştirilmiştir.

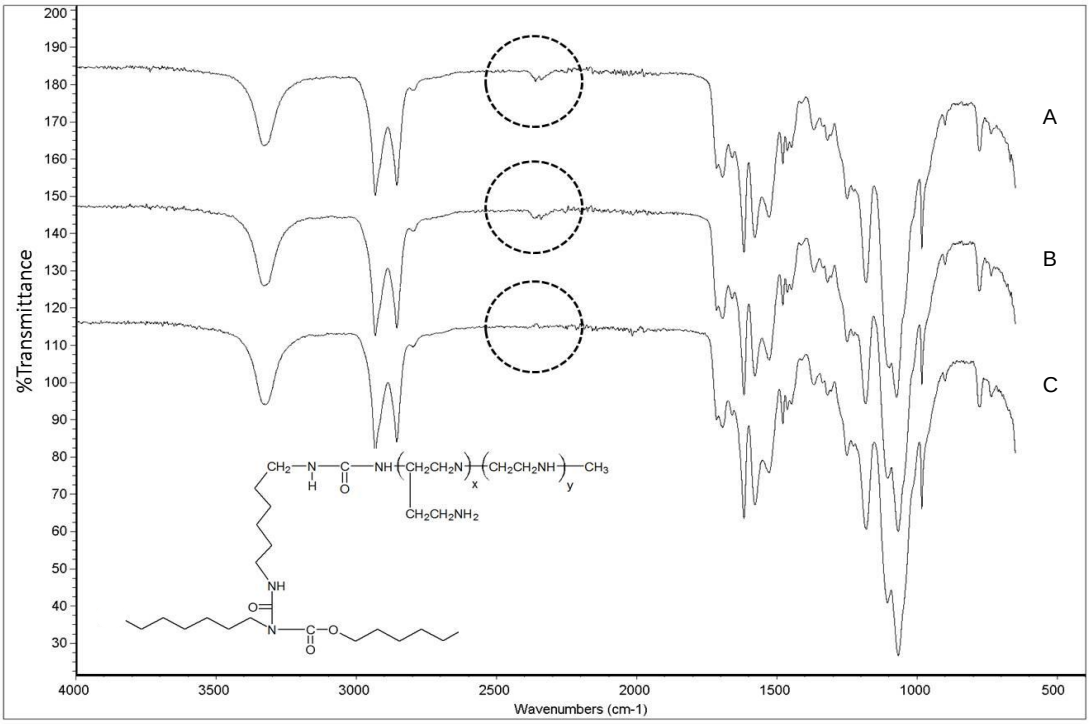


Şekil 4.11. PEI zincirlerinin PU yüzey üzerine aşılanma mekanizması

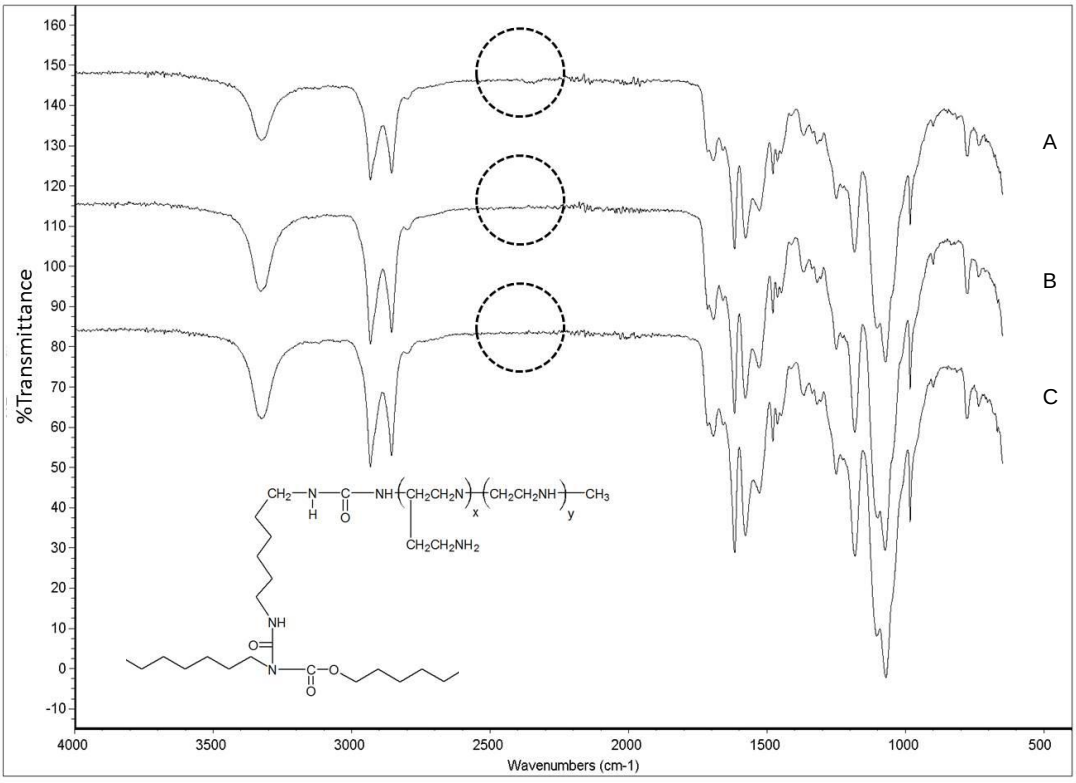
Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanma (Şekil 4.12.) basamağı sırasıyla 6, 24 ve 48 saatlik zaman aralıklarında gerçekleşmiştir. PEI aşılanmasının zamana karşı etkinliği incelendiğinde PEI molekülünün C atomundan kovalent olarak bağlandığı aktif izosiyanat gruplarının 2250–2300 cm^{-1} aralığındaki N=C=O karakteristik pikinin şiddeti, 6 saat reaksiyona maruz kalan örneğe oranla 24 saat reaksiyona maruz kalan örnekte azalma göstermiştir. Reaksiyon süresi 48 saate çıkarıldığında ise izosiyanat pikinin tamamen şiddetini kaybettiği ve bant aralığının kapandığı görülmüştür (Şekil 4.12.). Sonuç olarak 48 saat içinde yüzeydeki tüm N=C=O gruplarının PEI ile reaksiyon verdiği anlaşılmaktadır.

Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmasının gerçekleştirildiği reaksiyon (Şekil 4.13.) basamakları, düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış örneklerde (PU/LPEI) olduğu gibi 6, 24 ve 48 saat zaman aralıklarında gerçekleştirilmiştir. Ancak yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmasında izosiyanat piki 6 saatlik reaksiyon sonunda kolaylıkla kapanmıştır. Reaksiyon süresinin aşılanma verimi üzerine etkisi ise XPS verileri ışığında detaylı olarak belirtilmiştir.

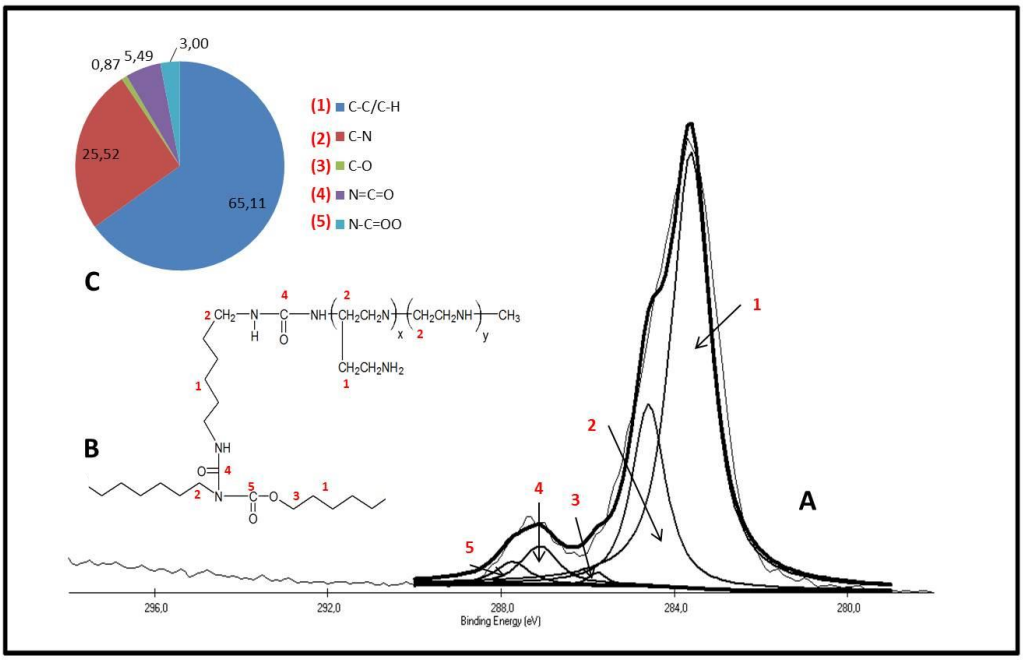
Fonksiyonelleştirme sonrası PU yüzeye 6, 24 ve 48 saatlik reaksiyon süreleriyle aşılanan düşük molekül ağırlıklı PEI (PU/LPEI) ile elde edilen yüzeylerin XPS spektrumları sırasıyla şekil 4.14., 4.15. ve 4.16.'da verilmiştir. PEI molekülünün içerdiği zengin C-N bağları nedeniyle (2) nolu karbon türünün bağıl oranında önceki örnek gruplara göre artış gözlenmiştir. Bağlanma enerjisi 284.5 eV olan C-N türünün bağıl oranları 6. saatin sonunda % 25,52'ye, 24. saatin sonunda ise 29,87'ye ulaşmıştır. 48 saatlik reaksiyon sonunda elde edilen spektrum yardımıyla hesaplanan 29,74'lük oranın ise 24 saate göre artış göstermemesi, aşılanma reaksiyonunun 24 saatte tamamlandığı şeklinde yorumlanabilir. Nitekim 283.6 eV'ta gözlemlenen alifatik karbon piki de 24. ve 48. saatlerde % 62,2 ve % 61,9 şeklinde birbirine yakın değerlerde elde edilmiştir.



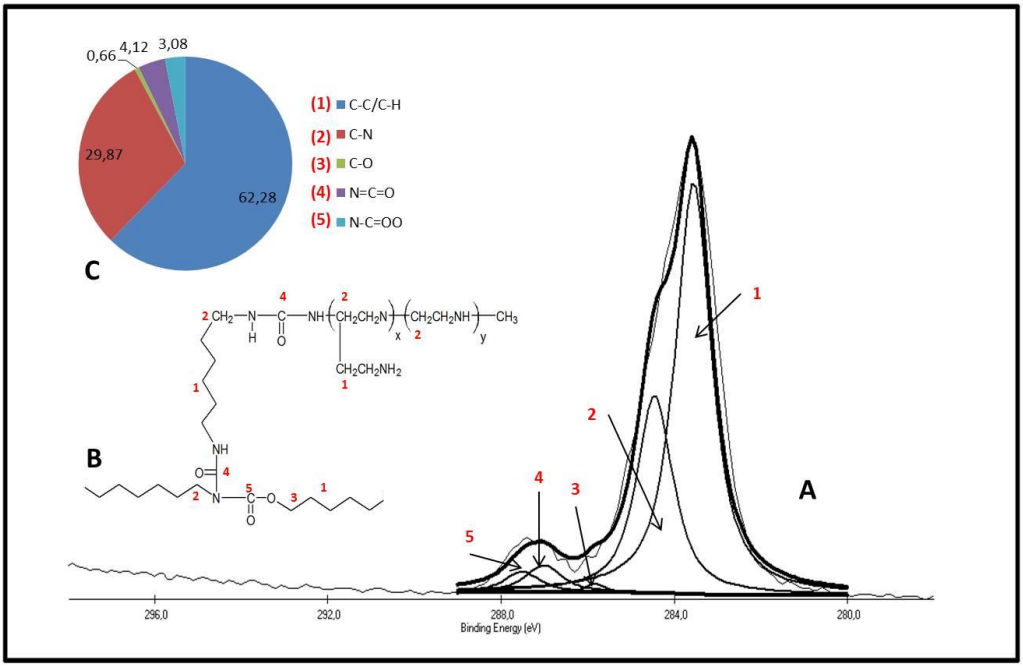
Şekil 4.12. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeylerin FTIR spektrumları: Aşılanma süresi: A) 6 saat, B) 24 saat ve C) 48 saat



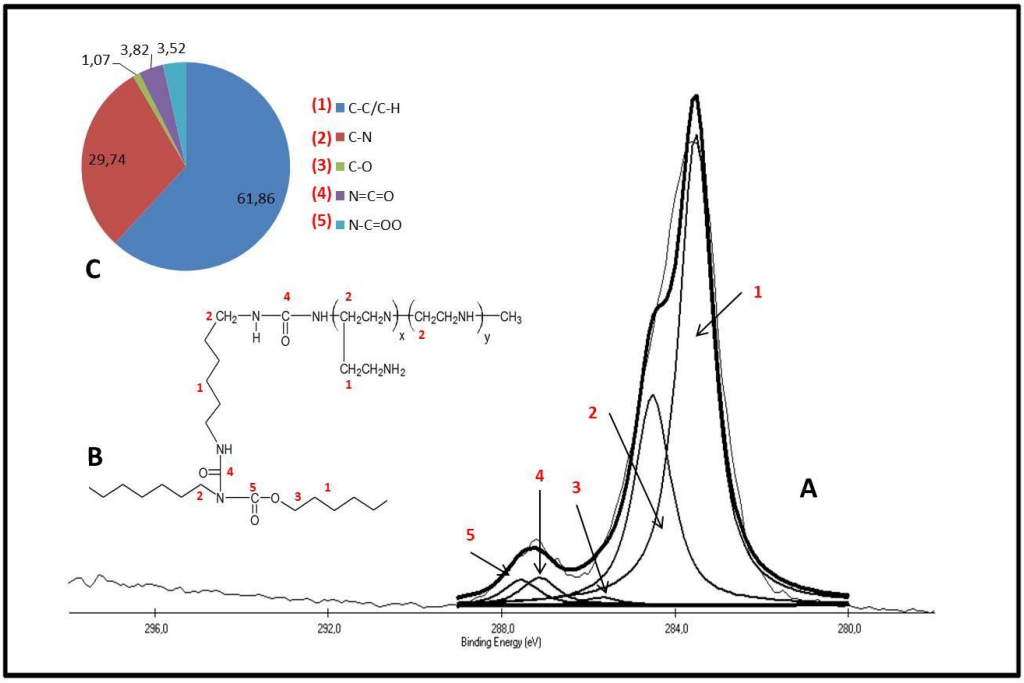
Şekil 4.13. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeylerin FTIR spektrumları: Aşılanma Süresi: A) 6 saat, B) 24 saat ve C) 48 saat



Şekil 4.14. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (6 saat)



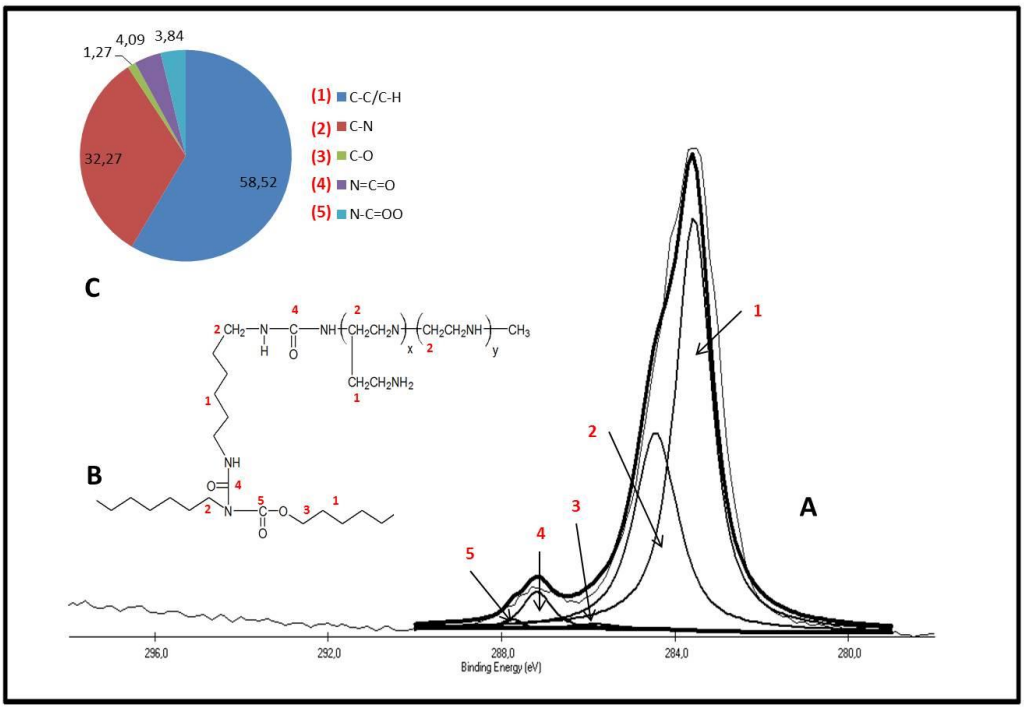
Şekil 4.15. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (24 saat)



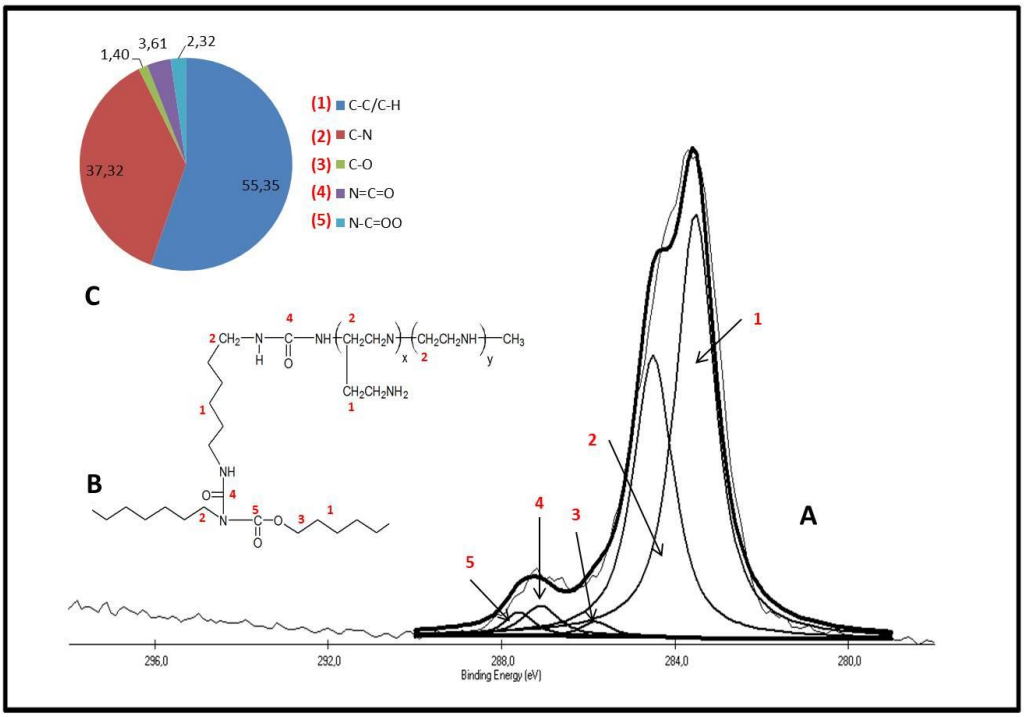
Şekil 4.16. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (48 saat)

Şekil 4.17., 4.18. ve şekil 4.19., gövdeye 6, 24 ve 48 saatlik reaksiyon süreleriyle aşılanmış yüksek molekül ağırlığına sahip PEI (PU/HPEI) ile elde edilen yüzeylerin spektrum, kimyasal formulasyon ve bağıl oranlarını göstermektedir. Uzun polimer zinciri ve artan C-N bağının etkisiyle (2) numaralı karbon türüne ait piklerin oranı düşük molekül ağırlıklı PEI ile aşılamaya göre artış göstermiştir. Ancak bu artış yine düşük molekül ağırlıklı PEI aşılamasında olduğu gibi 24 ve 48 saatler arasında (sırasıyla % 37,32 ve % 37,68) önemli bir fark göstermemiştir.

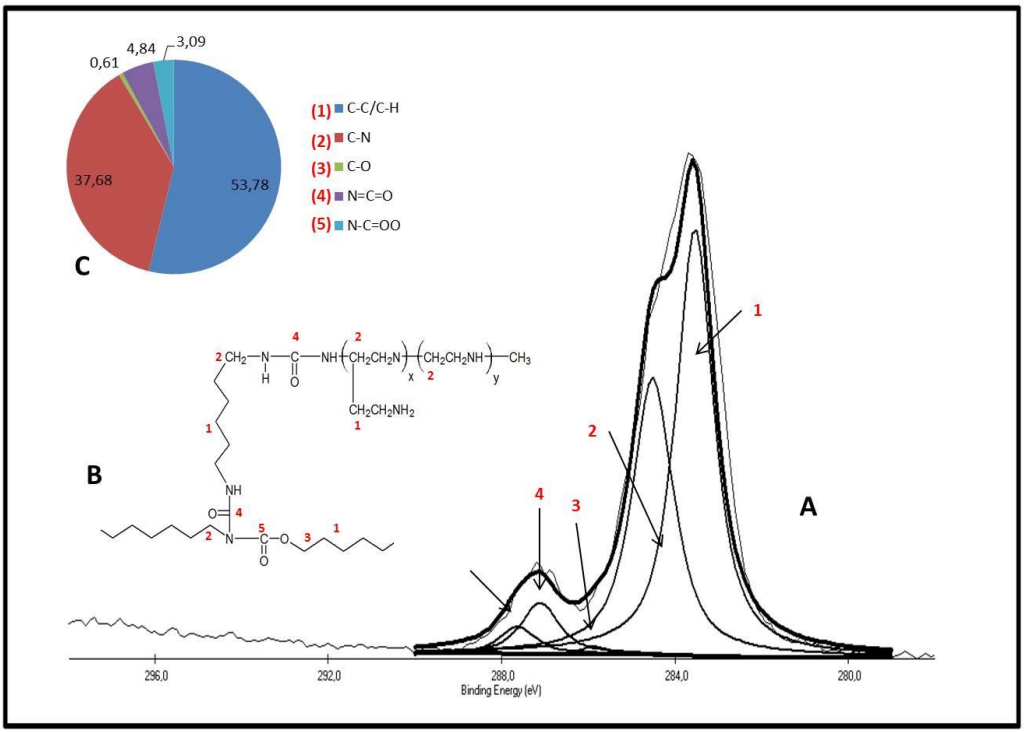
6 saatlik ve 24 saatlik tepkime süreleri sonucunda elde edilen C-N türündeki artış düşük (% 25,52'den % 27,84'e) ve yüksek (% 32,27'den % 37,32'ye) molekül ağırlıkları yönünden incelendiğinde ise düşük molekül ağırlığındaki artışın %17, yüksek molekül ağırlığındaki artışın ise %15,6 olarak gerçekleştiğini görmekteyiz. Artan molekül ağırlığına ve C-N bağ miktarına rağmen gerçekleşen %1,4'lük verim kaybının uzun zincirlerin yarattığı sterik engelden kaynaklandığı sonucuna varabiliriz (Yamamoto, 2000).



Şekil 4.17. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (6 saat)

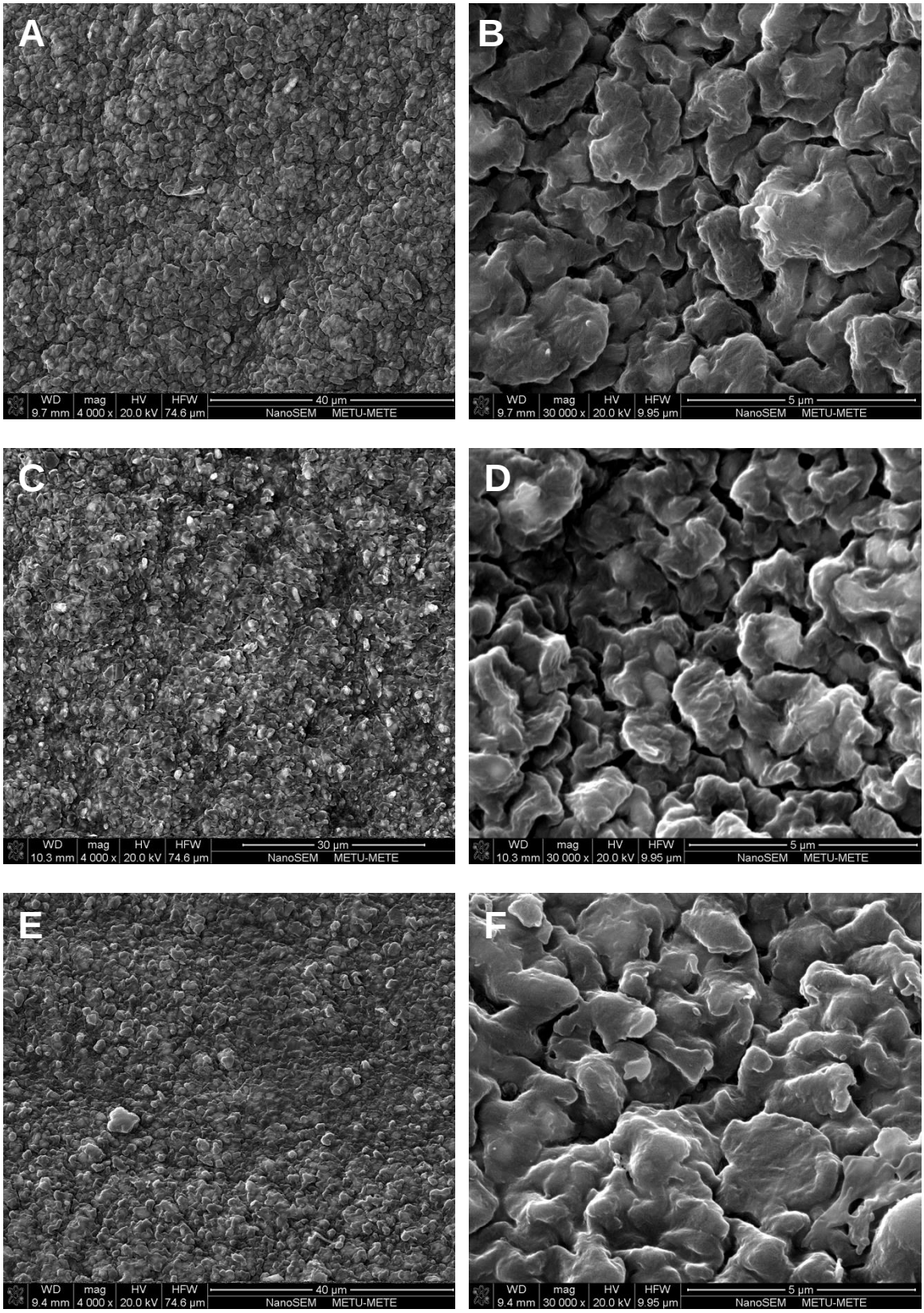


Şekil 4.18. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (24saat)

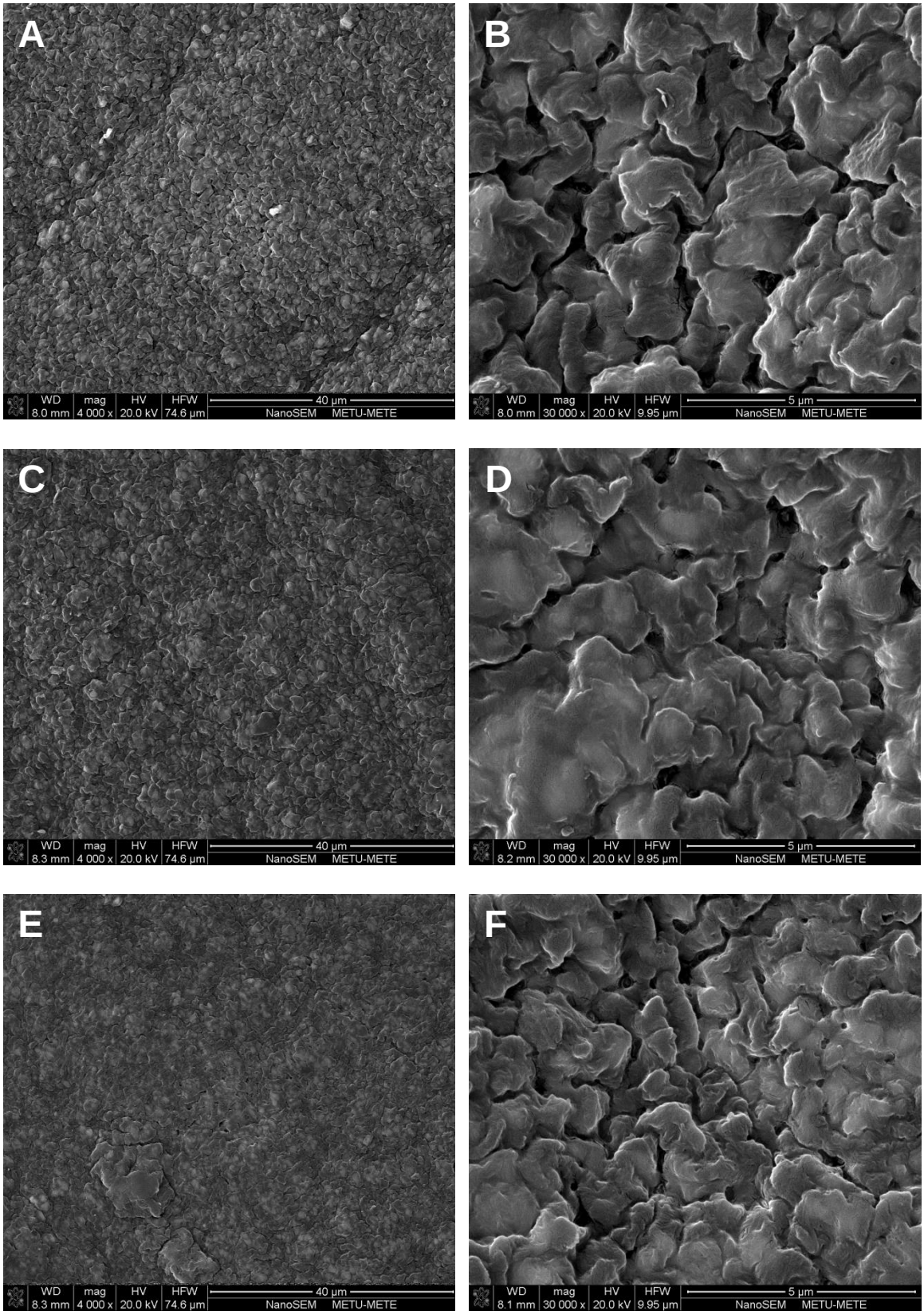


Şekil 4.19. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin XPS spektrumu (48 saat)

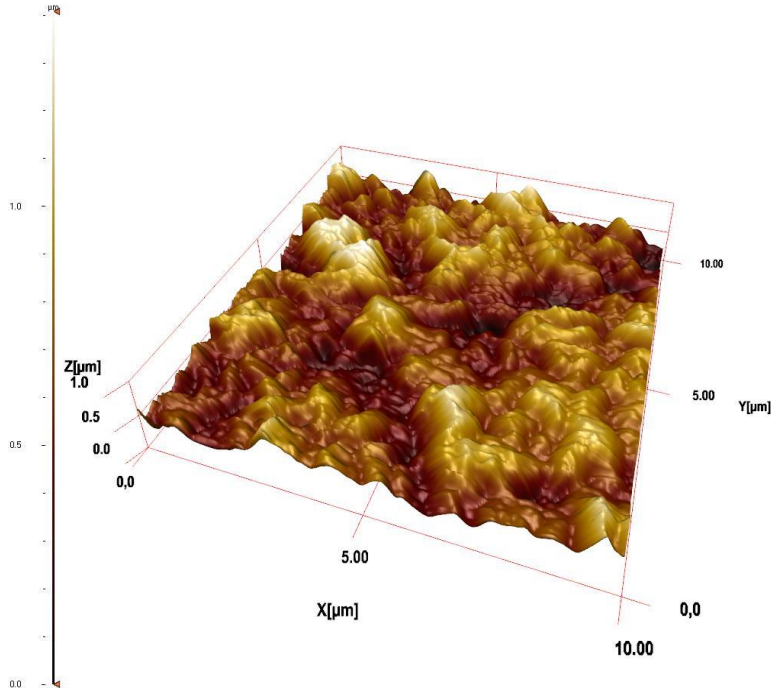
Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış örneklerin SEM görüntüsü Şekil 4.20. (A-F) da verilmiştir. Gerçekleştirilen işlem basamaklarının Taramalı Elektron Mikroskobu verileri incelendiğinde işlem görmemiş poliüretanın (Şekil 4.7. A ve B) yüzeyi sırasıyla 6, 24 ve 48 (Şekil 4.20. A-F) saat aralığındaki periyotlarda düşük moleküler ağırlıkta PEI aşılanmış yüzeyler ile kıyaslandığında yüzeylerin belirgin bir hareket, derinlik, pürüzlülük kazandığı görülmektedir. Aynı şekilde, işlem görmemiş poliüretanın (Şekil 4.7.) yüzeyi sırasıyla (Şekil 4.21. A-F) 6, 24 ve 48 saat aralığındaki periyotlarda yüksek moleküler ağırlıkta PEI aşılanmış yüzeyler ile kıyaslanmasıyla da yüzeylerin belirgin bir hareket, derinlik, pürüzlülük kazandığı görülmektedir. AFM görüntü (Şekil 4.22.-27.) ve verileri de bu bulguları destekler niteliktedir.



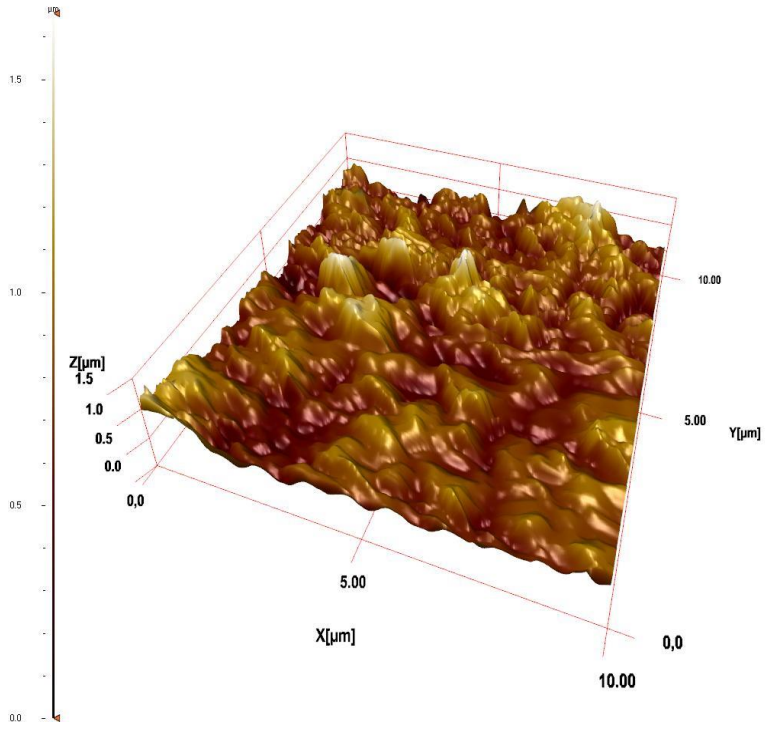
Şekil 4.20. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış örneklerin SEM görüntüsü: A) 4000x büyütme ve B) 30000x büyütme, 6 saat, C) 4000x büyütme, ve D) 30000x büyütme, 24 saat, E) 4000x büyütme ve F) 30000x büyütme, 48 saat.



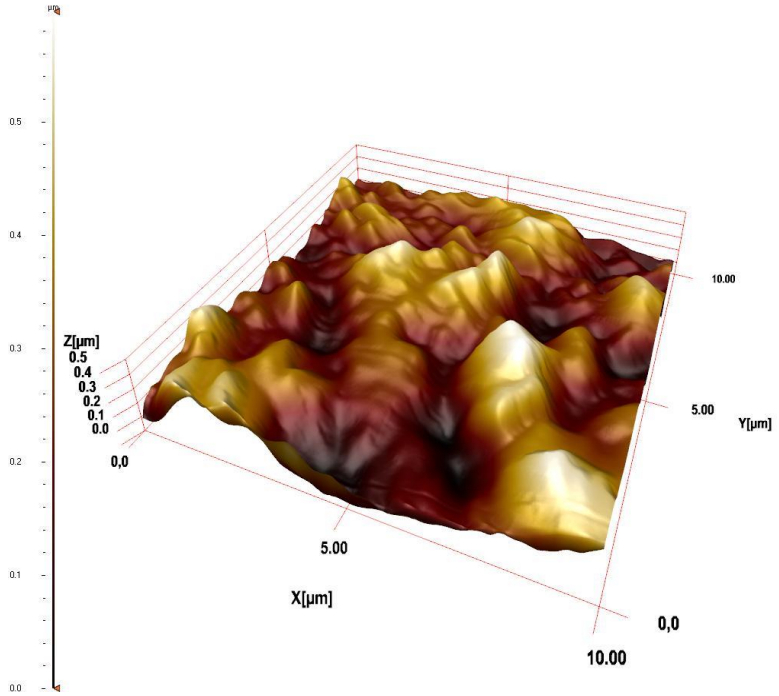
Şekil 4.21. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış örneklerin SEM görüntüsü: A) 4000x büyütme ve B) 30000x büyütme, 6 saat, C) 4000x büyütme, ve D) 30000x büyütme, 24 saat, E) 4000x büyütme ve F) 30000x büyütme, 48 saat.



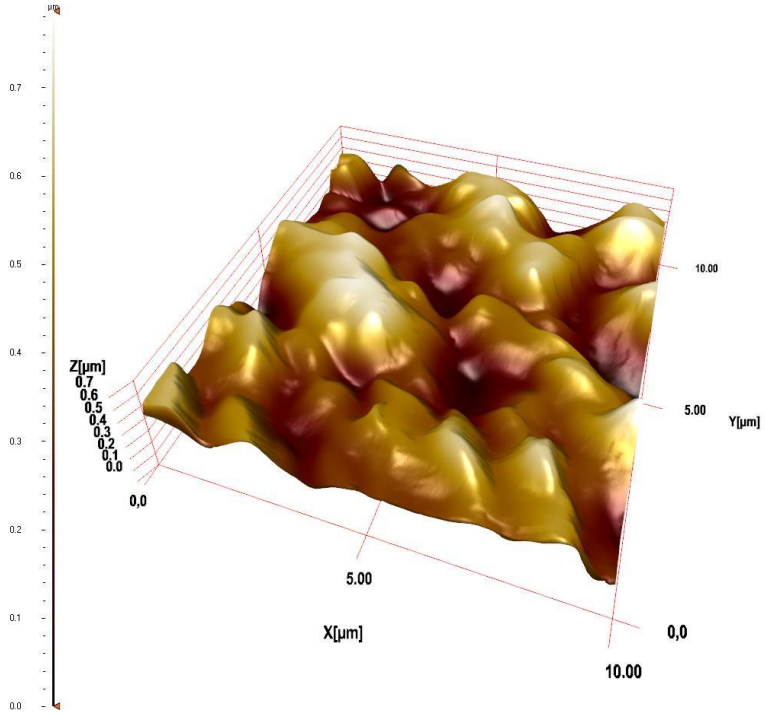
Şekil 4.22. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (6 saat)



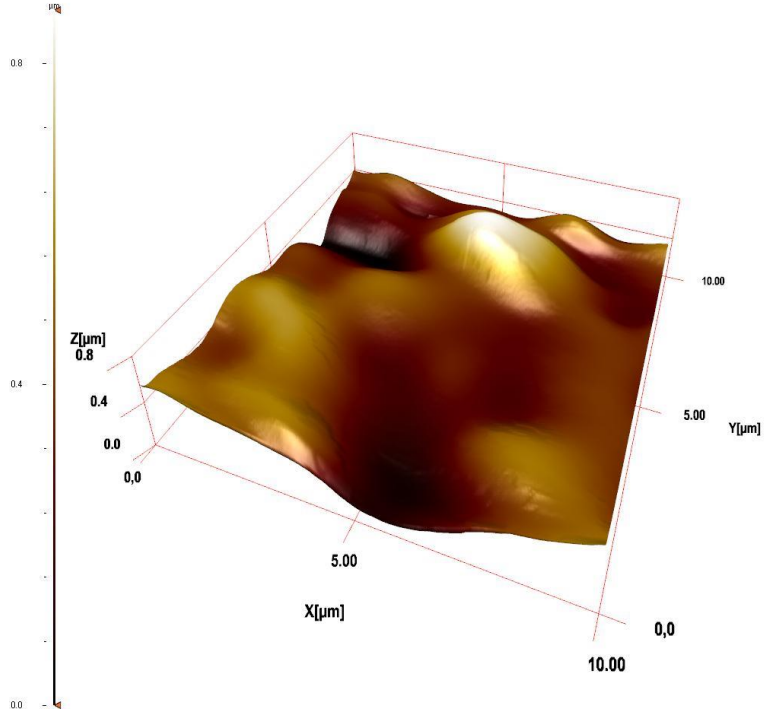
Şekil 4.23. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (24 saat)



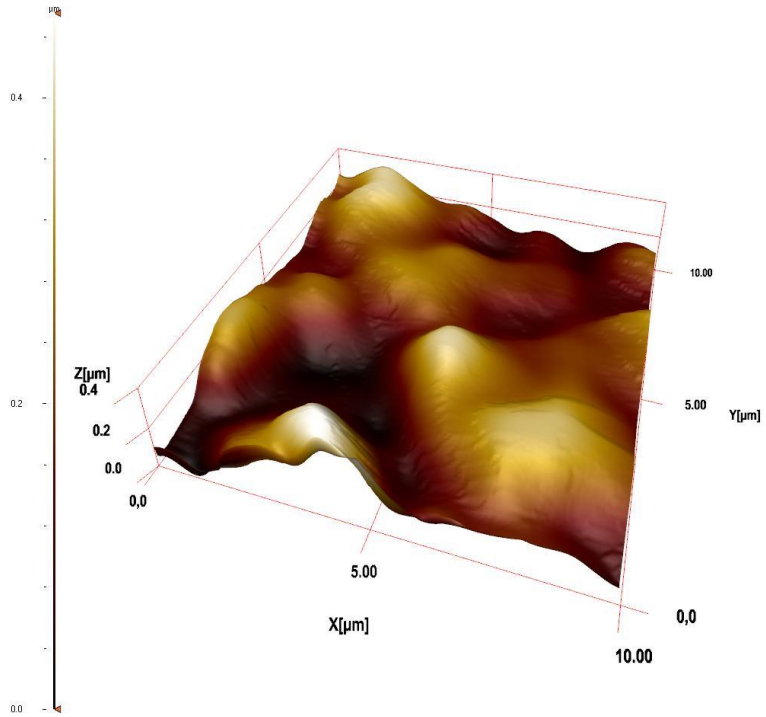
Şekil 4.24. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (48 saat)



Şekil 4.25. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (6 saat)



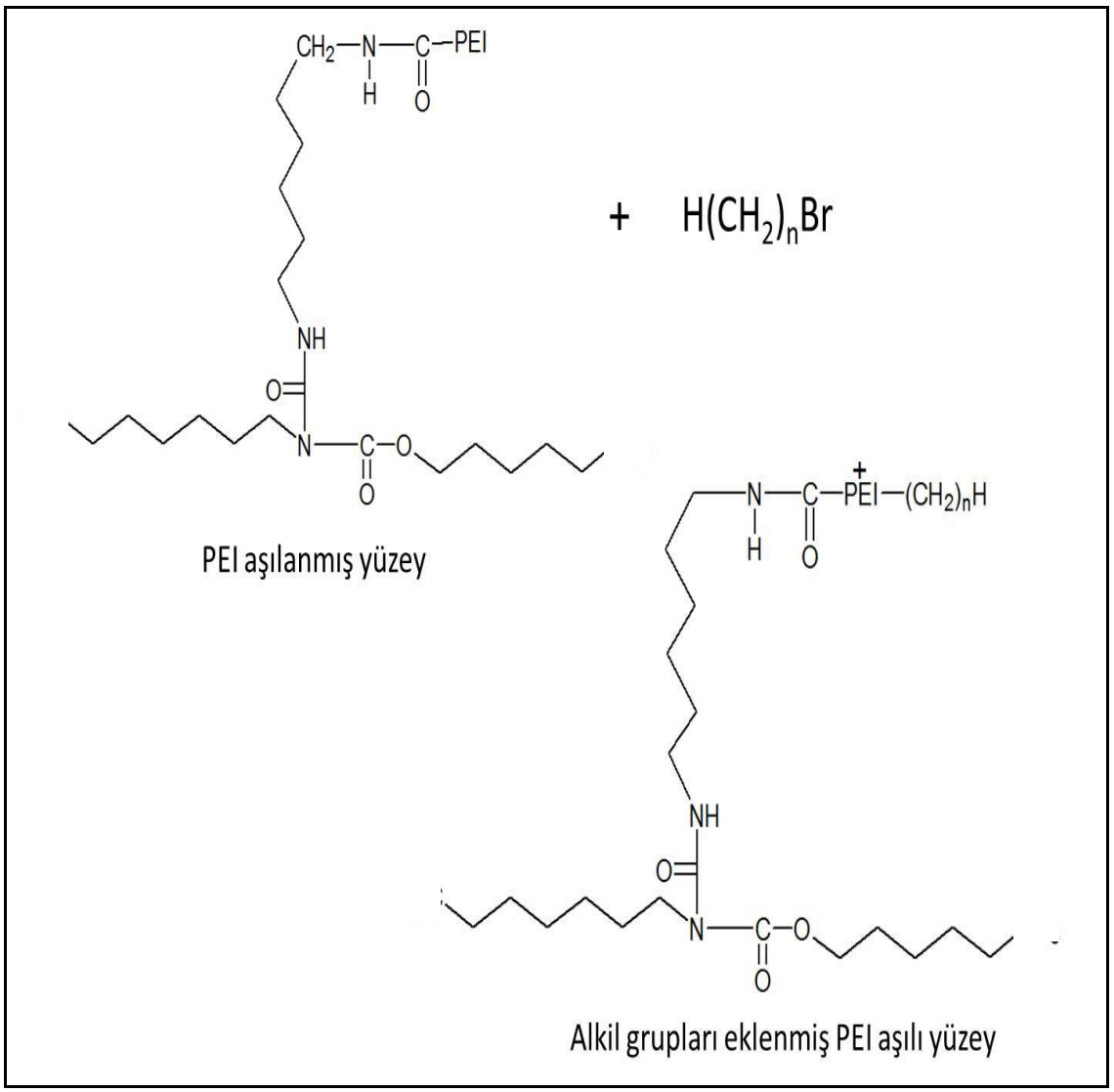
Şekil 4.26. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (24 saat)



Şekil 4.27. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış PU yüzeyin 3-boyutlu AFM görüntüsü (48 saat)

4.1.3. PEI aşılanmış yüzeylerin alkilasyonu

Poliüretan stent yüzeyine hidrofobik polikatyon olan polietilenimin (PEI) zincirleri kovalent olarak aşılanmış daha sonra alkillenerek bakteri membranlarının işlevinin bozulması için antibakteriyel yüzeyler oluşturulmuştur. Pozitif yükü ve hidrofobik özelliğinden dolayı alkillenmiş PEI bir antibakteriyel ajan olarak dikkat çekmektedir.



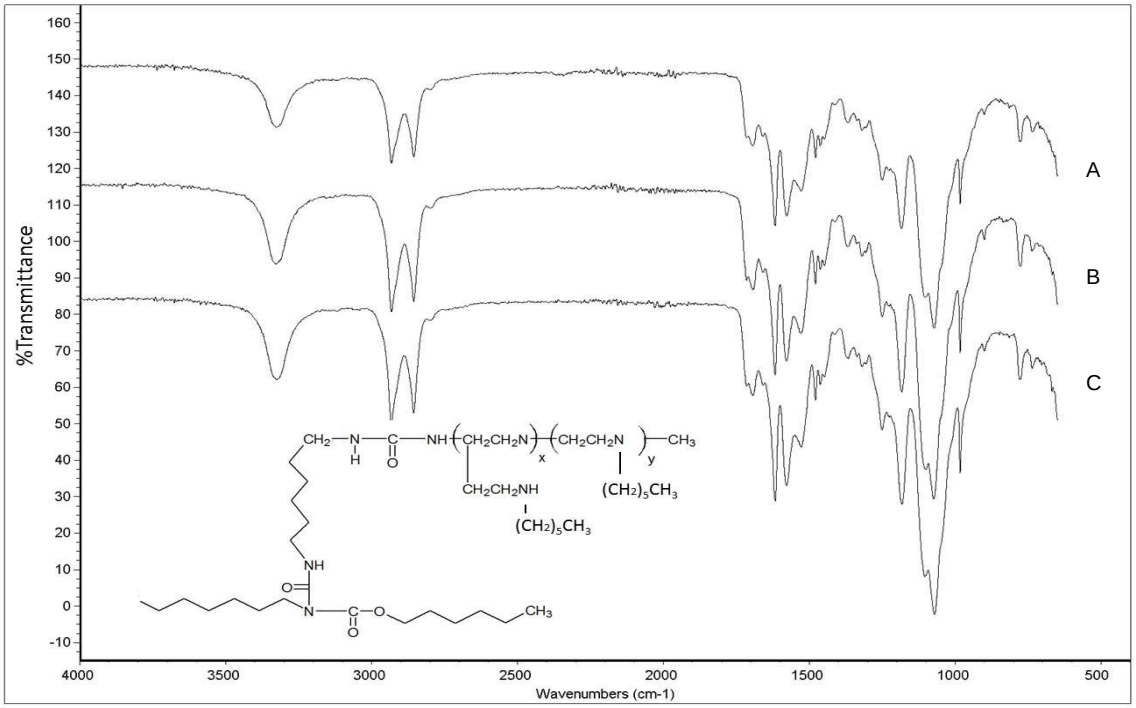
Şekil 4.28. PEI'nin alkilasyon basamağının mekanizması

Poliüretan yüzey üzerine PEI immobilize edilmiş yüzeylerde alkil grupları oluşturulduğu reaksiyon (Şekil 4.28.) incelendiğinde, düşük molekül ağırlıklı (Şekil 4.29.) ve yüksek molekül ağırlıklı (Şekil 4.30.) PEI moleküllerinin aşılandığı sistemlerin, PEI molekülü üzerindeki N atomu üzerinden alkillendiği basamaklarda

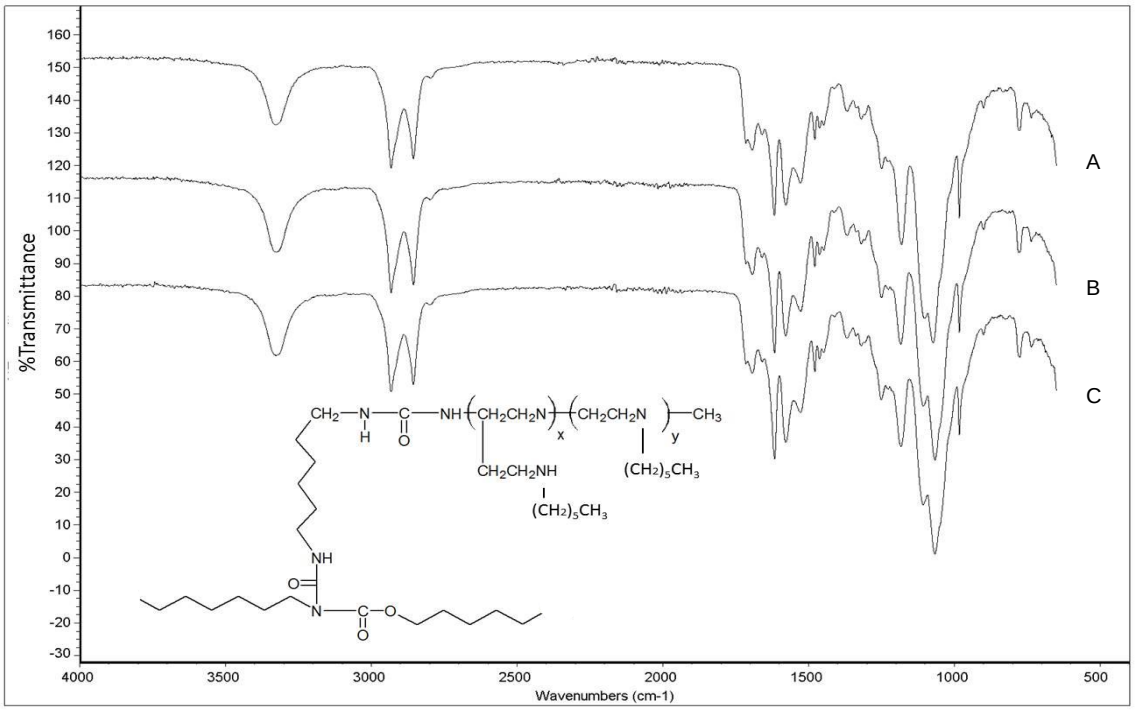
herhangi bir karakteristik pik izlenmemiştir. Şekil 4.3. ve şekil 4.4.'te belirtilen 3300 cm^{-1} bölgesinde N-H gerilmeleri, 2800-2950 cm^{-1} bölgesinde C-H gerilmeleri, PU'nun karakteristik 1700-1710 cm^{-1} bandındaki C-N eğilmesi, 1180 cm^{-1} aralığındaki C-N gerilmesi ve 1000-1100 cm^{-1} aralığındaki üretan bağının C-O gerilmelerinin standart biçimde varlığı gözlemlenmiştir. 1450-1375 cm^{-1} aralığındaki uç metil eğilmelerinin teorik olarak artması beklenmektedir. Ancak poliüretan ve PEI'nin yapısından gelen uç metil eğilmelerinden dolayı pikin zaten var olması sebebiyle spektrumda herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Detaylı bulgulara XPS analiz sonuçlarıyla nicel olarak ulaşılmıştır.

Düşük molekül ağırlıklı PEI ile elde edilen yüzeylere yapılan alkilleme sonucu elde edilen spektrum, kimyasal kompozisyon ve bağıl oranlar şekil 4.31.-33.'de verilmiştir. 6, 24 ve 48 saatlik aşılama sonrası elde edilen yüzeylerdeki alifatik karbon türünün (1) alkilasyon sonrasındaki bağıl oranlarındaki artış sırasıyla %1,9 (% 65,11'den % 66,37'ye), % 4,2 (% 62,28'den % 64,91'e) ve % 3,8 (% 61,86'dan 64,22'ye) olarak gerçekleşmiştir. Artışlar, ortamda bulunan PEI moleküllerinin artışıyla orantılı olarak artış göstermiştir.

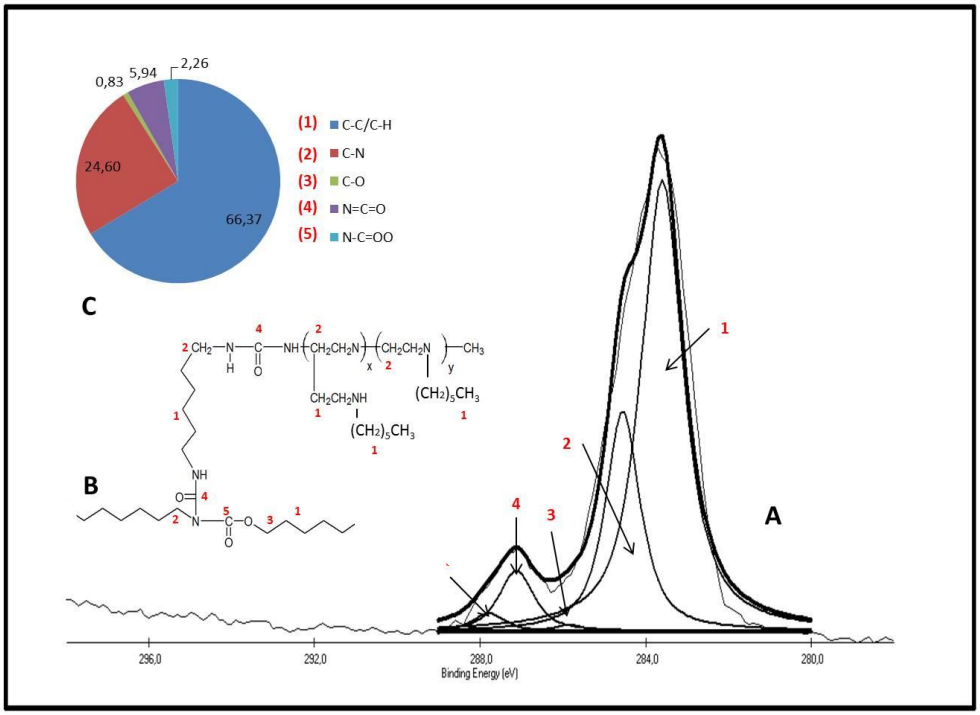
Şekil 4.34.-36.'da yüksek molekül ağırlıklı PEI ile elde edilen yüzeylere yapılan alkilleme sonucu elde edilen spektrum, kimyasal kompozisyon ve bağıl oranları göstermektedir. Bir önceki paragrafta anlatıldığı gibi artan aşılama süresi ile yüzeye aşılanan PEI moleküllerinin artışıyla alkilleme sonrası alifatik karbon türüne (1) ait pikler de artış göstermiştir. 6 saatlik aşılama ile elde edilen yüzeydeki alkilasyon sonrası %1,6'lık artış gösteren alifatik karbon pikindeki artış 24 ve 48 saatlik aşılamalarda elde edilen yüzeylerin alkilasyonu ertesinde % 4,2 ve % 6,8 olarak gözlemlenmiştir. Yüksek molekül ağırlığına sahip PEI zincir uzunluğundaki primer ve sekonder amin noktalarının artışı nedeniyle *N*-alkillemenin daha yüksek bir verim ile gerçekleştiği sonucuna varılabilir.



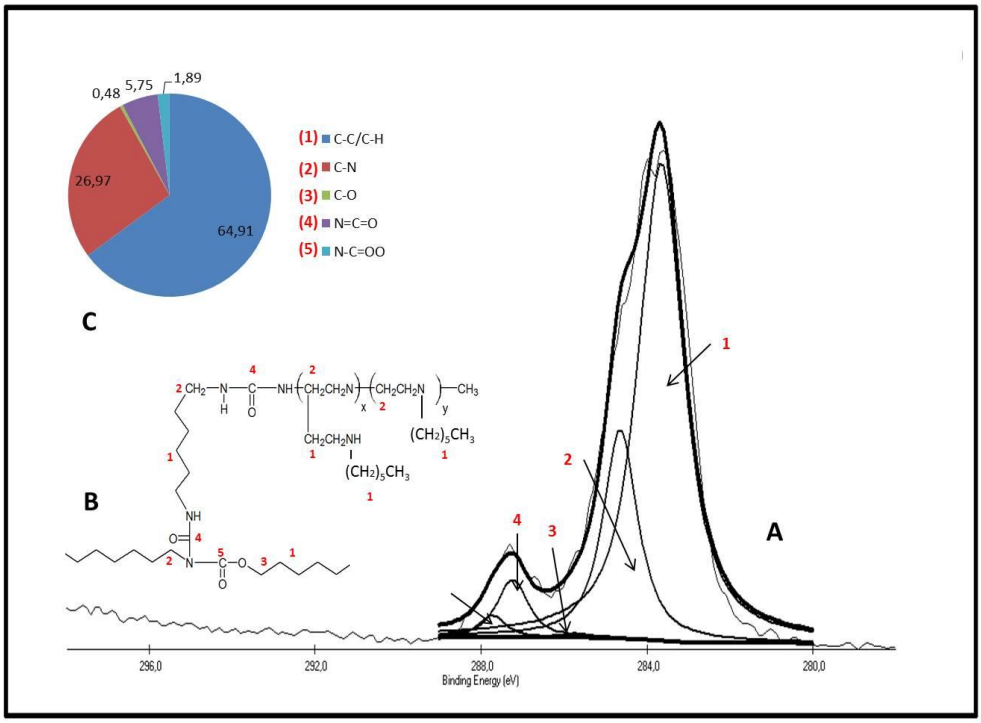
Şekil 4.29. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve alkillendirilmiş PU yüzeylerin FTIR spektrumları A) 6 saat, B) 24 saat, C) 48 saat.



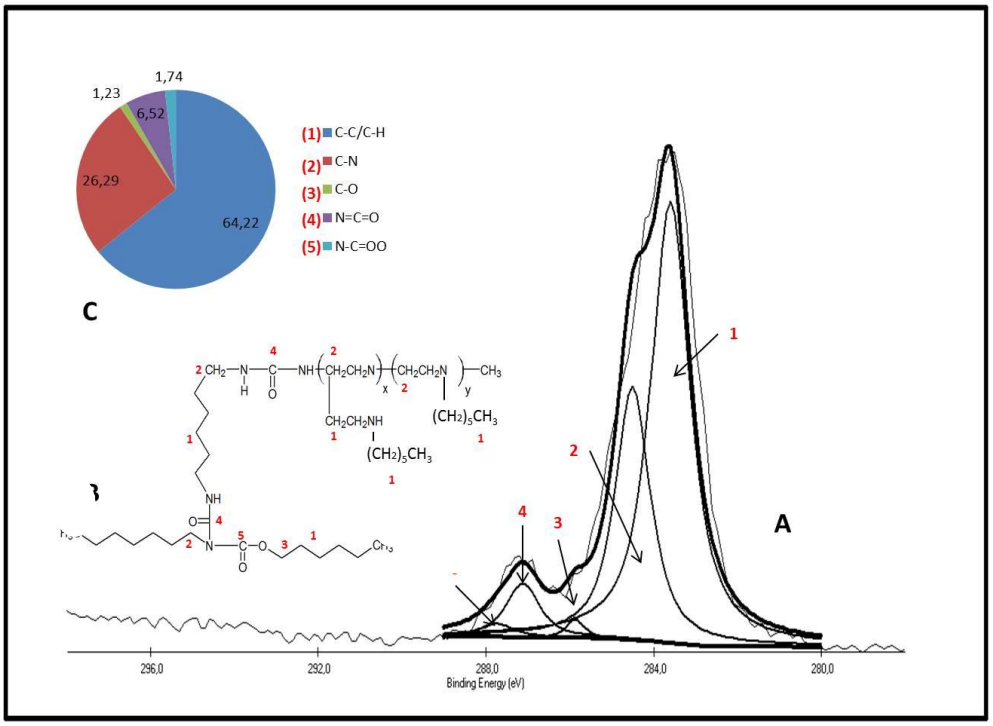
Şekil 4.30. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve alkillendirilmiş PU yüzeylerin FTIR spektrumları A) 6 saat, B) 24 saat, C) 48 saat.



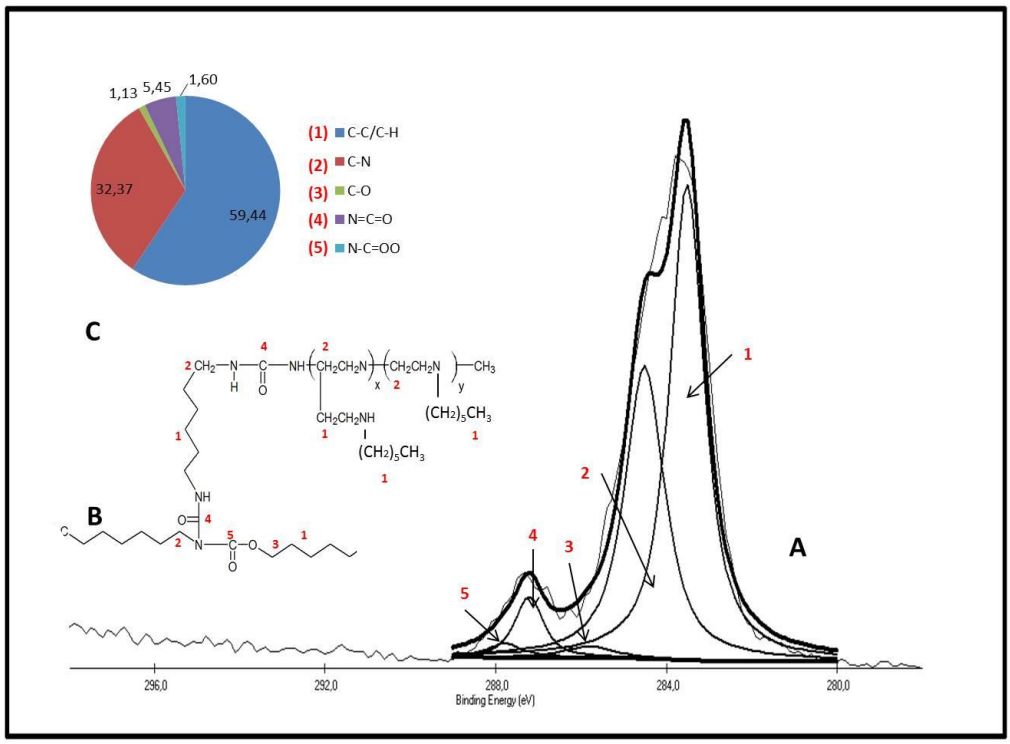
Şekil 4.31. PU/LPEI(6)R örneklerin XPS spektrumu



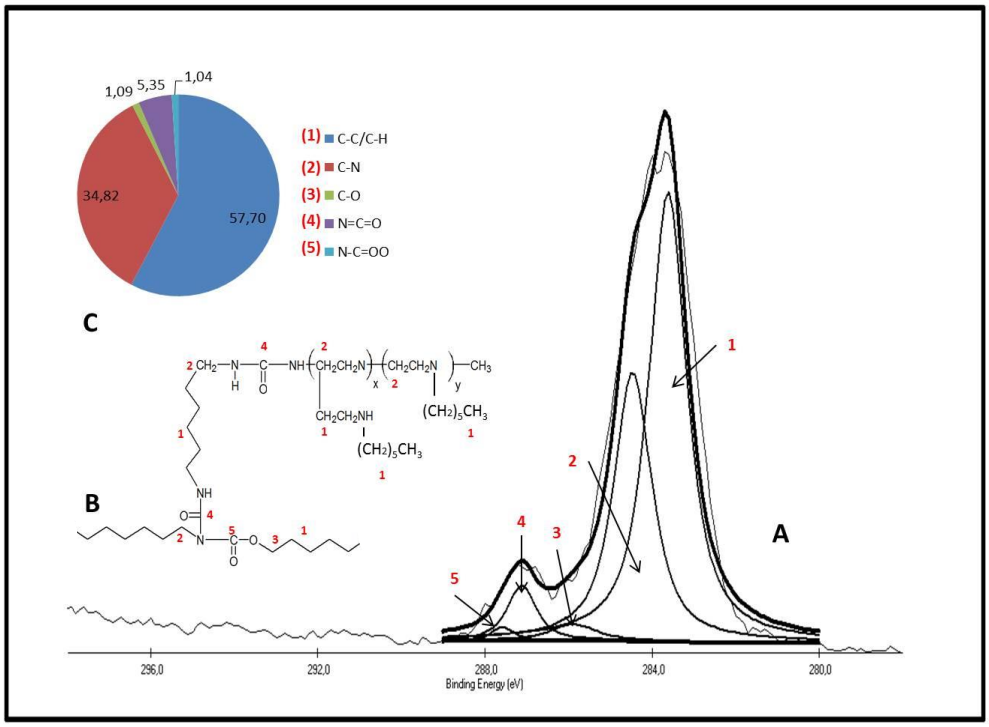
Şekil 4.32. PU/LPEI(24)R örneklerin XPS spektrumu



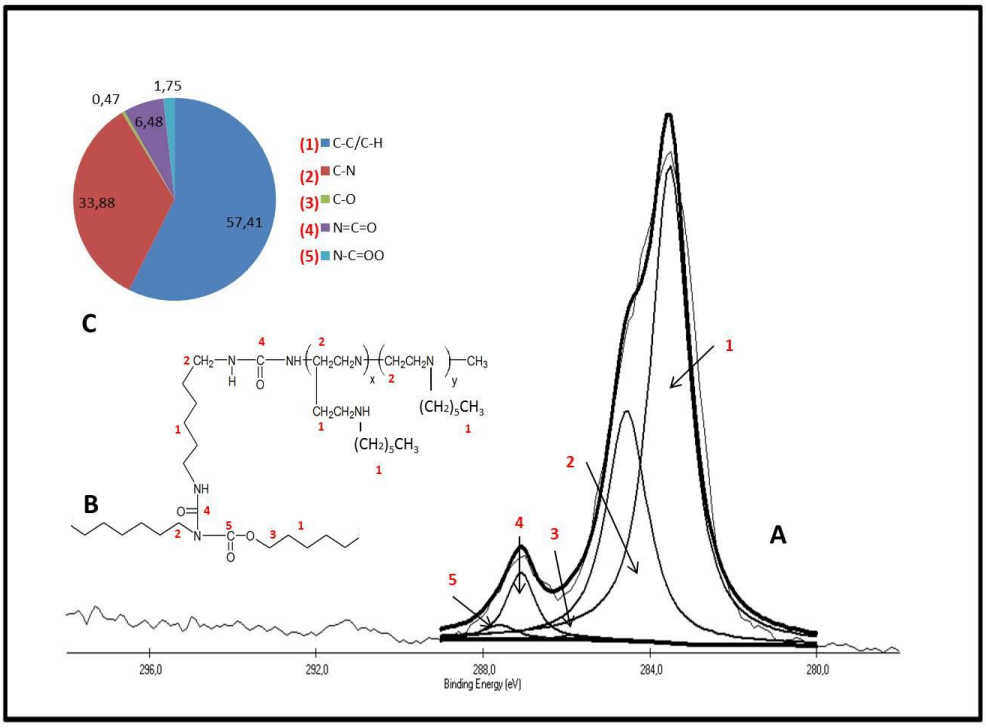
Şekil 4.33. PU/LPEI(48)R örneklerin XPS spektrumu



Şekil 4.34. PU/HPEI(6)R örneklerin XPS spektrumu

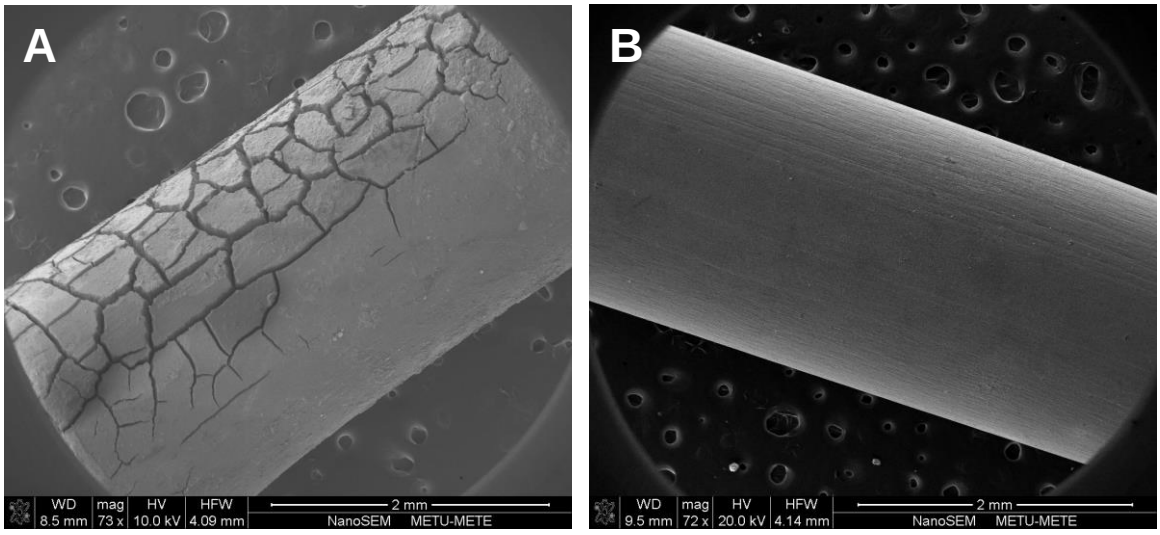


Şekil 4.35. PU/HPEI(24)R örneklerin XPS spektrumu



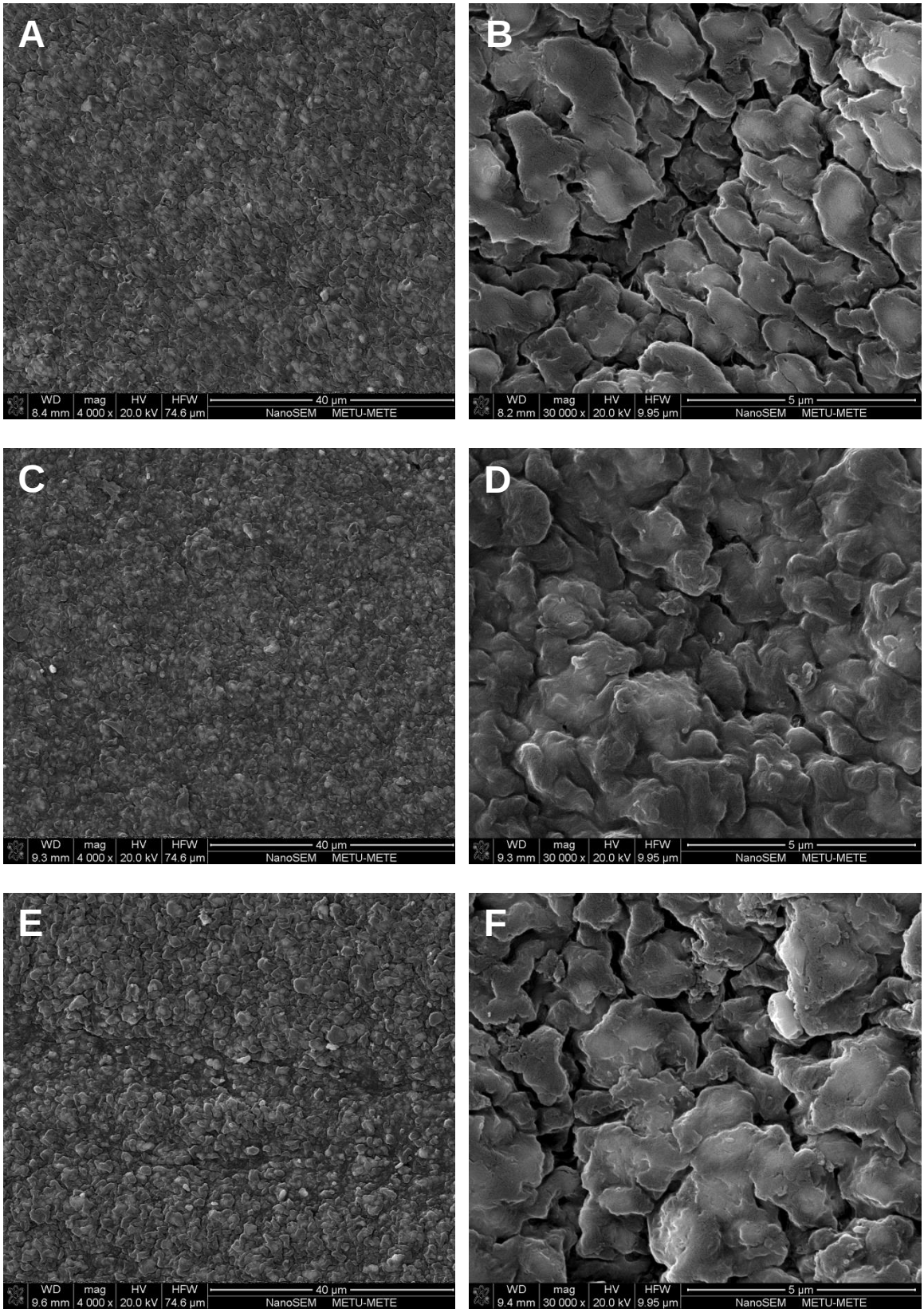
Şekil 4.36. PU/HPEI(48)R örneklerin XPS spektrumu

Tez kapsamında yapılan çalışmaların ilk bulgularında deney prosedürünün oluşturulması ve iyileştirilmesi aşamasında, poliüretan yüzeyde fonksiyonel izosiyanat grupları oluşturulması, oluşturulan izosiyanat grupları üzerinden PEI aşılanmış yüzeyler elde edilmesi ve PEI aşılanmış yüzeylerin PEI zincirleri üzerindeki nitrojen atomları terminal olacak şekilde (N-alkilleme) alkil uç gruplara sahip olması basamaklarının her bir aşaması Taramalı Elektron Mikroskobu yardımıyla taranmıştır. Yüzeyler morfolojik açıdan incelenmiş ve polimerik malzemelerde oluşan deformasyonlar tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen deney basamaklarından sadece alkilasyon basamağında yüzeyde deformasyonlar gözlenmiştir (şekil 4.37.).

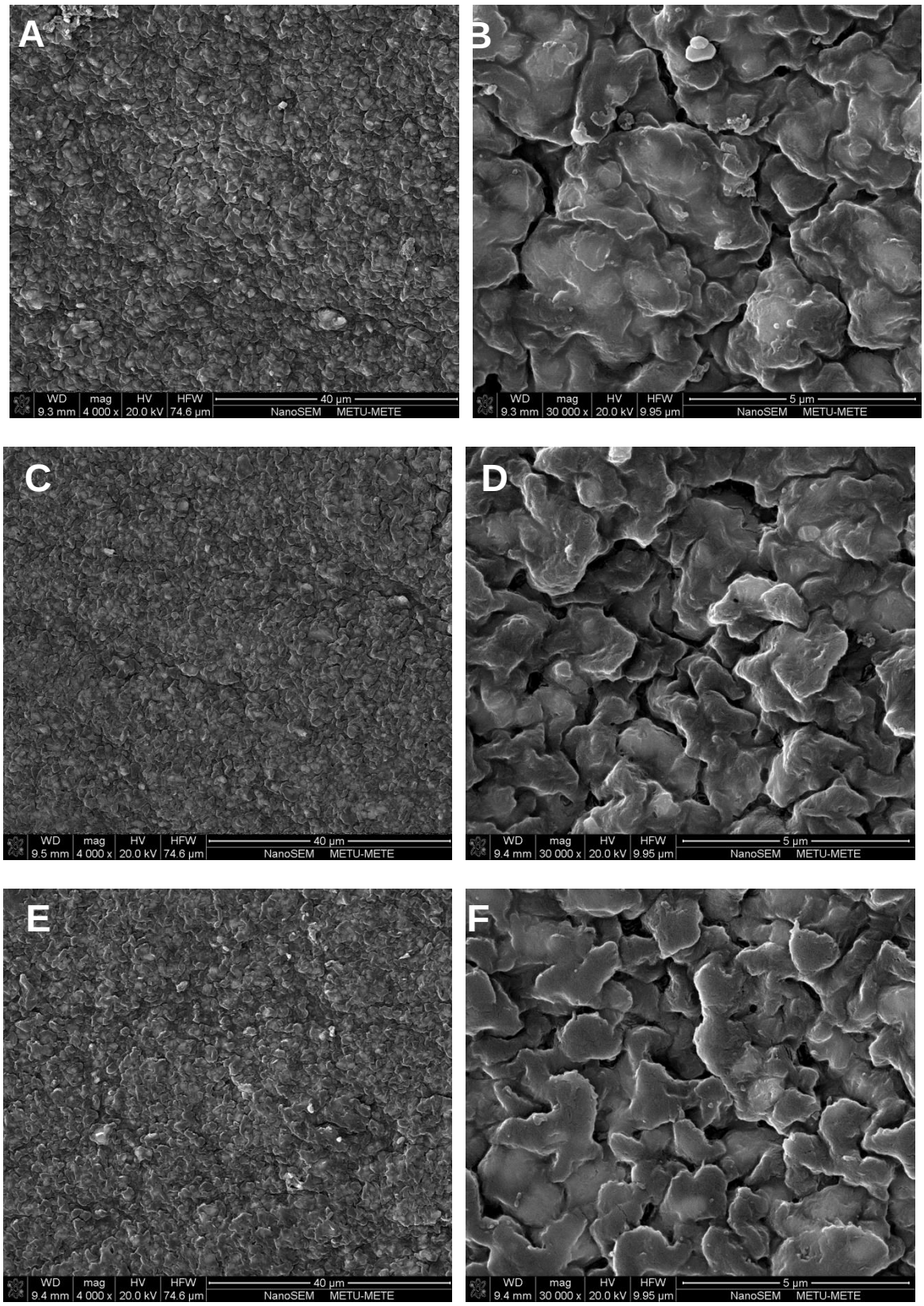


Şekil 4.37. Alkilleme işleminde reaksiyon süresinin stent yüzeylerine etkisi A)Poliüretan yüzey üzerine 48 saat süre ile yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve 24 saat süre ve 90 °C'de alkil grupları oluşturulmuş yüzeyin SEM görüntüsü B) Poliüretan yüzey üzerine 48 saat süre ile yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve 6 saat süre ve 55 °C'de alkil grupları oluşturulmuş yüzeyin SEM görüntüsü

Referans çalışmalardan yola çıkarak (Tiller et al., 2001) oluşturulan prosedürde, belirtilen çalışmalarda kullanılan malzemelere göre poliüretanın, sıcaklık ve ısıya zaman karşısındaki duyarlılığı ve mukavemeti kıyaslanmıştır. Alkil uç grupların oluşturulduğu basamakta öncelikle sıcaklığın poliüretana etkisi göz önünde bulundurulmuş ve sıcaklık 90 °C'den kademeli olarak 80, 70, 60 ve 55 °C'ye düşürülmüştür. Daha sonra çözücünün de poliüretan üzerindeki çözünürlük/şişme etkisi zamana ve oluşturduğu deformasyona karşı değerlendirilmiş ve reaksiyon süresi 48 saatten kademeli olarak ve farklı referans çalışmalar da göz önünde bulundurularak 6 saate düşürülmüştür (şekil 4.37.) (Lin et al., 2002). Ayrıca SEM görüntüleri karşılaştırmalı olarak incelendiğinde kontrol grubuna oranla düşük ve yüksek molekül ağırlıklı PEI immobilize edilmiş yüzeylerin pürüzlülüğünde gözle görülür bir fark/artış olduğu gözlemlenmiştir. Alkilasyon basamağında ise düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış yüzeyler kendi içlerinde alkilasyon basamaklarıyla (Şekil 4.38.) karşılaştırıldıklarında pürüzlülükte azalma gözlemlenmiştir. Aynı şekilde yüksek molekül ağırlıklı PEI immobilize edilmiş yüzeyler kendi içlerinde alkilasyon basamaklarıyla (Şekil 4.39.) karşılaştırıldıklarında pürüzlülükte azalma gözlemlenmiştir. AFM görüntüleri ve sayısal verileri de düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış yüzeylerin kendi içlerinde alkilasyon basamaklarıyla (Şekil 4.40.-42.) karşılaştırıldıklarında pürüzlülükte azalma gözlemlenmiştir. Aynı şekilde yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış yüzeylerin kendi içlerinde alkilasyon basamaklarıyla (Şekil 4.43.-45.) karşılaştırıldıklarında da pürüzlülükte azalma gözlemlenmiştir.



Şekil 4.38. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve alkillenmiş örneklerin SEM görüntüsü: A) 4000x büyütme ve B) 30000x büyütme, 6 saat, C) 4000x büyütme, ve D) 30000x büyütme, 24 saat, E) 4000x büyütme ve F) 30000x büyütme, 48 saat.



Şekil 4.39. Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmış ve alkillenmiş örneklerin SEM görüntüsü: A) 4000x büyütme ve B) 30000x büyütme, 6 saat, C) 4000x büyütme, ve D) 30000x büyütme, 24 saat, E) 4000x büyütme ve F) 30000x büyütme, 48 saat.

Hazırlanan örneklerin AFM ile yüzey topografyasını belirten verileri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Elde edilen verilerin ışığında yüzey pürüzlülük değerinin nm ölçeğindeki incelemelerinde yüzeye PEI aşılanmasıyla, yüzeyin pürüzlülüğünde ciddi bir artış gözlenmiştir. Aşılanan PEI molekülünün molekül ağırlıkları göz önünde bulundurularak bir karşılaştırma yapıldığında ise düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanan yüzeylerin, yüksek molekül ağırlıklı PEI moleküllerine oranla Rms değerleri daha yüksek bulunmuş, dolayısıyla pürüzlülüğün daha fazla olduğu görülmüştür.

Düşük molekül ağırlıklı PEI ve yüksek molekül ağırlıklı PEI'nin kendi içlerinde alkilasyon basamağına karşı karşılaştırması ile ise alkilasyon basamağının sonunda yüzey pürüzlülüğünde düşüş gözlenmiştir. Kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmalarda ise düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanması, yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanması ve alkilasyon basamaklarının tümünde kontrol grubuna oranla pürüzlülüğün arttığı sonucuna varılmıştır.

Elde edilen veriler yüzeyin pürüzlülüğünün değişimi konusunda genel bir fikir uyandırmıştır ve SEM görüntüleri de pürüzlülük konusunda yapılan değerlendirmeleri destekler niteliktedir.

Ancak AFM ile elde edilen yüzeylerin, genel morfoloji hakkında fikir verebilmesine rağmen, elde edilen verilerin mikrobiyolojik ve temas açısı verileriyle nicel olarak karşılaştırılması anlamlı değildir. Çünkü fırça tipi polimerlerin, polimer zinciri konformasyonu ve sayısal pürüzlülük verileri kuru ortama göre sıvı ortamda farklılık gösterdiği referans çalışmalarda sıvı ortamda ve kuru ortamda karşılaştırmalı yapılan çalışmalarla rapor edilerek bulgular kanıtlanmıştır (Winnik et al., 1990; Kidoaki et al., 2001). Ayrıca yüzeye yoğun olarak aşılanmış ve yüksek molekül ağırlıklı fırça yapılarının oluşturulduğu yüzeylerde AFM tipinin yüzeyi düzgün biçimde tarayamaması daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Yamamoto et al., 2000).

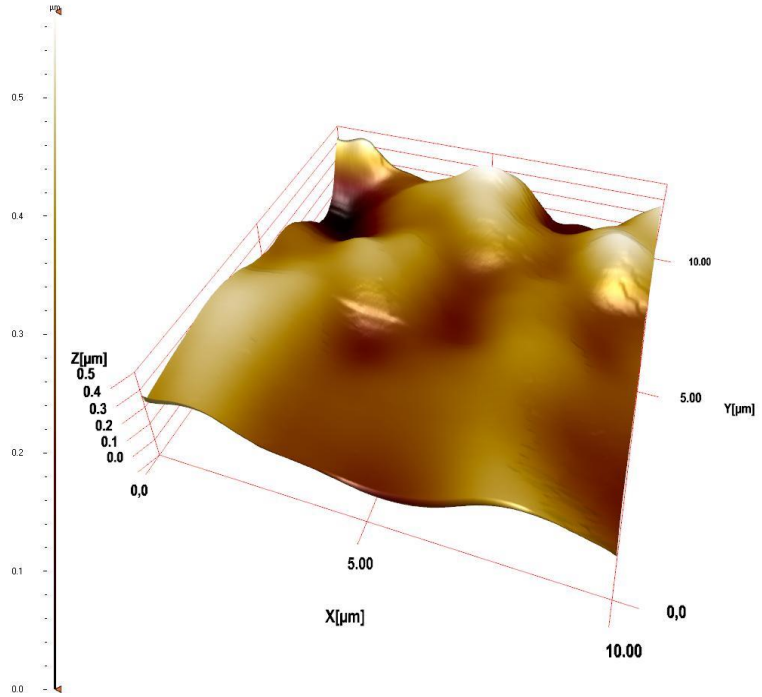
Yapılan temas açısı ölçümleri (Çizelge 4.1.) sonucunda işlem görülmemiş poliüretanın temas açısı 99±1,5 derece bulunmuştur. Yapılan düşük ve yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılaması sonucunda ise temas açısı derecesinde düşüş

gözlenmiştir. Referans kaynaklarda yapılan çalışmalar da PEI molekülünün amin gruplarının hidrofilik karakterinden kaynaklanan hidrofilik gruplarının da var olduğunu belirtmiştir (Tan and Kay Obendorf, 2007). Yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılanmasında, düşük molekül ağırlıklı PEI aşılanan yüzeylere oranla çok az miktarda daha fazla bir düşüş gözlemlenmiştir. Ancak standart sapmalar da göz önünde bulundurulduğunda immobilize yüzeyler arasında çok belirgin sayısal bir farka rastlanmamıştır. Alkilasyon basamakları da düşük ve yüksek molekül ağırlıklı PEI immobilize edilmiş yüzeyler için kendi aralarında karşılaştırıldığında; alkillenmiş örneklerin, sadece PEI aşılanmış yüzeylere oranla bir miktar daha düşük temas açısına sahip oldukları gözlenmiştir.

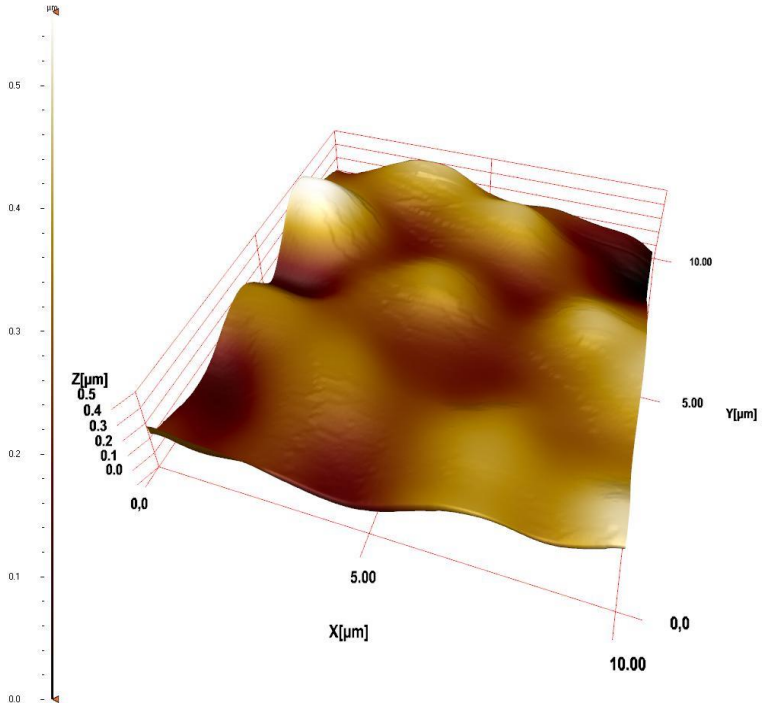
Sonuç olarak kontrol grubu olan işlem görmemiş poliüretan ile PEI aşılama işlemi gerçekleştirilmiş ve/veya alkil grupları oluşturulmuş yüzeyler karşılaştırılmış ve gerçekleştirilen işlemler sonucunda poliüretanın hidrofobik karakterinde azalma meydana geldiği, ancak tüm yüzeylerin hidrofobik yapıda olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Örneklerin yüzey pürüzlülüğü ve temas açısı değerleri

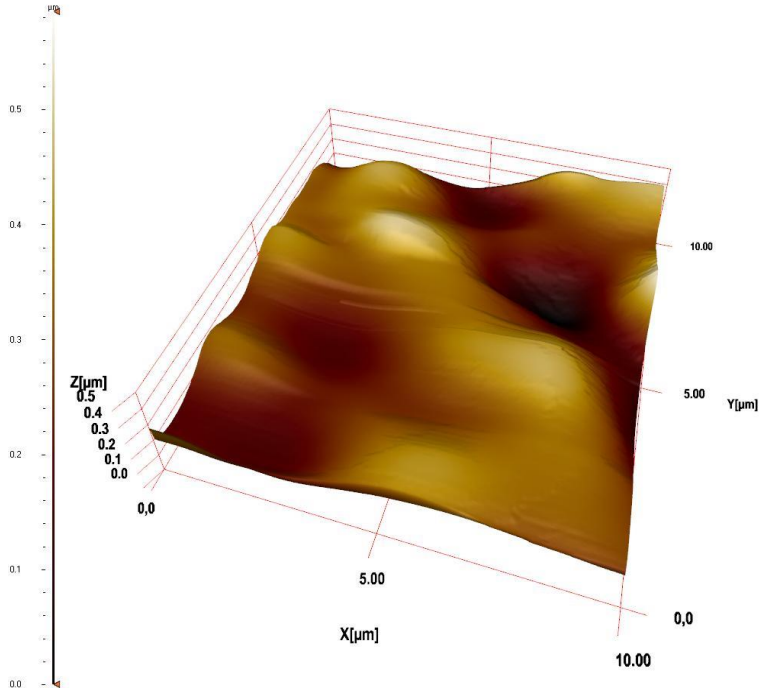
Örnek numarası	Örnek Kısaltması	Rms(nm)	Ra(nm)	Temas Açısı
1	PU	174,849	163,832	99±1,5
2	PU*	255,593	249,569	-
3	PU/LPEI(6)	724,103	692,171	93±1,8
4	PU/LPEI(24)	819,567	799,125	92±2,8
5	PU/LPEI(48)	291,849	268,057	92±2
6	PU/HPEI(6)	448,509	425,924	92±2
7	PU/HPEI(24)	412,639	387,292	91±1,3
8	PU/HPEI(48)	217,368	199,575	90±0,9
9	PU/LPEI(6)R	341,357	329,152	88±0,9
10	PU/LPEI(24)R	304,323	291,551	90±1
11	PU/LPEI(48)R	302,288	289,233	90±1,5
12	PU/HPEI(6)R	232,948	197,229	89±1,4
13	PU/HPEI(24)R	230,305	181,800	90±0,7
14	PU/HPEI(48)R	233,116	218,607	87±1



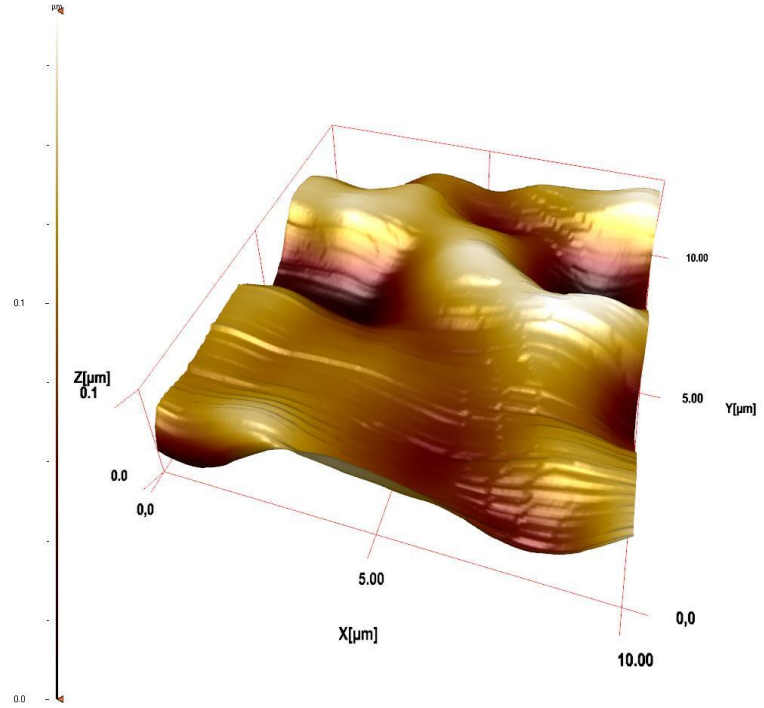
Şekil 4.40. PU/LPEI(6)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü



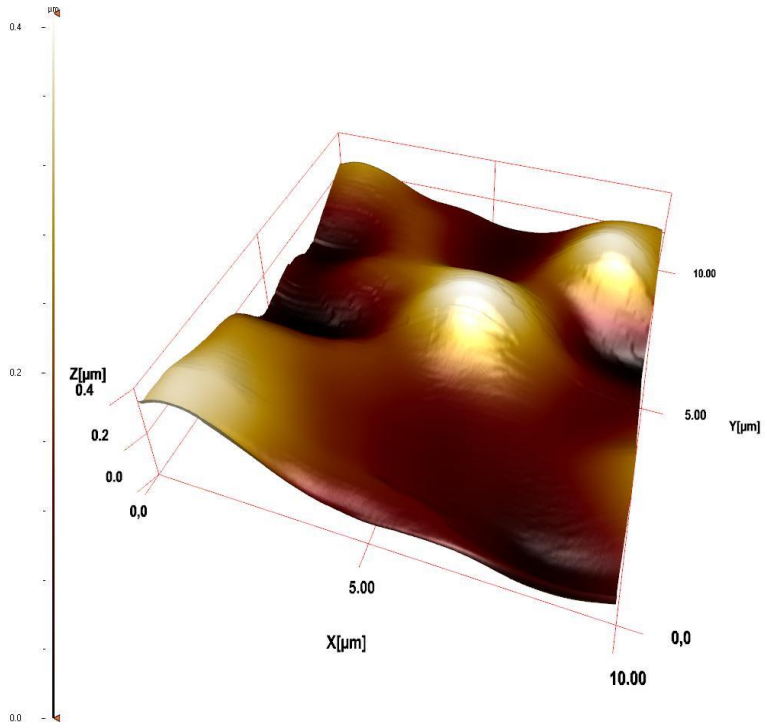
Şekil 4.41. PU/LPEI(24)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü



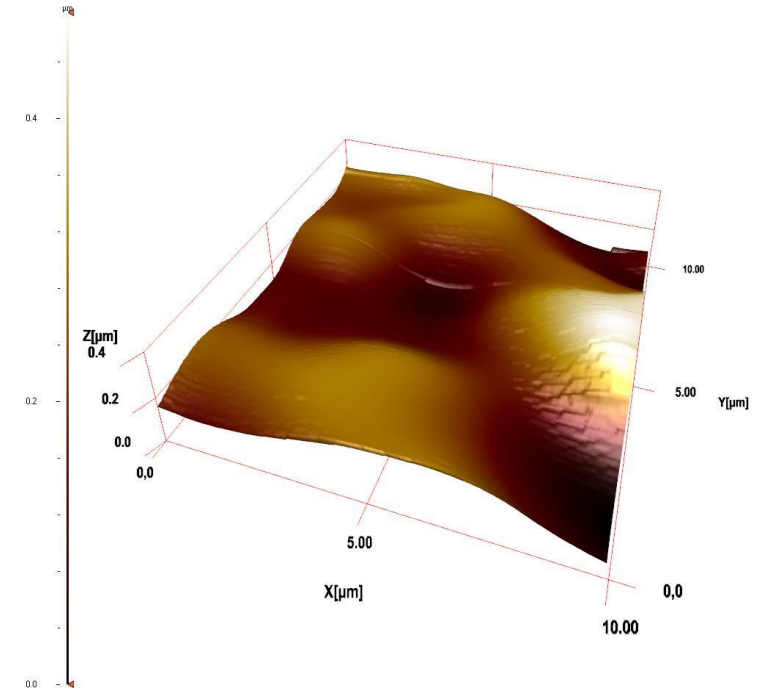
Şekil 4.42. PU/LPEI(48)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü



Şekil 4.43. PU/HPEI(6)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü

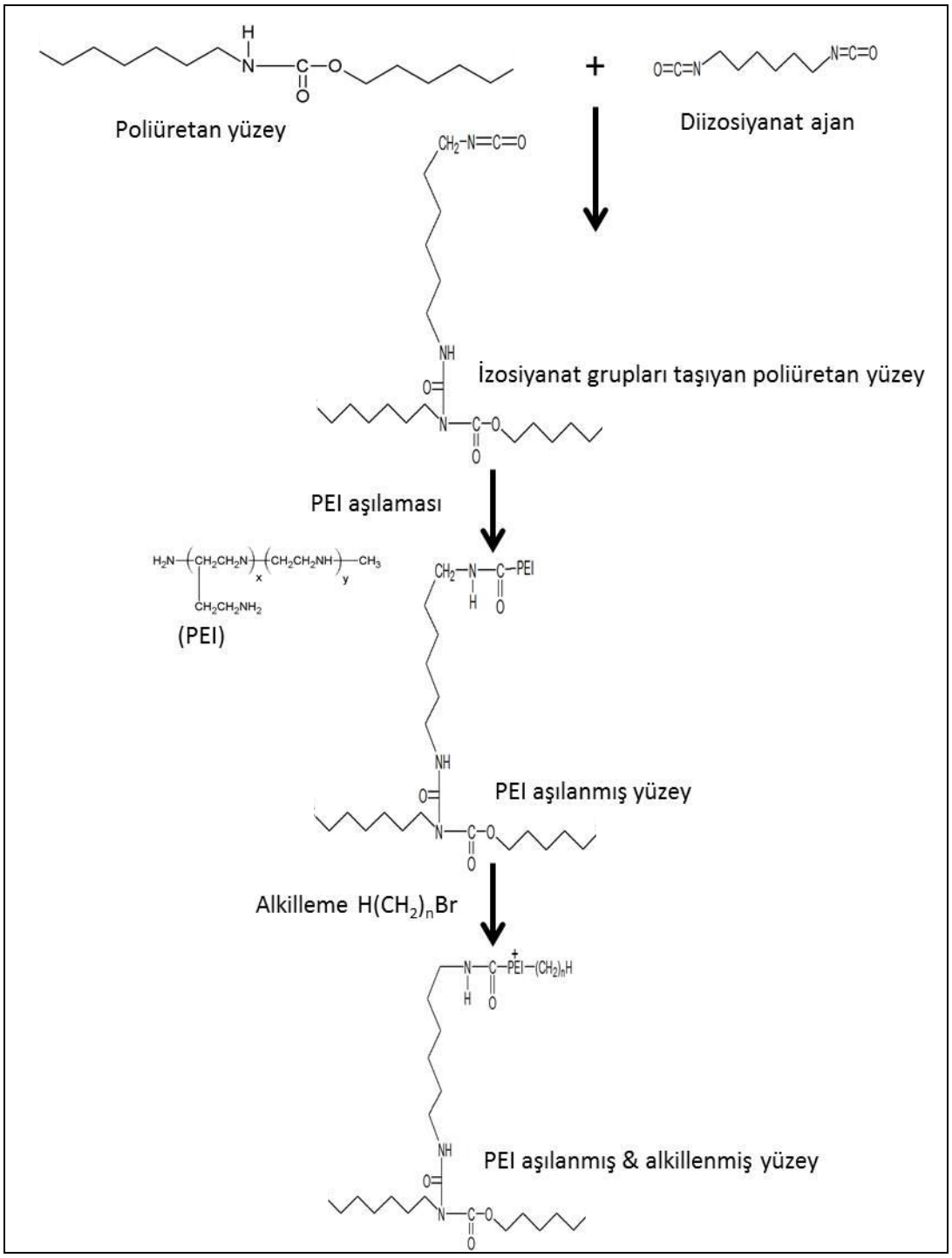


Şekil 4.44. PU/HPEI(24)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü



Şekil 4.45. PU/HPEI(48)R örneklerin 3-boyutlu AFM görüntüsü

4.1.4. X Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) ile elemental karakterizasyona genel bakış



Şekil 4.46. Poliüretan yüzeylerde PEI aşılanması ve alkilasyon basamaklarının gösterimi

Örnek gruplarının genel taramalarından elde edilen elementel yüzdeler çizelge 4.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2. Örnek yüzeylerinin kimyasal bileşiminin elemental yüzdeleri

Örnek	**% C**	**% N**	**% O**
PU	**71**	**17,7**	**11,3**
PU*	**72,3**	**13,8**	**12,9**
PU/LPEI(6)	**74**	**14,9**	**11,1**
PU/LPEI(24)	**72,6**	**16,3**	**11,1**
PU/LPEI(48)	**73,3**	**15,9**	**10,8**
PU/HPEI(6)	**74,9**	**14,9**	**10,2**
PU/HPEI(24)	**73,9**	**15,8**	**10,3**
PU/HPEI(48)	**74,2**	**15,6**	**10,2**
PU/LPEI(6)R	**74,5**	**14,8**	**10,7**
PU/LPEI(24)R	**73,9**	**15,2**	**10,9**
PU/LPEI(48)R	**74,1**	**15,5**	**10,4**
PU/HPEI(6)R	**75,4**	**14,7**	**9,9**
PU/HPEI(24)R	**74,8**	**15,6**	**9,6**
PU/HPEI(48)R	**74,9**	**15,8**	**9,3**

Modifikasyonları süresince yüzeyde gerçekleştirilen kimyasal reaksiyonlar topluca şekil 4.46.'da şematik olarak gösterilmiştir. Örnek gruplarının genel tarama analizi sonucunda elementel yüzdelerine bakıldığında yüzeydeki oksijenin, karbon ve azota oranla bağıl olarak düştüğü ilk olarak göze çarpmaktadır. Bunun nedeni olarak oksijenin sadece poliüretan yüzey ve yüzey fonksiyonelleştirme ajanı olarak kullanılan hekzametilendiizosiyanat (HMDI) bileşenlerinde bulunması ama

gövdeye polietilenimin aşılaması ve takip eden alkilasyon basamaklarında daha fazla oksijen atomunun yapıya katılmaması gösterilebilir.

Elementel oksijen yüzdesi yüzey fonksiyonellendirme sonrası artış göstererek PU'a göre %1,6 oranında bir artış göstermiştir; ancak daha sonraki basamaklarda yüzde azalmıştır. Oksijen atomunun bağıl azalmasındaki eğilim yüksek ve düşük molekül ağırlığına (uzun ve kısa zincirine) sahip olan PEI aşılamalarında farklı olarak görülmektedir. Düşük molekül ağırlıklı PEI aşılamalarında oksijen yüzdesi %10.8 - %11,1 aralığında gözlemlenirken, yüksek molekül ağırlıklı PEI aşılamada oksijen oranı %10,2 - %10,3 olarak gerçekleşmiştir. Daha uzun polimer zincirlerinin izosiyanatlar üzerinden gövdeye aşılanması ile yüzeyde oluşan kimyasal kompozisyon karbon ve azotça daha zengin olarak analiz edilmiş olup oksijenin bağıl oranını kısa zincirli aşılama yapılan yüzeylere göre düşürmüştür.

Oksijen oranı alkilasyon sonrasında da benzer şekilde azalmıştır. Düşük molekül ağırlıklı PEI zincirlerinin alkillenmesi sonucunda oksijen yüzdesi %10,4 – %10,9 seviyelerine inerken, aşılanmış yüksek molekül ağırlıklı PEI zincirlerinin alkillenmesi sonucunda oluşan yeni yüzey karakterinde bu oran %9,3 - %9,9 olarak bulunmuştur.

PEI aşılama ve alkilleme işlemlerinin gerçekleştiği ve yüzeyde elde edilen aşılanmış zincirlerin varlığı genel taramadaki oksijen oranının azalması ile görülmektedir. Karbonun yüzde oranları incelendiğinde ise hem düşük hem de yüksek molekül ağırlığına sahip PEI zincirlerinin alkillenmesi sonrasında %0,5 - %1,3 arası artışlar gözlenmiştir. Alkilleme işleminde yüzeye sadece karbon katıldığı için bağıl oranlardaki bu artış da beklenen bir sonuçtur.

PEI yapısında hem azot hem de karbon elementi bulunduğundan ötürü genel taramalarda ortaya çıkan tablo yardımıyla azot ve karbon elementlerinin bağıl oranları hakkında kesin bir yargıya varılamayacağı için XPS analizlerinde yüksek çözünürlükte C1s taramaları gerçekleştirilmiştir.

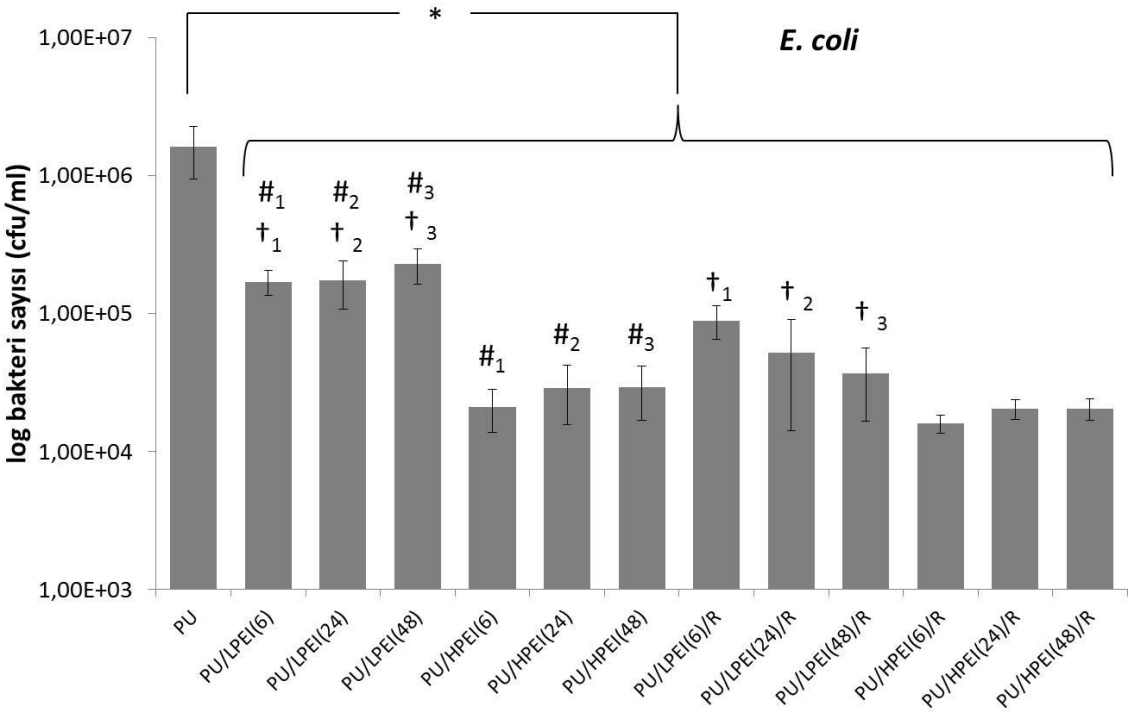
4.2. PEI Aşılanmış Poliüretan Stent Yüzeylerin Antibakteriyel Aktivitesi

E. coli ile yapılan bakteriyel tutunma çalışmalarında (Şekil 4.47.) tüm yüzey modifikasyonlarında kontrol grubuna göre log 1 ve log 2 mertebesinde istatistiksel olarak anlamlı azalmalar elde edilmiştir (p<0.05). Düşük molekül ağırlığındaki PEI aşılama ile yüzeyleri değiştirilmiş gruplardaki (PU/LPEI(6), PU/LPEI(24) ve PU/LPEI(48)) azalmalar log 1; diğer yüzeylerdeki azalmalar ise log 2 mertebesinde gerçekleşmiştir.

Düşük molekül ağırlığı ve yüksek molekül ağırlığına sahip PEI ile yapılan modifikasyonlarda PEI polimerinin aşılanma süreleri molekül ağırlıkları sabit tutulan gruplarda (PU/LPEI(6), PU/LPEI(24), PU/LPEI(48) ve PU/HPEI(6), PU/HPEI(24), PU/HPEI(48)) istatistiksel olarak incelenmiş ve aşılanma süresinin *E. coli* tutunmasında anlamlı bir artma veya azalma meydana getirmediği görülmüştür (p<0.05). Diğer bir deyişle artan PEI aşılama süresinin yüzeyin *E. coli* tutunma direncine katkısı bulunmamıştır.

Artan PEI molekül ağırlığı yani zincir uzunluğunun *E. coli* tutunmasına etkisi düşük ve yüksek molekül ağırlıklarına sahip grupların karşılaştırılması aşılama süreleri sabit tutulan gruplarda (PU/LPEI(6) ile PU/HPEI(6); PU/LPEI(24) ile PU/HPEI(24); PU/LPEI(48) ile PU/HPEI(48) istatistiksel olarak incelenmiştir ve tüm aşılama sürelerinde zincir uzunluğundaki artış ile *E. coli* tutunmasında anlamlı bir azalma elde edildiği gözlemlenmiştir (p<0.05).

Yüzeye aşılanan PEI polimerine alkillenme işleminin etkisi de molekül ağırlığı ve aşılanma süreleri sabit tutularak (PU/LPEI(6) ile PU/LPEI(6)R; PU/LPEI(24) ile PU/LPEI(24)R; PU/LPEI(48) ile PU/LPEI(48)R; PU/HPEI(6) ile PU/HPEI(6)R; PU/HPEI(24) ile PU/HPEI(24)R; PU/HPEI(48) ile PU/HPEI(48)R) istatistiksel olarak incelenmiştir. Buna göre; düşük molekül ağırlığına sahip PEI ile tüm aşılama sürelerinde elde edilen yüzeylerin alkillenmesi sonucunda tutunan *E. coli* sayısında log 1 mertebesinde bir azalma meydana gelmiş olup bu azalma istatistiksel olarak da anlamlıdır (p<0.05); ancak yüksek molekül ağırlığına sahip PEI ile tüm aşılama sürelerinde elde edilen yüzeylerin alkilleme sonucunda bakteriyel tutunma sayılarında anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir



Şekil 4.47. *E. coli*'ye karşı bakteriyel tutunma sonuçları.
Yüzeylerinde PEI aşılama ve alkilleme yapılmış tüm örnek grupları PU kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar içermektedir (* p<0.05). PU/HPEI(6)-PU/LPEI(6), $\#_1$; PU/HPEI(24)-PU/LPEI(24), $\#_2$; PU/HPEI(48)-PU/LPEI(48), $\#_3$; PU/LPEI(6)-PU/LPEI(6)R, $\dagger_1$; PU/LPEI(24)-PU/LPEI(24)R, $\dagger_2$; PU/LPEI(48)-PU/LPEI(48)R, $\dagger_3$ ikili örnek grupları anlamlı farklar içermektedir (p<0.05).

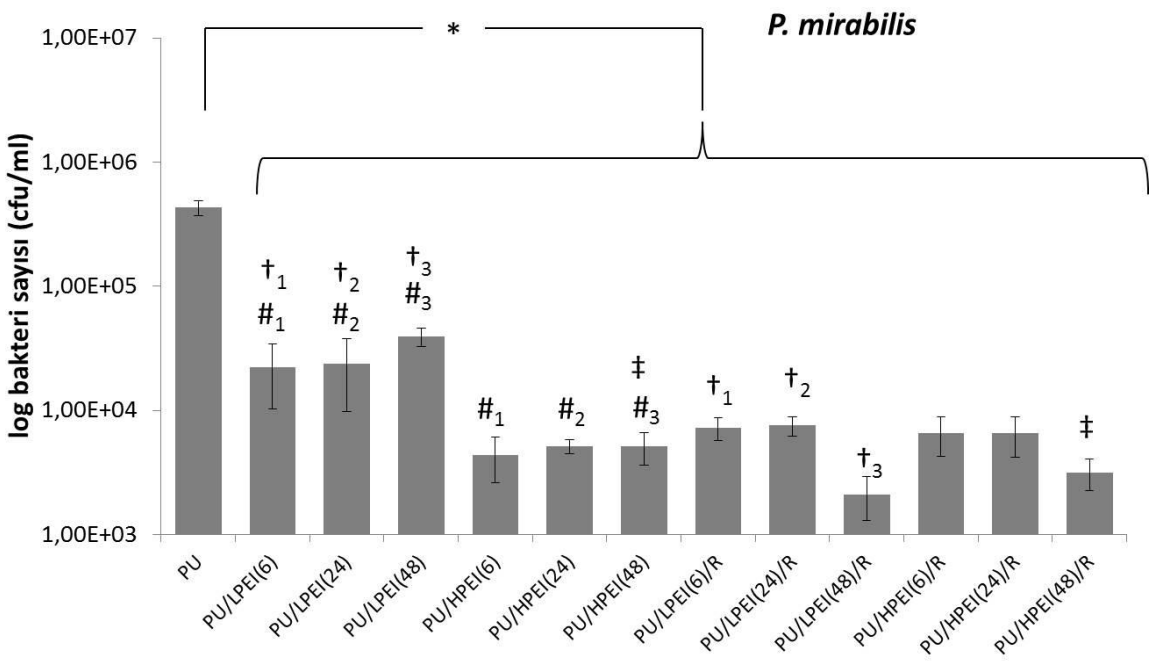
P. mirabilis ile yapılan bakteriyel tutunma çalışmalarında (Şekil 4.48.) da tüm yüzey modifikasyonlarında kontrol grubuna göre log 1 ve log 2 mertebesinde istatistiksel olarak anlamlı azalmalar elde edilmiştir (p<0.05). Düşük molekül ağırlığındaki PEI aşılama ile yüzeyleri değiştirilmiş gruplardaki (PU/LPEI(6), PU/LPEI(24) vePU/LPEI(48)) azalmalar *E. coli* çalışmalarında olduğu gibi log 1; diğer yüzeylerdeki azalmalar ise log 2 mertebesinde gerçekleşmiştir.

Düşük molekül ağırlığı ve yüksek molekül ağırlığına sahip PEI ile yapılan modifikasyonlarda PEI polimerinin aşılanma süreleri molekül ağırlıkları sabit tutulan gruplarda (PU/LPEI(6), PU/LPEI(24), PU/LPEI(48) ve PU/HPEI(6), PU/HPEI(24), PU/HPEI(48)) istatistiksel olarak incelenmiş ve aşılanma süresinin *P. mirabilis* tutunmasında da anlamlı bir artma veya azalma meydana getirmediği görülmüştür (p<0.05). Artan PEI aşılama süresinin yüzeyin *E. coli* testlerinde

olduğu gibi *P. mirabilis* bakterisine karşı tutunma direncine herhangi bir etkisi bulunmamıştır.

Artan PEI zincir uzunluğunun *P. mirabilis* tutunmasına etkisi düşük ve yüksek molekül ağırlıklarına sahip grupların karşılaştırılması aşılama süreleri sabit tutulan gruplarda (PU/LPEI(6) ile PU/HPEI(6); PU/LPEI(24) ile PU/HPEI(24); PU/LPEI(48) ile PU/HPEI(48))istatistiksel olarak incelenmiştir ve tüm aşılama sürelerinde zincir uzunluğundaki artış ile *P. mirabilis* tutunmasında anlamlı bir azalma elde edildiği gözlemlenmiştir ($p<0.05$).

Yüzeye aşılanan PEI polimerine alkillenme işleminin etkisi de molekül ağırlığı ve aşılanma süreleri sabit tutularak (PU/LPEI(6) ile PU/LPEI(6)R; PU/LPEI(24) ile PU/LPEI(24)R; PU/LPEI(48) ile PU/LPEI(48)R; PU/HPEI(6) ile PU/HPEI(6)R; PU/HPEI(24) ile PU/HPEI(24)R; PU/HPEI(48) ile PU/HPEI(48)R) istatistiksel olarak incelenmiştir. Düşük molekül ağırlığına sahip PEI ile tüm aşılama sürelerinde elde edilen yüzeylerin alkillenmesi sonucunda tutunan *P. mirabilis* sayısında log 1 mertebesinde bir azalma meydana gelmiş olup bu azalma istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p<0.05$). Bu anlamlı istatistiksel azalma yüksek molekül ağırlığına sahip PEI ile aşılama sürelerinde ise sadece 48 saatlik aşılama süresini izleyen alkilleme sonucu elde edilen örnek çiftinde gözlemlenmiştir.



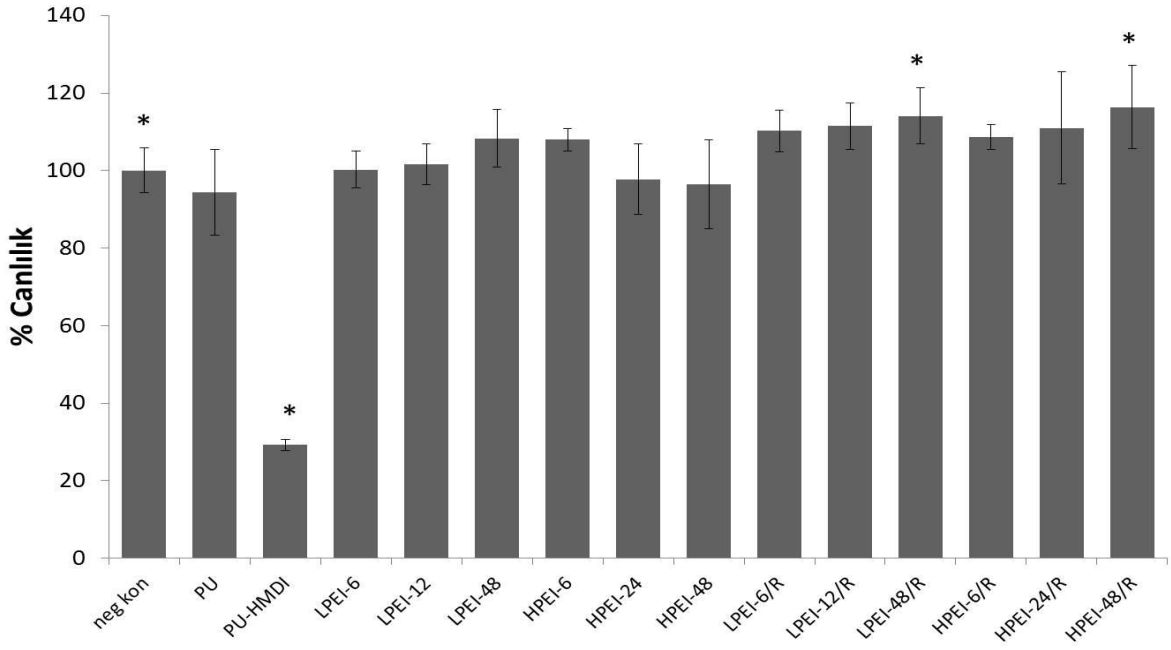
Şekil 4.48. *P. mirabilis*'e karşı bakteriyel tutunma test sonuçları.

Yüzeylerinde PEI aşılama ve alkilleme yapılmış tüm örnek grupları PU kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar içermektedir (* p<0.05). PU/LPEI(6)-PU/HPEI(6), $\#_1$; PU/LPEI(24)-PU/HPEI(24), $\#_2$; PU/LPEI(48)-PU/HPEI(48), $\#_3$; PU/LPEI(6)-PU/LPEI(6)R, $\dagger_1$; PU/LPEI(24)-PU/LPEI(24)R, $\dagger_2$; PU/LPEI(48)-PU/LPEI(48)R, $\dagger_3$ ikili örnek grupları anlamlı farklar içermektedir (p<0.05). PU/HPEI(48)-PU/HPEI(48)R, ‡ grupları arası anlamlı fark gözlenmiştir (p<0.05).

4.3. PEI Aşılanmış Poliüretan Stent Yüzeylerin Sitotoksisitesi

MTT testi öncesinde kalitatif olarak incelenen hücre kuyucuklarında PU* hariç tüm örnek gruplarına ait hücrelerin kontrol grubu ile aynı yoğunlukta üremiş, iyi yayılım göstermiş ve yüzeyi kaplamış oldukları ve kuyucuklarda nadiren lizize uğramış hücre parçacıkları gözlemlenmiştir (Şekil 4.49.). PU* grubuna ait olan tüm test kuyucuklarında ise yüzeydeki hücre morfolojisinin çoğunlukla küresel olduğu, besiyerinde lizize uğramış hücre fragmentlerinin bulunduğu ve yüzeydeki proliferasyonun kontrol grubuna göre yarıdan daha az olduğu görümüştür.

ISO 10993-5 "Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi – Bölüm 5: *in vitro* sitotoksisite testleri " standartının "Endirekt MTT sitotoksisite testi" prosedürüne uygun olarak gerçekleştirilen prosedür neticesinde elde edilen sonuçlar şekil 4.56.'da grafik haline getirilmiştir. Buna göre kalitatif gözlemler ile paralel olarak PU* dışındaki tüm örnek gruplarında bir sitotoksik etki gözlenmemiş olup sonuçlar standardın "sitotoksik etki yok" yüzde dilimleri içinde çıkmıştır. PU* örnek grubunda ise sahip olduğu izosiyanat grupları nedeniyle negatif kontrole göre %71 oranında hücre canlılığı azalmış ve yine standartın "ciddi sitotoksik etki" yüzde dilimine ait bir sonuç çıktısı elde edilmiştir.



Şekil 4.49. Modifiye edilmiş poliüretan yüzeylerin sitotoksisitelerinin karşılaştırılması. * anlamlı farkı ifade etmektedir ($p<0.05$).

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Sunulan tez çalışması kapsamında antibakteriyel bir karaktere sahip polietilenimin polimerini poliüretan stent yüzeyine gövdeye aşılama metodu ile kovalent olarak aşılanmış ve yapılan yüzey modifikasyon işleminin morfolojik, kimyasal, sitotoksik ve antibakteriyel karakterizasyonları işlem görmemiş poliüretan yüzeyler ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Çalışmadaki aşılama işleminin gerçekleşmesi için gerekli yüzey aktivasyonu, hekzametilendiizosiyanat molekülü ile poliüretan gövdenin üretan bağındaki azot atomu üzerinden yürüyen allofanat tipi bir bağlanma elde edilmiş, sonrasında ise açıkta kalan izosiyanat gruplarına PEI zincirleri aşılanmıştır.

Aşılamada düşük (Mw~2000 g/mol) ve yüksek(Mw~750000 g/mol) molekül ağırlıklarına sahip iki farklı PEI polimeri kullanılmıştır. PEI aşılama işlemlerinde süre olarak 6, 24 ve 48 saat zaman parametreleri denenmiştir.

Aşılanan PEI zincir üzerindeki polikatyonik karakteri arttırmak amacı ile PEI polimerindeki aminler (NH_2) üzerinden alkilleme işlemi gerçekleştirilmiş ve bromohekzanın kullanıldığı prosedürde yapıya alifatik hekzan zincirleri bağlanmıştır.

Taramalı elektron mikroskopu ile yapılan morfolojik karakterizasyon sonucunda işlem görmemiş poliüretan stent yüzeylerinin PEI aşılamasından sonra daha pürüzlü bir hal aldığı görülmüş ve bu pürüzlülük değerleri atomik kuvvet mikroskobi ile kantitatif olarak doğrulanmıştır. Taramalı elektron mikroskop görüntülerinde alkilleme işleminden sonra yüzey morfolojilerinde aşılama sonrası belirgin bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir.

Yüzeylerin Atomik Kuvvet Mikroskobu'nda elde edilen 3 boyutlu haritalarında pürüzlülük değerlerinin düşük molekül ağırlığına sahip PEI aşılamasından sonra işlem görmemiş yüzeylere göre ilk 6 ve 24 saatte sırasıyla yaklaşık olarak dört ve beş kat arttığı; ancak 48. saatte alifatik zincirlerin agregasyonu sonucu olduğu düşünülen bir sonuç nedeniyle azalarak 1.5 kat seviyesine indiği gözlemlenirken yüksek molekül ağırlığına sahip PEI aşılaması ile elde edilen yüzeylerde

pürüzlülükteki artış trendinin yine 6 ve 24 saatlerde bu kez 3 kat dolayında arttığı, 48 saat sonunda ise işlem görmemiş poliüretan yüzey pürüzlülüğüne yakın değerlerde bulunduğu hesaplanmıştır. 6 ve 24 saatlik PEI yüzeylerdeki pürüzlülük değerlerinin (her iki molekül ağırlığında da) alkilleme işlemi sonrasında %30 - %60 dolayında düşüş gösterdiği; fakat 48 saatlik aşılama sonrası gerçekleştirilen alkillemenin yüzey pürüzlülüğünü değiştirmediği bulunmuştur. Değişik uzunluktaki fırça tipi zincirlerin biyolojik ortamda konformasyon ve mobilitelerinin farklı olabileceği için Atomik Kuvvet Mikroskopu ile elde edilen yüzey topografyasının uygun bir sıvı çevrede gerçekleştirilecek ek deneyler ile daha doğru sonuçlar elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.

Yüzeylere bağlanan izosiyanat, amin gibi fonksiyonel gruplarının varlıkları FTIR spektrumlarından elde edilen piklerde görülmüş ve her basamaktaki işlemler X-ışınları fotoelektron spektroskopisi spektrumları ile doğrulanarak kimyasal karakterizasyonlar tamamlanmıştır.

Aşılama ve alkilleme ile elde edilen yüzeylerin canlı hücrelere bir sitotoksik etkisinin olup olmadığı ISO 10993-5 standartına göre incelenmiş ve sonuç olarak yapılan yüzey modifikasyonlarının herhangi bir sitotoksik etkisinin bulunmadığı görülmüştür. Yüzey aktivasyonunda kullanılan HMDI takılı yüzeylerin fare bağ doku fibroblast hücrelerine (L 929, ATCC) yaptığı %70 seviyesindeki toksik etkinin diğer basamaklarda görülmemesi sonucunda aşılama işleminin tam verimle gerçekleştiğine dair dolaylı bir çıktı elde edilmiştir.

Bakteriyel tutunma testleri sonucunda işlem gören tüm yüzeylerde hem *E. coli* hem de *P. mirabilis* ile yapılan testlerde tüm yüzey modifikasyonlarında işlem görmemiş kontrol grubuna göre log 1 ve log 2 mertebesinde istatistiksel olarak anlamlı azalmalar elde edilmiştir ($p<0.05$).

Düşük molekül ağırlığına sahip PEI aşılanmış yüzeyler *E. coli* bakteri tutunmasına kontrol grubuna göre %89 daha fazla direnç gösterirken yüksek molekül ağırlığına sahip PEI aşılanmış yüzeylerin direncindeki artış %99 olarak hesaplanmıştır.

Düşük molekül ağırlığına sahip PEI aşılanmış yüzeyler *P. mirabilis* bakteri tutunmasına kontrol grubuna göre %95 daha fazla direnç gösterirken yüksek molekül ağırlığına sahip PEI aşılanmış yüzeylerin direncindeki artış yine %99 olarak hesaplanmıştır.

PEI aşılama süresinin bakteri tutunmasına istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin bulunmadığı görülmüştür.

Düşük molekül ağırlığına sahip PEI aşılanmış yüzeylerin alkilleme işlemi sonrası iki tip bakteriye karşı tutunma dirençlerinde anlamlı bir azalma görülmüş ve yüzeyin polikatyonik özelliğinin artması sonucu daha antibakteriyel bir karakter kazandıkları gözlenmiştir; ancak bu etkinin yüksek molekül ağırlığa sahip PEI aşılanmış yüzeylerin alkillenmesi ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı bulunmuştur.

Tez çalışmaları sonucunda PEI'nin gövdeye aşılama (grafting onto) tipi kovalent bağlanması ile yüzeyde herhangi bir bakterisidal ajan kullanmaksızın çevre dokulara sitotoksik etki göstermeyen bir antibakteriyel yüzey karakteri elde edilmiştir ve antibakteriyel karakterin artan zincir uzunluğu ve polikatyonik yük ile artış gösterdiği bulunmuştur.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Advincula R., Zhou Q., Park M., Wang S., Mays J., Sakellariu G., Pispas S. and Hadjichristidis N., 2002, Polymer brushes by living anionic surface initiated polymerization on flat silicon (SiOx) and gold surfaces: homopolymers and block copolymers, Langmuir, 18, 8672-8684.

Al-Aown A., Kyriazis I. et al., 2010, Ureteral stents: new ideas, new designs, Therapeutic Advances in Urology, 2(2), 85.

An Y.H., Friedman R.J., 1998, Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces, J. Biomed Mater. Res., 43, 338-348.

Angell A. and Resnick M., 1989, Surface interaction between glycosaminoglycans and calcium oxalate, The Journal of urology, 141(5), 1255-1258.

Appelgren P., Ransjo U. et al., 1996, Surface heparinization of central venous catheters reduces microbial colonization in vitro and in vivo: results from a prospective, randomized trial, Critical care medicine, 24(9), 1482.

Beiko D.T., Knudsen B.E., et al., 2003, Advances in ureteral stent design, Journal of Endourology, 17(4), 195-199.

Ben-Meir D., Golan S. et al., 2009, Characteristics and clinical significance of bacterial colonization of ureteral double-J stents in children, Journal of Pediatric Urology, 5(5), 355-358.

Beyth N., Yudovin-Farber I. et al., 2006, Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against Streptococcus mutans, Biomaterials, 27(21), 3995-4002.

Boyes S.G., Granville A.M., Baum M., Akgün B., Mirous B.K. and Brittain W.J., 2004, Polymer brushes-surface immobilized polymers, Surface Science, 570, 1.

Boyes S.G., Brittain J.W. and Foster M.D., 2003, Syntheesis and characterization and properties of poyelectrolyte block copolymer brushes prepared by Atom Transfer Radical Polymerization and their use in the synthesis of metal nanopaticles, Macromolecules, 36, 9539-9548.

Brannon-Peppas L., 1997, Polymers in controlled drug delivery, Medical Plastic and Biomaterials, 4, 34-45.

Brehmer B., and Madsen P., 1972, Route and prophylaxis of ascending bladder infection in male patients with indwelling catheters, The Journal of urology, 108(5), 719.

Cadieux P. A., Chew B. H. et al., 2009, Use of triclosan-eluting ureteral stents in patients with long-term stents, Journal of Endourology, 23(7), 1187-1194.

Cauda, F., Cauda V. et al., 2008, Heparin coating on ureteral double J stents prevents encrustations: an in vivo case study, Journal of Endourology, 22(3), 465-472.

Choong S., Wood S. et al., 2000, A model to quantify encrustation on ureteric stents, urethral catheters and polymers intended for urological use, BJU international, 86(4), 414-421.

Christensen G., Baddour L. et al., 1989, Microbial and foreign body factors in the pathogenesis of medical device infections, Infections associated with indwelling medical devices, 27-59.

Chu A.J., Beydoun S. et al., 2003, Novel anticoagulant polyethylenimine: Inhibition of thrombin-catalyzed fibrin formation, Archives of biochemistry and biophysics, 415(1), 101-108.

Cooksey D. A., 1993, Copper uptake and resistance in bacteria." Molecular microbiology, 7(1), 1-5.

Cormio L., La Forgia P. et al., 2000, Bacterial adhesion to urethral catheters: role of coating materials and immersion in antibiotic solution, European urology, 40(3), 354-359.

Costerton J. W., Cheng K. et al., 1987, Bacterial biofilms in nature and disease, Annual Reviews in Microbiology, 41(1), 435-464.

Desgrandchamps F., Moulinier F., et al., 1997, An in vitro comparison of urease induced encrustation of JJ stents in human urine, British journal of urology, 79(1), 24-27.

Edin-Liljegren A., Grenabo L. et al., 1994, Long-term studies of urease-induced crystallization in human urine, The Journal of urology, 152(1), 208-212.

Elves A. and Feneley R., 1997, Long term urethral catheterization and the urine-biomaterial interface, British journal of urology, 80(1), 1-5

Fortune J.A., Novobrantseva T.I. et al., 2011, Highly Effective Gene Transfection In Vivo by Alkylated Polyethylenimine, Journal of Drug Delivery, 2011.

Goddard J. M. and Hotchkiss J., 2007, Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds, Progress in polymer science, 32(7), 698-725.

Granville A.M., Boyes G.S., Akgün B., Foster D.M. and Brittain, J.W., 2004, Synhesis and characterization of stimuli-reponsive semifluocinated polymer brushes prepared by Atom transfer radical polymerization, Macromolecules, 37, 2790-2796.

Helmus M.N., 1995, Opportunities for biomaterials, Decision Resource Report, 2, 1-11.

Hess A., Schmitz W. et al., 1994, Experimentelle Untersuchungen zur Inkrustationsneigung und Drainagekapazität von Silikon-und silikonierten Latexkathetern, Urologe [B], 34, 370-374.

Hildebrandt P., Sayyad M. et al., 2001, Prevention of surface encrustation of urological implants by coating with inhibitors, Biomaterials, 22(5), 503-507.

Hofmann R. and Hartung R., 1989, Ureteral stents--materials and new forms, World Journal of Urology, 7(3), 154-157.

Hu D.Z., and Zhu X., 2005, Brush type amphiphilic polystryne-gpoly(z(dimethylamino)ethylmetacrylate)) copolimers from ATRP and their self assembly in selective solvents, Polymer, 46, 7563-7571.

Hullin T., 2005, Polymer brushes for molecular transport materials science and engineering, Doktora Tezi, University of Illinois at Urbana-Champaign, ABD.

Hyde J.A., Darouiche R.O., Costerson J.W:, 1998, Strategies for prophylaxis against prosthetic valve endocaditis, 17, 316-326.

Jansen B., Peters G., 1993, Foreign body associated infecton, J. Antimicrob. Chemother., 32, 69-75.

Jayachandran K. N. and Chatterji P.R., 2000, Synthesis of dense brush polymers with cleavable grafts, European Polymer Journal, 36, 743-749.

Jeon O., Yang H. S., et al., 2008, Heparin-conjugated polyethylenimine for gene delivery, Journal of Controlled Release, 132(3), 236-242.

John T., Rajpurkar A. et al., 2007, Antibiotic pretreatment of hydrogel ureteral stent, Journal of Endourology, 21(10), 1211-1216.

Kébir N., Campistron I. et al., 2007, Use of telechelic cis-1, 4-polyisoprene cationomers in the synthesis of antibacterial ionic polyurethanes and copolyurethanes bearing ammonium groups, Biomaterials, 28(29), 4200-4208.

Kizhakkedathu J., Kumar K.R., Goodman D. and Brooks D.E., 2004, Synthesis and characterization of well-defined hydrophilic block copolymer brushes by aqueous ATRP, Polymer, 45(22), 7471-7481.

Koch A., 1990, Diffusion: The crucial process in many aspects of the biology of bacteria, Advances in microbial ecology, 11, 37-70.

Lange D., Elwood C. N. et al., 2009, Uropathogen interaction with the surface of urological stents using different surface properties, The Journal of urology, 182(3), 1194-1200.

Laube N., Kleinen L. et al., 2007, Diamond-Like Carbon Coatings on Ureteral Stents--A New Strategy for Decreasing the Formation of Crystalline Bacterial Biofilms?, The Journal of urology, 177(5), 1923-1927.

Lawrence E. and Turner I., 2005, Materials for urinary catheters: a review of their history and development in the UK, Medical engineering & physics, 27(6), 443-453.

Lee H. and Neville K., 1971, Handbook of biomedical plastics.

Liedberg H. and Lundeberg T., 1990, Silver Alloy Coated Catheters Reduce Catheter associated Bacteriuria, British journal of urology, 65(4), 379-381.

Lin J., Qiu S. et al., 2002, Bactericidal properties of flat surfaces and nanoparticles derivatized with alkylated polyethylenimines, Biotechnology progress, 18(5), 1082-1086.

Liu Y., Klep V., Zydrko B. and Luzinov I., 2004, Polymer grafting via ATRP initiated from macroinitiator sythesized on surface, Lengmuir, 20, 6710-6718.

Luo J., Deng Y. et al., 2010, Antimicrobial Activity and Biocompatibility of Polyurethane--Iodine Complexes, Journal of bioactive and compatible polymers 25(2), 185.

McCubbin P., Forbes E. et al., 2006, Covalent attachment of quaternary ammonium compounds to a polyethylene surface via a hydrolyzable ester linkage: Basis for a controlled release system of antiseptics from an inert surface, Journal of applied polymer science, 100(1), 538-545.

Milovi N.M., Wang J. et al., 2005, Immobilized N alkylated polyethylenimine avidly kills bacteria by rupturing cell membranes with no resistance developed, Biotechnology and bioengineering, 90(6), 715-722.

Milroy E. and Chapple C., 1993, The UroLume stent in the management of benign prostatic hyperplasia, The Journal of urology, 150(5), 1630-1635.

Mori H. and Müller A.H.E., 2003, New polymeric architectures with (meth)acrylic acid secments, Prog. Polym. Sci., 28, 1403-1439.

Morris N. and Stickler D., 1998, Encrustation of indwelling urethral catheters by Proteus mirabilis biofilms growing in human urine, Journal of Hospital Infection 39(3), 227-234.

Nakagawa N., Yashiro N. et al., 1994, Hydrogel-coated glide catheter: experimental studies and initial clinical experience, American Journal of Roentgenology, 163(5), 1227.

Neugebauer D., Zhang Y., Pakula T. and Matyjaszewski K., 2003, Heterografted PEO-PnBA brush copolymers, Polymer, 44, 6863-6871.

Park K.D., Han D. Keun, Kim Y., Lee E.H., Suh H. and Choi K.S., 1998, Bacterial adhesion on PEG modified polyurethane surfaces, Biomaterials(19), 851-859.

Pearle M. S. and Roehrborn C. G., 1997, Antimicrobial prophylaxis prior to shock wave lithotripsy in patients with sterile urine before treatment: a meta-analysis and cost-effectiveness analysis, Urology, 49(5), 679-686.

Pomfret I., 2000, Catheter care in the community, Nursing standard (Royal College of Nursing (Great Britain), 1987, 14(27), 46.

Pye A.N.D., Dawson M.P., Murray C.A., Smith A.J., 2009, A review of dental implants and infection, Journal of Hospital Infection, 72, 104-110.

Qin S., Qin D., Ford W.T., Resasco D. and Herrera J.E., 2004, Polymer brushes on, saingle-walled carbon nanotubes by atom transfer radical polymerization of nbutyl methacrylate, JACS, 126, 170-176.

Razatos A., Ong Y.L., Sharma M.M., et al., 1998, Molecular determinants of bacterial adhesion monitored by atomic force microscopy, Proc. Natl. Acad. Science, 95, 11059-11064.

Reid G., 1998, Bacterial colonization of prosthetic devices and measures to prevent infection, New Horizons, 6, 58-63.

Reid G. and Busscher H., 1998, Microbial biofilms and urinary tract infections, Urinary Tract Infections, (Eds. Brumfitt, W, Hamilton-Miller, JMT and Bailey, RR), Chapman & Hall, London, 111-116.

Riedl C. R., Witkowski M. et al., 2002, Heparin coating reduces encrustation of ureteral stents: a preliminary report, International journal of antimicrobial agents, 19(6), 507-510.

Kidoaki S., Nakayama O.Y, Matsuda T, 2001, Measuerment of Interaction Forces Between Proteins and Iniferter-Based Graft-Polymerized Surfaces with an Atomic Force Microscope in an Aqueous Media, Langmuir, 17, 2402–2407.

Saint S., Elmore J. G. et al., 1998, The efficacy of silver alloy-coated urinary catheters in preventing urinary tract infection: a meta-analysis, The American journal of medicine, 105(3), 236-241.

Santer S. and Rühe J., 2004, Motion of nano-objects on polymer brushes, Polymer, 45, 8279-8297.

Santin M., Motta A. et al., 1999, Effect of the urine conditioning film on ureteral stent encrustation and characterization of its protein composition, Biomaterials 20(13), 1245-1251.

Schierholz J., Beuth J. et al., 1999, Adherent bacteria and activity of antibiotics, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 43(1), 158.

Schierholz J. M., Yucel N. et al., 2002, Antiinfective and encrustation-inhibiting materials--myth and facts, International journal of antimicrobial agents, 19(6), 511-516.

Senaratne W., Andruzzi L. and OberK .C., 2005, Selfasembled monolayers and polymer brushes in biotechnology: Current application and future perspectives, Biomacromolecules, 6, 2427-2448.

Shen Y., Deng J., et al., 2009, Synthesis and Characterization of a Sterically Stabilized Polyelectrolyte Using Isophorone Diisocyanate as the Coupling Reagent, Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 20(9), 1217-1233.

Shinoda H., Miller P.J. and Matyjaszewski K., 2001, İmproving the structural control of graft copolymers by combining ATRP with the macromononmer metod, Macromolecules, 34, 3186-3194.

Yamamoto S., Yoshinobu T., Mutsuo M., and Takeshi F., 2000, Surface Interaction Forces of Well-Defined, High-Density Polymer Brushes Studied by Atomic Force Microscopy. 2. Effect of Graft Density, Macromolecules, 33(15), 5608–5612.

Silver S., Phung L.T., et al., 2006, Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 33(7), 627-634.

Sivakumar P., Iyer G. et al.,2010, 3'-Hydroxy-4-methoxychalcone as a potential antibacterial coating on polymeric biomaterials, Applied Surface Science 256(20), 6018-6024.

Squires B. and Ghilti D., 1995, Massive bladder calculus as a complication of a titanium prostatic stent, British journal of urology, 75(2), 252-253.

Tan K. and Kay Obendorf S., 2007, Development of an antimicrobial microporous polyurethane membrane, Journal of Membrane Science, 289, 199-209.

Tenke P., Riedl C.R. et al., 2004, Bacterial biofilm formation on urologic devices and heparin coating as preventive strategy, International journal of antimicrobial agents, 23, 67-74.

Thibon P., Le Coutour X. et al., 2000, Randomized multi-centre trial of the effects of a catheter coated with hydrogel and silver salts on the incidence of hospital-acquired urinary tract infections, Journal of Hospital Infection, 45(2), 117-124.

Tiller J.C., Liao C.J. et al., 2001, Designing surfaces that kill bacteria on contact, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98(11), 5981.

Tunney M. M., Keane P. F. et al., 1997, Assessment of urinary tract biomaterial encrustation using a modified Robbins device continuous flow model, Journal of biomedical materials research, 38(2), 87-93.

Tunney M.M. and Gorman K. P., 1996, Bacterial adherence to ureteral stent biomaterials, Eur J Pharmaceut Sci, 4, 167-177.

Venkatesan N., Shroff S., et al, 2010, Polymers as ureteral stents, Journal of Endourology, 24(2), 191-198.

Von Eiff C., Kohnen W., Becker K., 2005, Infections Associated with Medical Devices, Drugs, 65(2), 179-214.

Wang Y.P., Pei X.W., He X.Y. and Lei Z.Q., 2005, Synthesis and characterization of surface-initiated polymer brush prepared by revers atom transfer radical polymerization, European Polymer Journal, 41, 737-741.

Waters S., Heaton K., et al., 2008, Ureteric stents: investigating flow and encrustation, Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine, 222(4), 551.

Winson L., 1997, Catheterization: a need for improved patient management, British journal of nursing (Mark Allen Publishing), 6(21), 1229.

Wong S.Y., Li Q. et al., 2010, Bactericidal and virucidal ultrathin films assembled layer by layer from polycationic N-alkylated polyethylenimines and polyanions, Biomaterials, 31(14), 4079-4087.

Yoshimura K., Yoshioka T. et al., 1997, Glycosaminoglycans in crystal surface binding substances and their role in calcium oxalate crystal growt, British journal of urology, 80(1), 64-68.

Young C.D., Wu J. R. et al., 1998, High-strength, ultra-thin and fiber-reinforced pHEMA artificial skin, Biomaterials, 19(19), 1745-1752.

Zhang S., Kucharski C. et al., 2010, Polyethylenimine-PEG coated albumin nanoparticles for BMP-2 delivery, Biomaterials, 31(5), 952-963.

Zhang S., Wright J.E.I. et al., 2007, The interaction of cationic polymers and their bisphosphonate derivatives with hydroxyapatite, Macromolecular bioscience, 7(5), 656-670.

Zhao B. and Brittain W.J., 2000, Polymer brushes: surface-immobilized macromolecules, Progress in polymer science, 25(5), 677-710.

Zhu Y., Hu J. et al., 2009, Effect of soft segment crystallization and hard segment physical crosslink on shape memory function in antibacterial segmented polyurethane ionomers, Acta Biomaterialia 5(9), 3346-3357.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Merve GÜLTEKİNOĞLU

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Yılı : 1986

Elektronik Posta : merve.g@hacettepe.edu.tr

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : Özel Atılım Lisesi (1998-2004)

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü (2004-2009)

Yabancı Dil : İngilizce, Fransızca

İş Tecrübesi :

2012- : Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı