

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAN UYUMLU POLİSÜLFON MEMBRAN GELİŞTİRİLMESİ
VE ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

KEVSER ÖZTÜRK YAVUZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

GEBZE
2019

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KAN UYUMLU POLİSÜLFON
MEMBRAN GELİŞTİRİLMESİ VE
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

KEVSER ÖZTÜRK YAVUZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. ERHAN DEMİRBAŞ
II. DANIŞMAN
DOÇ. DR. SERDAR SEZER

GEBZE
2019

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**DEVELOPMENT OF BLOOD COMPATIBLE
POLYSULPHONE MEMBRANE AND
EVALUATION OF EFFECTIVENESS**

KEVSER ÖZTÜRK YAVUZ
A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

THESIS SUPERVISOR
PROF. DR. ERHAN DEMİRBAŞ
II. THESIS SUPERVISOR
ASSOC. PROF. DR. SERDAR SEZER

GEBZE

2019

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03/07/2019 tarih ve 2019/30 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 14/10/2019 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Kevser ÖZTÜRK YAVUZ'un tez çalışması KİMYA Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE
(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. Erhan DEMİRBAŞ

ÜYE : Prof. Dr. Ümit DEMİR

ÜYE : Doç. Dr. Seyfullah MADAKBAŞ

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

ÖZET

Günümüzde kan uyumlu malzemeler biyomedikal alanın birçok uygulamasında kullanılmakla beraber önemi gittikçe artmaktadır. Kan uyumlu malzemeler hasta sağlığı açısından da oldukça büyük önem taşımaktadırlar. Bu malzemelerin geliştirilmesi ile biyomedikal uygulamalardaki eksiklikleri giderecektir.

Biyomedikal alanda kullanılmakta olan kan uyumlu malzemeler arasında önemli bir yere sahip olan membranlar bulunmaktadır. Kan uyumlu membranlar özellikle hemodiyaliz tedavilerinde önemli bir ekipman olarak hali hazırda kullanılmaktadırlar. Hemodiyaliz membranları sentetik ve doğal polimerlerden elde edilmektedirler. Günümüzde ise maliyet ve performans özellikleri göz önüne alındığında sentetik membranlar daha çok tercih edilmektedir. Sentetik membranların yapımında birçok polimer kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında ise hem toksitesinin düşüklüğü hem de fiziksel ve kimyasal özelliklerinin iyi olduğu Polisülfon kullanılmaktadır. Fakat Polisülfon'un biyomedikal alanda kullanımını sınırlayan etkenlerin, yapılması planlanan modifiyeler ile ortadan kaldırılması hedeflenmiştir. Ayrıca sonuçların etkinliğinin değerlendirilmesiyle literatüre daha kolay ve basit bir metot olduğu düşünülen immobilizasyon yönteminin katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Böylelikle Polisülfon membranın, kan uyumluluğu heparin benzeri bir polisakkarit olan fukoidanın immobilizasyonu yöntemiyle arttırılarak kan ile temas eden malzemelerde kullanım kolaylığı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Polisülfon, Fukoidan, Kan Uyumluluğu.

SUMMARY

Nowadays, blood-compatible materials are used in many applications of the biomedical field and are becoming increasingly important. Blood compatible materials are also very important for patient health. With the development of these materials will eliminate the shortcomings in biomedical applications.

Among the blood compatible materials used in the biomedical applications are membranes which have an important place. Blood-compatible membranes are already being used as an important equipment, especially in hemodialysis treatments. And hemodialysis membranes are made from synthetic and natural polymers. Now, synthetic membranes are preferred more considering the cost and performance characteristics. Many polymers are used in the production of synthetic membranes. In this thesis Polysulfone is preferred because of its low toxicity and good physical/chemical properties. However, it is aimed to eliminate the factors limiting the use of polysulfone in the biomedical field with the planned modifications. In addition, it is thought that immobilization method, which is thought to be an easier and simpler method, will contribute to the literature by evaluating the effectiveness of the results. Thus, the compatibility of the polysulfone membrane with the method of immobilization of fucoidan, a heparin-like polysaccharide, will provide ease of use in blood contact materials.

Key Words: Polysulfone, Fucoidan, Hemocompatibility.

TEŞEKKÜR

Başta, yüksek lisans eğitimimde ve akademik hayatımda desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer danışmanım Prof. Dr. Erhan DEMİRBAŞ' a,

Bütün çalışmam boyunca yanımda olan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve bilgisi ile bu çalışmanın oluşmasının yolunu açan sayın hocalarım Doç. Dr. Serdar SEZER ve Dr. Ümran AYDEMİR SEZER' e,

Halen çalışmanı olduğum TÜBİTAK MAM Kimyasal Teknoloji Enstitüsü'ne tez çalışmama katkılarından dolayı,

Göstermiş oldukları her türlü destek ve yardımlarından dolayı değerli dostlarım Vildan ŞANKO, Zeynep KOÇER ve İsa ŞAHİN' e, ek olarak kan çalışmalarında bana destek olan Başak ARU' ya,

Varlıklarıyla bana güç veren, desteklerini hayatımın her alanında hissettiren, hayattaki en büyük şansım olan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime,

Her koşulda yanımda olan, desteğini ve sevgisini her daim hissettiren sevgili eşim Arif YAVUZ' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KANIN YAPISI	2
2.1. Plazma	2
2.2. Kan Hücreleri (Kanın Şekilli Elemanları)	2
3. KAN İLE UYUMLU MALZEMELER	6
3.1. Membranlar	7
3.1.1. Membran Çeşitleri	9
3.1.2. Membran Hazırlama Teknikleri	10
3.1.3. Membran Modülleri	12
3.1.4. Membran Prosesleri	16
3.1.5. Yüzey Modifikasyon Yöntemleri	17
3.2. Polisülfon	19
3.3. Heparin	26
3.4. Fukoidan	27
4. MATERYAL-METOT	30
4.1. Polisülfon'un Klorometilasyonu	30
4.2. İmmobilizasyon Yöntemi	31
4.3. Karakterizasyon	33
4.3.1. Kan Pıhtılaşma Süresi Ölçümü	34
4.3.2. Hemoliz Testi	34
4.3.3. Sitotoksosite çalışmaları	35

4.3.4. Protein adsorpsiyon deneyi	35
5. SONUÇLAR	36
5.1. Fukoidan Fucus Vesiculosus ve Heparin Çalışması Sonuçları	37
5.2. Fukoidan Laminaria Japonica Çalışma Sonuçları	49
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	62

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u> <u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
°C	: Santigrat Derece
g	: Gram
m	: Metre
L	: Litre
Hz	: Hertz
w	: Ağırlık
v	: Hacim
rpm	: Dakikada Devir Sayısı
Da	: Dalton
M	: Molarite
vWF	: von Willebrand Faktörü
CA, CN, CE	: Selülöz Esterler
PS	: Polisülfon
PES	: Polietersülfon
PAN	: Poliakrilonitril
PI	: Poliimid
PE	: Polietilen
PEI	: Polipropilendir
PTFE	: Politetrafloroetilen
PVDF	: Poliviniliden Florür
PVC	: Polivinilklorür
TIPS	: Termal Olarak İndüklenen Faz Ayrılması
FDA	: Federal İlaç İdaresi
IUPAC	: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
CMPS	: Klorometillenmiş Polisülfon
HEP	: Heparin

FF	: Fukoidan
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
DPBS	: Dulbecco'nun Fosfat Tamponlu Solüsyonu
UV	: Ultraviyole
FBS	: Fetal Sığır Serum�
RT	: Baęıl Toksisite
BSA	: Sığır Serum Albümini

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
3.1: Temel membran tiplerinin şematik diyagramı.	9
3.2: Plaka-çerçeve membran modülü.	14
3.3: Spiral Sargılı Membran Modülü.	15
3.4: Seramik malzemeden yapılmış çeşitli tiplerde tübüler membranlar.	15
3.5: İçi boşluklu fiber membran modülü.	16
3.6: Yüzey Modifikasyon Metodlarının Sınıflandırılması.	18
3.7: İmmobilizasyon yöntemlerinin sınıflandırılması.	19
3.8: Poli (p-fenilensülfon).	21
3.9: Ticari Polisülfonlar.	22
3.10: İki farklı Polisülfonasyon Metodu.	22
3.11: Zayıf Baz varlığında Polisülfon Sentezi.	23
3.12: Kuvvetli Baz varlığında Polisülfon Sentezi.	24
3.13: Udel Polisülfon tekrar eden kısım.	24
3.14: Heparin kimyasal yapısı.	27
3.15: Fukoidan temel kimyasal yapısı.	28
4.1: CMPS reaksiyon şeması.	31
4.2: Polisülfon için önerilen iki aşamalı prosedür şeması.	33
5.1: a) Polisülfon (PS), b) Klorometillenmiş Polisülfon (CMPS), ¹ H-NMR spekturumu.	37
5.2: a, b) Immobilize CMPS membranlarının renk değişimi, c) Yüzey Pürüzlülük Değerleri.	39
5.3: a, b) CMPS'in AFM görüntüleri, c) CMPS'in Raman haritalaması.	40
5.4: a, b) HEP7.4' ün AFM görüntüleri, c) HEP7.4' ün Raman haritalaması.	41
5.5: a, b) FF7.4' ün AFM görüntüleri, c) FF7.4' ün Raman haritalaması.	42
5.6: a, b) HEP10' un AFM görüntüleri, c) HEP10' un Raman haritalaması.	43
5.7: a, b) FF10' un AFM görüntüleri, c) FF10' un Raman haritalaması.	44

5.8:	a, b) HEP13' ün AFM görüntüleri, c) HEP13' ün Raman haritalaması.	45
5.9:	a, b) FF13' ün AFM görüntüleri, c) FF13' ün Raman haritalaması.	46
5.10:	a) Hemoliz oranı, b) İn vitro kanın pıhtılaşma zamanı, c) Membranların sitotoksitesi, d) Protein adsorpsiyon seviyesi, *, **, *** ; $p<0.05$ 'in anlamlı farkını göstermektedir.	48
5.11:	a) Membranlar üzerindeki kuru Metilen Mavisi damlaları, b) Kuru metilen Mavisi damla çapları grafiği.	50
5.12:	Toluidin Mavisi testi sonrası renk analiz sonuçları.	51
5.13:	İmmobilize membranların Toluidin Mavisi testi yapılmadan önce ölçülmüş renk analizi grafiği.	52
5.14:	Temas Açısı Ölçümü.	53
5.15:	Temas Açısı analiz ölçüm sonuçları grafiği.	53
5.16:	Tam Kan Pıhtılaşma Süresi.	54

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
3.1: Ticari olarak kullanılan bazı Polisülfon esaslı hemodiyalizörler.	20
3.2: Bazı Fukoidanların Kimyasal Bileşimi.	28
4.1: Fukoidan (Fucus Vesiculosus) ve Heparin immobilizasyonu için deneysel koşullar.	32
4.2: Fukoidan (Laminaria Japonica) immobilizasyonu için deneysel koşullar.	32
5.1: İmmobilize membranların elemental yüzey bileşimleri.	38

1. GİRİŞ

Kanla temas eden malzemelerin temel özelliklerinden biri olan kan uyumu, malzemenin uzun ve etkili kullanımı ve hasta sağlığı için son derece önemlidir. Kan uyumlu malzemelerin kullanım alanları oldukça geniştir. Kardiyovasküler sistem implantları (stentler, damar grafları, kalp kapakçıkları vb.), hemodiyaliz membranları gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Bu tip malzemelerin en çok kullanıldığı alanlardan biri de hemodiyaliz membranlarıdır. Kan uyumlu membranlar yalnızca kan ile uyumlu olmakla kalmayıp, aynı zamanda immünolojik reaksiyonları en aza indirmek için istenilen biyouyumluluk ve antifouling özelliklere de sahip olmalıdırlar. Polisülfon membranlar, klinikte en çok kullanılan hemodiyaliz membranlarıdır. Üstün mekanik mukavemeti, termal stabilitesi, toksit olmayışı ve kimyasal inertliği nedeniyle kan ile temas eden malzemelerde kullanılmaktadır. Ancak hidrofobik olması ve kısıtlı kan uyumluluğu kullanımını sınırlamaktadır. Bu sınırlamaları kaldırmak için, özellikle heparin benzeri kan uyumlu materyaller ile Polisülfon modifikasyonu bulunmaktadır. Heparinin pahalı ve hayvansal kaynaklı olması, metabolizmada mevcut olan enzimlerle heparinin yok olmasının yanı sıra hastalık bulaşma riskinin bulunması heparin ile modifikasyonun başlıca dezavantajlarıdır. Heparin kan uyumlu malzemelerin yapılmasında ve geliştirilmesinde antikoagülant olarak standart kabul edilmektedir. Fakat sınırlayıcı etkisinden dolayı antikoagülant etkisi bulunan ve heparin ile benzer yapıya sahip farklı etkili malzeme arayışı söz konusudur. Fukoidan bitki kaynaklı olup heparin benzeri bir yapıya sahiptir. Bu sebeple kan uyumlu malzemelerin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada heparin karşılaştırma yapılabilecek bir standart kabul edilerek ve membran yüzey modifikasyon işlemleri uygulanarak fukoidanın membran-kan uyumu etkileri araştırılacaktır. Literatürde membran yüzey modifikasyon yöntemleri oldukça fazladır. Fakat basit ve etkin yöntemler sınırlıdır. Dolayısıyla bu tez kapsamında önermekte olduğumuz yöntem Polisülfon membranları ile basit ve etkili bir şekilde fukoidan modifiye edilerek karakterize edilmiş, farklı reaksiyon parametrelerinin etkileri araştırılmıştır. Farklı parametrelerle üretilen modifiye membranlar hem modifiye edilmeyen membran hem de heparin ile modifiye edilmiş membranlarla karşılaştırılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

2. KANIN YAPISI

Canlı organizmada kan, oksijen taşıyıcısı, zararlı patojenlerin yok edilmesi ve hasarlı dokuların onarımı gibi çeşitli yaşam işlevlerinde önemli rol oynayan çeşitli kan bileşenlerini içeren karmaşık bir biyokimyasal sistemdir. Bu nedenle, bu çeşitli kan fonksiyonları herhangi bir tıbbi cihaz için çok önemlidir, çünkü bu cihazlar vücuda implante edildiğinde kan bileşenleri ile etkileşime girer. Bu tıbbi cihazlar kan bileşenleriyle uyumlu değilse, bazı reaksiyonlar meydana gelmektedir. Örneğin hemoliz adı verilen kırmızı kan hücrelerinin hasar görmesi sebebiyle dolaşım sisteminin vücut dokularına oksijen taşıma yeteneğini doğrudan azaltmaktadır [Kumar et al., 2006].

2.1. Plazma

Kanın temel bileşenleri, plazma ve kan hücreleridir. Kanın sıvı kısmını plazma oluşturmaktadır. Kan hacminin yaklaşık %55'ini plazma oluşturmaktadır. Kan içinde antikoagulan (kanın pıhtılaşmasına engel olan madde) bulunan özel bir tüpe alınıp santrifüj edildiğinde tüpün üst kısımda kalan sarı renkli sıvıya “plazma” denilmektedir. Plazma; su, organik maddeler (proteinler, karbonhidratlar, lipitler, hormonlar, antikorlar ve çeşitli enzimler) ve inorganik maddelerden oluşmaktadır [Web 1, 2019]. Plazmadaki organik maddelerin büyük oranını plazma proteinleri oluşturur. Plazma proteinleri globulinler (alfa, beta, gama globulinler), fibrinojen ve albumindir. Proteinler kan pH'ının düzenlenmesinde görev alan önemli bir tampon sistemidir. Plazmada bulunan inorganik maddelere Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , HCO_3^- , P^{3-} , Fe^{2+} , Mg^{2+} örnek verilebilir. İnorganik maddeler kanın ozmotik gücünün ve pH ının ayarlanmasından sorumludurlar.

2.2. Kan Hücreleri (Kanın Şekli Elemanları)

Kan hücreleri, kanın plazma dışında kalan kısmıdır. Kan hücreleri kan hacminin yaklaşık %45'ini oluşturmaktadır. Kan hücreleri, kırmızı kan hücreleri (eritrositler-alyuvarlar), beyaz kan hücreleri (lökositler-akyuvarlar) ve trombositler olmak üzere temelde 3 kısımda incelenebilir.

Eritrositler tüm kan hücrelerin %99' unu oluşturmaktadırlar. Eritrositler, hemoglobin taşımaktadırlar. Tüm kandaki hemoglobin oranı erkeklerde 16 gr/dl, kadınlarda 14 gr/dl'dir. Hemoglobin ise oksijeni bağlayarak kanda taşınmasını sağlamaktadır. Oksijen, yapıda bulunan demir'e bağlanarak taşınmaktadır. Yapısında bulunan demir sayesinde kırmızı rengini almaktadır. Ayrıca eritrositler kemik iliğinde üretilmektedirler. Eritrositler oldukça esnekler. Bu sayede çok küçük çaplı kılcal damarlardan geçebilmektedirler.

Lökositler tüm kan hücrelerin %1'ini oluşturmaktadırlar. Vücudun savunma sisteminin hareketli elemanlarıdır ve vücudun enfeksiyonlara karşı koymasında etkili rol oynamaktadırlar. Ayrıca organizmayı bakterilere, virüslere, parazitlere ve tümörlere karşı savunurlar. Yapılarında pigment bulunmadığından beyaz renklidirler. Lökositler vücuda girmiş bulunan yabancı maddeleri, mikroorganizmaları vb. fagositoz veya üretmiş oldukları antikorlarla veya duyarlı lenfositler aracılığıyla yok etmektedirler.

Trombositler ise kanın pıhtılaşmasından sorumlu kan hücreleridir. Trombositler, eritrositler ve lökositler gibi kemik iliğinde üretilmektedirler. Damar yaralanmalarında, kanamanın durmasında (hemostaz) ve pıhtı oluşmasında görev alan hücrelerdir.

- Hemostaz

Hemostaz, damar duvarında bir zedelenme olduğunda kan akımını engellemeden kanamanın durdurulması ve damar bütünlüğünün sağlanması için gereken fizyolojik sistemlerin bütünüdür. Hemostaz kanın pıhtılaşmasıyla akışkanlığı arasındaki hassas dengeyi korur. Damar hasarından birkaç saniye sonra hemostaz süreci başlar [Atalan, 2013]. Damarlarda bir hasar meydana geldiğinde üç olay peş peşe gerçekleşmektedir:

- i) Vazokonstriksiyon (vasküler faz)
- ii) Trombosit pıhtısının (tıkac) oluşumu (Trombosit fazı)
- iii) Fibrin oturmasıyla pıhtının sabit hale gelişi (Plazma fazı/ Sekonder hemostaz)

Damar kesildiğinde ilk meydana gelen olay vazokonstriksiyondur. Sonra delik bir trombosit kümesi (tıkacı) ile tıkanır. Buna primer hemostaz da denir. Trombosit tıkacı narindir ve geçicidir. Bu yüzden trombosit tıkacı, fibrin liflerinden oluşturulan

bir ağ ile sağlamlaştırılır. Böylece dakikalar içinde sağlam bir pıhtı (fibrin clot) oluşturulur. Buna sekonder hemostaz da denir. Bu pıhtı, yara (damar) iyileşinceye kadar kalır. Yara (damar) iyileşince, fibrin pıhtı eritilir. Pıhtının eritilmesi işlemine ise fibrinoliz denilmektedir.

- Vazokonstriksiyon (Damar Spazmı)

Damarın hasar aldıktan veya yırtıldıktan sonra kasılarak kan kaybını engellemeye çalışmasıdır. Damarda hasar gören bölgedeki kan akımını dolayısıyla kanamayı azaltarak koagülasyon (pıhtı) için gerekli hücreler ve kimyasal maddelerin birikimini sağlamaktadır.

- Trombosit Tıkaç Oluşumu

Damar hasarı sonrasında kanamayı durdurmak için hasarın bulunduğu bölgede vazokonstriksiyon meydana gelmektedir. Bu süre içinde trombositler, von Willebrand faktörü (vWF) aracılığı ile damar duvarında bulunan subendotel tabakasındaki tip-IV kollajene yapışarak bir köprü oluştururlar. Bu olaya trombosit adezyonu adı verilmektedir [Gezer S., 2012]. Endotel (kan ve lenf damarlarının iç yüzünü oluşturan doku) hücreleri tarafından salınan bazı maddeler, daha sonra trombositlerin küme oluşturmaya neden olur ve bu olaya da trombosit aggregasyonu denilmektedir [Gezer S., 2012]. Tüm bu öncül olaylar sonucunda, hasarlanan damar duvarında trombosit tıkaçı oluşmasına birincil hemostaz adı verilmektedir. Daha öncede belirtildiği gibi trombosit tıkaçı zayıf bir tıkaçtır. Bu sebeple tıkaçın daha sağlam hale getirilmesi için fibrin liflerinden oluşturulan fibrin pıhtısı ile sekonder hemotaz gerçekleştirilir. Böylece fibrin pıhtısı, fibroblastların zedelenen damar duvarını tamir etmeleri için bir iskele yapı oluşturmaktadır. Pıhtının olduğu bu aşamaya koagülasyon kaskadı da denilmektedir.

- Kanın Pıhtılaşma Mekanizma

Hemostazın üçüncü basamağı kan pıhtısının oluşumudur. Kan ve dokularda kan pıhtılaşmasını etkileyen 50'den fazla faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerden bazıları kanda pıhtılaşmayı hızlandırmaktadırlar ki bunlara prokoagülant denilmektedir. Ve bunlara pıhtılaşma faktörleri denilmektedir. Faktör adı olarak isimlendirilerek ve I den XIII e kadar numaralandırılmaktadırlar. Bazı faktörler ise pıhtılaşmayı önlemektedirler ki bunlara da antikoagülan denilmektedir [Guyton and Hall, 2006]. Pıhtılaşma mekanizması 3 ana başlık altında toplanmıştır:

- i) Damarın hasarlanması ya da istenmeyen pıhtı oluşumunda, kanda yer alan pıhtılaşma faktörlerinin görev aldığı bir dizi kimyasal reaksiyon kompleksi oluşmaktadır. Sonuç olarak aktive olan tüm maddeler (faktörler), protrombin aktivatörü denen bir kompleks oluşmasını sağlamaktadır.
- ii) Protrombin aktivatörü, protrombinin trombine dönüşümünü sağlamaktadır. Protrombin aktivatörü birbiri ile devamlı olarak etkileşimde olan iki yolla oluşmaktadır: (1) damar duvarı ve çevresindeki dokuların hasar görmesi ile başlayan ekstrinsek yol (2) kanın kendi içinde başlayan intrinsek yol.
- iii) Trombin bir enzim görevi görerek fibrinojeni fibrin iplikçiklerine dönüştürmektedir. Sonrasında ise fibrin iplikçikleri trombositleri, kan hücrelerini ve plazmayı da kendi içine alarak pıhtının oluşturulmasını sağlamaktadır [Guyton and Hall, 2006].

3. KAN İLE UYUMLU MALZEMELER

Günümüzde tıp alanında, çoğu implantasyon sırasında kalıcı veya geçici olarak kanla temas eden çok çeşitli biyomalzemeler kullanılmaktadır [Ekdahl et al., 2013]. Kan ile etkileşime girdiğinde herhangi bir olumsuz reaksiyon vermeyen kan uyumlu malzemeler, tıbbi cihazların çok geniş bir çeşitliliği için gereklidir. Kan uyumlu malzemelerin uygulama yelpazesi geniştir; kardiyovasküler sistem ve vücut dışı kan tedavileri implantları kapsamaktadır. Kardiyovasküler sistem implantları; sondalar, stentler, damar greftleri, kalp kapakçıkları, dolaşım destek cihazları vb. kapsamaktadır. Vücut dışı kan tedavi implantları ise kanın bazı bileşenlerinin ayrılması için kullanılan bir başka yöntem olan aferezde, kalp ve akciğer bypass, hemodiyalizde kullanılmaktadır [Xiaoli et al., 2014]. İmplant edilen malzemenin kan ile uyumluluğu olarak tanımlanan kan uyumluluğu, kan ve malzeme arasındaki yüzeyde kan pıhtılaşma sisteminin düşük aktivasyonunu sağlayabilen bir malzemenin varlığını gerektirmektedir [Nie et al., 2012]. Kan ile biyolojik olmayan materyaller veya hücreler veya hematolojik kökenli olmayan dokular arasındaki temas, kanın kaskad sistemlerinin (pıhtılaşma sistemlerinin) aktivasyonunu başlatır [Ekdahl et al., 2013]. Ayrıca zayıf kan uyumluluğuna sahip kan ile temas eden malzemeler, trombojenik formasyona, bağışıklık sisteminin veya diğer dokuların tepkisine neden olabilir [Nie et al., 2012].

Kanın pıhtılaşmasından ve daha fazla doku aktivasyonundan kaçınmak için kanla temas eden malzemenin, mükemmel kan uyumluluğuna sahip olması gerekir [Ji et al. 2019]. Kan uyumluluğu konusunda son yıllarda önemli ilerleme kaydedilmesine karşın, birçok malzemenin ve tıbbi tedavi prosedürünün halen ciddi yan etkileri olabilmektedir. Örneğin, hemodiyaliz inflamasyona ve hızlandırılmış arteriyoskleroza katkıda bulunur ve bu da hastanın erken ölümüne neden olabilmektedir [Ekdahl et al., 2013]. Ayrıca kan yabancı bir yüzeye temas ettiğinde, kan pıhtılaşma sistemi yüzey üzerinde aktif hale gelmektedir. Bu sebeple pıhtılaşma ve tromboz, biyomedikal malzemeler için en büyük zorluklardır [Ji et al. 2019].

Kan ve malzemenin yüzeyi arasındaki etkileşimler, kan bileşimine, kan akışına ve fizikokimyasal özellikleri ile tanımlanan malzemenin yüzeyine bağlıdır. Kanın malzeme yüzeyine tepkisi, yüzey alanı, kristallliği, hidrofobiklik / hidrofiliklik ve yüzey kimyası gibi yüzey özelliklerine duyarlıdır. Ayrıca hidrofilik yüzeylerde protein adsorpsiyonu genellikle daha geri dönüşümlüdür. Ancak böyle bir teması takip eden

reaksiyonlar, hem hidrofilik grupların kimyasal yapısına hem de malzemenin en dış yüzey yapısına bağlıdır. Malzeme yüzeyleri kan uyumlu değildir, bu da kanın spesifik olmayan kendini koruma mekanizmalarının tetiklenmesiyle sonuçlanır [Labarre, 2001].

Hiçbir materyal gerçek biyolojik olarak uyumlu veya kan uyumlu bulunmamasına rağmen, birçok çalışma kanla temas eden materyallerin kan uyumluluğunu geliştirmek için yeni materyallerin geliştirilmesi ve geleneksel materyallerin modifikasyonu üzerine odaklanmıştır [Nie et al., 2012]. Kanla temas eden malzemelerin kan uyumluluğunu geliştirmek için geleneksel malzemelerin modifikasyonu, mükemmel kan uyumluluğuna sahip yeni bir malzeme bulmakla karşılaştırıldığında kolay bir yoldur. Modifikasyon uygulamaları temelde yüzey aşılama, yüzey fiziksel işlem, blending ve kaplama olarak söylenilebilmektedir [Nie et al., 2012].

Kan; hemodiyaliz, hemoperfüzyon, hemofiltrasyon ve kardiyopulmoner bypass gibi tıbbi uygulamalarda bir biyomateryal yüzeyine temas ettiğinde, aşağıdaki olaylar meydana gelir:

- i) Plazma proteinlerinin polimer yüzeyine adsorpsiyonu.
- ii) Sistemden adsorbe edilmiş proteinler tarafından başlatılan kompleman ve kinin / kallikrein sistemlerinin, kan hücrelerinin ve içsel pıhtılaşmanın aktivasyonu.
- iii) Hücre bileşenlerinin (trombositler, granülositler ve monositler) protein kaplamaya yapışması.
- iv) Yüzeye fibrin oluşumu ve ayrıca fibrinolitik sistemin olası aktivasyonu [Zhao and Courtney, 2011].

3.1. Membranlar

Kan ile uyumlu olan materyaller arasında yaygın olarak kullanılan membranlar gelmektedir. Membran ile ilgili çalışmalar 18. yüzyıl filozof bilim adamlarına kadar izlenebilmektedir. Abb'e Nolet, 1748'de suyun bir diyaframdan geçmesini tanımlamak için "osmosis" kelimesini kullanmıştır. 19. ve 20. yüzyılın başlarında membranların endüstriyel veya ticari kullanımı bulunmuyordu ancak fiziksel ve kimyasal teorileri geliştirmek için laboratuvar aracı olarak kullanılmaktaydı [Baker, 2012]. İlk ticari membranlar, 1920'lerin sonlarında bakteriyoloji laboratuvarlarında kullanılmak üzere

geliştirilen simetrik yapıda mikrofiltrasyon membranlardır. Endüstriyel membran uygulamalarındaki artış, 1962 yılında Loeb ve Sourirajan tarafından asimetrik membranların üretilmesiyle başlamıştır. Farklı uygulama alanlarına sahip olan membranlar için genel bir tanım yapılması güçtür [Salgın, 2004]. Membranların bu endüstriyel uygulamalarının geliştirilmesi ile eşzamanlı olarak, özellikle yapay böbrek gibi tıbbi ayırma işlemleri için membranların bağımsız gelişimi gerçekleşmiştir. Kolff ve Berk 1944'te Hollanda'da ilk başarılı yapay böbrek denemesini gerçekleştirerek membranların önemini göstermişlerdir. Sonuç olarak yapay organlarda membranların kullanılması hastalar için hayati önemi olan bir prosedür haline gelmiştir [Kolff and Berk, 1944].

Membranlar, gaz, katı/sıvı, sıvı/sıvı ayırımı için kullanılır. Membranlar, seçici bir şekilde ayırmanın ve taşınımın gerçekleştirildiği bariyerler olarak tanımlanabilir. Ayırma işlemi membranın hem kimyasal, hem de fiziksel doğasıyla belirlenmekte ve basınç farkı, derişim (kimyasal potansiyel) farkı, elektriksel potansiyel farkı ve sıcaklık farkının biri veya kombinasyonlarıyla oluşturulan itici kuvvetle gerçekleşmektedir. Ayırma işlemini gözenekli membranlar boyut, şekil ve yük ayırımına göre, gözeneksiz membranlar ise sorpsiyon ve difüzyon modeline göre kontrol etmektedirler [Salt ve Dinçer, 2006].

Sentetik ve doğal polimerlerden üretilen her türlü membran prosesleri için, göz önünde bulundurulması gereken önemli membran karakteristikleri vardır.

Sıcaklılığa dayanıklılık: Selüloz asetat membranlarının 35-40 °C'ye kadar dayanıklılığı vardır. Seramik membranlara uygulanan sıcaklık ise, 800 °C'ye kadar çıkabilmektedir.

Kimyasal uygunluk: Membran polimerleri kimyasal olarak çözeltiye uygun ve dayanıklı olmalıdır.

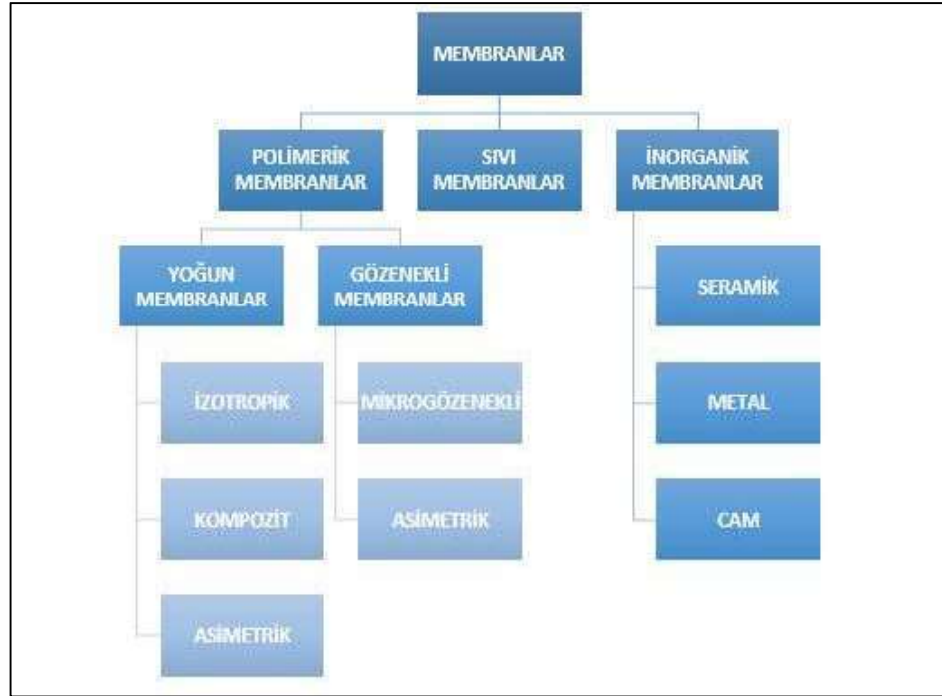
Basınca dayanıklılık: Her bir membran türü için ayrı basınçlar uygulanmaktadır. Mikrofiltrasyonda (<2 bar), ultrafiltrasyonda (1-8 bar), nanofiltrasyon (10-30 bar), en son olarak ters osmoz (10-100 bar) basınç uygulanmaktadır. Normalden yüksek basınç uygulamaları, membranların yapılarını bozmaktadır.

pH'ya dayanıklılık: pH, membran ömrü açısından önemlidir. Genelde kullanılan pH aralığı 2-8 dir. Selüloz asetat membranları pH'ya karşı çok hassastırlar.

Mekanik kararlılık: Yüksek basınçların kullanıldığı membranların mekanik dayanıklılığının da yüksek olması gerekir.

3.1.1. Membran Çeşitleri

Bir membran homojen veya heterojen, simetrik veya asimetrik yapıda, katı veya sıvı olabilmekte ve pozitif veya negatif yük taşıyabilmektedirler [Das and Gebru, 2019]. Bununla birlikte membranlar doğal (lipozom, veziküller fosfolipid gibi) veya sentetikde olabilmektedirler. Sentetik membranlar ise temel olarak organik (polimerik ve sıvı) ve inorganik iki ana grupta incelenebilmektedirler. Membran çeşitlerinin şematik diyagramı Şekil 3.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 3.1: Temel membran tiplerinin şematik diyagramı.

Polimerik membranlar; membran endüstri pazarına performansları ve ekonomik oluşları sebebiyle liderlik etmektedirler. Polimerin, membran ayırma işlemi için amaçlanan uygulamaya uygun özelliklere sahip olması gerekmektedir. Birçok membran polimeri özelliklerinin geliştirilmesi için aşılansmaktadır, özel olarak modifiye edilmektedir veya kopolimerler olarak üretilmektedir. Membran üretiminde en yaygın olarak kullanılan polimerler; selüloz asetat, nitroselüloz, selüloz esterler (CA, CN, CE), polisülfon (PS), polietersülfon (PES), poliakrilonitril (PAN), poliimid (PI), polietilen (PE), polipropilen (PP), politetrafloroetilen (PTFE), poliviniliden florür (PVDF) ve polivinilklorür (PVC)'dür [Das and Gebru, 2019].

Sıvı membranlar, sert olmayan malzemelerden yapılmış sentetik membranlara benzemektedirler. Endüstride çeşitli sıvı membranlarla karşılaşılabilir: emülsiyon sıvı membranlar, immobilize (desteklenen) sıvı membranlar, erimiş tuzlar ve içi boş (hollow fiber) elyaf sıvı membranlar. Sıvı membranların buharlaşmaları, onlarla temas eden malzemelerde çözünme sorunları sonucunda stabilitelerini uzun süre koruyamamaktadırlar. Bu sebeptir ki sıvı membranlar ayrıntılı olarak araştırılmalarına rağmen endüstride kullanılabilecekleri alanları oldukça azdır [Das and Gebru, 2019].

Seramik membranlar inorganik malzemelerden (örneğin alümina, titanya, zirkonya oksitler, yeniden kristalize edilmiş silisyum karbür veya bazı camı malzemelerden) yapılmaktadırlar [Das and Gebru, 2019]. Solvent direnci ve termal stabilitenin gerekli bulunduğu ultrafiltrasyon ve mikrofiltrasyon uygulamalarında kullanılmaktadırlar [Baker, 2012]. Metal membranlar özellikle de paladyum membranlar, hidrojenin gaz karışımlarından ayrılması için kullanılabilmektedirler [Das and Gebru, 2019].

3.1.2. Membran Hazırlama Teknikleri

Polimerik membran için membran hazırlama tekniği seçimi, polimerin kendisine ve membranın olması istenen yapısına bağlıdır (polimeric membran 1.chapter 7.referans). Membranların hazırlaması için birçok farklı yöntem mevcuttur ki bunlar sinterleme, germe(uzatma), parça aşındırma, kalıp liç oluşturma, arayüzey polimerizasyonu, faz inversiyonu ve elektron eğirme yöntemi.

3.1.2.1. Sinterleme

Sinterleme işlemi gözenekli membranın organik ve inorganik maddelerden elde edilmesini sağlayan basit bir tekniktir. Bu teknik ile belirli boyutta parçacıklardan oluşan bir tozun sıkıştırılarak erime noktasının hemen altında sinterlenir [Drioli et al., 2005]. Sinterlemek için gerekli sıcaklık, sinterleme sırasında kullanılan malzemeye ve malzemeye temas eden parçacıklar arasındaki arayüzlere bağlıdır [Das and Gebru, 2019]. Polimerlerin tozu (polietilen, politetrafloroetilen ve polipropilen), metaller (paslanmaz çelik, tungsten), seramikler (alüminyum oksit, zirkonyum oksit), grafit ve cam (silikatlar) gibi malzemeler sinterleme işleminde kullanılabilir. Örneğin kimyasal

ve termal olarak dirençli olan politetrafloroetilen (PTFE) çözünmediği için membran hazırlama tekniği olarak sinterleme uygun bir tekniktir. Sinterleme işlemi ile % 10-40 arasında bir gözenekliliğe ve oldukça düzensiz gözenek büyüklüğü dağılımına sahip olan mikro gözenekli bir yapı elde edilmektedir.

3.1.2.2. Germe (Stretching)

Mikro gözenekli membranların hazırlanması için kullanılan başka bir tekniktir. Membranlar, polimerik bir tozdan erime noktasına yakın sıcaklıkta hızlı bir çekme ile birleştirilen ekstrüzyon yoluyla elde edilmektedir [Drioli et al., 2005]. % 90'a kadar yüksek gözenekliliğe ve düzenli bir gözenek boyutuna sahiptirler. Ayrıca membranlar asit ve kostik çözeltilerin, organik çözücülerin ve sıcak gazların mikrofiltrasyonu için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu teknik genellikle PTFE ve polietilen membranlarının elde edilmesinde kullanılmaktadır. Politetrafloroetilen'den germe tekniği ile yapılmış membranlar, parklar, çadırlar, uyku tulumları, vs. gibi giysiler için su geçirmez tekstil olarak kullanılır. Buna ek olarak membranlar tuzlu su çözeltilerinin tuzdan arındırılması için, yanık yara örtüleri ve yapay kan damarları gibi tıbbi uygulamalarda da kullanılır [Das and Gebru, 2019].

3.1.2.3. Parça Aşındırma (Track Etching)

Parça aşındırma tekniği ile membran üretilirken, ilk olarak polimer filmler (genellikle PTFE ve polikabrolakton kullanılmaktadır.) yüksek enerji iyon bombardımanına maruz bırakılmaktadır. Bu işlem sonucunda polimer filmin yapısında bulunan polimer zincirleri zarar görerek bazı hasarlar(izler) meydana gelmektedir. Bu polimerik film daha sonra bir asit veya alkalın banyosu içine koyulur. Bu banyo içerisinde polimerik filmde hali hazırda oluşturulmuş olan hasarlı kısımlar çıkarılarak dar bir gözenek boyutu dağılımına sahip düzenli silindirik gözenekler oluşmaktadır. Gözenek boyutu 0.02-10 µm arasında değişmektedir ancak yüzey gözenekliliği genellikle % 10' un altındadır [Drioli et al., 2005]. Gözeneklilik genellikle radyasyon süresi ile belirlenmektedir. Gözenek çapı ise aşındırma süresi ile belirlenmektedir [Das and Gebru, 2019].

3.1.2.4. Kalıp Liç Oluşturma (Template Leaching)

Yarı kristalli bir polimerin eritilerek işlenmesiyle simetrik mikro gözenekli membranların üretilmesi için başka bir membran hazırlama tekniğidir. Bu teknikte, polimerik membran matris malzemesinin bir karışımından ve süzülerek ayrılabilen bir bileşenden homojen bir eriyik malzeme hazırlanmaktadır. Bu homojen eriyik malzeme ekstrüzyon işlemi uygulanmaktadır. Meydana gelen polimerik film, süzülerek ayrılabilen bileşen uygun çözücü yardımı ile çıkarılmaktadır. Böylece mikro gözenekli membran elde edilmektedir. Süzülerek ayrılabilen bileşen; çözünür, düşük moleküler ağırlıklı bir katı, sıvı parafin gibi bir sıvı veya polistiren gibi bir polimerik malzeme olabilmektedir [Das and Gebru, 2019].

3.1.2.5. Faz İncersiyonu

Bu teknik ile polimer bir çözücü içinde çözünür olması şartı ile polimerik membranlar hazırlanabilmektedir. Bu tekniğe göre, bir çözücü içinde çözünen bir polimer, membran elde edilebilmesi için kontrollü koşullar altında sıvı halinden katı duruma geçmektedir. Ayrıca bu teknik sayesinde membranları yoğun ve mikro gözenekli arasında değişen morfoloji ile hem düz hem de boru biçiminde hazırlamak mümkün olabilmektedir. Buna ek olarak bu teknik ile membran hazırlamanın birkaç yöntemi de mevcuttur. Bir su banyosuna batırılarak polimerden membran oluşturulması tekniği Loeb ve Sourirajan tarafından keşfedilen bir tekniktir. Ancak membran oluşumuna suyun nemli bir atmosferden emilmesi de neden olabileceğinden tercih edilen bir teknik olmaktan uzaklaşmaktadır. Diğer bir yöntem, membranı sıcak bir çözelti şeklinde dökmektir. Dökülen çözelti soğudukça, mikro gözenekli bir yapı oluşturmak için membranın meydana geldiği bir noktaya ulaşmaktadır: bu yöntem termal olarak indüklenen faz ayrılması (TIPS) denilmektedir. Son olarak ise membranı hazırlanacak çözeltideki çözücülerden birinin buharlaştırılması ile membran elde edilebilmektedir [Baker, 2012].

3.1.3. Membran Modülleri

Membranların endüstriyel olarak gerçekleştirilmesinden önce, geniş bir membran alanını ekonomik ve verimli bir şekilde kullanabilmek için paketleme

yöntemleri gereklidir. Bu paketleme yöntemlerine de membran modülleri denilmektedir. Temel olarak kullanılan membran modülleri; Plaka-Çerçeve Membran Modül, Spiral Sargılı Modül, Tübüler Membran Modül, İçi Boşluklu Fiber Membran Modül gibidir.

3.1.3.1. Plaka-Çerçeve Membran Modülü

Plaka-çerçeve membran modülleri, en eski membran sistemi türlerinden biridir. Dairesel veya kare plakalar arasına sandwich edilmiş membranlardır. Plaka-çerçeve membran modüllerinde, ara levhalar ile destekleyiciler arasına düz tabaka halindeki membranlar yerleştirilmektedir. Yapıları basittir. Şekil 3.2’de Plaka-çerçeve membran modülüne örnek bir resim verilmiştir [Web 2, 2019]. Destekleyiciler, besleme suyu için akış kanalı oluşturmaktadır. Besleme suyu düz tabakadan akarak bir tabakadan diğer tabakaya geçmektedir. Son yıllarda yeni modellerde paketleme yoğunluğu artırılmıştır. Plaka-çerçeve membran modüllerinin bakımı, sökme ve takma işlemi kolaylığından dolayı daha sağlıklı yapılabilinmektedir. Daha fazla besleme suyu verildiğinden dolayı daha fazla suyu geri kazanmak mümkündür. Dolayısıyla daha sık aralıklarla tıkanmaya neden olmaktadır. Plaka çerçeveli modüller elektrodializ ve pervaporasyon sistemlerinde, sınırlı sayıda ters ozmoz ve yüksek kirlenme beslemeli ultrafiltrasyon uygulamalarında kullanılmaktadır. İlk olarak 1960’lı yıllarda ters ozmoz membranları için kullanılmış olan bu modül tipi, günümüzde yerini spiral sargılı modül teknolojisine bırakmıştır.



Şekil 3.2: Plaka-çerçeve membran modülü.

3.1.3.2. Spiral Sargılı Membran Modülü

Spiral sargılı membran modülleri membran kullanımında önemli bir yere sahiptir. İlk olarak ters osmoz uygulamaları için geliştirilmiştir fakat günümüzde ultrafiltrasyon, nanofiltrasyon, gaz ayırımı gibi çeşitli uygulamalarda da kullanılmaktadır. Spiral sargılı modüller, Plaka-çerçeve membran modüllerinin daha geliştirilmiş halleridir. Bu modül türünün en önemli farkı oldukça fazla bir paketleme katına sahip olmasıdır. Spiral-sargı membran modülleri, içi gözenekli süzöntü toplama tüpü etrafına düz tabaka membranlar, ara plakalar (spacer) ve gözenekli tabakaların sandviçlenmesiyle oluşturulmaktadır. Şekil 3.3'te spiral sargılı membran modülüne örnek bir resim verilmiştir [Web 2, 2019]. Besleme suyu, membran modülü ekseninde etrafında süzöntü toplama tüpüne paralel bir şekilde akmaktadır. Besleme akışı membranın dış yüzeyi ile temas ederek membran katmanları arasına girmekte, merkeze doğru ilerleyip süzöntü toplama tüpünden dışarı çıkarmaktadır. Membran için, selüloz asetat, poliamid ve kompozit poliamid malzemeler kullanılmaktadır.

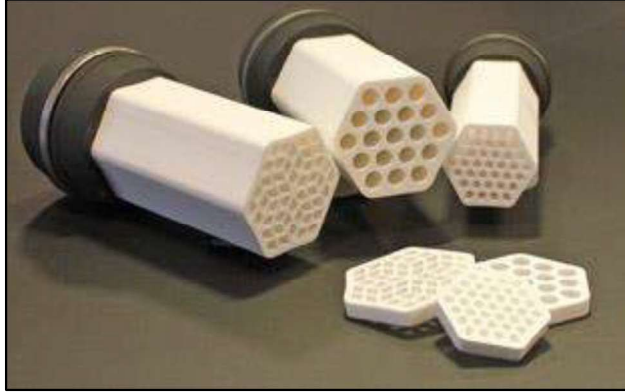


Şekil 3.3: Spiral Sargılı Membran Modülü.

3.1.3.3. Tübüler Membran Modülü

1965' li yıllarda üretilen bu modül tipi genellikle ultrafiltrasyon ve nanofiltrasyon uygulamalarında kullanılmaktadır. Seramik, karbon veya plastikten üretilmiş gözenekli tüplerin iç çapları genellikle 3.2 mm. ile 2.5 cm. arasında değişmektedir. Gözenekli tüpün iç tarafı membranla kaplanmış durumdadır. Şekil 3.4'de tübüler membran modülüne örnek bir resim verilmiştir [Web 2, 2019]. Basınçlı besleme suyu, membranın veya membran film iç tarafından girip gözenekli tüp arasından çıkarak süzöntü elde edilebilmektedir. Endüstriyel atık sularında

kullanılabilirler. Ancak çok fazla yer kaplamaktadırlar, enerji gereksinimleri yüksektir ve yıkanmaları maliyetlidir.



Şekil 3.4: Seramik malzemedan yapılmış çeşitli tiplerde túbüler membranlar.

3.1.3.4. İçi Boşluklu Fiber Membran Modülü

İçi boşluklu fiber membran modülleri, silindirik sert basınçlı kapların içine demet halinde istiflenmiş küçük çaplı çok sayıda membranlardan meydana gelmektedir. Şekil 3. 5'te içi boşluklu fiber membran modülüne bir örnek verilmiştir [Web 3, 2019]. Membranların bir demet halinde toplanıp üst ve alt kısımlarından bir epoksi reçine içerisine yerleştirilmesiyle oluşturulmaktadır. Bu şekilde birleştirilmiş içi boşluklu fiber membranlar, bir basınç kabı içerisine yerleştirilmektedir. Bu membran modülleri yatay veya dikey olarak kullanılabilir. İçi boşluklu fiber membran modüllerinin bir başka kullanım şekli de membran demetini saran bir basınç kabı olmaksızın bir havuz içerisine koyularak kullanılmasıdır. Tipik bir ticari içi boşluklu fiber membran modülü birkaç yüz fiberden birkaç bin fibere kadar membran içerebilmektedir. İçi boşluklu fiber modülleri, genellikle mikrofiltrasyon veya ultrafiltrasyon membranları olarak üretilmekte ve küçük partiküllerin giderimi için kullanılmaktadır.



Şekil 3.5: İçi boşluklu fiber membran modülü.

3.1.4. Membran Prosesleri

Günümüzde, membranlar denizden ters osmoz ile içme suyu elde etmek, endüstriyel atıkları temizlemek, elektrodiyaliz yoluyla değerli bileşenleri geri kazanmak için kullanılmaktadır. Ayrıca gıda ve ilaç endüstrisinde makromoleküler çözeltileri ultrafiltrasyon ile parçalamak, yapay böbreklerde diyalizle üre ve diğer toksinleri kan dolaşımından çıkarmak ve tıbbi olarak belirlenmiş bir oranda ilaçların salımı için büyük ölçüde kullanılmaktadır [Das and Gebru, 2019]. Membran proseslerinde membranların, farklı kimyasal bileşenlerin ayrılmasında ve bariyer olarak kullanılan yapılardaki çalışma tarzları farklı olsa da ortak özellikleri de mevcuttur. Bunlardan biri membran ile ayırma işlemi sırasında, ayırma genellikle çevre sıcaklığında gerçekleştirilmektedir, bu sebeple bileşenler hasar görmeden veya kimyasal olarak değiştirilmeden sıcaklığa duyarlı çözeltilerin işlem görmesini sağlamaktadır [Das and Gebru, 2019]. Ayrıca membran teknolojisinin kullanılmasının temel avantajlarından diğerleri ise kimyasalların ilavesi olmadan çalışması, nispeten düşük bir enerji kullanımına sahip olması, kolay ve iyi anlaşılmış bir işlem içermesidir [Cheng et al., 2014].

Tıbbi tedavilerde membranlar, tüm temel kan bileşenlerini korurken ve çözünen transferin gerçekleştiği hızı düzenlerken, toksik maddeleri (veya gerekli çözeltileri) kandan ayrılan sıvıya (veya tersi) seçici-geçirgen bir şekilde aktarmak için kullanılır [Catapano and Vienken, 2008].

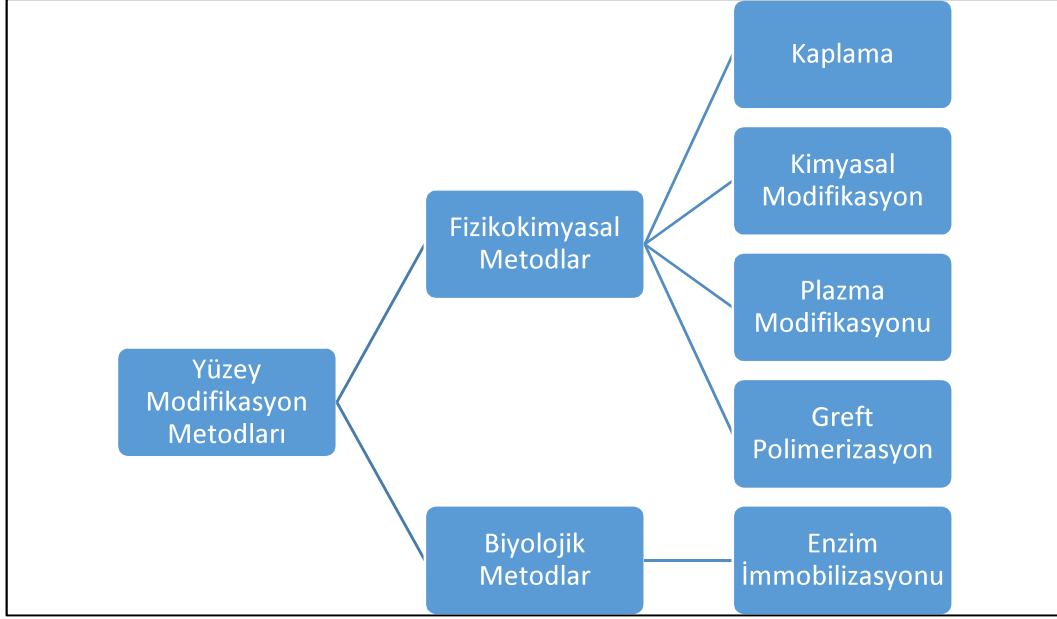
Polimerik membranlar, tek kullanımlık klinik aletler, yapay organlar ve hemodiyalizatör gibi kanla temas eden cihazlarda yaygın olarak uygulanmaktadır [Xiang et al., 2016]. Klinik uygulamada sıklıkla kullanılan üç tip diyaliz membranı vardır. Bunlar modifiye edilmemiş selüloz membranlar, modifiye selüloz membranlar ve sentetik membranlardır. Sentetik membranlar, kanla minimal inflamatuvar temas reaksiyonları nedeniyle daha biyouyumlu olarak kabul edilir [Tian and Qiu, 2017].

Böbrek yetmezliği veya akut böbrek hasarı sonrasında diyaliz, hastanın hayatta kalması için bir yaşam çizgisidir. Böbrek fonksiyonunun ekstrakorporeal bir devrede bir membran modülü ile değiştirilmesi, nefrolojik araştırmanın odak noktasını biyouyumlu zarların gelişimine kaydırmaya neden olmuştur [Roy et al., 2015]. Son on yılda, daha fazla etkinlik ve geliştirilmiş biyouyumluluk ile daha iyi diyaliz sınıfı membranlar elde etmek için polimerik malzemeler, karışımlar ve yüzey modifikasyonlarına önem verilmiştir [Roy et al., 2015].

3.1.5. Yüzey Modifikasyon Yöntemleri

Biyomalzemeler vücuda yerleştirildiğinde veya kan ile temasa geçtiklerinde ilk olarak biyomalzelerin yüzeyi ile etkileşime girmektedirler. Bu sebeple canlı organizmanın ilk tepkisi biyomalzemenin yüzeyine bağlıdır. Canlı organizmanın biyomalzemeye karşı biyolojik tepkisi fazla ise yani biyomalzeme canlı organizma ile bir uyum içerisinde değil ise biyomalzemenin gerçekleştirmesi planlanan işlevini gerçekleştiremez. Örneğin bir hemodiyalizör yüzeyinde pıhtı oluşur ise yapması gereken ayırmayı yapamaz. Ya da kontak lenslerin yüzeyleri uyumlu olmadığı sürece korneaya zarar verir. Bu nedenle biyomedikal alanda yaygın olarak kullanılan biyomalzemelerin uygulama alanlarına uygun olan gerekliliklere sahip olması gerekmektedir. Çoğu malzeme biyomalzeme olarak kullanılacak ise yüzey modifikasyonu işlemi veya işlemleri gereklidir. Yüzey modifikasyon işlemleri biyomalzemelerin ana yapısını korurken yüzey özelliklerini (hidrofilik olması, hidrofobik olması, yüzey pürüzlülüğü, antibakteriyel özellikleri vb. gibi) geliştirebilmektedir.

Biyomalzeme olarak kullanılan polimerik membranlar için de yüzey modifikasyon işlemleri yapılabilmektedir [Xu et al., 2009]. Şekil 3.6'da yüzey modifikasyon metodlarının sınıflandırılması şematize edilmiştir.



Şekil 3.6: Yüzey Modifikasyon Metodlarının Sınıflandırılması.

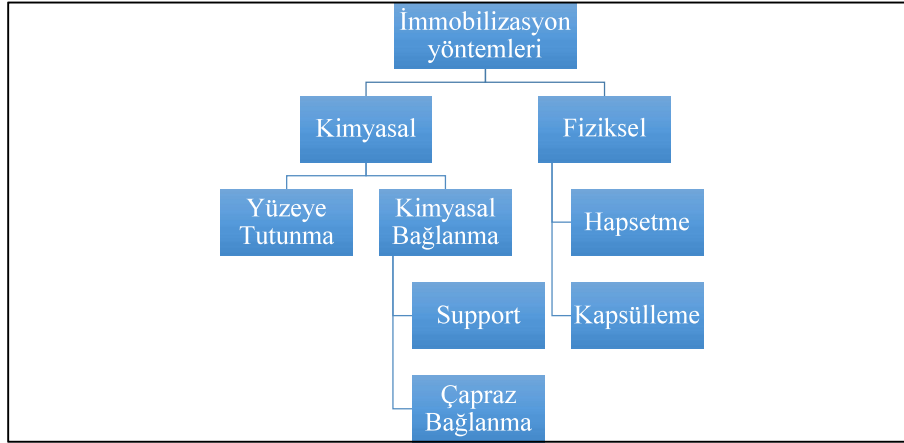
3.1.5.1. İmmobilizasyon Yöntemleri

İmmobilizasyon, hücrelerin, organellerin, enzimlerin veya diğer proteinlerin katı bir matris üzerine/içine fiziksel veya kimyasal olarak sabitlenmesi için kullanılan bir yöntemdir. İmmobilizasyon yönteminde kullanılan matrisler üç ana kategoride bulunmaktadır ki bunlar; 1:Doğal Polimerler, 2: Sentetik Polimerler, 3: İnorganik Malzemeler.

Biyoaktif bileşiklerin fonksiyonlandırılmış polimer yüzeyler üzerine kovalent immobilizasyonu ile son on yılda biyomedikal, tekstil, mikroelektronik ve gıda paketlenme gibi sektörlerde hızlı bir gelişme gerçekleşmiştir [Goddard and Hotchkiss, 2007]. Fonksiyonlandırılmış polimerlerin kullanılacakları yerlere göre uygulamaları farklıdır. Fakat temel amaçları farksızdır. İlk olarak uygulama alanına göre gerekli polimeri tasarlamak veya seçmektir. Daha sonra planlanan fonksiyonel grup için yüzey fonksiyonlandırma işlemleri en uygun hale getirilmelidir. Son olarak ise fonksiyonlandırılmış polimer yüzeyine biyoaktif bir bileşik (enzimler, polisakkaritler, antimikrobiyal ajanlar vb.) kovalent olarak bağlanır gerçekleşmiştir [Goddard and Hotchkiss, 2007].

Enzimler, antikorlar, afinite proteinleri, ilaç gibi biyomoleküller, doku rejenerasyonu, membran ile ayırma ve biyoproses uygulamalarında kullanılmak üzere biyomalzeme yüzeyler içine veya üzerine immobilize edilmektedir. Heparin'in

polimer yüzey üzerine olan immobilizasyonu, yüzeyi modifiye edilmiş biyomalzemelerden bilinen ilk örneğidir [Hoffman and Hubbell, 2013]. Biyolojik olarak modifiye edilebilecek farklı biyomalzeme sınıfları arasında sentetik polimerler önemlidir. Polimerlerin yüzeyleri -OH, -COOH veya NH₂ grupları gibi reaktif gruplar içerebilir veya azin, alkin, -SH grupları ile modifiye olabilmektedirler. Bu grupların tümü, biyoaktif bileşikler ile kovalent olarak bağlanmak için kullanılabilirler.



Şekil 3.7: İmmobilizasyon yöntemlerinin sınıflandırılması.

3.2. Polisülfon

Selülozik malzemelerden yapılan membranlar ilk ticari membran olarak bilinmektedir. Fakat selülozik membranların fiziksel ve kimyasal özellikleri sentetik membranlara göre çok daha zayıf olduğu için artık günümüzde ticari alanda sentetik membranlar tercih edilmektedir. Ayrıca membran polimerlerinin uygulama alanlarına göre modifiye edilmesi veya kopolimerlerinin yapılabilmesi de tercih sebeplerinden biridir. Sentetik membranların yapımında en çok kullanılan polimerler ise; polisülfon (PS), polietersülfon (PES), poliakrilonitril (PAN), poliimid (PI), polietilen (PE), polipropilendir (PP), politetrafloroetilen (PTFE), poliviniliden florür (PVDF) ve polivinilklorür (PVC)'dür. Polimerik membranlar, yapay organlar, tek kullanımlık klinik aletler ve hemodiyalizatör gibi kanla temas eden cihazlarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar [Xiang et al., 2016]. Polimerik membranlar, kan ile çok daha az enflamatuvar oluşturması nedeniyle biyoyumlu malzeme olarak kabul edilmektedirler. Ek olarak yapıları nedeniyle mevcut olan büyük gözenekleri sayesinde yabancı

cisimleri veya uzaklaştırılması istenilen malzemeleri daha iyi uzaklaştırma ve taşıma olanağına sahiptirler [Tian and Qiu, 2017].

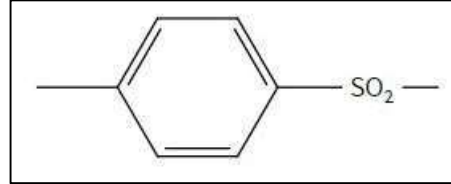
Polisülfon ve türevleri, tıbbi uygulamalarda yaygın olarak kullanılan membranlar arasında önemli bir yere sahiptir. Polisülfon membranlar, kandan yabancı veya istenmeyen malzemelerin ayrılması işlemlerinde ve hemodiyaliz uygulamalarında son yıllarda ticari olarak kullanılmaya başlanmıştır. Fresenius Medical Şirketi'nin 2010 yılında yaptığı bir araştırmaya göre hemodiyaliz membranlarının %71'i Polisülfon membranlarıdır [Tu et al., 2019]. Piyasada hali hazırda Polisülfon esaslı hemodiyaliz membranları kullanılmaktadır. Tablo 3.1'de ticari olarak kullanılan bazı polisülfon esaslı hemodiyaliz membranları mevcuttur.

Tablo 3.1: Ticari olarak kullanılan bazı Polisülfon esaslı hemodiyalizlerler.

Firma İsmi	Hemodiyaliz Membran İsmi	Kaynak
Asahi Kasei	APS-U	[Web 4, 2019]
	APS-H	
	APS-Rexeed	
	APS-Rexeed-I	
	Vitabran-E	
Fresenius Medical Care	Ultraflux	[Web 5, 2019]
	plasmaFlux®	
Nipro D.Med Sağlık Hizmetleri Ltd.Şti	SureLyzer PES-DL	[Web 6, 2019]
	SureLyzer PES-DH	[Web 7, 2019]
Toray Medical Co., Ltd.	Toraysulfone TS	[Web 8, 2019]

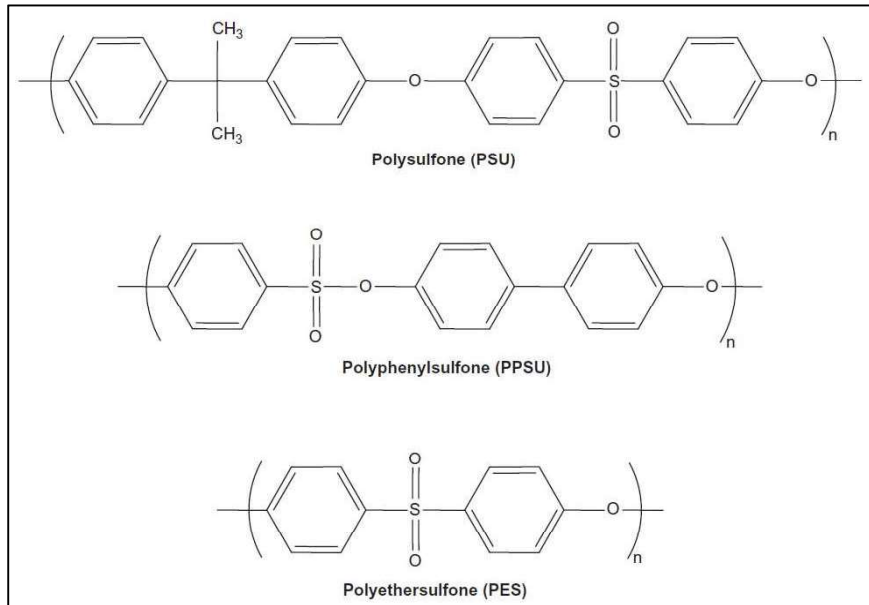
Polisülfonlar, mükemmel yüksek sıcaklık özelliklerine sahip mühendislik polimeri olarak bilinen termoplastik ailesidirler. Polisülfonlar tekrarlayan veya yenilenen -SO₂- gruplarına sahiptirler [Schwab, T. H., 2010]. Polisülfonlar, termal, hidrolitik ve boyutsal kararlılığı, asit ve bazlara karşı dirençli olması, camsı geçiş sıcaklığına (T_g) yakın sıcaklıklarda bile modülünü koruması ayrıca radyasyona karşı kararlı olması gibi özellikleri sebebiyle endüstride geniş kullanım alanı olan bir polimerdir. Bunlara ek olarak çok iyi antitrombojenik özelliği mevcuttur ve bu özelliği sayesinde yapay kalp yapımında, hemodiyaliz membranı gibi medikal alanlarda

kullanılmaktadır [Kuwahara, H., et al 1999]. En basit yapılı aromatik polisülfon şekil 3.8’de gösterilen poli (p-fenilensülfon)’dur. 500°C üzerinde bozunur ve bu sebeple termoplastik davranış göstermez. Bu nedenle, geleneksel makinelerde enjeksiyonla kalıplama yapabilen bir malzeme elde etmek için, polimer ana zincirine eter bağlantıları dahil edilerek daha esnek hale getirilir [Cheremisinoff, N., 2001].



Şekil 3.8: Poli (p-fenilensülfon).

1965 yılında Union Carbide tarafından şuan Udel ® Polisülfon ismiyle bilinen ilk ticari Polisülfon üretilmiştir. 1967 yılında 3M şirketi poliarilsülfon olarak adlandırılan Astrel 360’ı üretmiştir. 1972 yılında ICI polietersülfon olarak adlandırılan Victrex ®’i üretmiştir. 1970’lerin sonunda polifenilsülfon olarak bilinen Radel, Union Carbide tarafından üretilmiştir [Teoh et al, 2016]. Ticari polisülfonlar Şekil 3.9’de gösterilmiştir. Polisülfonlar arasında piyasada uygulama alanı en geniş olan Udel Polisülfon çeşididir [Kuwahara, H., et al 1999].



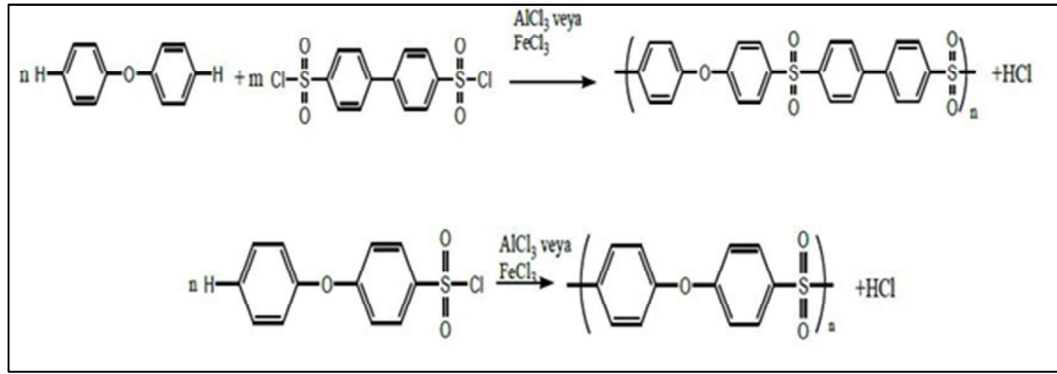
Şekil 3.9: Ticari Polisülfonlar.

3.2.1. Polisülfon Sentezi

Polisülfonlar elektrofilik aromatik süstitüsyon ve nükleofilik aromatik süstitüsyon olmak üzere iki farklı metot ile sentezlenebilirler. En yaygın olarak nükleofilik aromatik süstitüsyon metodu kullanılmaktadır [Arnett, 2009],[Johnson et al, 1967].

3.2.1.1. Polisülfonilasyon Metodu

Polisülfonilasyon metodu Friedel-Crafts elektrofilik aromatik süstitüsyon yöntemi ile gerçekleştirilmektedir. Şekil 3.10’da iki farklı polisülfonasyon metodu gösterilmiştir [Erkman, 2014].



Şekil 3.10: İki farklı Polisülfonasyon Metodu.

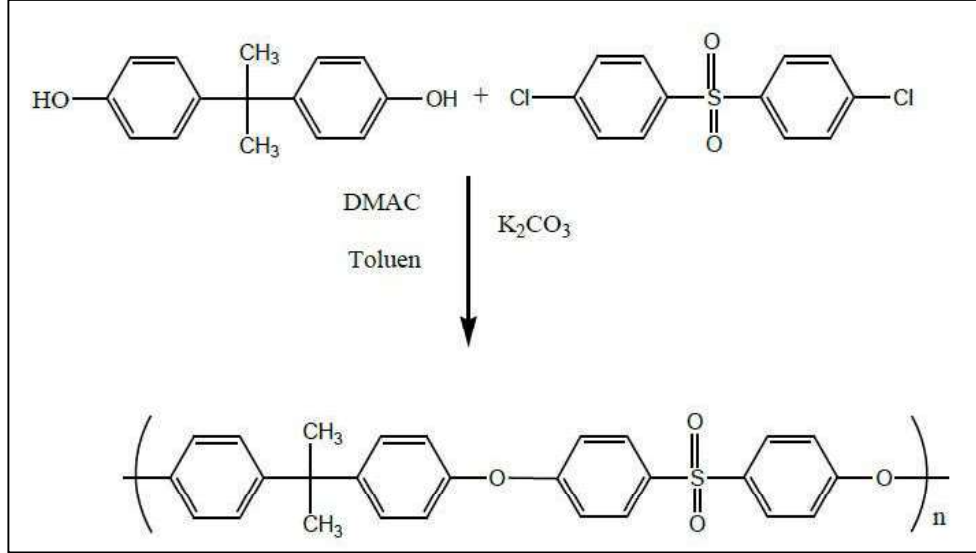
3.2.1.2. Polieterifikasyon Metodu

Polieterifikasyon metodları ticari polisülfon üretim yöntemlerinin temelini oluşturmaktadır. Bu metotta genelde potasyum veya sodyum içeren bazlar kullanılmaktadır. Polisülfon sentezi, nükleofilik aromatik süstitüsyon reaksiyonunda kullanılan bazın zayıf veya kuvvetli baz olmasına göre iki farklı yöntem ile gerçekleştirilmektedir.

- Polisülfonun Zayıf Baz Yöntemi İle Sentezlenmesi

Zayıf baz yöntemi ile polisülfon sentezi ilk olarak McGrath ve arkadaşları tarafından yapılmıştır [Viswanathan et al., 1984]. Bisfenol A ile Diklorofenil K₂CO₃ varlığında ve N-N'Dimetilasetamid içerisinde reaksiyona

başlanılarak polisülfon elde etmişlerdir. Reaksiyon sırasında açığa çıkan suyun azeotropik olarak ortamdan uzaklaştırılabilmek için Tolien kullanmışlardır. Şekil 3.11’de reaksiyonun şematik gösterimi mevcuttur [Erkman, 2014].

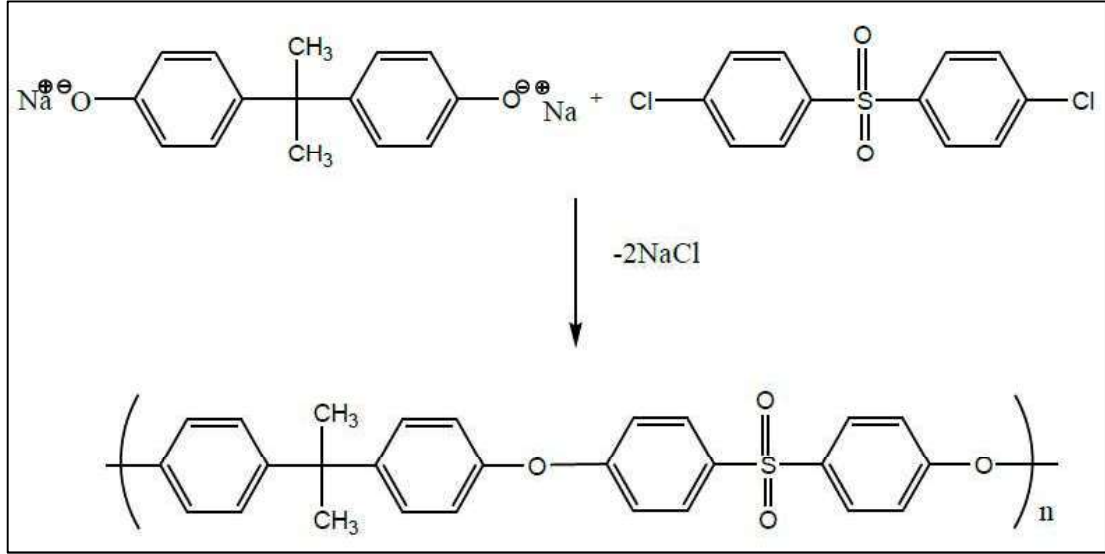


Şekil 3.11: Zayıf Baz varlığında Polisülfon Sentezi.

- Polisülfonun Kuvvetli Baz Yöntemi İle Sentezlenmesi

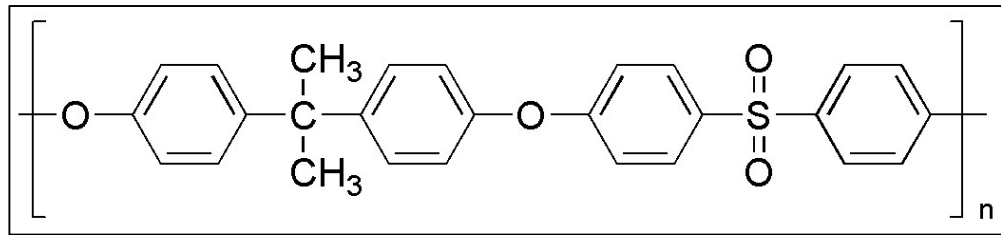
Bu yöntem ile istenilen molekül ağırlığına sahip polimerlerin daha kısa bir sürede sentezlenebilmektedir. Bu sebeple endüstri için bu yöntem önemli bir avantaja sahiptir. Ancak reaksiyon sonucu suyun açığa çıkması ve bazın stokiyometrisine karşı hassas olunması gerekmektedir ki yan ürünlerin oluşması engellenebilsin. Bu yöntem Johnson ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir [Johnson et al., 1967]. Şekil

3.12’de reaksiyonun şematik gösterimi mevcuttur [Erkman,2014].



Şekil 3.12: Kuvvetli Baz varlığında Polisülfon Sentezi.

Udel Polisülfon; linear aromatik polimerler sınıfında olup termoplastik polimerdir. Amorf, şeffaf görünümde termoplastik bir polimerlerdir. Yapısında bulunan difenil eter ve difenil sülfon grupları sayesinde oldukça iyi termal ve mekanik özelliklere sahiptir. Şekil 3.13’de Udel Polisülfon’un tekrar eden kısmı mevcuttur. Camsı geçiş sıcaklıkları 180°C ile 250°C arasında değişmektedir.



Şekil 3.13: Udel Polisülfon tekrar eden kısım.

Yüksek sıcaklıklarda stabil oldukları için buhar ile sterilizasyon ve temizleme işlemlerine uygundur. Ayrıca güçlü asit ve bazlara karşı dayanıklıdır [Bartnicki et al., 2018]. İyi film oluşturma, kolay işlenebilir özelliğe ve hidrofobik bir yapıya sahiptirler. Hidrofobik yapıya sahip oldukları için hidrofilik yapıya gereksinim duyan membran uygulamalarında kullanılabilmesi için birtakım modifikasyonlara ihtiyaç duyulmaktadır. Hidrofilik polisülfon membranı elde edebilmek için birden fazla polimeri birleştirerek yapılan modifikasyon, polimerin ana zinciri üzerinde yapılan

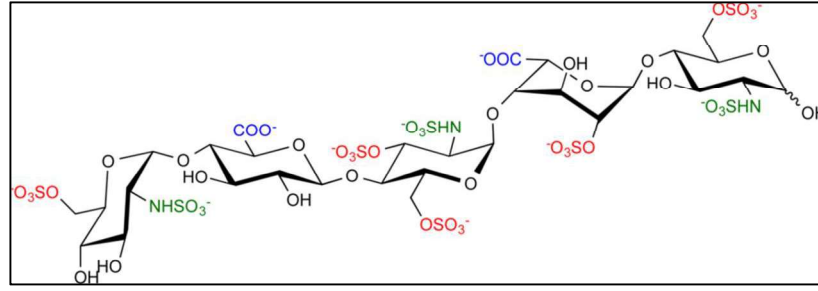
modifikasyon, yüzey modifikasyonu ve atom transferi radikal polimerizasyonu gerçekleştirilebilir [Tian and Qiu, 2017]. İki veya daha fazla polimeri ortak bir çözücüde çözerek membran oluşturma işlemi bir yöntemdir. Bu yöntem ile oluşturulan membrana işlevsellik katılırken polimerin fiziksel ve kimyasal özellikleri korunabilir. Polimerin ana zinciri üzerinde yapılan modifikasyon ise ana zincire bazı özel gruplar eklenmesi ile oluşan bir diğer yöntemdir. Bu yöntem membran yüzeyine değil polimerin kendisine uygulanmaktadır. En yaygın olarak sülfonasyon, karboksilasyon ve klorometilasyon işlemleri ile polimerin ana zinciri üzerinde yapılan modifikasyon gerçekleştirilebilir [Tian and Qiu, 2017]. Polimer ana zincirine klorometil grubunun eklenmesiyle yapılan kimyasal modifikasyon sonucunda ana zincirin hidrofobik-hidrofilik dengesinde bir değişiklik oluşturarak membran geçirgenliğinde artışa sebep olmaktadır [Avram and Filimon, 2015]. Polisülfonun, hidrofobik özelliğinden dolayı kan uyumlu malzeme uygulamalarında sınırlayıcı etkisi mevcuttur. Hidrofilik özellik kazandırmak için Polisülfonun modifiye edilmesi gerekmektedir [Avram and Filimon, 2015], [Albu et al., 2011]. Hidrofilik özellik kazandırmak için polimer ana zincirine sülfü grubu, hidroksil, karboksilik asit, klorometil grubu gibi fonksiyonel gruplar eklenebilmektedir [Du et al., 2013], [Avram and Filimon, 2015]. Fonksiyonel grupların polisülfonlara eklenmesi sadece bahsedilen sınırlamaların üstesinden gelmekle kalmaz, aynı zamanda yüksek performanslı malzemelerin potansiyel uygulama alanlarını kazanan spesifik özellikler vasıtasıyla genişletir. Polisülfonun klorometilasyon reaksiyonu sonucu kimyasal modifikasyonu ile hidofilik özellik kazandırılmanın yanı sıra polimer ana zincire eklenen klorometil grubu ile farklı yapılara dönüşme olanağı sağlanabilmektedir [Avram and Filimon, 2015].

Polisülfon membranların biyoyumluluğunu geliştirmek için en çok kullanılan yöntemlerden biri de polimere göre mükemmel biyoyumluluğa sahip olan ek maddeler kullanılmasıdır [Dahe et al., 2011]. Biyoyumluluğu arttırarak ek madde olarak kullanılacak malzemeler arasında antikoagülanlar gelmektedir. Kanın pıhtılaşmasını önleyen maddelere antikoagülan adı verilmektedir. Bir biyomalzeme olan antikoagülanlar; yapay organlar, hemodiyaliz sistemi, tıbbi cihazlar, kalp pili, kalp kapağı protezi, damar protezi ve intravasküler stent gibi tek kullanımlık klinik aletlerin bulunduğu biyomedikal alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [Ran et al., 2012]. Doğal bir antikoagülan olan Heparin'in yanı sıra

Sodyum ve Potasyum Sitrat, EDTA (Etilen di Amin Tetra Asetikası) ve kumadin klinikte kullanılmaktadır.

3.3. Heparin

Antikogulanların başında “Heparin” gelmektedir. Heparin; 1,4-bağılı üronik asit (D-glukuronik (GlcA) veya L-iduronik asit (IdoA) ve D-glucosamine (glcN) disakkarid tekrar birimlerinden oluşan doğal olarak meydana gelen bir glikozaminoglikan doğrusalıdır (lineeridir). Heparin’in kimyasal yapısı Şekil 3.9’da gösterilmiştir [Xiang et al., 2014]. Yüksek sülfonat ve karboksilik grupları içeriğı nedeniyle heparin, bilinen en yüksek negatif yük yoğunluğuna sahip bir biyolojik moleküldür. Genellikle domuz mukozal dokusundan molekül ağırlığı (M_w) 5 ile 40 kDa arasında değişerek elde edilir. Ayrıca Heparin’in tek kaynağı hayvansal dokulardır. Bu sınırlama olası virüs kontaminasyon riskini de arttırmaktadır [Xiang et al., 2014]. Yüksek moleküler ağırlıklı standart Heparin dışında, düşük moleküler ağırlıklı heparinler ve heparinoidler olarak isimlendirilen Heparin ile benzer yapılara sahip moleküller vardır. Düşük moleküler ağırlıklı (LM_w) Heparin, ticari heparinin fraksiyonlanması veya depolimerizasyonu yoluyla elde edilen bir heparin türevidir. Bu Heparin türevleri heparinoidler olarak da adlandırılmaktadır. Heparinoidler; kondroitin sülfatlar, dermatan sülfat, fukoidan ve heparitin sülfat gibi heparin benzeri yapılardır. Heparinoidler, standart heparin kadar anti-trombotiktirler. Klinik uygulamada, heparin 1930’ lardan bu yana enjekte edilebilir bir pıhtılaşma önleyici reaktif olarak kullanılmaktadır. Heparin şu anda klinik kullanım için Federal İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır [Xiang et al., 2014]. Heparin antikoagulan aktivitesinin yanı sıra anti-viral etkinlik, anti kanser, anjiyogenez düzenlenme ve inhibe edici aktivasyon alanlarında da kullanılabilmektedir. Spesifik bir pıhtılaşma önleyici etkinliğı nedeniyle, heparin; kan ile temas eden bir membran yüzeyi üzerine immobilize edildiğinde, benzer heparin-kan etkileşimi meydana gelebileceğı beklenmektedir. Biyoaktivite uzun süre korunabileceğinden yüzey heparinizasyonu, antikoagulan ve kan uyumluluğı modifikasyonu için ideal bir strateji olabilmektedir. [Cheng et al., 2014], [Zhao and Courtney, 2011].



Şekil 3.14: Heparin kimyasal yapısı.

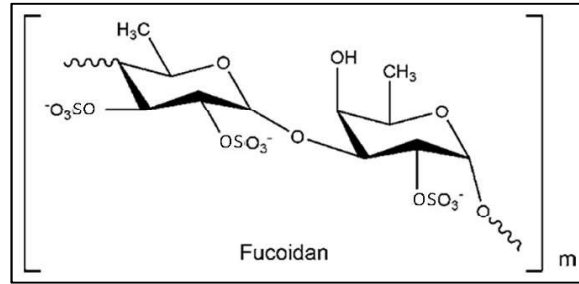
Birçok çalışma, hidrofobik olan polimerik membranların kan uyumluluğunu geliştirmek için heparinin membran yüzeyine immobilizasyonu ile hemodiyaliz membranlarının modifikasyonuna odaklanmıştır [Li et al., 2012]. Ayrıca üstün antikoagülasyon özelliği nedeniyle yüzey heparinizasyonu, iskele yapılar, ilaç dağıtım sistemi ve özellikle kan arıtma gibi çeşitli biyomedikal alanlarda dikkat çekmektedir [Dang et al., 2019].

Yüzey heparinizasyonu, heparin pahalı bir malzeme olduğu için maliyetlidir ve büyük ölçekli çalışmalarda kullanımı sınırlıdır. Bu sebeple de materyallerin kan uyumluluğunu arttırmak için heparin benzeri yapılar kullanılabilmektedir [Tu et al., 2019].

3.4. Fukoidan

Fukoidan kahverengi deniz yosunlarından elde edilen, doğal yollar ile oluşan sülfatlanmış bir polisakarittir [Manivasagan and Oh, 2016]. 1913 yılında Kylin tarafından ilk kez kahverengi deniz yosunlarından izole edildiğinde “fukoidin” olarak adlandırılmıştır. Günümüzde IUPAC kurallarına göre “fukoidan” olarak adlandırılmaktadır. Ancak bazı kaynaklarda fucan, fucosan veya sülfatlanmış fucan olarak da adlandırılmaktadır [Li et al., 2008]. Fukoidanlar, diğer sülfatlanmış polisakaritler ile karşılaştırıldığında, ucuz kaynaklardan yaygın olarak temin edilebilmektedir. Bu sebeple son yıllarda fukoidanlar ile ilgili araştırmalar oldukça artış göstermektedir [Li et al., 2008]. Antitümör, immünomodülatör, antioksidan, antivirüs, antikoagülan ve antienflamatuvar olmak üzere çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptirler [Cong et al., 2016], [Thanh et al., 2013], [Saboural et al., 2014]. Fukoidanlar yapılarında genel olarak büyük miktarlarda L-fukoz ve sülfat, bununla birlikte ksiloz, galaktoz, glikoz, mannoz, üronik asitler ve rozoz gibi diğer şeker miktarlarını

içermektedir [Kim et al., 2007]. Şekil 3.10’da Fukoidan’ın temel kimyasal yapısı görülmektedir [Anbuezhian et al., 2015]. Örneğin *Fucus Vesiculosus*’un, fukoz ve sülfattan oluşan basit bir kimyasal bileşimi mevcuttur. Ancak çoğu Fukoidanların kimyasal bileşimleri oldukça karmaşıktır. Farklı kahverengi deniz yosunlarından elde edilen Fukoidanların yapısı, yosunların türüne göre değişiklik göstermektedir [Li et al., 2008]. Farklı türlerdeki bazı fukoidanların yapılarında bulunan maddelerin oranları Şekil 3.16’da gösterilmiştir [Fitton et al., 2015].



Şekil 3.15: Fukoidan temel kimyasal yapısı.

Tablo 3.2: Bazı Fukoidanların Kimyasal Bileşimi.

Fukoidan Türleri	Fuko z (%)	Ksilo z (%)	Galakto z (%)	Arabino z (%)	Ramno z (%)	Uroni k Asit (%)	Sülfa t (%)	Katyo n (%)	Sülfonasyo n Oranı
<i>Fucus Vesiculosus</i>	43.1	8.8	2.2	1.2	0.2	8.7	30.1	5.7	0.81
<i>Sigma Crude Fucus Vesiculosus</i>	45.9	3.3	4.3	0.0	0.	7.0	32.0	7.6	0.92
<i>Macrocystis pyrifera</i>	30.5	2.2	5.6	0.0	1.7	12.4	32.4	15.1	1.1
<i>Cladosiphon</i> sp.	51.2	2.1	1.3	0.0	0.0	15.5	23.0	7.0	0.58
<i>Laminaria japonica</i>	34.1	1.0	4.2	0.3	1.0	14.4	31.7	13.2	1.0
<i>Ecklonia radiata</i>	19.0	11.0	12.0	6.2	1.7	25.5	19.1	5.4	0.45
<i>Durvillaea potatorum</i>	27.9	2.1	6.2	0.3	0.7	32.4	21.4	8.9	0.57
<i>Lessonia nigrescens</i>	26.2	8.1	13.0	2.0	0.9	12.9	29.1	7.8	0.82
<i>Alaria esculenta</i>	37.5	3.4	16.4	0.6	1.3	12.3	20.2	8.2	0.50
<i>Undaria pinnatifida</i>	32.6	0.0	25.2	0.5	0.4	4.0	29.6	7.7	0.85
<i>Pelvetia canaliculata</i>	38.3	3.0	5.6	0.1	0.0	4.3	43.0	5.7	1.4

Bu çalışmada *Fucus Vesiculosus* ve *Laminaria Japonica* olmak üzere iki farklı Fukoidan türü kullanılmıştır. *Fucus Vesiculosus* bilinen en basit ve karmaşık olmayan kimyasal bileşime sahip fukoidan türü olduğu için oldukça önemlidir. Ayrıca hali hazırda birçok çalışmada medikal alanda kullanılabilirliği incelenmiş ve antikoagülant etkisi gösterdiği görülmüştür. *Laminaria Japonica* ise içerdiği sülfat oranının diğer fukoidan türlerine nazaran daha fazla olduğu için seçilmiştir. Sülfat oranı arttıkça antikoagülant etkisinde artacağı düşünülmüştür.

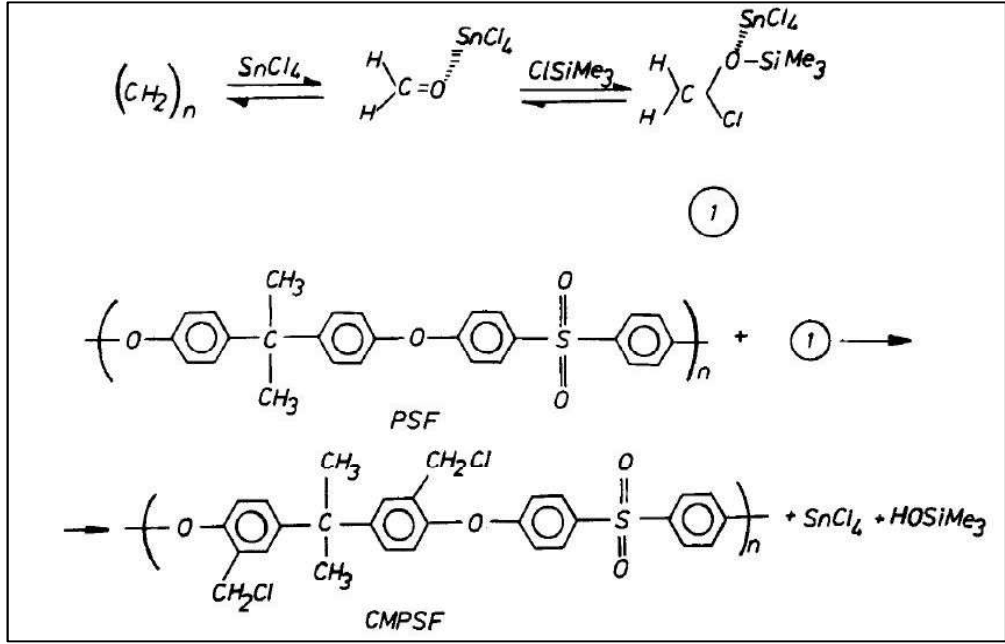
Fukoidan'ın oldukça önemli antikogulan etkinliği mevcuttur. Yapısı antikogulan'ın temel taşı olarak bilinen Heparin ile benzerlik göstermektedir [Ye et al., 2016]. Fucoïdan'ın antikoagulan etkinliği birçok araştırma grubu tarafından araştırılmıştır ve genellikle heparine kıyasla düşük olduğu gösterilmiştir [Kim et al., 2007]. Fakat Heparin memeli mukozasından üretildiği için, hayvansal virüslerin bulaşma riski mevcuttur. Fukoidan'ın bahsedilen biyolojik aktivitelerine ek olarak bitkisel kökenli olması hayvansal virüs riskini azaltmaktadır. Aynı zamanda düşük maliyeti, hamilelik döneminde kullanımının güvenli olması ve herhangi bir toksitesinin olmaması nedeniyle ideal bir antikoagulan olarak kullanılabilir [Kim et al., 2007].

4. MATERYAL-METOT

Öncelikle Polisülfon immobilizasyon yönteminin yapılabilmesi için modifiye edilmeli (Klorometilaston işlemi) ardından kan ile uyumu kolaylaştıracak heparin benzeri yapıda bulunan fukoidan ile yüzey modifikasyonu yapılmalıdır. Ardından çeşitli boyama teknikleri, membran yüzeyi görüntüleme ve analiz teknikleri kullanılarak yüzey modifikasyonunu yapıldığı tespit edilmelidir.

4.1. Polisülfon'un Klorometilasyonu

Polisülfonun klorometilasyonunun (CMPS) sentezi, Avram ve ekip arkadaşlarının uygulamış olduğu prosedüre benzer olarak gerçekleştirilmiştir [Avram et al., 1997]. Polisülfon (2.72 g); manyetik bir karıştırıcı, geri akış kondansatörü ve termometre ile donatılmış yuvarlak tabanlı bir şişede 100 mL kloroform içerisinde azot atmosferi altında 50°C' de ısıtılarak çözülmüştür. Sonrasında Klorometilleme ajanı olarak klorotrimetil silan kullanılmıştır. Katalizör olarak kalay (IV) klorür kullanıldı. Reaksiyon oranı; polimer: paraformaldeyhde: klorotrimetil silan: kalay (IV) klorür; 1: 10: 10: 0.1 olarak uygulanmıştır. Reaksiyon 72 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, karışım metanol içine çökelti oluşumu için dökülmüştür (5: 1 (v/v) metanol:CMPS çözeltisi oranı). Daha sonra polimer çökeltisi (CMPS), yaklaşık 2.5 L metanol ile yıkanmıştır. Yıkanan CMPS, 24 saat boyunca 60°C' de etüvde kurutulmuştur. Şekil 4.1'de Polisülfonun klorometilasyon reaksiyon şeması verilmiştir [Avram et al., 1997].



Şekil 4.1: CMPS reaksiyon şeması.

4.2. İmmobilizasyon Yöntemi

CMPS membranı, casting solution yöntemi ile hazırlanmıştır. 0.3 g CMPS, 10 mL DMF içerisinde $50^\circ C$ 'de çözüldü ve cam petri kaplarına dökülerek etüvde kurutulmuştur. Daha sonra elde edilen CMPS membranlarına Heparin ve Fukoidan immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. %1 (w/w) HEP (heparin) (Heparin sodium salt Grade I-A) ve FF (fukoidan) (Fucus Vesiculosus) çözeltisi, ayrı ayrı pH 7.4, 10 ve 13 olan su içerisinde hazırlanmıştır. Bu çözeltiler manyetik bir karıştırıcı ile $85^\circ C$ 'ye ısıtılmıştır. Daha sonra çözeltilere CMPS membranları (1x1 cm) ilave edilmiştir. 24 saat sonra membranlar alınarak damıtılmış suyla yıkandı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Tablo 4.1.'de Fukoidan ve heparin immobilizasyonu için deneysel koşullar gösterilmektedir. İkinci bir çalışma olarak Fukoidan Laminaria Japonica ile bir önceki çalışmada hazırlanıp kullanılan CMPS membranlarına immobilizasyon gerçekleştirilmiştir. Fukoidan Laminaria Japonica çözeltisi, ayrı ayrı pH 7.4, 10, 13 olan su içerisinde %5, %10 ve %20 (w/w) konsantrasyonda hazırlanmıştır. Çalışmalar $55^\circ C$ ve $85^\circ C$ olmak üzere iki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. 24 saat sonra membranlar Fukoidan Laminaria Japonica çözeltisinden alınarak damıtılmış su ile yıkanmıştır. Yıkanan membranlar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Tablo 4.2.'de Fukoidan (Laminaria Japonica)

immobilizasyonu için deneysel koşullar gösterilmektedir. Ayrıca Polisülfon için önerilen iki aşamalı prosedürün şeması Şekil 4.1.'de verilmektedir.

Tablo 4.1:Fukoidan (*Fucus Vesiculous*) ve Heparin immobilizasyonu için deneysel koşullar.

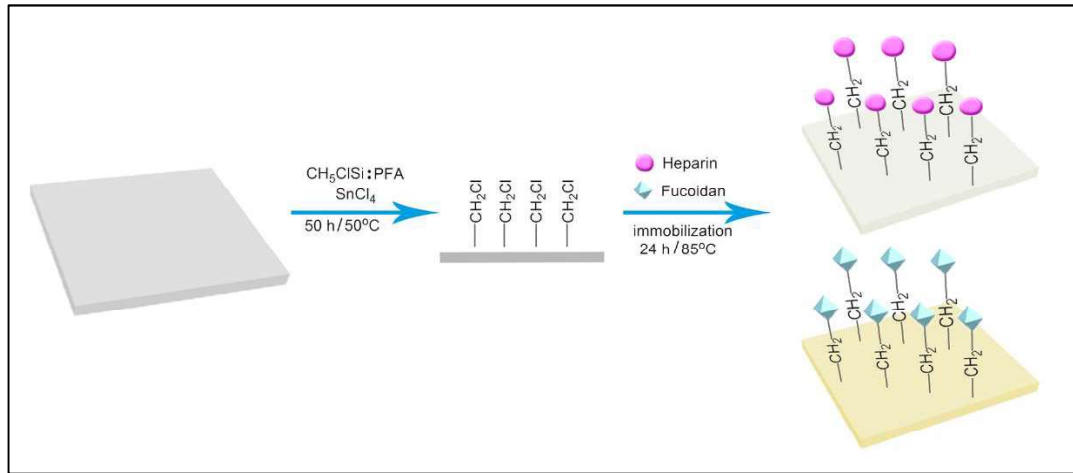
Örnek İsmi	Sıcaklık (°C)	pH	Zaman (sa)
FUC7.4	85	7.4	24
FUC10	85	10	24
FUC13	85	13	24
HEP7.4	85	7.4	24
HEP10	85	10	24
HEP13	85	13	24

Tablo 4.2: Fukoidan (*Laminaria Japonica*) immobilizasyonu için deneysel koşullar.

Örnek İsmi	pH	Sıcaklık (°C)	Konsantrasyon (w/v)
F5-55-7.4	7.4	55	5
F5-85-7.4	7.4	85	5
F10-55-7.4	7.4	55	10
F10-85-7.4	7.4	85	10
F20-55-7.4	7.4	55	20
F20-85-7.4	7.4	85	20
F5-55-10	10	55	5
F5-85-10	10	85	5
F10-55-10	10	55	10

Tablo 4.2: Devam.

F10-85-10	10	85	10
F20-55-10	10	55	20
F20-85-10	10	85	20
F5-55-13	13	55	5
F5-85-13	13	85	5
F10-55-13	13	55	10
F10-85-13	13	85	10
F20-55-13	13	55	20
F20-85-13	13	85	20



Şekil 4.2: Polisülfon için önerilen iki aşamalı prosedür şeması.

4.3. Karakterizasyon

CMPS karakterizasyonu; ^1H NMR spektrumları CDCl_3 çözücü ve iç standart olarak tetrametilsilan kullanılarak Bruker 500 Mhz spektrometre (Massachusetts, ABD) ile kaydedilmiştir. Fukoidan ve heparin immobilize edilmiş membranların genel ve kısmi taraması XPS-PHI (5000 Versa Probe, Minnesota, ABD) cihazı ve Al monokromatik X-ışını anodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Membranların yüzey topografileri Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM, Nanomagnetics Instruments, Oxford, UK) kullanılarak analiz edilmiştir. Ayrıca Raman haritalama ölçümleri, Stream HR tekniği ile Renishaw Raman spektroskopisi (UK) kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca yüzey hidrofiliğinin arttığını ve immobilizasyonun gerçekleştiğini

destekleyen Metilen Mavisi ve Fukoidan (*Laminaria Japonica*) için Toluidin Mavisi renk analizi de yapılmıştır. Fukoidan (*Laminaria Japonica*) çalışması için yüzey hidrofiliğinin arttığını gösteren Temas Açısı analizi (dinamik), Attension Theta (Biolin Scientific, İsveç) cihazı kullanılarak immobilize edilen CMPS membranlar için uygulanmıştır. Renk analizleri ölçümünde Renk Tayin Cihazı (Konica Minolta CM-5, Tokyo, Japonya) kullanılmıştır.

4.3.1. Kan Pıhtılaşma Süresi Ölçümü

Beş sağlıklı kadın gönüllüden Na sitrat tüplerine 2 mL kan alındı. 0.003 g toz numuneler, üç kopya halinde 96 oyuklu bir kültür plakasına yerleştirildi. Tozlar üzerine 50 µL kan ve 5 µL 0.1 M CaCl₂ ilave edildi ve zamanla trombus oluşumu gözlemlendi [Wang et al., 2013].

4.3.2. Hemoliz Testi

Risbud ve Bhonde'un makalesine göre Hemoliz testi yapılmıştır [Risbud and Bhonde, 2011]. Üç sağlıklı bireyden 2 mL tam kan, antikoagülan olarak sodyum sitrat içeren (antikoagülan:kan oranı 1: 9) kan toplama tüplerine alındı ve 2000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Serum atıldı, eritrositleri elde etmek için pıhtı beş kez 5 mL DPBS ile yıkandı ve 10 mL DPBS içerisinde süspanse edildi. Membranlar (filmler), 24 oyuklu bir kültür plakasına yerleştirildi ve 2 saat UV'ye maruz bırakılarak sterilize edildi, ardından DPBS'de 30 dakika bekletildi. Daha sonra DPBS çıkarıldı ve membranlara 1 mL eritrosit çözeltisi kondu. Negatif kontrol için, 800 µl eritrosit çözeltisi 200 µl distile su ile çözüldü. Pozitif kontrolise, 200 µl DPBS ile karıştırılmış 800 µl eritrosit çözeltisinden oluşmaktadır. Membranlar eritrosit çözeltileri içinde 2 saat boyunca, 37 ° C'de nemli ortamda inkübe edilmiştir. Inkübe edilen membranlar, 2000 rpm'de beş dakika santrifüj edilmiştir. Serbest kalan hemoglobin, spektrofotometre ile 545 nm'de ölçülmüştür. Hemoliz oranı verilen formülle hesaplanmıştır:

$$\text{Hemoliz \%} = \frac{(\text{Süspansiyon OD}) - (\text{Pozitif kontrol OD})}{(\text{Negatif kontrol OD}) - (\text{Pozitif kontrol OD})} \times 100 \quad (4.1)$$

4.3.3. Sitotoksosite Çalışmaları

Malzemelerin sitotoksik potansiyelini değerlendirmek için fare fibroblast hücre çizgisi 3T3 kullanılmıştır. 3T3 hücreleri, biyomalzemelerin uyumluluğunu değerlendirmek için sıklıkla kullanılmaktadır [Tang et al., 2012]. Biyomalzemeler (membranlar), 48 oyuklu bir doku kültür plakasına yerleştirilerek 2 saat UV ışığına maruz bırakılarak sterilize edilmiştir. Sterilize edilmiş biyomalzemeler, 37 ° C'de 2 saat boyunca Ca^{2+} ve Mg^{2+} kırmızısı (Gibco, USA) olmadan DPBS içine daldırılmıştır. % 10 FBS ve % 1 Penisilin-Streptomisin antibiyotik çözeltisi içeren fenol kırmızısı olmadan DMEM içinde süspanse edilmiş 3T3 hücreleri oyuk başına 5000 olarak ekilmiştir. Test birbirinden bağımsız olarak beş defa tekrar edilmiştir. 24 saat sonra, biyomalzemelerin sitotoksik potansiyellerini belirlemek için WST-1 bazlı bir sitotoksikoloji deneyi (Sigma Aldrich, Germany) yapılmıştır. Bağlı toksisite (RT) değerleri aşağıdaki formülle belirlenmiştir:

$$RT\% = \frac{\text{Örnek Absorbansı} - \text{Kültür Ortam Absorbansı}}{\text{Hücre Kültürü (CC) Absorbansı} - \text{Kültür Ortamı (CM) Absorbansı}} \times 100 \quad (4.2)$$

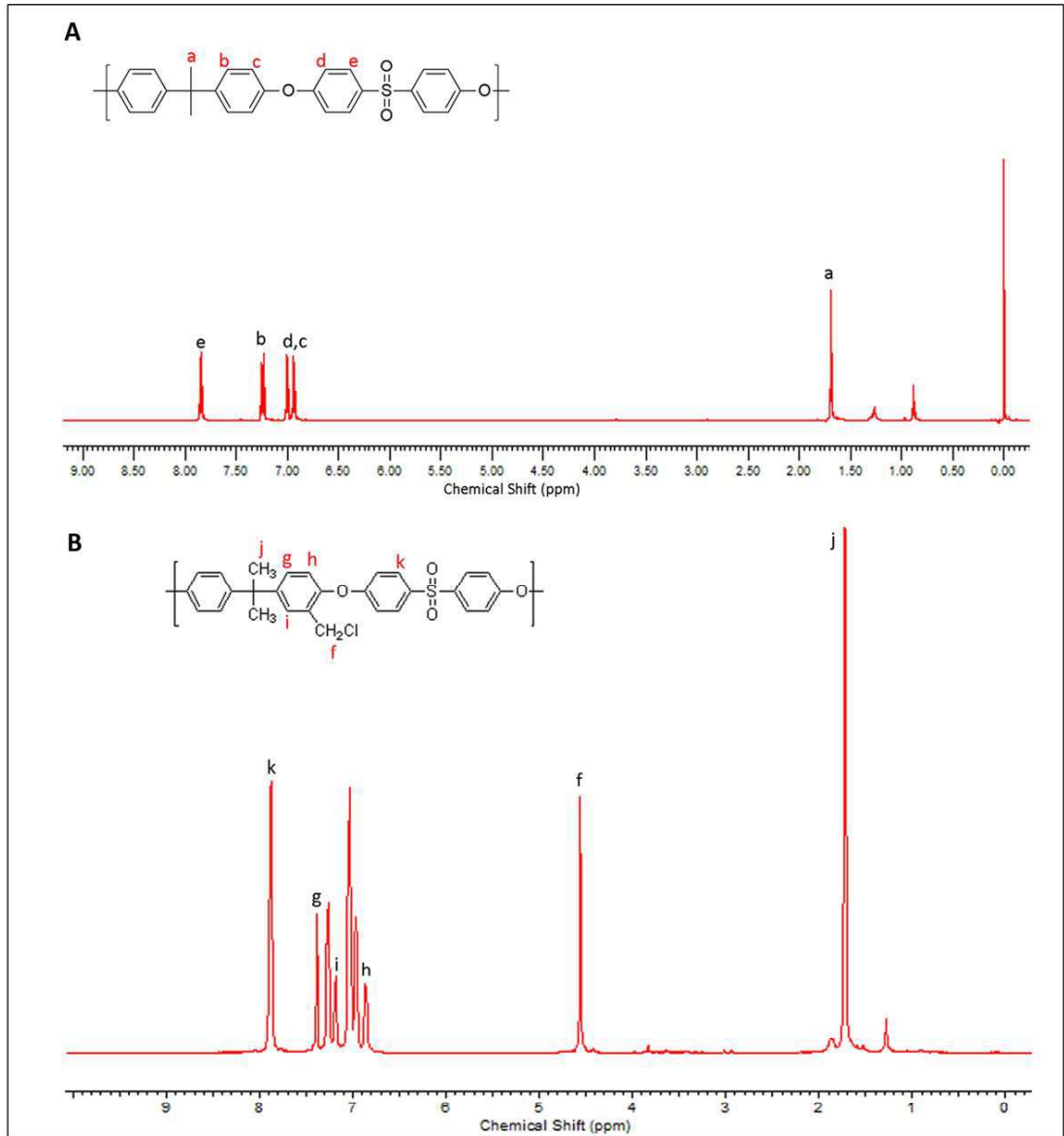
4.3.4. Protein Adsorpsiyon Deneyi

Protein adsorpsiyon deneyleri belirtilen protokolü temel alan bir tahlil ile yapılmıştır [Meng et al., 2012]. Sığır serum albümini (BSA), damıtılmış su içinde 500 µg/mL konsantrasyonda çözölmüştür. Standart eğri oluşturmak için 250, 125, 62.5, 31.25 ve 7.8 µg/mL çözelti elde etmek için seri dilüsyonlar (seyreltme) yapılmıştır. Protein standartlarının absorbansları, Pierce™ BCA Protein Test Kiti (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile belirlenmiştir. Zarların protein adsorbe edici özelliklerini değerlendirmek için, membranlar kesilerek 96 oyuklu kültür plakasına yerleştirilmiştir ve nemli ortamda 37°C' de 2 saat boyunca 500 µg/mL'de protein çözeltisine batırılmıştır. İnkübasyondan sonra, protein çözelti çıkarılarak bağlanmamış protein konsantrasyonları, absorbansı standart eğriye uyarak ölçölmüştür.

5. SONUÇLAR

Kan ile temas eden polisülfon yapısı gereği hidrofobik olduğu için polisülfon membranlarının kan uyumluluğunun geliştirilmesi gerekmektedir. Bu sebeple Polisülfon türevleri ile yapılan bir araştırmada yüzey kimyasal reaksiyonu ile polisülfon membran modifiye edilmiştir. Elde edilen verilere göre -OH, -COOH ve -SO₃H ile modifiye edilen membranların hidfofilik özelliklerinde açıkça bir artış gözlenmiş ayrıca -COOH ve -SO₃H grupları ile modifiye edilen membranlarda kan uyumluluğu gelişme göstermiştir. Ayrıca karboksil, sülfonik ve hidroksil grupları kirlilik önleyici malzeme ve kanla temas eden malzemelerin tasarımı için daha uygun olabileceği kanısına varılmıştır [Xiang et al., 2014]. Sülfonik gruplar; yüksek hidrofiliği ile biyo arayüzeylerde etkili olarak protein adsorbsiyonu ve trombosit yapışmasını önleyebilir aynı zamanda düşük seviyede temas aktivasyonu sağlayarak kan ile temas eden cihazların uygulamalarında mükemmel bir potansiyel sunabilmektedir [Nie et al., 2014]. Heparin veya Fukoidan gibi doğal biyopolimerler, sentetik polimerlerin biyoaktivite ve biyouyumluluk problemleri nedeniyle bu polimerler kullanılarak yapılan biyomalzemelerin modifikasyonu için gereklidir. Aralarında kimyasal bağlar oluşturarak sentetik polimerlerin doğal biyopolimerlerle modifikasyonlarını sağlayan yöntemler, maliyet ve zaman sorunları nedeniyle genellikle kısıtlanmaktadır [Xie et al., 2015]. Bu nedenle, tıbbi malzemelerin modifikasyonunda kolay yöntemler tercih edilmelir. Bu çalışmada, Polisülfonun suda çözünür doğal polimerlerden olan Fukoidan ve Heparin ile modifiye edilmesi için iki aşamalı prosedür çalışılmıştır. Bu prosedür oldukça basit ve uygun maliyetli bir yöntem olması sebebiyle gerçekleştirilmiştir.

Polisülfonun (PS), CDCl₃ çözücüsü içerisinde analiz edilen ve Şekil 5.1a' da verilen ¹H-NMR spektrumunda, 6.90-7.85 ppm aralığındaki piklerin fenil protonu (b, c, d, e) olduğu görülmektedir. Ek olarak, 1.70 ppm de görülen pikin metil protonuna (a) ait olduğu belirtilmektedir [Meng et al., 2012], [Du et al., 2013]. Klorometillenmiş Polisülfon'un, CDCl₃ çözücüsü içerisinde analiz edilen ve Şekil 5.1b'de verilen ¹H-NMR spektrumunda, 4.55 ppm'deki pikin, CMPS'nin başarıyla klorometilendiğini gösteren CH₂Cl grubunun proton sinyali olduğu söylenilebilmektedir [Meng et al., 2012], [Du et al., 2013], [Gaina et al., 2010].



Şekil 5.1: a) Polisülfon (PS), b) Klorometillenmiş Polisülfon (CMPS), ¹H-NMR spekturumu.

5.1. Fukoidan Fucus Vesiculosus ve Heparin Çalışması Sonuçları

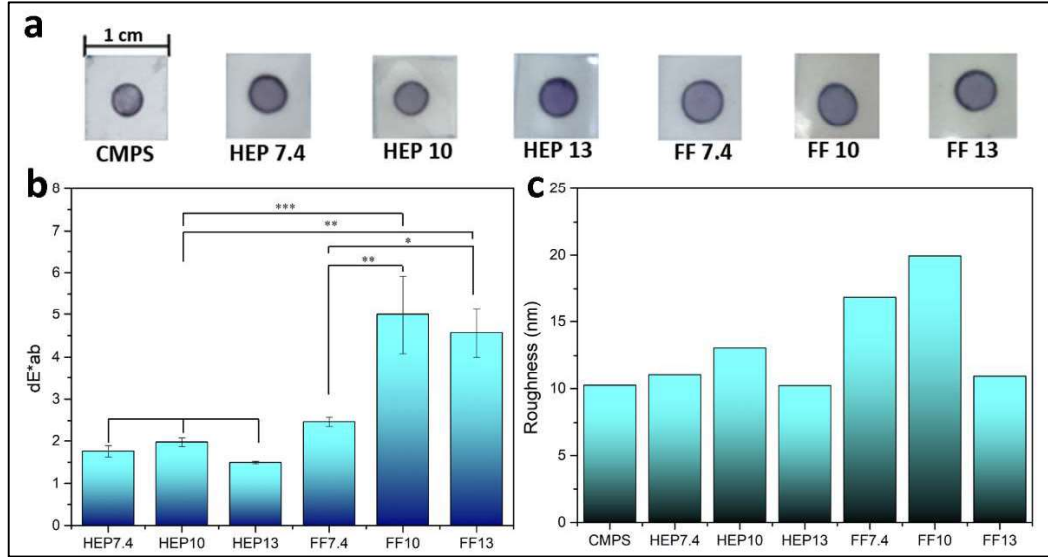
XPS sonuçlarının element analizi, Tablo 5.1. 'de verilmiştir. Reaksiyon (immobilizasyon), klorür iyonu değiştirilerek hidroksil gruplarının klorometillenmiş gruba bağlanması ile gerçekleşmektedir. Klor (Cl) reaksiyon verimliliği için önemli bir işarettir. pH 13'te gerçekleştirilen örneklerde Cl saptanmamıştır. Heparin ve Fukoidan yapısında da bulunan Sülfür (S) pH 13'te elde edilen örneklerde pH 7.4 ve 10'daki örneklerle kıyasla önemli ölçüde artmıştır.

Tablo 5.1: İmmobilize membranların elemental yüzey bileşimleri

Örnek İsmi	C _{1s}	O _{1s}	N _{1s}	Cl _{2p}	S _{2p}
FF7.4	70.9	23.6	3.0	0.9	0.5
FF10	70.3	23.5	3.1	1.1	0.8
FF13	75.7	19.3	3.3	-	2.0
HEP7.4	71.9	20.9	1.1	1.0	1.1
HEP10	73.1	21.0	1.3	1.1	1.2
HEP13	76.1	19.0	2.4	-	1.7

İmmobilize olan CMPS membranlarda, immobilizasyon işlemi sonrasında opak ve beyazımsı bir renk değişimi gözlenmektedir. Bu renk değişimleri herhangi bir işlem uygulanmamış CMPS membran referans alınarak renk analiz ölçümleri yapılmıştır. Şekil 5.2.a ve b’de bu değişim gösterilmektedir. pH=10 gerçekleştirilen reaksiyonlar hem Heparin hem de Fukoidan’ın immobilizasyonu için daha etkili bir fark yaratmaktadır. Heparin immobilizasyonu için HEP7.4 ve HEP10 arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır. Fukoidan immobilizasyon için ise FF10 ve FF13 arasında da istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). FF7.4’ ün fukoidan immobilizasyon işlemi için en az etkili yöntem olduğu görülmektedir ($p>0.05$). Ek olarak HEP13, HEP10 ve HEP7.4’ e kıyasla daha düşük renk değişimi gözlemlenmiştir. Renk analizleri aynı gruptaki beş farklı numune ile yapılmıştır. Bu renk analizleri immobilizasyon işleminin etkinliği hakkında bir ipucu vermesine rağmen numunelerin yüzey pürüzlülüğü nedeniyle ışığın saçılmasından etkilenebilmektedir. Bu sebeple yüzey topografisi ve pürüzlülüğü için AFM cihazı ile ileri analiz yöntemi uygulanmıştır.

İmmobilizasyon işlemi, membranların yüzey özelliklerini etkilemektedir. Membranların AFM analizinin, immobilize edilen Heparin ve Fukoidan’a bağlı olarak CMPS membranlarındaki immobilizasyon işleminin yüzey pürüzlülüğünü arttırdığı Şekil 5.2.c’de görülmektedir. Ayrıca tüm numunelerin pürüzlülük değerleri karşılaştırıldığında pH değişimi ile ilgili bir farklılık olmadığı gözlemlenmektedir.

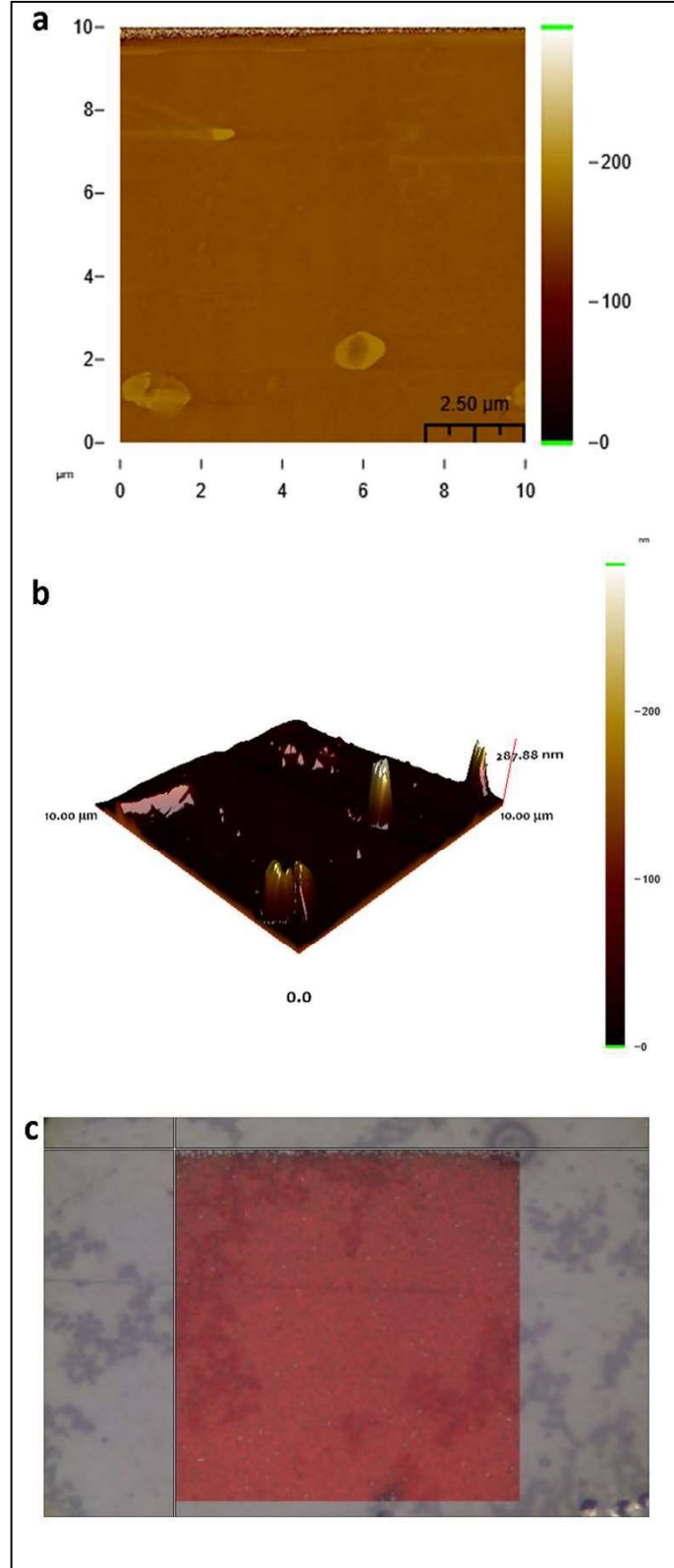


Şekil 5.2: a,b) Immobilize CMPS membranlarının renk değişimi, c) Yüzey Pürüzlülük Değerleri.

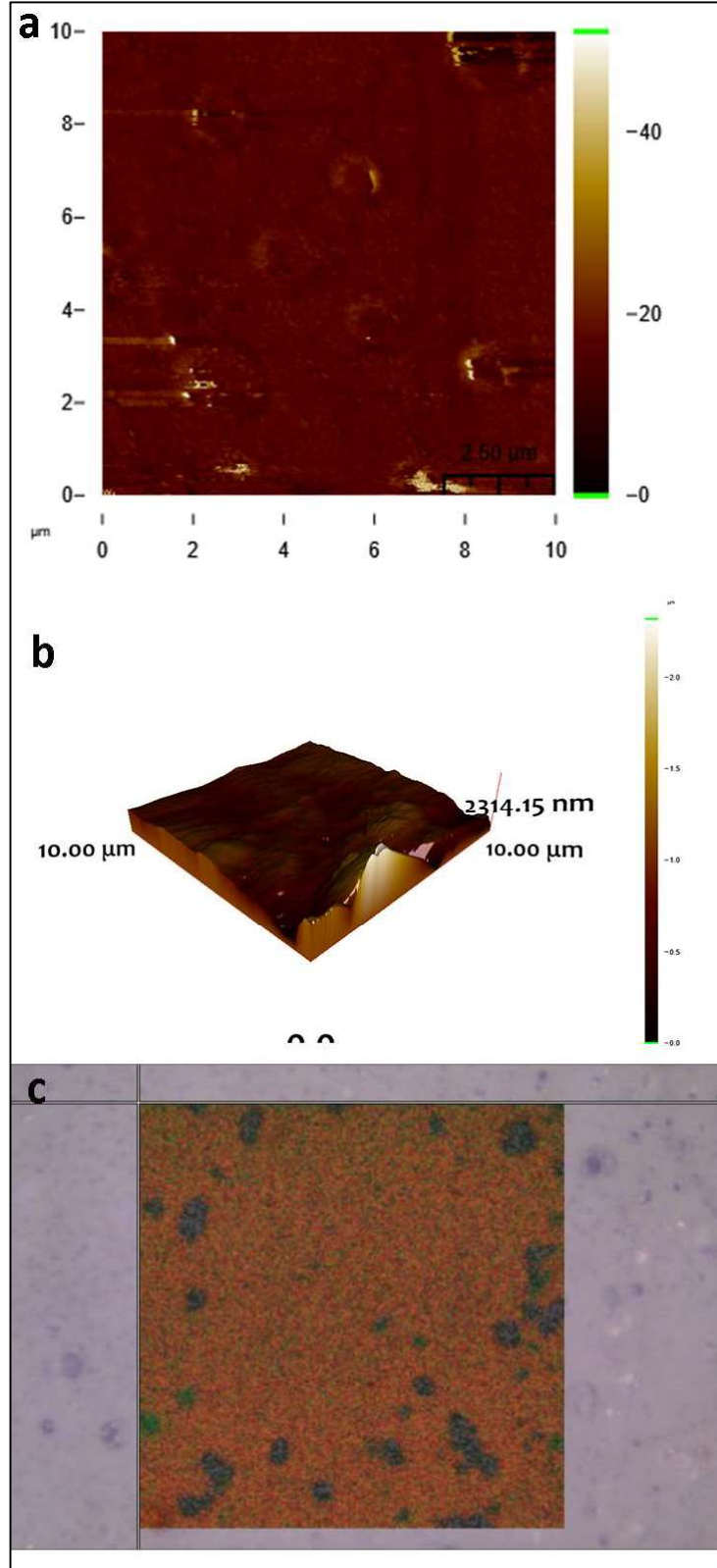
Suda çözünebilen mavi renkli boya olan Metilen Mavisi, malzemelerin hidrofilik özelliklerini gözlemlemek için kullanılabilinmektedir. Membranlar üzerine bir damla Metilen Mavisi çözeltisinden damlatılarak membranlar üzerinde kalan kuru lekeler üzerinde incelemeler yapılmıştır. Şekil 5.2.a'da Metilen Mavisi analizi sonrası membran resimleri mevcuttur. CMPS membranının da Metilen Mavisi damlasının çapı daha küçük iken, immobilize olan CMPS membranları üzerindeki damlaların çapları Fukoidan (*Fucus Vesicolous*) ve Heparin' in hidrofilik olması nedeniyle daha büyüktür (Şekil 5.2.b). Malzemelerin hidrofilik özelliklerinin olması kan ile uyumluluğunu arttırarak kan-malzeme etkisini sonucu oluşabilecek biyolojik etkileri azaltmaktadır. Heparin benzeri bir polisakkarit olan Fukoidan'ın, bu karakterizasyon yöntemleri ile CMPS membran üzerine başarılı bir şekilde immobilize edildiği görülmektedir.

Membranların AFM analizi ile polisakkarit olan Fukoidan veya Heparin'in CMPS membran üzerine immobilizasyonu sonucu yüzey pürüzlülüğünün arttığı ispatlanmıştır (Şekil 5.4-9.b). CMPS membranının yüzey pürüzlülüğü 10.25 nm'dir, immobilize olan CMPS membranları ise 32-240 nm arasında olmak üzere daha fazla pürüzlülüğe sahiptir. Analize göre CMPS membran yüzeyinin pürüzsüz olduğu gözlemlenmiştir. HEP13, pürüzsüz bir alt katmana ve üst katmanda ise pürüzlü bir yüzeye sahip iki katmanlı yapıdan oluşmaktadır. FF13' de ise düz bir katman gözlemlenmektedir. FF13, CMPS membran yüzeyine göre daha mat ve daha pürüzlü olmak üzere farklı bir yapıdadır. Fakat 3 boyutlu yüzey topografilerine bakıldığında

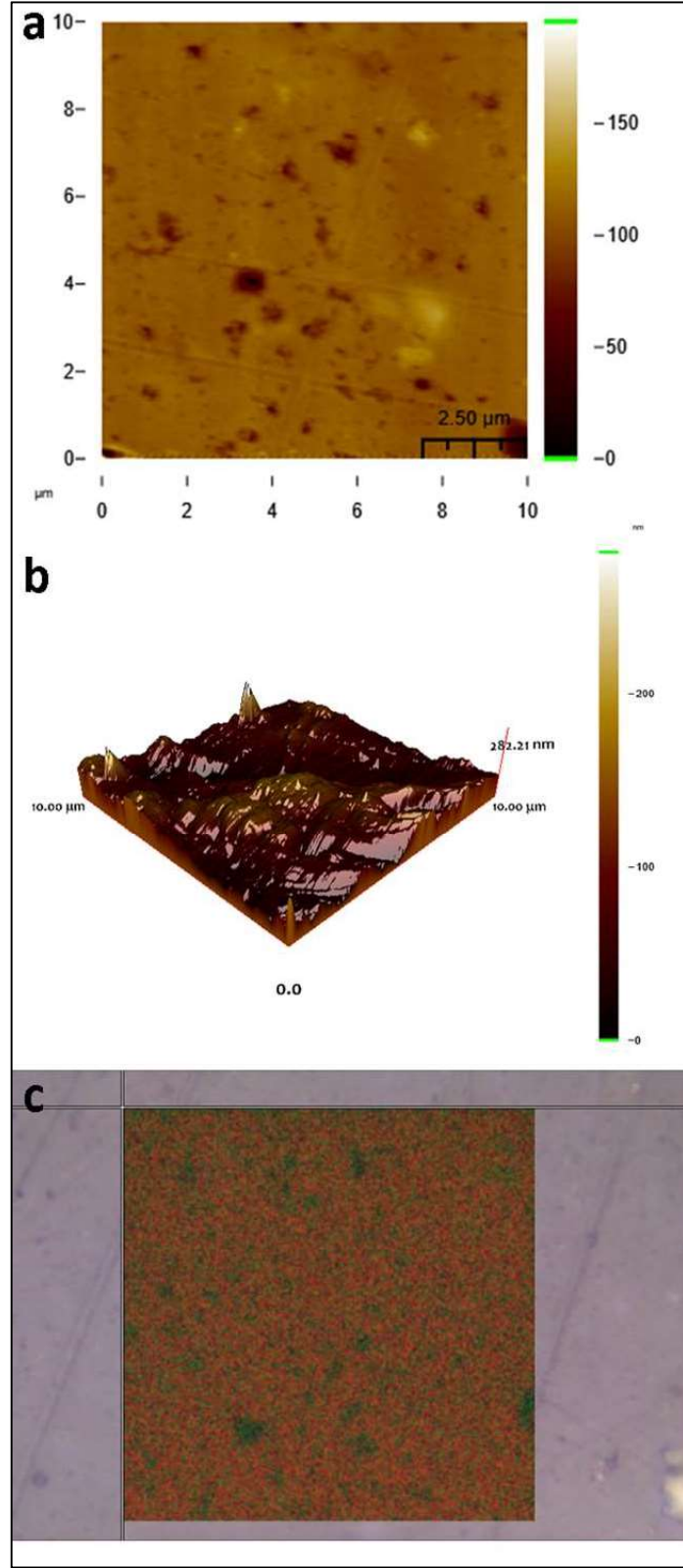
FF13'ün HEP13'e göre daha pürüzlü bir yapıya sahip olduğu Şekil 5.8-9.b'de görülmektedir.



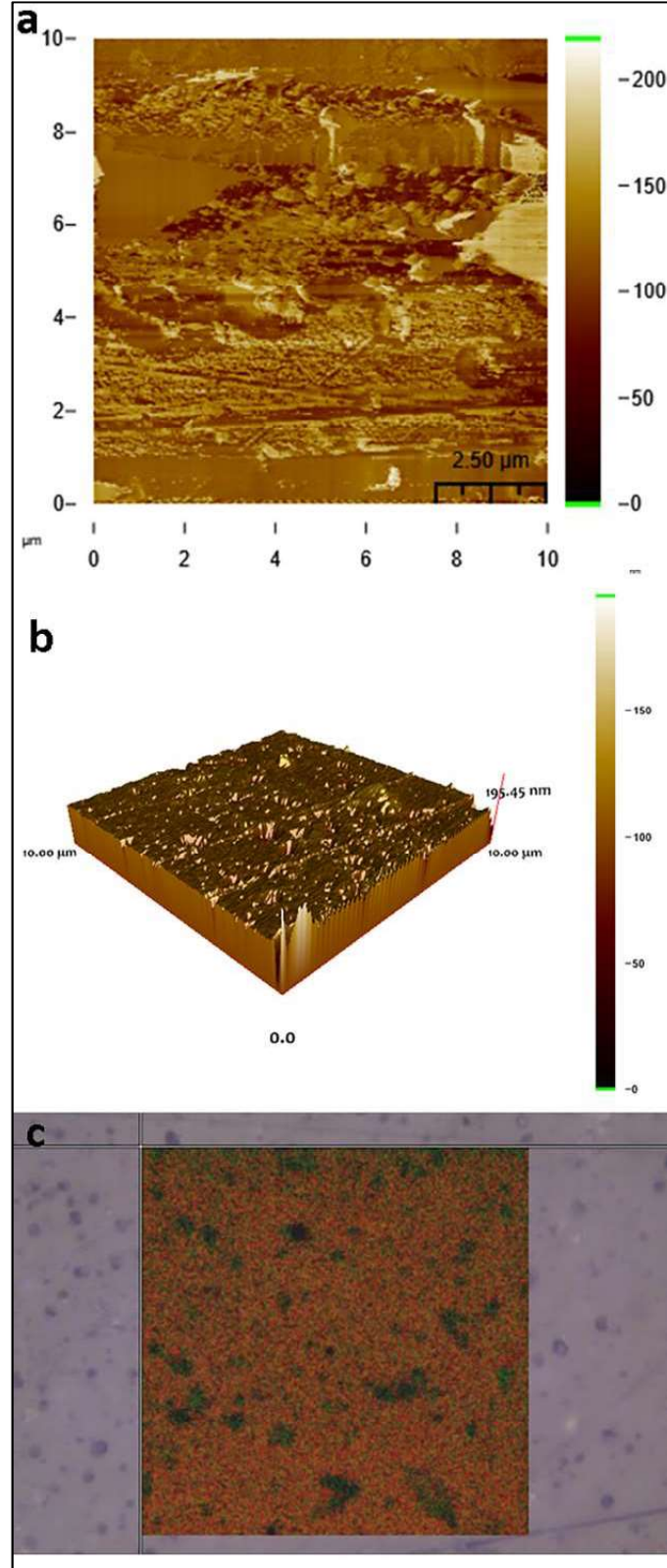
Şekil 5.3: a, b) CMPS'in AFM görüntüleri, c) CMPS'in Raman haritalaması.



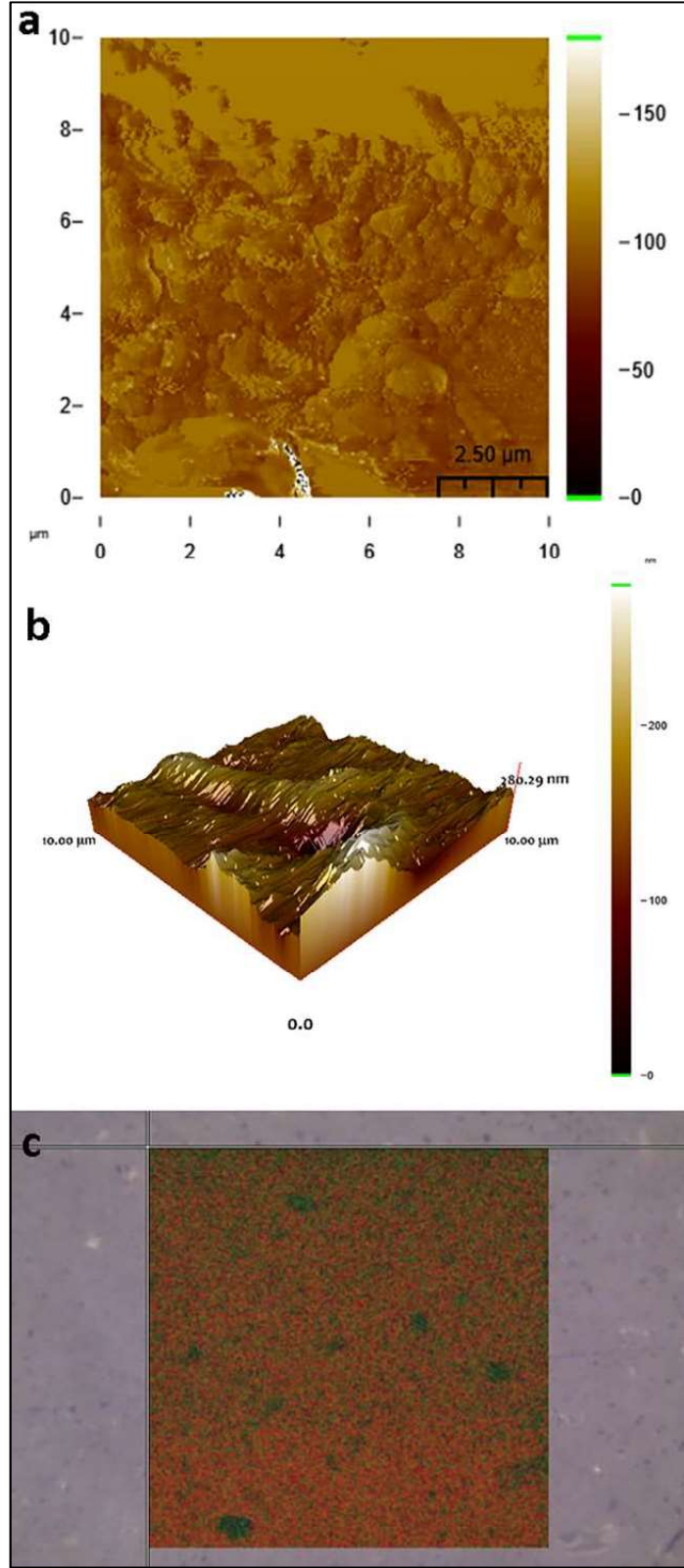
Şekil 5.4: a, b) HEP7.4' ün AFM görüntüleri, c) HEP7.4' ün Raman haritalaması.



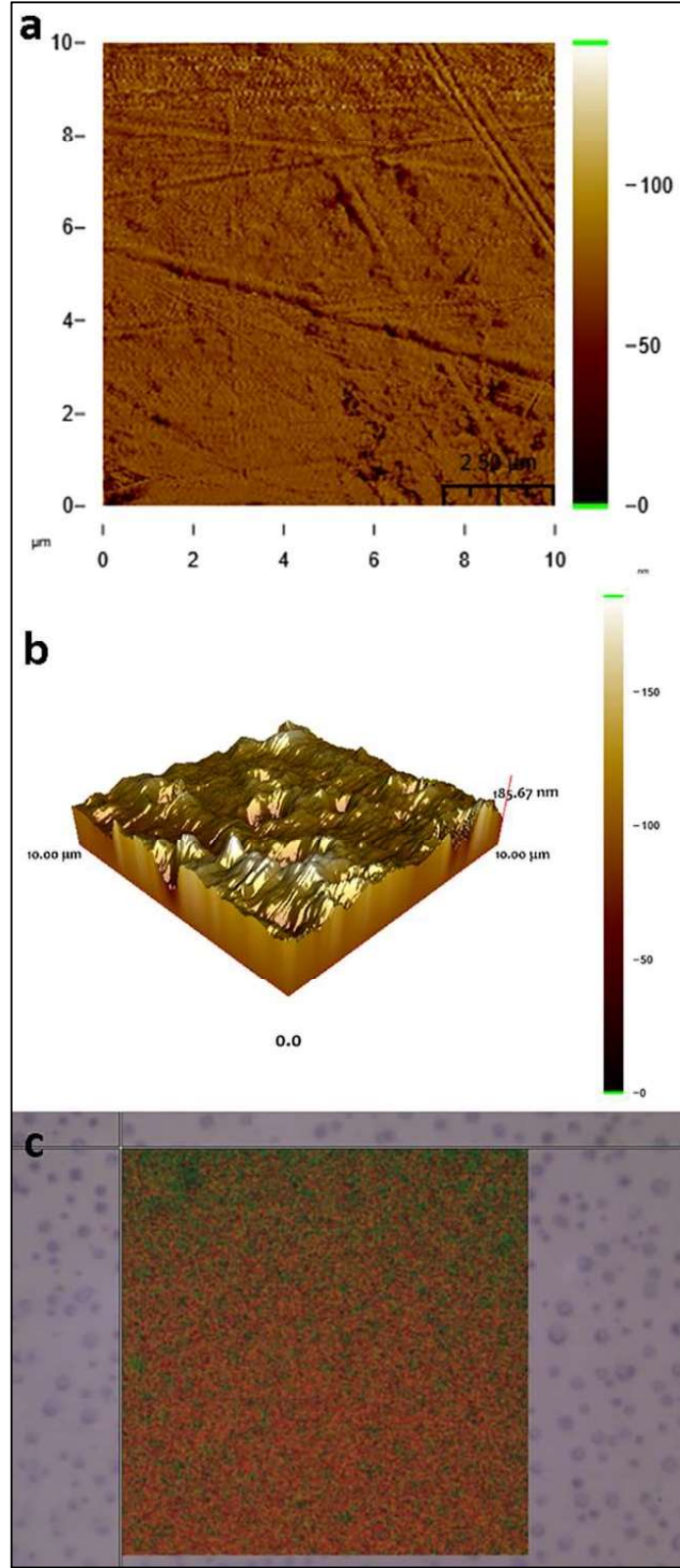
Şekil 5.5: a, b) FF7.4' ün AFM görüntüleri, c) FF7.4' ün Raman haritalaması.



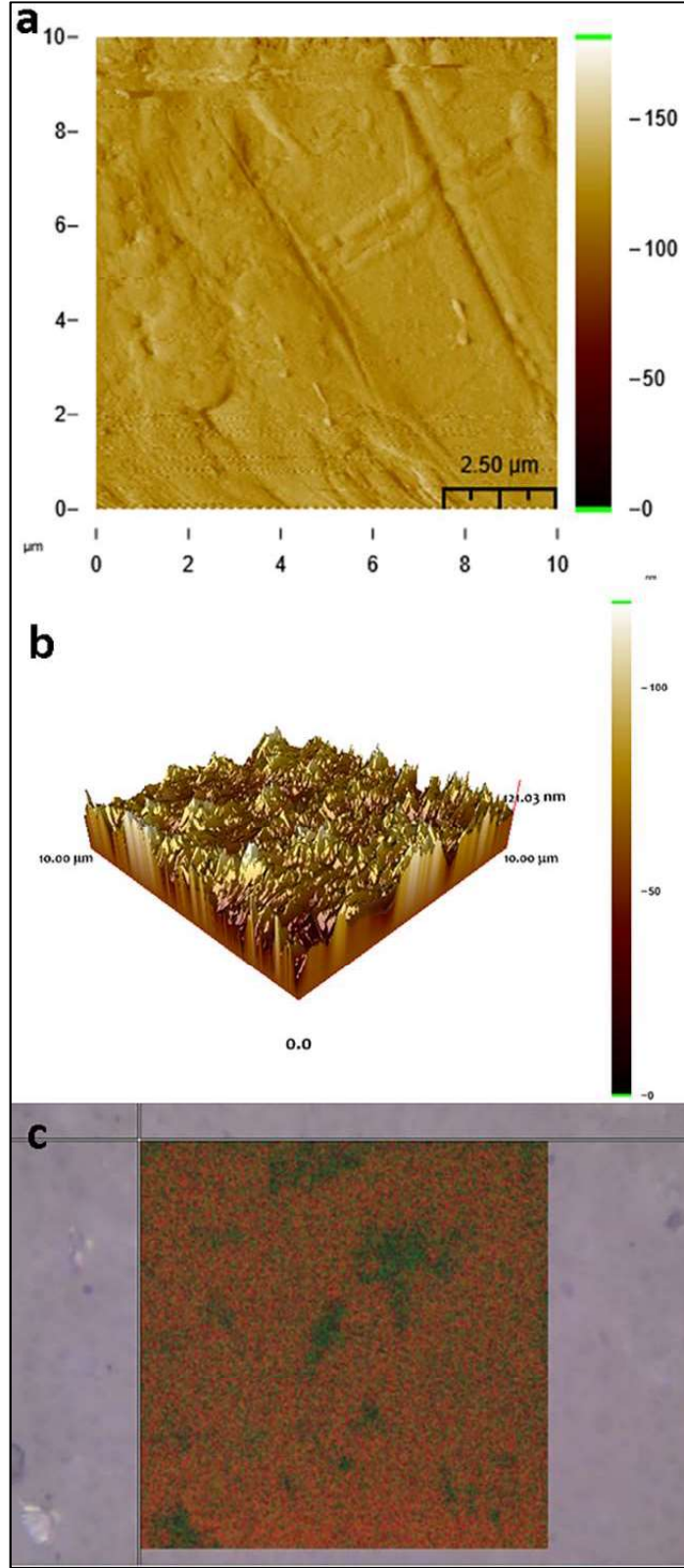
Şekil 5.6: a, b) HEP10' un AFM görüntüleri, c) HEP10' un Raman haritalaması.



Şekil 5.7: a, b) FF10' un AFM görüntüleri, c) FF10' un Raman haritalaması.



Şekil 5.8: a, b) HEP13' ün AFM görüntüleri, c) HEP13' ün Raman haritalaması.



Şekil 5.9: a, b) FF13' ün AFM görüntüleri, c) FF13' ün Raman haritalaması.

Raman haritalama analizi, AFM analizi bulgularına katkıda bulunmaktadır. Raman haritalama analizi, CMPS membranı, referans (target) alınarak yapılmaktadır.

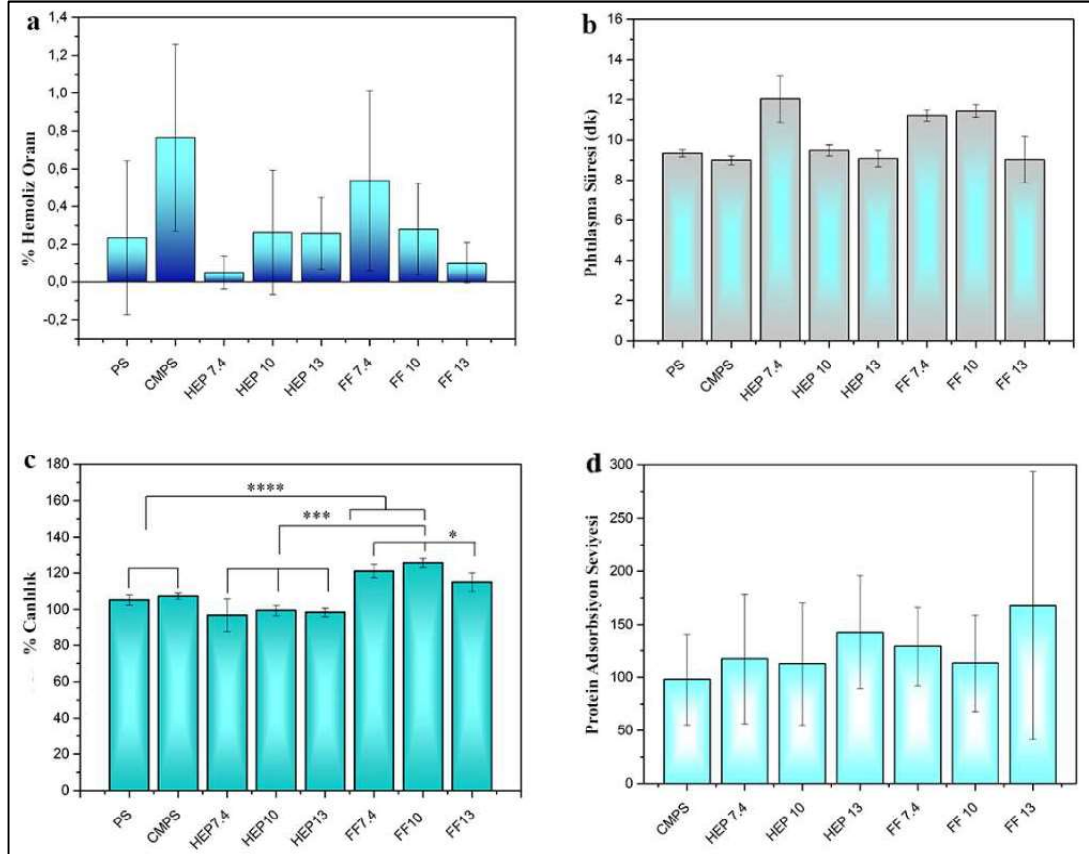
Öncelikle CMPS membranı analiz edilir, sonrasında membranlara immobilize edilen Fucoidan'ın toz halinin 1cm'sinde 100 sinyal dedekte ederek full spektrumlar halinde analiz edilir. Şekil 5.3.c CMPS membranını kırmızı, Şekil 5.4-9 c ise CMPS membranı üzerine immobilize edilen Fukoidan ve Heparin'i yeşil renkte göstermektedir. CMPS membranları üzerine immobilize edilen yapıların yoğunluğu hakkında net bir açıklama yapılamamasına rağmen CMPS membran üzerine immobilize edilen Fukoidan ve Heparin haritalama sonucunda gözlemlenebilmektedir.

Hemoliz terimi, kırmızı kan hücrelerinin (eritrositler) imhası olarak tanımlanmaktadır. Hemolizin, hemodiyaliz sırasında nadiren görüldüğü ancak bir kez meydana geldiğinde yaşamı tehdit edici bir komplikasyona yol açtığı bilinmektedir [Tharmaraj and Kerr, 2017]. Şekil 5.10a, gruplar arasında hemoliz oranlarını göstermektedir. Bu çalışmada, gruplar arasında hemoliz açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Ayrıca tüm grupların hemoliz oranları yüzde 0.8' in altındadır. Dolayısıyla hem fukoidan hem de heparin immobilizasyonunun düşük hemolitik aktivite gösterdiği sonucuna varılabilmektedir.

Taze tam kan ile yapılan pıhtılaşma süresi değerlendirmesi, malzemenin kanla temas ettiğindeki davranışı hakkında kısa vadeli sonuç vermektedir. Blok ve ekip arkadaşları, kan uyumluluk testleri için taze kan (tercihen kan alındıktan sonraki 2 saat içinde) kullanımının önemli olduğunu söylemektedir [Tang et al., 2012]. Bu çalışmada, üç gönüllüden alınan taze kan 2 saat içinde kullanılmış ve sonuçların güvenilirliğini artırmak için her kan numunesi için ölçüm üç katı tekrarlanmıştır (her numune materyali için dokuz ölçüm). Şekil 5.10b, modifiye membran yüzeylerine uygulanan tam kanın pıhtılaşma zamanını vermektedir. Tüm modifiye edilmiş membranlar, CMPS'ye kıyasla daha uzun bir kan pıhtılaşma süresi göstermiştir. Membran örnekleri arasında, HEP7.4 en uzun kan pıhtılaşma süresini göstermiştir. HEP7.4 isimli numunenin ardından diğer membranlara göre FF10 en uzun kan pıhtılaşma süresini göstermiştir. Ancak, kan pıhtılaşma süresi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Pıhtılaşma süresinin bireyler arasında değişebileceği ve deney tekrarlarının yanı sıra daha fazla sayıda hastaya ihtiyaç duyabileceği de düşünülmelidir [Gantela and Thotakura, 2017].

Şekil 5.10c' de gösterildiği gibi, WST-1 deneyi, CMPS yüzeylerinin biyoaktif ve hidrofilik modifikasyonu nedeniyle, modifiye edilmiş tüm membranların, CMPS'ye ($p>0.05$) kıyasla hücre proliferasyonunu arttırdığını göstermektedir. FF13'ün aksine FF7.4 ve FF10 gruplarında, CMPS kontrolüne kıyasla canlılık önemli ölçüde artmıştır

($p < 0.05$). HEP grupları canlılık açısından önemli bir fark göstermemiştir ($p < 0.05$). Genel olarak, HEP gruplarıyla karşılaştırıldığında, FF grupları daha yüksek canlılık seviyeleri göstermektedir. Şekil 5.10d' de gösterildiği gibi, hem FF10 hem de HEP10 membran numuneleri, CMPS numunelerine kıyasla daha düşük protein adsorbe edici özellikler göstermiştir; ancak, gruplar arasında protein adsorbansı açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$).



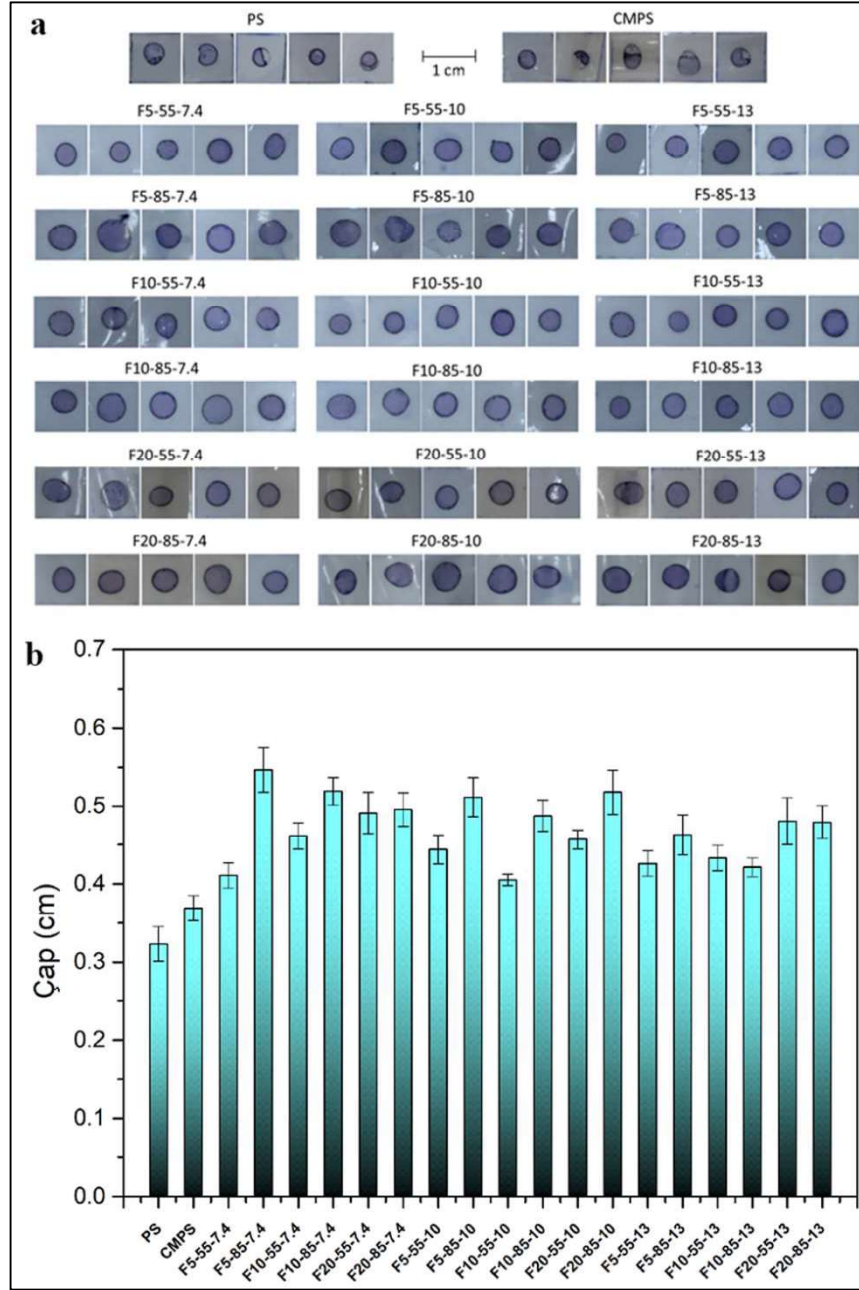
Şekil 5.10: a) Hemoliz oranı, b) İn vitro kanın pıhtılaşma zamanı, c) Membranların sitotoksitesitesi, d) Protein adsorpsiyon seviyesi, *, **, *** ; $p < 0.05$ 'in anlamlı farkını göstermektedir.

Kullanılan Fukoidan *Fucus Vesiculosus* ve Heparin'in oldukça pahalı olması ve gramaj olarak az miktarlarda satılması gibi kısıtlayıcı sebeplerden dolayı Fukoidanın başka bir çeşidi olan Fukoidan *Laminaria Japonica* ile çalışmalara devam edilmiştir. Ayrıca Fukoidan konsantrasyon miktarının çalışmaya etkisinin incelenmesi için *Laminaria Japonica* ile çalışmalar sürdürülmüştür.

5.2. Fukoidan Laminaria Japonica Çalışma Sonuçları

Fukoidan kahverengi deniz yosunlarından elde edilmektedir. Farklı kahverengi deniz yosun kaynaklarından elde edilen fukoidanların yapısı da birbirlerinden farklı olmaktadır. Bu çalışmada farklı bir kaynaktan elde edilen Laminaria Japonica türü olan Fukoidan, CMPS membranları üzerine immobilize edilmiştir. 55°C ve 85°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta, %5, %10 ve %20 (w/w) fukoidan konsantrasyonu içeren çözelti pH; 7,4,10,13 değerinde hazırlanarak immobilize işlemi gerçekleştirilmiştir.

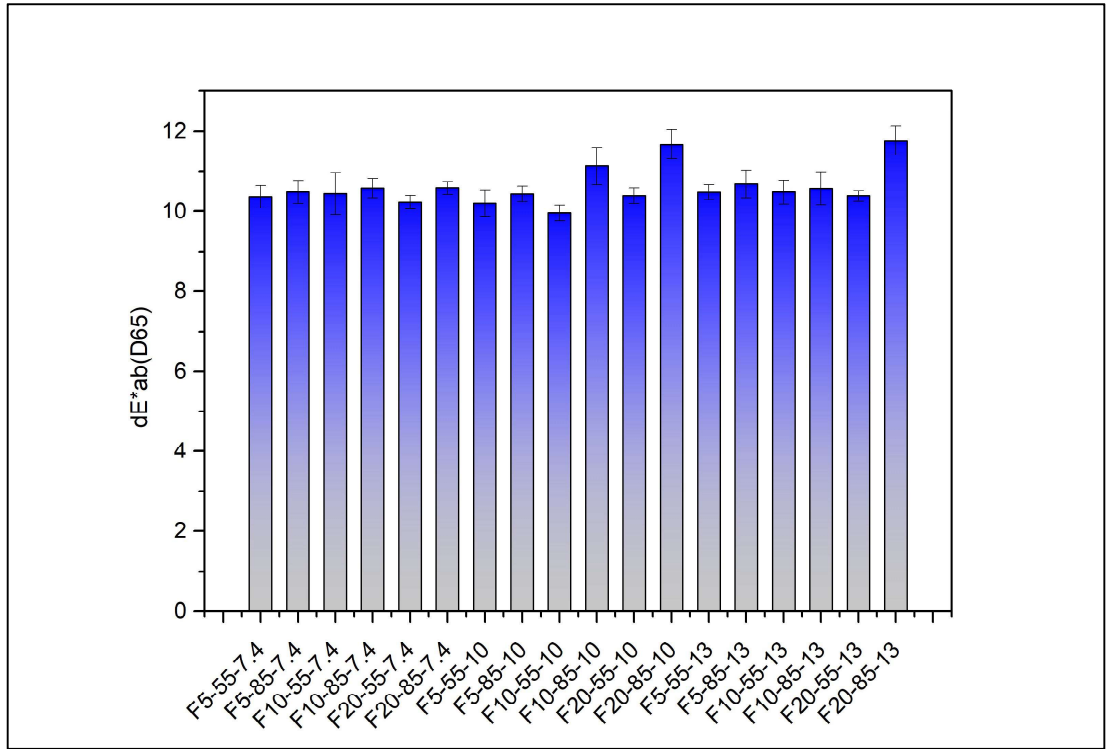
İmmobilize işlemi sonrası membranlar Metilen Mavisi, Toluidin Mavisi ve Temas Açısı ölçüm yöntemleri ile karakterize edilmiştir. Şekil 5.11a'da gösterildiği gibi PS, CMPS ve immobilize edilen membranlar üzerine Metilen Mavisi damlatılmış ve kuruyan damlalar İmage J programı ile ölçülmüştür. Şekil 5.11b'de ölçülen çapların grafiği hazırlanmıştır. Açıkça görüldüğü gibi immobilize edilen membranlar hiçbir immobilize işlemi yapılmadan hazırlanan PS ve CMPS membranlarından daha geniş çaplara sahiptir. Dolayısıyla immobilize edilen membranların PS ve CMPS membranlarına göre daha hidrofilik oldukları rahatça söylenilebilmektedir.



Şekil 5.11: a) Membranlar üzerindeki kuru Metilen Mavisi damlaları, b) Kuru metilen Mavisi damla çapları grafiği.

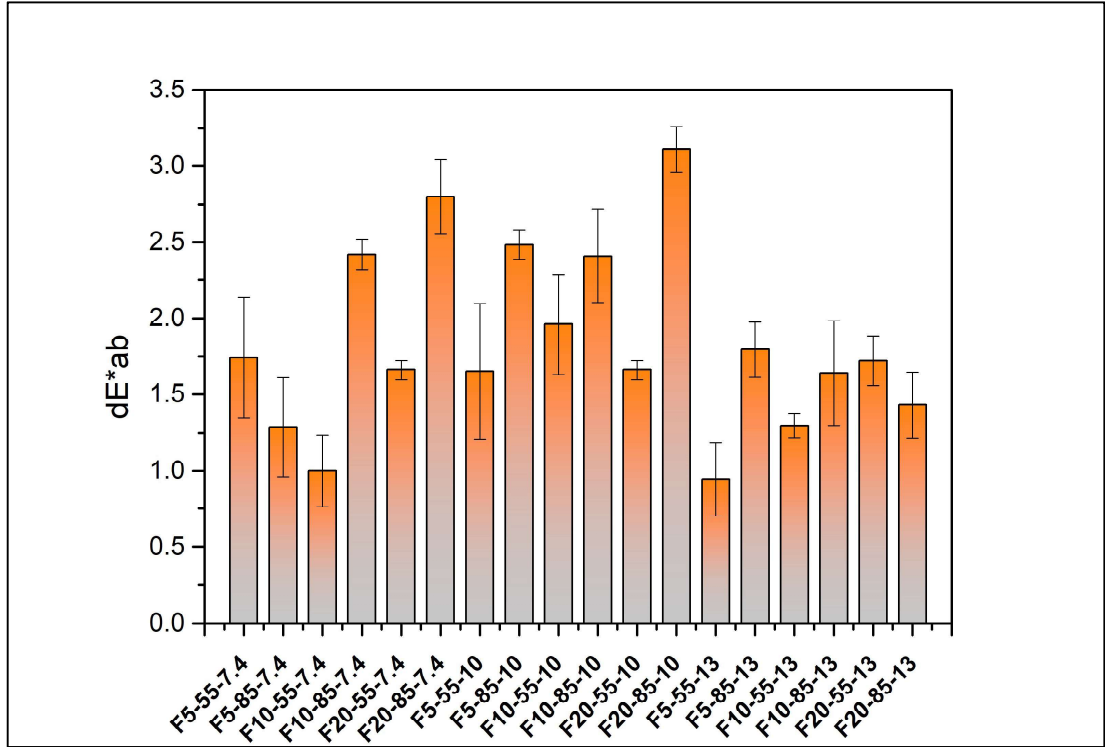
İstatiksel olarak CMPS ile F5-85-7.4, F10-85-7.4 kodlu membranlar arasında anlamlı fark bulunmuş olup her iki membranın çaplarının CMPS'ye göre daha büyük olduğu gözlemlenmiştir. PS ile F5-85-7.4, F5-85-10, F10-85-7.4 ve F20-85-10 kodlu membranlar arasında anlamlı fark görülmüş olup membranlara kıyasla F5-85-7.4 kodlu membran çap ortalamasının daha büyük olduğu saptanmıştır. Genel olarak incelendiğinde 85°C'de işlem görmüş membranların çap ortalamalarının daha büyük olduğu farkedilmiştir.

İmmobilize edilen membranlar Toluidin Mavisi çözeltisi içerisinde koyularak 1 saat boyunca çalkalanmıştır. 1 saat sonunda membranlar saf su ile yıkanarak renk tayin cihazı ile renk analizleri yapılmıştır. Şekil 5.12’de renk ölçüm sonuçlarının grafiği gösterilmektedir. Renk analizleri CMPS membranı referans alınarak yapılmıştır. Ayrıca immobilize işleminden sonra immobilize membranlarda PS ve CMPS membranlarına göre gözle görülebilir bir renk değişimi farkedilmiştir. Bu sebeple Toluidin Mavisi testi yapılmadan önce immobilize edilen membranlar renk tayin cihazında renk ölçümleri yapılmıştır. Şekil 5.13’de immobilize edilen membranların Toluidin mavisi testi yapılmadan önce ölçülmüş renk analizi grafiği mevcuttur.



Şekil 5.12: Toluidin Mavisi testi sonrası renk analiz sonuçları.

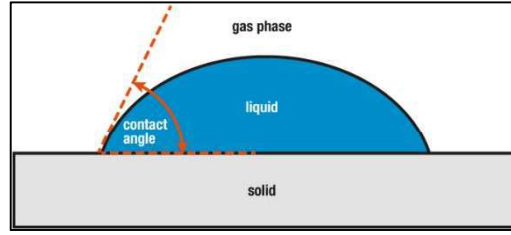
Toluidin Mavi renk testi sonuçları Şekil 5.6’daki grafikte gösterilmektedir. Grafikteki sonuçlara göre tüm immobilize membranlar CMPS referans alınarak test edildiğinden hepsinin Toluidin Mavisi ile boyanmışlık oranı CMPS’ye göre daha fazla olduğu görülmüştür. F20-85-10 ve F20-85-13 kodlu membranların boyanmışlık oranı diğer membranlara oranla daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. İstatiksel olarak F10-55-10 ile F20-85-10 ve F20-85-13 arasında anlamlı fark bulunmuş olup F20-85-10 ile F20-85-13 kodlu membranların F10-55-10 membranına göre daha fazla boyanmış olduğu saptanmıştır.



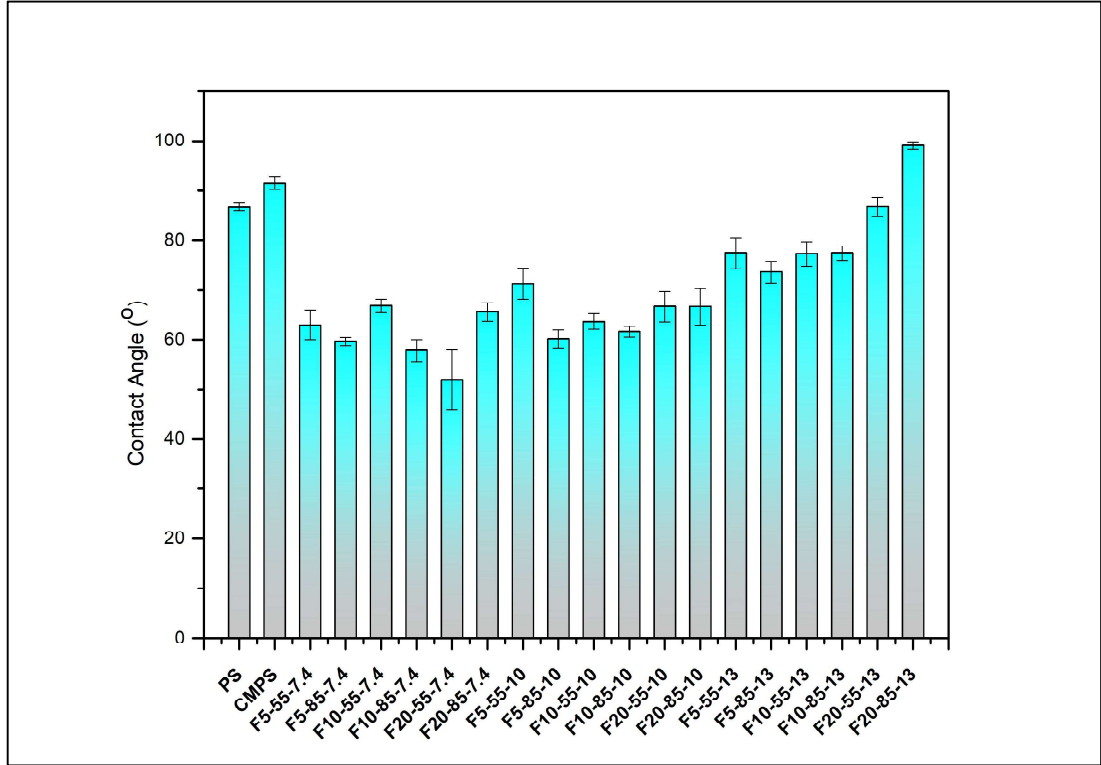
Şekil 5.13: İmmobilize membranların Toluidin Mavisi testi yapılmadan önce ölçülmüş renk analizi grafiği.

İmmobilize membranların Toluidin Mavisi testi yapılmadan önce ölçülmüş renk analizi Şekil 5.13'deki grafikte verilmektedir. Tüm immobilize membranlar CMPS referans alınarak test edilmiştir. Diğer tüm membranlara göre renk değişimi en çok F20-85-10 kodlu membranda olduğu gözlenmiştir. İstatiksel olarak da F20-85-10 kodlu membran ile F5-55-13 ve F10-55-7.4 kodlu membranlar arasında anlamlı fark bulunduğu saptanmıştır.

Temas açısı analizi ise bir yüzeyin ıslanabilirliğini ölçmektedir. Temas açısı arttıkça yüzey hidrofiliği de artış göstermektedir. Yüzeyin hidrofilik olması bir malzeme yüzeyinin kan ile daha uyumlu olduğunu ve pıhtılaşmanın daha az olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak yüzeyin hidrofiliği kan uyumu özelliği konusunda oldukça önemlidir. Temas Açısının ölçümü Şekil 5.14'de şematize edilmiştir [Web 9, 2019]. Ayrıca Şekil 5.9'da Temas Açısı analiz ölçüm sonuçlarının grafiği mevcuttur.



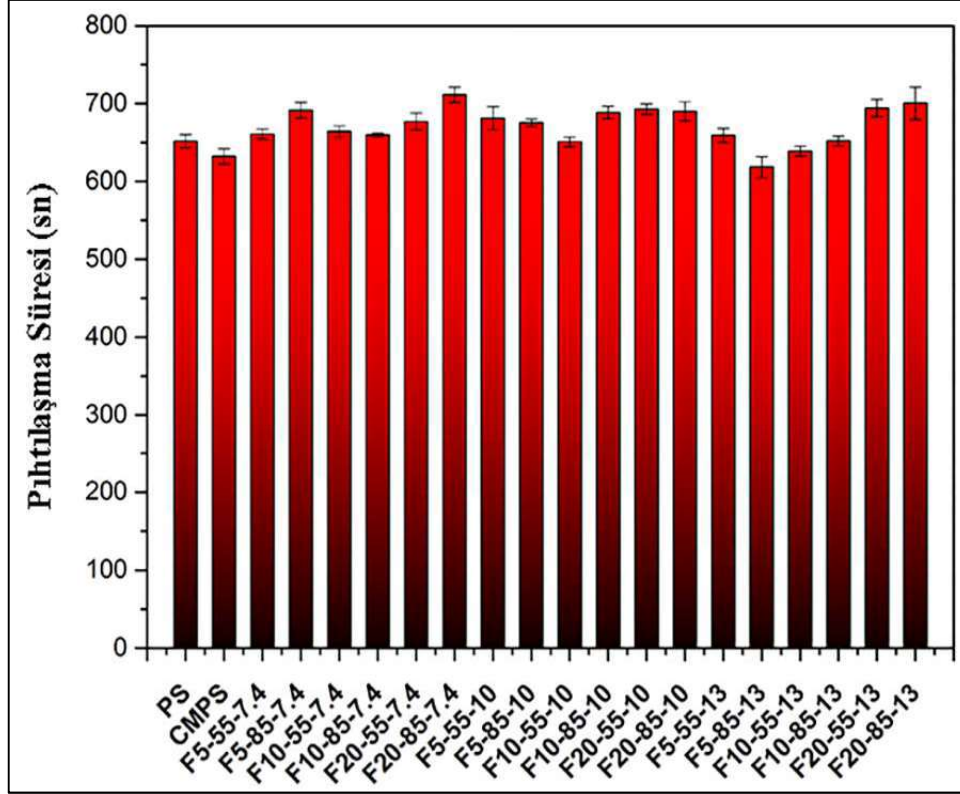
Şekil 5.14: Temas Açısı Ölçümü.



Şekil 5.15: Temas Açısı analiz ölçüm sonuçları grafiği.

Katı yüzey ile damla yüzeyi arasındaki açı ne kadar az olur ise katı yüzey hidrofilikliği o kadar fazla olmaktadır. Şekil 5.15'deki grafiğe göre PS ve CMPS membranlarının temas açıları immobilize edilen membranların temas açılarına oranla oldukça fazladır. PS ve CMPS membranların hidrofobik oldukları bilinmektedir. Dolayısıyla bu sonuçlar incelendiğinde immobilize edilen membranların daha hidrofilik yüzeye sahip oldukları görülmektedir. İstatiksel olarak F5-55-10 ile F10-85-7.4 arasında anlamlı fark bulunmuş olup F10-85-7.4 kodlu membranın yüzeyinin daha hidrofilik olduğu saptanmıştır. F20-55-7.4 kodlu membranın temas açısı diğer membranlara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca F20-55-7.4 ile F10-55-7.4, F20-55-10, F20-85-7.4 ve F20-85-10 kodlu membranlar arasında anlamlı fark olduğu sonucuna varılmıştır. CMPS ile F10-85-13 ve F10-55-13 arasında da anlamlı fark

olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar genel olarak incelendiğinde 85°C de işlem görmüş membranların temas açılarının diğer membranlara göre daha az olduğu dolayısıyla da yüzey hidrofilikliğinin arttığı söylenebilmektedir.



Şekil 5.16: Tam Kan Pıhtılaşma Süresi.

Bu çalışmada, iki gönüllüden alınan taze kan 2 saat içinde kullanılmış ve sonuçların güvenilirliğini artırmak için her kan numunesi için ölçüm üç kez tekrarlanmıştır. Şekil 5.16, modifiye membran yüzeylerine uygulanan tam kanın pıhtılaşma zamanını vermektedir. Tüm modifiye edilmiş membranlar, CMPS'ye kıyasla daha uzun bir kan pıhtılaşma süresi göstermiştir. F20-85-7.4 diğer gruplara ile CMPS ve PS'ye göre daha uzun pıhtılaşma süresi göstermiştir. İstatistiksel olarak F20-85-7.4 ile CMPS ve F10-55-13 arasında anlamlı fark gözlemlenmiştir. Ayrıca F5-85-13 ile F20-55-10 ve F20-55-13 arasında da anlamlı fark gözlemlenmiş olup F5-85-13 kodlu membranın yüzeyinde diğer numunelere göre daha çabuk sürede kanın pıhtılaştığı sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada, uzun zaman alan sentez işlemlerine gerek kalmadan kolay, basit ve güvenli bir şekilde Fukoidan ve Heparin modifiyeli Polisülfon membranı önermekteyiz. Sonuçlar modifiye Polisülfon membran özelliklerinin, modifiye

edilmemiş membranın özelliklerinden daha üstün olduğunu göstermektedir. Ek olarak bu çalışma, kanla temas eden uygulamalarda biyo uyumlu ve kan uyumlu bir yüzeye sahip modifiye edilmiş PS membran tasarımı için bilimsel altyapının geliştirilmesi için ümit verici sonuçlar ortaya çıkarmaktadır.

KAYNAKLAR

Albu R. M., Avram E., Stoica I., Ioanid E. G., (2011), “Surface Properties and Compatibility with Blood of New Quaternized Polysulfones”, *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2, 114-124.

Anbuezhian R. , Karuppiah V., Li Z., (2015), “Prospect of Marine Algae for Production of Industrially Important Chemicals”, In: Das D., Editor, “Algal Biorefinery: An Integrated Approach”, Springer.

Arnett N. Y., (2009). “Synthesis and Characterization of disulfonated poly(arylene ether sulfone) random copolymers as multipurpose membranes for reverse osmosis and fuel cell applications”, PhD Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University.

Atalan N., (2013), “Hemostaz”, *Göğüs Kalp Damar Anestezi ve Yoğun Bakım Dergisi*, 19 (3), 109-112.

Avram E., Butuc E., Luca C., (1997), “Polymers With Pendant Functional Group.III Polysulfones Containing Viologen Group”, *Pure and Applied Chemistry A*, 34(9), 1701-1714.

Avram E., Filimon A. (2015) “Aromatic Linear Polysulfones with Pendant Functional Groups”, In: Ioan S., Editor, “Functionalized Polysulfones Synthesis, Characterization, and Applications”, CRC Press.

Baker W. R., (2012), “Membrane Technology and Applications”, 3rd Edition, Wiley.

Bartnicki A., Gargol M., Podkościelna B., Nowak J., Gawdzik B., (2018), “Synthesis and characterization of polymeric blends based on polysulfone for special applications”, 13th Conference on Integrated Optics: Sensors, Sensing Structures, and Methods, 108300A-1-7, Szczark, Poland, 14 August.

Catapano G., Vienken J., (2008), “Biomedical Applications of Membranes”, In: Norman N. Li, Fane G. A., Winston Ho W. S., Matsuura T., Editors “Advanced Membrane Technology And Applications”, Wiley.

Cheng C., Sun S., Zhao C., (2014), “Progress in heparin and heparin-like/mimicking polymer -functionalized biomedical membranes”, *Journal of Materials Chemistry B*, 2, 7649–7672.

Cheng Y., Lu J., Liu S., Zhao P., Lu G., Chen J., (2014), “The preparation, characterization and evaluation of regenerated cellulose/collagen composite hydrogel films”, *Carbohydrate Polymers*, 107, 57-64.

Cheremisinoff, N., (2001), “Condensed encyclopedia of polymer engineering terms”, 1st Edition, Butterworth-Heinemann.

Cong Q., Chen H., Liao W., Xiao F., Wang P., Qin Y., Dong Q., Ding K., (2016), "Structural characterization and effect on anti-angiogenic activity of afucoidan from *Sargassum fusiforme*", *Carbohydrate Polymers*, 136, 899-97.

Dahe J. G., Teotia S. R., Kadam S. R., Bellare R. J., (2011), "The biocompatibility and separation performance of antioxidative polysulfone/vitamin E TPGS composite hollow fiber membranes", *Biomaterials*, 32, 352-365.

Dang Q., Li C., Jin X., Zhao Y., Wang X., (2019), "Heparin as a molecular spacer immobilized on microspheres to improve blood compatibility in hemoperfusion", *Carbohydrate Polymers*, 205, 89-97.

Das C., Gebru K. A., (2019), "Polymeric Membrane Synthesis, Modification, and Applications Electro-Spun and Phase Inverted Membranes", 1st Edition, CRC Press Taylor & Francis Group.

Drioli E., Criscuoli A., Curcio E., (2005), "Membrane Contactors Fundamentals, Applications and Potentialities", 1st Edition, Elsevier Science.

Du R., Gao B., Li Y., (2013), "Hydrophilic polysulfone film prepared from polyethylene glycol monomethylether via coupling graft", *Applied Surface Science*, 274, 288-294.

Ekdahl N. K. , Hong J. , Hamad A. O., Larsson R., Nilsson B., "Evaluation of the Blood Compatibility of Materials, Cells, and Tissues: Basic Concepts, Test Models, and Practical Guidelines" In: Lambris D. J., Holers M.V., Ricklin D., (2013), "Complement Therapeutics", Springer.

Erkman E., (2014), "Çeşitli Bisfenollerden Polisülfon Sentezi Ve Karakterizasyonu", Yüksek Lisans Tezi İstanbul Teknik Üniversitesi.

Fitton J.H., Stringer D.N., Karpiniec S.S., (2015), "Therapies from Fucoidan: An Update", *Marine Drugs*, 13, 5920-5946.

Gaina C., Gaina V., Ionita D., (2010), "Chemical modification of chloromethylated polysulfones via click reactions", *Society of Chemical Industry*, 60, 296-303.

Gantela S., Thotakura M., (2017), "Gender-Based Differences In The Bleeding Time And Clotting Time And Their Relationship With The Blood Groups", *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*, 6(91), 6399-6402.

Gezer S., (2012), "Koagülasyon testlerinin klinikte kullanımı" *Türk Hematoloji Derneği HematoLog*, 2 (2), 8-23.

Goddard J.M., Hotchkiss J.H., (2007), "Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds", *Progress in Polymer Science*, 32, 698-725.

Guyton C. A., Hall E.J., "Medical Physiology"., (2006), "Tıbbi Fizyoloji". Çevirenler Özlük K. In:Hemostaz ve Kan Pıhtılaşması, Nobel Tıp Kıtapevi.

Hoffman S. A., Hubbell A. J., (2013), "Surface-Immobilized Biomolecules". In: Buddy D. Ratner, Hoffman S. A., Schoen J. F., Lemons E. J., Editors, "Biomaterials Science An Introduction to Materials in Medicine", Elsevier Inc.

Ji M., Chen X., Luo J., Wan Y., (2019), "Improved blood compatibility of polysulfone membrane by anticoagulant protein immobilization", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 175, 586–595.

Johnson, R. N., Farnham, A. G., Clendinning, R. A., Hale, W. F., Merriam, C. N., (1967), "Poly(aryl ethers) by nucleophilic aromatic substitution. Synthesis and properties", *Journal of Polymer Science: Part A-1*, 5, 2375-2398.

Kim J. W., Kim M. S., Kim G. H., Oh R. H., Lee B. K., Lee K. Y., Park I. Y., (2007), "Purification and Anticoagulant Activity of a Fucoidan from Korean *Undaria pinnatifida* Sporophyll", *Algae*, 22(3), 247-252.

Kolf W.J., Berk H.T., (1944), "The artificial kidney: a dialyzer with great area", *Acta. Med. Scand.*, 117, 121.

Kumar V., Gopinath P., Lakshmanan V.K., Navaneetha Pandiyaraj K., (2018), "Surface Analysis Technique for Assessing Hemocompatibility Of Biomaterials". In: Siedlecki A. C. Editor "Hemocompatibility of Biomaterials for Clinical Applications Blood-Biomaterials Interactions", Elsevier Ltd.

Kuwahara, H., Kawaguchi, T., Ohmori, S., Matsumura, S., (1999), "Application Of Sulfone, Ketone and Ester Containing Polyalkyl Ether Units to Medical Materials", US Patent 6,166,168.

Labarre D., (2001), "Improving Blood-Compatibility Of Polymeric Surfaces", *Trends Biomaterials Artifical Organs*, 15 (1), 1-3.

Li B., Lu F., Wei X., Zhao R., (2008), "Fucoidan: Structure and Bioactivity", *Molecules*, 13, 1671-1695.

Li L., Cheng C., Xiang T., Tang M., Zhao W., Sun S., Zhao C., (2012), "Modification of polyethersulfone hemodialysis membrane by blending citric acid grafted polyurethane and its anticoagulant activity", *Journal of Membrane Science*, 405-406, 261-274.

Manivasagan P., Oh J., (2016), "Marine polysaccharide-based nanomaterials as a novel source of nanobiotechnological applications", *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 315–327.

Meng J., Yuan J., Kang Y., Zhang Y., Du Q., (2012), "Surface glycosylation of polysulfone membrane towards a novel complexing membrane for boron removal", *Journal of Colloid and Interface Science*, 368, 197–207.

Nie S., Qin H., Cheng C., Zhao W., Sun S., Su B., Zhao C., Gu Z., (2014), "Blood activation and compatibility on single-molecular-layer biointerfaces", *Journal of Materials Chemistry B*, 2, 4911–4921.

Nie S., Xue J., Liu Y., Wang D., Sun S., (2012), “Improved blood compatibility of polyethersulfone membrane with a hydrophilic and anionic surface”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 100 , 116– 125.

Ran F., Nie S., Li J., Su B., Sun S., Zhao C., (2012), “Heparin-Like Macromolecules for the Modification of Anticoagulant Biomaterials”, *Macromolecular Bioscience*, 12, 116–125.

Risbud M.V., Bhonde R.R., (2001), “Suitability of cellulose molecular dialysis membrane for bioartificial pancreas: In vitro biocompatibility studies”, *Journal of Biomedical Materials Research*, 54(3), 436-44.

Roy A., Dadhich P., Dharab S., De S., (2015), “In vitro cytocompatibility and blood compatibility of polysulfone blend, surface-modified polysulfone and polyacrylonitrile membranes for hemodialysis”, *Royal Society of Chemistry*, 5, 7023–7034.

Saboural P., Chaubet F., Rouzet F., Al-Shoukr F., Azzouna B. R., Bouchemal N., Picton L., Louedec L., Maire M., Rolland L., Potier G., Le Guludec D., Letourneur D., Chauvierre C., (2014), “Purification of a Low Molecular Weight Fucoidan for SPECT Molecular Imaging of Myocardial Infarction”, *Marine Drugs*, 12, 4851-4867.

Salgın S., (2004), “Protein-Membran Etkileşimleri Ve Proteinlerin Membran Sistemlerle Ayırılması”, *Doktora Tezi*, Ankara Üniversitesi.

Salt Y., Dinçer S., (2006), “Özel Ayırma İşlemlerinde Bir Seçenek: Membran Prosesleri”, *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi Sigma*, 4, 1-23.

Schwab, T. H., (2010), “Transparent And Flame Retardant Polysulfone Compositions”, *European Patent 2 094 764 B*.

Teoh, S. H., Tang, Z. G., Hastings, G. W., (2016), “Thermoplastic Polymers In Biomedical Applications: Structures, Properties and Processing”. In: W. Murphy, J. Black, G. Hastings, Editors, “*Handbook of Biomaterial Properties*”, Springer.

Tang M., Xue J., Yan K., Xiang T., Sun S., Zhao C., (2012), “Heparin-like surface modification of polyether sulfone membrane and its biocompatibility”, *Journal Colloid Interface Science*, 386(1), 428-40.

Thanh T. T. T., Tran T. T. V., Yuguchi Y., Bui M. L., Nguyen T. T., (2013), “Structure of Fucoidan from Brown Seaweed *Turbinaria ornata* as Studied by Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESIMS) and Small Angle X-ray Scattering (SAXS) Techniques”, *Marine Drugs*, 11, 2431-2443.

Tharmaraj D, Kerr PG., (2017), “Haemolysis in haemodialysis”, *Nephrology*, 22(11), 838-847.

Tian X., Qiu Y.R., (2017), “2-methoxyethylacrylate modified polysulfone membrane and its blood compatibility”, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 631, 49-57.

Tu M. M., Xu J. J., Qiu Y. R., (2019), “Surface hemocompatible modification of polysulfone membrane via covalently grafting acrylic acid and sulfonated hydroxypropyl chitosan”, Royal Society of Chemistry, 9, 6254–6266.

Wang T., Ji X., Jin L., Feng Z., Wu J., Zheng J., Wang H., Xu Z.W., Guo L., He N., (2013), “Fabrication and characterization of heparin-grafted poly-L-lactic acid–chitosan core–shell nanofibers scaffold for vascular gasket”, ACS Applied Materials&Interfaces, 5 (9), 3757-63.

Web 1, (2019), <https://www.hematology.org/Patients/Basics/>, (Erişim Tarihi: 01/06/2019).

Web 2, (2019), <https://www.tetrapak.com/training/processing/membrane-filtration/membrane-types>, (Erişim Tarihi: 10/06/2019).

Web 3, (2019), <https://www.hsc.com.tr/toray-pvdf-ultrafiltrasyon-membranlari.html> (Erişim Tarihi: 10/06/2019).

Web 4, (2019), <http://www.asahi-kasei.co.jp/medical/en/dialysis/product/>, (Erişim Tarihi 30/09/2019).

Web 5, (2019), <https://www.freseniusmedicalcare.com.tr/tr/saglik-calisanlarina-yoenelik/akut-tedaviler/srrt-ve-plazmaferez-filtreleri/>, (Erişim Tarihi 30/09/2019).

Web 6, (2019), <http://niprodmed.com/SureLyzer-PES-DL.php>, (Erişim Tarihi 30/09/2019).

Web 7, (2019), <http://niprodmed.com/SureLyzer-PES-DH.php>, (Erişim Tarihi 30/09/2019).

Web 8, (2019), <https://www.toray-medical.com/en/products/dialysis/detail.html?key=25EA2E93D152C9E8492580D30100972>, (Erişim Tarihi 30/09/2019).

Web 9, <https://www.linseis.com/en/properties/contact-angle/>, (Erişim Tarihi 10/06/2019)

Xiang T., Cheng C., Zhao C., (2014), “Heparin-Mimicking Polymer Modified Polyethersulfone Membranes-A Mini Review”, Journal of Membrane and Separation Technology, 3, 162-177.

Xiang T., Lu T., Xie Y., Zhao W. F., Sun S. D., Zhao C. S., (2016), “Zwitterionic polymer functionalization of polysulfone membrane with improved antifouling property and blood compatibility by combination of ATRP and click chemistry”, Acta Biomaterialia, 40, 162-171.

Xiang T., Zhang L.S., Wang R., Xia Y., Su B.H., Zhao C.S., (2014), “Blood compatibility comparison for polysulfone membranes modified by grafting block and random zwitterionic copolymers via surface-initiated ATRP”, Journal of Colloid and Interface Science, 432, 47–56.

Xiaoli L., Lin Y., Dan L., Zengchao T., Yanwei W., Gaojian C., Hong C., John L. B., Blood compatible materials: state of the art, *Journal of Materials Chemistry B*, 2, 5718-5738, (2014).

Xie Y., Li S.S., Jiang X., Xiang T., Wang R., Zhao C.S., (2015), “Zwitterionic glycosyl modified polyethersulfone membranes with enhanced anti-fouling property and blood compatibility”, *Journal of Colloid and Interface Science*, 443, 36–44.

Xu Z., Huang X., Wan L., (2009), “Surface Engineering of Polymer Membranes”, 1st Edition, Zhejiang University Press and Springer.

Ye C., Wang Y., Su H., Yang P., Huang N., Maitz F. M., Zhao A., (2016), “Construction of a fucoidan/laminin functional multilayer to direction vascular cell fate and promotion hemocompatibility”, *Materials Science and Engineering C*, 64, 236–242.

Zhao X., Courtney J . M., (2011), “Surface modification of biomaterials by heparinisation to improve blood compatibility”, In: Williams R., Editor, “Surface modification of biomaterials”, Elsevier Ltd.

ÖZGEÇMİŞ

Kevser ÖZTÜRK YAVUZ 1989 yılında Kocaeli’nde doğdu. 2010 yılında başladığı Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü 2013 yılında başarıyla tamamlayarak 2016 yılında Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2015 yılından bu yana TÜBİTAK MAM Kimyasal Teknoloji Enstitüsü’nde araştırmacı olarak çalışmaktadır.