

Aktif Yara Örtülerinin Eldesinde Fotosensitizerlerin Kullanımı

Gül Merve Gençer^{1,2*} , Murat Akarsu^{1,3} 

ÖZET

Işıkla aktive olan fotodinamik tedavi (FDT), uzun zamandan beri dermatoloji, kanseroloji, kulak burun boğaz, jinekoloji, gastroenteroloji, üroloji vb. Çeşitli hastalıklar için onaylanmış bir tedavi türüdür. FDT'de kullanılan FS, uygun dalga boyunda ışığı absorblayarak reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturabilen bir maddedir. ROS, hedef hücrelerde mutajenik veya genotoksik etki olmadan sitotoksik etkiler üreterek antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Ek olarak, bu süreçte mikroorganizmalar da direnç geliştiremezler. Fotosensitizer maddede bulunan kromofor gruplar spesifik dalga boyundaki ışığa maruz kalmasıyla hücreleri öldürme yeteneğine sahip olan reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot (RNS) gibi zararlı radikallerin üretimi; ışığın dalga boyuna, şiddetine, kullanılan PS'ün miktarına ve çeşidine bağlıdır. Bu çalışmada oluşan bu reaktif türlerin konsantrasyonu çeşitli faktörler ile ayarlanarak vücut dokularına zarar vermeden hasarlı dokuda enfeksiyona neden olabilecek iç ve dış kaynaklı mikroorganizmalardan arındırması öngörülmektedir. Ayrıca fotosensitizer boyar maddenin içerisine sabitlendiği hidrojel yara örtüsünün; yaranın nem dengesini koruması, doku oluşumunu artırıcı etki göstermesi, yarayı soğutarak acıyı azaltması, gaz geçişini optimum düzeyde tutarak ortam kaynaklı kontaminasyonu engellemesi, matriks sisteminin emici özelliği sayesinde hasarlı doku üzerindeki fazla sıvıyı emerek yaranın daha çabuk iyileşmesine katkı sağlaması gibi fiziksel özelliklere sahip olması hedeflenmiştir.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

01 Mayıs 2021

Kabul

11 Haziran 2021

ANAHTAR KELİMELER

Antimikrobiyal, fotodinamik terapi, fotosensitizer, hidrojel, yara örtüsü

The Use of Photosensitizers in the Production of Active Wound Dressings

ABSTRACT

Light-activated photodynamic therapy (PDT) has long been used in dermatology, carcinology, otolaryngology, gynecology, gastroenterology, urology, etc. and it's a type of treatment that approved for various diseases. PS used in PDT is a substance that can absorb light with the suitable wavelength and form reactive oxygen species (ROS). ROS shows antimicrobial activity by producing cytotoxic effects in target cells without mutagenic or genotoxic effects. In addition, microorganisms cannot develop resistance in this process. The light-induced formation of the harmful radicals such as reactive oxygen (ROS) and reactive nitrogen (RNS) species that are capable of killing cells depends on the intensity and the wavelength of the light and the type and amount of the PS used. It is envisaged that the concentration of these reactive species studied in the study will be adjusted by various factors so as to eliminate the internal and external microorganisms that can cause infection in the damaged tissue without causing harm to healthy tissues. Furthermore, the hydrogel dressings containing a fixed photosensitizer dye in the matrix are synthesized so as to protect the moisture balance on the wound area, to promote tissue formation, to reduce pain by cooling the wound area, to prevent the contamination of the wound while being permeable to gases and to contribute to the healing of the wound by absorbing excess liquid formed by the damaged tissue.

ARTICLE HISTORY

Received

01 May 2021

Accepted

11 June 2021

KEY WORDS

Antimicrobial, hydrogel, photodynamic therapy, photosensitizer, wound dressing

¹ Akdeniz University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Antalya / Turkey

² BelenMed R&D Ltd., Antalya Technopolis, Akdeniz University Campus, Antalya, Turkey

³ NANOen R&D Ltd., Antalya Technopolis, Akdeniz University Campus, Antalya, Turkey

*Corresponding Author: Gül Merve GENÇER, e-mail: gulmervekurtbelen@gmail.com

Giriş

Günümüze kadar yapılan sayısız araştırma ile yara iyileşmesinin aşamaları sınıflandırılarak, iyileşme sürecinde meydana gelen değişiklikler belirlenmiştir [1, 2]. İltihap ve koagülasyon oluşumu yara iyileşmesinin ilk aşamalarında görülmektedir. İlk aşamada inflamatuvar cevabı, dermal ve epidermal hücrelerin proliferasyonunu, migrasyonunu ve ardından yara boşluğunu doldurmak ve cilt bariyerini yeniden kurmak için matris sentezi ile devam etmektedir [3, 4]. Yara iyileşmesinin son aşamasında doku onarımı ve farklılaşma süreci ile cilt dokusunun tam olarak iyileşmesi ve cilt estetiğinin restorasyonu sağlanmaktadır [5]. Özetle yara iyileşme sürecinde aşamalı olarak, önce boşluğun derhal doldurulması, ardından epitelizasyon ve cilt bariyeri fonksiyonunun yeniden kurulması gözlenmektedir [6]. Yaranın yeri, etiyojisi, büyüklüğü ve eşlik eden hastalıkların varlığı gibi birçok faktör iyileşme aşamasında önemlidir. Örneğin yara bölgesinde bakterilerin varlığı, çeşidi ve yoğunluğu hasta için oldukça hayati önem taşımaktadır. Yaralanmamış bir ciltte, patojenik organizmaların kolonizasyonu ve büyümesi, düşük yüzey pH, sebum ve yağ asitleri tarafından inhibe edilmektedir [7]. Fakat bakteriler hayatta kalmak için kendilerini açık yaralar gibi ekolojik olarak uygun oyuklara (nişlere) sabitlemeye çalışırlar. Bu nedenle enfeksiyon kutanöz yaralarda sık görülen bir problemdir ve yara iyileşmesinin durmasına bile neden olur. Bu durum hastada morbidite ve hatta mortalite riskinin artmasına neden olmaktadır. Antibiyotiklerin keşfi, enfeksiyonların tedavisinde devrim yaratmaktadır. Fakat patojenik bakterilerin antibiyotiklere gösterdiği dirençteki artış, lokalize enfeksiyonlar için alternatif tedavilerin araştırılmasına olan ilginin artmasına neden olmuştur [8]. Yara iyileşme sürecinin hızını ve kalitesini yönetmede tüm bu faktörler göz önüne alınarak tedavi yöntemleri önerilmekte ve çeşitli malzemeler üretilmektedir. Bu amaçla yara tedavisinde yaygın olarak yara sargı malzemeleri kullanılmaktadır.

Yara sargısı malzemeleri, nem ve oksijeni geçiren, mikroorganizmaların geçişini engelleyerek onlara karşı koruyucu bariyer oluşturan materyallerdir [9]. Pasif sargılar olarak bilinen türleri; gazlı bezler, hidrojeller, köpükler, hidrokolloidler (karboksimetil-selüloz), alginat, kollajen, selüloz, pamuk / rayon, şeffaf filmler (poliüretan), sargılar vb. yaralarda lokal hücrel yanıt üzerinde etkileri nedeniyle pasif olarak sınıflandırılmıştır [10, 11]. Bu yara örtüleri; yaralı cildi korumak, yara yüzeyinde uygun nemi sağlamak, mikrobiyal biyofilmleri önlemek veya kontrol altına almak, yaralanmış dokuları temizlemek, ağrıyı ortadan kaldırmak veya en aza indirmek, ölü alanları ve yaşayamayan dokuları kaldırmak, yara kaynaklı kokuları kontrol etmek gibi amaçlar için kullanılır. Aktif sargılar ise, yara örtülerine antimikrobiyaller

(topikal antibiyotik ve antifungal ürünler), kollajen veya enzimatik debridman ajanları emdirilerek elde edilir. Özellikle kronik yaralarda lokal enfeksiyonun önlenmesi için gümüş sülfadiazin, metilen mavisi, kristal viyole, bal, polihegzametilen biguanid (PHMB) ve kadeksomer iyodin antimikrobiyaller olarak yaygın olarak kullanılmaktadır [12, 13, 14]. Bu ürünler yara örtüleri dışında, macun, krem, toz formülasyonda da hazırlanmaktadır. Aktif sargılar sınıfında moleküler emici filtreler veya tuzaklar gibi davranan koku kontrollü pansumanlar da mevcuttur. Koku kontrollü pansumanlar yapılarında aktif kömür vb. malzemeleri barındırırlar ve yaraların ve yanık kokularının tedavisinde önerilmektedir. Aktif yara örtülerinin nem ve kollajen ağın tutunmasını arttırması, mikrobiyal biyofilm tabakasının oluşumunu önlemesi, eksüdatları (atıkları) azaltması ve epitelizasyon süresinin (hücre oluşum süresi) kısılmasını sağlaması gibi birçok avantajı bulunmaktadır [15]. Bu örtülerinin üretilmesinde doğal, sentetik veya hibrit polimer yapıları tercih edilebilir. Sentetik polimerler kullanılarak yara üzerine suni dermal bir tabaka örtüsü elde etmeyi amaçlayan sistemler olduğu gibi, doğal-biyouyumlu polimer yapıları ağırlıklı olarak kollajen ve tohumlanmış hücrelerden veya kollajen ve kondroitin sülfattan yapılan sistemler de mevcuttur [16]. Ek olarak, dokuların tamamen yenilenebilmesi için seçilen doğal veya sentetik polimerik malzemelerin, biyouyumlu bir ekstrasellüler matriks (ECM) yapısı sağlaması gerekmektedir. Doğal polimerik malzemelere kolajen, fibrinojen, elastin, sentetik polimerik malzemelere ise poliglikatik asit, polilaktik asit, polidioksanon, poli- ϵ -kaprolakton, polivinilpirolidon, polivinil alkol, polietilen glikol örnek olarak verilebilir. Doğal makromoleküller sentetik polimerlere kıyasla nispeten düşük bir mekanik mukavemet göstermektedir [17]. Bu sebeplerden dolayı araştırmada, fiziksel dayanımı yüksek, şişme davranışları iyi olan en uygun matriks sisteminin eldesi için çeşitli sentetik ve doğal polimer kombinasyonları çalışılmıştır.

Yara tedavisi amacıyla üretilmiş olan ve yaranın evresi, derinliği, salgı miktarı, bakteriyel kontaminasyonu gibi yaranın bazı fizyolojik özelliklerine bağlı olarak kullanılabilen yara örtüleri piyasada uzun zamandır satılmaktadır. Bu ürünlerin amacı var olan enfeksiyonu gidermekten çok enfeksiyon oluşum riskini azaltmak ve yaranın iyileşme sürecini nispeten hızlandırmaktır [18]. Bu yara örtülerine enfeksiyonu gidermek için çeşitli antibiyotiklerin veya gümüş gibi inorganik yapıların emdirildiği sistemler yaygındır [19, 20, 21]. Fakat tedavi amacıyla kullanılan antibiyotiklerin mikroorganizmalar üzerinde selektif toksisite göstermesi ve mikroorganizmalarda bulunan hedef spontan kolaylıkla mutasyonlar ile değişerek dirençli hale gelebilmesi, bu yara örtülerinin etkinliklerini sınırlamaktadır. Farklı bir şekilde içerisinde gümüş gibi inorganik maddeleri barındıran sistemler ise yüksek antimikrobiyal aktivite göstermelerine ve mikroorganizmaların mutasyon geçirerek dirençli hale gelmelerine fırsat

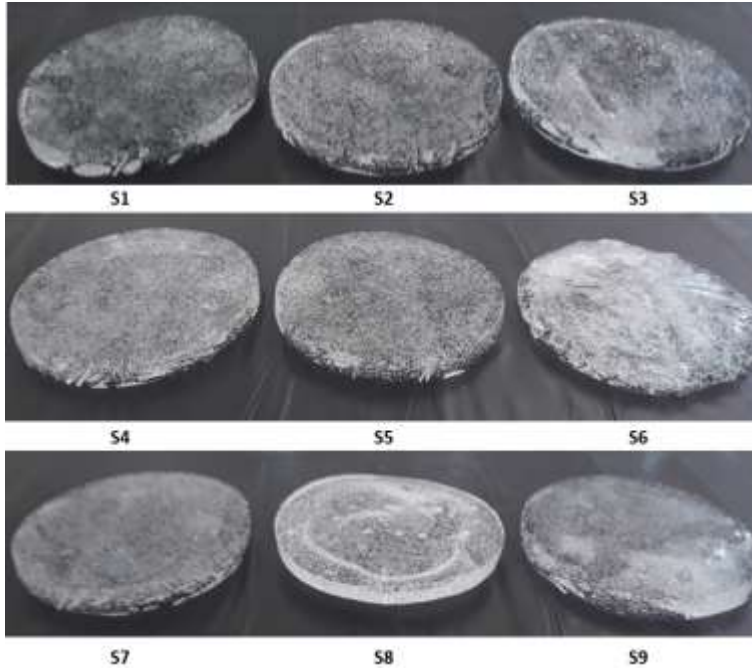
vermeden etki edebilmelerine karşın yara dokusunun kendisine de tahribat verebilmektedir [22]. Bu gibi sorunlardan dolayı hasarlı dokunun tedavisi için ekstrasellüler matriksi destekleyebilecek ve lokalize enfeksiyonlar için kullanılabilir alternatif tedavilerin bulunması amacıyla literatür taramaları yapılmış, yapılan araştırmalar sonucunda fotodinamik terapinin yara tedavisinde etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Işıkla aktive olarak etki gösteren fotodinamik terapi (PDT), uzun zamandan beri dermatoloji, kanseroloji, kulak burun boğaz, jinekoloji, gastroenteroloji, üroloji vb. Çeşitli hastalıklar için onaylanmış bir tedavi türüdür [23, 24]. PDT'de kullanılan fotosensitizör (PS), uygun dalga boyunda ışığı absorblayarak reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturabilen bir maddedir [25, 26]. ROS, hedef hücrelerde mutajenik veya genotoksik etki olmadan sitotoksik etkiler üreterek antimikrobiyal aktivite gösterir [27, 28]. Ek olarak, bu süreçte mikroorganizmalar da direnç geliştiremezler. Fotosensitizör boyar maddede bulunan kromofor gruplar spesifik dalga boyundaki ışığa maruz kalmasıyla hücreleri öldürme yeteneğine sahip olan reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot (RNS) gibi zararlı radikallerin üretimi; ışığın dalga boyuna, şiddetine, kullanılan PS'ün miktarına ve çeşidine bağlıdır [29]. Oluşan bu reaktif türlerin vücut dokularına zarar vermeden hasarlı dokuda enfeksiyona neden olabilecek iç ve dış kaynaklı mikroorganizmalardan arındırması hedeflenmiştir [30]. Yapılan araştırmalarda hasarlı dokuda mikroorganizma kaynaklı biyofilm oluşsa dahi reaktif oksijen türlerinin yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği saptanmıştır [31]. Ayrıca literatür taramalarında fotosensitizör ajanları aktifleştirmek için kullanılacak ışınların aynı zamanda doku oluşumunu uyarıcı role sahip olduğu ile ilgili bazı çalışmalara rastlanılmıştır [32]. Bu çalışmanın amacı; ışık ile aktive olarak biyoaktif özellik sergileyen, farklı bir katman gerektirmeksizin kendiliğinden yara yüzeyine tutunabilen, sıvı emici özelliği sayesinde nem dengesini koruyabilen hidrojel yara örtülerinin geliştirilmesidir.

Materyal ve Metot

Yara tedavisinde kullanılacak fotosensitizer ajan yüklenmiş hidrojel eldesinde öncelikle matriks sistemlerin yapısının belirlenmesi üzerine çalışmalar yapıldı. Çalışmada; Sigma-Aldrich firmasından temin edilen molekül ağırlığı 125.000 civarında olan polivinil alkol (PVA, Mowiol 20-98), PEG 600, Gliserin, Toluidin Mavisi (TBO) ve Rose Bengal (RB), Merck firmasından temin edilen Disodyum tetraborat dekahidrat (DTBT) ve Metilen Mavisi (MB) saflaştırılmadan kullanıldı. Fotosensitizörleri aktive etmek amacıyla 520 adet LED, 130W, 12V Dc, maksimum ışık gücü=9720 lümen olan LED cihazı özel olarak üretildi. PVA:DTBT oranı ağırlıkça 10:0.5, 10:1 ve 10:1.5 olacak şekilde sırasıyla S-1, S-2 ve S-3

sistemleri hazırlandı. Bu sistemlere ayrıca PEG 600 katılarak, PVA:DTBT:PEG oranı ağırlıkça 10:0.5:1, 10:0.5:2.5, 10:0.5:5, 10:1:1, 10:1:2.5 ve 10:1:5, olacak şekilde sırasıyla S-4, S-5, S-6, S-7, S-8 ve S-9 sistemleri hazırlandı. Matriks sistemlerin katı oranı ağırlıkça %12-16 aralığında sabit tutuldu. Elde edilen matriks sistemlerinin jelleşme yüzdesi tayini, şişme davranış tayini (farklı zaman, sıcaklık ve pH parametreleri denendi), fiziksel dayanımını saptamak için de görsel olarak çekme kopma testleri yapıldı. Şekil 1’de elde edilen dokuz farklı hidrojel sisteminin görünümü yer almaktadır.



Şekil 1 Farklı PVA:DTBT:PEG oranlarına sahip hidrojel sistemlerin görünümü

Hidrojellerin jelleşme ve çözünürlük yüzdelerinin incelenmesi

Farklı polimer oranlarına sahip hidrojellerden belirli bir miktar tartılarak (w_0) etüvde 80°C 'de sabit tartıma gelinceye dek kurutuldu (w_1). Ardından hidrojeller, ortam koşullarında (ortam sıcaklığı: $23 \pm 2^\circ\text{C}$, bağıl nem değeri: $\% 45 \pm 10$) ve kapalı bir kaptaki saf su içerisinde (saf su belirli aralıklar ile tazeleni) 48 saat süresince bekletildi. Süre sonunda hidrojeller etüv içerisinde tekrar kurularak sabit tartıma getirildi (w_{jel}). Jelleşme ve çözünürlük yüzdeleri sırasıyla (1) ve (2)'de belirtilen eşitlikler kullanılarak hesaplandı. Deneyler üçerli şekilde tekrarlanıp, verilerin ortalaması alındı.

$$\text{Jelleşme Yüzdesi: } w_{jel} / w_1 \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Çözünürlük Yüzdesi: } [(w_1 - w_{jel}) / w_1] \times 100 \quad (2)$$

Tablo 1 Hidrojellerin jelleşme ve çözünürlük yüzdeleri

PVA:DTBT:PEG		w ₀ değeri (g)	w ₁ değeri (g)	w _{jel} değeri (g)	Jelleşme Yüzdesi (%)	Çözünürlük Yüzdesi (%)
10:0.5:0	S-1	6.061	0.712	-	-	-
10:1:0	S-2	6.069	0.677	-	-	-
10:1.5:0	S-3	6.007	0.759	-	-	-
10:0.5:1	S-4	6.067	0.767	0.626	81.617	18.383
10:0.5:2.5	S-5	6.057	0.876	0.672	76.712	23.288
10:0.5:5	S-6	6.048	1.029	0,668	64.917	35.083
10:1:1	S-7	6.032	0.762	-	-	-
10:1:2.5	S-8	6.014	0.848	0.422	49.764	50.236
10:1:5	S-9	6.000	0.991	0,447	45.106	54.894

Hidrojellerin su tutma kapasitelerinin incelenmesi

Sabit tartıma gelinceye dek etüvde kurutulmuş hidrojeller (w₁) 48 saat süresince ortam koşullarında saf su içerisinde bekletildi. Süre sonunda suyu emmiş olan hidrojeller bir filtre kağıdı üzerine hafifçe tutularak yüzeydeki aşırı su tahliye edildi, hassas terazide tartıldı (w₂). 3'te belirtilen eşitlik kullanılarak su tutma kapasiteleri belirlendi.

$$\text{Su Tutma Kapasitesi: } (w_2 - w_1) / w_1 \times 100 \quad (3)$$

Hidrojellerin su tutma kapasitesini etkileyen dinamikler temel olarak kimyasal yapıya ek olarak çapraz bağlama oranını, çözücü konsantrasyonunu ve çözücünün yapısını içermektedir [33]. Düşük şişme dereceli hidrojeller %20-50, orta şişme dereceli hidrojeller %50-90, yüksek şişme dereceli hidrojeller %90-99,5, süper absorbant hidrojeller ise %99,5 ve üstü su absorbe edebilen hidrojellerdir. Tablo 2'de hidrojellerin su tutma kapasiteleri belirtilmiştir.

Tablo 2 Hidrojellerin su tutma kapasiteleri

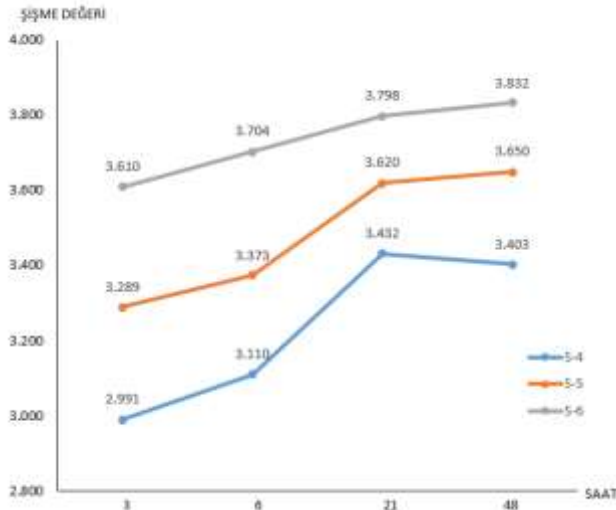
PVA:DTBT:PEG		w ₀ değeri (g)	w ₁ değeri (g)	w ₂ değeri (g)	Su Tutma (%)
10:0.5:0	S-1	6.061	0.712	-	-
10:1:0	S-2	6.069	0.677	-	-
10:1.5:0	S-3	6.007	0.759	-	-
10:0.5:1	S-4	6.067	0.767	5.012	553.455
10:0.5:2.5	S-5	6.057	0.876	4.128	371.233
10:0.5:5	S-6	6.048	1.029	4.431	330.612
10:1:1	S-7	6.032	0.762	-	-
10:1:2.5	S-8	6.014	0.848	14.135	1566.863
10:1:5	S-9	6.000	0.991	14.369	1349.949

Yapılan çalışmalar sırasında S-1, S-2 ve S-3 örneklerinin saf su içerisinde tamamen çözülmesi, S-7, S-8 ve S-9 örneklerinin ise tutarsız sonuçlar vermesi sebebiyle sonraki çalışmalarda S-4, S-5 ve S-6 sistemleri ile çalışıldı.

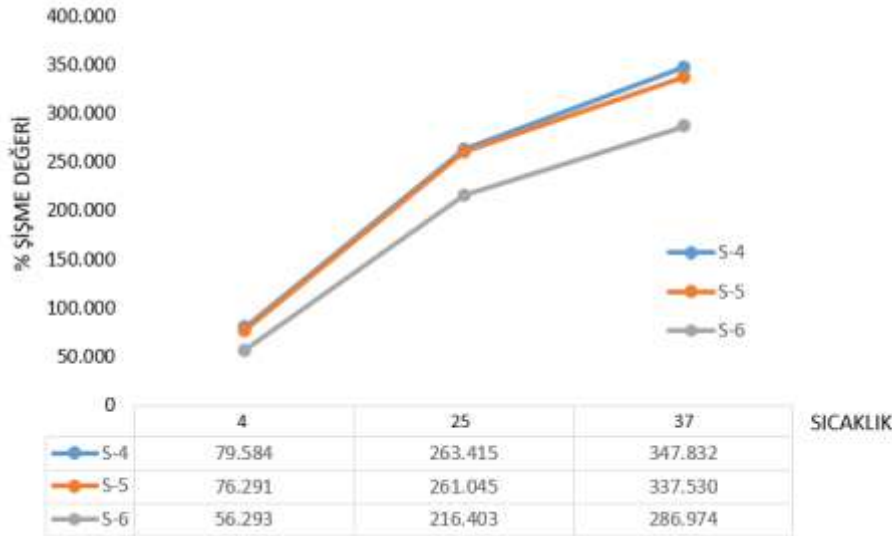
Hidrojellerinin şişme davranışlarının incelenmesi

Hidrojellerin şişme davranışları zamana, sıcaklığa ve pH değerlerine karşı incelenmiştir.

- Zamanla değişimi; 48 saat süresince, pH değeri 7.4'e ayarlanmış simüle vücut sıvısı (SBF) içerisinde (şekil 2),
- Sıcaklığa göre değişimi; 48 saat süresince, pH=7.4'e ayarlanmış fosfat tamponu içerisinde 4°C, 25 °C ve 37 °C sıcaklıklarda (şekil 3),
- Farklı pH değerleri; 48 saat süresince, pH değerleri 1 (0,1M HCl çözültisi - simüle gastirik sıvısı), 5,5 (10 mM Asetad tamponu - simüle cilt pH değeri) ve 7.4 (SBF sıvısı) olan sıvılarda, Bekletilerek incelendi.



Şekil 2 Hidrojellerin şişme değerlerinin zamanla değişimi



Şekil 3 Hidrojellerin farklı sıcaklıklardaki şişme davranışları

Tablo 3 Farklı pH değerlerinde hidrojellerin şişme davranışları

PVA: DTBT:PEG	w _{pH=1} şişme değeri (%)	w _{pH=5.5} şişme değeri (%)	w _{pH=7.4} şişme değeri (%)

10:0.5:1	S-4	230.105	247.643	338.531
10:0.5:2.5	S-5	221.269	243.934	329.418
10:0.5:5	S-6	220.659	230.000	278.282

Fotosensitizör ajanların matriks sisteme yüklenmesi ve antibakteriyel aktivite testleri

Fiziksel denemeler sonucunda optimum sonuçlar elde edilen S-5 hidrojel sistemine Toluidin mavisi (TBO), metilen mavisi (MB) ve rose bengal (RB) fotosensitizerleri, hidrojinin toplam kültesinde fotosensitizer miktarı sırasıyla 5, 10, 20, 40 ve 80 ppm olacak şekilde ilave edildi. Antibakteriyel aktivite testleri gram negatif *Escherichia coli* (ATCC 11775) ve gram pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) kültürleri kullanılarak, JIS Z 2801 standardı modifiye edilerek gerçekleştirildi.

Toluidin mavisi (TBO), metilen mavisi (MB) ve rose bengal (RB)'in maksimum absorpsiyon değerleri sırasıyla 630nm (turuncu), 666nm (kırmızı) ve 550nm (sarı)'dır. Bakteri analizinde her boyar madde için belirtilen dalga boylarına tekabül eden renk aralığına yakın ışık kullanılarak kapalı kabin içerisindeki LED cihazına yerleştirildi. Örnekler belirli dalga boyu aralığındaki ışık altında 6 saat süresince ışınlandırdıktan sonra 24 saat 37°C'de inkübe edildi. Kontrol amacıyla aynı formülasyona sahip farklı örnekler karanlıkta 6 saat süresince bekletilerek, ışık görmeden direk 24 saat 37°C'de inkübasyona alındı.

Tablo 4 Antibakteriyel aktivite sonuçları

Sistemler	Bakteriyel yükte % azalma*		Logaritmik azalma miktarları	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
S-5 + TBO				
0 ppm	0	0	-	-
5 ppm	0	0	-	-
10 ppm	30.82	25.53	0.16	0.13
20 ppm	90.00	90.00	1	1
40 ppm	99.90	99.90	3	3
S-5 + MB				
5 ppm	0	0	-	-
10 ppm	35.43	35.10	0.19	0.19
20 ppm	98.71	90.00	1.89	1
40 ppm	99.90	99.90	3	3
S-5 + RB				
5 ppm	76.01	66.25	0.62	0.47
10 ppm	99.26	99.00	2.13	2
20 ppm	99.90	99.90	3	3

*Petri kabına uygulanan bakteri yükü yaklaşık = 2×10^3

Tartışma

Çalışmada öncelikli olarak fotosensetizör maddelerin depolanacağı uygun fiziksel özelliklere sahip polimer sistemin eldesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Saf su içerisinde 48 saat bekletilen örneklerden S-4 ve S-5 %75 ve üstü jelleşme özelliği sergilemiştir. Yapıya PEG katılmasının jelleşmeye olumlu yönde etki ettiği fakat PEG miktarındaki fazla artışın jelleşmeyi azalttığı görülmüştür. Aynı zamanda çapraz bağ oluşturma amacıyla kullanılan disodyum tetraborat dekahidrat'ın yapılan denemeler sonucunda PVA ile ağırlıkça oranının 1/20 olduğu örneklerin yüksek performans gösterdiği sonuncuna varılmıştır. Bu polimer oranlarındaki değişimin jelleşme/çözünürlüğe etkisinin; optimum polimer oranları dışında çalışıldığında polimer zincirlerinin küçük kümelenmeler oluşması ve zincirlerin birbiri arasında zayıf fiziksel bağlar yapmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Hidrojellerin su tutma kapasiteleri, elde edilen çözünürlük yüzdeleri ile tutarlıdır. S-4 hidrojel kuru ağırlığının 721.58 katı (çözünürlüğü yüksek ve kolay bozulan yapıda), S-5 hidrojel kuru ağırlığının 423.78 katı ve S-6 hidrojel kuru ağırlığının 321.294 katı saf su absorbe etmiştir. S-6 sisteminde S-4'ten 5 kat, S-5 sisteminde S-4'ten 2.5 kat daha fazla PEG kullanılmıştır. PEG yapıya esneklik kazandırmasının yanı sıra polimer zincirleri arasında daha fazla fiziksel bağ oluşumunu sağladığından dolayı saf su tutma kapasitesini azaltmıştır. Nitekim S-8 ve S-9 sistemlerinde de bu durum görülmektedir. S-5 sisteminin farklı ortamlarda, sıcaklıklarda ve koşulda sıvıyı tutma yeteneğinin optimum düzeyde olmasından dolayı fotosensitizerler bu hidrojel sisteminde kullanılmıştır. Antibakteriyel etkinliğin belirlenmesi amacıyla kullanılan *E. coli* gram negatif, *S. aureus* ise gram pozitif bakteri türleri arasındadır. Gram-pozitif bakteriler, çoğunlukla besin maddelerinin, glikopeptitlerin, polisakkaritlerin ve fotosensetizörlerin geçirgenliğine izin veren yapıdadır. Dış zarlarının gözenekliliği nedeniyle daha kolay fotoaktif hale getirilebilmektedir. Gram-negatif bakteriler ise, sadece düşük moleküler ağırlıklı moleküllerin porin kanallarından geçişine izin vermektedir. Fakat gram negatif bakterilerin hücre duvarının yapısındaki lipopolisakkaritler, güçlü bir negatif yük oluşturduğu için katyonik fotosensetizör bileşiklerin kendilerine çekerler, difüzyon sürecini kolaylaştırırlar. Gram pozitif bakterilerin de hücre duvarları negatif yüklüdür [34]. Çalışmada kullanılan TBO ve MB pozitif yüklü olmaları sebebiyle hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Ayrıca katyonik fotosensetizörler yara dokusundaki ökaryotik hücrelere kıyasla bakteri hücrelerine, bakteri hücrelerinin bu fotosensetizörlere daha hızlı bağlanması nedeniyle çevre dokulara hasar vermeden seçicilik sağlamaktadır [35]. Fakat TBO ve MB, RB'e kıyasla düşük singlet oksijen kuantum verimine sahiptir. Araştırmada RB diğer fotosensetizörlere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal etki göstermiştir. RB literatürde gram pozitif bakterilere karşı en çok kullanılan bileşik olmasına rağmen [34] yüksek singlet

oksijen kuantum verimine sahip olmasından dolayı tez çalışmasında iki bakteri türünde de yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği düşünülmektedir.

Sonuç ve Öneriler

Deri patojenlere karşı ilk savunma hattıdır ve mikrobiyal istilaya karşı fiziksel bir engel görevi görmektedir. Birçok nedenden dolayı derinin yapısal bütünlüğü bozularak yara oluşabilir. Oluşan yaraların iyileşmesinde, yaranın çeşidine göre farklı aşamalar mevcuttur ve bu aşamaların sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için cilt yüzeyinde patojen olmaması veya patojenlerin minimum düzeye inmiş olması, gerekli nem dengesinin sağlanması, optimum oksijen iletiminin gerçekleştirilebilmesi vb. hususlar gerekmektedir. Yapılan araştırmada yara tedavilerinde kullanılmak üzere hidrojel yapıda yara örtüsü geliştirmiş olup, TBO, MB ve RB fotosensetizör maddeleri elde edilen hidrojel yapıların içerisine hapsedilmiştir. Çalışma sonucunda; PVA:DTBT:PEG oranının ağırlıkça 10:0.5:2.5 olduğu (S-5 sistemi) ve yaklaşık olarak %85 su içeren hidrojel sisteminin uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca S-5 sistemi için jelleşme yüzdesinin yaklaşık olarak %77 olduğu ve su tutma kapasitesinin %371 olduğu görülmüştür. Fotosensetizörlerin yapı içerisine depolanmasından sonra JIS Z 2801 standardı modifiye edilerek gerçekleştirilen bakteri analizlerinde gram negatif *Escherichia coli* (ATCC 11775) ve gram pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) kültürlerine karşı TBO için 40ppm, MB için 40ppm ve RB için 20ppm konsantrasyonlarda fotosensetizör içeren S-5 sistemleri için log 3'lük antibakteriyel etki elde edilmiştir. Sonraki çalışmalarda farklı fotosensetizör maddeler ile daha yüksek oranda aktivite göstermesi üzerine çalışmalar yapılabilir ayrıca hidrojel sistemin eldesi için kullanılan polimer sistemleri geliştirilebilir.

Kısaltmalar

DTBT: Disodyum tetraborat dekahidrat; ECM: Ekstrasellüler matriks; FDT: Fotodinamik tedavi/terapi; FS: Fotosensetizör; MB: Metilen mavisi; PEG: Polietilen glikol; PHMB: Polihegzametilen biguanid; PVA: Polivinil alkol; RB: Rose Bengal; RNS: Reaktif azot türleri; ROS: Radikal oksijen türleri; SBF: Simüle vücut sıvısı; TBO: Toluidin mavisi; W: Ağırlık

Acknowledgements / Teşekkürler

Akdeniz Üniversitesi personeline ve yönetimine bu çalışmadaki yardımları ve destekleri için içtenlikle teşekkür ederiz.

Funding / Destekleyen Kurum veya Kuruluş

Bu araştırma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 4087 nolu proje ile desteklenmiştir. Desteginden dolayı Akdeniz Üniversitesine teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Braiman-Wiksmann L., et al., T. Novel insights into wound healing sequence of events. *Toxicol Pathol.*, 2007. 35(6): p. 76-779
2. Shaw, T.J. and Martin, P.J. Wound repair at a glance. *Cell Sci.*, 2009. 122(18):3209-3213.
3. Hackam, D.J. and Ford, H.R. Cellular, biochemical, and clinical aspects of wound healing. *Surg. Infect.*, 2002. 3(1): p. 23-35.
4. Harding, K.G., Moore, K. and Phillips, T.J. Wound chronicity and fibroblast senescence implications for treatment. *Int. Wound J.*, 2005. 2: p. 364-368.
5. Diegelmann, R.F. and Evans, M.C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front. Biosci.*, 2004. 9: p. 283-289.
6. Yamaguchi, Y. and Yoshikawa, K. J. Cutaneous Wound Healing: An Update. *The Journal of Dermatology.*, 2001. 28: p. 521-534.
7. Landis, S.J. Chronic wound infection and antimicrobial use. *Adv. Skin Wound Care.*, 2008. 21(11): p. 531-540.
8. Vecchio, D., et al., Antimicrobial photodynamic therapy with RLP068 kills methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and improves wound healing in a mouse model of infected skin abrasion. *J. Biophotonics.*, 2013. 6(9): p. 733-742.
9. Adamian, A.A., et al., Development of new biologically active dressings and methodology of their use. *Khirurgiia (Mosk)*, 2004. 12: p. 10-14.
10. Livshits, V.S., Polymer dressings for wounds and burns (review). *Pharm. Chem. J.*, 22(7): 1988. p. 515-522.
11. Cornelius, V.J., et al., Preparation of smart wound dressings based on colloidal microgels and textile fibres. *International Symposium on Smart Materials, Nano- and Micro-Smart Systems*, 10-13 December, Adelaide, Australia. 2006. p. 11-13
12. Sawant, S.V., et al., Hydrogel as drug delivery system. *Res. J. Pharm. Technol.*, 2012. 5(5): p. 561-569.
13. Zilberman, M. and Elsner, J.J., Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *J. Control Release.*, 2008. 130(3): p. 202-215.
14. Moura, L.I., et al., Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment : a review. *Acta Biomater.*, 2013. 9: p. 7093-7114.
15. Singh, M.R., et al., Innovative approaches in wound healing: trajectory and advances. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.*, 2013. 41: p. 202-212.
16. Bala, S.K. and Thangeswaran, P., Biomaterials in medical applications. *Asian Text. J.*, 2005. 14(6): p. 57-61.
17. Zahedi, P., et al., A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polym. Adv. Technol.*, 2010. 21(2): p. 77-95.
18. Han, S. K. *Innovations and Advances in Wound Healing: Interactive Wound Dressings*. Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 2016. pp. 39-60.
19. Sawant, S.V., et al., Hydrogel as drug delivery system. *Res. J. Pharm. Technol.*, 2012. 5(5):561-569.
20. Zilberman, M. and Elsner, J.J., Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *J. Control Release*, 2008. 130(3):202-215.
21. Moura, L.I., et al., Recent advances on the development of wound dressings for diabetic foot ulcer treatment : a review. *Acta Biomater.*, 2013.9:7093-7114.
22. Jude, E. B., et al., J. Prospective randomized controlled study of Hydrofiber dressing containing ionic silver or calcium alginate dressings in non-ischaemic diabetic foot ulcers. *Diabetic Medicine*, 2007. 24(3), 280-288.
23. Dai T. et al. Photodynamic Therapy for *Acinetobacter baumannii* Burn Infections in Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, 2009. 53(9): p. 929-934.
24. Baumgartner, R., et al., Photodynamic Therapy with ALA: A Clinical Handbook: Basic Principles. In: Pottier, R. (Ed.) *Royal Soc. of Chem. Canada*, 2006. p.79-248.
25. Ackroyd R., Kelty, C., Brown, N. and Reed, M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.*, 2001. 74(5): p. 656-669.

26. Wainwright, M. and Crossley, K.B. Photosensitising agents-circumventing resistance and breaking down biofilms : a review. *International Biodeterioration & Biodegradation.*, 2004. 53: p. 119-126.
27. GURSOY, H., et al., Photodynamic therapy in dentistry : a literature review. *Clin Oral Invest.*, 2012. 17(4): p. 1113-1125.
28. Konapka, K. and Goslinski, T. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res.*, 2007. 86(8): p. 694-707.
29. Baltazar, L.M., et al., Antimicrobial photodynamic therapy: an effective alternative approach to control fungal infections. *Front. Microbiol.*, 2015. 202(6): p. 1-11
30. Onat H. and Gül T., Diş hekimliğinde fotodinamik tedavi. *Atatürk Üni. Diş Hk. Fak. Derg.*, 2014. 24(1): p. 119-124.
31. Kutlubay, Z., Pehlivan, Ö. and Engin, B. Fotodinamik Tedavi. *Dermatoz*, 2011. 2: p. 391-404.
32. Türsen, B. and Türsen, Ü., Dermatolojide Işık Yayan Diyot. *Dermatoz dergisi*, 2015. 2: p. 1-13 doi: doi: 10.15624.dermatoz15062d3
33. El-Sayed, M., et al., Synthesis and properties of natural polymers -grafted- acrylamide. *World Appl Sci J.*, 2011. 13(2): p. 360-368
34. Spagnul, C., Turner, L.C. and Boyle, R.W., Immobilized photosensitizers for antimicrobial applications. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, 2015. 150: p. 11–30.
35. Vatansever, F., et al., Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2013. 37: p. 955–989.