



Hümik asit ve aljinat bazlı yara örtülerinin geliş tirilmesi ve inflamasyonun değerlendirilmesi

Volkan Yalman and Nelisa Türkoğlu Laçın

Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, Türkiye

Öz

Ekstraselüler matrikste aş ırılı kollajen tip I birikimi skar oluş umuna yol açar. Kollajen tip I aş ırılı ekspresyonunu baskılayarak ve kollajen tip III ekspresyonunu uyararak izsiz doku rejenerasyonu için bir biyomaterial geliştirmeyi amaçladık. Aljinat (Alg) biyomedikal uygulamalar için yaygın olarak kullanılan doğal bir malzemedir ve hümik asit (HA) antioksidan, antiinflamatuvar özelliklere sahip doğal bir makromoleküldür. Hümik asit ve aljinat, bir hidrojel zarı elde etmek için çapraz bağlandı. Hümik Asit Aljinat (HA-Alg) hidrojelinin L929, HaCaT, makrofaj hücreleri üzerindeki hücre canlılığı belirlendi. Biyodegradasyon testleri, HA-Alg hidrojel kütesinin %76'sının dört haftada kaybolduğunu ortaya koydu. HA-Alg hidrojelinin TNFa seviyesi üzerindeki etkisi 1212.50 ± 98.63 pg/mL olarak gözlemlendi. HA-Alg, skar oluş umunda önemli rolü olan kollajen tip I aş ırılı ekspresyonunu baskıladı ve yara iyileş mesinde hayati bir role sahip kollajen tip III ekspresyonunu uyardı.

MAKALE GEÇMİŞİ

11 Ocak 2019'da alındı
12 Mayıs 2019'da kabul edildi

ANAHTAR KELİMELER

aljinat; Hümik asit;
hidrojel; biyolojik olarak parçalanabilir;
Yara pansumanı; izsiz

Giriş

Yara; mekanik, termal, elektrik ve kimyasal gibi tıbbi veya fizyolojik rahatsızlıkların veya yaralanmaların altında yatan neden olan deri veya doku bütünlüğünün kaybı olarak tanımlanabilir. Bir yara örtüsünün amacı, yaranın iyileş me sürecini uyarmak ve iyileş menin kalitesini arttırmaktır.

Enflamasyon, yara iyileş mesinin temel adımlarından biridir. Bununla birlikte, inflamatuvar sürecin normal ve anormal yara üzerinde doğrudan etkileri vardır.

iyileş tirme. Çalış malar, hipertrofik skar oluş umunu içeren anormal bir yara iyileş mesinin, fibroblastların aş ırılı işlevi ve aş ırılı hücre dış ı matris birikimi olduğunu göstermiş tir. bu

skar dokusunu inhibe etmek için sistemik antiinflamatuvar ilaçların kullanımının proliferasyon fazını baskıladığı ve kontaminasyona karşı yara direncini azalttığı gösterilmiş tir [1].

Deri insan vücudundaki en büyük organdır ve vücut ağırlığının yaklaşık %15'ini oluşturur [1,2]. Cildin etrafını sardığı için hayati bir görev olduğu bilinmektedir. tüm vücudu korur ve dış etkenlere karşı vücudu korur. Bu nedenle cilt yaraları ve cilt yaralarının bakımı büyük önem taşımaktadır [2]. Yara iyileş me süreci, çok sayıda mekanizmadan oluşan karmaşık bir olgudur [3,4].

İnsan vücudundaki yara iyileş mesi dört aşamada gerçekleş tirilir: Hemostaz, iltihaplanma, çoğalma ve yeniden şekillenme. Başarılı bir yara iyileş mesi, her dört aşama için kademeli olarak gerçekleşmelidir. Yaralanmadan hemen sonra koagülasyon ve hemostaz evreleri başlar.

yer. Bir yaralanmadan sonra damar bütünlüğü bozulur ve kan damardan dışarı akar. Hemostaz ve pıhtılaşmanın temel amacı kanamayı önlemektir. Mekanizma, damar sistemini sağlam tutar, böylece hayati organların işlevi zarar görmez.

İkinci amaç, iyileşmenin sonraki aşamalarında mekanizmaya dahil olacak hücreler için bir matris sağlamaktır. Trombositler hasarlı damarı pıhtılaş tırır ve bir tıkaç olarak tıkar ve ayrıca hücre göçü için hücre dış ı bir matris görevi görür. Trombositler, büyüme faktörleri aracılığıyla makro fajların ve fibroblastların yaralı bölgeye hareketini uyarır [5]. Serbest kalan mediatörler ve büyüme faktörleri, lökositlerin yaralı dokuya göç etmesine neden olur ve bunu inflamatuvar faz izler [6,7]. Enflamatuvar faz pıhtılaşmanın sonunda başlar. Yabancı mikroorganizmalara, patojenlere karşı bir bağışıklık bariyeri inşa edilir [8]. Beyaz kan hücreleri tarafından salınan IL-1, TNFa gibi büyüme faktörleri ve sitokinler. Bu büyüme faktörleri, hücre proliferasyonu, hücre migrasyonu, hücre farklılaşması ve yeniden şekillenmesi gibi çok çeşitli olayları uyarır [7,9].

Enflamasyonla hemen hemen eş zamanlı olarak, keratinositlerin çoğalması ve göçüyle yeniden epitelizasyon başlar. Yeni kılcıl damarların oluşumu nedeniyle granülasyon dokusu adı verilen bir doku oluşur. Makrofajlar, fibroblastlar ve kan damarları da proliferatif fazda yaralı bölgede aktivite gösterir. Makrofajlar, stimülasyon fibroplazisi ve anjiyo oluşumu için gerekli olan büyüme faktörlerini serbest bırakır. Bundan sonra, fibroblastlar, hücreyi desteklemek için gerekli olan yeni bir hücre dış ı matris (ECM) üretir.

geliş im. Fibroblastlar, ECM'nin sentezinden, birikmesinden ve yeniden modellenmesinden sorumludur. ECM kademeli olarak kollajen açısından zengin bir matrise dönüşür. Daha sonra fibroblastlar kollajen üretimini durdurur ve ardından fibroblasttan zengin granülasyon dokusu nispeten aselüler bir yara dokusu haline gelir [5,10]. Yara iyileş mesinin son aş aması olan yeniden şekillenme aş aması, yeni epitelyumun geliş mesinden ve nihai skar dokusu oluş umundan sorumludur. Skar dokusu oluş umu çoğunlukla tip I ve tip III kollajen birikimine dayanır. Yaradaki kolajenin parçalanması makrofajlar, epidermal hücreler, fibroblast hücreleri tarafından kontrol edilir. Matris metallo proteinaz adı verilen proteolitik enzimler, makrofajlar tarafından uyarılan endotel hücrelerinden salgılanır. Bu noktada, makrofajlar tarafından iletilen sitokinler, matris metaloproteinazların salgılanmasını kontrol eder. Yara onarımı aş amalarında, yara bölgesinde çeş itli tür ve miktarlarda matris metalloproteinazlar (MMP) bulunur [11]. Makrofajlar tarafından salgılanan sitokinler tip 1 ve tip 3 kollajen birikimlerinin düzenlenmesini etkileyerek skar dokusu oluş umları üzerinde önemli etkilere sahiptir. Yara iyileş mesinin doğasında aş ırı iltihaplanma skar dokusu oluş umuna yol aç ar. Bu bağlamda uygun inflamasyon seviyesinin düşürülmesi ile izsiz yara iyileş mesinin sağlanabileceğini öngörüyoruz.

Yaralanan doku iyileş me yeteneğine sahip olmasına rağmen, yara iyileş mesinden sonra morfolojik görünüm çoğunlukla orijinal doku ile aynı değildir. Skar dokusu morfolojik görüntü olarak deforme bir görünüme sahiptir [12]. Bu bozuk görünümün nedeni kollajen miktarının ve organizasyonunun doğal dokudan farklı olmasıdır. Bu nedenle, makrofajlar tarafından salınan ve hücreleri tip 1 ve tip 3 kollajen sentezi için uyaran sitokinler, skar dokusu için büyük önem taş ımaktadır [13,14].

Yara örtüsünün amacı, yara iyileş me sürecini hızlandırmak ve iyileş me kalitesini arttırmaktır [12]. Enflamasyon, doğal yara iyileş me sürecinin önemli bir parçasıdır. Bununla birlikte, inflamatuvar sürecin normal ve anormal yara iyileş mesi üzerinde doğrudan etkileri vardır [15]. Çalış malar, hipertrofik skar oluş umunun, fibroblastların aş ırı bir fonksiyonu ve aş ırı

yara iyileş mesi sırasında hücre dış ı matrisin (ECM) birikmesi [16]. Skar dokusunu önlemek için sistemik anti inflamatuvar ilaçların kullanımının proliferasyonu baskıladığı ve dolayısıyla yara iyileş mesini olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Bu çalış mada yara örtümalzemesi olarak hümkik asit içeren aljinat doku iskeleleri hazırlanacaktır. Hümkik asit yapısında bulunan fenoller, karboksilik asitler ve kinonlar nedeniyle antioksidan, antimutajenik, antienflamatuvar, antifungal ve bakterisidal özelliklere sahiptir. Hümkik asit tercih sebebi

Bu çalış ma için anti-inflamatuvar etkisinden kaynaklanmaktadır. Bu çalış madaki amacımız hümkik asit içeren yara örtü malzemesinin IL-1 β ve TNF α sitokin seviyelerine etkisini değerlendirmektir. Yukarıda belirtildiği gibi, IL-1 β ve TNF α , kollajen tip 1 ve aş ırı birikimi skar görünümünde hayati bir role sahip olan kollajen tip 3'ün sentezi üzerinde bir etkiye sahiptir [17].

deneysel prosedür

Malzemeler

Hümkik asit (SIGMA, H16752), aljinat (SIGMA, A1112), 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-Cyl)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT), Neutral Red, Sigma-Aldrich'ten satın alındı. Hücre kültürü ekipmanı Gibco'dan satın alındı. Fare fibroblast hücre dizisi (L929), insan keratinosit hücre dizisi (HaCaT) ve insan monositik hücre dizisi (THP-1) SAP enstitüsünden (Ankara, TÜRKİYE) temin edildi.

Ha-alg ve alg hidrojellerinin hazırlanması

Hümkik asidin in vitro sitotoksitesite düzeyi İlk olarak, farklı HA konsantrasyonlarında en yüksek hücre canlılığı belirlendi. Hümkik asidin in vitro sitotoksitesitesi, hümkik asidin HaCaT hücreleri üzerindeki toksik seviyesi belirlenerek değerlendirildi. Hümkik asit stok solüsyonu (2 mg/ml distile su içinde) hazırlandı.

Stok çözelti, farklı seyreltme oranları kullanılarak Dulbecco Modifiye Eagle Ortamında (DMEM) seyreltildi; Hümkik asit solüsyonları 500 μ g/ml, 250 μ g/ml, 125 μ g/ml, 67,5 μ g/ml, 33 μ g/ml, 16 μ g/ml ve 8 μ g/ml konsantrasyonlarında hazırlandı. Hümkik asit çözeltilerinin HaCaT üzerindeki sitotoksitesitesi MTT ile belirlendi.

deney.

Aljinat hidrojel sentezi

Aljinat hidrojelleri %2 aljinat çözeltisi (damıtılmış su) manyetik bir karış tırıcıda karış tırılarak elde edildi. Elde edilen solüsyon -80°C'de 1 saat döküdüve +

-80°C gece boyunca. Hidrojel, -80°C'de iki gün süreyle liyofilize edildi. Nihai hidrojel, çapraz bağlar oluş turmak için gece boyunca epiklorinidine maruz bırakıldı. Çapraz bağlı hidrojel, kalıntıları çıkarmak için %1 CaCl₂ çözeltisi (1:10 etanol: damıtılmış su içinde) ile yıkandı.

Ha-alg hidrojel sentezi

HA-Alg hidrojelleri, %2 aljinat çözeltisinde (saf su) 125 μ g/mL hümkik asit çözeltisi karış tırılarak elde edildi. MTT testine göre 125 μ g/mL hümkik asit çözeltisi en yüksek hücre canlılığına sahipti. Çözelti -80°C'de 1 saat döküdüve gece boyunca -80°C'de saklandı. Hidrojel, -80°C'de iki gün süreyle liyofilize edildi. Nihai hidrojel, çapraz bağlar oluş turmak için gece boyunca epiklorinidine maruz bırakıldı. Çapraz bağlı hidrojel,

çapraz bağlı olmayan molekülleri uzaklaş tırmak için %1 CaCl₂ solüsyonu (1:10 etanol: damıtılmış su içinde) ile yıkandı .

hidrojellerin karakterizasyonu

Hidrojellerin Fourier dönüş ümükizilötesi (FTIR) spektroskopisi ve yüzey morfolojisi analizi Elde edilen hidrojellerin kimyasal bileş imi, bir Perkin Elmer Spectrum 100 kullanılarak Fourier dönüş ümükizilötesi spektroskopisi (FTIR) ile yapıldı. Alg ve HA-Alg hidrojellerinin yüzey morfolojisi analizi, taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile gerçekleştirilmiş tir. (Zeiss, EVO@ LS 10).

Yüzey alanı analizi Alg ve

HA-Alg hidrojellerinin yüzey alanı, bir Brunauer–Emmett–Teller (BET) yüzey alanı aparatı (Quantachrome, QuadraSorb SI) kullanılarak belirlendi. Numuneler, numune hücrelerine konuldu, gaz giderici (kuantokrom) içine yerleş tirildi ve daha sonra membranlardan nemi çıkarmak için 75°C'ye kadar ısıtıldı. yüksek saflıkta nitrojen. Analiz 189.3 dakika devam etti. P/P₀ , 0,05–0,3 aralığında analiz edildi.

Termogravimetrik analiz

Termogravimetrik (TG) ve sıcaklık değiş imine göre diferansiyel termal analiz (DTA) SII6000 Exstar TG/DTA 6300 kullanılarak kaydedilmiş tir. Alüminyum kalemlere konulan numuneler dinamik hava ve nitrojen atmosferi altında 10°C/dk ısıtma hızında vuruldu ve 25°C-1000°C'de 90 dakika süre ile kütle kaybı kaydedildi.

Hidrojellerin su tutma kapasitesi HA-Alg ve

1 cm² çapındaki Alg hidrojelleri, su tutma kapasitelerini belirlemek için dengelenene kadar oda sıcaklığında fosfat tamponlu saline (PBS) daldırıldı. Daha sonra zarlara, PBS'den çıkarıldı ve fazla PBS, Kim mendil kağıdı ile lekeleni. Kurutulan hidrojellerin ağırlıkları belirlendi ve iş lem 1, 24 ve 48. saatlerde tekrarlandı. Sonuçlar, beş numunenin ortalama değerleri olarak ifade edilir. Hidrojellerin su tutması aş ağıdaki formüle hesaplandı: Wh: Hidrat hidrojel ağırlığı, Wd: kuru hidrojel ağırlığı: $Wac\delta\ p\%4\delta\ \% Wh\ Wd\ p=Wd\ 100[2]$.

Hidrojellerin biyolojik bozunma profili

Biyolojik bozunma analizi için lizozim (1.5 ug/ml) içeren PBS çözeltisi kullanıldı. Alg ve HA-Alg hidrojelleri 10 x 5 mm çapında kesildi. Hidrojellerin kuru ağırlıkları belirlendi ve sterilizasyon için 120°C'de 20 dakika otoklavlandı. Numuneler bir ay boyunca 60 rpm'de 37°C'de bir lizozim solüsyonuna maruz bırakıldı. Örneklerin kuru ağırlıkları 7. günde,

14., 21. ve 28. Lizozim solüsyonu, ölç ümün yapıldığı gün yenilendi. Kütle kaybı aş ağıdaki formüle göre hesaplanmış tir; Wh: Hidrat hidrojel ağırlığı, Wd: kuru hidrojel ağırlığı: $Biodegradation\ \delta\ p\%4\delta\ \% Wh\ Wd\ p=Wd\ 100$.

Biyoyumluluk testleri

MTT testi

Fare fibroblast hücre dizisi L929 ve insan keratinosit hücre dizisi HaCaT, hidrojellerin biyoyumluluğunu değerlendirmek için kullanıldı. HaCaT ve L929 hücreleri, %10 FBS, %1 L- glutamin içeren DMEM F-12 ortamında kültürlendi (10 000 hücre/kuyu); 37°C'de, %5 CO₂ atmosferi. Sitotoksosite çalış maları, sekiz tekrarlı MTT testi ile gerçekleştirilmiş tir.

Nötr kırmızı (NR)

Fare fibroblast hücre dizisi L929 (10 000 hücre/oyuk) ve insan keratinosit hücre dizisi HaCaT (10 000 hücre/oyuk), nötr kırmızı testiyle hidrojellerin biyoyumluluğunu değerlendirmek için kullanıldı. Hücre ekstraktları elde edildi ve 100µL taze ortam, 1,25 µL nötr solüsyon (PBS içinde 4 mg/mL) içeren kuyucuklara pipetlendi. Daha sonra besiyeri atıldı ve her kuyucuğa 150 µL NR-desorbing fiksatif solüsyonu (50:49:1 etanol: distile su: buzlu asetik asit) eklendi. Optik yoğunluk 540 nm'de ölç ülmüş tür. Nötr Kırmızı testi, sekiz kopya ile gerçekleştirilmiş tirildi.

Makrofajlı MTT deneyleri (10.000

hücre/oyuk) Oyuk baş ına THP-1 hücreleri, 24 oyuklu plakalara ve Roswell Park Memorial Institute'de (RPMI) (%10 FBS, %1 L- ile) 20nM para-Metoksiamfetamin (PMA) ekildi. glutamin) her kuyucuğa eklendi. PMA, THP-1 hücrelerinin makrofaja farklılaş masını uyarmak için kullanıldı. Üç gün boyunca monositlerin makrofaj hücrelerine farklılaş masını izlemek için ters mikroskop kullanıldı. Daha sonra kuyucuklar içeren makrofaj hücrelerine 5 mm x 5 mm boyutunda hidrojeller yerleş tirildi ve 37°C'de %5 CO₂ atmosferinde 48 saat kültürlendi. MTT testi sekiz tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş tir.

İmmünotoksosite deneyleri

Sitokin salma deneyi

THP-1 hücreleri, 10 000 hücre/kuyu olacak şekilde 24 oyuklu plakalara ekildi. Daha sonra THP-1 hücreleri 20mM PMA ile RPMI hücre kültür ortamında (%10 FBS, %1 L- glutamin ile) farklılaş ması için uyarıldı. Üç gün boyunca monositlerin makrofaj hücrelerine dönüş mesi inverted mikroskop ile izlendi. Makrofaj hücreleri, PMA stimüsyonunun üç üncüğünde gözlemlendi. Daha sonra 5 mm x 5 mm boyutunda hidrojeller yerleş tirildi ve 37°C'de %5 CO₂ atmosferinde 48 saat kültürlendi. Ortamlar

toplandı ve ortamdaki sitokin seviyelerini analiz etmek için 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlendi. Testler, firma tarafından önerilen yöntem (Sigma-Aldrich, Human Tumor Necrosis Factor α ELISA Kit) ve interlökin-1 β 'ya (Thermo Fisher, IL-1 beta Human ELISA Kit) göre sekiz tekerrürlü olarak yapıldı.

kollajen salınım deneyi

L929 hücreleri, 24 oyuklu plakalara (10 000 hücre/her oyuk) yerleş tirildi ve 24 saat inkübe edildi. Hücreler üzerine yerleş tirilmiş 5 mm x 5 mm boyutlarında hidrojel olarak daha sonra 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Ortamlar 5000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Ortamdaki kolajen tip 1 ve tip 3 seviyeleri, Elisa kitleri (Mybiosource, Mouse Collagen Type I, Col I ELISA Kit ve Mybiosource, Mouse Collagen Type III, ELISA Kit) kullanılarak hesaplandı. Bu tahlil, sekiz kopya ile gerçekleş tirildi.

antioksidan kapasitesi

HA-Alg ve Alg Hidrojellerinin antioksidan performansı, HaCaT hücre hattı üzerinde gerçekleş tirilen bir oksidatif stres modeli ile belirlendi.

HaCaT hücreleri (10 000 hücre/oyuk), %10 FBS, %1 L-glutamin içeren DMEM ortamında kültürlendi; 37 °C'de, %5 CO₂ atmosferinde. HaCaT hücreleri, 24 oyuklu plakalara (her oyukta 10 000 hücre) yerleş tirildi ve 24 saat inkübe edildi. Daha sonra 5x5 mm boyutunda hidrojel yerleş tirildi ve 2 saat inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklara 50 μ M, 100 μ M ve 200 μ M olacak şekilde H₂O₂ ilave edildi ve 24 saat inkübe edildi. Ortamlar toplandı ve 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlendi. Hidrojellerin antioksidan performansı, oksidatif stres altındaki HaCaT hücrelerine sahip TAS (Rel Assay, Total Antioxidant Status kit) kiti kullanılarak şirket tarafından önerilen yöntem kullanılarak değerlendirildi. Bu tahlil, sekiz kopya ile gerçekleş tirildi.

Sonuçlar

Ha-alg ve alg hidrojellerinin hazırlanması ve karakterizasyonu

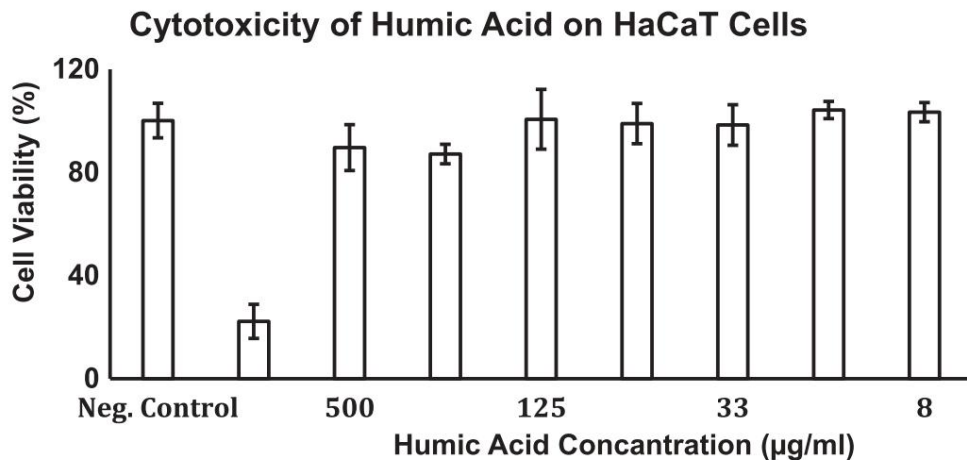
Hümk asit-aljinat bazlı hidrojel yara örtümalzemesinin hazırlanması iki aş amadan oluş ur. İlk olarak, hümk asidin in vitro sitotoksitesini değerlendirmek için çeş itli HA konsantrasyonlarında en yüksek hücre canlılığı HaCaT hücre hattında belirlendi. Pozitif kontrol olarak %20 DMSO içeren ortamla inkübe edilen hücreler kullanıldı. 500 μ g/ml hümk asitte hücre canlılığı %89,63 \pm 3,87 olarak hesaplandı. 250 μ g/ml, 125 μ g/ml, 67,5 μ g/ml ve 16 μ g/ml hümk asitte hücre canlılığı sırasıyla %87,14 \pm %3,30, %100,6 \pm %4,44, %98,40 \pm 5,80 ve %103,37 \pm %3,93 olarak hesaplandı Ş ekil 1'de gösterildiği gibi . Tüm HA konsantrasyonları için hücre canlılığı %70'in üzerinde bulundu. Literatürde hümk asidin insan beyin hücreleri (SK-N-MC) [18], Çin hamsteri yumurtalık hücreleri (CHO) [19] ve insan vasküler endoteli [20].

hidrojellerin karakterizasyonu

Kimyasal ve morfolojik karakterizasyon Ş ekil 3 ,

Alg ve HA-Alg hidrojellerinin FT-IR spektrumlarını göstermektedir. Aljinatın FT-IR spektrumu 3255 cm⁻¹ 1415 cm⁻¹ 1085 cm⁻¹ 2938 cm⁻¹ 1603 cm⁻¹ 1030 cm⁻¹ bantları, sergilediği ,

, OH, - CH, - C = O, - CH₃, C-O ve C-O-H gerilme titreş imlerine karş ılık gelen 1603 cm⁻¹ ve 1030 cm⁻¹ [21,22]. Hümk asit (-OH 3255 cm⁻¹'de geriliyor) ve aljinatın (3255 cm⁻¹'de geniş bir bant ve 2938 cm⁻¹'de - OH ve C-H gerilme titreş imlerini temsil eden küçük bir bant) karakteristik bantları gözlemlendi . -COO grupları, sırasıyla asimetric ve simetric titreş imlere karş ılık gelen 1603 ve 1415 cm⁻¹'de gerilme titreş imleri ve karbonhidrat halkalarının C-O esneme titreş imlerine karş ılık gelen 1200-1000 cm⁻¹'de geniş bir bant sergiledi. aljinat



Ş ekil 1. Hümk asidin HaCaT hücreleri üzerindeki sitotoksitesisi.

[23]. Bu IR bantları, hidrojellerde hümik asit ve aljinatın varlığını doğruladı. Hümik asit ve aljinat içeren bir hidrojelde FTIR analizine göre, aynı fonksiyonel gruplar için pikler gözlemlendi.

Bu fonksiyonel gruplar hümik asit yapısından fazla bulunur. Ş ekil 2'de görüldüğü gibi hümik yapıda bulunan fonksiyonel grupların sayısının fazla olması nedeniyle piklerin yoğunluğunda bir artış gözlemlenmiştir.

Hidrojel yüzey morfolojisi SEM (Zeiss Evo) ile gözlemlendi. HA Alg hidrojelinin makro gözenekleri belirlendi ve Ş ekil 4'te gösterildiği gibi gözenek çapları 30 ile 34 µm arasında bulundu. Alg hidrojelinin makro gözenekleri belirlendi ve gözenek çapları 8 ile 12 µm arasında bulundu. Literatürde gözenek çapları 70 µm ila 300 µm arasında olan aljinat ile sentezlenen hidrojeller mevcuttur [24]. BET analizi sonuçlarına göre Alg hidrojeli ve HA-Alg hidrojelinin yüzey alanı sırasıyla 7,3 m²/g ve 15,7 m²/g olarak belirlendi (Ş ekil 5). Hümik asit içeren hidrojel yüzey alanı, Alg hidrojeline kıyasla önemli ölçüde daha yüksekti. Hümik asit yüzey alanını %215 arttırmıştır. Yüzey alanı daha geniş olan hidrojellerin daha yüksek su tutma kapasitelerine sahip olduğu bilinmektedir [25]. Hidrojellerin yapısına farklı kimyasallar eklenerek hidrojellerin yüzey alanı artırılabilir [26].

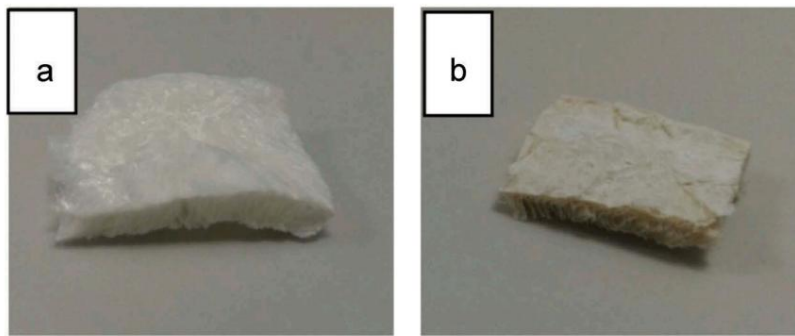
Termogravimetrik analiz

Alg ve HA-Alg hidrojellerinin termal davranışları termal gravimetrik yöntemle belirlendi. Alg hidrojelinin kütle kaybı dört adımda gerçekleşti. Alg hidrojelinin kütle kaybı 184 °C'de başlamış ve %11,77 kütle kaybı belirlenmiştir. Daha sonra 604°C, 777°C ve 988°C'de sırasıyla %46,22, %54,95 ve %94,43 kütle kaybı gözlemlendi. HA-Alg hidrojel incelendiğinde ilk kütle kaybı 61.87°C'de %17.1 olarak belirlendi. Daha sonra 284.8 °C ve 567.6 °C'de sırasıyla %88.97 ve %91.49 kütle kaybı tespit edildi.

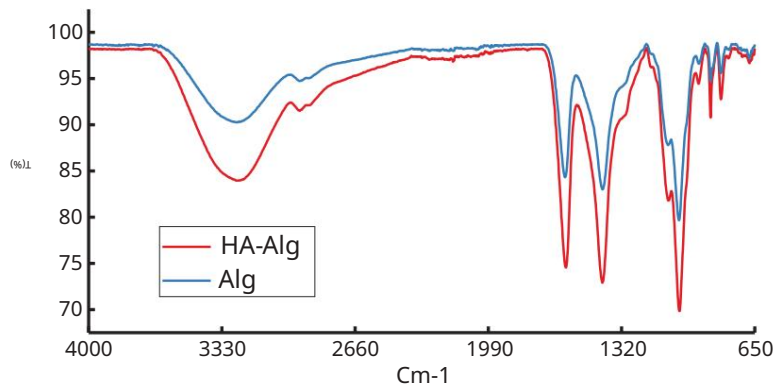
Her iki hidrojel için 61 ve 184 °C'de dehidrasyon gözlemlendi. Aljinat yapısına farklı bileşimlerin eklenmesi, neredeyse tek bir adımda daha hızlı bir ayrışma pozisyonuna yol açar [27]. Sonuçlarımızın aksine, Fontes ve arkadaşları yapıya penisilin ve nişasta molekülleri katıldığında aljinatın bozunma hızının azaldığını belirlemişlerdir [28].

Hidrojellerin su tutma kapasitesi

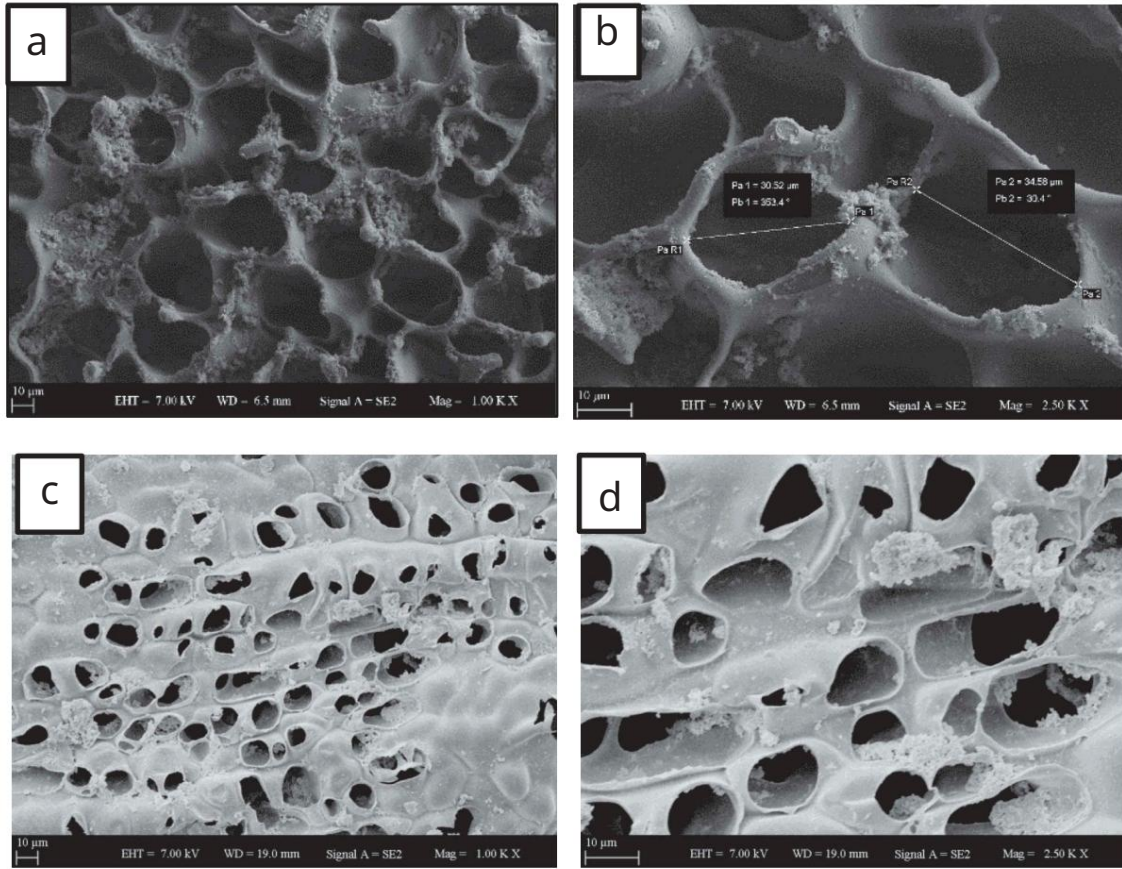
Elde edilen sonuçlara göre HA-Alg hidrojelinin ilk saatte 18 kat, 24 saatte 21 kat ve 48 saatte 23 kat tutabildiği belirlendi (Ş ekil 6). Alg hidrojelinin su tutma kapasitesinin ağırlığının 13 katı, 15 katı ve 24 katı olabileceği tespit edilmiştir.



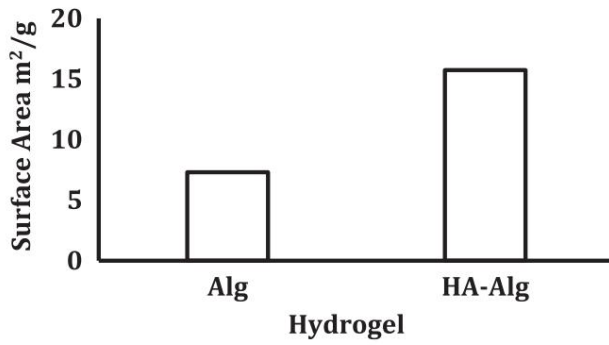
Ş ekil 2. Hidrojeller. A Alg Hidrojel, B HA-Alg Hidrojel.



Ş ekil 3. Hidrojellerin FT-IR spektrumları.



Ş ekil 4. Hidrojellerin SEM görüntüleri. A HA-Alg Hidrojel 1000x büyütme, B HA-Alg hidrojel 2500x büyütme, C Alg hidrojel 1000x büyütme, D Alg hidrojel 2500x büyütme.



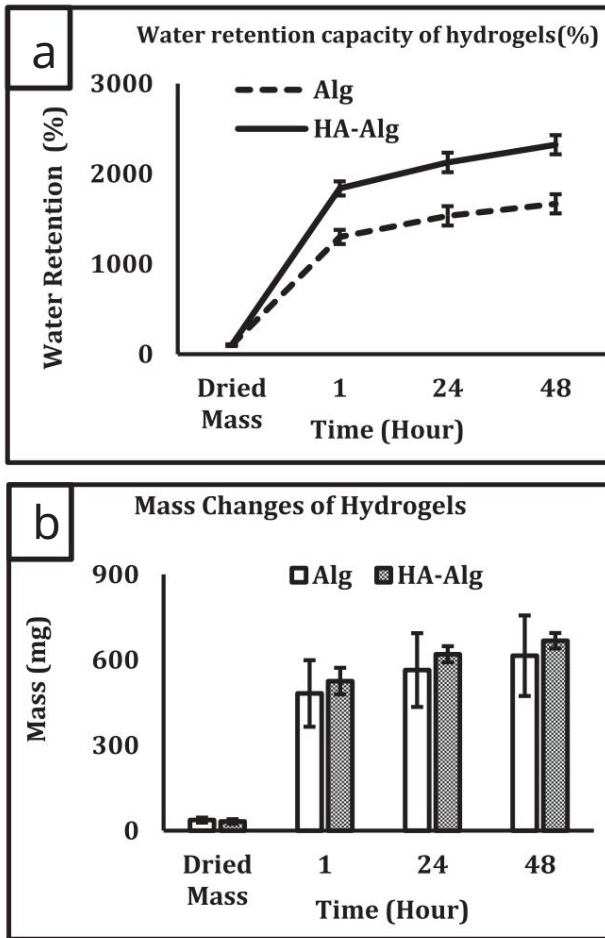
Ş ekil 5. Hidrojellerin yüzey alanı.

ve sırasıyla 48 saat. HA-Alg hidrojelini ilk saatte beş kat, 24 ve 48 saatte sırasıyla altı kat ve yedi kat su tutma kapasitesi gösterdi. Sonuç olarak HA-Alg hidrojelinin su tutma kapasitesi yapısındaki hümk asitten dolayı Alg hidrojeline göre daha yüksektir.

Yüksek su tutma kapasitesi bir hidrojel için olmazsa olmaz konulardan biridir. Hidrojellerin su tutma kapasiteleri genellikle yapıdaki ç apraz bağlı moleküllerin yoğunluğuna bağlıdır. Bir hidrojel su tutma kapasitesi büyük ölç üde zarın gözenekliliğine bağlıdır. Hidrojel su tutma kapasitesi gözenekliliği optimize ederek korunabilir, böylece

yüzey alanı/hacim oranı. Bir çalış mada, Depan ve Misra bir gümüş nanoparç acık sistemini bir antimikrobiyal madde olarak zamanında ayrış tıran gözenekli bir zar gelişt irtiler [29].

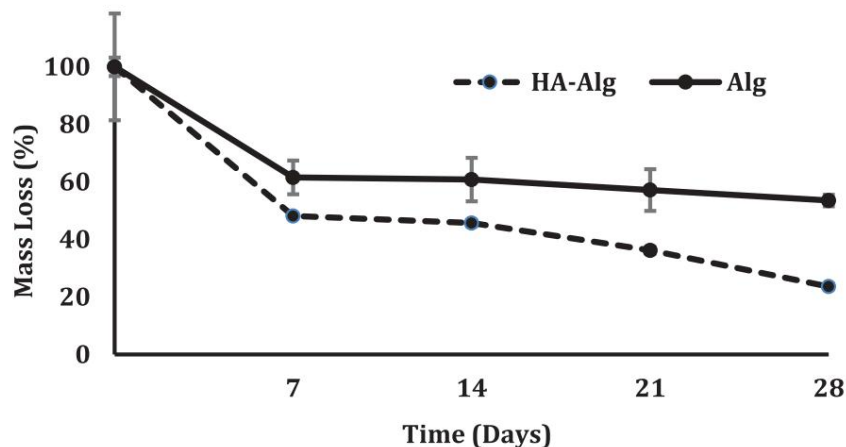
Yüksek ç apraz bağlı moleküler yoğunluğ a sahip hidrojeller az miktarda su tutabilirken, düş ük ç apraz bağlı moleküler yoğunluğ a sahip hidrojeller genellikle yüksek su tutma kapasitesine sahiptir [30]. Bir hidrojel su tutma kapasitesi, son ürünün yoğunluğunun azalmasına yol aç an hidrojel yapısındaki çe ş itli moleküllerin mevcudiyeti nedeniyle artar [31]. Aljinat hidrojeller, yüksek su tutma kapasiteleri ile çok iyi bilinirler; ancak, farklı polimerlerle ç apraz bağlandıktan sonra, su tutma kapasitesi, ç apraz bağların yoğunluğ una ve gözenekliliğ e bağlı olarak değişir. Kumar ve meslektaş ları, hidrojel bazlı biyolojik olarak parç alanabilen bir pansuman malzemesi tasarladılar. Hidrojel, 1-etil-(dimetilaminopropil) karbodiimid (EDC) ve N hidroksisüfosüksinimit (NHS) varlığında amid bağı yoluyla hazırlandı, ardından aljinatın iki değerlikli katyonik ç apraz bağlanması ve selüloz ile hidrojen bağı yapıldı. Yapıya katılan selülozun hidrojel stabilitesini artırdığını ve kollajen-aljinat-selüloz kompozit hidrojel için yaklaşık %89 gibi yüksek su tutma kapasitesi elde edildiğini bildirmiş lerdir [32].



Ş ekil 6. Hidrojellerin kütle değişimleri ve su tutması. A Kütle değişimi, B Su tutması.

Hidrojellerin biyolojik bozunma profili

HA-Alg ve Alg hidrojellerinin biyolojik bozunma oranları, kütle kaybının yüzdesi olarak hesaplandı. Biyolojik bozunma analizleri üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre HA-Alg hidrojelinin kütle kaybı %52 (standart hata = ± 5,86), %54 (standart hata = ± 7,56), %64 (standart hata = ± 7,26) ve %76 (standart hata = ± 7,26) olarak belirlenmiştir. Sırasıyla birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü haftada. Alg hidrojelinin kütle kaybı



Ş ekil 7. Hidrojellerin kütle kaybı.

birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü hafta sırasıyla %38 ± %0,64, %39 ± %1,06 (standart hata=), %42 ± %1,21 ve %46 ± %0,88 olarak belirlendi.

Alg hidrojeline kıyasla HA-Alg hidrojelinin kütle kaybı daha yüksekti (Ş ekil 7). Bir yara iyileşme materyalinin biyobozunma oranı, yara iyileşme sürecinde önemli bir konudur [33]. Aljinat hidrojellerin biyodegradasyon hızı, yapıya dahil olan diğer bileşenlere göre değişir [34].

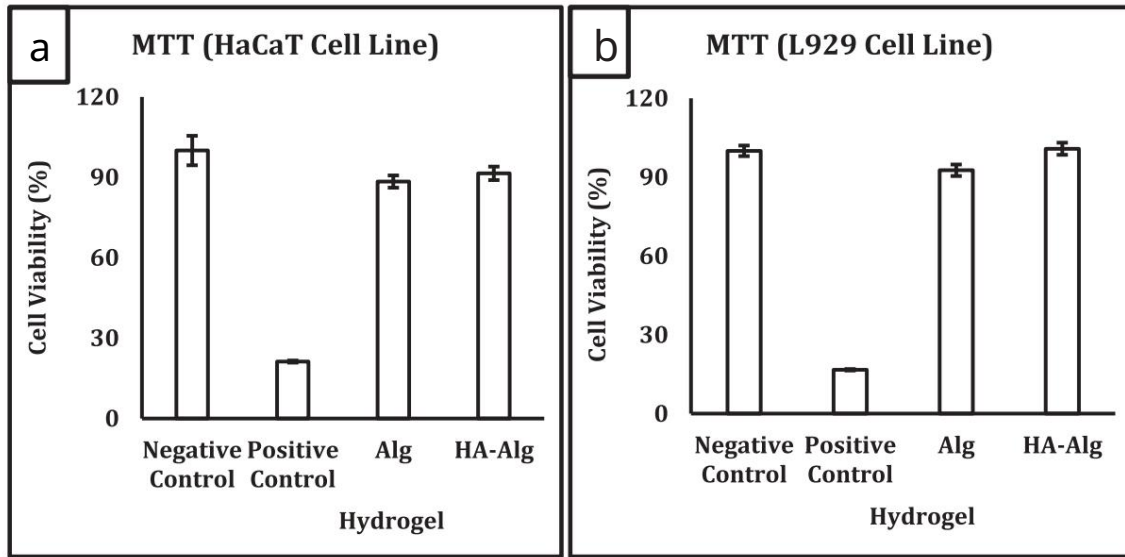
Biyoyumluluk testleri

Hücre canlılığını belirlemek için MTT ve nötr-kırmızı sitotoksikite testleri yapıldı. MTT ve Neutral Red testleri sekiz kopya üzerinde gerçekleştirildi.

MTT

HACAT hücre hattında HA-Alg ve Alg hidrojelinin hücre canlılığı, Ş ekil 8'de görüldüğü gibi %91,46 ± %2,51 ve %88,40 ± %2,31 idi. HA-Alg hidrojelinin, Alg hidrojeline kıyasla %3,06 daha yüksek hücre canlılığına sahip olduğu bulundu (p - tüm gruplar arasındaki değer P > 0,05). HA-Alg hidrojelinin L929 hücre hattı üzerindeki hücre canlılığı Ş ekil 8'de gösterildi ve %100,80 ± 2,32 olarak belirlendi. Alg hidrojelinin L929 hücre hattı üzerindeki hücre yaşayabilirliği, %92,61 ± 2,19 idi. HA-Alg hidrojelinin, Alg hidrojelini ile karşılaştırıldığında %8,18 daha yüksek bir hücre canlılığına sahip olduğu bulundu (P > 0,05). HA-Alg ve Alg hidrojel arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0,05). Negatif kontrol ile Alg hidrojel arasında anlamlı bir fark vardı (P < 0,05).

Literatürde aljinat türevleri kullanılarak geliştirilen çeşitli hidrojel biyomateryalleri bulunmaktadır. Kitin/kitosan [35], karboksimetil [36] ve düşük kalsiyum iyonları [37] içeren aljinat hidrojellerinin sitotoksik etkisinin olmadığı bildirilmiştir. NIH3T3 ve HeLa Cell'de MTT testi sonuçları çizgiler, poliakrilamid-kitosan hidrojellerinin sitotoksik etkisinin olmadığını göstermiştir [38]. MTT test sonuçları, poli (propilen fumarat-ko-etilen glikol) hidrojellerin sitotoksik etkisinin olmadığını göstermiştir [39]. Hidrojellerin HaCaT ve L929 hücre hatları üzerindeki hücre canlılığı, MTT tahlili ile belirlendi. Elde edilen sonuçlar



Ş ekil 8. Hidrojellerin (MTT) sitotoksitesisi. Bir HaCaT Hücre Hattı, B L929 Hücre Hattı.

sırasıyla %77 ile %89 arasında. Çalış mada gösterildiği gibi, HA-Alg ve Alg hidrojellerinin sitotoksitesiteye sahip olmadığı bulunmuş tur.

nötr kırmızı

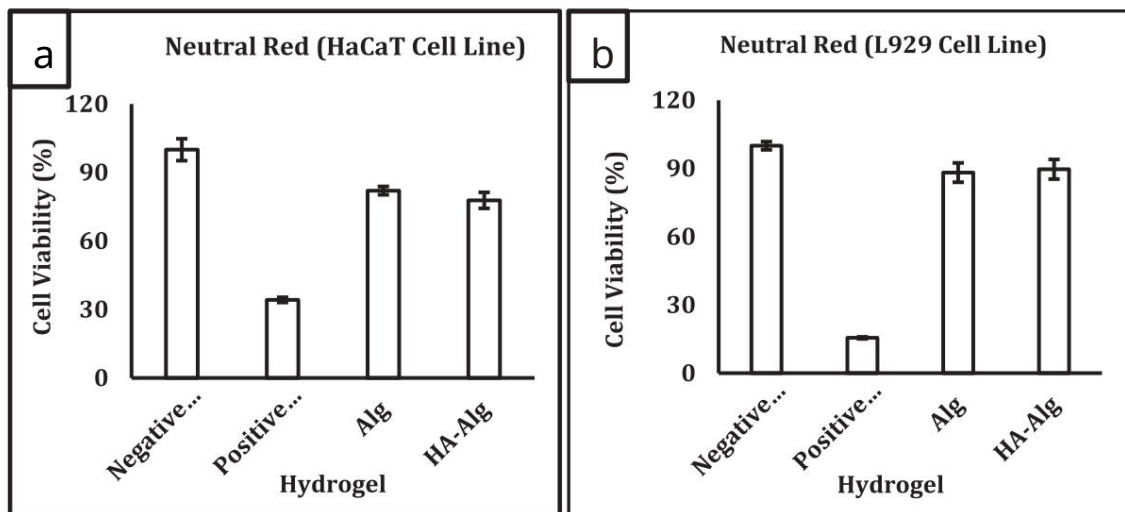
Ş ekil 9'da gösterildiği gibi HA-Alg hidrojelinin HaCaT hücre hattı üzerindeki hücre canlılığı %77.77 ± 3.51% ve Alg hidrojelinin hücre canlılığı %82.02 ± 1.81 olarak belirlendi . HA-Alg'in Alg hidrojeline kıyasla sahip olduğu bulundu %4,26 daha düşük bir hücre canlılığı (P < 0,01). Negatif kontrol ile Alg hidrojel arasında anlamlı bir fark vardı (P < 0.01). Alg ve HA-Alg hidrojelleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0.05).

HA-Alg hidrojelinin L929 hücre hattı üzerindeki hücre canlılığı %89.62 ± 4.32 olarak, Alg'nin hücre canlılığı ise %89.62 ± 4.32 olarak belirlendi.

hidrojel, %88,16 ± 4,25 idi. Alg hidrojeline kıyasla HA-Alg hidrojelinin %1,46 daha yüksek bir hücre canlılığına sahip olduğu bulundu (P < 0,05). Negatif kontrol ile Alg hidrojel arasında anlamlı bir fark vardı (P < 0.05).

Alg ve HA-Alg hidrojelleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0.05).

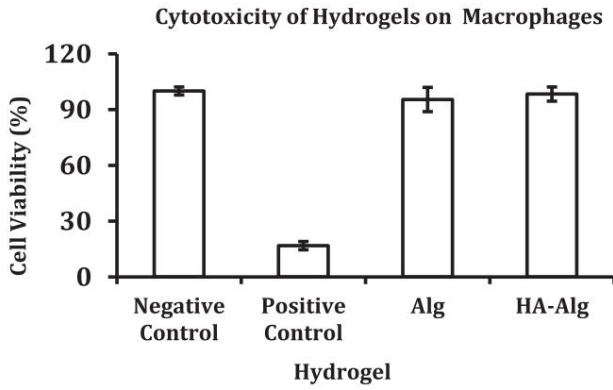
NIH3T3 ve HeLa Cell hatları üzerindeki Neutral Red test sonuç ları, poliakrilamid-kitosan hidrojellerinin sitotoksik etkisinin olmadığını göstermiş tir [38]. Hidrojeller ile yapılan baş ka bir çalış mada, N-karboksietil kitosan ve oksit dekstran içeren bir hidrojelin de sitotoksik olmadığı bulunmuş tur [40]. Hidrojellerin MTT testleri ile elde edilen HaCaT ve L929 hücre hatları üzerindeki hücre canlılığı sonuç ları, NR tahlili ile doğrulandı. Elde edilen sonuç lar sırasıyla %77 ile %89 arasındaydı.



Ş ekil 9. Hidrojellerin sitotoksitesisi (Nötr Kırmızı). Bir HaCaT Hücre Hattı, B L929 Hücre Hattı.

İmmünotoksosite deneyleri

THP-1 hücre çizgisi, HA-Alg ve Alg hidrojellerinin enflamatuvar etkisini modellemek için makrofaja dönüş türü dönüşüm, ters bir mikroskopta izlendi. Hidrojellerin sitotoksitesi, makrofaj dönüş türü hücreler üzerinde belirlendi. HA-Alg membranlarının makro fajlarla inkübasyonunu takiben proinflamatuvar sitokinler IL-1 β ve TNF α 'nın sentezi Elisa kitleri (Sigma, Human Tumor Necrosis Factor α ELISA Kit ve Thermo) ile tanımlanmış tir.



Ş ekil 10. Hidrojellerin makrofajlar (MTT) üzerindeki sitotoksitesisi .

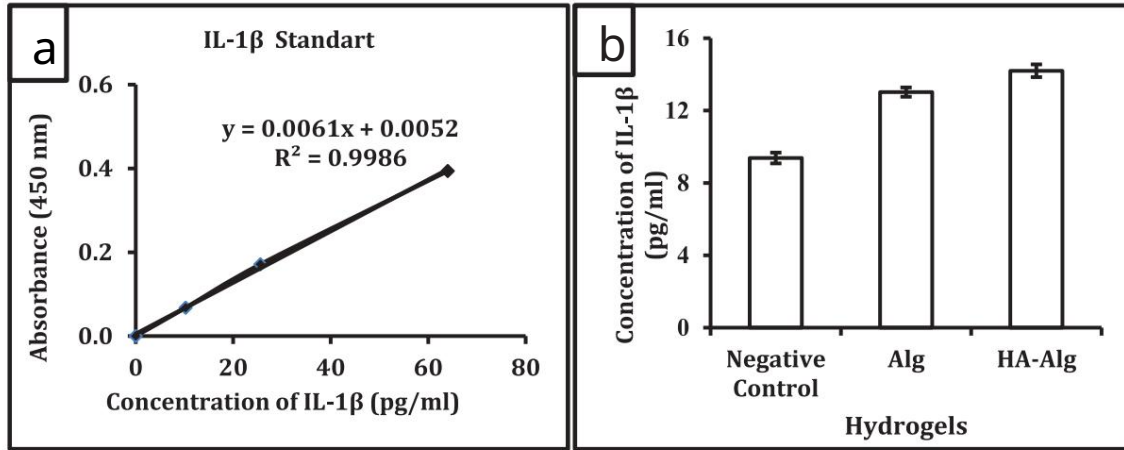
Fisher, IL-1 beta İnsan ELISA Kiti). Elde edilen absorpsiyon değerleri, standart grafikler (Ş ekil 11 ve 12) ve salınan IL-1 β ve TNF α konsantrasyonları kullanılarak çizilmiş tir. HA-Alg zarlarının makrofajlar üzerindeki sitotoksitesini bulmak için makrofajlar üzerinde MTT tahlili yapıldı.

Makrofajın hücre canlılığı

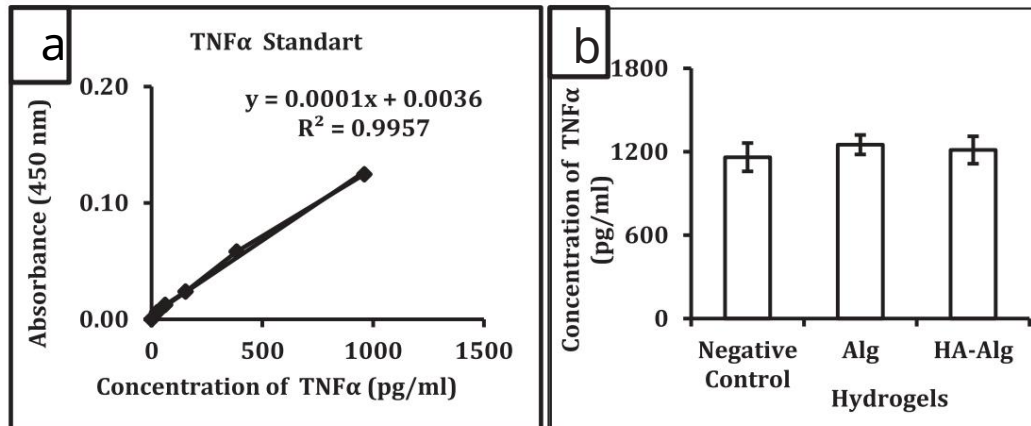
Makrofaj hücrelerinin HA-Alg hidrojeli üzerindeki hücre canlılığı, Ş ekil 10'da verildiği gibi, %98,36 \pm 3,82% ve makrofaj hücrelerinin Alg hidrojeli üzerindeki hücre canlılığı, %95,43 \pm 6,51 olarak belirlendi . HA-Alg hidrojeli bulundu Alg hidrojeliinden %2,92 daha yüksek bir hücre canlılığına sahip olmak (P > 0,05). Negatif kontrol ve Alg hidrojeliinde anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0.05). Alg ve HA-Alg hidrojeli arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P > 0.05). Çalış mada gösterildiği gibi, HA-Alg ve Alg hidrojellerinin makrofajlar için sitotoksik olmadığı bulunmuş tur.

İnterlökin-1 β salınım testi HA-

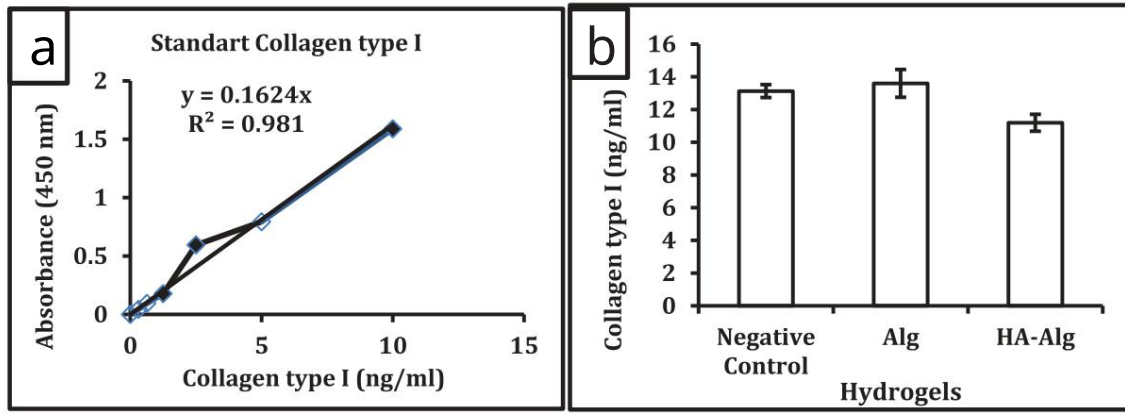
Alg, Alg ve kontrol grubu ile muamele edilen besiyerlerindeki interlökin-1 β seviyeleri belirlendi ve sonuç lar Ş ekil 11'de verildi . Negatif kontrol, Alg ve HA-Alg'nin interlökin-1 β konsantrasyonu hidrojeli



Ş ekil 11. Interleukin-1 β realese. A Standart Eğri, B IL-1 β Konsantrasyon.



Ş ekil 11. Interleukin-1 β realese. A Standart Eğri, B IL-1 β Konsantrasyon.



Ş ekil 12. TNF α salınımı. A Standart Eğri, B TNFa Konsantrasyon.

grup $9,38 \pm 0,30$ pg/mL, $13,02$ pg/mL ve $14,20 \pm 0,35$ pg/mL olarak hesaplandı. Bu çalışmada sekiz tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş tir. Kontrol grubu ile Alg hidrojeline maruz kalan numuneler arasında istatistiksel bir fark ($P < 0.01$) bulundu. Alg hidrojelinin interlökin-1 β düzeyi sekresyonunu $3,64$ pg/mL arttırdığı belirlendi. HA-Alg hidrojel ve kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark ($P < 0.01$) bulundu. HA-Alg hidrojelinin interlökin-1 β düzeyi salgısını $4,82$ pg/mL arttırdığı saptanmıştır.

Bir çalışmada, ilaç salım uygulaması için N,O-karboksümetil kitosan ve oksitlenmiş aljinattan oluşan kovalent olarak çapraz bağlı hidrojel geliştirilmiştir. Hidrojelin in vitro/ vivo hücre uyumluluğu ve biyouyumluluğu değerlendirildi. Hidrojelin iyi bir sito uyumluluk gösterdiğini ancak IL-1 β seviyesinde bir artış gözlemlediklerini bildirdiler [36].

Gümüş bazlı biyomalzemeler, özellikle yara pansumanları için çeşitli bakterisidal uygulamalarda geliştirilmiştir. Bir çalışmada gümüş nanoparçacıklar (AgNP'ler) bir sodyum aljinat çözeltisinde sentezlenmiş ve daha sonra nanokolloid çözeltisinden AgNP'leri içeren kompozit sünger hazırlanmıştır. Aljinat-AgNPs kompozit sünger, aljinat süngerle karşılaşmış bir anti mikrobiyal aktiviteye sahipti. Aljinat-AgNPs kompozit süngeri ile tedavi edilen makrofajlardan salınan proinflamatuvar sitokinlerin miktarı azalmıştır [41].

Başka bir çalışmada, aljinat-poli-L-lizin mikrokapsüllerinin peritoneal implantasyonu sonrası inflamatuvar yanıt değerlendirilmiş ve IL-1 β düzeylerinde artış bildirilmiştir [42]. Literatürde aljinat hidrojellere katkılı malzemelerin IL-1 β salımına neden olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada aljinat ile çapraz bağlanan hüyük asidin IL-1 β salınımı üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını bulduk.

Tümör nekroz faktörü α salım tahlili. HA-Alg hidrojeli, Alg hidrojeli ve hidrojele maruz kalmayan (kontrol grubu) hücre ekstraktlarının TNFa seviyelerinin konsantrasyonları Ş ekil 12'deki gibi belirlendi.

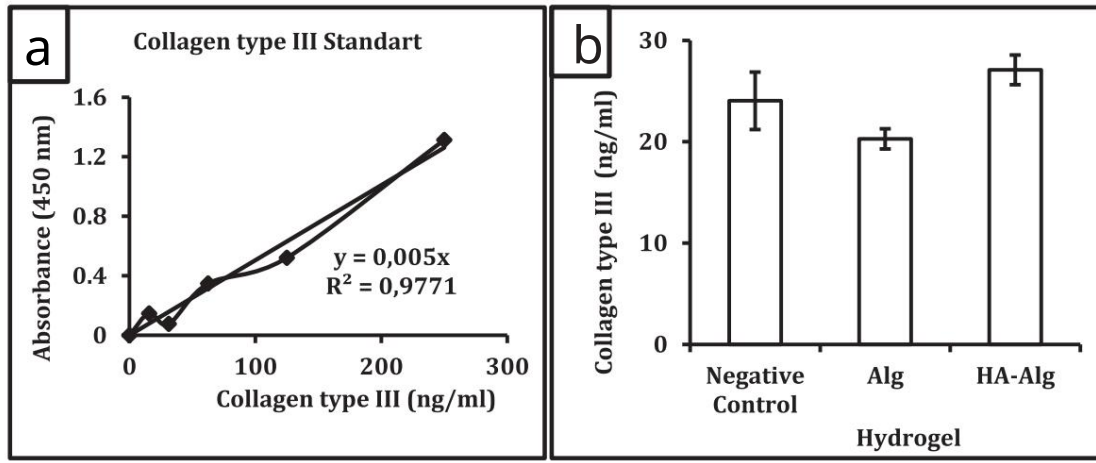
negatif kontrol grubunun konsantrasyonu $1160,50 \pm 101,88$ pg/mL idi. Alg hidrojeli ve HA-Alg hidrojelinin TNFa konsantrasyonu sırasıyla $1250,63 \pm 70,50$ pg/mL ve $1212,50 \pm 98,63$ pg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada sekiz tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş tir. Kontrol grubu ile Alg hidrojel grubundaki TNFa seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu ($P < 0.05$) bulundu. Alg hidrojeli, TNFa seviyesini 90.13 pg/mL artırdı. Kontrol grubu ile HA-Alg hidrojel grubu arasında TNFa seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($P > 0.05$). Aljinat hidrojeli ile yapılan bir çalışmada [34] aljinat hidrojelinin TNFa düzeyini etkilememesine neden olduğu bildirilmiştir. Yara örtü malzemelerinin sitokin düzeylerini etkilediğine dair çok fazla çalışmada yoktur.

Başka bir çalışmada, 1,4-bağlı beta-D-mannuronik asit (M), alfa-L-guluronik asitten (G) oluşan aljinatların tümör nekroz faktörü α , interlökin-6 ve interlökin-1'in uyarılması ve alternatif (MG) bloklar incelendi. Aljinatlar, üç sitokin yüksek seviyelerini üretmek için monositleri uyardı. Düşük G aljinatların, yüksek G aljinatlarla karşılaşmış durumda sitokin üretimini indüklemeye yaklaşık 10 kat daha güçlü olduğu bildirildi. M blokları ve MG blokları, ancak G blokları sitokin üretimini uyarmadı [43]. Literatürde, TNF alfa salınımının aljinat hidrojellere dahil edilen materyaller tarafından indüklendiği gözlenmiştir. Bu çalışmada, aljinat ile çapraz bağlı hüyük asidin TNFa salınımı üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını bulduk.

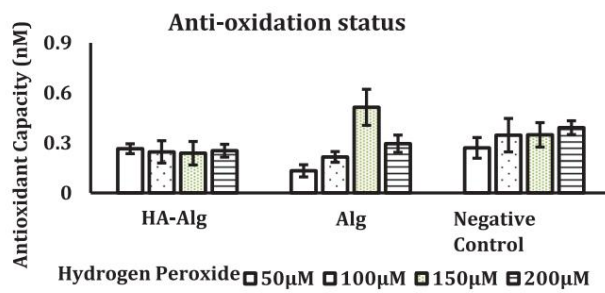
kollajen salma deneyi. Kollajen tip I ve tip III konsantrasyonları, standart eğri grafiklerinden elde edilen absorbans değerleri ile belirlendi (Ş ekil 13 ve 14).

Kollajen tip I salım deneyi HA-

Alg hidrojeli, Alg hidrojeli ve kontrol grubu ile inkübasyondan sonra hücre özütlemlerindeki kollajen tip I salım oranları, Ş ekil 13'te gösterildiği gibi belirlendi.



Ş ekil 13. Kollajen Tip I salınımı. A Standart Eğri, B Kollajen tip I konsantrasyonu.



Ş ekil 14. Collagen Type III realese. A Standart Eğri, B Tip III kollajen konsantrasyonu.

negatif kontrol grubu $13,13 \pm 0,39$ ng/mL olarak belirlendi. Alg hidrojel ve HA-Alg hidrojel ile inkübe edilen hücre ekstraktlarının kollajen tip I konsantrasyonu sırasıyla $13,59 \pm 0,85$ ng/mL ve $11,19 \pm 0,52$ ng/mL olarak belirlendi. Çalışma sekiz tekrarlüolarak gerçekleştirilmiş tir. Kontrol grubundaki kollajen tip I seviyeleri ile Alg hidrojel arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($P > 0,05$). Kontrol grubu ve HA-Alg hidrojel grubu ile inkübe edilen kollajen tip I seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($P = 0,01$) bulundu. HA-Alg hidrojel, salgılanan kollajen tip I seviyesini $1,94$ ng/mL azalttı. Alg hidrojelinin tip I kollajen salınımını etkilemediği, HA-ALG hidrojelinin ise tip I kollajen sentezini azalttığı görüldü. Sonuçlara bakıldığında kovalent bağlı HA'nın kollajen I salınımını baskıladığı söylenebilir. Kollajen tip I, ızsız yara iyileşmesinde çok önemli bir role sahiptir. Kollajenin baskılanması ızsız yara iyileşmesi açısından değerli bir bilgidir.

Aljinat esaslı yara örtülerinin kollajen tip I düzeyine etkisi ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmada bulunmamaktadır.

Kollajen tip III salınım deneyi HA-

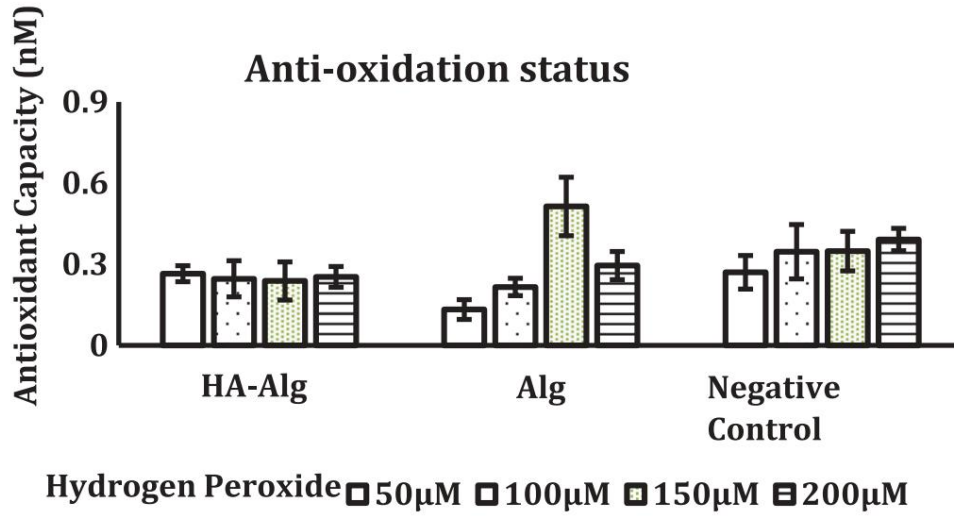
Alg hidrojel, Alg hidrojel ve kontrol grubu hücre ekstraktları ile inkübasyondan sonra hücre ekstraktlarındaki kollajen tip III salınım oranları, Ş ekil 14'te görüldüğü gibi belirlendi. negatif kontrol

grubu, Alg hidrojel ve HA-Alg hidrojel sırasıyla $24 \pm 2,84$ ng/mL, $20,28 \pm 0,99$ ng/mL ve $27,09 \pm 1,47$ ng/mL olarak belirlendi. Çalışma sekiz tekrarlüolarak gerçekleştirilmiş tir. Kontrol grubu ve Alg hidrojel kollajen tip III seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($P > 0,05$). Kontrol grubundaki kollajen tip III seviyeleri ile HA-Alg hidrojel arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($P > 0,05$). Kollajen tip III salınımı üzerinde herhangi bir etkinin olmadığı belirlenmiştir. Aljinat bazlı yara örtülerinin kollajen tip III düzeyine etkisi ile ilgili literatürde çalışmada bulunmamaktadır.

antioksidan kapasite testi

$50 \mu\text{M}$, $100 \mu\text{M}$ ve $200 \mu\text{M}$ H₂O₂ kullanılarak oksidatif strese maruz bırakılan HaCaT hücre hattının antioksidan kapasitesi belirlenmiş ve sonuçlar Ş ekil 15'te verilmiştir tir. $50 \mu\text{M}$ H₂O₂ ile negatif kontrolün antioksidan kapasitesi $0,27 \pm 0,06$ nM olarak belirlenmiştir tir. Alg ve HA-Alg hidrojelinin antioksidan kapasitesi sırasıyla $0,13 \pm 0,02$ nM ve $0,27 \pm 0,03$ nM olarak belirlendi. Negatif kontrol ile Alg hidrojel grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($P < 0,05$) vardı. Alg hidrojelinin antioksidan kapasitesini $0,14$ nM azalttığı bulundu. Negatif kontrol ile HA-Alg içeren hidrojel grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($P > 0,05$).

Negatif kontrol grubunun $100 \mu\text{M}$ kullanılarak oksidatif stres altındaki hücrelerde antioksidan kapasitesi $0,34 \pm 0,08$ nM olarak belirlendi. Alg ve HA-Alg hidrojelinin antioksidan kapasitesi sırasıyla $0,22 \pm 0,03$ nM ve $0,25 \pm 0,05$ nM idi. Negatif kontrol ile Alg hidrojel grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($P > 0,05$). Negatif kontrol ile HA-Alg hidrojel grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($P > 0,05$). Oksidatif stres altındaki hücrelerde negatif kontrol grubunun antioksidan kapasitesi



Ş ekil 15. Hidrojellerin oksidasyon önleme durumu.

200 µM kullanılarak $0,39 \pm 0,03$ nM olarak belirlendi. Alg hidrojelinin ve HA-Alg'nin antioksidan kapasitesi sırasıyla $0,29 \pm 0,04$ nM ve $0,25 \pm 0,04$ nM olarak belirlendi. Negatif kontrol ile Alg hidrojel grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($P > 0.05$). Negatif kontrol ile HA-Alg hidrojel grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($P < 0.05$) vardı ve HA-Alg hidrojelinin antioksidan kapasitesini 0.14 nM azalttığı bulundu.

HaCaT hücre hattı 50 µM, 100 µM ve 200 µM H₂O₂ kullanılarak oksidatif strese maruz bırakıldı ve hücrelerin antioksidan kapasiteleri üzerinde önemli bir etki saptanmadı. Literatürde aljinat yara örtümalzemesinin HaCat hücre hattının antioksidan kapasitesinin etkisi üzerine bir çalış ma bulunmamaktadır.

Çözüm

Yara; mekanik, termal, elektrik ve kimyasal gibi tıbbi veya fizyolojik rahatsızlıkların veya yaralanmaların altında yatan neden olan deri veya doku bütünlüğünün kaybı olarak tanımlanabilir. Bir yara örtüsünün amacı, yaranın iyileş me sürecini uyarmak ve iyileş menin kalitesini arttırmaktır. Bazı yaralanmalar, yara iyileş me sürecinden sonra bir skar dokusu bırakır.

Enflamasyon, yara iyileş mesinin temel adımlarından biridir. Bununla birlikte, enflamatuvar sürecin normal ve anormal yara iyileş mesi üzerinde doğrudan etkileri vardır. Çalış malar, hipertrofik skar oluş umunu içeren anormal bir yara iyileş mesinin, fibroblastların aş ırı iş levi ve aş ırı hücre dış ı matris birikimi olduğunu göstermiş tir.

Ekstrasellüler matrikste aş ırı kollajen tip I birikimi skar oluş umuna neden olur. Bu çalış madaki amacımız, izsiz doku rejenerasyonu için yara iyileş tirici bir biyomateryal gelişt irmektir. Aljinat, hünik asit molekülerinin kovalent olarak ç apraz bağlandığı zarın ana iskeletiydi. HA-Alg hidrojel, skar oluş umunda önemli bir role sahip olan kollajen tip I aş ırı ekspresyonunu bastırdı ve kollajen tip III ekspresyonunu uyardı.

yara iyileş mesinde hayati bir role sahiptir. HA-Alg yara örtüsü yukarıda belirtilen özellikleri ile izsiz yara iyileş mesi için umut verici bir biyomateryal gibi görünmektedir.

Açıklama bildirimi

Yazarlar tarafından herhangi bir potansiyel çıkar çatış ması bildirilmemiş tir.

Referanslar

- [1] Sezer AD, Cevher E. Yara iyileş tirme materyalleri olarak biyopolimerler: zorluklar ve yeni stratejiler. Nanotıp için Biyomalzeme Uygulamaları. 2011. InTech, Birleş ik Krallık: InTech açık.
- [2] Sood A, Granick MS, Tomaselli NL. Yara Örtüleri ve Karş ılaş tırmalı Etkinlik Verileri. Adv Yara Bakımı (Yeni Rochelle). 2014;3:511-529.
- [3] Boateng JS, Matthews KH, Stevens HN, ve ark. Yara iyileş me pansumanları ve ilaç dağıtım sistemleri: bir inceleme. J Eczacılık Sci. 2008;97:2892-2923.
- [4] Kurtoğlu AH, (2009). "YARA TEDAVİ SİNDE GÜNCEL YAKLAŞ IMLAR: MODERN YARA ÖRTÜLERİ".
- [5] Ş arkıcı AJ, Clark RA. Deri yara iyileş mesi. N İngilizce J Med. 1999;341:738-746.
- [6] Anderson JM. Enflamasyon, yara iyileş mesi ve yabancı cisim tepkisi. Biyomalzeme Bilimi: Malzemelere Giriş , Üç üncü baskı. Elsevier Inc; <https://www.elsevier.com/books/materials/ashby/978-0-08-097772-0> 2013.
- [7] Golden MA, Au Y, Kirkman TR, et al. Babunlarda vasküler greftlerin iyileş mesinde trombosit kaynaklı büyüme faktörü aktivitesi ve mRNA ekspresyonu. Hücre proliferasyonu ile trombosit türevli büyüme faktörümRNA ve proteinin in vivo iliş kisi. J Clin Araş tırma. 1991;87:406.
- [8] Kovacs EJ. Fibrojenik sitokinler: skar dokusunun geliş iminde immün mediatörlerin rolü. İmmunol Bugün. 1991;12:17-23.
- [9] Sporn MB, Roberts AB. MINIREVIEW: Hücre Farklılaş ması ve Proliferasyonunun Düzenlenmesinde Retinoidler ve Transforming Growth Factor-β etkileş imleri. Mol Endokrinol. 1991;5:3-7.

- [10] Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Doku onarımı ve hücre dışı J Biochem Cell Biol'un dinamikleri. *matris. iç* 2004;36:1031-1037.
- [11] Gensel JC, Zhang B. Makrofaj aktivasyonu ve omurilik yaralanmasından sonra onarım ve patolojideki rolü *Beyin Res.* 2015;1619:1-11.
- [12] Kanji S, Das H. Kutanöz Yara İyileşmesi ve Yenilenmesinde Kök Hücre Terapötiklerinin Gelişmeleri. *Arabulucular İnflamm.* 2017;2017:1-15.
- [13] Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, et al. Cilt yara iyileşmesi: mevcut bilgi ve kavramlar üzerine bir güncelleme. *Eur Surg Res.* 2017;58:81-94.
- [14] Wang PH, Huang BS, Horng HC ve ark. Yara iyileşmesi. *J Chin Med Doç.* 2017; 22:1330-1337.
- [15] Sivamani K, Garcia MS, Isseroff RR. Yara yeniden epitelizasyonu: yara iyileşmesinde keratinin rolü. *Biyomed Res Int.* 2007;12:284-288.
- [16] Leoni G, Neumann P, Sumagin R, et al. Yara onarımı: immün-epitelyal etkileşimlerin rolü *Mukoza İmmunol.* 2015;8:959-968.
- [17] Brancato SK, Albina JE. Onarımın ana düzenleyicileri olarak yara makrofajları: orijin, fenotip ve fonksiyon. *Ben J Pathol.* 2011;178:19-25.
- [18] Li -HH, Lu FJ, Hung HC, ve diğ. Hümk Asit, İnsan SK-N-MC'de ER Stresini İndükleyerek Amiloid β-İndüklenmiş Sitotoksititeyi Artırır *Nöronal Hücreler. Int J Mol Sci.* 2015;16:10426-10442.
- [19] Plewa MJ, Wagner ED, Mitch WA. Dezenfekte Edilmiş Dinlenme Havuzlarından Su Konsantrlerinin Karşılaştırılması *Memeli Hücre Sitotoksitesi. Çevre Bilimi Teknoloji* 2011;45:4159-4165.
- [20] Kihara Y, Yustiawati Tanaka M, Gumiri S, et al. İnsan vasküler endotel hücreleri üzerinde doğal hümk asidin neden olduğu toksitenin mekanizması. *Çevre Toksikol.* 2014;29:916-925.
- [21] Papageorgiou SK, Kouvelos EP, Favvas EP, et al. FTIR spektroskopisi ile incelenen metal-aljinat komplekslerindeki metal-karboksilat etkileşimleri. *Karbonhidrat Res.* 2010;345:469-473.
- [22] Choe SR, Haldorai Y, Jang SC, et al. Stronsiyum iyonlarının sulu çözeltiden verimli bir şekilde çıkarılması için araştırılmış bir ağdan oluşan aljinat/hümk asit/Fe-aminokil hidrojel üretimi. *Çevre Teknolojisi İnovasyonu.* 2018;9:285-293.
- [23] Song D, Park SJ, Kang HW, et al. Ca-aljinat Boncukları Kullanılarak Lityum(I), Stronsiyum(II) ve Lantan(III)'ün Geri Kazanımı. *J Chem Eng Verileri.* 2013;58:2455-2464.
- [24] Shapiro L, Cohen S. Hücre kültürüne nakli için yeni aljinat süngerleri. *Biyomalzemeler.* 1997;18:583-590.
- [25] Siangsanoh C, Ummartyotin S, Sathirakul K, et al. Hedefli ve kontrollü ilaç dağıtım sistemi için üçlüduyarlı kompozit hidrojel üretim ve karakterizasyonu. *J Mol Sıvı.* 2018;256:90-99.
- [26] Sadhan C, Matthew P. Yeni Antifouling Silika Hidrojel. *Langmuir.* 2012;28.25:9700-9706.
- [27] Soares J, Santos J, Chierice G ve ark. Alginik asit ve sodyum tuzunun termal davranışı. *Kimyasal Eklektik.* 2004;29:57-64.
- [28] Fontes GC, Calado VMA, Rossi AM, et al. İyonotropik ön jelleşme ile üretilen antibiyotik yüklü aljinat-OSA nişasta mikro boncuklarının karakterizasyonu. *Biomed Res Int.* 2013;2013. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/472626>
- [29] Depan D, Misra R. Süper hidrofilik, antimikrobiyal ve ultra düşük kirlenme özelliklerine sahip yara örtüsünün hibrit nano ölçekli mimarisi. *J Biomed Nanoteknoloji* 2015;11:306-318.
- [30] Hoffman AS. Biyomedikal uygulamalar için hidrojel. *Adv İlaç Dağıtım Rev.* 2012;64:18-23.
- [31] Lee KY, Rowley JA, Eiselt P, et al. Aljinat hidrojel mekanik ve işlevsel özelliklerinin çapraz bağlayıcı tipi ve çapraz bağlanma yoğunluğu ile bağımsız olarak kontrol edilmesi. *Makro moleküler.* 2000;33:4291-4294.
- [32] Kumar A, Wang X, Nune KC, et al. Yapışmayan yara pansumanı için yüksek emici özelliklere sahip, biyolojik olarak parçalanabilir hidrojel bazlı biyomalzemeler. *Uluslararası Yara J.* 2017;14:1076-1087.
- [33] Li Y, Rodrigues J, Tomas H. Enjekte edilebilir ve biyolojik olarak parçalanabilir hidrojel: jelleşme, biyolojik bozunma ve biyomedikal uygulamalar. *Chem Soc Rev.* 2012;41:2193-2221.
- [34] Jeon O, Bouhadir KH, Mansour JM, et al. Ayarlanabilir biyolojik bozunma hızları ve mekanik özelliklere sahip foto çapraz bağlı aljinat hidrojel. *Biyomalzemeler.* 2009;30:2724-2734.
- [35] Murakami K, Aoki H, Nakamura S ve ark. Kitin/kitosan, fukoidan ve aljinatın hidrojel karışımları, iyileşmeyen yara pansumanları olarak kullanılır. *Biyomalzemeler.* 2010;31:83-90.
- [36] Li X, Kong X, Zhang Z ve ark. İlaç dağıtım uygulaması için N, O-karboksimetil kitosan/ oksitlenmiş aljinat hidrojel sitotoksitite ve biyoyumluluk değerlendirilmesi. *Int J Biol Makromol.* 2012;50:1299-1305.
- [37] Suzuki Y, Nishimura Y, Tanihara M, et al. Yeni bir aljinat jel yara örtüsünün değerlendirilmesi: in vitro fibroblastlara karşı sitotoksitite ve in vivo olarak domuz derisinde yabancı cisim reaksiyonu. *J Biomed Mater Res A.* 1998;39:317-322.
- [38] Risbud MV, Bhandal RR. Poliakrilamid-kitosan hidrojel: in vitro biyoyumluluk ve sürekli antibiyotik salım çalışmaları. *Uyuşturucu Dağıtım* 2000;7:69-75.
- [39] Weng L, Romanov A, Rooney J ve ark. Sitotoksik olmayan, N-karboksietil kitosan ve oksitlenmiş dekstrandan oluşan yerinde jelleşebilen hidrojel. *Biyomalzemeler.* 2008;29:3905-3913.
- [40] Zhang X, Ervin E. Sürünen bentgrass yaprağı sitokininleri ve kuraklık direnci ile ilişkili sitokinin içeren deniz yosunu ve hümk asit özleri. *Bitki Bilimi* 2004;44:1737-1745.
- [41] Seo SY, Lee GH, Lee SG ve ark. Yerinde boyutlandırılmış gümüş nanopartikül içeren aljinat bazlı bileşik sünger. *Karbonhidrat Polim.* 2012;90:109-115.
- [42] Robitaille R, Dusseault J, Henley N, et al. Aljinat-poli-lizin mikrokapsüllerinin peritoneal implantasyonuna inflamatuvar yanıt. *Biyomalzemeler.* 2005;26:4119-4127.
- [43] Du X. GİB Konf. Ser.: *Mater. bilim Müh.* 2018;301 012023.

24. 19. 19. 19. 19.