

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YANIK YARALARININ TEDAVİSİNDE ELEKTROSPINNING TEKNİĞİ  
İLE EPIDERMAL GROWTH FAKTÖR / HYALURONİK ASİT/  
KOLLAJEN ESASLI YARA ÖRTÜLERİNİN ETKİNLİĞİNİN IN VITRO VE  
IN VIVO KOŞULLARDA KARŞILAŞTIRILMASI**

**Serdar YORMAZ**

**DOKTORA TEZİ**

**KİMYASAL, BİYOLOJİK, RADYOLOJİK VE NÜKLEER SAVUNMA ANABİLİM  
DALI**

**Danışman**

**Prof. Dr. Serdar KARAKURT**

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YANIK YARALARININ TEDAVİSİNDE ELEKTROSPINNING TEKNİĞİ  
İLE EPIDERMAL GROWTH FAKTÖR / HYALURONİK ASİT/ KOLLAJEN  
ESASLI YARA ÖRTÜLERİNİN ETKİNLİĞİNİN IN VITRO VE IN VIVO  
KOŞULLARDA KARŞILAŞTIRILMASI**

**Serdar YORMAZ**

**DOKTORA TEZİ**

**KİMYASAL, BİYOLOJİK, RADYOLOJİK VE NÜKLEER SAVUNMA ANABİLİM  
DALI**

**Danışman**

**Prof. Dr. Serdar KARAKURT**

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)  
Koordinatörlüğü tarafından (Proje No: 22112006) desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca rehberliği, sonsuz desteği ve özverisi ile bana bu yolda öncü olan danışmanım, mentörüm Prof. Dr. Serdar KARAKURT hocama, en derin şükranlarımı sunuyorum. Kendisi sadece bir danışmanlığının yanısıra üstad olarak da her zaman yanımdaydı. Kendisi gibi büyük bir hocadan bu feyzi alma şansım olduğu için çok mütesekkirimhocamın verdiği tavsiye ve önerileri hayatım boyunca her zaman aklımda taşıyacağım. Bana olan yardımınız, hoşgörünüz ve süreçteki her kademedeki sürekli desteğiniz için teşekkürü bir borç bilirim.

Tez jürimin değerli üyeleri, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Prof. Dr. Serdar KARAKURT hocama, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Prof. Dr. Hüsamettin Vatansev hocama, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Öğr. Üyesi Osman Vefa GÜL hocama, Çukurova Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR hocama, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram MYO Doç. Dr. Mehmet Okan Erdal hocama, Konya Teknik Üniversitesi Teknik Bilimler MYO Dr. Öğr. Üyesi İlyas Deveci hocama paha biçilmez geri bildirimleri ve teşvikleri için içten takdirlerimi sunarım.

Her şeyden önce, beni hayatımın her aşamasında destekleyen, cesaretlendiren ve güç veren sevgili eşim Doç.Dr. Burcu Yormaz'a özellikle yanımda olduğu ve vefakarlığı için çok sey borçlu olduğumu belirtmek isterim. Bu tez hazırlık, çalışması, aşamaları ve değerlendirme sırasındaki desteği içinde çok teşekkür ederim kendisine, eseri ve bu çalışmayı ona derin bir minnet ve sevgilerimle ithaf ediyorum. Tez çalışmam esnasında bana saygılı olup ve destekle yüreklendiren sevgili çocuklarım İbrahim Efe, Göksu ve Mehmet Tuna'yada bu satırlardan özellikle teşekkür etmek isterim hepsini çok seviyorum. Bu çalışma, aynı zamanda onların da aynı tutku ve azimle kendi hayallerinin peşinden gitmesi umuduyla adanmıştır.

Doktora yolculuğum esnasında Karakurt Laboratuvarı'nda birçok değerli arkadaşımızla birlikte çalışma ayrıcalığına sahip oldum. Desteklerinive yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen başta Kemal Baş olmak üzere İrem Mukaddes Bilgiseven'e ve birlikte zaman geçirip çalıştığımız Karakurt Laboratuar Aileme en içten teşekkürlerimi sunuyorum. Onların desteği, yardımı ve ekip çalışması bu süreci hem zenginleştirdi hemde çok verimli bir deneyim haline getirdi. Karakurt

Laboratuvarı'ndaki herkese paha biçilmez katkıları, destekleri ve birlikte yarattığımız harika anılar için en derin şükranlarımı sunarım.

Önsözü bitirirken, bu tezin tamamlanmasını sağlayan muazzam yolculuğu yansıtıyorum. Burada sunulan ve yara iyileşmesini hızlandıran örtünün geliştirilmesine odaklanan araştırma, sadece yıllarca süren bilimsel keşifleri değil, aynı zamanda biyomedikal bilim alanına katkıda bulunmaya yönelik derin bir bağlılığı da temsil etmektedir. Bu çalışmanın gelecekteki ilerlemeler için bir basamak görevi görmesini ve ihtiyacı olanlar için iyileşme sürecini hızlandırma konusunda daha fazla araştırmaya ilham vermesini umuyorum.

Bu tez özveri, işbirliği ve azmin bir sonucudur, ancak daha da önemlisi, bu yolculuk boyunca yanımda duran kişilerin sarsılmaz desteğinin bir kanıtıdır. Ne kadar büyük ya da küçük olursa olsun rol oynayan herkese en derin şükranlarımı sunuyorum. Bununla birlikte, çalışmamı sadece bilimsel söyleme katkıda bulunmakla kalmayıp aynı zamanda anlamlı keşifleri yönlendiren tutku ve dayanıklılığın bir hatırlatıcısı olması umuduyla sunuyorum.

Serdar Yormaz

Mayıs / 2025

## İÇİNDEKİLER

|                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖNSÖZ .....                                                      | I   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                     | VI  |
| ÖZET.....                                                        | VII |
| SUMMARY .....                                                    | IX  |
| 1. GİRİŞ .....                                                   | 1   |
| 1.1.KBRN Hakkında Genel Bilgi.....                               | 1   |
| 1.2.1.Derinin Embriyolojisi.....                                 | 1   |
| 1.2.2. Deri Yapısı ve Fizyolojisi .....                          | 3   |
| 1.2.2.1. Epidermis .....                                         | 4   |
| 1.2.2.2. Dermis.....                                             | 6   |
| 1.2.2.3. Hipodermis (Subkutanöz Doku) .....                      | 6   |
| 1.2.2.4. Derinin Fonksiyonları .....                             | 7   |
| 1.2.2.5. Tarihçe .....                                           | 7   |
| 1.3. YARA .....                                                  | 9   |
| 1.3.1. Akut Yara .....                                           | 10  |
| 1.3.2. Kronik Yara.....                                          | 11  |
| 1.3.3. Açık ve kapalı yaralar .....                              | 11  |
| 1.3.4. Yara sınıflandırması .....                                | 11  |
| 1.3.5. Yara İyileşmesi.....                                      | 12  |
| 1.3.5.1. Hemostatik/inflamatuvar Aşama .....                     | 14  |
| 1.3.5.2. Proliferasyon Aşaması .....                             | 16  |
| 1.3.5.3. Maturasyon ve Yeniden Şekillenme .....                  | 18  |
| 1.3.5.4. Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinler..... | 20  |
| 1.3.5.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler .....             | 22  |
| 1.4. YANIK.....                                                  | 23  |
| 1.4.1. Epidemiyoloji.....                                        | 24  |
| 1.4.2. Yanık Patofizyolojisi.....                                | 24  |
| 1.4.2.1. Yanıkta Lokal Etkiler.....                              | 25  |
| 1.4.2.2. Yanıkta Sistemik Etkiler.....                           | 26  |
| 1.4.3. Yanığa Bağlı Yaralanmaların Sınıflandırılması.....        | 27  |
| 1.4.3.1. Yanık Genişliğine Göre .....                            | 27  |
| 1.4.3.2. Yanık Derinliğine Göre .....                            | 28  |
| 1.4.4. Yanığın Tedavisi .....                                    | 28  |
| 1.4.4.1. Yanığın Topikal Tedavisi .....                          | 29  |
| 1.4.4.2. Birinci Derece Yanıklar .....                           | 30  |

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.4.4.3. İkinci Derece Yüzeysel Yanıklar .....                                        | 30 |
| 1.4.4.4. İkinci Derece Derin ve Üçüncü Derece Yanıklar .....                          | 30 |
| 1.4.4.5.Dördüncü Derece Yanıklar .....                                                | 30 |
| 1.4.4.6. Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler .....                                  | 30 |
| 1.5.YARA ÖRTÜSÜ HAZIRLAMADA KULLANILAN DOĞAL ÜRÜNLE .....                             | 32 |
| 1.5.1. Hyaluronik asit (HA) .....                                                     | 32 |
| 1.5.1.1. HA türevi nanofiberlerin tıbbi uygulaması .....                              | 34 |
| 1.5.1.2. Yara örtüsü olarak HA nanofiberler: .....                                    | 34 |
| 1.5.2. Kollajen (KL) .....                                                            | 35 |
| 1.5.3. Epidermal Growth Factor (EGF) .....                                            | 37 |
| 1.5.3.1 EGF'nin Tarihçesi ve Keşfi .....                                              | 37 |
| 1.5.3.2. EGF'nin Biyokimyasal Özellikleri .....                                       | 37 |
| 1.5.3.3. EGF'nin Hücrel Etkileri .....                                                | 37 |
| 1.5.3.4. EGF Reseptörü ve Sinyal Yolakları .....                                      | 37 |
| 1.5.3.5. EGF ve Yanık Tedavisi .....                                                  | 38 |
| 1.5.4. Yara Örtüleri .....                                                            | 39 |
| 1.5.4.1. Elektroğirme Yönteminin Nanolif ve Yara Örtüsü Üretiminde Kullanılması ..... | 40 |
| 1.6.ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER .....                                | 45 |
| 1.6.1. Çözelti Parametreleri .....                                                    | 45 |
| 1.6.1.2. Konsantrasyon .....                                                          | 45 |
| 1.6.1.3. Molekül ağırlığı .....                                                       | 46 |
| 1.6.1.4. Viskozite .....                                                              | 47 |
| 1.6.1.5. Yüzey gerilimi .....                                                         | 48 |
| 1.6.1.6 Proses parametreleri .....                                                    | 48 |
| 1.7. FOURİER DÖNÜŞÜMLÜ KIZILÖTESİ SPEKTROFOTOMETRİSİ (FT-IR) ANALİZ CİHAZI .....      | 54 |
| 7.1.1.FT-IR Analizi .....                                                             | 54 |
| 1.8. TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM) ANALİZ CİHAZI .....                           | 55 |
| 1.9. DENEYSEL YANIK MODELLERİ .....                                                   | 57 |
| 1.9.1. Hayvan Modellerinin Kullanımı .....                                            | 57 |
| 1.9.2. Yanık Modelinin Oluşturulması .....                                            | 57 |
| 1.9.3. Yanık Derinliği ve Alanı .....                                                 | 57 |
| 1.9.4. Yanık İndüksiyon Teknikleri .....                                              | 57 |
| 1.9.5. Deneysel Yanık Çalışmalarında Değerlendirme Yöntemleri .....                   | 58 |
| 1.9.6. Histolojik Değerlendirme .....                                                 | 58 |
| 1.9.7. Biyokimyasal Analizler .....                                                   | 60 |
| 1.9.8. Klinik Gözlemler .....                                                         | 60 |

|                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                                                       | 68  |
| 2.1. Anestezi Uygulaması .....                                                                 | 70  |
| 2.2. Boykin Yanık Modeli.....                                                                  | 72  |
| 2.3. Elektrosinning yöntemiyle nano lif üretimi .....                                          | 75  |
| 2.4. FT-IR Analizi .....                                                                       | 75  |
| 2.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analiz Cihazı .....                                    | 76  |
| 2.6. Antibakteriyel Aktivite – Disk Difüzyon Yöntemi .....                                     | 78  |
| 2.7. Çalışmanın Yürütüldüğü Laboratuvarlar ve In vivo Yara İyileştirme Çalışmaları .....       | 80  |
| 2.8. Foto analiz ve Histopatolojik Değerlendirme .....                                         | 81  |
| Şekil 2.13. ImageJ programıyla KL, EGF ve HA gruplarındaki rattaki yanık alanların ölçümü..... | 83  |
| 2.9. İstatiksel Analiz.....                                                                    | 83  |
| 3. BULGULAR .....                                                                              | 84  |
| 3.1. Histopatolojik Değerlendirme .....                                                        | 84  |
| 3.2. SEM Analizleri.....                                                                       | 93  |
| 3.2.1. Fiber Analizleri .....                                                                  | 93  |
| 3.2.2. Doku Analizleri.....                                                                    | 95  |
| 3.3 FT-IR Analizleri.....                                                                      | 98  |
| 3.4. Antibakteriyel Aktivite – Disk Difüzyon Yöntemi .....                                     | 108 |
| 3.4.1. Bulgular .....                                                                          | 110 |
| 4. TARTIŞMA .....                                                                              | 118 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                                                     | 132 |
| 6. KAYNAKLAR .....                                                                             | 133 |
| 7. EKLER.....                                                                                  | 144 |
| EK-A: Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Etik Kurul Onay Formu .....                            | 144 |
| 8. TURNİTİN RAPORU .....                                                                       | 145 |
| 9. ÖZGEÇMİŞ .....                                                                              | 146 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ECM: Ekstrasellüler Matriks

GAG: Glikozaminoglikan

Nitrik oksit: NO,

Epidermal büyüme faktörü: EGF

Matris metalloproteinazların: MMP

Hyaluronik asit: HA

SEM: Surface elektron mikroskopi

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometrisi: FT-IR

KBRN: Kimyasal, biyolojik, radyolojik ve nükleer

Mg: Miligram

NaCl: Sodyum Klorür

µL: Mikrolitre

PVA: Polivinil Alkol

PBS: Fosfat tamponu

SEM: Taramalı elektron mikroskobu

IL-1: İnterlökin 1

IL-6: İnterlökin 6

H&E: Hematoksilen&Eozin

## ÖZET

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### **YANIK YARALARININ TEDAVISİNDE ELEKTROSPINNING TEKNİĞİ İLE EPIDERMAL GROWTH FAKTÖR / HYALURONİK ASİT/ KOLLAJEN ESASLI YARA ÖRTÜLERİNİN ETKİNLİĞİNİN IN VITRO VE IN VIVO KOŞULLARDA KARŞILAŞTIRILMASI**

**Serdar Yormaz**

**Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer Savunma Anabilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ / KONYA-2025**

Kimyasal, biyolojik, radyolojik ve nükleer (KBRN) savunma, azaltma stratejileri aracılığıyla toplumu ve yaşadığı ortamları tehlikeli ve travmatik etkenlerden korumaya odaklanır. KBRN etkenleri ve neden oldukları olumsuz sonuçlar için modern malzemeler, maruz kalmaya karşı korunma, olası tehditleri etkisiz hale getirme, genel dayanıklılığı artırmada ve vücudun direngenliğini sağlamada önleyici olarak önemli bir rol oynar. Yanık ise, ciltte doku hasarına ve bazende kaybına neden olan ve acil tıbbi müdahale gerektiren önemli bir travmadır. Yanıkta derideki koruyucu alan hasarlanır ve buna bağlı da enfeksiyon riski artar ve morbidite ve mortalite artışına yol açar. Dünyada, her yıl milyonlarca insan yanık nedeniyle tedavi edilmektedir ve bu durum yeni tedavi arayışlarına ve ürünlere sebep olmaktadır.

Bu ürünlerden biri de yanık için geliştirilen yara örtüleridir. Özellikle medikal alanda kullanılacak olan malzemelerin özellikleri arasında biyouyumlu, yenilenebilir, doğal ve çevre dostu olmaları istenen bir özelliktir. Özellikle global alanda yeni geliştirilen yara örtüsü medikal alanda yaygın ve öncelikli kullanım potansiyeline sahiptir. Ayrıca bu materyallerden beklenen tüm özellikleri karşılayabilmek için yenilikçi çalışmalar hızla devam etmektedir. Ancak insan vücudu için ideal ve tam uyumlu yara örtüsünden beklenen tüm özellikleri karşılayabilecek fonksiyonel ve insan vücuduna uyumlu bir yara örtüsü henüz üretilmemiştir.

İdeal yara örtülerinin kullanım sırasında işlevsel olabilmesi ancak nanolifsel yapılarla mümkün olacaktır. Günümüzde elektrospinning yöntemiyle özgün ve çok

yönlü nanoliflerin üretimi oldukça ilerlemekte olup gelecek vaad etmektedir. Bu metodla üretilen yara örtüleri konvansiyonel yöntemlerle elde edilenler ürünlere bakılarak yara bölgesinde ortamın ideal yapısını sağlamakta ve yara alanında mükemmel bir tedavi edici rolü oynayarak iyileşmeyi hızlandırmaktadır.

Tez çalışmamızda, birçok morbidite ve olası komplikasyonlara yol açan ve ayrıca travma almış yara bölgesinde yaygın olarak gözlenen enfektif ajanların en çok tespit edilen *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı etkin antimikrobiyal etken madde içeren hafif, ince, solubl ve fonksiyonel nanolif kökenli yara örtüsünün planlaması, tasarımı ve üretimi hedeflenmektedir.

Bu tez çalışmamızda elektrosinning metodu kullanılarak, Hyaluronik asit, Kollajen ve Epidermal büyüme faktörü yüklü nanoliflere depolanmış doğal, biyouyumlu, biyobozunur, non toksik ve ucuz bir örtü maddesi ile kaplanarak fonksiyonel yeni bir yara örtüsü üretilmiştir. Çalışmamızda elde edilen nano lifli yara örtüsü materyallerine antibakteriyel aktivite testi uygulanmıştır. Bu üretilen örtü materyallerinin yüzey morfolojisi ve karakteristik özellikleri FT-IR, SEM ve histopatolojik yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Üretilen nanolif yara örtüleri gözenekli ve fibroblastların yüzeyi örtmelerine olanak sağlayan yapılarıyla etken maddelerin efektivitesine izin verirken yarı geçirgen hava geçirgenliği ile de yanık yaralarının hızlı iyileşmesini sağlayacaktır.

Sonuç olarak, yanık yarası bakımında nanolifli yara örtüsü kullanımı önemli bir ilerlemeyi göstermekte ve yaranın iyileşmesini hızlandırmak için biyouyumluluk göstermektedir. Yapılan çalışmalar yara örtülerinin enfekte ve komplike yara alanlarıyla etkileşimlerini iyileştirmeye devam ettikçe, bu biyoürünlerin klinikteki kullanım alanları giderek daha belirgin hale gelecektir. Fakat örtülerin etkinliklerini tam olarak göstermek, uygulamalarına optimizasyonsağlamak ve modern yara yönetiminde global olarak benimsenmelerinin önünü açmak için daha kapsamlı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Sözcükler:** Yanık model, yara örtüsü; Kollajen, EGF; HA

## **SUMMARY**

REPUBLIC OF TURKEY

SELCUK UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

### **Comparison Of the Efficacy Of EGF/Hyaluronic Acid/Collagen Based Wound Dressings with Electrospinning Technique in The Treatment of Burn Wounds Under In Vitro And In Vivo Conditions**

**Serdar Yormaz**

**Department of Chemical, Biological, Radiological, and Nuclear Defense**

**PhD THESIS / KONYA-2025**

Chemical, biological, radiological and nuclear (CBRN) defense focuses on protecting society and living environments from hazardous and traumatic factors through mitigation strategies. Modern materials play an important role in protecting against exposure, neutralizing possible threats, increasing general durability and ensuring the body's resistance against CBRN agents and the negative consequences they cause. One of these products is wound dressings used for defense. Burns are a significant trauma that causes tissue damage and sometimes loss on the skin and requires urgent medical intervention. In burns, the protective area on the skin is damaged and the risk of infection increases, leading to increased morbidity and mortality. Millions of people are treated for burns every year in the world, and this leads to new treatment searches and products. In addition to the properties of materials to be used in the medical field, it is a desired feature that they are biocompatible, renewable, natural and environmentally friendly. Especially in the global arena, newly developed wound dressings have the potential for widespread and priority use in the medical field. In addition, innovative studies are continuing rapidly to meet all the features expected from these materials. However, a functional and human body-compatible wound dressing that can meet all the features expected from an ideal and fully compatible wound dressing for the human body has not yet been produced.

The functionality of ideal wound dressings during use will only be possible with nanofiber structures. Today, the production of original and versatile nanofibers by electrospinning method is quite advanced and promising. Wound dressings produced with this method provide the ideal structure of the environment in the wound area compared to products obtained with conventional methods and accelerate healing by playing a perfect therapeutic role in the wound area. Our thesis study aims to plan, design and manufacture a light, thin, soluble and functional nanofiber-based wound dressing containing an effective antimicrobial agent against *Staphylococcus aureus* bacteria, which is the most commonly detected infectious agent in traumatized wound areas and causes many morbidities and possible complications.

In this thesis study, a functional new wound dressing was produced by using the electrospinning method and coating the nanofibers loaded with Hyaluronic acid, Collagen and Epidermal growth factor with a natural, biocompatible, biodegradable, non-toxic and cheap dressing material. Antibacterial activity test was applied to the nanofiber dressing materials obtained in our study. The surface morphology and characteristic features of these dressing materials were investigated using FT-IR, SEM and histopathological methods. The produced nanofiber wound dressings will allow the effectiveness of active ingredients with their porous and fibroblast-surface covering structures, while also providing rapid healing of burn wounds with their semi-permeable air permeability.

As a result, the use of nanofiber wound dressings in burn wound care represents a significant advance and demonstrates biocompatibility to accelerate wound healing. As studies continue to improve the interactions of wound dressings with infected and complicated wound areas, the areas of use of these bioproducts in the clinic will become increasingly clear. However, more comprehensive clinical studies are needed to fully demonstrate the effectiveness of the dressings, optimize their applications, and pave the way for their global adoption in modern wound management.

**Keywords:** Burn model; Collagen, EGF, PVA; HA

## **1. GİRİŞ**

### **1.1.KBRN Hakkında Genel Bilgi**

KBRN terimi kimyasal, biyolojik, radyolojik ve nükleer anlamına gelmektedir ve bir olay sırasında karşılaşılabilecek belirli tehlikelerle ilgilidir. KBRN terimi genellikle bir terörist saldırısında olabileceği gibi tehlikeli bir maddenin kasıtlı olarak salınması için kullanılırken, HAZMAT terimi toksik endüstriyel malzemenin kazara salınması veya maruz kalınması için kullanılmaktadır (Calder ve Bland 2018).

KBRN ajanları tarihin çok eski zamanlarından beri kullanılmaktadır. Zehirli endüstriyel kimyasalların, tehlikeli biyolojik ajanların ve nükleer maddelerin kazara salınmasına ilişkin yol açtıkları hastalıklar ve yaralarla ilgili pek çok örnek bulunmaktadır (Parry ve Johnson 2024). Terör örgütleri, saldırılarında hem basit hem de daha karmaşık KBRN ajanlarını giderek daha fazla kullanmaktadır ve bunlar yalnızca can kaybını arttırmakla kalmayıp aynı zamanda yaralama, sekel bırakma, altyapıya zarar verme açısından da önemli etkilere yol açma potansiyeline sahiptir.

### **1.2. DERİ**

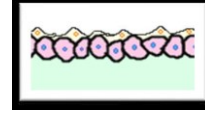
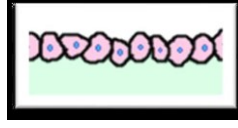
Deri, insan vücudunun en büyük yüzeyel ve kapsayıcı organı olmakla beraber hayatı idame ettirici ve yenileyici etkiye sahiptir. Derinin termoregülasyon, düzenleme, duyuşal, koruyucu gibi birçok önemli görevi vardır. Derinin yapısının, histolojisinin ve patofizyolojisinin bilinmesi, sistemik bir travma olan yara ve yanığın tedavisi açısından önemlidir.

#### **1.2.1.Derinin Embriyolojisi**

Histolojik ve embriyonik gelişiminden derinin ektoderm ve mezoderm kökenli tabakaları sorumludur. Ektodermden epidermis isimli derinin dış tabakası köken alırken. Bu rada, çeşitli epidermal hücrelerin yanı sıra keratinositler de mevcuttur. Mezodermden ise Dermis ve subkutan doku da denilen hipodermis köken alır. Bu tabakalarda sırasıyla aşağıdan yukarıya katmanlar olarak, bağ dokusu, arteriel venöz damarları, nervuslar, kıl folikülleri ve hidraadenit bezleri bulunur (Şekil 1.1) (Gilaberte Y, et al ,2016).

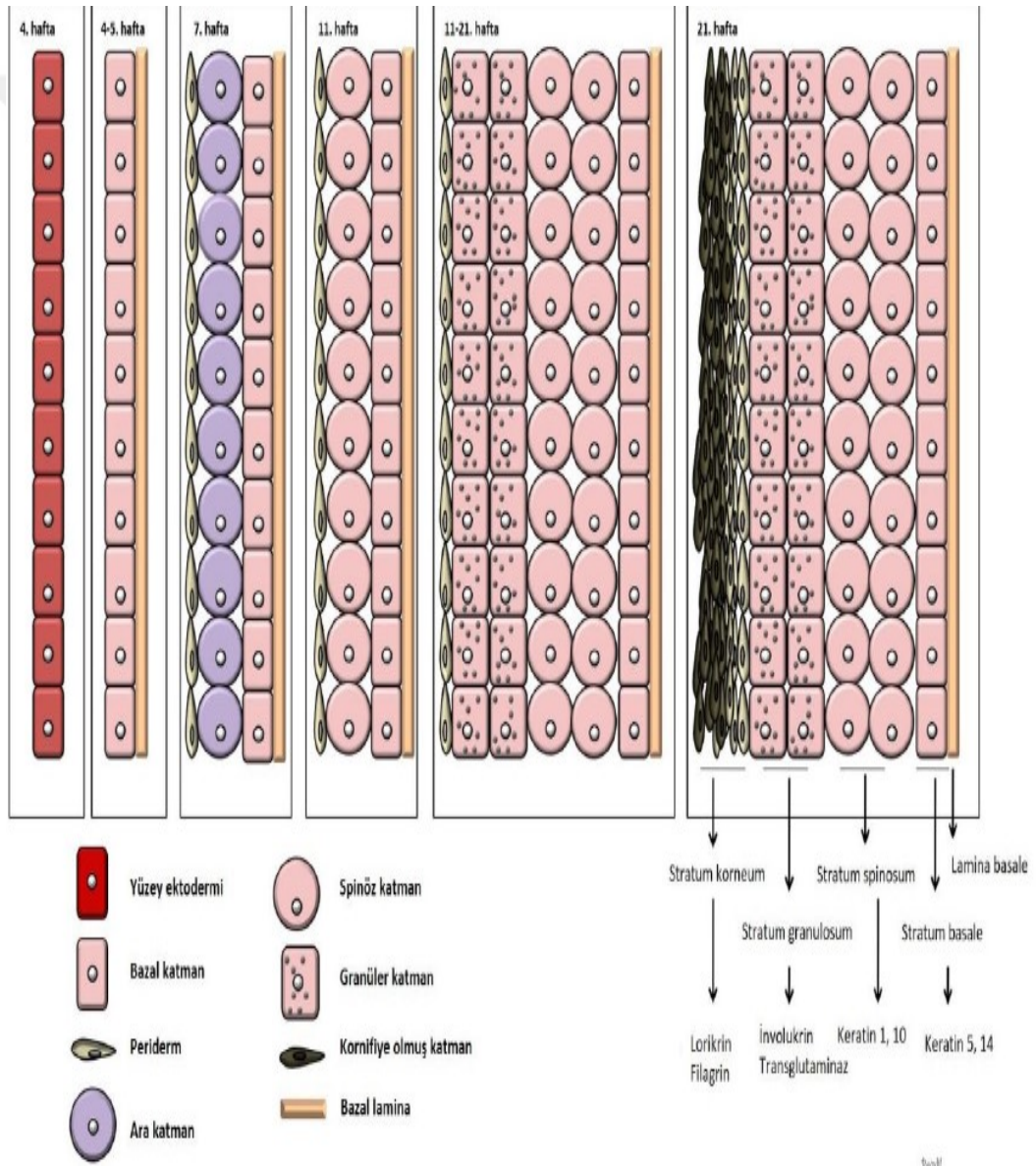
Ektoderm

Periderm

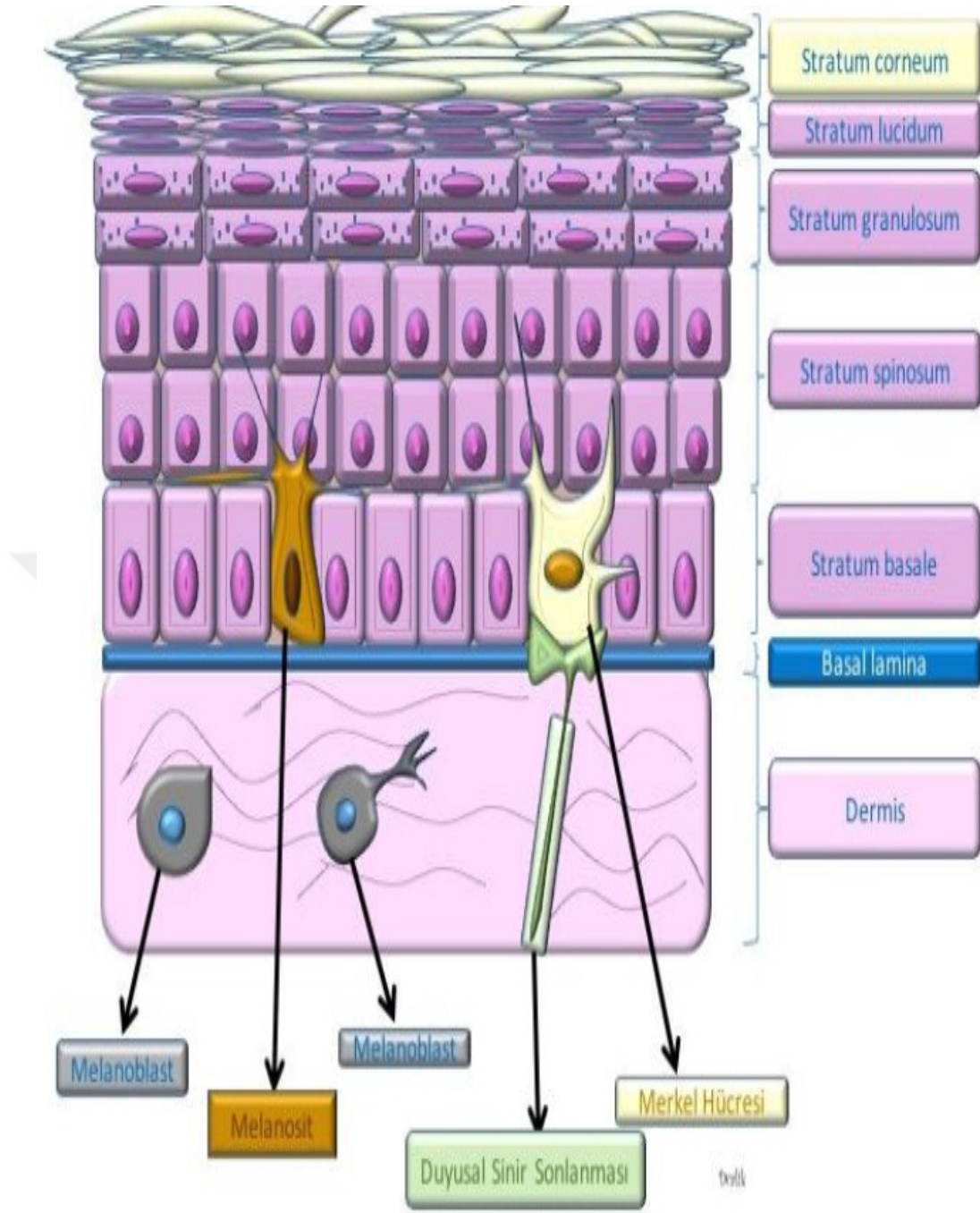


Mezoderm

Şekil 1.1. Deri Embriyolojisi



Şekil 1.2. İnsanda epidermis gelişimi (Mutsaers, S. E 1997).



Şekil 1.3. Epidermiste tabakaların gelişimi (Mutsaers, S. E 1997).

### 1.2.2. Deri Yapısı ve Fizyolojisi

Vücudun en büyük organlarından biri olan deri, iç organları fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelerden korumanın yanı sıra aşırı transepidermal su kaybını (TEWL), termoregülasyonu, duysal algıyı veya boşaltımı önlemede de önemli rol oynar. Cilt (deri), üç ayrı katmandan oluşmaktadır: epidermis (yüzeysel katman), dermis (ara katman) ve yağ dokusuyla zenginleştirilmiş bir deri altı katman olan

hipodermis. İlk iki katman olan epidermis ve dermis deriyi dış etkenlere karşı korumada önemli bir rol oynar ve bu iki katmanın buluşma noktası dermal epidermal bileşke (dermal epidermal junction: DEJ) olarak da adlandırılır (Zaidi ve Lanigan 2010) . Daha derindeki deri altı dokusu, yağ ve bağ dokusundan oluşan hipodermistir. Hipodermis, iç dokuları ve organları soğuktan ve travmadan korur, enerji sağlar ve hormon sentezine katılır. Bu tabaka cildin mekanik ve termoregülatör özelliğini korumak için çok önemlidir. Cildin karmaşık yapısı, onu çok katmanlı, son derece önemli bir organ haline getiren özel hücreler içermektedir (Wysocki 1999).

İnsan vücudunun en önemli organlarından biri olan deri, sadece iç dokuları korumakla kalmaz, aynı zamanda madde alışverişi, bağışıklık ve ısı düzenlemesi gibi temel işlevleri de sağlar. Ancak deri, dış ortama maruz kalması nedeniyle hasara karşı oldukça hassastır. Dış etkenlere karşı korumasız olan deri, bir tehdit durumunda insan vücudundaki koruyucu işlevini kaybeder ve yara oluşumuna yol açar. Tedavi edilmezse, yaralar enfekte olabilir ve doku nekrozu, sepsis ve hatta ölümle sonuçlanabilir.

#### **1.2.2.1. Epidermis**

Embriyonik gelişim sırasında ektodermal tabakadan köken alan epidermis, beş farklı tabakadan oluşmaktadır: stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum ve en dıştaki stratum corneum (Venus ve ark 2010). Epidermis, kıl folikülleri, ter bezleri (ekrin ve apokrin) ve yağ bezleri de dahil olmak üzere temel uzantıları barındıran derinin en üst katmanıdır (Kolarsick ve ark 2011).

Hücresel düzeyde, epidermis tabakalı bir skuamöz epitelden oluşmaktadır. Özellikle, hücre bölünmesi sırasında hücreler, keratinositlere farklılaşır. Bu keratinositler ise, epidermisin baskın yapısal proteini olan keratini sentezlemekten sorumludur (Powell 2006). Moleküler olarak keratin, sepet benzeri bir ağ şeklinde

Organize olan sarmal bir ağı yapıdadır. Bu ağ, nükleolar yapıları sitoplazmaya bağlayarak hücre içi iletişimi kolaylaştırır ve böylece hücre yapısının oluşumuna katkıda bulunur (Kolarsick ve ark 2011). İşlevsel olarak keratinositler, özellikle sitokin salgılanması yoluyla doku onarım mekanizmalarında önemli roller oynar.

Biyoaktif moleküller olan sitokinler, öncelikle kimyasal haberciler olarak hareket eder ve fizyolojik aktivitelerini modüle etmek için hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanırlar. Görevleri ise inflamasyon, immün regülasyon, hücresel büyüme ve doku onarımıdır. Öne çıkan sitokinler arasında interlökinler (IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8), interferonlar ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), dönüştürücü büyüme faktörleri (TGF- $\alpha$ ,  $\beta$ ) ve trombosit aktivatörleri yer alır. Ayrıca, yaralanma yanıtları sırasında keratinositler, büyüme faktörleri, kemokinler, interferonlar, prostaglandinler ve lökotrienler de dahil olmak üzere bir dizi biyoaktif molekül salgılar ve yara iyileşmesine katkıda bulunurlar (Powell 2006).

Epidermal tabaka içinde, keratinositlerden farklı olarak, her biri belirli işlevsel rollere sahip melanositler, Merkel hücreleri ve Langerhans hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli özelleşmiş hücreler bulunmaktadır (Monteiro-Riviere 2020). Epidermin bazal tabakasında yer alan melanositler, melanin sentezi ve dağılımı yoluyla kutanöz pigmentasyondan sorumludur. Ayrıca bu pigment sadece cildin karakteristik renk tonunu sağlamakla kalmaz, aynı zamanda ultraviyole radyasyona karşı koruyucu role sahiptir (Monteiro-Riviere 2020). Toplam epidermal hücre popülasyonunun yaklaşık %1'inden daha azını oluşturan Merkel hücreleri, özelleşmiş mekanoreseptör hücrelerdir (Şekil 1.2).

### **Epidermis Katmanları**

Derinin en dış tabakasıdır ve vücudu dış travmalara karşı korumakla birlikte farklı hücre katmanlarını içermektedir.

**Stratum Corneum:** Bu tabaka ölü keratinosit yapılarından oluşup, en dış tabakada bulunur ve dışardan gelen travmalara karşı bariyer görevi gösterir.

**Stratum Lucidum:** Vücudun kalın deri bölgelerinde bulunan avuç içi ve ayak tabanı gibi yerlerde olur ve bu tabaka, ekstra koruyucu bir kılıf görevi sağlar.

**Stratum Granulosum:** Keratin, lipid, Keratohiyalin içeren hücrelerden luşan bu tabaka, suyun geçişini engelleyen bir bariyerdir.

**Stratum Spinosum:** Deriye mekanik dayanıklılığı keratinositler ve desmozomlar aracılığıyla sağlayan bu yapı ayrıca Langerhans hücrelerini de içerir.

Stratum Basale (Germinativum): Sürekli olarak keratinositler üretip ve melanositlerin destekleyen bu en alt katman. Deriye rengini verir ve Ultraviyole ışınlarından korunmayı sağlar (Şekil 1.2-3) (Voită-Mekereş 2024).

#### 1.2.2.2. Dermis

Bazal tabakanın altında embriyolojik olarak mezodermal germ tabakasından köken alan 2-4 mm kalınlığında dermis bulunmaktadır. Dermis, epidermis hücrelerine göre daha az sayıda olsa da, ağırlıklı olarak fibroblastlardan oluşmaktadır. Epidermisin altında yer alan dermis, esas olarak kolajen, elastin ve glikozaminoglikandan oluşan bağ dokusundan oluşur. Dermisin birincil hücre tipi olan fibroblastlar, cildi yeniden şekillendiren ve keratinosit proliferasyonunu ve farklılaşmasını destekleyen hücre dışı matris (ECM) bileşenleri, büyüme faktörleri ve enzimler üretir. Dermis, epidermisin altında yer alır ve bağ dokusu, kan damarları, sinirler, kıl folikülleri ve ter bezlerini içerir. Dermis, iki ana tabakaya ayrılır:

Papiller Dermis: Üst kısmında, ince kollajen lifleri ve kapiller ağ içerir.

Dermis-epidermis birleşiminde yer alıp beslenme desteğini sağlamakla yükümlüdür.

Retiküler Dermis: Kalın ve dansitesi fazla olan kollajen lifleri içerir. Esnekliği ve cildin dayanıklılığı buradan mevcuttur (Brown 2018).

#### 1.2.2.3. Hipodermis (Subkutanöz Doku)

Hipodermis, dermis (dış tabaka) ve epidermisin (orta tabaka) altında bulunan cildin en alt tabakasıdır. Bu tabaka, cildi altta yatan kas ve kemiklere bağlar ve mekanik şoklara karşı koruma sağlar. Hipodermisin kalınlığı vücudun farklı bölgelerinde değişmekle beraber ve insanlar arasında önemli ölçüde farklılıklar gösterebilir.

Hipodermis tabakası aynı zamanda şekillendirme ve kemik ile sınır sağlar. Hipodermis, vücudu korumak ve normal çalışmasını sağlamak için birlikte çalışan farklı hücreler, dokular, bezler ve damarlardan oluşan karmaşık bir yapıdır.

Hipodermis cildin ana yapısal desteği olarak görev yapmaktadır. Aynı zamanda termoregülasyon ve şok emiliminde hayati bir rol oynar. Bu tabakadaki yağ miktarı bireyler arasında büyük farklılıklar gösterir. Oldukça vasküler bir tabakadır ve kan damarları ile iç içe geçmiş yapıdadır (McKenna ve ark 2024). Hipodermis vücudu

korur: Hipodermisteki yağ, kemikleri, kasları ve organları soğuktan, travmadan veya darbelerden koruyan bir dolgu veya amortisör görevi görür. Vücut ısını düzenler: ısıyı hapsederek veya koruyarak bir yalıtkan görevi görür ve soğuğa karşı koruma sağlar. Ayrıca cildi kemiklere, kaslara ve organlara bağlayan bağ dokusu içerir.

Deri, insan vücudunun en büyük organıdır ve maruz kalınan en büyük yüzey alanına sahiptir. Olası bir yanık ve travma durumunda ilk etkilenecek en büyük hayati organlardan birisi derimizdir.

#### **1.2.2.4. Derinin Fonksiyonları**

Deri her türlü travmaya dıştan uyarana, yaralanmalara, enfeksiyonlara, zararlı kimyasallara ve radyoaktif olsun olmasın ışınlara karşı bir koruyuculuk sağlar. Koruyucu fonksiyonun ana bileşeni Stratum corneumdur. Deride her türlü dış etkene karşı koyabilip uyaraabilecek uyarıları algılayan reseptörler vardır. Bu reseptörler, merkezi sinir sistemine nöroaksonal yolla sinyal gönderir. Deri ayrıca, ter bezleri ve mikrovasküler yapılar aracılığıyla vücut ısını düzenler. Vazodilatasyon ile terleme olup vücut ısının düşerken, vazokonstriksiyon ile ısı korunur.

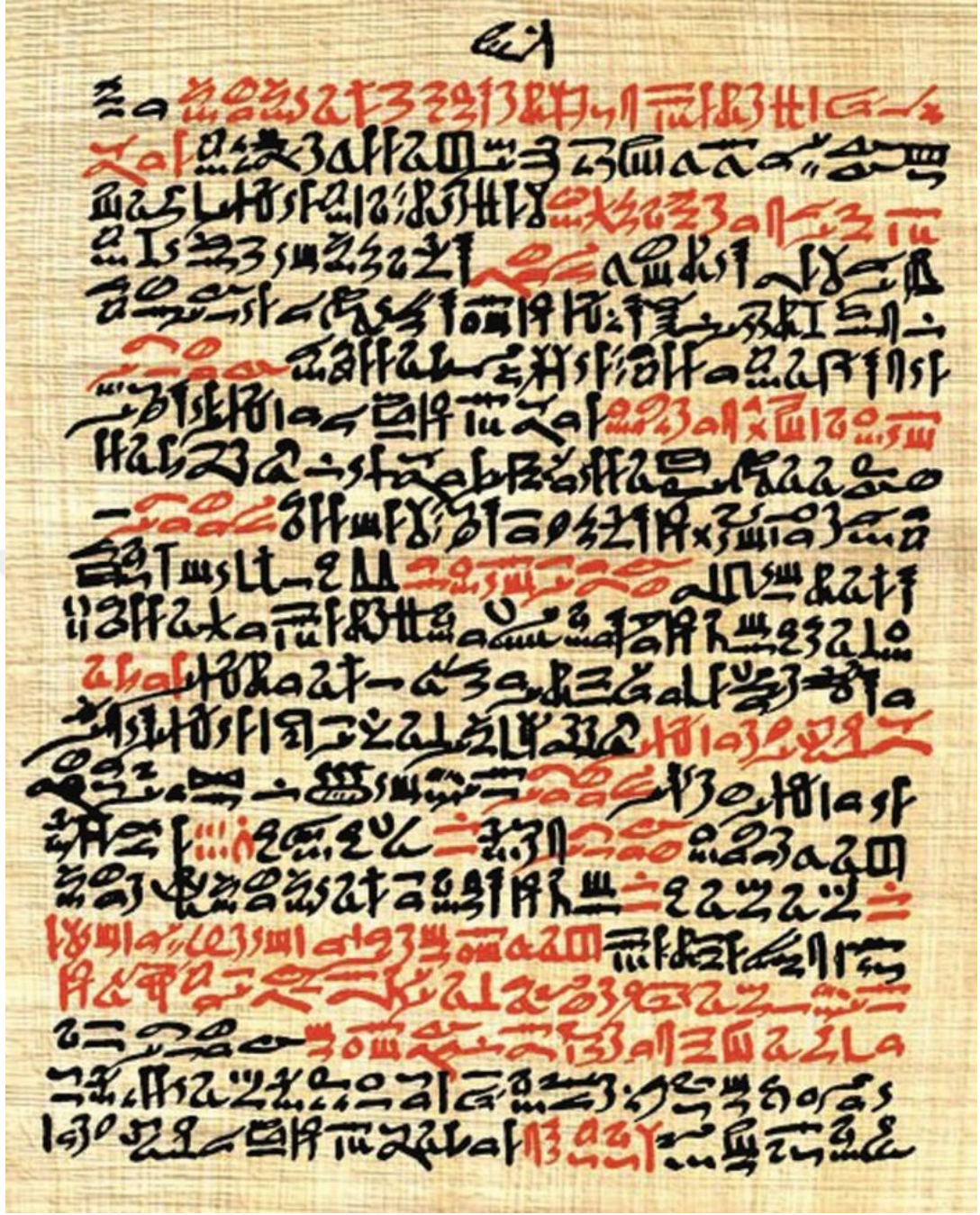
Deri, ayrıca D vitaminin sentezi için de gereklidir. UV ışınlarının etkileşimiyle hücrelerde kalsiyum emilimi tetiklenir. Langerhans hücreleri ve makrofajlar gibi yapılar zararlı patojenler karşı ilk savunma sınırı olup, antijenleri tanır ve immün yanıtı tetiklerler (Montagna ve ark 2012, Nestle ve ark 2009).

#### **1.2.2.5. Tarihçe**

Yara tedavisinin tarihi, M.Ö. 2200 yıllarında ilk ve yazılı olarak Sümerler tarafından ortaya konmuştur. Burada yara iyileşmesinin üç noktasına işaret etmiştir: Yarayı yıkamak, üzerini kapatmak ve sarmak (Shah J. B. 2011). Meşhur Ebers ve Edwin Smith papirüslerinden M.Ö. 1600'lü yıllarda hekimlerin açık yarayı nasıl tedavi ettiklerini, sınıflandırdıklarını görüyoruz (Şekil 1) (Broughton G.2006, Breasted JH 1930). Birçok uygarlıkta ve Antik dönemde yara bakımında genel olarak o zamanda çamur veya kil, şifalı otlar, yağ, bal gibi maddeler kullanılmıştır. Uygarlıkların yara bakımında kullandıkları ürünlerin yakın olması dikkat çekicidir (Henry G. ve ark 2003).

Antik Yunanlıların da yara iyileşmesine katkıları son derece önemlidir. İlk olarak M.Ö. 200'lü yıllarda Hipokrat yaranın cerrahi olarak boşaltılması ile şifa olacağına yer vermiştir. M.Ö. 280 yılında Yunan bir berber tarafından keşfedilen enjektörün yaralara sıvı enjeksiyonu ve cerrahi drenajda kullanıldığı notlarda görülmüştür (Majno G 1975). Diğer bir yandan Yunanlar yarada temizliğin önemini göstermişler ve dezenfektan olarak kaynatılmış temiz su, sirke ve şarapla yaranın yıkanmasını önermişlerdir. Hipokrat ve Galen yarayı iki farklı şekilde tanımlamışlardır: Birincisi temiz ve kuru, kolayca iyileşen; ikincisi kirli ve iyileşmesi için drenaj gerektiren yaralar. (Freiberg J. A. 2017, Gorbach S. L. 1995). Aulus Cornelius Celsus meşhur "De Medicina" kitabında da yara iyileşmesini ve teavi yöntemlerini anlatmıştır. (Mouës C. M 2009, Köckerling F 2013).

İlk olarak "hastalık yapan mikrop" teorisi 19. yüzyılda I. Semmelweis (1818-1865) ve L. Pasteur (1822- 1895) tarafından kullanılmaya başlanmış olup. Antisepsi kuramı ve yarayı iyileştirmede fenol emdirilmiş pansuman malzemelerinin Dr. Joseph Lister'in (1827-1912) tarafından kullanılması büyük bir tıbbi atılımdı. (Uzun M 2018). Günümüze gelindiğinde artık modern tedavilerden ve yöntemlerden bahsedebiliyoruz. Artık yüzlerce yara bakım ürününden, hiperbarik oksijen tedavisinden, nano örtülerden ve negatif basınçlı vakum sistemlerinden faydalanıyoruz (Şekil 1.4).



Şekil 2.1. Ebers Papirüsü'nün bir sayfası (Breasted JH 1930)

### 1.3. YARA

Yaralar, fiziksel veya termal hasar ya da altta yatan tıbbi veya fizyolojik bir durumun varlığından kaynaklanan ciltteki kusurlardır. Deride fiziksel, termal veya travmatik bir hasar oluştuktan sonra, o bölge fizyolojik olarak dengesini yitirir hale gelir ve vücut hemodinamik süreçleri tehlikeye girebilir (Boateng ve ark 2008). Kimyasal savaş ajanları; buhar, gaz ve aerosol halinde ise solunum yoluyla katı ve sıvı partiküller halinde ise deri yoluyla gıda maddelerine bulaşmış ise sindirim yoluyla vücuda alınan ve en çok karşılaşılan yaralanma sınıfını oluşturmakla beraber tedavısı

içinde bir o kadar çalışma yapılmış ve tedavi yöntemleri belirlenmiştir (Broughton G 2006.)

Yaraları klasifiye etmede farklı stepler kullanılabilir. Deri katmanlarının sayısına ve etkilenen deri yüzey ve derinlik alanına göre, yaralar yüzeysel yaralar, kısmi kalınlıkta yaralar ve tam kalınlıkta yaralar olarak sınıflandırılabilir (Bolton ve Van Rijswijk 1991, Krasner ve ark 1993). Yüzeysel yaralar, yaralanma yalnızca epidermisi etkilediğinde ortaya çıkan durum olmakla beraber, Kısmi kalınlıktaki yaralar kan damarları, ter bezleri ve kıl foliküllerinde olduğu daha derin dermal katmanlarda hasar yapar. Deri altı yağ, kas veya daha derin dokuları içeren travmatik yaralanmalar ise tam kalınlıkta yaralar olarak isimlendirilir.

İyileşme sürecine bağlı olarak da yara çeşitleri oluşabilir. Bu sınıflandırmaya göre akut veya kronik yaralar olabilir. Akut yaralar genellikle 6-8 hafta içinde minimal ve nedbe bırakmayacak şekilde yara izi ile tamamen iyileşirler (Percival 2002). Bu tarz yaralar genellikle mekanik yaralanmalar, kimyasal yaralanmalar ve yanıklardan kaynaklanır (Raziyeva ve ark 2021). Bunun tam tersi olarak da kronik yaralar ise yavaş iyileşir e zaman alan durumlardır. Yatak yaraları, diyabetik ayak yaraları, Dekübit ülserleri kronik yaralara örneklerdir. Yatak yarası ya da bası yarası olarak da bilinen dekübit ülserleri, kas ve yağ kaybıyla birlikte derin doku nekrozu ile karakterize olup, üstteki deri kaybından orantısız olarak daha fazladır (Keller ve ark 2002). Kronik yaralar genellikle altta yatan patofizyolojik koşullar nedeniyle morbiditesi yüksek olan hasta popülasyonunda (diyabet, kalp hast.,böbrek hast.,enfeksiyonlar) ortaya çıkarlar (Moore ve ark 2006). Bunlara ek olarak Yaralar dermal bakıdalarına, enfeksiyonel durumlarına ve infestasyon kokularına görede göre de sınıflandırılabilir: Nekrotik yaralar (hücre nekrozuyla ve dehidratasyonla oluşan siyah deri), dökülen yaralar (yağ nekrozu denilen ince bir sarı veya gri doku tabakasıyla kaplı), granülasyonlu yaralar (platelet ve fibrin transferiyle ortaya çıkan koyu pembe veya kırmızı görünümlü şişlik) ve re-epitelize olan yaralar (ortalama uzun bir süreç alan yüzeysel ve iyileşme sürecinin sonunda ortaya çıkan durumlardır (Abdelrahman ve Newton 2011).

### **1.3.1. Akut Yara**

Akut yara, yara iyileşmesinin ardışık aşamalarından henüz geçmemiş yeni bir yara olarak tanımlanır. Akut yara, bir kesi veya travma sonucu oluşur ve zamanında ve düzenli bir şekilde iyileşir. Cerrahi olarak oluşturulan yaralar, tüm kesileri,

eksizyonları ve cerrahi olarak debride edilen yaraları içerir. Cerrahi yaralar, travma (örn. yanıklar, düşmeler), altta yatan bir durum (örn. bacak ülserleri) veya her ikisinin bir kombinasyonu sonucu oluşan tüm cilt lezyonlarını içerir. Derinin travmay açılması, izler ve kesi akut yaranın yaygın nedenleridir. Normal veya akut yaralar yeterli bakımla uygun sürelerde iyileşir. Yüzeysel akut yaralar 7 gün ile 2 hafta içinde iyileşirken, daha derin akut yaralar 3 hafta ile 4 ay arasında iyileşir (Gonzalez ve ark 2016). Bu iyileşme esas olarak yaranın fizyolojik aldığı travmaya, katmanlara, ciddiyetine/derinliğine ve yara bölgesine oksijen transferlerine de bağlıdır.

### **1.3.2. Kronik Yara**

Öngörülen zaman diliminde ve düzenli bir şekilde iyileşmeyen ve sıklıkla tekrarlayan yaralar kronik olarak kabul edilir. Venöz bacak ülserleri, bası yaraları ve diyabetik ayak ülserleri kronik yaralara örnek olarak verilebilir (Ather S 2014).

Kronik yara, doku sürdürülebilirliğinin azalmasına, oksijenizasyonun engellenmesine ve kalıcı bir enflamatuar süreçlerle ilgili reaksiyona yol açar (Falanga 2020). Travma alanında yetersiz oksijen sağlanması, yetersiz büyüme faktörü ve azalmış anjiyogenez oranı, kronik koşullarda gecikmiş ve kötü yara iyileşmesinin başlıca nedenleridir (Bowers ve Franco 2020). Basıncı ülserleri, diyabetik ülserler ve iyileşmeyen cerrahi yaralar kronik yaraların başlıca sorumlularıdır.

### **1.3.3. Açık ve kapalı yaralar**

Yaralar ayrıca açık veya kapalı yara tipleri olarak da ayrılır: Açık yaralar: örnekler arasında kesik veya kesik yaralar, yırtıklar, sıyrıklar, delinmiş yaralar ve penetran yaralar bulunur, Kapalı yaralar: örnekler arasında çürükler, hematoma ve ezilme yaralanmaları bulunur.

### **1.3.4. Yara sınıflandırması**

Yaralar, morbidite sebeplerinden olan diabetes mellitus, kalp hast., böbrek hast., kanser gibi potansiyel definitif hastalıklar nedeniyle veya dış faktörler gibi etkenler ile deride meydana gelen hem yapısal hem de fonksiyonel hasar olarak tanımlanabilir (Tottoli ve ark 2020, Tudoroiu ve ark 2021). Yaralar kan dolaşımındaki oksijen saturasyon seviyeleri, inflamasyon, infeksiyon ve diğer sistemik faktörler gibi çeşitli özelliklerle de tanımlanabilir (Tottoli ve ark 2020). Ayrıca bu özellikler, yaranın kategorize edilmesini ve yaraya uygun tedavi yönteminin belirlenmesini sağlar.

Yaranın iyileşme hızına göre akut ve kronik yaralar olarak ikiye ayrılabilir. Akut yaralar, ek yardım gerektirmeden, minimal yara izi oluşumuyla tamamen iyileşir. İyileşme süreci tipik olarak 8 ila 12 hafta arasında sürer ve iyileşme hızı çoğunlukla yaralanmanın yeri, boyutu ve derecesi gibi faktörler tarafından belirlenir (Chouhan ve ark 2017). Bununla birlikte, kronik yaraların iyileşmesi için tipik olarak daha uzun bir süre gerekir. Kronik yara tekrarlayabilir ve çok sayıda pansuman değişikliği, tekrarlanan hastaneye yatışlar vb. gerektirebilir ve ayrıca özel bakım gerektiren geniş doku skarları ortaya çıkarabilir (Niculescu ve Grumezescu 2022).

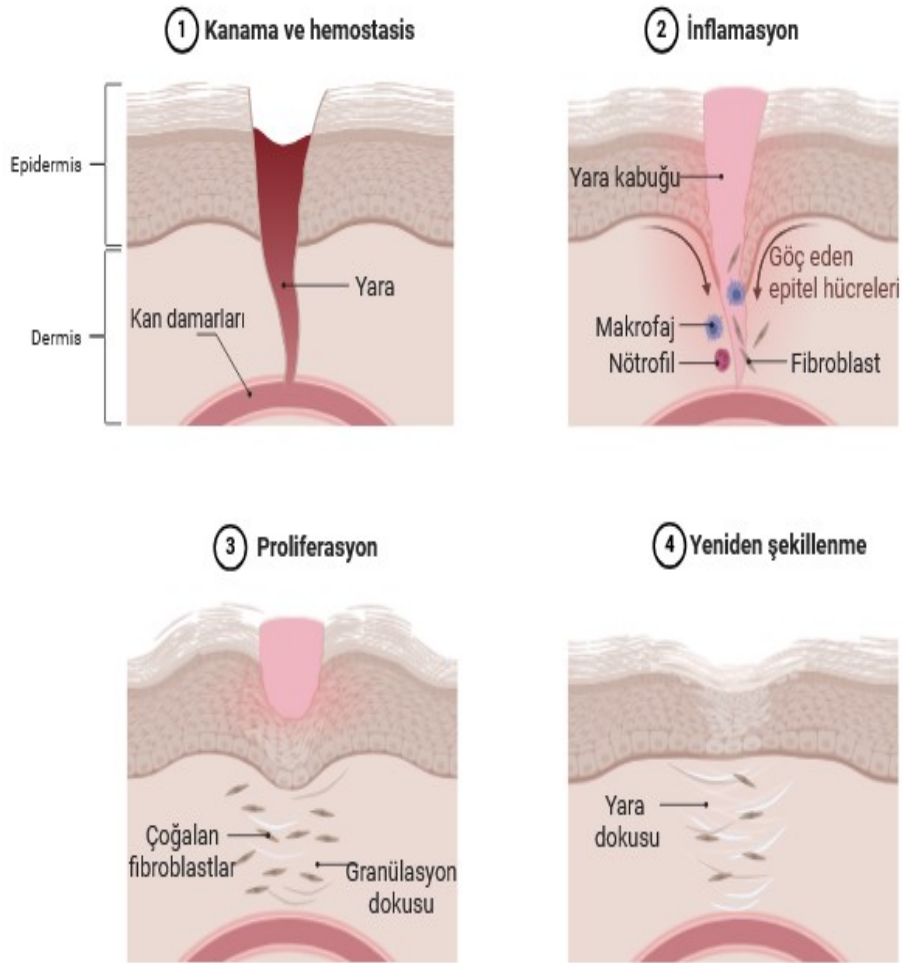
Akut ve kronik yaraların farklı pansuman gereksinimleri vardır. Bu tür yaraları tedavi ederken, yara izi kalma olasılığını en aza indirmek için uygun bir ortam sağlamalı ve basınç ve strese maruz kaldığında bozulmadan kalmak için yeterli güce sahip olmalıdır. Pansumanlar mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek enfeksiyonları önleyebilir ve cilt hücrelerinin büyümesini ve hareketini hızlandırarak iyileşme sürecini kolaylaştırabilir (Sahithi ve ark 2013). Kronik yaralar, için kullanılan sargının eksüdayı emme kapasitesi yüksek olmalıdır. Ayrıca, pansuman değiştirilirken yaranın daha fazla zarar görmesini önlemek için pansumanın yara yüzeyine uygun bir şekilde yapışması esastır (Boateng ve Catanzano 2015). Kronik ve karmaşık akut yaralara, yara iyileşmesini destekleyen ilaçlar ve sitokinler yüklenebilir (Koehler ve ark 2018). Yaralar, nasıl oluştuklarına bağlı olarak kesi yaraları, ülserli yaralar ve laserasyon yaraları olmak üzere üç kategoride sınıflandırılır. Yaranın enfekte olup olmadığına göre, kontamine yaralar, enfekte yaralar ve enfekte olmayan yaralar olarak da sınıflandırılabilir. Ayrıca, yaraları yüzeysel epidermal yaralar veya derin yaralar olarak kategorize etmek için yaraların boyutu kullanılabilir. Şekil 1.2 de gösterildiği gibi yaraların daha kapsamlı bir şekilde kategorize edilmesi, her bir lezyon türünün spesifik özelliklerine göre uyarlanmış yara örtüleri geliştirmemeye olanak sağlar.

### **1.3.5. Yara İyileşmesi**

En basit anlatımıyla, cilt ve mukoza bütünlüğünü oluşturan yapıların bütünlüğünün travma veya kazalarla defekte uğraması durumudur. Yaralar yaygın doku harabiyetiyle meydana gelebildiği gibi hematoma, Laserasyon ve kontüzyon gibi durumlar da yara oluşmasına yol açabilir (Broughton George 2006). Yara oluşmasıyla beraber vücutta ivedilikle yara iyileşmesi cevabı başlar ve iyileşme fazları aktive olur. Temel amaç, doku bütünlüğünün ivedilikle sağlanması ve dokunun non travmatik haline geri döndürülmesidir. Yara iyileşmesi bunun yanı sıra, birçok mekanizmanın ve

mediyatörlerin yer aldığı kombine ve multifaktöryel bir oluşumdur. Yara iyileşmesini klasifiye edecek olursak primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üçe ayrılır. Primer faz, yaraların (laserasyon veya cerrahi insizyon) iki gün içinde onarılması ile gerçekleşir. Bu fazda yara kenarları sütürasyon, vb mekanik aletler teminiyle onarılır. Sekonder faz ise daha geniş alanlı travmalarda, doku eksikliği varlığında önem arz eder. Dokular enfeksiyon riski nedeniyle yaklaştırılmaz ve kontraksiyon ve granülasyona bırakılarak sekelli iyileşme olur. Geldiğinde suturasyonla suturasyonla suturasyonla suturasyonla primer iyileşme ya da diğer adıyla Tersiyer faz ise kontamine olup sekonder faza bırakılan yaranın steril duruma geldiğinde suturasyonla primer kapatılması diye açıklanır (Broughton George 2006, Campos ve ark 2008).

Yara iyileşmesi, bağışıklık hücreleri, endotel hücreleri, fibroblastlar ve keratin oluşturan hücreler tarafından gerçekleştirilen kademeli olarak hemostaz, inflamasyon, proliferasyon, maturasyon ve yeniden şekillenme (re-modelling) olmak üzere dört aşamaya ayrılmaktadır (Şekil 1.5.).



Şekil 3.1.Yara iyileşmesinin aşamaları (Yager, D. R. 1999).

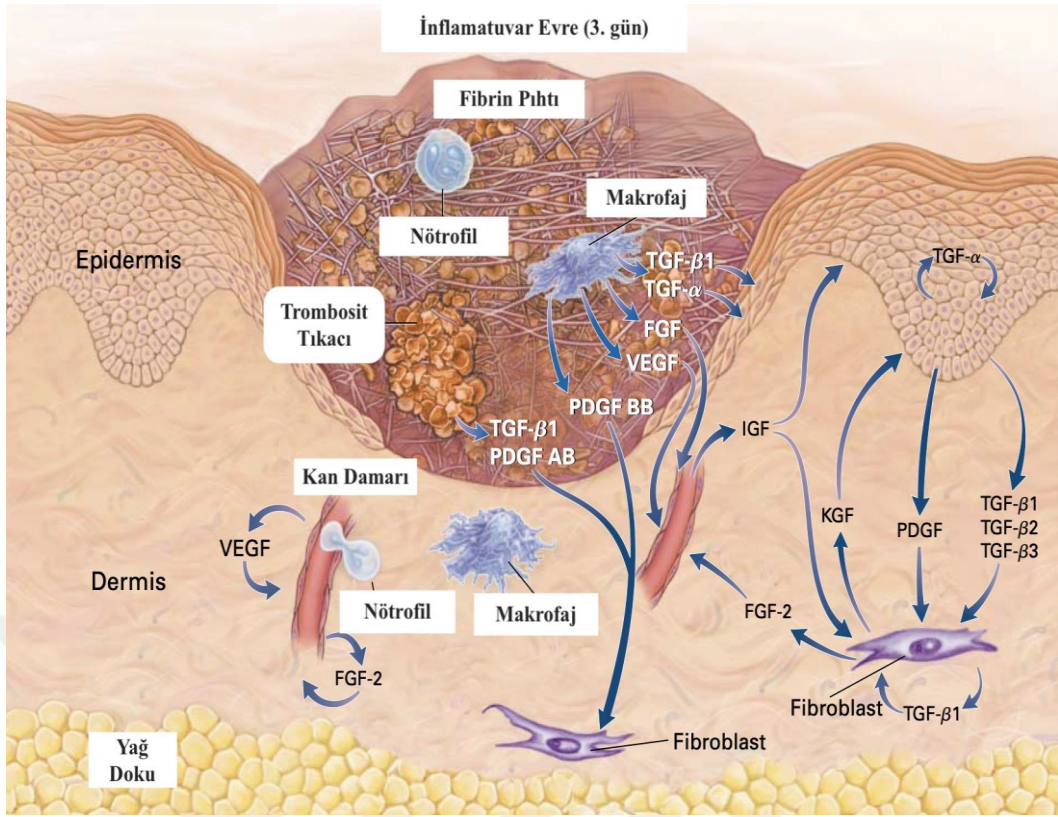
### 1.3.5.1. Hemostatik/inflamatuvar Aşama

Vasküler vazokonstriksiyon ardından süreç koagülasyon platelet kaskadı ve agregasyonu ile devam eder. Degranülasyonu sonrası ortama farklı mediatör ve vasküler pıhtılaşma faktörleri salınır. Bu faktörlerin ortama salınmasıyla İnflamasyon fazı trigerite olur (Guo S. 2010). Yara iyileşmesinin ilk aşaması olan hemostaz, yaralanmalar için bir ilk tepki mekanizmasıdır. Yaralanmanın ardından doku bütünlüğünün bozulmasıyla arteriyel ve venöz hemoraji olmakta, kan bileşenleri de extrasellüler ortama çıkmaktadır. Yara iyileşmesindeki ilk fizyolojik yanıt kanamanın kontrolü için hemostazdır (Guo S 2010)Fizyolojik hemostaz üç aşamadan oluşur: vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu ve koagülasyon (Rodrigues ve ark 2019).

Vasküler ilk cevap olan lokal alandaki vazokonstriksiyonun ve hemostazın tetiklenmesiyle beraber vazokonstriksiyon lokal kan akışını azaltır, bu da trombosit agregasyonunu ve faktör kaskadlarının kaskad amplifikasyonunu teşvik eder ve hemostatik bir trombüs oluşumuna yol açar. Bir kişi yaralandıktan hemen sonra, hasarlı bölgedeki kan damarları kan akışı ve kaybını önlemek için vazokonstriksiyon olur. (Laurens ve ark 2006). Bunun ardından platelet ve mast hücrelerinden sekrete olan vazoaktif mediyatörler vazodilatasyona ve vasküler permeabilite artışına yol açar. Ardından travma bölgesinde kızarıklık, şişlik, ısı artışı ve ağrı gelişir ve inflamasyon ortaya çıkar

Yarayı onarıma hazır hale getirmek için gelişen İnflamasyon mekanizması ise bir reaksiyondur. Nötrofil göçü ise İnflamatuvar mediyatörler ve kemotaktik ajanların sekresyonuyla başlar. Yara bölgesine ilk gelen lökositlerdir. Travmadan sonraki ilk 2-3 gün içinde sayıları en üst seviyeye ulaşır. Nötrofillerin asıl vazifesi fagositoz olup ortamdaki bakterileri, ölü dokuları ve yabancı cisimleri fagosit ederler. Sahip oldukları PGE ve proteazlar sayesinde yıkıma uğrayan ECM elemanlarının ve nekrotik dokuların yıkılmasında rol alırlar (Singer A. J. 1999). Enflamasyondan sonra, monositler ve lenfositler dolaşımdaki beyaz kan hücresi popülasyonunun birincil bileşenleri haline gelir. Bu bağlamda, lenfositler farklılaşmaya uğrar ve interferon-alfa (INF- $\alpha$ ) ve dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ) gibi çeşitli lenfokinleri sentezler. Monositlerden köken alan makrofajlar, başta epidermal büyüme faktörü

(EGF) ve trombosit türevli büyüme faktörü (PDGF) olmak üzere bir dizi büyüme faktörü salgılar, bu hücreler fibroblastların ve kılcal damarların çoğalmasını teşvik etmek için birlikte çalışır ve böylece doku onarımının proliferatif fazına doğru ilerlemelerini kolaylaştırır. Trombosit alfa granüllerinden salınan kilit glikoproteinler arasında fibrinojen, fibronektin, trombospondin ve von Willebrand faktörü bulunur. Trombosit agregasyonu ilerledikçe, pıhtılaşma faktörleri salınarak yaralanma bölgesinde bir fibrin pıhtısının birikmesine neden olur. Fibrin pıhtısı geçici bir matris köprü görevi görür. Toplanan trombositler fibrin ağında sıkışır ve pıhtının büyük kısmını oluşturur. Membranları, inaktif pıhtılaşma enzimi proteazların bağlandığı, aktive olduğu ve pıhtılaşma kaskadını hızlandırdığı bir yüzey sağlar. Yetmiş ikinci saatten sonra nötrofil sayısı ortamda azalırken monosit ve makrofajların sayısı ivedilikle artar. Makrofaj sayısı en yüksek 48-72. Saatlerde üst seviyelere ulaşır. Dolaşımdaki monositler yara yerine geldiği zaman aktive olarak makrofajlara dönüşür. Makrofajlar salgıladıkları büyüme faktörleri, proinflamatuvar moleküller, plazma sitokinleri ile inflamasyonu devam ettirirler. Makrofaj kaynaklı sitokinler epitelizasyon, anjiyogenez, fibroblast ve kollajen oluşumu ile ilişkilidir (Şekil 1.6.) (Guo S. 2010). Travma alanına en son lenfositlerin gelmesiyle salınan sitokinler (fibroblastların aktivasyonunda rol oynarlar) sayesinde ECM ve kollajen oluşumu sağlanır. Yarada etkin olan lenfositlerin gelmesi ile fazlar inflamatuvar evreden proliferatif evreye geçiş başlar. İnflamasyon evresi, ortalama 3-5 gün içinde sona ermektedir. Aşırı kontamine ve enfekte yaralarda bu süre artmakta, iyileşme gecikmekte ve skar doku yoğunluğu su artmaktadır (Yager D. R. 1999).



Şekil 3.2. Yara iyileşmesinin inflamasyon evresi (Yager D. R.1999).

### 1.3.5.2. Proliferasyon Aşaması

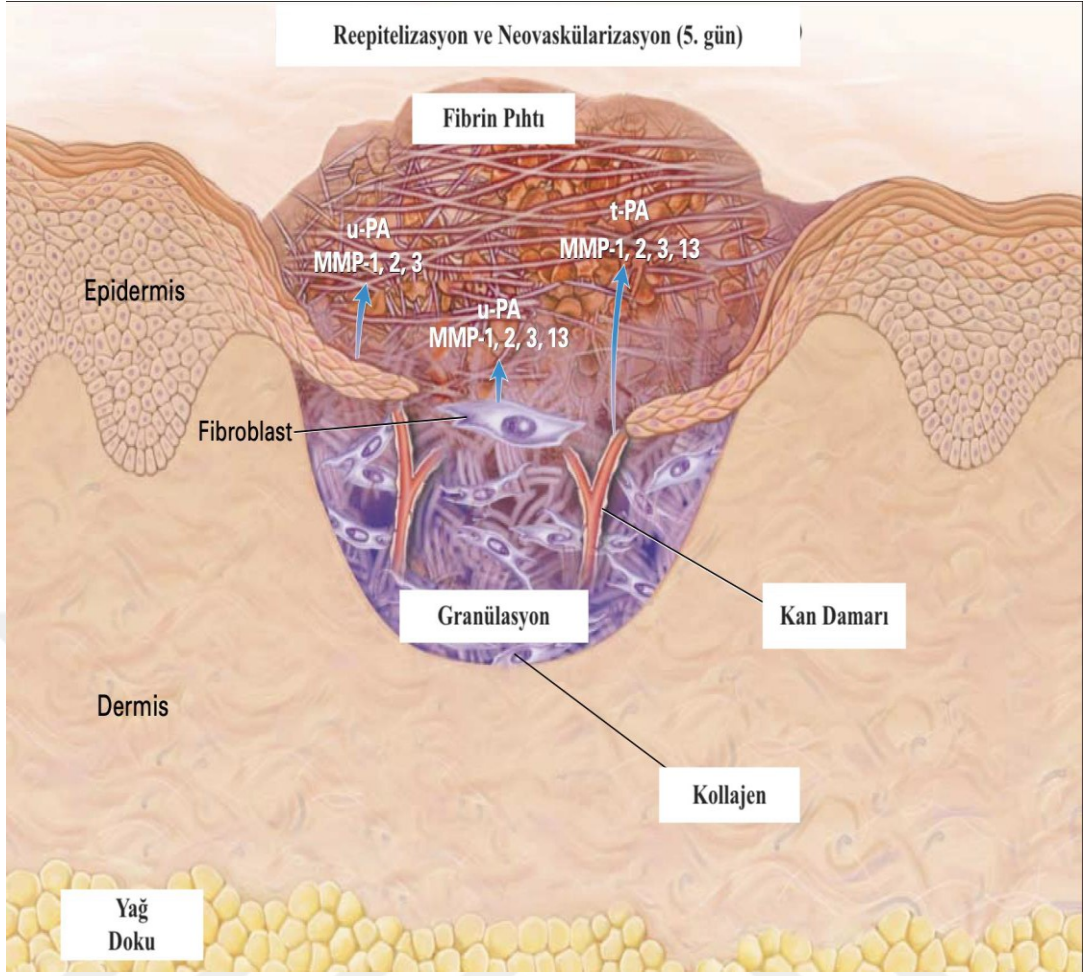
Yaralanmadan sonraki 3-5. Günlerde inflamatuvar fazın bitmesi ve enfeksiyonun ortadan, nekrotik dokularadan arınmasıyla, iyileşmenin ikinci evresi olan proliferatif evre başlar (Regan M.C 1994). Proliferatif evre yaklaşık ikinci haftaya kadar sürer ve faz sırasıyla anjiyogenez, granülasyon, epitelizasyon, kollajen sentezi gibi aşamaları ihtiva eder. Bu evrenin en önemli göstergesi granülasyon dokusudur (Mutsaers S. E. 1997).

Fibroblastlar, trombosit ve makrofajlardan salınan sitokinler ve büyüme faktörlerinin etkisiyle proliferolurlar. Yara iyileşmesi sürecinde fibroblastların esas görevleri kollajen ve ECM (Ekstrasellüler Matris) ürünlerinin sentezlenmesidir. Yara iyileşmesindeki önemli kollajen tipleri 1 ve 3 tipleridir (Pierce G. F 1991). Endotel hücrelerinden yeni damarlar oluşması anlamına gelen Anjiyogenezi başlatmakta ise makrofajlar ve trombositlerden salınan sitokinler etkilidir. Anjiyogenez hücre hasarı ve hipoksiyle uyarılır. Yaralanmadan sonra epidermisin bariyer özelliğın tekrar kazanılması amacıyla epitel hücrelerinin göçü, keratinize olma süreci epitelizasyon olarak adlandırılır. Bu süreçte keratinositler, fibronektin, kollajenaz ve diğer proteazlar

görev almaktadır (Grotendorst G. R 1989). Aynı zamanda yara kontraksiyonu, ECM'nin ana yapısını yapan GAG (Glikozaminoglikan) sentezi fibroblastların miyofibroblastlara transformasyonu da bu evrede tetiklenmektedir (Şekil 1.7).

Proliferatif evrenin amacı, keratinositleri aktive etmek için canlı bir epitelyal bariyer oluşturarak lezyonlu doku alanını kontraksiyon ve fibroplazi ile azaltmaktır. Bu aşama cilt hasarından sonra üç gün ila birkaç hafta sürer. Bu evrede birlikte çalışan üç ana olay reepitelizasyon, anjiyogenez ve granülasyon dokusunun gelişimidir. Bu süreçler lezyonun mikroçevresinde ilk 48 saat içinde başlar ve lezyonun başlangıcından sonraki 14. güne kadar devam edebilir. Yaralanmadan sonra, yara kenarlarında keratinositler dolaşır ve yaranın çevresini yeniden inşa etmek için kolajen bakımından zengin ECM ve dermal hücrelerle etkileşime girer. Bu süreç yeniden epitelizasyon olarak bilinir. Nitrik oksit (NO, öncelikle makrofajlar tarafından üretilir), sitokinler ve sinir büyüme faktörleri, keratinosit büyüme faktörü (KGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi büyüme faktörleri gibi çeşitli yara sinyallerinin yeniden epitelizasyon sürecini teşvik ettiği bilinmektedir.

Bir dizi büyüme faktörü, doku hasarlarının onarımı için gerekli olan fibroblastların göçünü ve çoğalmasını tetikleyebilir ve teşvik edebilir. Fibroblastlar artan miktarda hücre dışı ekstrasellüler matriks (ECM) sentezledikçe, bu materyal hücre dışı alanda birikmeye başlar. Hücre dışı matrisin birincil bileşeni olan kolajen, yerel bağ dokusunun onarımında ve yara iyileşme sürecinde gerilme mukavemetinin oluşturulmasında çok önemli bir rol oynamaktadır (Kallis ve Friedman 2018). Ayrıca, yeni oluşan ince duvarlı kılcak damarların sayısındaki artış, besin iletimini ve oksijen taşınmasını artırarak yara iyileşme sürecini kolaylaştırabilir. Spesifik büyüme faktörleri endotel hücreleri üzerindeki reseptörlerle etkileşime girme kapasitesine sahiptir ve böylece kapiller lümenlerin gelişimini teşvik eder (Naito ve ark 2020). Yaralanmayı takip eden ikinci veya üçüncü günde, yaranın çevresindeki deri ve deri altı dokular, miyofibroblastların aracılığı ile merkeze doğru hareket etmeye başlar (Monika ve ark 2021).

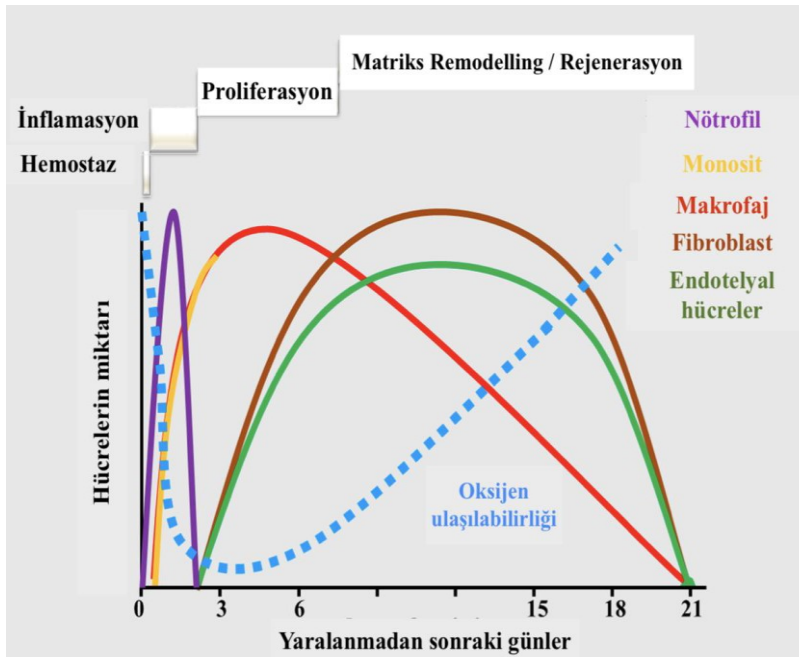


Şekil 3.3. Yara iyileşmesinin proliferasyon evresi (Mutsaers S. E 1997).

#### 1.3.5.3. Maturasyon ve Yeniden Şekillenme

Yaralanmadan üç ila dört hafta sonra, duruma göre birkaç ay veya yıla kadar sürebilen yeniden şekillenme aşaması başlar. Yeniden şekillenmenin son aşaması ağırlıklı olarak ekstraselüler matrisin yapısındaki değişikliklerle belirlenir. Yara iyileşmesinin en uzun evresi olan re-modelling evresi maturasyon, kontraksiyon ve skar dokusu ile karakterizedir. Yaranın kontrakte olması, doku kalınlığını ve aynı zamanda nedbe oluşumunu azaltmada en önemli fazdır. Bu evrede fibroblastların sayısı azalır, kollajen üretimi dengelenir, epitelizasyon stopladır, yara yerindeki gerilim direnci kapasitesi artar ve sonuçta iyileşmiş nedbe dokusu meydana gelir. Nedbe dokusu artık son olarak granülasyon dokusunun yerini almıştır (Şekil 1.7.) (Sabiston D 1997).

Kolajenin çapraz bağlanması, yarananın mekanik gerilimini ve bütünlüğünü artırmada çok önemli bir rol oynar. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- $\beta$ ) gibi çeşitli büyüme faktörleri, interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-4 (IL-4) gibi sitokinlerle birlikte kolajen sentezini kolaylaştırır (Reyhani ve ark 2017, Duzyj ve ark 2018, Hillege ve ark 2020). Bu sitokinler, hem metaloproteinazların (MMP'ler) sentezini hem de metaloproteinazların doku inhibitörlerinin (TIMP'ler) salgılanmasını etkileyerek fibroblast aktivitesini düzenlemede önemli roller oynarlar. Mezenkimal kökenli fibroblastlardan sentezlenen kollajenler, normal cilt ve granülasyon dokusunda olduğu gibi, olgulanmış skarda da en önemli bileşendir. Vücuttaki proteinlerin %25'ini, skar dokusundakilerin ise %50'sini oluştururlar. Kollajen sentez ve yıkımı büyüme faktörleri ve metalaproteinazlar ile dengede tutulur. Kollajenin birikimi ve organizasyonu bu evrenin temel olayıdır. Yara onarımında görev alan kollajenler tip 1 ve tip 3 kollajenlerdir (Pascoe J.R. 1991). Yara iyileşmesinde en son evre yara gerilim direncinin oluşmasıdır. Yarada gerilim direnci evresi 7.-21. Günler başlayıp 12 aya kadar sürmektedir. Maturasyon ise iki yıl kadar devam edebilir (Shih B.2010). Bu düzenleyici mekanizma ile ECM'nin yeniden şekillenmesi için gerekli olan proteinin parçalanması kolaylaşır (Talbot ve ark 2022). Ayrıca, kan damarlarının giderek bozulması, kollajen liflerinin önemli miktarda kümelendiği soluk renkli, zayıf damarlanmış bir yaranın oluşumuna yol açar



Şekil 3.4. Yara iyileşmesinin evreleri (Nauta T. D. ve ark 2014).

#### 1.3.5.4. Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinler

Yara iyileşmesi cildin bariyer özelliğinin düzenlenmesin içeren kompleks ve multisellüler bir mekanizmadır. Bu süreç tabii ki trombositlerin, makrofajların, endotel hücrelerinin, fibroblastlar gibi ve birçok mediatör hücre sitokinin düzenli aktivasyonu ile olur. Bu hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu, infiltrasyonu ve farklılaşması ile yara iyileşir. Bu aşamaların düzenlenmesini ise polipeptid yapıdaki büyüme hormonları ve sitokinler sinyal mediyatörü ile yaparlar (Barrientos S 2008). Büyüme faktörleri etkisini parakrin, otokrin ve endokrin olarak gösterebilirler. Yara iyileşmesine katılan bazı büyüme faktörleri şunlardır: PDGF, TGF-  $\beta$ , IGF-1, VEGF, FGF, TGF-  $\alpha$ , EGF.

PDGF trombositlerden, makrofaj ve monositlerden, endotel hücrelerinden salgılanır. Esas olarak kemoatraktan ve mitojenik aktivitesiyle önem teşkil eder. Özellikle kollajenaz miktarını yeniden şekillenme evresinde artırır. Hyaluronik asitle birlikte fibronektin sentezini de tetiklerler. (Jian K 2022, Li H 2008). TGF-  $\beta$  trombosit, makrofaj, nötrofil veya lenfosit kaynaklı olabilir. Yara iyileşmesinin tüm safhalarında kemotaksisini ve proliferasyon için Makrofajları ve fibroblastları tetikler Anjiyogeneizde yara kontraksiyonunu başlatır. Aynı zamanda bu yapı kollajen sentezinin de en önemli aktivatörüdür.

VEGF, keratinosit ve makrofaj kaynaklıdır. VEGF-A alt tipi neovaskülarizasyon ve anjiyogenezin esas düzenleyicisidir. VEGF salınımı özellikle Hipoksik koşullarda uyarılır, iskemik yaralardaki etkinliğine dair rat çalışmaları literatürde mevcuttur (Breitbart A. S 2001, Corral C. J 1999). FGF trombositlerden, hasarlı endotel hücrelerinden, makrofaj ve fibroblastlardan salgılanır. Endotel proliferasyonunu uyarak vasküler geçirgenlik artışını ve neovaskülarizasyonu tetikler. EGF, trombositlerden ve makrofajlardan salgılanır. kollajen üretimini ve Reepitelizasyonu sağlar, Endotel ve fibroblastların kemotaksisinde rol alır. Kollajenaz stimulanıdır ve anjiogeneizde etkilidir. EGF'nin topikal ve lokal alanlardaki uygulaması etkisi birçok çalışmada gösterilmiş ve özellikle diyabetik ayak ülserlerindeki yapılan EGF içerikli yara örtüleri global alanda kullanılmaya başlanmıştır (Tablo 3.1.) (Dumantepe M. 2015, Tiaka E. K 2012).

Tablo 3. 1. Yara iyileşmesinde görevli bazı büyüme faktörleri (Werner S 2003)

| <b>Büyüme Faktörü</b> | <b>Kaynaklandığı Hücreler</b>                | <b>Görevi</b>                                               |
|-----------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| PDGF                  | Trombosit, makrofaj, Monosit, endotel        | Kemoatraktan, mitojenik, Proliferasyon, kollajenaz artışı,  |
| TGF- $\beta$          | Trombosit, makrofaj, Nötrofil, lenfosit      | Kemoatraktan, proliferasyon, Kollajen sentezi, anjiogenez,  |
| VEGF                  | Makrofaj, keratinosit, Endotel, trombositler | Neovaskülarizasyon, anjiyogenez,                            |
| FGF                   | Trombosit, endotel, Makrofaj, fibroblast     | Vasküler permeabilite artışı, neovaskülarizasyon            |
| EGF                   | Trombosit, makrofaj                          | Kollajenaz stimülanı, Anjiyogenez, reepitelizasyon          |
| IGF-1                 | Fibroblastlar, plazma, Karaciğer hücreleri   | Proteoglikan ve kollajen sentezi, fibroblast proliferasyonu |
| TGF- $\alpha$         | Makrofaj, trombosit, Keratinositler          | Kemoatraktan, kollajen sentezi Anjiyogenez, reepitelizasyon |

Yara iyileşmesinde görev alan sitokinler ise pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler olarak ikiye ayrılır. Pro-inflamatuvar sitokinler; bu yapılar sırayla TNF-  $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 iken IL-4 ve IL-10 da anti-inflamatuvar sitokinlerdir keratinositlerin uyarılmasında, fibroblast kemotaksisi ve proliferasyonunda, ECM sentezi ve yıkımında, immün yanıtın oluşturulmasında görev alarak yara iyileşmesinde etkilidirler. İnflamatuvar evrede özellikle pro-inflamatuvar sitokinlerden IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  pik yapar. Başta IL-10 olmak üzere anti-inflamatuvar etkili sitokinlerde oluşturulan inflamasyon yanıtının sınırlandırılması ve sonlandırılmasında görev alır (Tablo 3.2) (Werner S K. W.2001).

Tablo 3.2. Yara iyileşmesinde görev alan bazı sitokinler (Werner S 2003)

| Sitokin                             | Kaynaklandığı Hücreler            | Görevi                                                    |
|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <b>Pro-inflamatuvar Sitokinler</b>  |                                   |                                                           |
| TNF- $\alpha$                       | Makrofaj                          | Kollajen sentezi                                          |
| IL-1                                | Makrofaj, keratinosit             | Kollajen sentezi, fibroblast ve keratinosit kemotaksisi   |
| IL-2                                | T- Lenfosit                       | Fibroblast infiltrasyonu                                  |
| IL-6                                | Makrofaj, nötrofil, fibroblast    | Fibroblast proliferasyonu                                 |
| IL-8                                | Makrofaj, fibroblast              | Keratinosit maturasyonu, makrofaj ve nötrofil kemotaksisi |
| <b>Anti-inflamatuvar Sitokinler</b> |                                   |                                                           |
| IL-4                                | T-lenfosit, mast hücresi, bazofil | Fibroblast ve kollajen sentezi inhibisyonu                |
| IL-10                               | T-lenfosit, makrofaj, keratinosit | Makrofaj ve nötrofil inhibisyonu                          |

#### 1.3.5.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen birçok faktör vardır. Bu faktörleri lokal ve sistemik faktörler olarak iki başlıkta ele almak mümkündür. Yara iyileşmesi, in vitro koşullarda çeşitli hücrelerin ve büyüme faktörlerinin karmaşık etkileşimiyle yönetilen karmaşık bir süreçtir. Tipik olarak, çoğu yara nispeten kısa bir zaman dilimi içinde kendi kendini onarabilir. Bununla birlikte, bu süreçte aksaklıklar meydana geldiğinde, iyileşme önemli ölçüde gecikebilir ve potansiyel olarak tedavisi zor kronik yaraların gelişmesine yol açabilir. Yara iyileşmesi olgusu, hipoksi, devam eden inflamatuvar durumlar, kronik enfeksiyonlar ve hücre dışı matrisin anormal bozulması gibi bir dizi patolojik ve biyolojik faktörden etkilenir (Gantwerker ve Hom 2011). Bakteriyel veya fungal enfeksiyonların varlığı yara iyileşmesinin süresini önemli ölçüde uzatabilir. İltihaplı hücrelerin sürekli infiltrasyonu, iltihaplı medyatörlerin bozulmasıyla birlikte, yara ortamındaki iltihaplı yanıtı yoğunlaştırabilir ve uzatabilir. Ek olarak, M1 makrofajlarının anormal polarizasyonunun yaralarda kronik iltihabın gelişiminde rol oynadığı ileri sürülmüştür (Tablo 3.3) (Verreck ve ark 2004, Li ve ark 2021). Ayrıca, bir yarada reaktif oksijen türlerinin yüksek konsantrasyonu oksidatif stresi indükleyebilir, bu da nitrik oksit ve büyüme faktörlerinin seviyelerinin azalmasına

neden olabilir ve sonuçta hücrel proliferasyonu ve fonksiyonu bozabilir (Eming ve ark 2007). Ayrıca, matris metalloproteinazların (MMP'ler) yüksek seviyeleri ve inhibitörlerindeki dengesizlik, ekstraselüler matrisin aşırı bozulmasına yol açabilir.

Bozulmuş neovaskülarizasyon, azalmış granülasyon dokusu oluşumu ve re-epitelizasyonun inhibisyonu gibi ek faktörler de refrakter yara gelişiminde rol oynayabilir (Wilkinson ve Hardman 2020). Özellikle diyabetik ülserler, vaskülopati ve nöropati nedeniyle oksijen tedarikinin tehlikeye girebileceği yaygın bir dirençli yara türünü temsil etmektedir. Ayrıca, hiperglisemik ortamın neden olduğu hücrel işlev bozukluğu, büyüme faktörlerinin ve hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 alfanın (HIF-1 alfa) biyoaktivitesini bozabilir ve böylece yara iyileşme sürecini uzatabilir (Peña ve Martin 2024). Yanık yaralanmalarında, dermal dokunun önemli ölçüde kaybı cildin yenilenme sürecini engeller. Ayrıca, artan kılcal damar geçirgenliği ve şiddetlenen enflamatuvar tepkiler, etkili yara iyileşmesinin önündeki engeller olarak tanımlanmıştır (Yao ve ark 2021, Jin ve ark 2023). Sonuç olarak, dirençli bir yaranın ortaya çıkması, katkıda bulunan birden fazla faktör arasındaki etkileşimin bir sonucudur.

Tablo 3.3. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler

| Lokal Faktörler                                                                                                                                                                                                                         | Sistemik Faktörler                                                                                                                                                                                                                                                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Doku iskemisi</li><li>• Kan akımı ve oksijenasyon</li><li>• Enfeksiyon</li><li>• Yabancı cisim</li><li>• Venöz yetmezlik</li><li>• Hematom ve ödem</li><li>• Uygulanan cerrahi teknik</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Yaş ve cinsiyet</li><li>• Beslenme</li><li>• Malnutrisyon ve obezite</li><li>• Sistemik hastalıklar:</li><li>• Alkolizm ve sigara</li><li>• Kemoterapi ve radyoterapi</li><li>• İmmünsüprese ilaçlar, steroidler</li></ul> |

#### 1.4. YANIK

Yanık, vücuttaki yapıları içeren dokunun, travmatik dış faktörlere bağlı olarak zarar görmesi sonucunda oluşan yaralanmalar için kullanılan genel bir tanım olarak kabul edilmektedir.

#### **1.4.1. Epidemiyoloji**

Dünya Geneline Global olarak yapılan istatistiklere göre 2024 yılı içerisinde 562.000 kişinin yanık tedavisi aldığı, bunlardan 7183 kişinin yanık veya duman nedeniyle inhalasyonuna bağlı durumlardan exitus olduğu gösterilmiştir (Hettiaratchy S. Ve ark 2024) Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre yaklaşık olarak 250.000 kişi yanığa bağlı nedenlerden hayat kalitesi düşmekte ve morbiditeye sebep olmaktadır (WHO Burns 2016). Türkiye İstatistik Kurumunun 1996 yılındaki araştırmasına göre yıl içinde yanık hastalarının %10 u hastanede yatarak tedavi edilmektedir. Bu hastaların %3 lük kısmı ise yanık sebebi ile hayatlarını kaybetmektedir. Yanığa bağlı yaralanma denilen travmatik durumlar için de en az 20'nin üzerinde sebep sayılabilmektedir (Yıldırım M.2020) En sık tespit edilen 3 etken sırası ile; alev kaynaklı yanıklar, sıcak kaynar su yanığı ve sıcak cisim teması ile oluşan yanıklardır (Şahin İ 2020).

Risk faktörleri arasında farklı psikiyatrik ve nörolojik hastalıklar, sosyoekonomik kötülük ve uyuşturucu ürün kullanımı gibi sebepler sayılabilmektedir (Stedman S 2006). Ayrıca çocuklar ve yaşlılar yüksek risk taşıyan popülasyon arasında kabul edilmektedir. Yaşlı nüfusun artması ile birlikte toplumda riskli popülasyonun oranı da giderek artmaktadır (Song DH. 2017) Yanık nedeni ile hastaneye gelen ve tedavi olan hastaların %18'i 65 yaş üzerinde komorbid hastalardır (Herndon DN 2017, Lumenta DB ve ark 2008). Yanığa bağlı nedenlerden dolayı hayatını kaybetme oranı diğer yaş grupları için %0,7 ile %1,3 arasındayken 65 yaş üstü yaşlı bireylerde bu oran %5,1 seviyelerine kadar çıkabilmektedir. Ayrıca Yaşlı popülasyon için yanık travması, diğer yaş gruplarına göre daha ölümcül ve komplikasyonlara açık ağır ve dönüşümsüz sonuçlara yol açabilmektedir (Harats M ve ark 2019).

#### **1.4.2. Yanık Patofizyolojisi**

Sebepler olan etkenlerin niteliklerine ve şiddetine bağlı yanık yaralanmaları, ilk önce hasarlanan dokuda, sonra çevre komşu dokularda ve enson da dermis komponentinin zarar görmesi ile sonuçlanmaktadır. Patofizyolojik olaylar kaskadı süreçle başlamaktadır. Yanık sonucunda inflamatuvar mediyatörler salınarak ve denatürasyonun reverse edilmesi süreci hızlıca vücut tarafından başlatılır (Harats M ve ark 2019).

#### 1.4.2.1. Yanıkta Lokal Etkiler

Isısal ve sıcak yaralanmalarında ciltte öncelikle epidermis, dermis, subkutan dokular üzerindeki şiddetli iskemi, nekroz ve hipoksi ile beraber yoğun ve şok edici koagülasyon nekrozu ortaya çıkar. Isının derecesi, temas süresi, temas alanı ve farklı etkenlerin niteliklerine göre nekroz alanı ve yapısı değişiklik göstermektedir (Şimdivar N 2013). Jackson tarafından 1952 yılı içerisinde tanımlanan ve yanık zonu olarak ifade edilen dairesel bölgeler ile günümüzde de kullanılmaktadır. Bu sınıflandırma yanık patofizyolojisinin temel taşıını meydana getirmektedir. Bu sınıflandırmaya göre yanık; koagülasyon zonu, hiperemi zonu ve staz zonu olarak üç farklı alanda incelenmektedir (Şimşek ME 2013). Termal nedenle ile ilk temas eden alan koagülasyon zonu olarak tanımlanır. Bu zon, hasarın en çok olduğu ve yoğun nekrozun olduğu bir yapı ile karakterizedir. Bu zonun üzerinde bulunan hücreler irreversibl olarak zarar görmektedir (Şimşek ME 2013). Koagülasyon zonunun hafif dışındaki bölge ise, staz zonu olarak isimlenir. İskemi, en çok bu bölgede üzerinde izlenir. Staz zonu, nekrotik alanın hemen yakınında bulunmakta olup doku kanlanması bu alanda büyük şekilde bozulmaktadır. Yanıkla beraber travmaya metabolik ve endokrin yanıtın aktivasyonu ile Araşidonik asit aktivasyonu ile tromboksan A2 seviyeleri yüksek düzeylere çıkmaktadır. Bu duruma bağlı da hücre dışı ortamda akışkanlık ve geçirgenlikte azalma ve yoğun ödemde izlenir. İyi ve ivedi bir tedavi ve uygun faktörlerin Staz zonu üzerinde uygulanması ile ile dokunun oksijenizasyonu ve yaşaması mümkündür. Staz zonunun küçülmesi için de Tromboksan A2 inhibitörleri ve bradikinin antagonistleri dokunun beslenmesini sağlayarak ve ödemin azalmasına yol açarlar. Yanık sonrası travmaya cevap olarak oluşan mikrosirkülasyon esnasında yaşanan travma sonrası birkaç gün içerisinde ivedilikle lökositler ve trombositler hasarlı alana doğru migrate olurlar. Buna bağlı olarak da aktif leşen koagülasyon sistemi ve kompleman sistemiyle serbest oksijen radikalleri, vazoaktif aminler, prostaglandinler, sitokinler, kininler gibi mediyatörler sekrete olurlar. Yanık alanına ilk gelen yapılar nötrofillerdir. Başlayan reaksiyon zinciriyle beraber patofizyolojik fazlar aktive olur. Dokunun ivedi olarak kanlanmasının sağlanması için ise 1-2 gün içerisinde tüm hücreler alana sırasıyla göç ederler. Diğer zon olan Hiperemi zonu ise, yanık bölgesinin en dışında kalan bölge olup. Bu zonunda vazodilatasyon ve ödem mevcuttur. Yeni travma olmadıkça 7 ila 10 gün içinde bu alan iyileşebilmektedir (Kaymaz MB 2018).

Yanığın olduğu alanda ortaya çıkan inflamatuvar yanıt ise, ardışık biyokimyasal olaylar tetiklemesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Öncelikle tromboksan A2 etkisiyle olan ve kanamanın durmasını sağlayan vazokonstriksiyonun ardından fosfolipitler ve aktif fosfolipaz A araşidonik aside hızlıca dönüşür. Araşidonik asit kaskadının başlamasıyla birlikte lökotrien ve prostanoidler ortama sekrete olur serotonin, histamin gibi ürünler nedeniyle vazodilatasyon sonucunda hücre dışına çıkan kayıp sıvı nedeniyle ile ödem meydana gelmektedir (Nişancı M, Öztürk S 2010). Ardından lökositlerin ve trombositlerin vasküler çepere invazyonu ile alan üstünde hızlıca tromboz oluşur. Hemostazın sağlanması ile birlikte lökositlerin ekstrasellüler alana sızması ile beraber zarar gören hücrelere ve mikroorganizmalara doğru bir göç başlar. Aktive olmuş plateletler, makrofajların ve fibroblastların aktifleşmesini sağlayacak olan sitokinleri üreten ilk yapı olarak karşımıza çıkmaktadır. Ortaya çıkan geçici fibrin ağı ile birlikte ölü hücreler ve mikroorganizmalar alandaki yaraya hızlıca Hapsedilirler (Arturson G ,1996).

#### **1.4.2.2. Yanıkta Sistemik Etkiler**

İmmun yanıtının başlamasında rol allan kompleman ürünleri (C5a ve C3a) ve lökositler kemotaktik olarak kabul edilmekte ve önem taşımaktadırlar. Lökositler inflamasyonlu bölgeye ilk gelen ve immün yanıtının tetiklenmesine yol açan mediatörler olarak görülmektedir. Nötrofiller ise yanık travması sonrası yaklaşık birkaç saat içerisinde makrofajlarla yer değiştirmekte ve yanık alanına etki yapmaya başlamaktadır. Makrofajlar ise yanığın iyileşmesinde büyük etkisi bulunan immunitiyi yöneten sitokinler için en ciddi kaynakların başında gelmektedir (Sparkes BG. 1997).

Sitokin grubu olarak da İnterlökinler yanıkta karşımıza çıkmaktadır. Bunlar da T lenfositleri ve makrofajlar yardımıyla ile ortama salınan sinyal protein molekülleri olarak gösterilmektedir. Yanıkta en sık tespit edilen gruplar IL-1, 2, 6 ve 8' dir. Akut inflamasyonda aktif olan IL-1 olup, diğer zararlı interlökinlerin sekresyonunu azaltmakta ve nötrofilleri tetiklemektedir. Yanığın ardından seviyeleri ivedi şekilde vücutta en yüksek seviyelere çıkmaktadır. Bu süreç, yanık ve ardında yara zonu tamamıyla düzelene kadar devam etmektedir (Ferreti M ve ark 1994).

Tablo 4.1. Yanıkta ortaya çıkan Interlökinler

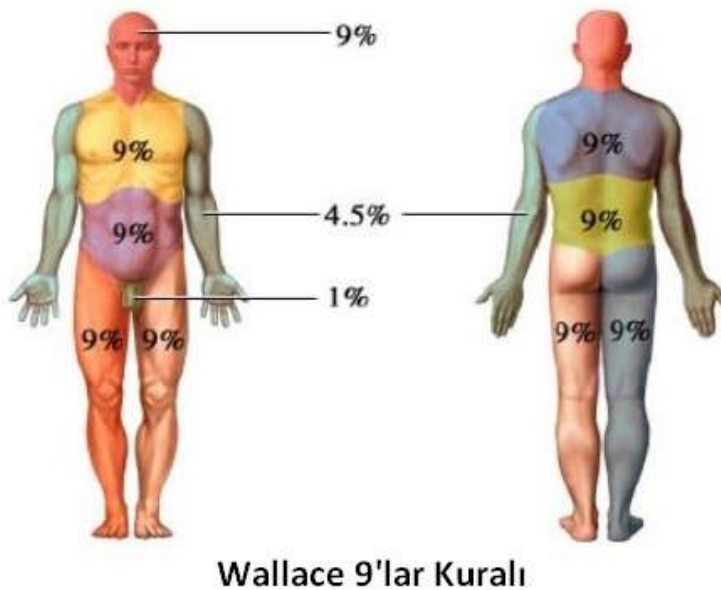
| Sitokin | İmmun Sistem             | Diğer Hücreler                       | Temel Hedefler   | Temel Fonksiyonlar                    |
|---------|--------------------------|--------------------------------------|------------------|---------------------------------------|
| IL-1    | B hücreleri, Makrofajlar | Fibroblastlar ve Endotelyal Hücreler | T ve B hücreleri | Lenfosit ve makrofajların aktivasyonu |
| IL-2    | T hücreleri              | T hücreleri                          | T hücreleri      | Lenfosit ve makrofajların aktivasyonu |

### 1.4.3. Yanığa Bağlı Yaralanmaların Sınıflandırılması

Yanık alanı travmatik bölgenin histopatolojik incelenmesi ile hasarlı dokunun alan çapına ve invazyon derinliğine göre iki farklı şekilde sınıflandırılmaktadır.

#### 1.4.3.1. Yanık Genişliğine Göre

Yanıkta temas eden alanın genişliğinin tespiti, verilmesi gerekli sıvı miktarı, yönetiminin uygun olarak yapılabilmesi için büyük önem taşımaktadır. Erişkin toplam vücut yüzey alanının (TVYA) hesaplanabilmesi için “Wallace dokuzlar kuralı” adı verilen bir sistem kullanılmaktadır (Şekil 4.1.) (Bittner E ve ark 2015).



Şekil 4.1. Wallace Dokuzlar kuralı

#### 1.4.3.2. Yanık Derinliğine Göre

Histopatolojik olarak hasarlı olan alandaki invazyon derinliğine bakılarak yapılan bu klasifikasyonun tam olarak yapılabilmesi için, öncelikle histolojik inceleme ve eksizyonel tam kat biyopsiye gerek duyulmaktadır. Eksizyonel Biyopsi ve histopatolojik inceleme ile beraber etkilenen alanın fiziksel özellikleri ile yandaş semptomların değerlendirilmesi faydalı olmaktadır. Deri alanı üzerinde oluşan termal yaralanmalar, histopatolojik açıdan tabakaların incelenmesi ile isimlendirilmektedir.

1. Derece yanıklar epidermiste sınırlı iken hasar dermise ulaşırsa 2. Derece yanık olarak değerlendirilip, Yüzeysel papiller dermişteki yanıklar yüzeysel 2. derece yanık olarak değerlendirilir. İkinci haftaya ulaşıldığında ise epidermis alttaki kıl folikülleri ve ciltteki salgı bezlerini de içerir şekilde iyileşme tamamlamaktadır.

Derin 2. derece yanık olarak da Retiküler dermise inern yanıklar isimlendirilmektedir. Bu yanıklarda kıl ve cilt salgı bezlerinin de da hasarlanması mevcuttur. Yara yönetimi ve tedavisi kapsamında, yanık tedavinin en zorlayıcı olduğu alan ve hasar olarak kabul edilmektedir. Pek çok tecrübeli cerrahın dahi erken dönemdeki değerlendirmelerine göre yapmış oldukları 3. hafta içerisinde iyileşmenin tamamlanabilmesine yönelik tahminleri %50-70 doğruluk oranlarına sahiptir. 3. Haftaya rağmen iyileşmenin olamadığı yanıklarda nedbe ve iz gibi kötü sonuçlar kaçınılmaz olabilmektedir (Herndon DN 2017). Cildin tüm katlarını ve cilt altı dokuyu da içeren ve hayati risk teşkil eden yanıklar ise 3. derece yanık adı verilmektedir. Bu yanıklarda sinir uçları da yandığı için ağrı olmaz, deri vasküler yapılar tam hasarlı olduğundan dolaylı kuru görünümde olup nedbe yoğun olarak mevcuttur. Bu tip yanıklar cerrahi müdahale yapılmadığı müddetçe skar gelişimi, sepsis ve mortalite riski içermektedir. Eğer Yanık kas, tendon ve kemikleri de içerecek şekilde yanmışsa buna da 4. derece yanık denir ve tedavisinde kapsamlı bir cerrahi ve debridel tedavi uygulanmalıdır (Nişancı M 2010).

#### 1.4.4. Yanığın Tedavisi

Her yanık hastası, İleri Travma Yaşam Desteği ilkelerine uyumlu olarak “ABCDE” sırasına göre yapılmalıdır. Yanığa bağlı yaralanmalarda en sık ve yaygın olan yöntem Parkland Formülü’dür (Alvarado R ve ark 2009). (Parkland: 4 x hastanın kilosu(kg) x yanık yüzdesi). Yanık nedeni ile hastaneye başvuran hastalarda, yaranın tedavi periyodunu kısaltmak için erken temizlik, yıkama ve doku grefti ile onarım gold standart tedavi yöntemidir (Tablo 4.2.)

Tablo 4.2.Yanığın tedavi yöntemleri ve dezavantajları

|                    |                                                                                                                                                        |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Allogreft          | Ciddi enfeksiyon bulaş riski taşıması. Kısıtlı miktarda vaskülarizasyon. Akut- kronik rejeksiyon riski taşıması. Kısıtlı miktarda ulaşılabilir olması. |
| Otogreft           | Kullanılabilir miktar düşüklüğünün olması. Cerrahi müdahaleyi kısıtlayabilen hasta durumu. Donör saha morbiditesi.                                     |
| Epitelyal Otogreft | Dayanıklı olmaması.                                                                                                                                    |
| Ksenogreft         | Zoonotik hastalık bulaş riski (tarama testi olmayabilen). Şiddetli hipersensitivite reaksiyonu geliştirebilmesi. Görece yüksek oranda akut rejeksiyon. |
| Kök Hücre Terapisi | Malignite potansiyeli. Kısıtlı dökümantasyon.                                                                                                          |
| Amniyon            | Dayanksız olması. Kısıtlı ulaşılabilir olması. Yüksek maliyetli olması.                                                                                |
| Doku iskelesi      | Yüksek maliyetli olması. Epitelyal bariyer yokluğu. Yavaş vaskülarizasyon.                                                                             |
| Büyüme Faktörü     | Yüksek maliyetli olması. Kısıtlı belgelendirme.                                                                                                        |

Yaşlı popülasyon içerisinde inflamatuvar yanıt kapsamında yaşanan değişimler, yanığın iyileşmesinde gecikmelere sebep olmaktadır. Yaşanan gecikmenin sonucunda genç popülasyona oranla daha uzun süreçte iyileşme gözlenmektedir (Sabancıoğullarından S 2016)

#### 1.4.4.1. Yanığın Topikal Tedavisi

Yanık tedavisinde çok farklı topikal antibakteriyel ürünler mevcuttur. Bunlar iki gruba ayrılır: güçlü ve az etkili olanlar şeklindedir. %1 gümüş sülfadiazin en sık yanık ünitelerinde en sık seçilen ve kullanılan ürün olup gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalara karşı efektifdir ve Orta derecede eskar perfüzyonunaa sahip olup ağrı yapmadan uygulanır ve sadece tam kat travmatik yanıklarda kullanılmalıdır. Diğer bir ürün olan Mafenid asetat ise, geniş bir alanda antibakteriyel özelliklere hasıl, global kullanılan topikal bir üründür. Yanmış dokuya hızlıca nüfuz eder ve ancak uygulanması ağırlı olup vücutta metabolik asidoza yol açabilir (M. K. Arslan 2003).

#### **1.4.4.2. Birinci Derece Yanıklar**

Yüzeyel yanıklardır. En sık ani gaz alevlenmesi şeklinde olur. Sadece epidermin travma gördüğü bu tip yanıklarda en önemli semptom kuru ve susuz bir cilt, hafif kaşıntı, ağrı ve kızarıklıktır. Bu tip yanıklarda oluşan inflamasyon genelde 3-4 gün içinde izsiz iyileşir. Tedavi için UV koruyucu kremler, anestezi kremler, 1 antimikrobiyal topikaller ve antihistaminik ürünler kullanılır.

#### **1.4.4.3. İkinci Derece Yüzeysel Yanıklar**

Bakteri çoğalmasının azaltılması ve epitelizasyonun yüksek seviyelere çıkarmak için topikal antimikrobiyal ürünlerin (gümüş sülfadiazin, mafenid asetat, furantoin ve klindamisin kremler) kullanılması gerekir. Kullanılan yara örtüleri ise yara alanının iyileşmesine uygun ortamı sağlarlar. Yara örtülerini sınıflandıracak olursak; transparan örtüler, hidrokolloid bantlar, hidrofiber tüller, köpük jelli örtüler, alginat örtüler, antibakteriyel örtüler, kompresyon bandajları, özel emici-yapışmaz yara örtüleri vb. olarak gruplandırılabilirler.

#### **1.4.4.4. İkinci Derece Derin ve Üçüncü Derece Yanıklar**

Bu tip yanıklarda Retiküler dermişteki hasar darttığı için, iyileşme periyodu uzamaktadır. 1 ayı geçen sürelerde ise dokuda nedbeli doku ve yara çekilmesi ve kasılması ile fibröz meydana gelerek hareket için belirli kayıpların yaşanmasına yol açmaktadır. Bu tarz durumlarda erken eksizyon ve split thickness greft ile yanığın kapatılması en uygun tedavi yöntemleridir (Charles K. 2007).

#### **1.4.4.5. Dördüncü Derece Yanıklar**

Geri dönüşümsüz olan travmatik yanık tipleridir. Bu tarz Yanığa bağlı travmalarda kullanılan tedavi yöntemleri arasında greftler, mezenkimal kök hücre terapisi, platelet zengin plazma ve epidermal growth faktörleri sayılabilir. Bazı daha ciddi yanık olgularında ise amputasyon kaçınılmaz sonuç olmaktadır.

#### **1.4.4.6. Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler**

Yaraların iyileşmesi sürecine etki etmekte olan faktörler sistemik ve lokal faktörler olarak iki ayrı grupta incelenebilmektedir

Tablo 4.3. Yaraların iyileşmesine etkisi olan faktörler

| <b>SİSTEMİK FAKTÖRLER</b>                     | <b>LOKAL FAKTÖRLER</b>  |
|-----------------------------------------------|-------------------------|
| Respiratuar hastalıklar                       | Doku vaskülarizasyonu   |
| Endokrin hastalıklar (diyabet, hipotiroidizm) | Yabancı cisim varlığı   |
| Metabolik hastalıklar (üremi, anemi)          | Dokunun oksijenizasyonu |
| Kardiyovasküler hastalıklar                   | Ödem                    |
| Organ yetmezliği                              | Hematom                 |
| Sepsis                                        |                         |
| Sigara                                        |                         |
| Kortikosteroid                                |                         |
| İleri yaş                                     |                         |
| Malnutrisyon                                  |                         |

Yanık tedavisinin için, yaraların iyileşmesine etkiyen faktörlerin kapsamlı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Yaraların iyileşme süresinin uzamasına yol açan en önemli sebep yaranın genişliğidir. Yaraları iyileşirken vücutta oluşan travmaya metabolik ve endokrin yanıtlar ve engelleyemedikleri şok, sepsis ya da inflamasyon durumları da bağışıklık sistemini derinden etkiler ve iyileşmenin aşamalarını olumsuz olarak etkiler. Yapılan literatür taramasında derin ve geniş yanıklar için enfeksiyona yol açan alanın eksizyonunun, iyileşme sürecini olumlu yönde etkileyebileceği gösterilmiştir.

Bunun yanı sıra. Son zamanlarda yaygınlaşan Yara örtüleri, yaranın iyileşebilmesi için dengeyi sağlamakta ve hücre yenilenmesinin daha ivedi ve sağlam gerçekleşmesine yardımcı olmaktadır (S. Guo 2010, GS. Lazarus ve ark 1994).

Ayrıca vücuda ve morbiditeye bağlı faktörler de yanığın iyileşme peryoduna etki edebilmektedir. Yaşlı hastalarda metabolizmanın yavaş ve yenilenmenin geç olması nedeniyle yara iyileşmesine gecikmeler yaşanmaktadır. Burda öncelik ise makrofajların ve lenfositlerin degranülasyonunda yaşanan gecikme ve aksaklıklardır. Bunun yanı sıra gecikmeye neden faktörler arasında ve dokunun mekanik direncini sağlayan kolajen miktarında azalmalar ve epitalizasyondaki azalmalar sayılabilmektedir (Chai J ve ark 1999).

Hastalara yeterli miktarda sıvı elektrolit tedavisi uygulanmadığı ve kanın kontrolünün sağlanamadığı durumlarda sepsis, şok ve mortalite kaçınılmaz bir son olmaktadır. Vücut hücreleri için en önemli sıvıların basında tabii ki intrasellüler su gelmektedir. Su çoğu enzimin yapısında olmasının yanı sıra, onarımda ve iyileşmede görevli olan enzimlerin en önemli ko-aktivatörü olarak hayati bir öneme sahiptir. Suyun yanı sıra elektrolit, sitokin ile growth faktörleri de bağışıklık hücrelerinin dokuya invazyonunu kolay hale getirmektedir (Nursal TZ ve ark 1999).

Ayrıca literatürde yayınlarda arjinin, glutamin, C, D ve E vitaminleri, selenyum, çinko gibi antioksidanları içeren nutrisyonel gıdalar, hastaların iyileşme periyodunu kısaltmaktadır. Yaraların iyileşmesi için C vitamini antioksidan özelliğinin yanı sıra fibroblastların gelişmesinde ve vasküler süreçte dokuya kolajen sağlanmasında da görev yapmaktadır. Ayrıca prolin ve lizin aminoasitlerinin hidroksilasyonunu ve seramidinler için de C vitamininin kofaktör olarak görev yapmaktadır. E vitamini gibi Yağda çözünen vitaminler de yanık hasarı bulunan alanda serbest radikalleri azaltmasının yanı sıra, olası enfeksiyonların da önüne geçtiği belirtilmektedir. Ayrıca E vitamininin epitelizasyonda kolajen liflerinin sentezlenmesinde büyük kolaylıklar sağladığı da ispatlanmıştır (Blass SC ve ark 2012).

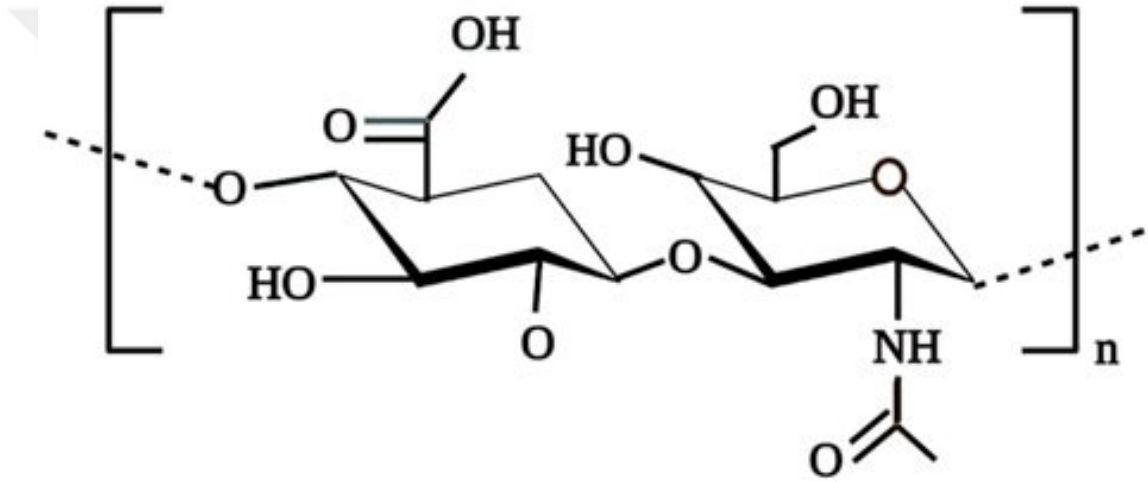
## **1.5.YARA ÖRTÜSÜ HAZIRLAMADA KULLANILAN DOĞAL ÜRÜNLE**

### **1.5.1. Hyaluronik asit (HA)**

Hyaluronik asit, cilt ile uyumluluğu nedeniyle çoğunlukla yara örtülerinin hazırlanmasında kullanılan benzersiz yapıda bir polimerdir. Esas olarak 1,3-glikozidik bağlarla birbirine bağlanmış tekrarlayan disakkarit birimlerinden oluşmaktadır (Graça ve ark 2020). HA, karboksi ve hidroksil grupları gibi hidrofilik fonksiyonel grupları nedeniyle yüksek suda çözünürlüğe sahiptir, oldukça viskoz çözeltiler oluşturabilir ve cilde yapışma özelliklerine sahiptir. Ayrıca yara iyileşmesini ve hücre çoğalma aktivitesini destekleyen üstün sitoprotektif etkiye sahiptir. Düşük moleküler ağırlıklı Hyaluronik asitise hızlı bozunma oranına sahiptir. Bu nedenle, esas olarak akut yara durumunda kullanılan anında ilaç salınımlı hidrojel üretmek için kullanılır ve herhangi bir doğal koruyucu ve yara iyileştirici/hücre çoğaltma aktivitesine sahip değildir (Neuman ve ark 2015). Ayrıca, Hyaluronik asitbiyouyumlu, biyolojik olarak

parçalanabilir ve doğada daha az immünojeniktir, bu da onu yara iyileşmesinde kullanılan örtü için daha uyumlu hale getirmektedir.

Hyaluronik asit (HA) birçok doku ve sıvıda bulunurken, en fazla vücutta eklem kıkırdığında ve sinovyal sıvıda bulunur. HA içeriği farklı eklemlerde ve türlerde büyük ölçüde değişir. HA, sinoviyositler, fibroblastlar ve kondrositler tarafından üretilen, belirgin fiziko-kimyasal özelliklere sahip, sülfatlanmamış, doğal olarak oluşan bir protein olmayan glikozaminoglikandır. HA ayrıca oftalmik, dermal, yanıklar, yara onarımı ve diğer sağlık sorunlarının tedavisinde de kullanılır (Gupta 2019) (Resim 5.1).



Şekil 5.1. Hyaluronik Asitin Şematik Görünümü (Gill D.1998)

1990'ların başlarında, HA'yı benzil alkolle (bir esterleşme süreci) bağlamanın bir yolu keşfedilmiş ve bu da HA'nın işlevini kaybetmeden diğer formlarda (insan vücudunda kullanım için) yönetilebilir hale getirmiştir. O zamandan beri, HA ve türevleri çeşitli etiyolojilerdeki dermal ve subkutan yaraları tedavi etmek için kullanılmaktadır (Voigt J. & Driver 2012). HA, insan vücudunda bağ dokusu, epitel ve sinir dokularında doğal olarak bulunan polisakkaritlerdir. HA, ayrıca hücre çoğalması ve göçünün bir parçası olarak yara iyileşmesinde iki çok önemli işlev sağlar. Birincisi, HA yaranın erken evrelerinde geçici bir yapı sağlar (Gill D.1998). Bu yapı besin maddelerinin difüzyonunu kolaylaştırır ve yaranın hücre metabolizmasından kaynaklanan atık ürünlerden kurtulmasına yardımcı olur. İkincisi ve en önemlisi, HA keratinosit (epidermin hücre tipi veya cildin en dış tabakası) çoğalması ve göçünde yakından rol oynar. Sonuç olarak, yara olgunlaştıkça bu geçici yapı, protein

molekülleri proteoglikanların (dokuya hidrasyon ve şişme basıncı sağlayarak basınç kuvvetlerine dayanmasını sağlayan) ve kollajenin eklenmesiyle değiştirilir (Bourguignon LYW ve ark 2006).

Ayrıca, HA higroskopik bir makromolekül olduğundan, oldukça ozmotiktir ve yara onarımı dönemlerinde ve bununla ilişkili inflamatuvar süreçte (HA seviyeleri yükseldiğinde) hidrasyonun kontrol edilmesine olanak tanır. Bu süreç sırasında yüksek HA seviyelerinin varlığı, hücre çoğalması ve göçü için de özellikle önemlidir. HA'nın varlığı, hücrenin hücre dışı matrise tutunması zayıflar, ayrılmaya izin verir ve hücre göçünü ve bölünmesini kolaylaştırır (Culp LA ve ark 1996).

Granülasyon dokusu olgunlaştıkça HA parçalanır ve seviyeler düştükçe daha fazla protein molekülü üretilir. Proteinler HA'ya bağlanarak proteoglikan haline gelir ve doku dayanıklılığını artırmak için iyileşme sürecini sürdürür (King SR ve ark 1991).

#### **1.5.1.1. HA türevi nanofiberlerin tıbbi uygulaması**

Günümüzde, biyomühendislik ve biyomedikal araştırmalar, insan dokularının çoğunluğunun (kıkırdak, kemik, deri, vb.) düzenli hiyerarşik yapıya sahip nanofibröz formda bulunması nedeniyle biyomoleküllerden türetilen nanofibröz yapılar tasarlamak üzerine odaklanmaktadır (Khadka ve Haynie 2012 ; Selyanin ve ark., 2015 ). HA, ECM'nin merkezi bir bileşeni olduğundan; HA tabanlı elektroçirilmiş NF, ECM gibi gözenekliliğe, yüzey alanına ve çapa sahiptir ve doku mühendisliği, yara iyileşmesi ve lokalize ilaç salınımı alanlarında ilerleme için umut verici bir yaklaşım olabilir. Burada, yeni HA tabanlı doku implantları ve yara pansumanları tasarlamadaki son gelişmeler sıralanmaktadır.

#### **1.5.1.2. Yara örtüsü olarak HA nanofiberler:**

Biyomedikal araştırmalar, maliyet-etkin yara iyileştirme terapisini teşvik etmek için sürekli olarak yeni fırsatlar aramaktadır ( Veith ve ark. 2019 ). İyileşme sürecinin iltihaplı fazı sırasında, nötrofillerin sınırlı sayısı ve kısa yaşam süreleri, yaraları bakteriyel saldırılara karşı oldukça duyarlı hale getirir ve bu da iyileşme sürecinin etkinliğini sınırlar ( Bjarnsholt 2013). İdeal yara pansumanları uygun nem seviyelerini korumalı, gaz değişimine izin vermeli ve hücre büyümesini ve farklılaşmasını teşvik etmek için toksik metabolitleri ve fazla eksüdayı emmelidir; bu da nihayetinde doğal iyileşme sürecine yardımcı olur ( Barbosa ve ark., 2016 ; Debone

ve ark. 2019 ). Biyoaktivite ve biyolojik olarak parçalanabilirliğin olmaması, rahatsız edici temizliği, değiştirme sırasında hemostaz ve Potansiyel alerjenite ve immünojenisite kaynağı, geleneksel yara pansumanlarını klinik olarak daha az arzu edilir hale getirir ( Tang ve ark. 2019, Ying ve ark. 2019 ). Bu nedenle, NF membranlar gibi tasarlanmış biyomalzemeler, ECM'ye özdeş esnek, büyük, gözenekli, 3B ağırları sayesinde biyolojik işlevselleştirmeyi ve kimyasal modifikasyonları teşvik ederek onları modern yara pansumanları için ideal bir aday haline getirdiği için ilgi görmüştür ( Chen ve ark. 2018). Dahası, biyolojik olarak parçalanabilen, biyopolimerlerden (örn. fibroin, HA, kitosan) türetilen NF'ler, Şekil 3'te gösterildiği gibi hücre yapışmasını, göçünü ve rejenerasyonunu artıran biyomoleküllerin dahil edilmesine ve lokalize salınımına izin verir ; böylece yara bakımı yönetimindeki uygulamaları büyük ölçüde genişler ( Miguel ve ark. 2019 , Jain ve ark. 2020 , Stojanov ve Berlec 2020 ).

### **1.5.2. Kollajen (KL)**

Kollajenler vücutta en çok bulunan proteinlerdir. İyileşen yarada, bu kollajenler fibroblastlar gibi hücreler tarafından sentezlenir ve karmaşık morfolojilere modifiye edilir. Kollajenin türü, miktarı ve organizasyonu iyileşen yarada değişir ve iyileşen cildin gerilme mukavemetini belirler. Kollajen III, yara iyileşmesinin erken aşamalarında ilk sentezlenen kollajendir ve yerini baskın deri kollajeni olan kollajen I'e bırakır. Granülasyon dokusu oluşumu sırasında kollajenin başlangıçtaki rastgele birikimi, lizil oksidaz enziminin indüklediği kovalent çapraz bağlanma ile daha da artar. Bu süreç kollajeni, gerilme mukavemeti restorasyonu için yeniden yönlendirilen karmaşık yapılar halinde olgunlaştırır. Kollajen yeniden şekillenmesi yara kapandıktan sonra aylarca devam eder ve tüm süreçler herhangi bir pertürbasyon (bozunma) olmadan ilerlerse onarılan dokunun gerilme mukavemeti normal dokunun yaklaşık %80-85'ine yükselir. Deride, fibril ilişkili kollajenler olan tip I, III ve V en yaygın olanlarıdır ve bunları fibril ilişkili kollajenler tip XII, XIV, XVI ve VI takip eder. Fibril olmayan kollajenler tip IV, XVIII derinin bazal membranında bulunur (Sorushanova A ve ark 2019, Elgharably H ve ark 2013).

Kollajen, dokuların mekanik gücüne ve elastikiyetine katkıda bulunur ve hücrel bağlanma, çoğalma ve farklılaşma için doğal bir substrat olarak görev yapar. MMP-2'nin mikroRNA'lar aracılığıyla biyofilm aracılı up-regülasyonu, yarada kollajenolitik bir ortam yaratarak kollajen I/kollajen III oranını keskin bir şekilde azaltır ve onarılan cildin biyomekanik özelliklerini tehlikeye atarak muhtemelen

onarılan cildi yara nüksüne karşı savunmasız hale getirir. Kollajen yapısı ve işlevi üzerine yapılan bir çalışmada, normal, yaralı dokuda kollajen fibrilinin kapalı bir konformasyonda olduğu ve yaralanmayı takiben kana maruz kaldığında yara iyileşme sürecini destekleyebilecek hücre ve ligand bağlama bölgelerini açığa çıkardığını gösterilmiştir (Gould L.J. 2016, Ricard-Blum 2011).

İnflamasyon, normal yara iyileşmesi sürecinde kritik bir adımdır, kollajen ve ECM sentezleyen fibroblastların çoğalmasını sağlar. İnflamasyonun zamanında çözülmesi de normal yara iyileşmesinde aynı derecede önemlidir. İnflamasyonun çözülmesi, dengeli pro ve anti-inflamatuar yanıtlar tarafından yönlendirilen aktif bir süreçtir. Stabilize kollajen matrisi kullanılarak yapılan bir çalışma, kollajenin geçici olan ve yara iyileşmesinin ilerlemesine yol açmak için hızla çözülen sağlam ve keskin bir enflamatuar yanıt oluşturduğunu göstermiştir. Ayrıca, mikroRNA sinyali yoluyla anti-enflamatuar, pro-anjiyojenik yara makrofaj fenotipini teşvik etmede kollajenin önemli bir rolü olduğu da belirlenmiştir (Wenzel D.2006).

Fizyolojik (gelişim, yara iyileşmesi) ve patolojik (kanser) süreçlerin kritik bir bileşeni olan anjiyogenez, uyarıcıların ve inhibitörlerin dengeli aktivitesi ile sıkı bir şekilde düzenlenir. ECM'nin yeniden şekillenmesi vasküler gelişim için kritik destek sağlar ve kollajenler bu süreçte önemli bir rol oynar. Kollajenin türüne bağlı olarak rol anjiyogenezin bir destekleyicisi veya inhibitörü olabilir. Kollajen I'in spesifik integrin reseptörlerinin bağlanması yoluyla in vitro ve in vivo anjiyogenezi güçlü bir şekilde uyardığı bilinmektedir. Spesifik olarak, kollajen I'in C-propeptid parçası endotel hücrelerini işe alarak iyileşen yarada anjiyogenezi potansiyel olarak tetiklemektedir (Mathew-Steiner ve ark 2021, El Masry ve ark 2019).

Kollajenler, büyüme faktörlerini stabilize etmenin ve hücre yapışmasını ve hücreler ile ECM arasındaki sinyalleşmeyi düzenlemenin yanı sıra cilt esnekliğine katkıda bulunan ECM'nin yapısal bir bileşenidir. Yara iyileşmesi sürecinde, yara dokusu yıllar içinde yeniden şekillenirken, yetişkin yara 'normal' bir yara izi oluşumu ile iyileşir. Yara dokusu, normal cildin orijinal gerilme mukavemetinin %50-80'i kadarını geri kazanır, ancak işlevsel olarak eksik olabilir. Yara izi ile yara almamış deri arasındaki temel fark, kollajen fibrillerinin yoğunluğu, lif boyutu ve oryantasyonu gibi görünmektedir (Das A ve ark 2019).

### **1.5.3. Epidermal Growth Factor (EGF)**

Epidermal Growth Factor (EGF), hücre büyümesi, farklılaşması ve hayatta kalması üzerinde önemli rol oynayan bir büyüme faktörüdür. EGF, ilk olarak 1962 yılında Stanley Cohen tarafından keşfedilmiştir ve bu keşif, Cohen'e Nobel Ödülü kazandırmıştır (Gurtner GC ve ark 2008, Cohen S 1973).

#### **1.5.3.1 EGF'nin Tarihçesi ve Keşfi**

EGF'nin keşfi, 1950'lerde Stanley Cohen ve Rita Levi-Montalcini tarafından yapılan çalışmalara dayanır. Levi-Montalcini, tavuk embriyolarında sinir büyüme faktörünü (NGF) incelerken, Cohen bu çalışmalar sırasında fare tükürük bezlerinden elde edilen bir protein üzerinde çalışmıştır. Stanley Cohen, fare tükürük bezlerinden izole ettiği bu proteini saflaştırmış ve bu proteinin fare epidermisinde hızlı hücre proliferasyonunu indüklediğini gözlemlemiştir. Daha sonra bu proteini “epidermal büyüme faktörü” olarak adlandırmıştır. EGF'nin keşfi, hücresel büyüme ve farklılaşma süreçlerinin anlaşılmasında önemli bir dönüm noktası olmuştur (Carpenter G 1976, Cohen S 1987, Normanno N ve ark 2006).

#### **1.5.3.2. EGF'nin Biyokimyasal Özellikleri**

EGF, 53 amino asitlik bir polipeptid olup, moleküler ağırlığı yaklaşık 6 kDa'dır. EGF, hücre yüzeyindeki EGF reseptörüne (EGFR) bağlanarak hücresel sinyal yollarını aktive eder.

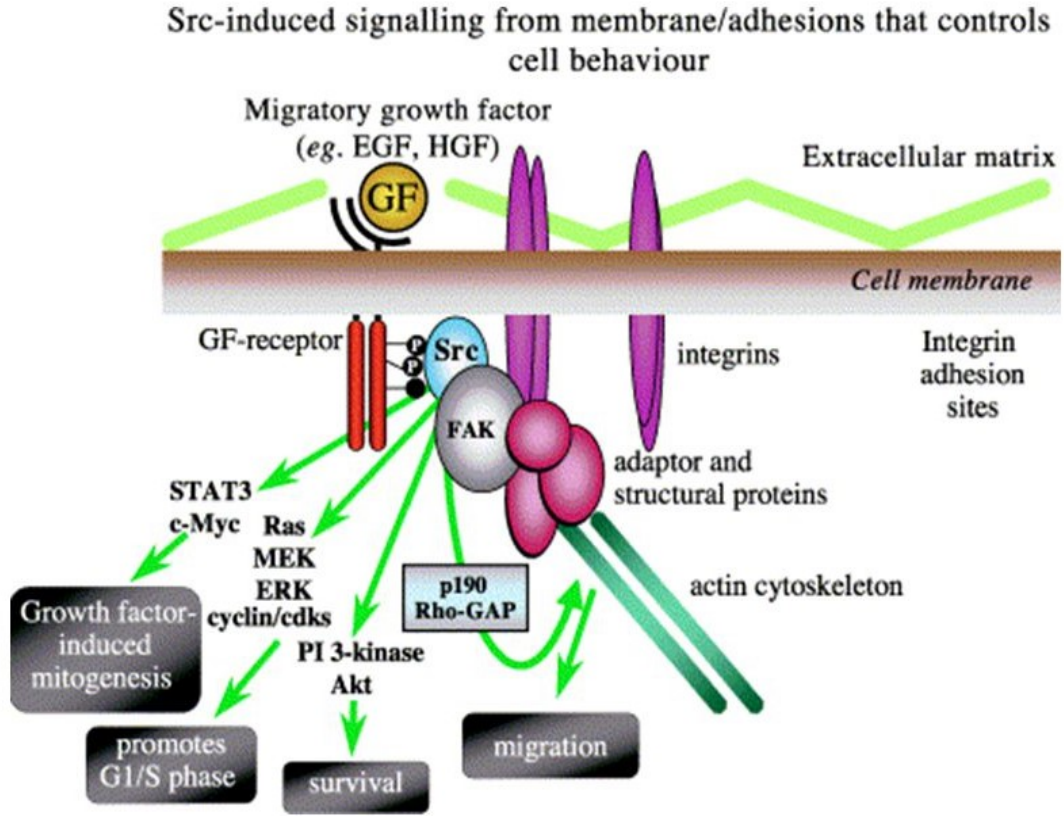
#### **1.5.3.3. EGF'nin Hücresel Etkileri**

EGF, hücresel proliferasyon, migrasyon ve farklılaşma süreçlerini düzenler. EGF, hücre yüzeyindeki EGFR'ye bağlandığında, reseptör tirozin kinaz aktivitesini tetikleyerek hücre içi sinyal yollarını aktive eder ve hücre döngüsünü hızlandırır (Yarden Y 1988).

#### **1.5.3.4. EGF Reseptörü ve Sinyal Yolakları**

EGFR, hücre yüzeyinde bulunan ve EGF'nin bağlandığı spesifik bir reseptördür. EGFR, tirozin kinaz aktivitesine sahip olup, ligand bağlanması sonrası otofosforilasyon yoluyla çeşitli hücre içi sinyal yollarını aktive eder. Bu sinyal yolları arasında MAPK/ERK, PI3K/AKT ve JAK/STAT yolları bulunur ve bu

yolaklar hücresel proliferasyon, hayatta kalma ve farklılaşma süreçlerini düzenler (Oda K ve ark 2005) (Şekil 5.2.).



Şekil 5.2. EGFR ve Sinyal Yolakları (Oda K ve ark 2005)

#### 1.5.3.5. EGF ve Yanık Tedavisi

EGF'nin yanık tedavisinde etkinliğini ve güvenliğini değerlendiren çeşitli klinik ve prelinik çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar, EGF'nin yanık yaralarının iyileşmesindeki potansiyel rolünü ve tedavi edici etkilerini araştırmıştır. Hayvan modelleri, EGF'nin yanık yaraları üzerindeki etkilerini incelemek için yaygın olarak kullanılmıştır. Bu modeller, EGF'nin hücresel proliferasyonu ve migrasyonu nasıl teşvik ettiğini ve yara iyileşme sürecini nasıl hızlandırdığını anlamak için önemlidir. Örneğin sıçan modelleri, yanık çalışmalarında sıkça kullanılan bir

Model olup, EGF'nin etkinliğini değerlendirmek için kullanılmıştır (Alemdaroğlu C ve ark 2006). İnsan çalışmaları, EGF'nin yanık yaralarının iyileşme sürecini hızlandırdığını ve skar oluşumunu azalttığını göstermiştir (Wei Y.ve ark 2022). EGF'nin topikal olarak uygulanması, yanık yaralarında epitelizasyon süresini

kısaltarak ve enfeksiyon riskini azaltarak 28 olumlu sonuçlar vermiştir. Bir çalışmada, EGF'nin anjiyogenezi teşvik ettiği ve yara iyileşmesi sürecinde yeni kan damarlarının oluşumunu hızlandığı gösterilmiştir. Anjiyogenez, yara bölgesine oksijen ve besinlerin ulaşmasını kolaylaştırarak iyileşme sürecini destekler (. Brown GL ve ark 1989). Yine başka bir çalışmada Diyabetik yanık yaralarında EGF kullanımı üzerine yapılan bu çalışmada, EGF'nin yara iyileşmesini hızlandığı ve enfeksiyon riskini azalttığı bulunmuştur. EGF, özellikle diyabetik hastalarda yara iyileşmesinin zayıf olduğu durumlarda etkili bir tedavi seçeneği olarak öne çıkmaktadır (Falanga V 2005). Pediatrik yanık hastalarına yapılmış bir çalışmada; EGF'nin yanık yaralarında epitelizasyonu hızlandığı ve skar oluşumunu azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışma, EGF'nin çocuk yanık hastalarında güvenli ve etkili bir tedavi seçeneği olduğunu

#### **1.5.4. Yara Örtüleri**

İnsanoğlunun kendi tarihi boyunca yaraları tedavi etmek için keten, bal, yağlar gibi farklı birçok malzemeler kullanmıştır (Paulsen I. 2004). Yara iyileşmesi için ideal yara örtüsü kullanmak çok önemlidir. İdeal bir yara örtüsü sıvı kontrollü, koku giderimi, mikrobiyal kontrol, fiziksel bariyer, boşluk doldurucu olması, debriman (ölü doku temizlenmesi), yara izinin minimumda tutulması, toksik olmama, ağrıyı azaltma veya giderme, hava geçirgenliği, vb gibi ek özelliklerine haiz olmalıdır (Tort & Acartürk 2015). Yara bakımı için dünyada artık çok çeşitli yara bakım ürünleri kullanılmaktadır. Bunlar özellikle transparan film örtüler, aljinat örtüler, antibakteriyel örtüler ve nanofiber örtüler gibi ürünlerdir (Falabella 2006). Yara örtüsünün seçilmesi için yaranın durumuna, travma miktarına ve şiddetine bağlı değişiklik gösterir. Yara örtüleri 3 farklı sınıfa ayrılırlar.

Pasif örtüler: Gazlı bez, tülgras (Jones V. J. 2006)

İnter-aktif örtüler: Yarı geçirgen film, yarı geçirgen köpük, amorf hidrojeller (Ribeiro de Casto, 2002)

Biyoaktif örtüler: Hidrokolloidler, aljinatlar, kolojenler, hidrofiberler, kitosandır (Thomas K, 2000).

Pasif yara örtüleri yaranın altında tedavi olabilmesi için bir örtü görevi görür. Yarayı olası travmalardan ve enfeksiyonlardan korumakla beraber travma alanından çıkarırken tahrişe yol açabilirler. İnteraktif yara örtüleri ise enfeksiyonların ortama

invazyonuna blokaj için çok iyilerdir. Öte yandan Biyoaktif yara örtüleri ise diğer bir tabirle aljinatlar, kolajenler, EGF ve hyaluronik asit gibi örtü malzemeleridir (Zahedi 2010).

#### **1.5.4.1. Elektroëirme Yönteminin Nanolif ve Yara Örtüsü Üretiminde Kullanılması**

Elektroëirme yöntemi spinning tarzı püskürtmeyle yapılan aşamalı bir metoddur. Daha uygun, maliyet açısından daha ucuz ve uygulanabilirdir. Bu yöntem kimya, elektronik ve nano örtü üretimi gibi alanlarda kullanılmaktadır (Sharma & Mikos 2006). İşlem esnasında belirli bir akım ile yapılan elektriksel alan içinde damlacıklar şeklinde çözeltiler dönen ve üzeri kaplı levhasal alana jetsel bir akım olarak iletilir. Toplayıcı yerdeki levhada gelen akımsal alanın çapı düşer ve toplayıcı levha alanında nano yapıda lifsel örtü (çap  $<1 \mu\text{m}$ ) oluşur. Nanolif çapıyla alan arasında ters orantılı bir denge mevcut olup oluşmaları milisaniyesel bir süreçte olur (Ko & Wan 2017). Ayrıca iyileştirici olarak ya antienfektif ajan veya ürünler de ilave edilerek, elektrospin ile nano lifler yapılabilir ve bandaj olarak faydalı da olabilir (Katti ve ark. 2004)

Elektroëirme yöntemiyle yapılan nanolif yara örtülerinin özelliklerine değinecek olursak (Zahedi 2010):

1. Yüksek yüzey alanı sayesinde %18-213 aralığında su absorblama kapasitesine sahiptirler. Klasik yara örtüsünde su absorblama kapasitesi %2,3'tür.
2. Yara sıvısını emebilirler ve odağı dehidrasyondan korurlar.
3. Yara üzerinde biyobozunur moleküler yapısı kolaylığıyla iyileşmeye katkıda bulunur.
4. Yarı-geçirgen strukturu sayesinde bakterilere karşı blokaj görevleri vardır.

Elektroëirme yöntemi ile çeşitli morfolojik özelliklere sahip nanolifler oluşturulmaktadır. Nanoliflerin morfolojisini belirleyen özellikler ise Polimerin yapısal durumu, çözeltinin özellikleri (viskozite, elastisite, yüzey gerilimi), İşlem ve uygulanan Ortam koşulları (bağıl nem, sıcaklık) etkiler (Özata & Özen Cansoy 2018).

#### 1.5.4.2. Elektrosinning Tekniği ile EGF/ Hyaluronik Asit/ Kollajen Esash Yara Örtülerinin oluşturulması

Elektro-eğirme, hücre dışı matrisin doğal halini taklit ederek hücre gelişimi için uygun bir ortam oluşturan nano/mikro liflerden iskele üretebilen çok yönlü bir tekniktir (Boudriot et al., 2006). Bir polimer çözeltisinin, yüksek elektrik alan oluşturarak nano boyutlu fiber oluşturulması işlemdir. Elektrosinning, üretiminin hızlı olması, ürünlerin yaygın ve kolay bulunabilir olması, maliyetinin ucuz olması ve yapılan lifin aynı formatta sabitlenmesi açısından ideal yöntemlerden biridir.

Nanolif yapımında amaçlanan örtü özelliklerinin hepsini sağlayabilmesi elektro-eğirme ile mümkün olmaktadır. İtici elektrostatik kuvvet, yüzey gerilimini aştığında ve Taylor konisinin ucundan yüklü bir sıvı jeti püskürtüldüğünde kritik bir değere ulaşabildiği için polimerik çözeltiden nanofiberler üretilebilmektedir. Çözünme sisteminde en çok kullanılan materyal olan PVA (polivinil alkol) hidrofobik bir polimer olduğundan, hidrofobik ilaçlarla daha yüksek kalitede salım sağlayabilmektedir (Zhang ve ark 2017). Oluşturulan elektrik alan polimer çözeltisinde bir yük oluşturur. Enjektör ucuna bir ısıtıcıda PVA ile eritilerek yüklenen molekül yüklenir ve indüklenmiş yükler elektrostatik etkisi altında, damla Taylor konisi ile yüklü olan jet toplayıcı plakaya püskürtülür ve alümiyum kaplı yüzeye örtüsel nanofiber format oluşturarak invaze olur (Reneker ve ark 2000).

Nanofiberlerin oluşumu çeşitli parametrelere bağlıdır; dış elektrik alan ile Taylor konisinin üzerindeki yüzey yükleri arasındaki elektrostatik etkileşimlerin gücü belirli bir eşiği aştığında, elektrostatik kuvvet polimer çözeltisinin yüzey gerilimini yenebilir ve böylece çözeltinin sürekli olarak bir sıvı jeti olarak dışarı fırlamasını sağlar

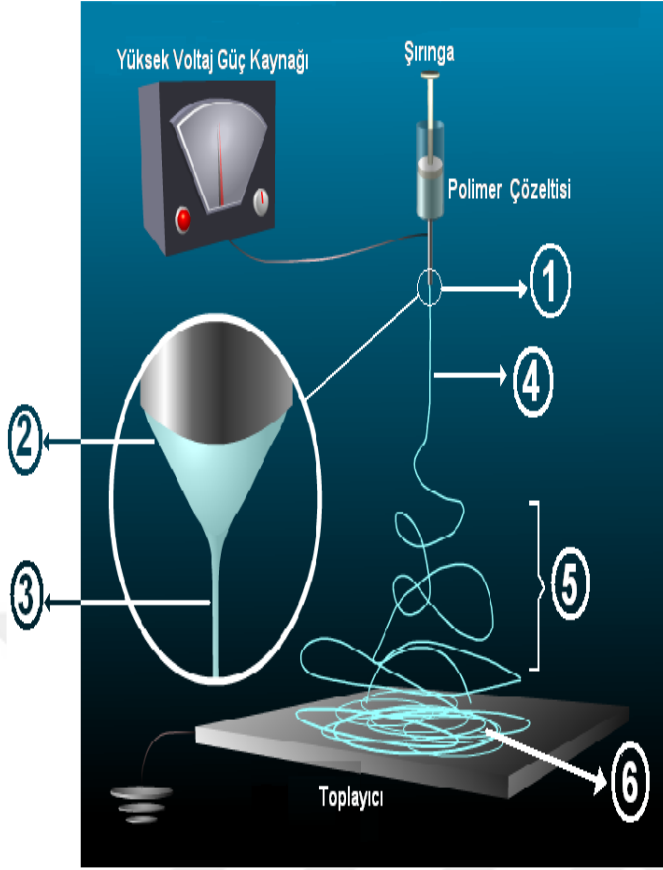
Isıtıcı altında PVA polimerinden hazırlanan %10 luk çözelti ile muamele edilerek eriyik hale getirilen ürünler (EGF/ Hyaluronik Asit/ Kollajen), 10 ml hacmine sahip 14 gauge kalınlıktaki bir intraketle desteklendi, polimer çözeltisi içine belirli değerde akım uygulanarak taylor konisi oluşturularak ürünün hepsi 10\*10'luk olarak oluşturulan toplayıcı tabaka üzerine tamamı aktarıldı. Püskürtme alanı elektriksel olarak statiklendi ve polimer ile kaplanmış molekülün, Taylor konisi formunu alması saglandı. Uygulama sırasında spin jeti ile öncelikle spiral bir halka izlendi. Ve

öznen madde evopore edildi ve nano boyutta lif oluşturuldu. Ayrıca nanoliflerinde, plaka üstünde pürüzsüz bir alan oluşturması sağlandı. Elektrosprin işlemi bazı aşamalara bölünerek açıklanmıştır.

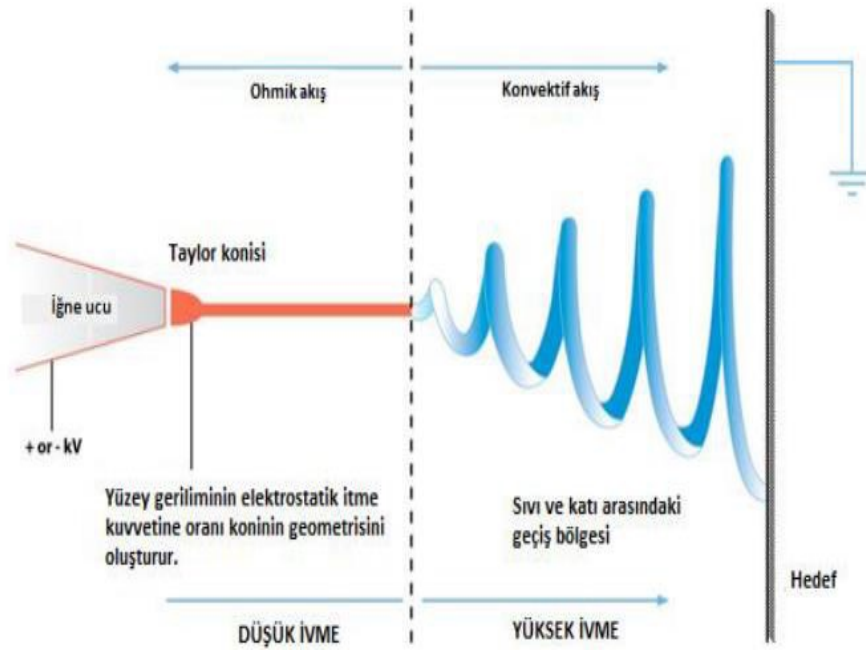
Elektrospinning işlemi, bir elektrik alanı kullanarak polimer lifleri hedef bir alt tabakaya biriktirir. Yüksek voltajlı bir güç kaynağı, ince bir iğne aracılığıyla sağlanan bir polimer zltisini , hacim besleme hızı bir kılcal pompa tarafından düzenlenerek yükler. Polimer zltisi, itici elektrik kuvvetinin yüzey gerilimini aştığı kritik bir değere ulaştıktan sonra, elektrik alanı uçtan bir toplayıcıya atılır. zcnn buharlaşması nedeniyle jet topraklanmış toplama plakasına yaklaşırken inceler ve lifler oluşturur. Yeni elektrospinning nanofiberleri yeterli şekilde hizalandığı, yüksek bir yüzey alanına sahip olduğu ve büyük bir gözenek boyutuna sahip olduğu için, cildin ECM'sini geleneksel olarak formüle edilmiş nanofibröz iskelelerden daha iyi simüle ederler. Gözeneklilik, lif çapı ve gözenek çapı gibi lif mimarisinin özellikleri, hücrelerin bağlanma, g ve çoğalma sürecini etkiler. Hacim oranına göre önemli bir yüzey alanı, yüksek gözeneklilik ve gözenekler arası bağlantıya sahip olan elektroğrilmiş iskeleler , hücre yapışması ve gelişimi için oldukça elverişli hale gelerek hücre infiltrasyon potansiyelini önemli ölçüde artırır (J. Xue ve ark 2019) . Ek olarak, hücrelerin daha iyi işlev görmesini sağlayan mükemmel bir mekanik özelliğe sahiptirler. Mükemmel oksijen geçişi, mikrobiyal istilaya karşı koruma ve yara sıvısı emilimi, elektroğrilmiş nanofibröz iskelelerin özellikleridir (J.S. Park 2010) . Kolajen nanofiberleri, elektroğrilme işlemi kullanılarak nanofibrlerin formüle edilmesiyle sunulan doğal kolajen ECM'nin yapısal ve biyolojik özelliklerine benzeyebilir. Bu nedenle, bu işlem son yıllarda doku mühendisliği uygulamaları için en yaygın iskele üretim yöntemlerinden biri olarak ortaya çıkmıştır ( S.A. Sell ve ark 2009) .

Bu aşamalara gelecek olursak; (şekil 5.3-7., Tablo 5.1.)

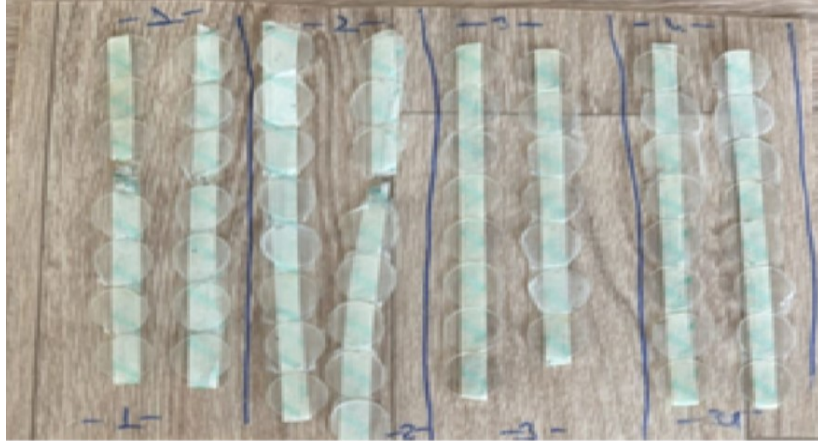
1. Damlacık oluşumu,
2. Taylor konisi oluşumu,
3. Elektro ekim jetinin oluşumu,
4. Kararlı bölgede jetin uzaması,
5. Kararsız bölgenin oluşması (whipping instability)
6. Lif formunda katılaşma



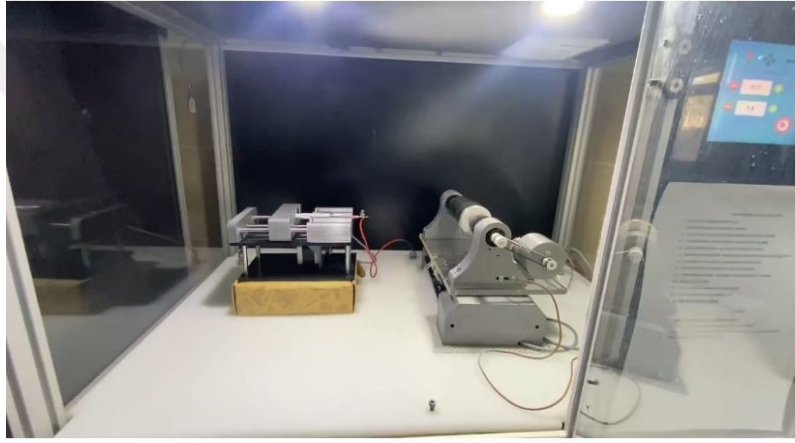
Şekil 5.3. Elektrospin işlemi aşamaları



Şekil 5.4. Elektro-Eğirme ile Nanofiber Oluşumu (Emül, 2022)



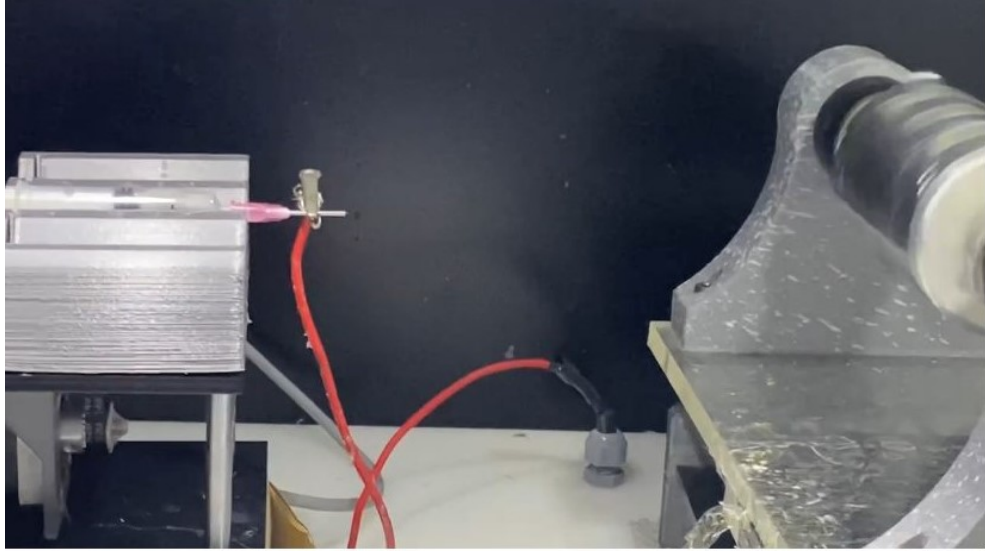
Şekil 5.5. Elektrospin işlemi ile üretilen nano örtülerin gösterimi



Şekil 5.6. Elektrospin işlemi gösterimi

|                                        |                                                                              |
|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PVA çözeltisinin konsantrasyonu</b> | <b>%5-%15 arasında</b>                                                       |
| <b>Uygulanan voltaj</b>                | <b>0-35 kV arasında</b>                                                      |
| <b>Çözelti besleme hızı</b>            | <b>0.5-2.5 ml/saat arasında</b>                                              |
| <b>Toplayıcı-düze mesafesi</b>         | <b>10-20 cm arasında</b>                                                     |
| <b>Düze tipi ve çapı</b>               | <b>Standart şırınga iğnesi,<br/>Kesik uçlu şırınga iğnesi,<br/>Pirinç uç</b> |
| <b>Elektro çekim yönü</b>              | <b>Yukarıdan aşağı<br/>Açılı<br/>Karşılıklı</b>                              |

Şekil 5.7. Yara örtü Üretimi esnasında kullanılan elektro çekim düzeneği



Şekil 5.8. Elektrosinning cihazı

Tablo 5.1. Yara Örtüsü Üretimi Esnasında Kullanılan Elektro Çekim Düzenekleri

| PVA %8 -<br>10 ml su<br>(Polivinil<br>Alkol) | 24,5°C NŞA<br>Ortam ısısı/<br>Kolleksiyon<br>süresi(dk) | Enjektör ucu<br>(14 gauge)<br>ve toplayıcı<br>arası mesafe<br>(cm) | Aktif<br>voltaj<br>(kv) | Polimer<br>akış<br>hızı(ml/h) | Toplayıcı<br>devirdaim<br>hızı(rpm) | Örtü<br>sonuç |
|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|---------------|
| HA                                           | +75                                                     | 18                                                                 | 14.5                    | 0.55                          | 250                                 | +             |
| KL                                           | +75                                                     | 18                                                                 | 14.5                    | 0.55                          | 250                                 | +             |
| EGF                                          | +75                                                     | 18                                                                 | 14.5                    | 0.55                          | 250                                 | +             |

## 1.6.ELEKTRO EĞİRME YÖNTEMİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER

Çalışma parametreleri sadece elektrosinlemenin doğasını değil, aynı zamanda polimer çözeltilerin elektronpinleme yoluyla nanoliflere dönüşmesi içinde önemlidir. Bu parametreler, genel olarak çözüm parametreleri, işlem parametreleri ve ortam parametreleri gibi üç kısma ayrılabilir. Bu parametrelerin her biri, liflerin morfolojilerini etkileyebilir ve bu parametrelerin uygun kontrolü sayesinde, istenilen morfolojileri ve çapları olan elektrosun lifleri üretebiliriz. Bu bölümde, bu parametrelerin kısa bir tanıtımı ve lif özellikleri üzerindeki etkileri sunulacaktır.

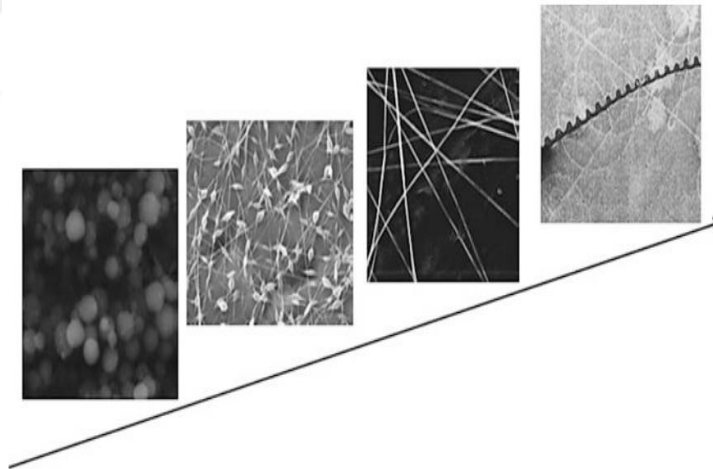
### 1.6.1. Çözelti Parametreleri

#### 1.6.1.2. Konsantrasyon

Konsantrasyonlar, elektro spin yapımı sırasında değerli bir rol üstlenirler. Kademelere göre 4 önemli konsantrasyon vardır bunlar:

1. Konsantrasyon çok düşük olmamalı ve viskozite düşüklüğü ve çözeltideki yüzey gerilimi yüksek olmamalıdır (Deitzel ve ark., 2001).
2. Konsantrasyon ideal olarak yüksek olursa, boncuklu yapı olmaksızın tam lif oluşur (Lee ve ark., 2003; Eda and Shivkumar, 2007).
3. Konsantrasyon ancak ideal olduğunda düzgün yapıli lifler oluşabilir (Eda and Shivkumar, 2007, Lee ve ark. 2003).
4. Konsantrasyon istenenden çok yüksek olursa kaliteli formda olmayan lifler oluşur (Yang ve ark 2004).

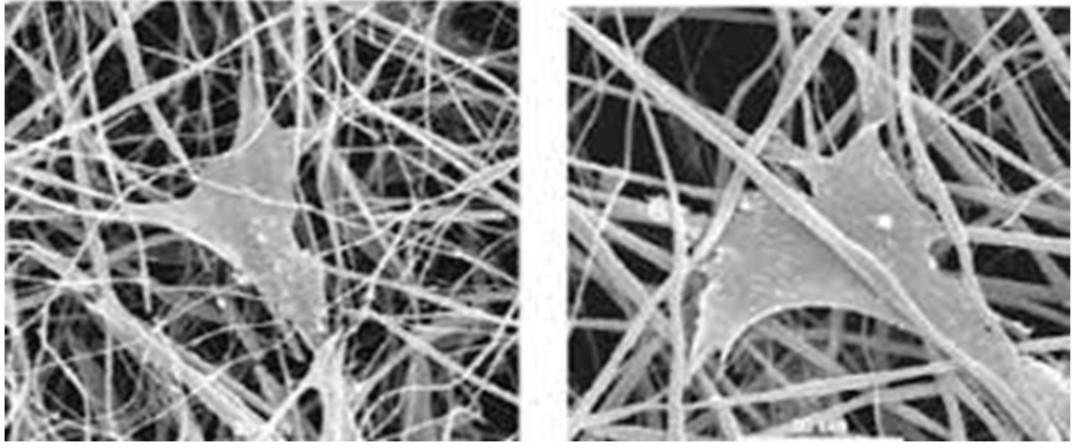
Aşağıdan yukarıya doğru dozlarda olacak şekilde uygun konsantrasyonları olan ürünlerin oluşumunu görmek için, 4 ideal SEM görüntüsü kullanılmıştır (Şekil 6.1.). Genellikle, çözeltinin konsantrasyonunun artırılması, solüsyon konsantrasyonu elektro eğirme için uygun ise fiber çapı artacaktır. Ek olarak, çözelti viskozitesi de solüsyon konsantrasyonunun ayarlanması ile ayarlanabilir.



Şekil 6.1. Elektrospin esnasında düşük-yüksek arası konsantrasyonlardaki ürünlerin SEM görüntüleri (Yang ve ark. 2004, Fong ve ark. 1999)

#### 1.6.1.3. Molekül ağırlığı

Moleküler ağırlık polimer halkaların çözeltideki akışkanlığını gösterir. Moleküler ağırlık arttıkça daha düz ve pürüzsüz lif elde edilir. (Şekil 6.2.) (Koski ve ark. 2004). Çok yüksek moleküler ağırlığın, olduğu konsantrasyonda iseliflerin mikro oluştuğu belirtmek de önemlidir (Zhao ve ark., 2005, McKee ve ark 2006)

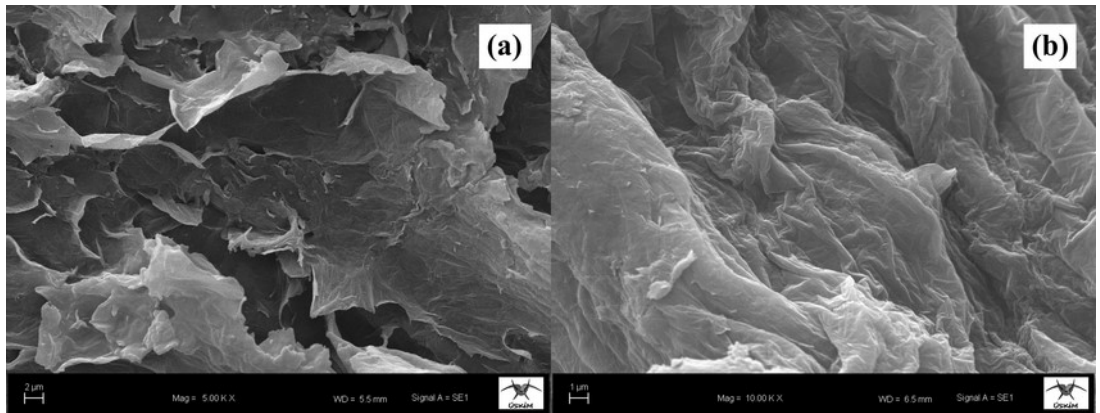


Şekil 6.2. Farklı molekül ağırlıkları için elektrospin polimerlerinin orjinal strukturunu gösteren resimler (Koski ve ark., 2004).

#### 1.6.1.4. Viskozite

Viskozite, fiber yapının oluşturulmasında önemli bir anahtardır. Çok düşük iken hatasız ve tam liflerin elde edilemezken, çok yüksekte ise yüzey uygulanamayacak kadar sert olur, yani elektro spin için ideal viskozite her zaman şarttır (Larrondo and Manley, 1981).

Genel olarak, çözelti viskozitesi, çözeltinin polimer konsantrasyonunun ayarlanması ile düzenlenebilir; böylece, Şekil 6.3.'de gösterildiği gibi farklı ürünler elde edilebilir. Elektrospinlemenin yapıldığı farklı bir polimerin veya oligomer çözeltisinin viskozite aralığı farklıdır. Viskozite, polimer konsantrasyonu ve polimer molekül ağırlığının birbiriyle daima ilişkilidir (Zhang ve ark. 2005).



Şekil 6.3. Çözelti viskozitesine göre değişen görüntülerin SEM ile gösterilmesi (Ki vd., 2007)

#### **1.6.1.5. Yüzey gerilimi**

Yüzey gerilimi oldukça önemli bir faktör olup. Çözeltilerin sabitlenmesi ve yüzey geriliminin düşürülmesi ile, düz lifler kolayca oluşturulabilir. Bunun yanı sıra Zhang ve ark. yüzey gerilimi ve viskozitenin, çözücü molekuldeki kütleli miktar ve lifin yapısının değiştirilerek ayarlanabileceğini de ispatlamışlardır. (Zhang ve ark. 2005).

#### **1.6.1.6 Proses parametreleri**

##### **6.1.6.1. Uygulanan voltaj**

İşlemede uygulanan akım da önemli bir faktör olup, eşik voltajından daha yüksek oluşturulan ortamda Taylor konisinden jet akımla lifler oluşabilir. Yayınlarında, yüksek voltajın pürüzsüz lif yapımını kolaylaştırdığını gösterilmiştir. Zhang ve ark. (Zhang ve ark., 2005), akımın morfoloji ve fiber oluşan yarıçapları üzerindeki dispersiyonun polivinil alkol (PVA) / su modeli ile olan etkisini araştırmışlardır ve ideal formül olarak göstermişlerdir (Şekil 6.4).

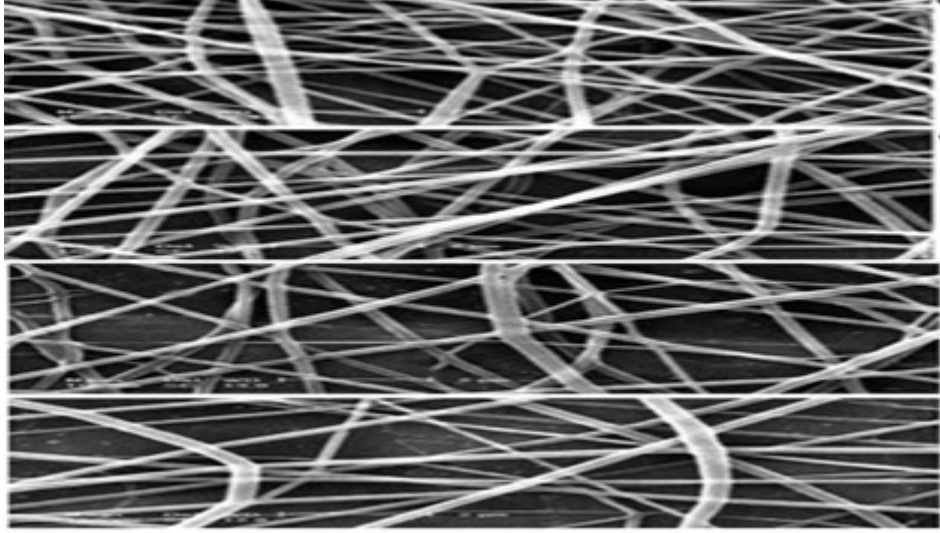
Yuan ve ark. (Yuan ve ark., 2004), çalışmada ise morfolojiler üzerindeki voltajın etkisini polisülfon (PSF)/aseton ile araştırmışlardır, ayrıca Deitzel ve ark yüksek akımın da büyük ve düzensiz boncuk yapma olasılığını göstermişlerdir (Deitzel ve ark 2002). Böylelikle, akımın fiberlerin yarı çapını etkilediğini, ama etki seviyesinin konsantrasyona ve uç ile toplayıcı arası uzaklığa göre farklılık gösterdiğini tespit edebiliriz (Yörtem ve ark., 2008).

##### **6.1.6.2. Akış hızı**

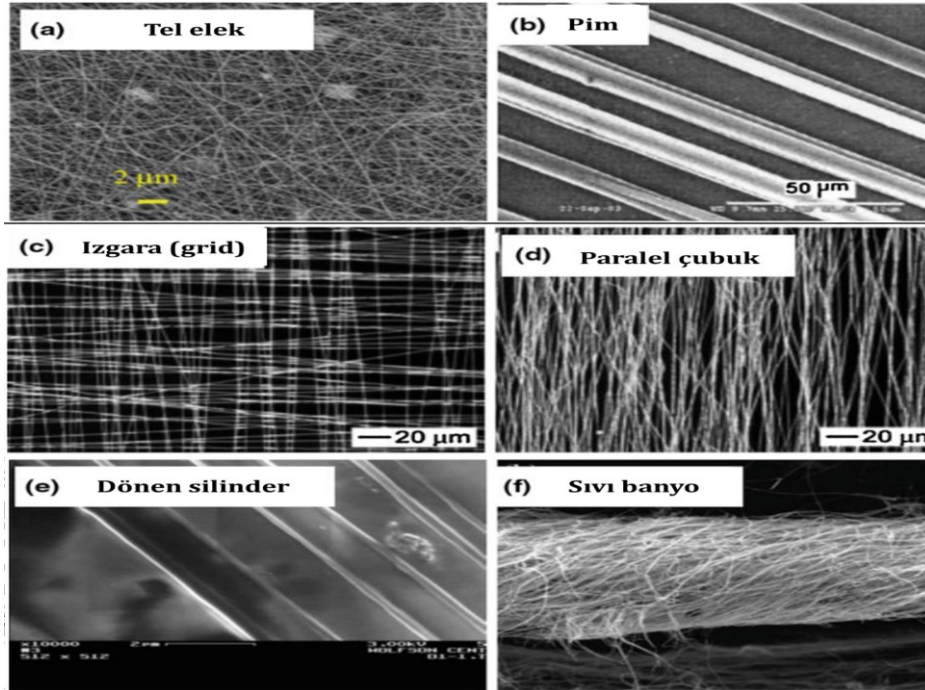
Enjektör içindeki çözeltinin akış hızı da önemli bir işlem parametresidir. Genel olarak, daha düşük akış oranı tavsiye edilir. Akış gücü yüksekse, kollektöre ulaşmadan önce düşük gerilme kuvveti yüzünden kalın boncuk tarzı lifler oluşur (Buchk, C. J. ve ar, 1999).

##### **6.1.6.3. Kolektörler**

İşlem esnasında toplayıcılar genellikle ortamda iletken olarak hareket eder, genelde de toplayıcı olarak alüminyum (Al) folyo kullanılır. Lif aktarma ihtiyacıyla, tel örgü, ızgaralar, döner çubuklar veya tekerlek (Xu ve ark., 2004) ve benzeri toplayıcılar yapılmıştır (Şekil 6.5.).



Şekil 6.4. Gerilimin morfoloji ve lif çapı dağılımı üzerindeki etkisi (Ki ve ark., 2007).

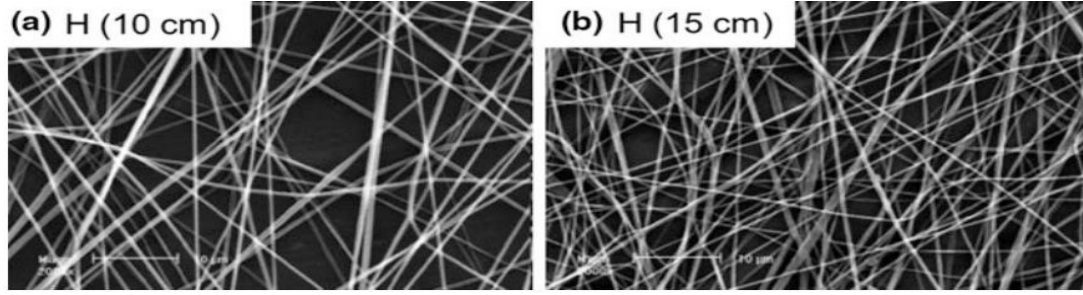


Şekil 6.5. Farklı toplayıcı modelleri ile değişik elektrospin liflerin SEM görüntüleri (Xu ve ark., 2004)

#### 6.1.6.4. Toplayıcı ile Enjektör arasındaki mesafe

Kolektör ile enjektörün ucu arasındaki uzaklığın, fiberin çapını ve morfolojisine etkidiği ispatlanmıştır (Ki ve ark., 2005). Kısacası, eğer mesafe çok kısa olursa, lif toplayıcıya ulaşmadan önce katılaşmaya yetecek kadar zamana sahip olmaz, oysa mesafe çok uzunsa, boncuk lifi elde edilebilir. Elektrospun fiberin önemli bir fiziksel yönünün solventten kuruluğu olduğu iyi bilinmektedir, bu nedenle optimum mesafe tavsiye edilir. Örneğin, Yuan ve ark. (Yuan ve ark., 2004), Şekil 6.6. da ki

gösterildiği gibi, biraz uzun mesafenin daha ince fiber çapını desteklediğini göstermişlerdir



Şekil 6.6. Elektropsun PSF liflerinin farklı mesafelerle 10 kV'da %20 PSF/DMAC çözeltisinden SEM görüntüleri. A ve b mesafeleri sırasıyla 10 ve 15 cm'dir. a ve b çapları sırasıyla  $438 \pm 72$  ve  $368 \pm 59$  nm'dir (Yuan ve ark, 2004)

#### 6.1.6.5. Ortam parametreleri

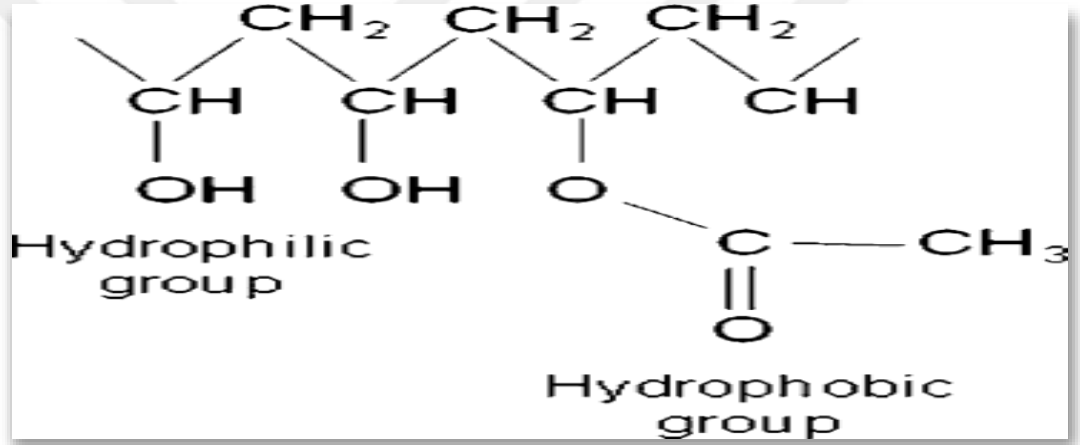
Ortam için, bağıl nem, ısı gibi çapı ve morfolojiyi etkileyen sebepler de mevcuttur. Örneğin, Mituppatham ve ark. (Mit ve ark., 2004), ısıнын yüksekliğinin, viskozite ile arasındaki ters orantılı ilişkiyi kanıtlamıştır. Nem ise, kuruma ve buharlaşma hızını etkilemektedir.

#### 6.1.6.6. Polivinil Alkol

PVA, çapraz bağlar yoluyla hidrojel oluşturabilen, biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılan biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir. Sentetik bir polimer olan PVA, vinil alkol ve asetattan elde edilmektedir. Sitouyumluluğu ile iyi bilinen sentetik bir polimer olan PVA, kompozit hidrojellerin yapımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çok yönlü malzeme, toksik olmayan doğası, biyoyumluluğu ve dikkate değer su emme kapasitesi nedeniyle seçilmektedir (Kamoun ve ark 2015). PVA, gerilme mukavemeti açısından insan eklem kıkırdağına benzer. PVA karmaşık yapılar oluşturabilir ve doğru yapıştırıcı ile kemik hücresi büyümesi için iyi bir matris sağlayabilir. PVA, yara örtülerinde fizikokimyasal özelliklerin iyileştirilmesine katkıda bulunarak yara örtülerine bir avantaj sağlar. Nemli bir yara ortamının oluşmasını kolaylaştırır, böylece hızlandırılmış yara iyileşme oranlarını teşvik eder (Jin ,2022). Hidroksil gruplarının fazla olması ve kullanım kolaylığı göz önüne alındığında, PVA son zamanlarda hidrojel geliştirmek için umut verici bir aday olarak öne çıkmaktadır (Tiamduangtawan ve ark, 2020) (Şekil 6.7.). Özellikle, bir yırtılma veya delinme gibi mekanik bir yaralanma yaşandığında, PVA bazlı hidrojellerin hidroksil gruplarının hızla hidrojen bağlarını yeniden oluşturmaktadır. Bunun sonucunda, hasarlı alanı hızla onarılarak hidrojin

bütünlüğünü saniyeler veya dakikalar içinde geri kazandırılır (Zhang ve ark, 2012). Önceki araştırmalar, PVA/boraks hidrojelleri gibi PVA bazlı hidrojellerin, %700'ü aşan başarısızlık değerlerinde gerilmeye ulaşarak olağanüstü gerilebilirlik sergileyen olumlu mekanik özelliklerini ortaya koymuştur (Parida ve ark ,2017).

Çapraz bağlar yoluyla hidrojel oluşturan PVA'da bu çapraz bağlar kimyasal veya fiziksel yollarla elde edilebilir. Kimyasal çapraz bağlama glutaraldehit (çok fonksiyonlu bir aldehit) (Mehrotra ve ark 2020), glioksal ve ışınlama teknikleri, örneğin diğerlerinin yanı sıra gama ışınlama kullanılarak elde edilebilir. Bu çapraz bağlayıcılar, PVA hidrojellerinin iyi mekanik stabilitesini elde etmede etkilidir, ancak bazıları biyomedikal uygulamalar için kullanımlarını engelleyecek toksisite nedeniyle uygun değildir (Kamoun ve ark, 2015).

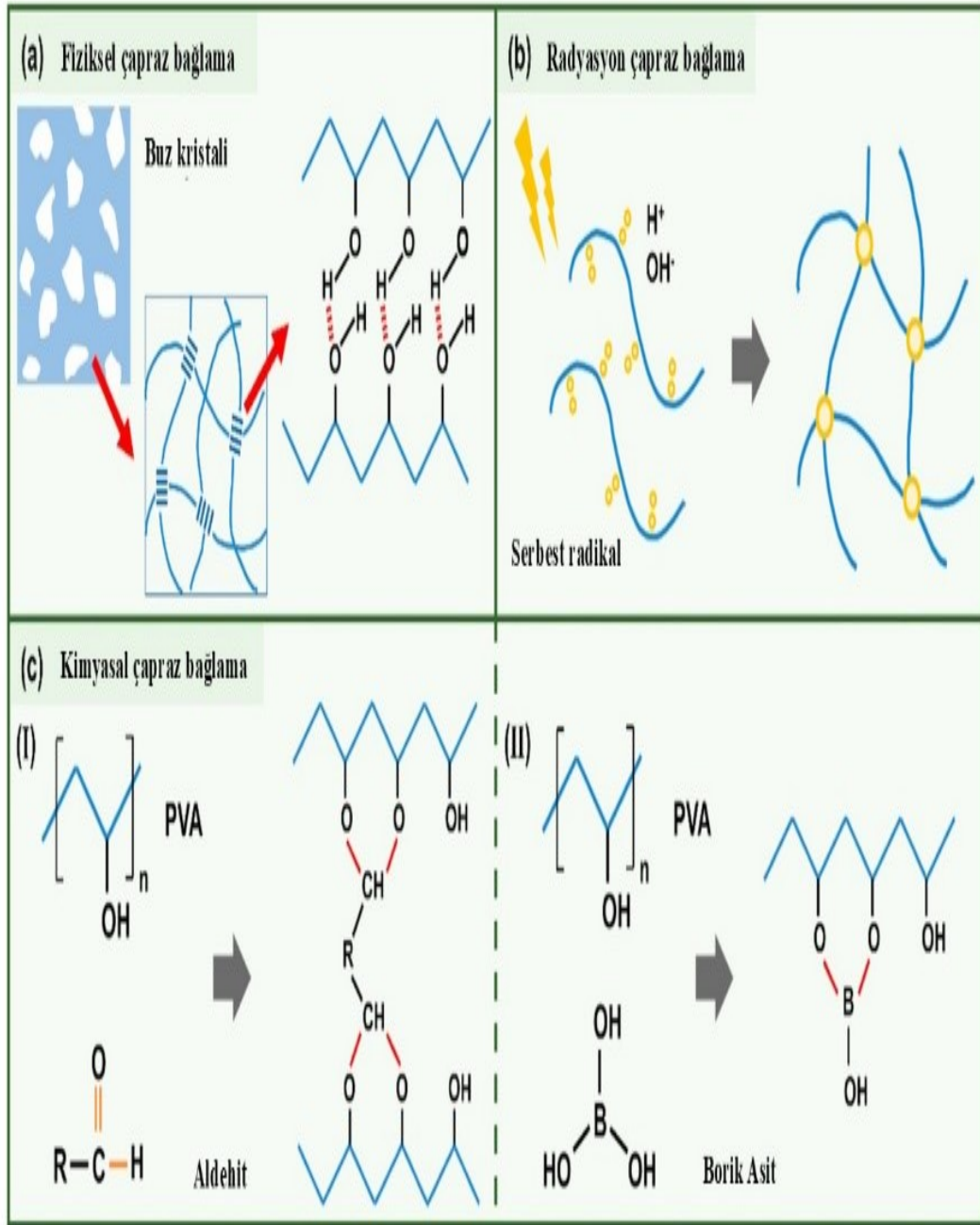


Şekil 6.7. PVA kimyasal yapısı

Donma-çözülme yöntemiyle örneklendirilen fiziksel çapraz bağlama yöntemi son yıllarda çok ilgi görmektedir. Düşük sıcaklıklara maruz kaldığında, çözeltideki su donar ve PVA moleküler zincirlerinin hareketi yavaşlayarak kümelenmiş bölgeler oluşturur. PVA zincirleri birbirleriyle yakın temas halinde olduğunda, PVA mikro kristalleri oluşur. Çözüldükten sonra, bu mikrokristaller bozulmadan kalarak üç boyutlu bir hidrojel ağı oluşturur ve buzlar Şekil 6.8. de gösterildiği gibi mikro gözenekler bırakarak erir. Bu tür çapraz bağlayıcılar, kimyasal kalıntı bırakmayan doğası gereği toksik değildir ve mekanik özellikler, donma-çözülme döngüsünün sayısını değiştirerek ayarlanabilmektedir. Bu nedenle, MSC'ler (mezenkimal kök), hCH'ler (insan kondrositleri), SV40 (insan osteositi) gibi çeşitli hücre hatları ile biyoyumlulukları nedeniyle doku mühendisliği ve yara iyileşmesinde uygulama alanı bulmaktadırlar (Adelnia ve ark 2022). PVA hidrojelleri, mekanik özelliklerinin

ayarlanabilirliği nedeniyle uzuv veya yumuşak doku ikame malzemesi olarak da kullanılmıştır (Forte ve ark 2016).

Ayrıca, donma-çözölme döngüsü tekniği kullanılarak oluşturulan PVA, karmaşık viskoelastik davranış, oda sıcaklığında iyi mekanik stabilite, yüksek su tutma kapasitesi gibi biyolojik doku benzeri malzeme özelliklerine sahiptir ve insan dokularına benzer mekanik sertliğe sahip olacak şekilde ayarlanabilir (Ricciardi ve ark 2004). PVA hidrojellerinin mekanik özellikleri, PVA konsantrasyonu (Gupta ve ark 2012), donma-çözölme döngüsünün süresi (Gupta ve ark 2012), donma sıcaklığı, hidroliz derecesi (Limpan ve ark 2012) ve PVA'nın moleköler ağırlığı (Zanela ve ark 2019) gibi çeşitli diğer faktörlere de bağlıdır. PVA hidrojellerinin biyomedikal uygulamalar için mekanik özelliklerinin ayarlanabilirliğini belirleyen, bu faktörlerin birleşimi ve sinerjik etkisidir.

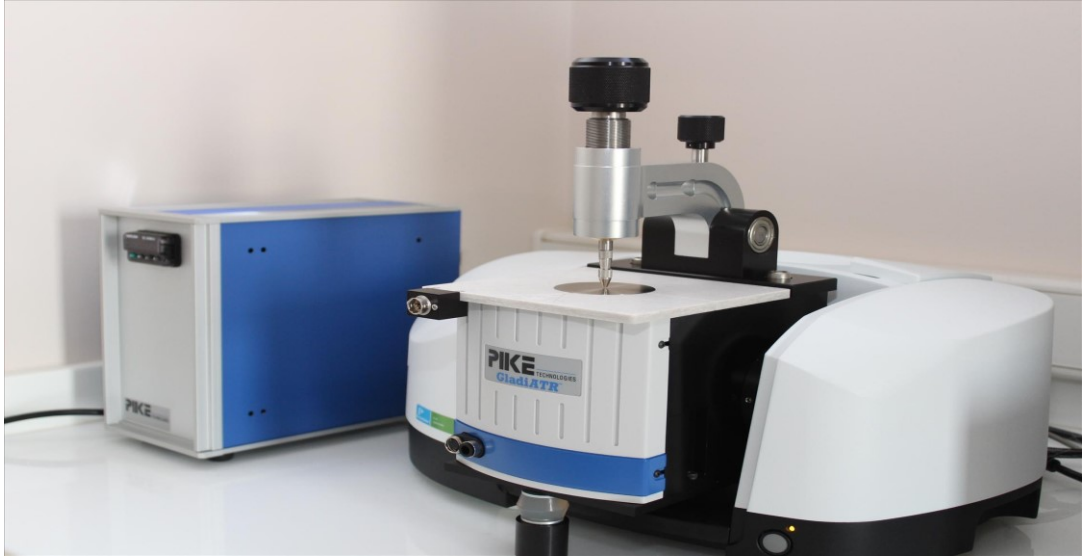


Şekil 6.8. PVA çapraz bağlama yöntemlerinin şematik diyagramı. (a) Fiziksel çapraz bağlama, (b) radyasyon çapraz bağlama ve (c) kimyasal çapraz bağlama.

## 1.7. FOURIER DÖNÜŞÜMLÜ KIZILÖTESİ SPEKTROFOTOMETRİSİ (FT-IR) ANALİZ CİHAZI

### 7.1.1. FT-IR Analizi

FT-IR, organik veya inorganik bileşiklerin analizi için kullanılan bir alettir. IR spektrumu, maddeyi meydana getiren atomlar arasındaki bağ moleküllerinin etkileşimiyle olan frekanslarına karşılık gelen emilim piklerini gösterirken, Her molekulun kendine özgü spektrumu vardır. Organik maddelerin spektrumların özellikle de  $2000\text{ cm}^{-1}$ 'den sonra ortaya çıkan kısımları daha inceliklidir. Bu bölgeye parmak izi bölgesi denir ve spektrumu iki kat daha fazla genişletilip alınır. Elektroeğrilmiş EGF/Hyaluronik Asit/Kollajen Esaslı örtü membranlarının FT-IR analizi Thermo Scientific Bruker 6700 FT-IR Spektrometre kullanılarak  $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$  aralığında gerçekleştirilmiştir (Şekil 7.1).



Şekil 7.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometrisi (FT-IR) Analiz Cihazı

Üretimi gerçekleştirilen nanolifli yüzeyin yapısını meydana getiren polimerin ve yün yağının kimyasal bağ yapıları Selçuk Üniversitesi İleri Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Bruker marka FT/IR 4700 model FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir. FTIR çeşitli mikroorganizmaların kimyasal bileşimini karakterize etmek için kullanılabilecek hızlı, güvenilir, hassas ve ucuz bir tekniktir. Kızılötesi (IR) spektroskopisi, organik veya inorganik bileşiklerin karakterize edilmesinde kullanılan bir araçtır. IR spektrumu, maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile örneğin parmak izini

göstermektedir. Her maddenin kendine has bir spektrumu vardır. Bunun tek istisnası optik izomerlerdir. Organik madde spektrumlarının özellikle de 2000 cm<sup>-1</sup> den sonra gelen kısmı daha ayrıntılıdır. Bu bölgeye parmak izi bölgesi denir ve spektrumu iki kat genişleterek alınır. Böylece madde hakkında daha ayrıntılı bilgi elde edilmektedir. Analizi yapılacak numuneler 450 cm<sup>-1</sup> ve 4000 cm<sup>-1</sup> dalga boyu aralığında incelenmiştir.

## **1.8. TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM) ANALİZ CİHAZI**

Yalıtkan madde özelliği gösteren üretimini gerçekleştirdiğimiz nanolifli yüzeylere ait numunelerin SEM görüntüsünün elde edilebilmesi için numuneler glutaraldehitli kaplara alınıp kurutulma işlemi gerçekleştirildikten sonra Altın – Paladyum alaşımı ile kaplanarak iletken hale getirilmiştir. Numune kaplama uygulaması için Quorum® marka SC7620 model kaplama cihazı kullanılmıştır (Şekil8.1.). Kaplama cihazı başlık kısmında yer alan Altın - Paladyum alaşımının vakum basıncı altında oluşturulan Argon plazması yardımıyla alaşım buharlaştırarak numune üzerine etki etmek sureti ile numunelerin kaplanması sağlanmaktadır. Kullanılan elektrik akımı değeri ve kaplama süresi numune üzerinde oluşan kaplama kalınlığını belirlemektedir. SEM görüntülemesi öncesinde numuneler 25 mA akım altında 120 saniye boyunca kaplanır. Elektron mikroskobu görüntülerinin elde edilmesi için yer alan ZEISS® marka EVO MA 10 modeli taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. SEM cihazı içerisinde oluşturulan vakum altında numunelerin morfolojik özellikleri incelenmektedir.

Kaplaması gerçekleştirilmiş olan numuneler örnek tutucu kaplara karbon iletken bant yardımıyla tutturulduktan sonra SEM cihazı içerisindeki eksenel yönlendirme tablasına kilitlenmiş ve cihaz vakum yüksek moduna alınmıştır. SEM cihazı vakum haznesi içerisindeki vakum basıncının, görüntüleme için gerekli uygun değer olan  $5 \times 10^{-2}$  mbar değerinin altına düşmesi beklenmiştir. Numuneler 8 – 8.5 – 9mm çalışma mesafesinde, 10 kV hızlandırma voltajı (EHT) kullanılarak görüntülenmiştir. Numune üzerinden saçılan elektronlar İkincil Elektron Detektörü (SE1) yardımıyla toplanarak yüzey görüntüleri elde edilmiştir (J. Xu ve ark 2009). Numuneler 1K – 2.5K – 5K – 10K büyütme oranlarında büyütülerek görüntülenmiştir (Şekil8.2).



Şekil 8.1. Quorum® SC7620 Kaplama Cihazı



Şekil 8.2. ZEISS® EVO MA 10 Taramalı Elektron Mikroskobu

## **1.9. DENEYSEL YANIK MODELLERİ**

### **1.9.1. Hayvan Modellerinin Kullanımı**

Hayvan modelleri, yanık fizyopatolojisini ve tedavi yöntemlerinin etkinliğini anlamak için vazgeçilmezdir. Bu modeller, insan yanık yaralanmalarını taklit ederek, tedavi yöntemlerinin prelinik aşamada değerlendirilmesine olanak tanır. Sıçanlar, yanık araştırmalarında sıkça kullanılan bir hayvan modelidir. Sıçan modelleri, yara iyileşmesi süreçlerini incelemek için uygun bir sistem sunar ve insanlardaki yanık fizyopatolojisine benzer tepkiler gösterir. Sıçanların uygun maliyetli olması, kolay bakım gerektirmesi ve hızlı üreme döngüsüne sahip olması, bu modellerin tercih edilme nedenleri arasındadır (Andrews CJ 2017).

### **1.9.2. Yanık Modelinin Oluşturulması**

Yanık modelinin oluşturulması, yanık araştırmalarında kritik bir adımdır. Bu süreç, yanık derinliğinin ve alanının kontrol edilmesi, yanık indüksiyon tekniklerinin doğru uygulanması ve standartlaştırılmış prosedürlerin kullanılması gibi faktörleri içerir.

### **1.9.3. Yanık Derinliği ve Alanı**

Yanık derinliği ve alanı, yanık modelinin ciddiyetini ve tedavi yöntemlerinin etkinliğini belirlemek için önemli parametrelerdir. Yanık derinliği, epidermis, dermiş ve daha derin dokuların etkilenip etkilenmediğine göre sınıflandırılır. Yanık alanı ise, yanığın vücut yüzey alanının yüzde kaçını etkilediğini ifade eder (Sheridan RL 2003).

### **1.9.4. Yanık İndüksiyon Teknikleri**

Yanık indüksiyon teknikleri, deneysel yanık modellerinde yanığın oluşturulması için kullanılan yöntemlerdir. Bu teknikler arasında sıcak su, sıcak metal, alev ve kimyasal maddeler kullanılarak yanık oluşturma yöntemleri bulunur. Her bir teknik, yanığın derinliğini ve alanını kontrol etmek için farklı avantajlar sunar (Andrews CJ 2017).

## **Boykin Yanık Modeli**

Boykin yanık modeli, yanık araştırmalarında yaygın olarak kullanılan bir deneysel modeldir. Model, deride tekrarlanabilir ve standart yanık yaraları oluşturmak için kullanılır. Cihazın dişi, yanık yaralarının oluşturulacağı alanları belirler. Cihaz, belirli bir sıcaklığa (genellikle 100-120°C) kadar su içinde ısıtılır ve hayvanın derisine belirli bir süre (genellikle 10-30 saniye) boyunca uygulanır. Bu işlem, cihaz bölgelerde deriyi yanık oluşturacak şekilde etkiler (Regas FC ve ark 1992). Yanık Modelinin Avantajları arasında tekrarlanabilir ve standart yanık yaraları oluşturmasıdır, bu da araştırma sonuçlarının karşılaştırılabilirliğini artırır. Model, yanık yaralarının genişliğini ve derinliğini kontrol etme olanağı sağlar, bu da yanık progresyonunu ve tedavi etkilerini değerlendirmede önemlidir. Yanık araştırmalarında farklı tedavi yöntemlerini ve yanık sonrası iyileşme süreçlerini incelemek için geniş bir uygulama alanı sunar. Model, yatay yüzey genişlemesini değerlendirirken, yanık derinliğinin dikey progresyonunu yeterince değerlendirmez. Bu durum, yanık yaralarının tam patofizyolojisini anlamada kısıtlayıcı olabilir (Abdullahi A ve ark 2014). Sıçan veya fare modelleri, insan yanık yaralarının tam olarak taklit edilmesinde sınırlamalara sahip olabilir. Bu nedenle, bulguların klinik uygulamalara aktarılmasında dikkatli olunmalıdır (Gibran NS, Heimbach DM 2000).

### **1.9.5. Deneysel Yanık alışmalarında Değerlendirme Yöntemleri**

Deneysel yanık çalışmalarında kullanılan değerlendirme yöntemleri, tedavi yöntemlerinin etkinliğini ve yanığın iyileşme sürecini belirlemek için kullanılır. Bu yöntemler arasında histolojik değerlendirme, biyokimyasal analizler ve klinik gözlemler bulunur (Gibran NS, Heimbach DM 2000).

### **1.9.6. Histolojik Değerlendirme**

Histolojik değerlendirme, yanık yarasının mikroskopik düzeyde değerlendirilmesini sağlar. Bu değerlendirme, yara iyileşme sürecinin farklı aşamalarını ve hücresel değişiklikleri analiz etmek için kullanılır. Histolojik analizler hematoksilin ve eozin (H&E) boyama, immünohistokimya ve elektron mikroskobu gibi teknikler kullanılarak yapılır. Yanık iyileşmesinde histopatolojik incelemeler, yara iyileşme sürecinin detaylı bir şekilde anlaşılmasına yardımcı olur. Epitelyalizasyon, granülasyon dokusu oluşumu, anjiyogenez, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, kollajen depozisyonu ve fibroblast aktivitesi gibi parametreler, iyileşme

sürecinin farklı aşamalarını değerlendirmek için kritik öneme sahiptir. Bu parametrelerin incelenmesi, yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine ve mevcut tedavilerin etkinliğinin değerlendirilmesine katkı sağlar. Epitelyalizasyon, yanık yarasının yüzeyinde yeni epidermal hücrelerin oluşumu ve yayılması sürecidir. Bu süreç, yara yüzeyinin kapatılması ve enfeksiyon riskinin azaltılması açısından kritik öneme sahiptir. Histopatolojik olarak, epitelyal hücrelerin proliferasyonu incelenir.

Granülasyon dokusu, yara iyileşmesinin bir parçası olarak oluşan yeni bağ dokusudur. Bu doku, fibroblastlar, kollajen lifleri ve yeni kan damarları (anjyogenez) içerir. Histopatolojik inceleme, granülasyon dokusunun yoğunluğunu, fibroblast aktivitesini ve kollajen birikimini değerlendirebilir (Traber DL ve ark 2001). Anjyogenez, yeni kan damarlarının oluşumudur ve yara iyileşmesi için gerekli oksijen ve besinlerin sağlanmasında önemli rol oynar. Histopatolojik inceleme, yeni kan damarlarının sayısını ve yoğunluğunu değerlendirir. İnflamatuvar yanıt, yara iyileşmesinin erken evrelerinde kritik bir rol oynar. Histopatolojik olarak, yara bölgesindeki inflamatuvar hücrelerin (nötrofiller, makrofajlar, lenfositler) sayısı ve türleri incelenir. Bu hücrelerin varlığı, enfeksiyon kontrolü ve doku onarımı açısından önemlidir. Fibroblastlar, kollajen ve diğer bağ dokusu bileşenlerinin sentezinden sorumlu hücrelerdir.

Histopatolojik olarak, fibroblastların sayısı, aktivitesi ve morfolojisi incelenir. Aktif fibroblastlar, yara iyileşmesi sürecinde önemli rol oynar. Yanık yaralarında hücresel hasar ve ölüm yaygındır. Histopatolojik inceleme, nekrotik hücrelerin ve apoptoz belirtilerinin (programlanmış hücre ölümü) varlığını değerlendirir.

Bu parametreler, yanığın ciddiyeti ve iyileşme süreci hakkında bilgi sağlar. Keratinizasyon, epidermal hücrelerin keratin üretmesi ve cilt yüzeyinde koruyucu bir tabaka oluşturma sürecidir. Histopatolojik inceleme, keratin tabakasının kalınlığını ve düzenini değerlendirir (Tobalem M ve ark 2020). Yara iyileşmesi sırasında aşırı kollajen birikimi ve fibroblast aktivitesi, skar dokusunun oluşumuna yol açabilir. Histopatolojik olarak, skar dokusunun yoğunluğu, hücre kompozisyonu ve kollajen düzeni incelenir. Ekstraselüler matriks, hücreler arasındaki yapısal destek sağlayan kompleks bir protein ağıdır. Histopatolojik inceleme, ECM bileşenlerinin (kollajen, elastin, proteoglikanlar) düzenlenmesini ve kompozisyonunu ayrıca değerlendirir (Singer AJ, Clark RA 1999).

### **1.9.7. Biyokimyasal Analizler**

Biyokimyasal analizler, yanık yarasında meydana gelen biyokimyasal değişiklikleri belirlemek için kullanılır. Bu analizler, inflamatuvar belirteçler, büyüme faktörleri, oksidatif stres belirteçleri ve enzim aktivitesi gibi parametreleri ölçer. Biyokimyasal analizler, ELISA, Western blot ve enzimatik testler gibi tekniklerle gerçekleştirilir (Gilaberte Y ve ark 2016).

### **1.9.8. Klinik Gözlemler**

Klinik gözlemler, yanık yarasının makroskopik özelliklerini ve tedavi yanıtını değerlendirmek için kullanılır. Bu gözlemler, yara kapanma süresi, ödem, kızarıklık, skar oluşumu ve enfeksiyon gibi parametreleri içerir. Klinik gözlemler, tedavi yöntemlerinin etkinliğini belirlemek ve tedavi sürecini optimize etmek için önemlidir(Kaddoura I . ve ark 2017).

### **1.10. Literatür Taraması**

Global olarak akut ve kronik yaralar toplumun refahı üzerinde önemli bir etkiye sahip olup, sağlık sosyal güvence sistemleri için de önemli maddi yükler getirmektedir (G. Han ve ark.2017). Yara iyileşmesi, derinin koruyucu bir duvar olarak işlevini sürdürmesini sağlayan çok önemli ve organize bir periyoddur. Doğal yara iyileşmesi üç ana aşamada gerçekleşir: enflamasyon, büyüme ve yeniden şekillenme. Yara iyileşmesinde Basınç, sıcaklık, oksijen saturasyonu ve nemlilik gibi faktörler önemli bir rol oynar (G. Broughton ve ark 2006). Geçmişten günümüze olan süreçte yarayı enfeksiyondan korumak, iyileşme sürecini hızlandırmak için yara örtüleri geliştirilmiştir. Geleneksel örtüler düşük maliyetleri nedeniyle yaygın kullanılmaktadır, ancak yaranın nemliliğini koruyamamaları, dokuya invazyonları ve enfeksiyonların girişini önlemede etkisizliği gibi bazı limitasyonları mevcuttur. Geleneksel yara örtülerinin limitasyonları nedeniyle, çalışmalar yara iyileşme sürecindeki çok yönlü engelleri ortadan kaldırmak için modern yara örtüleri geliştirmeye odaklanmıştır (J. B. Kus ve ark 2020). Modern yara örtüleri biyoyoumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, eksuda yönetimi, gaz geçirgenliği, nem düzenlemesi, mikrobiyal inhibisyon ve mekanik stabilite gibi önemli avantajlara sahiptir (D. Simoes ve ark 2018).

Modern yara örtüleri hidrokolloidler, aljinatlar, köpükler, filmler ve membranlar dahil olmak üzere çeşitli formlarda bulunmaktadır. Elektrospinning yöntemi ile yara örtü malzemeleri nanofibröz yapıda üretilebilirler ve bu malzemeler doğal ekstra selüler matriks yapısındaki kolajen, fibronektin gibi fiberlerin yapısını taklit edebilirler. Bu özellik elektrospun yara örtü malzemelerine geçirgen bir iskelet sağlarken hücrelerin büyümesi ve invazyonu için imkân sağlanır. Elektrospinning tekniği ile üretilen malzemelerin porları küçük olduğu için bakterilerin invazyonuna izin (N. Ketabchi ve ark 2021).

Polivinil alkol (PVA), non toksik yapısı ve biyouyumluluğu ile modalize edilen termoplastik bir polimerdir. Hidrofilik ve suda çözünür özelliklere sahip olan PVA aynı zamanda biyolojik olarak parçalanabilir, yapısındaki -OH grubu hidroliz yoluyla bozunabilirliğin artmasına katkıda bulunur. Ayrıca PVA elektrospinning metodu ile işlenebilen, gerekli kimyasal ve termal stabiliteye sahip sentetik bir polimerdir bunun yanı sıra canlı dokularla etkileştiğinde herhangi bir toksisite oluşturmamaktadır (M. Foroutan Koudehi ve ark 2020)

Canlı modeller, yara iyileşmesini incelemek için en öngörücü modeller olmaya devam etmektedir ve çeşitli hücre tipleri, çevresel ipuçları ve parakrin etkileşimleri de dahil olmak üzere yara ortamının gerçekçi bir temsiline olanak tanımaktadır. Seçilen model, lezyonun doğru bir şekilde yeniden üretilebilirliği, birden fazla araştırma olanağı, birden fazla biyopsi örneği elde etme yeteneği, hayvan tesisleriyle uyumluluk, kullanım kolaylığı ve değerli sonuçlar elde etmek için gereken zaman gibi özellikleri dikkate alınmalıdır. İdeal model, insan fizyolojisinin belirli yönlerini temsil eden ancak deneyler için insan gönüllülere ihtiyaç duymayan bir modeldir. Küçük hayvanlar genellikle insanlara kıyasla daha hızlı iyileşme süresine sahiptir ve bu nedenle deney süresi, insan çalışmalarındaki haftalar veya ayların aksine günler sürer. En yaygın kullanılan türler sıçanlar ve farelerdir. Kemirgen ve insan derisinin yapısı ve fizyolojisi arasında belgelenmiş farklılıklar olmasına rağmen, bu farklılıklar göz önünde bulundurularak tasarlanmış yara iyileştirme çalışmaları değerli çevirisel bilgiler sağlayabilir. Kemirgenlerin barındırılması, elleçlenmesi ve bakımı kolaydır ve araştırma amaçları için çok çeşitli spesifik reaktifler mevcuttur (Wong VW ve ark 2011)

Kemirgenlerin derisi, yaralanmadan sonra hızlı yara büzülmesine neden olan panniculus carnosus tabakasına (sadece insanlarda boynun platismasında bulunan ince bir kas tabakası) sahip olması bakımından benzersizdir. Bunun aksine, insan yaraları yeniden epitelizasyon ve granülasyon dokusu oluşumu yoluyla iyileşir; bunlar kemirgen çalışmaları için çevirisel alaka düzeyini değerlendirirken dikkate alınması gereken önemli farklılıklardır. Deneyleri tasarlarken dikkate alınması gereken bir diğer nokta da cilt anatomisi ve fizyolojisindeki cinsiyet farkıdır. Örneğin, erkek cildi çok daha kalın bir dermis nedeniyle %40 daha güçlüdür, kadın cildi ise daha kalın bir epidermis ve deri altı tabakasına sahiptir. Bu farklılıklara rağmen, bu modeller cilt biyolojisi ve hastalıkları anlayışımıza önemli katkıda bulunmuştur. Deneyimlerimize göre, yara iyileştirme çalışmalarında kemirgenleri kullanırken sıçanların farelerden daha iyi bir seçim olduğuna inanıyoruz. Bunun bazı nedenleri, aralarındaki cilt farkı ve farelerin küçük boyutudur. Fare derisi incedir ve sıçan derisine kıyasla daha az keratinosit katmanına sahiptir ve yaralar yaklaşık 7 günde iyileşirken, sıçanlarda iyileşmeyi yaklaşık 12-14 günde değerlendirmek mümkündür. Yara boyutu hayvan boyutuyla orantılı olmalıdır ve bu nedenle farelerdeki yaralar sı anlardakinden daha küçüktür ve hızlı iyileşir. Ancak analiz için minimum örnek boyutu gerektiren deneylerde fareler daha uygun olabilir. Daha büyük bir örnek boyutu gerektiğinde, bir hayvanda birden fazla yara a ılabildiğinden sıçanlar veya tavşanlar gibi daha büyük bir hayvan daha uygun olacaktır (Gottrup F ve ark 2000).

Çalışmamızda öncelikle yanık modeli seçmemizdeki amaç ratlarda oluşan yanık uygulamalarına karşı dokuların hızlıca cevap oluşturması ve kimyasal yanıklarda ortaya çıkan koroziv ve mortal sonuçlara oranla daha az yol a ması nedeniyle bu yöntem seçilmiş olup Moghan ve ark yaptığı çalışmada kimyasal ajanlarla olan deneysel çalışmada ratların daha çok koroziv maddeye maruz kaldığı ve ratlardaki mortalite oranlarının arttığından bahsetmektedir,ayrıca Goto ve ark  alışmasındada kkimyasal alakli yanıkların ratlarda yanık sahasını kontrolsüz olarak arttırdığı ve çalışma sonuçlarına olumsuz etkilerininide l mitasyonları olarak belirtmiş olup çalışmamızdaki gibi en ideal deneysel modelin yanık modeli olan Boykin modeli ile uygulanması ratlardaki mortaliteyi ve travmatik alanın kontrolsüz yayılması gibi negatif durumları ortadan kaldırdığı görüşünde olmaktadır (Moghan M ve ark 2023, Goto H ve ark. 2024).

Bu tez çalışmamız kapsamında elektrospinning yöntemi kullanılarak, PVA ile kombine edilmiş Hyaluronik asit, Kollajen ve Epidermal büyüme faktörü yüklü nanoliflere depolanmış bir örtü maddesi oluşturarak fonksiyonel yeni bir yara örtüsü üretilmiştir. Üretilen nanolif yara örtüleri gözenekli ve fibroblastların yüzeyi örtmelerine olanak sağlayan yapılarıyla etken maddelerin aktivitesi ve gücünü artırarak semi- hava geçirgenliği ve biyouyumluluk özellikleri sayesinde de ortaya çıkmış yanık yaralarının hızlı iyileşmesini ve rejenerasyonunu sağlayacağı ve enfektif proseslerin gücünü azaltarak etkili olacağı düşüncesi ve hipoteziyle bu çalışma ortaya konmuştur.

Son zamanlarda fonksiyonel yara örtüsü oluşturmak amacıyla nanolifler kullanılmaktadır (Şekil 1.1). Nanolif oluşumunda şablon sentezi, faz ayrımı, moleküllerin kendiliğinden bir araya gelmesi ve elektro eğirme yöntemi kullanılmaktadır. Elektro eğirme yöntemiyle elde edilen nanolifler birim hacim başına geniş yüzey alanına sahiptir. Ayrıca bu yapılar ilaç/etken madde ya da diğer fonksiyonel maddelerin katılımına imkân vermektedir. Böylece nanolifler ilaç taşıyıcı sistemler veya ilaç salınım sistemleri olarak kullanılmaktadır (Süpüren K 2007). Yüksek yüzey alanı aynı zamanda hücre solunumunu, deri yenilenmesini, eksüdanın (dışarı sızma) engellenmesini ve hemostazı desteklemektedir (Zhang ve ark 2005).

Yara tedavisi alanında, global olarak yara örtüleri önemli bir yer tutmaktadır ve dünya genelinde bu konuda yapılan araştırmalar ve uygulamalar hızla gelişmektedir. Yara örtüsü, yaranın nemli ve steril bir ortamda kalmasını sağlayarak iyileşme sürecini hızlandırır. Yara örtüleri için farklı polimerler kullanılarak elektroegirme yöntemiyle oluşturulan nanoliflerden oluşan membranlar öne çıkmaktadır. Bu membranların biyolojik etkinliklerini ve mekanik özelliklerini iyileştirmek amacıyla inorganik ve organik bileşenler farklı oranlarda bir araya getirilmekte ve yara bölgesinde daha hızlı iyileşme sağlanmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında PVA polimerleri ve Hyaluronik asit, Kollajen ve EGF ayrı olarak bir araya getirilerek elektrospinning yöntemiyle yara örtü üretimi optimizasyon çalışması gerçekleştirilecektir. Literatürde travmaya bağlı oluşan yaralar için yara iyileşmesini hızlandıran birçok örtü materyali hazırlanmıştır. Demling ve ark tarafından ilk olarak yanık tedavisinde merhemler, kremler ve biyolojik olan ve olmayan farklı pansumanlar kullanılmıştır (Demling RH 1985). Richard JW ise İdeal ve uygun tedavi için yaranın iyileştirilmesini sağlamakla beraber skar oluşumunu da en aza indirgenmesi görüşünü öne sürmüştür. (Richard JW 2002).

Genel olarak, yara örtüleri doğada bulunan biyouyumlu ve asidik ya da bazik gibi yakıcı yapıda olmayan, inorganik antimikrobiyal maddeler, biyolojik özler ve doğal antimikrobiyal maddeler gibi antibakteriyel malzemelerin eklenmesiyle elde edilir. Yue Li ve ark yara iyileşmesini hızlandırmak için EGF içeren nano sprey yapmış ve *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel etkinliğe sahipliğini göstermişlerdir. Ayrıca bu örtünün 0-500 µg/mL konsantrasyon aralığında normal fibroblastlara toksisite oluşturmadığını ve daha güvenli olduğunu göstermişlerdir. Daha da önemlisi, EGF ile modifiye edilmiş örtünün normal fibroblastlar üzerinde mükemmel çoğalma etkileri gösterdiğini bulmuşlardır. Birlikte ele alındığında, bu veriler geliştirilen nano yara örtüsü spreyin güvenli, toksik olmayan ve yara iyileşmesini desteklediğini göstermiştir (Li Y ve ark 2021).

Chandana Mohanty ise diyabetik yara iyileşmesi için mezenkimal kök hücre yüklü insan epidermal büyüme faktörü-kurkumin bandaj biyokonjugatı yapmışlar ve Yaraların kapanmasında, EGF-Cur tedavi gruplarında iyileşmenin diğer gruplara kıyasla önemli ölçüde daha fazla gözlemlendiğini göstermişlerdir. Bu noktada, kurkuminin yanı sıra büyüme faktörü EGF 'nin aynı anda daha iyi diyabetik yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığı hipotezini öne sürmüşlerdir (Mohanty C ve ark 2020). A. Chandra ve ark çalışmasında ise, EGF de dahil olmak üzere büyüme faktörlerinin EGFR sinyallemesini indükleyerek kök hücrelerin çoğalmasını ve çoklu potansiyelini desteklediğini ileri sürmüşlerdir (A. Chandra ve ark 2013). Winter ve ark yaptığı çalışmada ise EGF'nin öncelikli olarak yara iyileşmesinin ilk aşamasında gerekli olduğunu doğrulamıştır, bu nedenle araştırmacılar yara iyileşmesinin ilk aşamasında EGF'yi bir takviye olarak kullanmayı denemişlerdir. EGF'nin eklenmesi, yaralı bölgede proteolitik bozunması nedeniyle kalıcı diyabetik inflamasyonu engellemede başarılı olmamıştır (G.D. Winter ve ark 2006). Ayrıca yüksek glikoz tarafından indüklenen oksidatif stres, diyabetik yara iyileşmesinin kalıcı komplikasyonları için temel bir patogenezdır ve aynı zamanda kök hücre tedavisine engel teşkil eder. Mevcut kurulumda, diyabetik inflamasyon, inflamasyonun azaltılmasına yardımcı olan antioksidan ve anti-inflamatuar ilaç kurkumin tarafından tedavi edilebilir ve bu da EGF'nin kalıcı kullanılabilirliğini daha da sağlayabilirliği görüşüne varmışlardır. Buna göre de sonuçlarında EGF-Cur ile tedavi edilen grupların 7. güne kadar gözlemlendiği gibi herhangi bir inflamasyon belirtisi göstermediğini ve 12. günde de EGF-Cur ile tedavi edilen yaraların diğer gruplara kıyasla önemli bir iyileşme yanıtı gösterdiği gözlemlenmişlerdir.

Ai-Ho Liao ve ark ise Yara İyileştirme Uygulamaları İçin Pansumanlarda Ultrason Aracılı EGF Kaplı Mikro Kabarcık Kavitasyonu çalışması yapmış olup çalışmada, yara iyileşmesini artırmak için bir yara pansumanında US aracılı sıvı tipi epidermal büyüme faktörü (EGF) kaplı lizozim mikro kabarcık (LYMB) kavitasyonunun değerlendirilmesi için yeni bir tedavi modeli araştırılmıştır (Ai-Ho Liao ve ark 2018). EGF'nin LYMB'ler üzerine maksimum yükleme etkinliği  $19,40 \pm 0,04$ 'tür. İn vitro tedavi etkinliği açısından, LYMB'leri  $3 \text{ W/cm}^2$  US'ye maruz bırakılan grupta *Staphylococcus aureus*'un büyümesi  $97,50 \pm 1,50$  oranında engellenmiştir. 21 günlük in vivo yara iyileştirme deneyleri sırasında, ilk 6 gün içindeki iyileşme oranı, EGF-LYMB pansumanlı ve US maruziyetli grupta (6. gün:  $54,28 \pm 3,26\%$ ) kontrol grubuna göre (6. gün:  $26,36 \pm 3,34\%$ ) önemli ölçüde daha yüksek bulunmuş olup ( $p < 0,05$ ). Sonuçlar, yeni modelin yara iyileşmesi sırasında *S. aureus*'u inhibe edebileceğini, neovaskülarizasyonu ve yara iyileşmesini destekleyebileceğini ve bir yaranın prognozunu önemli ölçüde iyileştirebileceğini doğrulamakta olup tedavi süresini önemli ölçüde azaltabileceğini yönünde raporlanmıştır.

Eskandarinia ve ark yaptığı yara örtü çalışmasında ise mısır özü HA ve propolis kombine edilmiş ve üretilen film pansumanlarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivitesi disk inhibisyon zonu testi ile bakılmış ve Film pansumanlarının hiçbirinde *Pseudomonas aeruginosa* suşları için herhangi bir inhibisyon zonu gösterememişlerdir bu da HA'nın antibakteriyel aktivitesinin olmadığını düşündürmüştür. Ayrıca, CS ve CS/HA'nın katı plakalarında hiçbir inhibisyon zonu oluşmadığı; bu da CS (mısır özü) ve HA'nın antibakteriyel aktivitesinin olmadığı görülmüştür. Ancak, EEP (propolis) içeren CS/HA film pansumanları, film pansumanlarının altındaki temas yüzeyinde antimikrobiyal aktivite gösterdi. CS/HA/0,25% EEP'yi çevreleyen berrak bölgeler gözlemlenmesine rağmen, antibakteriyel etkiler istenenden uzaktı. CS/HA/0.5% EEP ve CS/HA/1% EEP, film pansumanları arasında en fazla antibakteriyel etkiyi göstermiştir. En iyi aktiviteler *Escherichia coli* ( $4.33 \pm 0.27 \text{ mm}$ ), *Staphylococcus aureus* ( $4.68 \pm 0.12 \text{ mm}$ ) ve *Staphylococcus epidermidis*'e ( $2.92 \pm 0.26 \text{ mm}$ ) karşı olmuş şeklinde raporlanmıştır, yapılan FTIR analizlerinde göre de kimyasal etkileşimlere veya yeni bağ oluşumuna dair hiçbir kanıt gözlenmemiş olup ve bu malzemelerin fiziksel etkileşimler yoluyla etkileşime girdiği düşünülmüş olup hyaluronik asit ve propolis

içeren mısır nişastası bazlı HA yara örtüsünün, deri onarımı için etkili bir yara örtüsü malzemesi olarak kullanılma potansiyeli olduğu görüşüne varmışlardır (Eskandarinia A ve ark 2019)

Qiu ve ark. İse sıçanlarda fibroblastların yara kolajeni üretimi üzerindeki etkilerini incelediler ve yara bölgesine nakledilen fibroblastların kolajen üretimini önemli ölçüde artırmadığını buldular. Çalışmada ayrıca fibroblastların ve kollajen hidrojellerinin diyabetik yaraların iyileşmesi üzerindeki etki mekanizması açısından, bu hücrelerin fibroblast sayısını artırdığı ve dolayısıyla salgılarını artırdığı görülmüştür (Qiu Z ve ark 2007)

Shen ve ark ise kollajenle tedavi edilen gruptaki diyabetik sıçanların yaralarının kontrol grubuna kıyasla yara iyileşmesini hızlandırdığını ve tedaviden sonraki 18. günde tam iyileşmeye ulaştığını gösterdi. Chen ve arkadaşları, pepsin çözünür kolajen sünger (PCS), asit çözünür kolajen sünger (ACS), sığır kolajen elektroegirme I (BCE I) ve sığır kolajen elektroegirme II (BCE II) olmak üzere dört farklı türde yara pansuman malzemesi üretti ve bunları tam kalınlıkta bir yara modeli kullanarak SD sıçanlarında test etti. 14 günlük çalışmadan sonra, PCS, ACS, BCE I ve BCE II ile tedavi edilen gruplar, kontrol, sığır kolajen sünger ve yaraoplastı gruplarına kıyasla daha iyi yara iyileştirme yetenekleri, toplam protein ve hidroksiprolin içeriği, fibroblast proliferasyonu ve kolajen sentezi gösterdi (J. shen 2020). Moura ve diğerleri, diyabetik yaralara Nörotensin sağlamak ve yara iyileşmesini hızlandırmak için fare kuyruğu kolajeninden yapılmış yara pansumanları üretti. Yaralanmadan sonraki 3. günde, NT yüklü kolajen diyabetik yara boyutlarını %17 ( $<0,001$ ) oranında azalttı ve ECM'nin inflamatuvar infiltrasyonunu ve MMP-9 proteolitik bozunmasını azalttı. Ayrıca yara bölgesinde kolajen ekspresyonunu, doku granülasyonunu ve birikimini indükleyerek daha yapılandırılmış bir kolajen matrisi ile sonuçlandı (L.I.F. Moura 2014)

Yara iyileşmesinde, özellikle iyileşme sürecine dahil olan genlerin hedefe yönelik olarak susturulması yoluyla küçük interfering RNA'ların (siRNA'lar) kullanımı önemli bir araştırma konusu olmuştur. Kronik yara vakalarında, matriks metalloproteinaz 9'un (MMP-9) aşırı ekspresyonunun iyileşme sürecini engellediği gösterilmiştir. Bu keşif ışığında Lan ve arkadaşları, Pluronic F-127 (PF) ve metilselülozdan (MC) oluşan ve spesifik bir MMP-9 siRNA'nın (siMMP-9) yara bölgesine sürekli olarak iletilmesini ve böylece MMP-9 ifadesinin aşağı regülasyonunu sağlamak üzere tasarlanmış hibrit bir örtü geliştirmiştir (Lan ve ark

2021). Bu bulgular akut-kronik yaraların iyileşmesini hızlandırmak için umut verici ve yenilikçi bir tedavi yaklaşımı önermektedir.

Özetle, yanık yarası için örtüler doku bütünlüğünü sağlamada ve iyileşmeyi ivmelendirmede en etkili sistemler olarak kabul edilmektedir. Genetik düzeydeki nano düzeyde ajanlar hücre çoğalmasını, neo vaskülarizasyonu ve re epitelizasyonu teşvik etmede önemli ölçüde umut verse de yine de bu ürün ve malzemelerin bileşimi hala yeni oluşma ve gelişme aşamasındadır. Laboratuvar araştırmalarından klinik uygulamalara ve faz çalışmalarına başarılı bir geçiş için, gen terapilerinin aktivasyon mekanizmalarının ve farmakodinamiklerinin yanı sıra biyoürünlerin yapısal, işlevsel ve fizyolojik etki mekanizmalarının değişkenliği özelliklerinin ve moleküler düzeyde tepkilerini düzenleyen mekanizmaların tam olarak aydınlatılması önem ve gereklilik arz etmektedir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'nın 04.08.2022 tarihli 6/8 karar numaralı onayı ve TTU-2023-2021-48 proje numarası ile Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu desteğiyle yürütülmüştür.

Bu çalışmada “WMA Helsinki Deklarasyonu-İnsanlar ile yapılan Tıbbi Araştırmalarda Etik İlkeler”, deney hayvanları ile yapılan çalışmalar için “Hayvanlar ile yapılan Biyotıp Araştırmalarında Uluslararası Rehber İlkeler” ve “Laboratuvar Hayvanlarının Kullanımı ve Bakımı için Kılavuz” direktiflerine uyulmuştur. Çalışmamız, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinde, preparat incelenmeleri Selçuk Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında ve SEM analizleri de Selçuk Üniversitesi İLTEK laboratuvarında yapılmıştır (Tablo 10.1.).

Çalışmamızda toplamda 40 adet, ağırlıkları 200-400 gram arasında değişen “Wistar Albino” sıçan kullanıldı. Uygun kafeslerde oda sıcaklığında olacak şekilde on iki saat aydınlık ve on iki saat karanlık koşullarda barındırıldı. Deneklerin beslenme ihtiyacı, standart laboratuvar yemi ve su verilerek düzenli olarak karşılandı (Şekil 2.1.)

Tablo 2.1. Grupların şematik gösterimi

| Gruplar         |                                | Sayı | Uygulama                                            |
|-----------------|--------------------------------|------|-----------------------------------------------------|
| <b>Grup I</b>   | Sham                           | n=10 | Sadece yanık (kendi kendine iyileşmesi incelenecek) |
| <b>Grup II</b>  | Epidermal buyume faktörü (EGF) | n=10 | Yanık + EGF                                         |
| <b>Grup III</b> | Hyaluronik asit (HA)           | n=10 | Yanık + Hyaluronik Asit (HA)                        |
| <b>Grup IV</b>  | Kollajen (KL)                  | n=10 | Yanık + Kollajen (KL)                               |

Ratlar randomize olarak 4 gruba ayrıldı (Her Grup 10'ar rat olacak şekilde).

1. Grup; (Sham) yanık sonrası bir uygulama yapılmadı
2. Grup; Yanık sonrası 0,3, 7.günlerde EGF ile oluşturulan yara bakım ürünü ile pansuman yapılacak grup
3. Grup; Yanık sonrası 0,3,7. günlerde Hyalüronik asit (HA) ile oluşturulan yara bakım ürünü ile pansuman yapılacak grup
4. Grup; Yanık sonrası 0,3,7.günlerde Kollajen ile oluşturulan yara bakım ürünü ile pansuman yapılacak grup



Şekil 2. 1. Gruplandırılmış Deney Hayvanları

## 2.1. Anestezi Uygulaması

Bütün gruptaki ratlara intraperitoneal 50 mg/kg Ketamin + 10 mg/kg Xsilazin uygulanarak anestezi sağlanmıştır. Ratların anestezi derinliği kulak, ayak ve pençeye sıkıştırma uygulanarak yanıt alma durumuna göre belirlenmiştir. Çalışmada ratlarda Boykin ve ark tarafından tanımlanan yara modellemesi kullanılmıştır. Tüm hayvan gruplarında ratlara dorsum orta hat  $\frac{1}{3}$ 'üne 1x1 cm büyüklüğünde yanık yarası oluşturuldu (Şekil 2.1.-3.)



Şekil 2.2. Ratlara Anestezik Enjeksiyonu



Şekil 2.3. Ratların deney süresi boyunca kaldıkları ortam

## Cerrahi Yara Oluşturulması

Ratlarda cerrahi yara modeli oluşturmak için öncelikli olarak elektrikli tıraş makinesi ile tüyler temizlenmiştir.



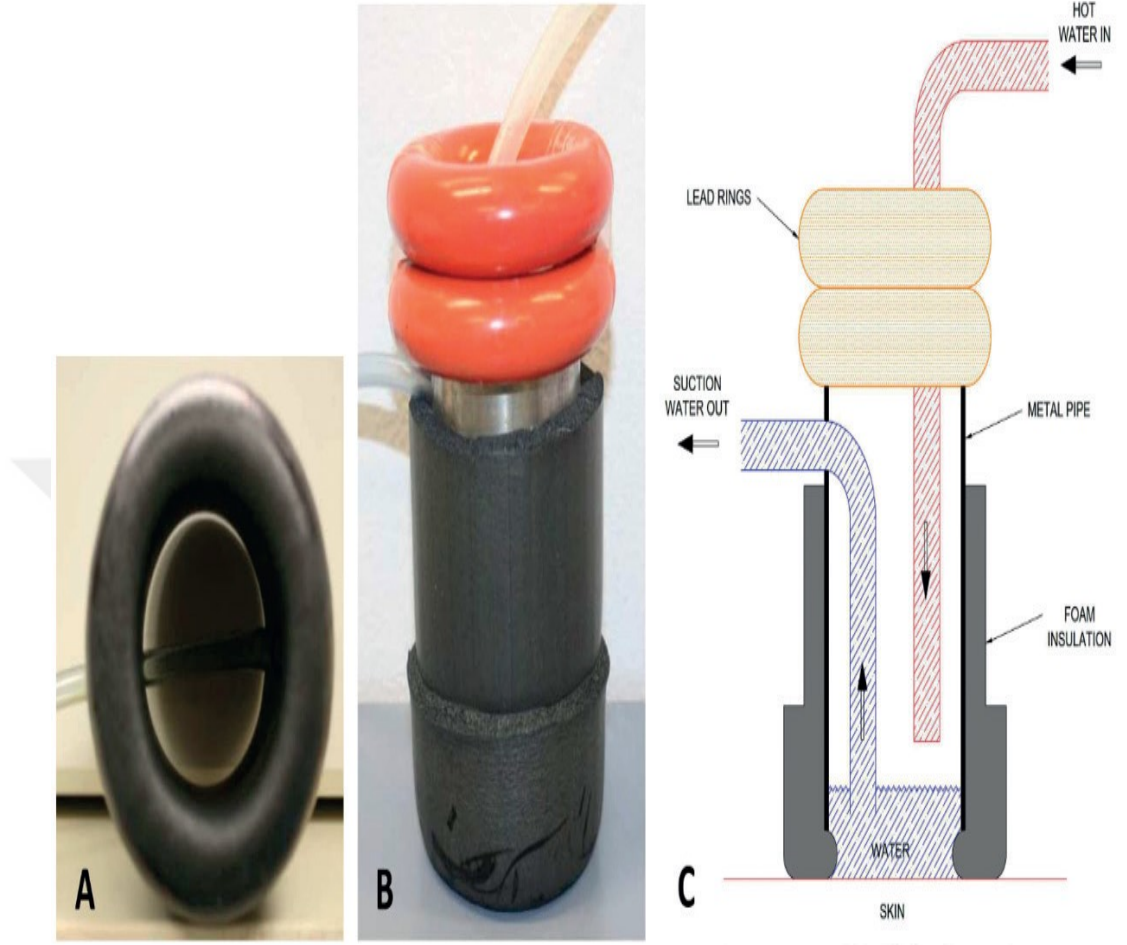
şekil 2.4. Tıraş makinesi ile ratlarda tüy temizliği

## 2.2. Boykin Yanık Modeli

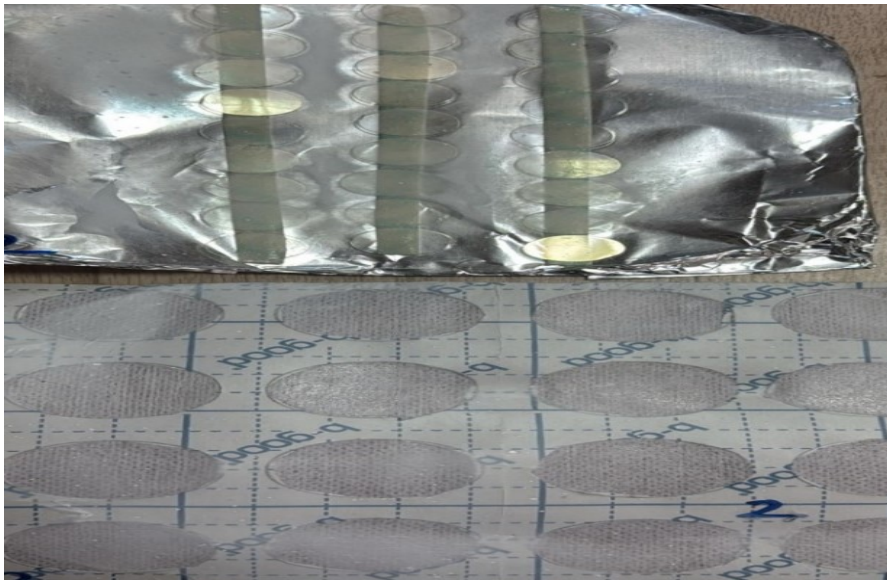
Ratlarda yanık modeli Boykin ve ark (1980) alışmasına göre oluşturuldu. Genel anestezi sonrası ratlar operasyon masasının üzerine flaster ile yapıştırıldı. Sırt bölgesi tamamen traş edilecek ve asepsi için polyvinylpyrrolidone (polyvidon iodine) 10% kullanıldı. Steril rt sonrası tüm cerrahi işlemler aseptik koşullarda uygulandı. Tam kat yanık modeli vücut yüzey alanının %5-10'unu kaplayacak kadar uygulandı. Metal plak (1x1 cm bakır) kaynamakta olan suyun içinde (100°C) yaklaşık 15 saniye bekletildikten sonra ratın sırtına basınç oluşturmayacak şekilde ortalama 20 saniye bekletildi. Yanık sonrası 2 mL Laktatlı Ringer solusyonu intraperitoneal olarak sıvı resüsitasyonu amacıyla tum ratlara uygulandı. (Boykin ve ark 1980) (şekil 2.4-5.).

Sham grubundaki deneklere günlük pansuman, kontrol grubu dışındaki deneklere gruplarına göre 3. ve 7. Günlerde hyaluronik asitli, kollajenli ve epidermal frowth faktör ile kaplanmış fiber örtüyle pansumanlar yapıldı. Yanık alanlarına eşit tedavi yapılabilmesi için yara örtüleri yara bölgelerine tatbik edildi. 14. gündeki eksizyonel biyopsi sonrası ratlar etik kurallara uygun olacak şekilde servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Toplamda elde edilen örnek materyalleri %10'luk

tamponlu formaldehit ve SEM analizi için de glutaraldehitli solüsyon ile uygun koşullarda saklandı (Şekil 2.6-8).



Şekil 2.5. Yanık oluşturulması için kapalı devre sıcak su sistemi. (Andrews CJ ve ark 2016)



Şekil 2.6. Elektrospon ile oluşturulmuş fiber örtüler



Şekil 2.7. Ratta yanık oluşturulan alan



Şekil 2.8. Ratta Yanık oluşturulan alanlar

### 2.3. Elektrospinning yöntemiyle nano lif üretimi

Elektro eğirme cihazı farklı moleküllerden nanolif üretilmesi için çok iyi bir yeteneğe sahiptir. Bu çalışmada nanoliflerin üretiminde elektro eğirme yöntemi kullanılmıştır. Elektro eğirmenin prensibi; hazırlanan çözelti enjektöre yerleştirilerek belirli bir mesafede alüminyum folyo üzerine nanolifler toplanmasıdır.

Elektrospin ile parametreleri ve çözelti yapısını değiştirerek, çeşitli nanolifler üretilmektedir.

Önerilen tezde gerçekleştirilmesi planlanan hedefler aşağıdaki gibidir:

1. Elektro eğirme yöntemiyle üretilmiş nanoliflerin sahip oldukları yüksek yüzey alanı ve nano-gözenek gibi avantajlar kullanılarak yara örtüsü molekülü içeren nanoliflerin üretilmesi hedeflenmiştir.
2. Özellikle yara üzerinde oluşabilecek enfeksiyon ajanlarına karşı da vücutla uyumlu, yara üzerinde kolayca uygulanabilen, gözenekli, gaz geçirgenliği iyi, mekanik dayanımı iyi ve çevre dostu fonksiyonel yara örtüsünün üretimi hedeflenmiştir.
3. Tez kapsamında elde edilen nanoliflerin yara örtüsü uygulamalarında kullanılabilirliği, biyouyumluluk davranışları ve termal etkileri belirlenirken karakterizasyonlarında FTIR ve SEM kullanılmıştır.
4. Türkiye’de ve dünyada elektro eğirme yöntemi nispeten yeni bir çalışma alanıdır. Bu tez çalışması Türkiye’de elektro eğirme yönteminde özellikle yara için nano lif üretimi için yeni çalışmalara ve uygulama alanlarına yol göstermesi hedeflenmiştir.

### 2.4. FT-IR Analizi

FT-IR, organik veya inorganik bileşiklerin analizi için kullanılan bir alettir. IR spektrumu, maddeyi meydana getiren atomlar arasındaki bağ moleküllerinin etkileşimiyle olan frekanslarına karşılık gelen emilim piklerini gösterirken, Her molekulun kendine özgü spektrumu vardır. Organik maddelerin spektrumların özellikle de  $2000\text{ cm}^{-1}$ ’den sonra ortaya çıkan kısımları daha inceliklidir. Bu bölgeye parmak izi bölgesi denir ve spektrumu iki kat daha fazla genişletilip alınır. Elektroeğirilmiş EGF/Hyaluronik Asit/Kollajen Esaslı örtü membranlarının FT-IR analizi Thermo Scientific Bruker 6700 FT-IR Spektrometre kullanılarak  $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$  aralığında gerçekleştirilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen nanolifli yüzeyin yapısını meydana getiren polimerin ve yün yağının kimyasal bağ yapıları Selçuk Üniversitesi

İleri Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Bruker marka FT/IR 4700 model FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir. Analizi yapılacak numuneler 450 cm<sup>-1</sup> ve 4000 cm<sup>-1</sup> dalga boyu aralığında incelenmiştir.

## **2.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analiz Cihazı**

Çalışmamızda Yalıtkan madde özelliği gösteren üretimini gerçekleştirdiğimiz nanolifli yüzeylere ait numunelerin SEM görüntüsünün elde edilebilmesi için numuneler glutaraldehitli kaplara alınıp kurutulma işlemi gerçekleştirildikten sonra Altın – Paladyum alaşımı ile kaplanarak iletken hale getirilmiştir. Numune kaplama uygulaması için Quorum® marka SC7620 model kaplama cihazı kullanılmıştır. Kaplama cihazı başlık kısmında yer alan Altın - Paladyum alaşımının vakum basıncı altında oluşturulan Argon plazması yardımıyla alaşım buharlaştırarak numune üzerine etki etmek sureti ile numunelerin kaplanması sağlanmaktadır. Kullanılan elektrik akımı değeri ve kaplama süresi numune üzerinde oluşan kaplama kalınlığını belirlemektedir. SEM görüntülemesi öncesinde numuneler 25 mA akım altında 120 saniye boyunca kaplanır. Elektron mikroskobu görüntülerinin elde edilmesi için yer alan ZEISS® marka EVO MA 10 modeli taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. Numuneler 8 - 8,5 – 9mm çalışma mesafesinde, 10 kV hızlandırma voltajı (EHT) kullanılarak görüntülenmiştir. Numune üzerinden saçılan elektronlar İkincil Elektron Detektörü (SE1) yardımıyla toplanarak yüzey görüntüleri elde edilmiştir. Numuneler 1K – 2.5K – 5K – 10K büyütme oranlarında büyütülerek görüntülenmiştir.

İşlemleri sırasıyla belirtecek olursak:

SEM değerlendirmesi için alınan rat biyopsileri Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış %5'lik glutaraldehit solüsyonunda 60 dakika bekletildikten sonra mumla kaplı petri üzerinde bistüri yardımıyla 1 mm<sup>3</sup>'lük segmentlere bölündü. Biyopsi örnekleri ardından bir daha glutaraldehit solüsyonuna alınarak takriben 180 dakika tespit yapıldı. Böylelikle parçalar toplamda 240 dakika tespit oldu. Ardından parçalar Millonig fosfat tamponunda 10 dk düzeyli şekilde santrifüj edildi. Parçalar ikinci kez Millonig fosfat ile irrigate olduktan sonra, Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış %1'lik osmium tetraoksit süspansiyonu ile tekrar tespitlendi ve tekrar fosfat tamponu ile iki defa 10'ar dakika irrigate edildi. Parçalar daha sonra sırayla dehidrate edildi:

% 50 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika

% 70 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika

% 86 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika

% 96 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika

% 100 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika

% 100 Etil alkolde + 4° C'de 15 dakika

Buraya kadar olan işlemler buzdolabında + 4° C'de yapıldı. Ardından aşağıdaki işlemler 24 derecelik oda ısısında uygulandı.

%100 Etil alkolde 15 dakika

Propilen oksitte 15 dakika

Propilen oksitte 15 dakika

**Dehidrate edilen parçalar daha sonra aşağıdaki süspansiyonlarda korundu:**

Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika

Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika

Bundan sonra parçaları içerisinde rezin (yeni hazırlanmış gömme materyali) bulunan tüplere alınarak ve bir gece boyunca rotatorda santrifüje edildi.

Gömme Materyali:

Araldit CY 212 20 ml

Sertleştirici HY 964 20 ml

Hızlandırıcı DY 064 0.6 ml

Plastikleştirici – Dibütil Fitalat 1 ml

Ertesi gün rotatordan alınan parçalar taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak Beem kapsüllere gömüldü ve 60 °C etüve arke 2 gün polimerize edildi. Ardından bloklar etüve arken çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Ultracut S ultramikrotomu ile 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve doku bloklarında uygun alanların seçimi yapıldı. Belirlenen alanlardan ultramikrotom ile 50 mm kalınlığında ince kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere alınarak % 70'lik etil alkolde hazırlanan doymuş uranil asetat ile Reynolds'un kurşun sitrat solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler Scanning Elektron Mikroskobu (Japan) ile incelendi ve mikrograflar elde edildi.

## **Işık Mikroskopik Yöntemler**

Histopatolojik inceleme için alınan skarlar kenarı 1 cm olan kare şeklinde sağlam cilt içeren bloklar halinde kesildi. Alınan tam kat deri biyopsi örnekleri % 10'luk formalin içerisine konulup 3 gün bekletilerek tespit olmaları sağlandı. Daha sonra Leica TP 1020 (Leica Biosystems, Germany) ototeknikon cihazı ile Tablo 10.2 'de belirtilen rutin doku takipleri yapıldı.

|                  |                    |                  |
|------------------|--------------------|------------------|
| Oda Sıcaklığında | Formalin           | 30 dakika        |
| Oda Sıcaklığında | %70'lik etil alkol | 1 saat           |
| Oda Sıcaklığında | %80'lik etil alkol | 1 saat           |
| Oda Sıcaklığında | %90'lık etil alkol | 1 saat 30 dakika |
| Oda Sıcaklığında | Saf alkol          | 1 saat           |
| Oda Sıcaklığında | Saf alkol          | 1 saat           |
| Oda Sıcaklığında | Saf alkol          | 1 saat 30 dakika |
| Oda Sıcaklığında | Saf alkol + Ksilol | 1 saat           |
| Oda Sıcaklığında | Ksilol             | 1 saat           |
| Oda Sıcaklığında | Ksilol             | 1 saat 30 dakika |
| 60°C'de          | Parafin            | 1 saat           |
| 60°C'de          | Parafin            | 1 saat 30 dakika |

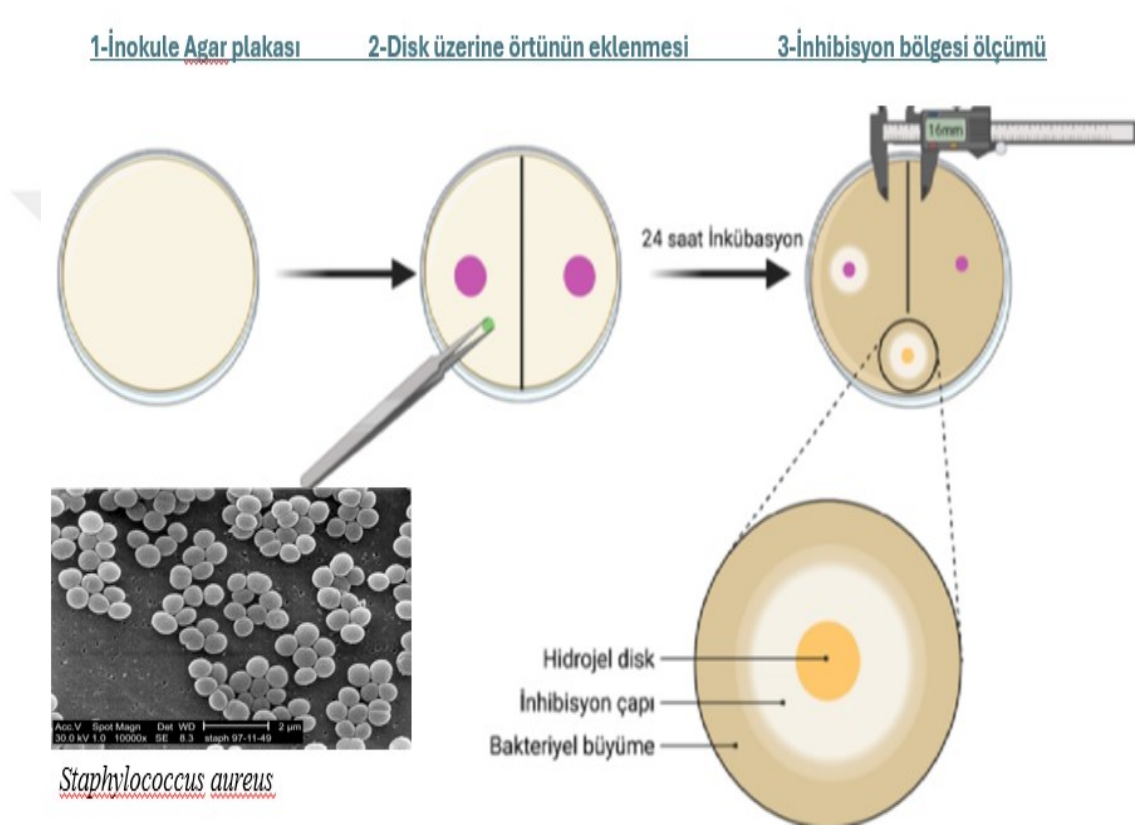
Tablo 2.2. Işık mikroskopi doku takip işlemi

Doku takibinden sonra skar doku örnekleri parafin bloklar haline getirildi ve 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson Trikrom (MT) ile boyandı. Dokunun kollajen yoğunluğu ölçümü de masson trikrom boyasıyla yapılarak analiz edildi. Olympus BX53 (Tokyo, Japonya) ışık mikroskobunda incelenerek fotoğrafları çekildi. Bloklardan ayrıca immünohistokimyasal incelemeler için de doku kesitleri alındı ve uygun yöntemlerle hazırlandı.

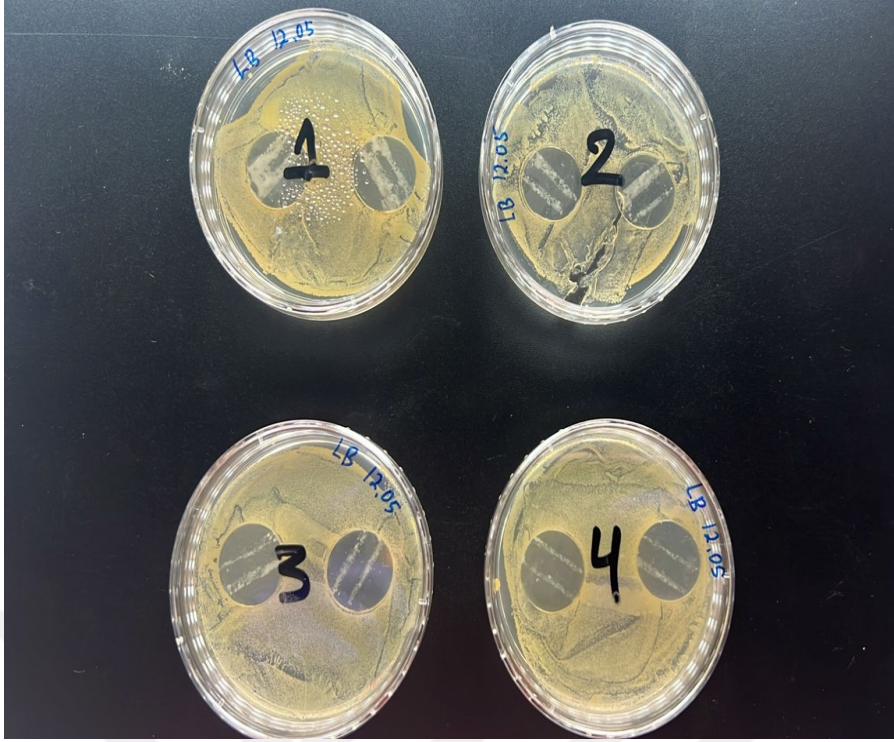
### **2.6. Antibakteriyel Aktivite – Disk Difüzyon Yöntemi**

Nanofiberlerin antibakteriyel etkinliği, Staphylococcus aureus bakterisine karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Nanofiber örnekleri, 15 mm çapında diskler şeklinde hazırlanmıştır. LB broth ortamında 37 °C'de 24 saat

inkübe edilen *S. aureus* kültürlerinden,  $OD_{600} = 0.1$  olacak şekilde ayarlanmış bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Ardından, 100  $\mu$ L süspansiyon, LB agar yüzeyine homojen olarak yayılmıştır. Diskler dikkatlice agar yüzeyine yerleştirilmiş ve Petri kapları 37 °C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, inhibisyon zon çapları ölçülerek antibakteriyel aktivite değerlendirilmiştir. Deneyler, sonuçların güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini sağlamak amacıyla üçlü (n=3) olarak yürütülmüştür (Şekil 2.10-11).



Şekil 2.10. Antibakteriyel Aktivite -Disk Difüzyon Yöntemi



Şekil 2.11. Grupların inhibisyon zonları 1: Sham,2: Kollajen, 3: EGF, 4: HA

Deney sonucunda, test edilen dört farklı nanofiber örneğinden en çok 2. Grupta ardından da 3. Grupta inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu durum, nanofiberlerden sadece 2 grubun test edilen konsantrasyon ve koşullarda *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı doğrudan bir antibakteriyel etki gösterdiğini düşündürmektedir. Bazı gruplarda Zon oluşmamasının nedeni, nanofiberlerin bakteri üzerindeki etkisinin zayıf olması, etken maddenin salınımının yetersizliği veya nanofiber yapısında antibakteriyel aktiviteyi destekleyecek bileşenlerin bulunmaması olabilir.

## 2.7. Çalışmanın Yürütüldüğü Laboratuvarlar ve In vivo Yara İyileştirme Çalışmaları

In vivo yara iyileştirmede kullanılan Wistar Albino tipi ratların bakımı ve kullanımı, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi (SÜDAM) yönetmeliklerine tamamen uygun olarak gerçekleştirilmiş olup, tüm deney protokolleri Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde (SÜDAM) tarafından onaylanmıştır (Karar Sayısı: 2021-48).

Yara örtülerinin yara iyileşmesi üzerindeki etkisi, sıçanlarda tam kat eksizyonel yara modeli kullanılarak değerlendirilmiştir. Yara iyileştirme modeli için erişkin, 200-400 gram ağırlığında, Wistar Albino tipi ratlar kullanılmıştır. Ratlar'ın

steril su ve standart gıdaya serbest erişimi sağlanmıştır. Her grupta rastgele 10 sıçan olacak şekilde sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır; EGF, Hyaluronik asit, Kollajen ve SHAM. Sıçanlara operasyon öncesi anestezi işlemi için 50 mg/kg pentol sodyum intraperitoneal olarak uygulanmış ve ardından sırt bölgesi elektrikli traş makinesi ile traş edilmiştir. Her rat'ın sırt bölgesinde 1 cm çapında dairesel tam kalınlıkta bir yara oluşturulmuştur (Pourkarim ve ark 2022). Yara bölgesinin fotoğrafları yara rejenerasyonu ve iyileşme sürecini kaydetmek için 0, 3, 7 ve 14. günlerde çekilmiştir. Yara alanı ImageJ yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Yara kapanma yüzdesi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

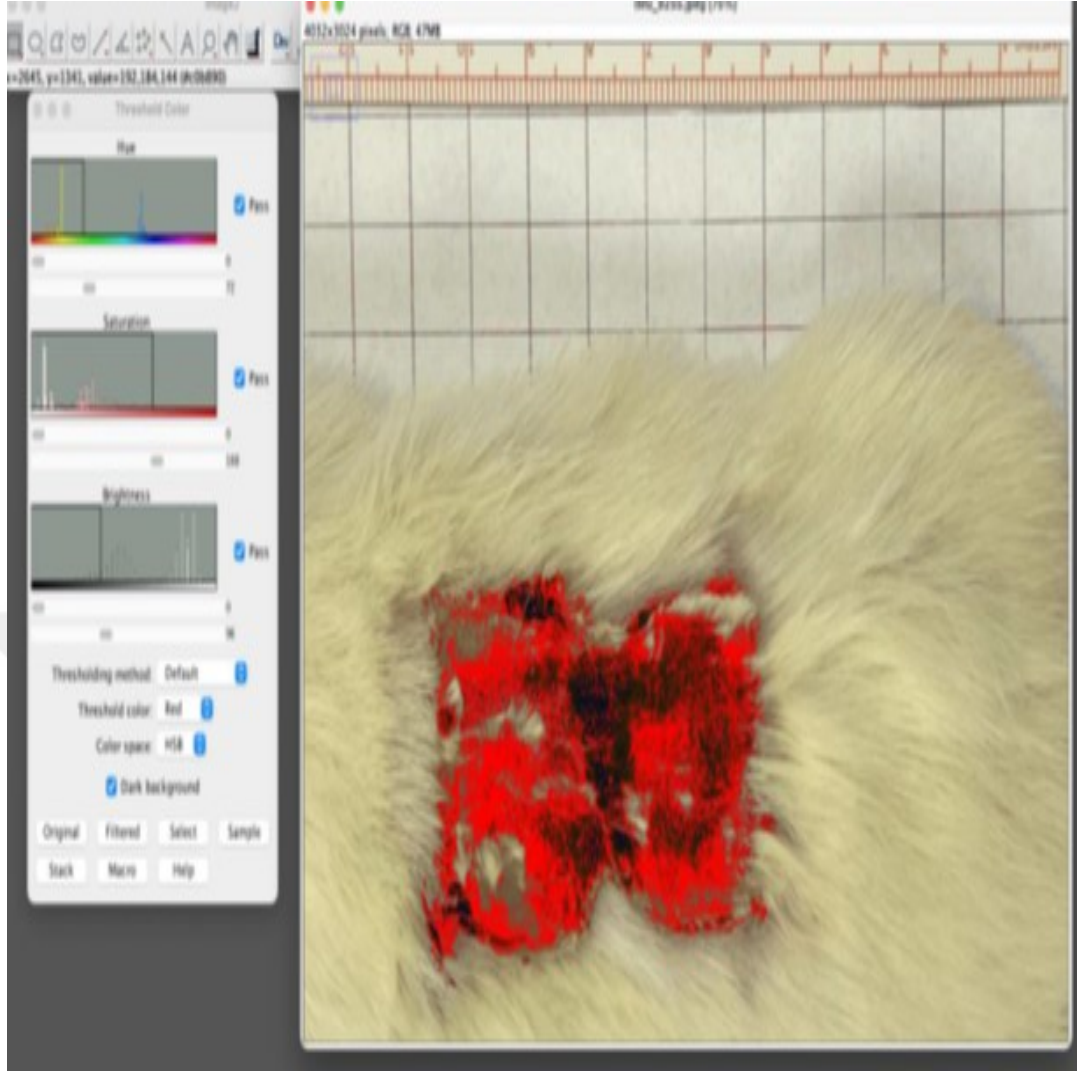
$$\frac{(S_0 - S_t)}{S_0} \times 100$$

Formülde S<sub>0</sub> 0. gündeki yara alanı ve S<sub>t</sub> 14. günlerdeki yara alanıdır.

## 2.8. Foto analiz ve Histopatolojik Değerlendirme

Deneklerin yanık yaraları 0.gün, 7.gün ve 14.gün birbirleriyle aynı mesafede ve çözünürlükteki aynı kamerayla fotoğraflandı. Makroskobik olarak bilgisayar ortamında kayıt altına alınan görüntüler, Image J programı [ImageJ 1.50i Wayne Rasband National Institutes of Health, USA.] ile değerlendirildi ve yanık alanları hesaplandı. (Şekil 2.11)

Çalışmada her denekten yanık alanını en iyi gösterecek şekilde 1x1 cm boyutunda alınan tam kat deri biyopsi örnekleri yara iyileşmesi üzerindeki etkisini daha fazla değerlendirmek için hematoksilin&eoziin boyaması için gerçekleştirilmiştir. Tüm ratlardan elde edilen tam kat doku örnekleri %10'luk formaldehit içinde fikse olması için bekletilmiştir. Deri dokusu örnekleri akan çeşme suyunda yıkanmış, ardından artan derecelerdeki etanol serilerinden (%50-%99) ve ksilen serilerinden geçirilmiş ve 62°C'de erimiş parafin infiltrasyonunu takiben parafin bloklara gömülmüştür. Parafin bloklardan mikrotom ile yapılan kesitler lamaların üzerine alınarak Hematoksilin-Eozin ile boyanıp ışık mikroskobunda incelenmiştir. Yara iyileşmesini gösteren histopatolojik parametreler Ehrlich&Hunt skorlamasına göre (PMNL yoğunluğu, reepitelizasyon, kollajen birikimi, fibroblast yoğunluğu ve anjiogenezis) mikroskop altında değerlendirildi

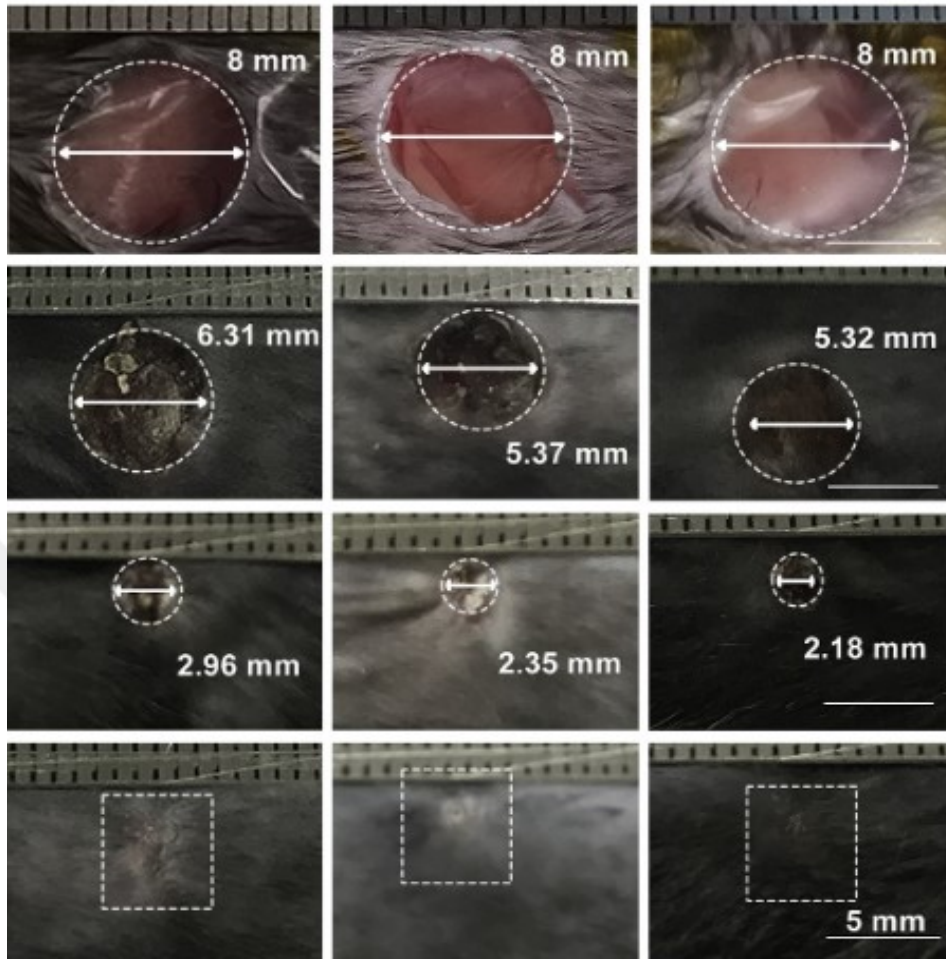


Şekil 2.12. ImageJ programıyla rattaki yanık alanı ölçümü

HA

EGF

KL



Şekil 2.13. ImageJ programıyla KL, EGF ve HA gruplarındaki rattaki yanık alanların ölçümü

## 2.9. İstatiksel Analiz

Tez kapsamında elde edilen tüm veriler, sürekli değişkenler için ortalama  $\pm$  SD ile ifade edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler SPSS 22.0 istatistiksel yazılım dili yardımıyla hesaplandı. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sunuldu. Çalışma gruplarına göre histopatolojik sonuçlar Tek-Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile kıyas edilirken, sonrasında ikili karşılaştırmalar ile farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Fisher LSD ikili karşılaştırma testinden yararlanıldı. Ayrıca, Ölçüm zamanlarına göre her bir grupta histopatolojik parametrelerdeki değişimler Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi yardımıyla incelendi. Ölçüm zamanlarının ikili karşılaştırılmasında ise Bağımlı örneklem *t*-testinden kullanıldı. Anlam düzeyi %5 alındı. İstatiksel anlamlılık düzeyleri \* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$  ve olarak tanımlanmıştır.

### **3.BULGULAR**

Çalışmaya Sham, Kollajen, Hyaluronik asit ve EGF gruplarının her birinde 10'ar adet olmak üzere toplamda 40 rat dahil edildi.

#### **3.1. Histopatolojik Değerlendirme**

##### **Işık mikroskobu incelemelerinde;**

Sham grubunun 3. gününde kollajen oluşumu, Neo vaskülarizasyon, re-epitelizasyon, granülasyon dokusu ve inflamatuvar hücre varlığında bir değişiklik saptanmazken, yanığa bağlı olarak epidermin belirgin şekilde hasarlandığı ve ülser patogeneğinde devamlılık gözlendi (Şekil 3.1). Bunun yanısıra Sham grubunun 7. gününde önemli derecede inflamatuvar hücre varlığı saptanırken bazı ratlarda, neo vaskülarizasyon, granülasyon dokusu ve re-epitelizasyonda hafif seviyede bir artış gözlendi (Şekil 3.2.). Sham grubunun 14. gününde neo vaskülarizasyonda ve inflamatuvar hücre varlığında azalma saptanırken re epitelizasyon, granülasyon dokusu ve kollajen oluşumu artmış olarak gözlendi (Şekil 3.3.).

Kollajen grubunun ise 3. gününde kollajen birikimi, neo vaskülarizasyon, re -epitelizasyon, granülasyon dokusu ve inflamatuvar hücre varlığında hafif artış görülürken, yanığa bağlı olarak da epidermis tabakasında granülasyonun başladığı gözlendi (Şekil 3.4). Kollajen grubunun grubunun 7. gününde inflamatuvar hücre varlığında azalma gözlenirken neo vaskülarizasyon ve kollajen oluşumu belirgindi. Ayrıca re-epitelizasyonda ve granülasyon dokusunda orta seviyede gözlendi (Şekil 3.5.).

Kollajen grubunun 14. gününde neo vaskülarizasyonda ve inflamatuvar hücre varlığında azalma gözlenirken re epitelizasyon, granülasyon dokusu ve kollajen oluşumu şiddetli olarak gözlendi (Şekil 3.6). Kollajen grubunun Sham grubu ve diğer gruplarla arasında anlamlı derecede anlamlı farklılık gözlendi.

EGF grubunun 3. Gününde şiddetli inflamatuvar hücre varlığı ve granülasyon gözlenirken, neo vaskülarizasyon ve re-epitelizasyonda hafif derecede bir artış belirlendi. EGF grubunun 7. gününde inflamatuvar hücre varlığında azalma gözlenirken granülasyon dokusu, neo vaskülarizasyon ve kollajen oluşumu belirgindi. Bunun yanısıra re-epitelizasyonda ise orta derecede gelişme saptandı (Şekil 3.7). EGF grubunun 14. gününde neo vaskülarizasyonda ve inflamatuvar hücre varlığında azalma

gözlenirken re epitelizasyon, granülasyon dokusu ve kollajen oluşumunda ise şiddetli bir artış gözlemlendi (Tablo 3.1.) (Şekil 3.8). Sham grubunda dahil olmak üzere diğer gruplarla arasından sham, hyaluronik asit gruplarından anlamlı olarak farklı iken Kollajen grubuyla arasındaiyileşme fazı açısından yakında olsa istatistiksel olarak farklılık anlamlı bir fark mevcuttu.

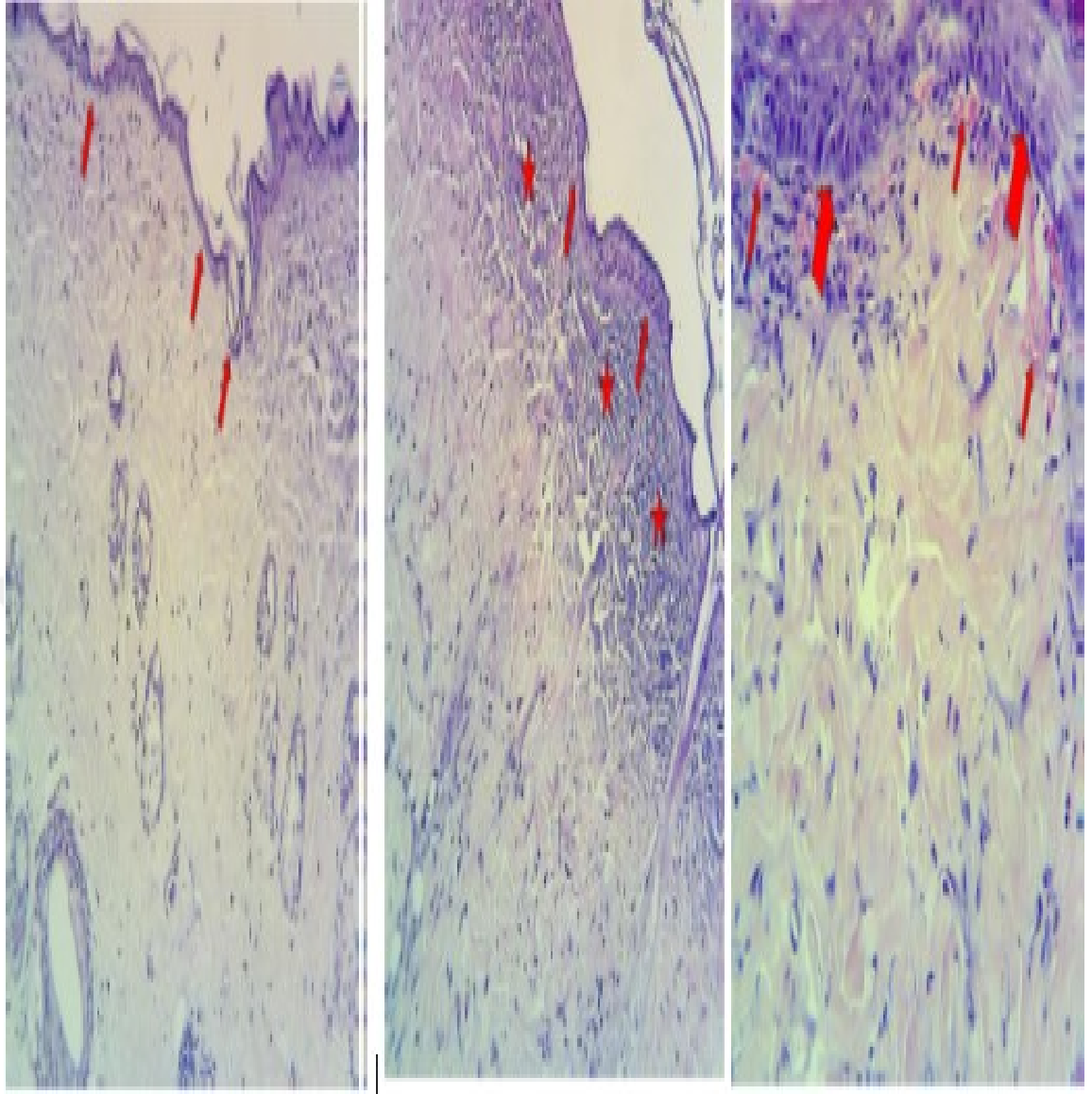
Hyaluronik asit grubunun 3. gününde inflamatuvar hücre varlığında şiddetlilik gözlenirken bazı deneklerde granülasyon dokusu, neo vaskülarizasyon ve re epitelizasyonda hafif derecede bir artış saptandı (Şekil 3. 9). Hyaluronik asit grubunun 7. gününde inflamatuvar hücre varlığında azalma gözlenirken granülasyon dokusu, neo vaskülarizasyon ve kollajen oluşumu belirgindi. Ayrıca re-epitelizasyonda orta derecede saptandı (Şekil 3.10). Hyaluronik asit grubunun 14. gününde neo vaskülarizasyonda ve inflamatuvar hücre varlığında azalma saptanırken re-epitelizasyon, granülasyon dokusu ve kollajen birikimi şiddetli olarak gözlemlendi Sham grubunda dahil olmak üzere diğer gruplardan Sham, Kollajen grubunun üstünlüğü ve anlamlılığı açısından negatif yönde anlamlı bir fark gözlemlendi (Tablo 3.2.).

Tablo 3.1. Yanık alanlarının günlere göre değişimi

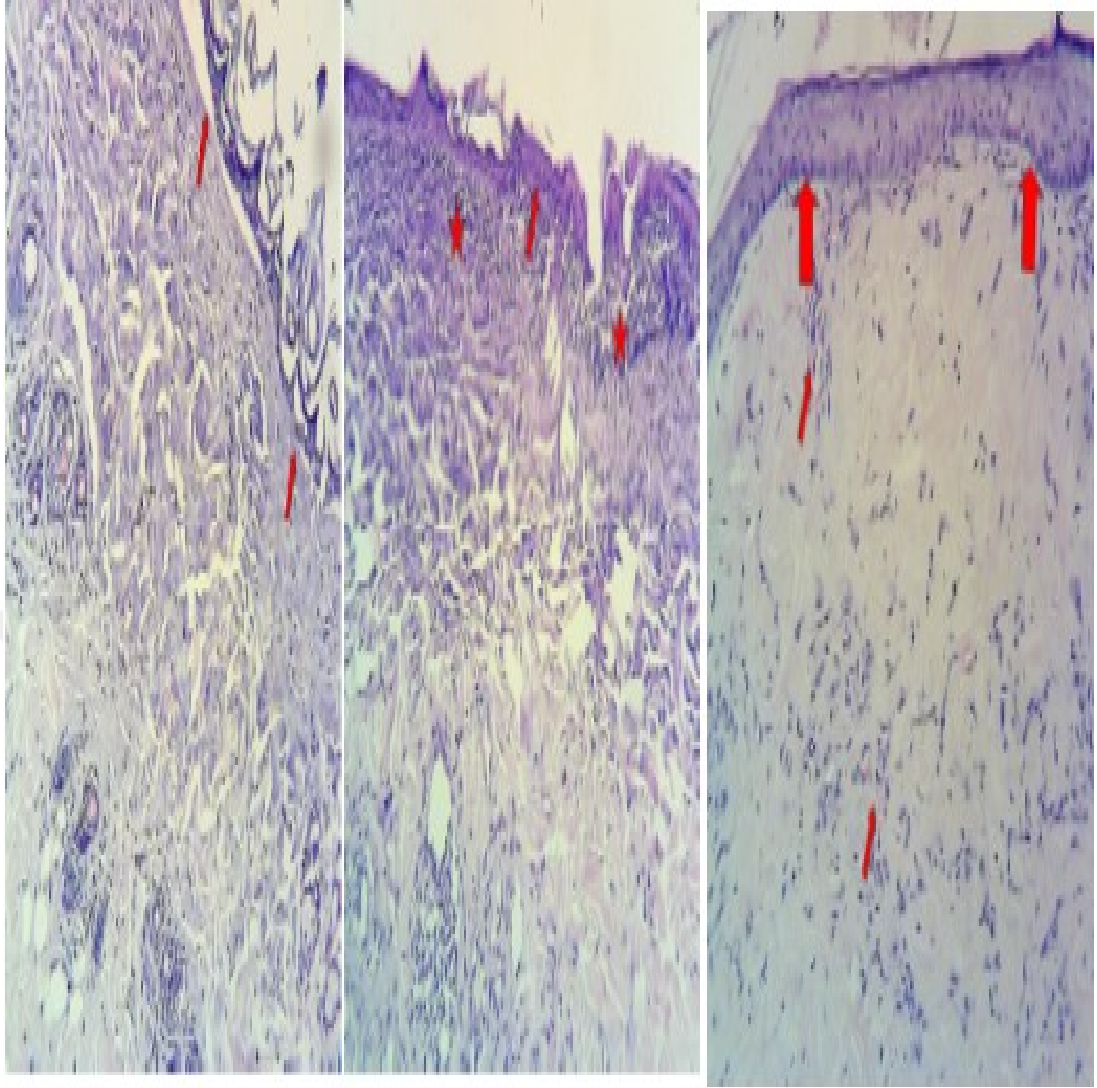
| Yanık Alanı (mm <sup>2</sup> ) | 3. Gün | 7. Gün | 14. Gün |
|--------------------------------|--------|--------|---------|
| Ort                            | 10.73  | 9.61   | 7.54    |
| SS                             | 1.26   | 1.47   | 1.82    |
| Medyan                         | 10.67  | 9.73   | 7.48    |
| Minimum                        | 8.55   | 6.01   | 5.11    |
| Maksimum                       | 12.46  | 11.63  | 10.91   |

Tablo 3.2. Yanık alanlarının gruplara ve günlere göre değişimi

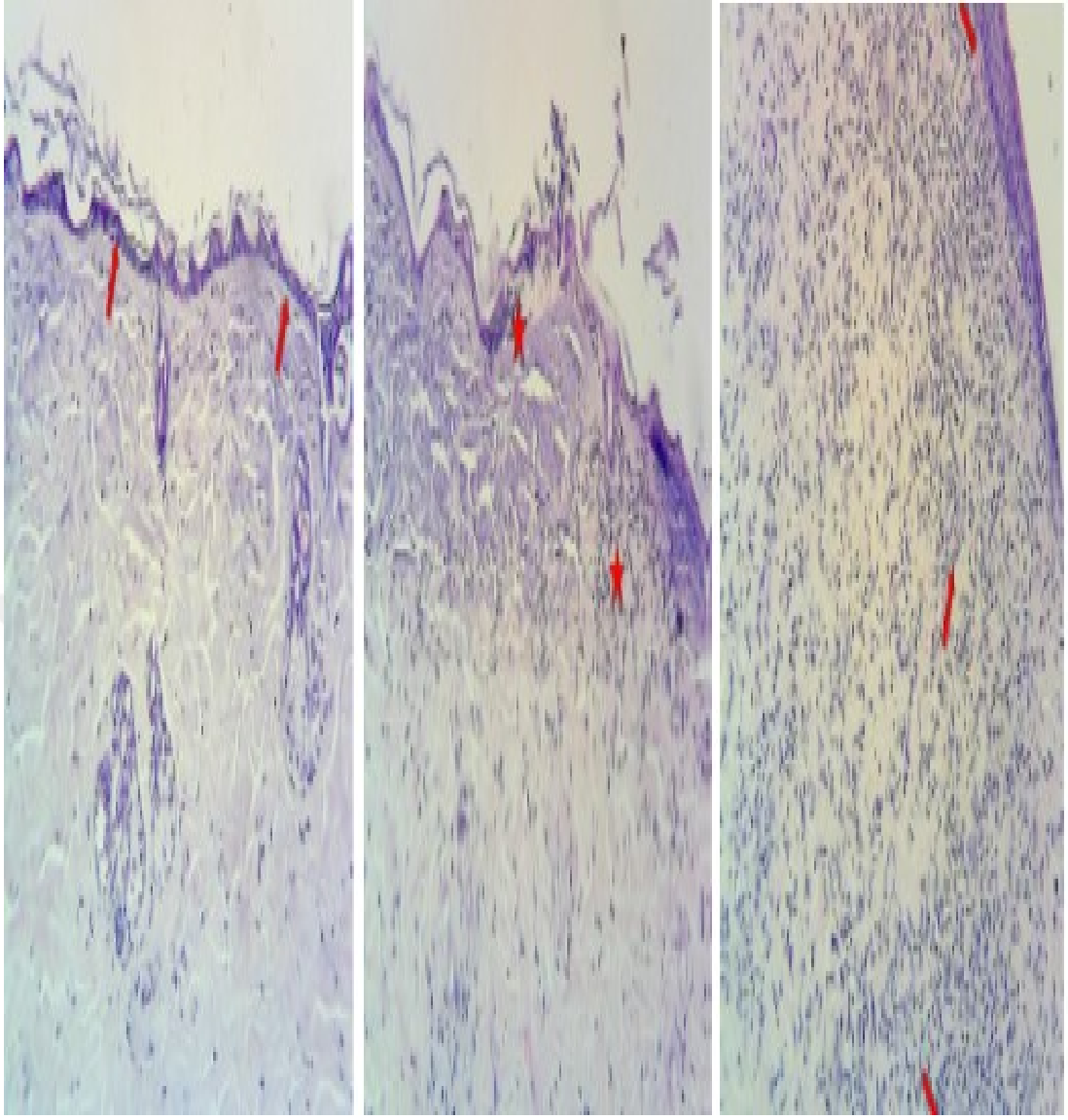
| Yanık Alanı | Sham (1)   | HA (2)     | Kollajen (3) | EGF (4)    | Tüm gruplar |
|-------------|------------|------------|--------------|------------|-------------|
| 3. Gün      | 10.13±1.07 | 10.41±1.22 | 10.37±1.64   | 10.47±1.14 | 0.359       |
| 7. Gün      | 10.21±1.18 | 10.17±1.33 | 8.81±1.21    | 8.34±1.17  | 0.220       |
| 14. Gün     | 8.87±1.59  | 8.62±1.73  | 6.81±1.54    | 6.04±1.04  | 0.004*      |
| p           | 0.002      | 0.001*     | 0.001*       | 0.001*     |             |
| *: p<0,001  |            |            |              |            |             |



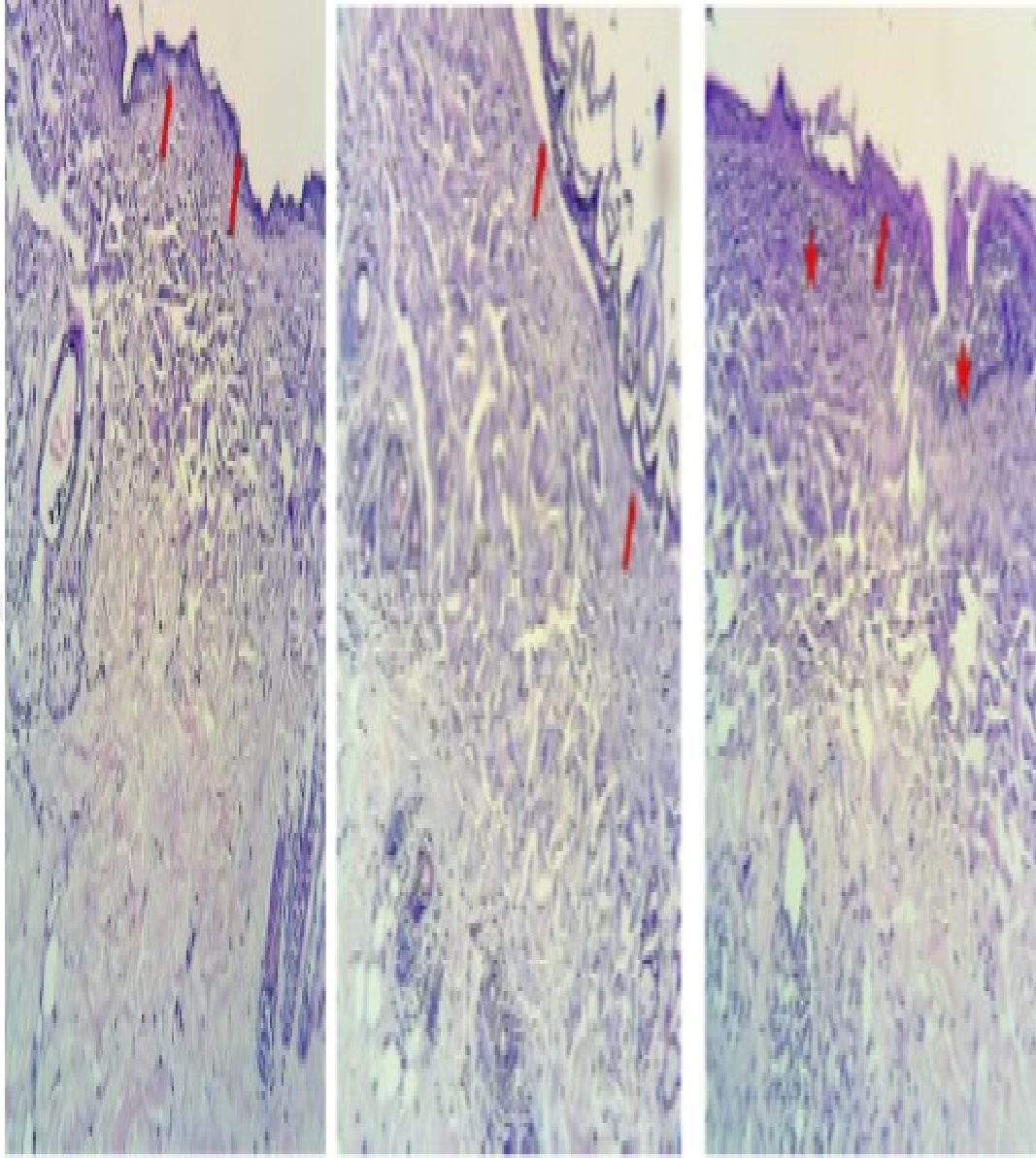
Şekil 3.1. Sham grubunda 3,7, ve 14. Günde epidermis hasarı, hücre artışı (\*), vaskülarizasyon (→), epitelizasyon (➔)( H & E x 200).



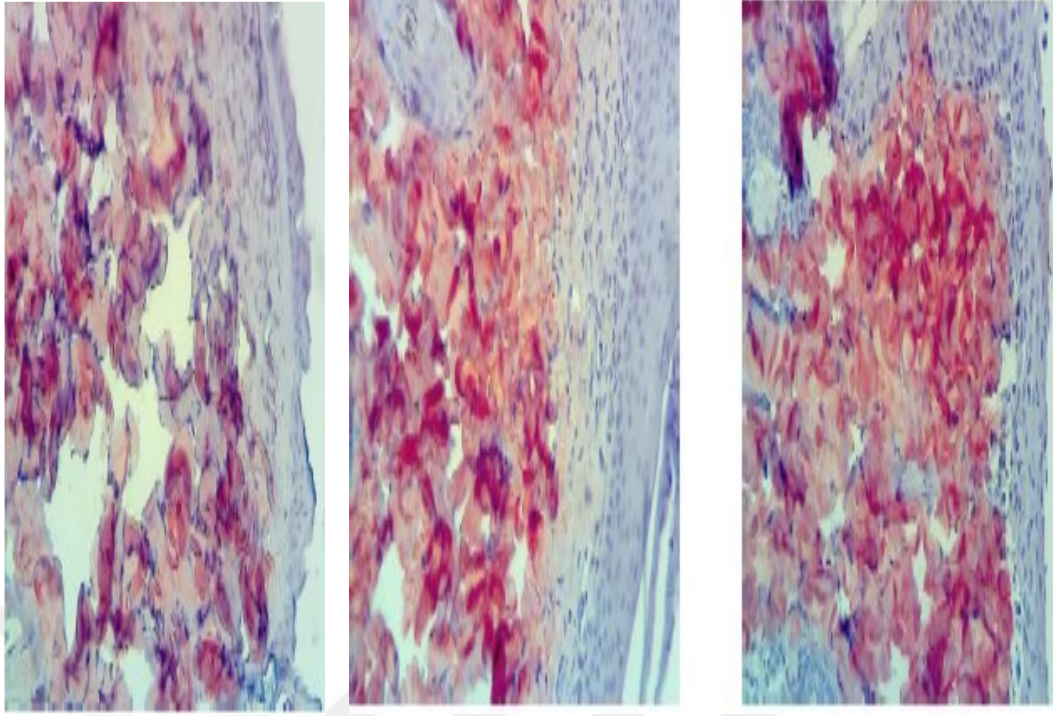
Şekil 3.2. EGF grubunda 3,7 ve 14. Günde epidermis hasarı, hücre artışı (\*), vaskülarizasyon (→), epitelizasyon (➔), ( H & E x 200 ).



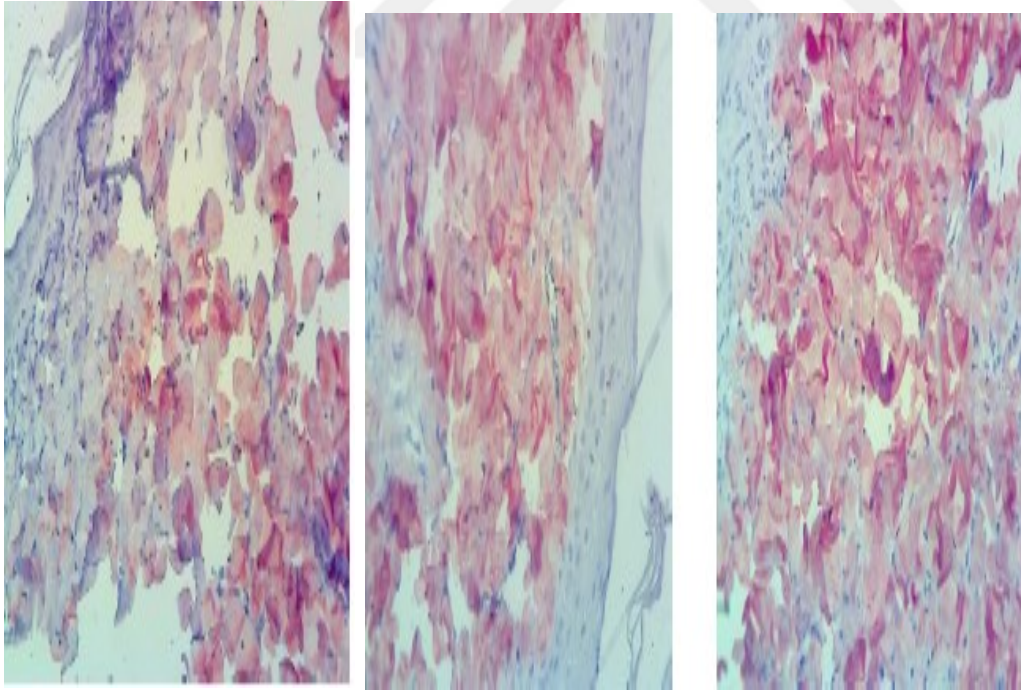
Şekil 3.3. HA grubunda 3,7, ve 14. Günde epidermis hasarı, hücre artışı (\*), vaskülarizasyon (→), epitelizasyon (➔), (H & E x 200)



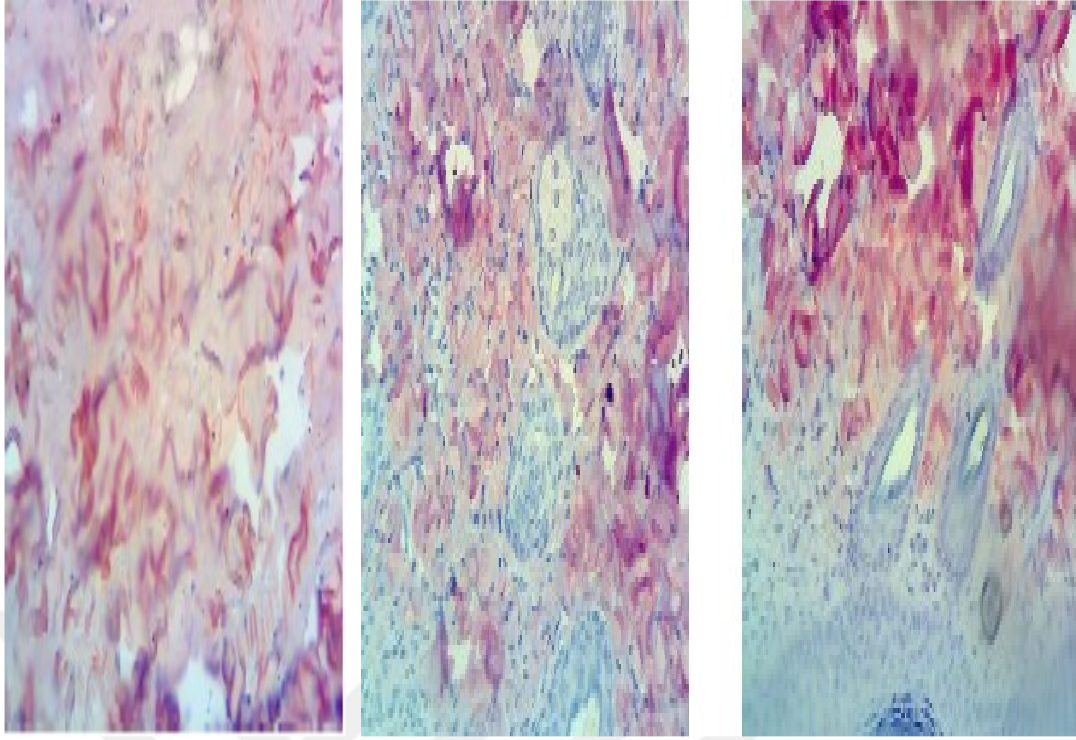
Şekil 3.4. KL grubunda 3,7, ve 14. Günde epidermis hasarı, hücre artışı (\*), vaskülarizasyon (→), epitelizasyon (➔), ( H & E x 200)



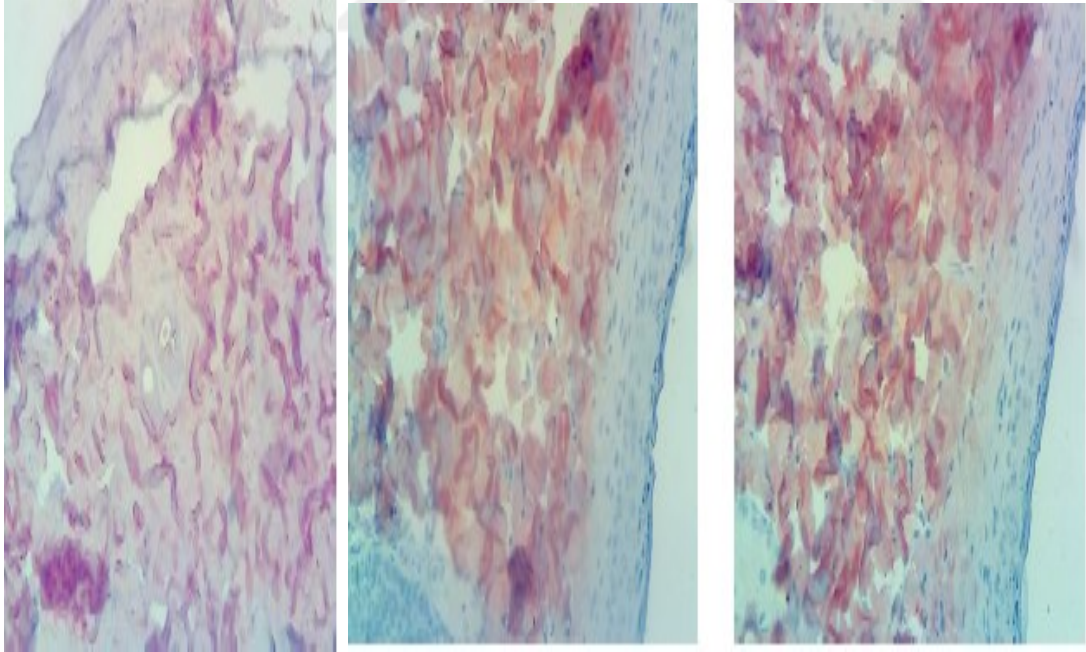
Şekil 3.5. Kontrol grubunda 3 ,7,14.günde +4 yoğunlukta tip I kollajen immünreaktivitesi.  
X400



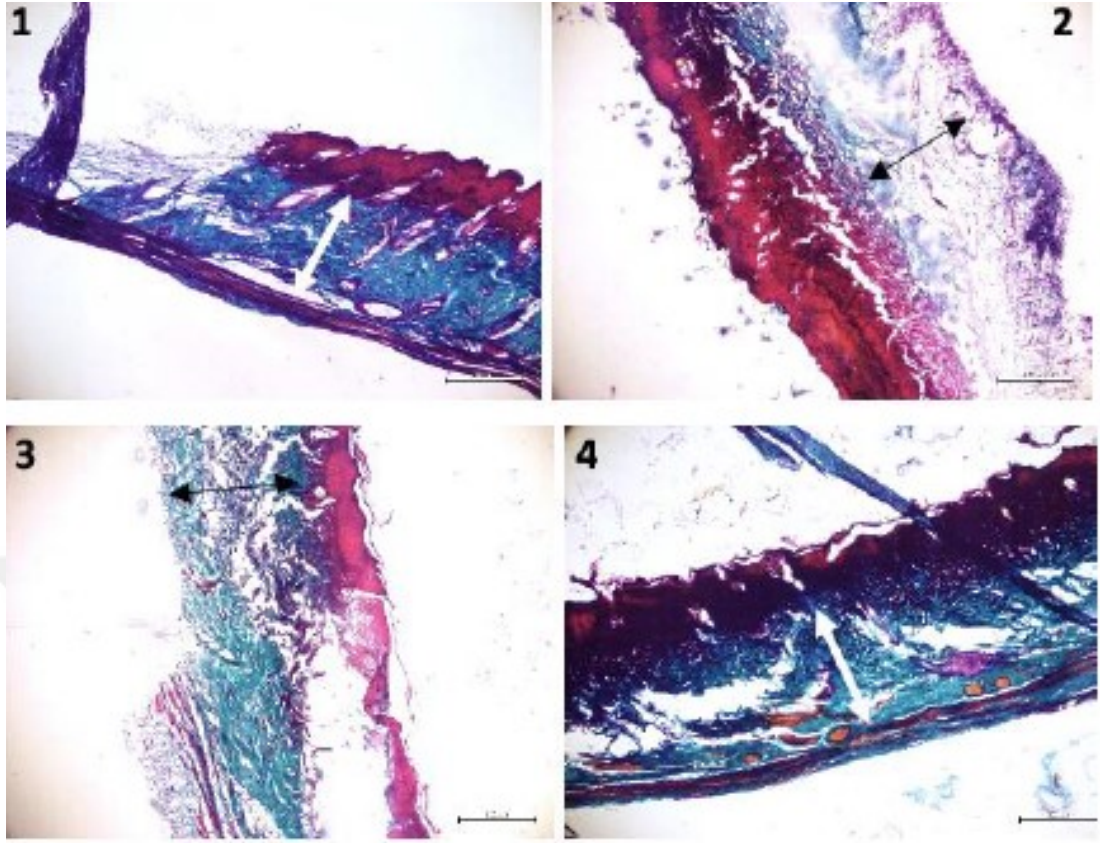
Şekil 3. 6. EGF grubunda 3 ,7,14.günde +4 yoğunlukta tip I kollajen immünreaktivitesi.  
X400



Şekil 3.7. HA grubunda 3 ,7,14.günde +4 yoğunlukta tip I kollajen immünreaktivitesi.  
X400



Şekil 3.8. KL grubunda 3 ,7,14.günde +4 yoğunlukta tip I kollajen immünreaktivitesi.  
X400



Şekil 3.9. Gruplara ait Masson trikrom boyalı preparatlara ait mikrograflar (x40). Çift yönlü ok dermiş kalınlığını göstermektedir. Sham ve HA gruplarında azalmış dermiş kalınlıkları gösterilmiştir. Kollajen yoğunluk skorları Masson trikrom boyama ile hesaplandı.

Tablo 3.3. Deney gruplarına göre iskemik alan inflamasyon yoğunluğu ve iskemik alan skorları (Hematoksilen Eozin ve Masson Trikrom).

| Deney Grupları | Kollajen Miktarı | İnflamasyon Yoğunluğu | İskemik Alan |
|----------------|------------------|-----------------------|--------------|
| Sham Grubu     | 0,80             | 2,70**                | 3,50         |
| HA Grubu       | 1,57             | 2,00                  | 3,67***      |
| EGF Grubu      | 3,07             | 0,65                  | 1,50         |
| KL Grubu       | 3,47*            | 0,56                  | 0,95         |

\*Kollajen miktarında en yüksek skor Kollajen grubunda,

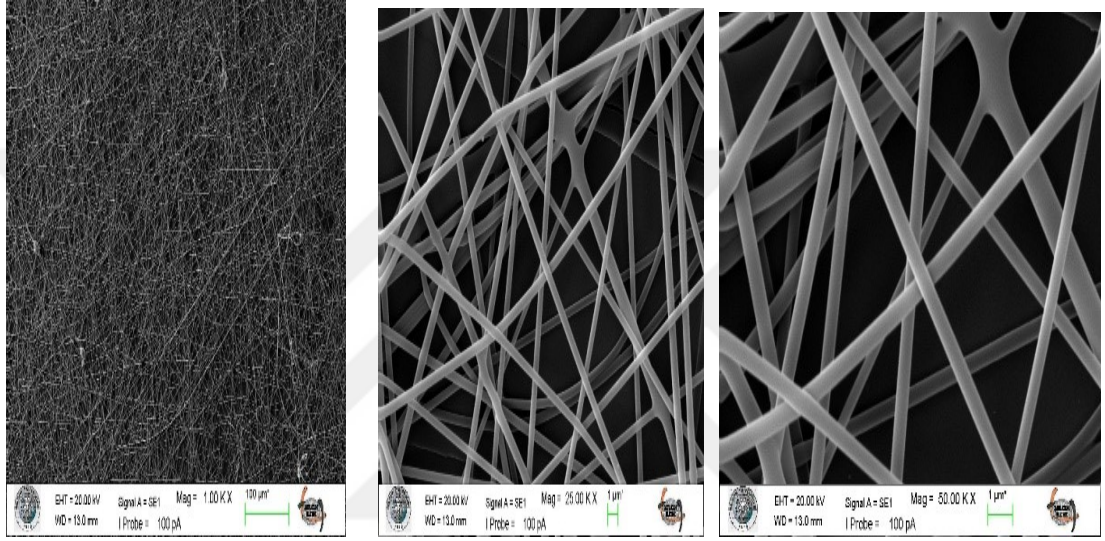
\*\*İnflamasyon yoğunluğunda en yüksek skor sham grubunda,

\*\*\*İskemik alanda en yüksek skor HA grubunda tespit edilmiştir.

### 3.2. SEM Analizleri

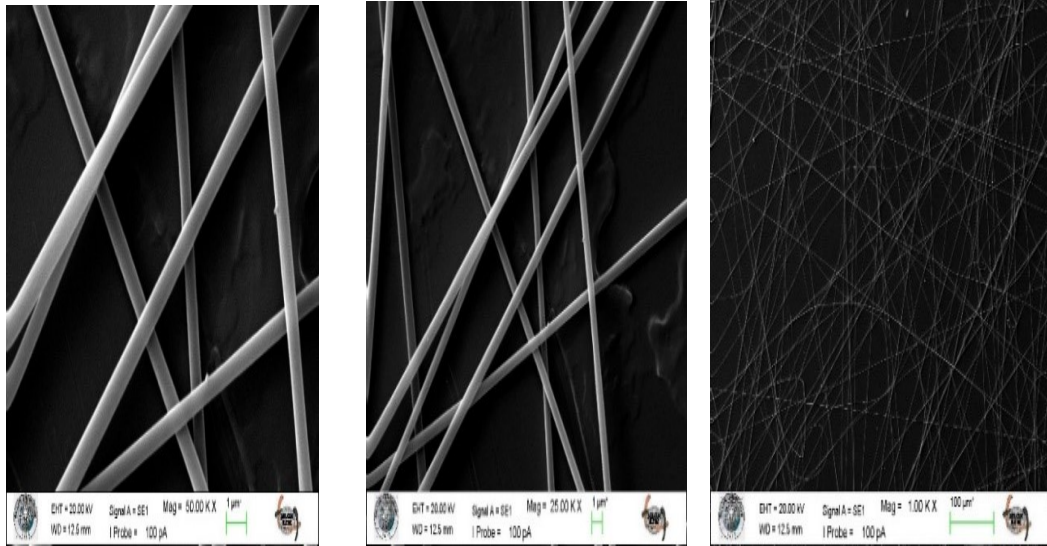
#### 3.2.1.Fiber Analizleri

Analizde Lif çapı, imal edilmiş ağ-yapının yüzey alanını büyük ölçüde etkilemektedir (lif çapı ne kadar büyük olursa, yüzey alanı o kadar az olur). Nano örtü profilinde salınma oranı liflerin salınan ortam ile etkileştiği yüzeysel alana bağlıdır. Daha geniş bir yüzey alanı başka bir tabirle daha ince lifler katkı maddelerini daha hızlı serbest bırakacaktır (Okuda, Tominaga and Kidoaki, 2010).



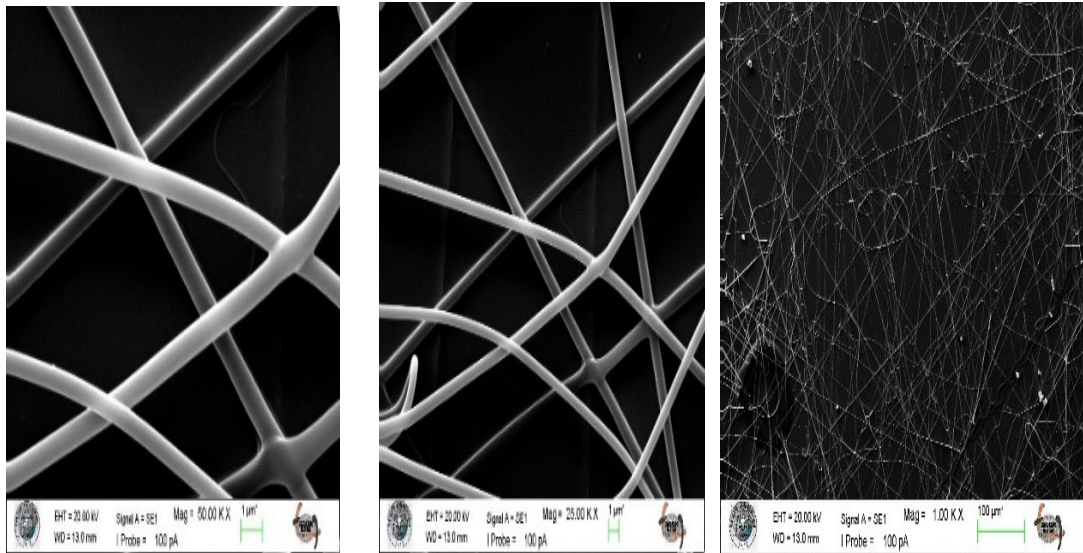
Şekil 3.9. PVA'nın SEM Analizi

PVA'nın SEM analizi 20.00 kV EHT, 100 pA akımda 13 mm çalışma mesafesinde farklı bölgelerden ikincil elektron dedektörü (SE) ile 50.000 X (50.00 K), 25.000 X (25.00 KX) ) ve 1.000 X (1.00 KX) farklı büyütme oranlarında görüntü alınmıştır. PVA'nın SEM görüntülerine baktığımızda homojene yakın yüzey morfolojisinin olduğu, saydam nanofiber yüzeyi ve nanofiber çapının 150-200 nm arasında olduğu görülmektedir (Şekil 11.9.).



Şekil 3.10. PVA-TİP1 Kalojen'in SEM Analizi

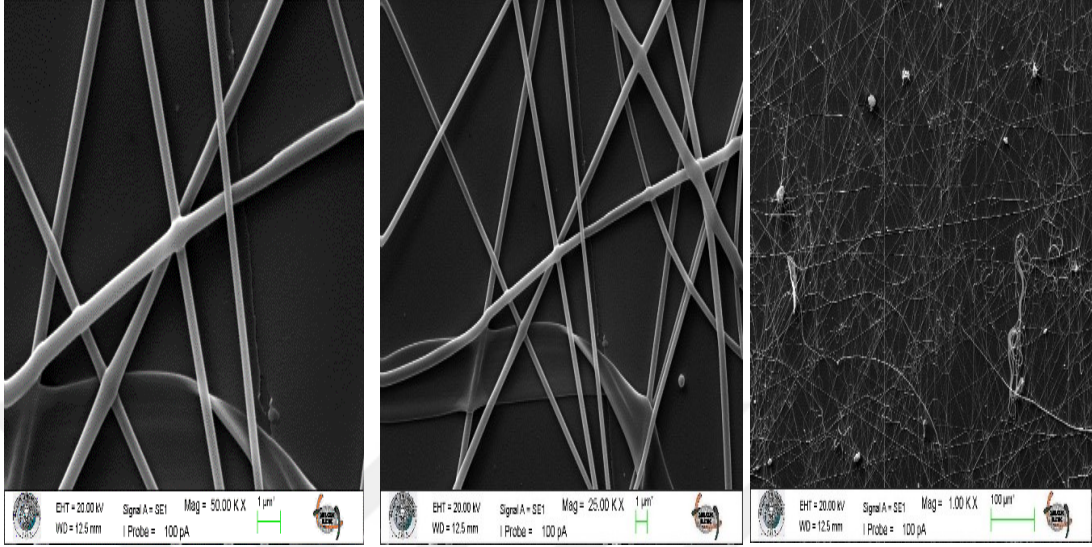
PVA-TİP1 Kalojen'in SEM analizi 20.00 kV EHT, 100 pA akımda 13 mm çalışma mesafesinde farklı bölgelerden ikincil elektron dedektörü (SE) ile 50.000 X (50.00 K), 25.000 X (25.00 KX) ) ve 1.000 X (1.00 KX) farklı büyütme oranlarında görüntü alınmıştır. PVA-TİP1 Kalojen'in SEM görüntülerine baktığımızda homojen yüzey morfolojisinin olduğu, nanofiber yüzeyinin daha doygun olduğu ve nanofiber çapının 200-250 nm arasında olduğu görülmektedir. (Şekil 3.10.).



Şekil 3.11. PVA-EGF'nin SEM Analizi

PVA-EGF'nin SEM analizi 20.00 kV EHT, 100 pA akımda 13 mm çalışma mesafesinde farklı bölgelerden ikincil elektron dedektörü (SE) ile 50.000 X (50.00 K), 25.000 X (25.00 KX) ) ve 1.000 X (1.00 KX) farklı büyütme oranlarında görüntü alınmıştır.

PVA-EGF'nin SEM görüntülerine baktığımızda homojen yüzey morfolojinin olduğu, nanofiber yüzeyinin saydam, parlak olduğu ve nanofiber çapının 200-300 nm arasında olduğu görülmektedir. (Şekil 3.11).

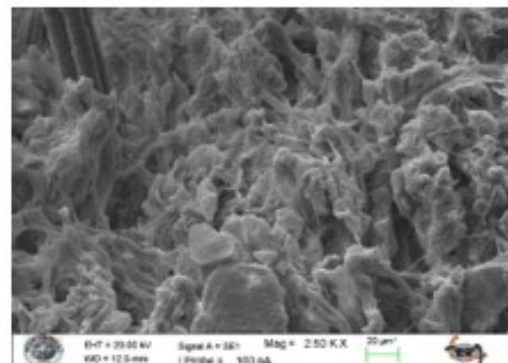
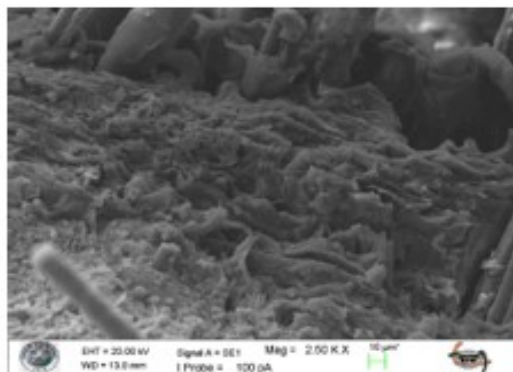
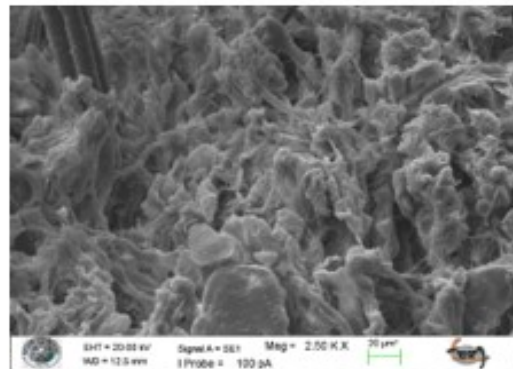
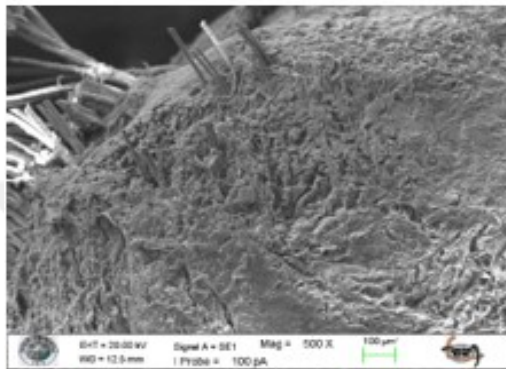
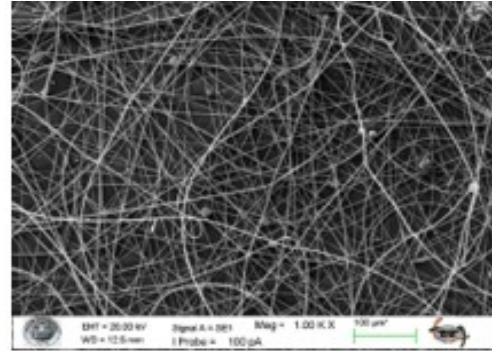
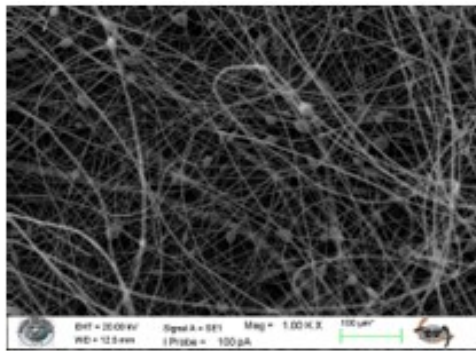


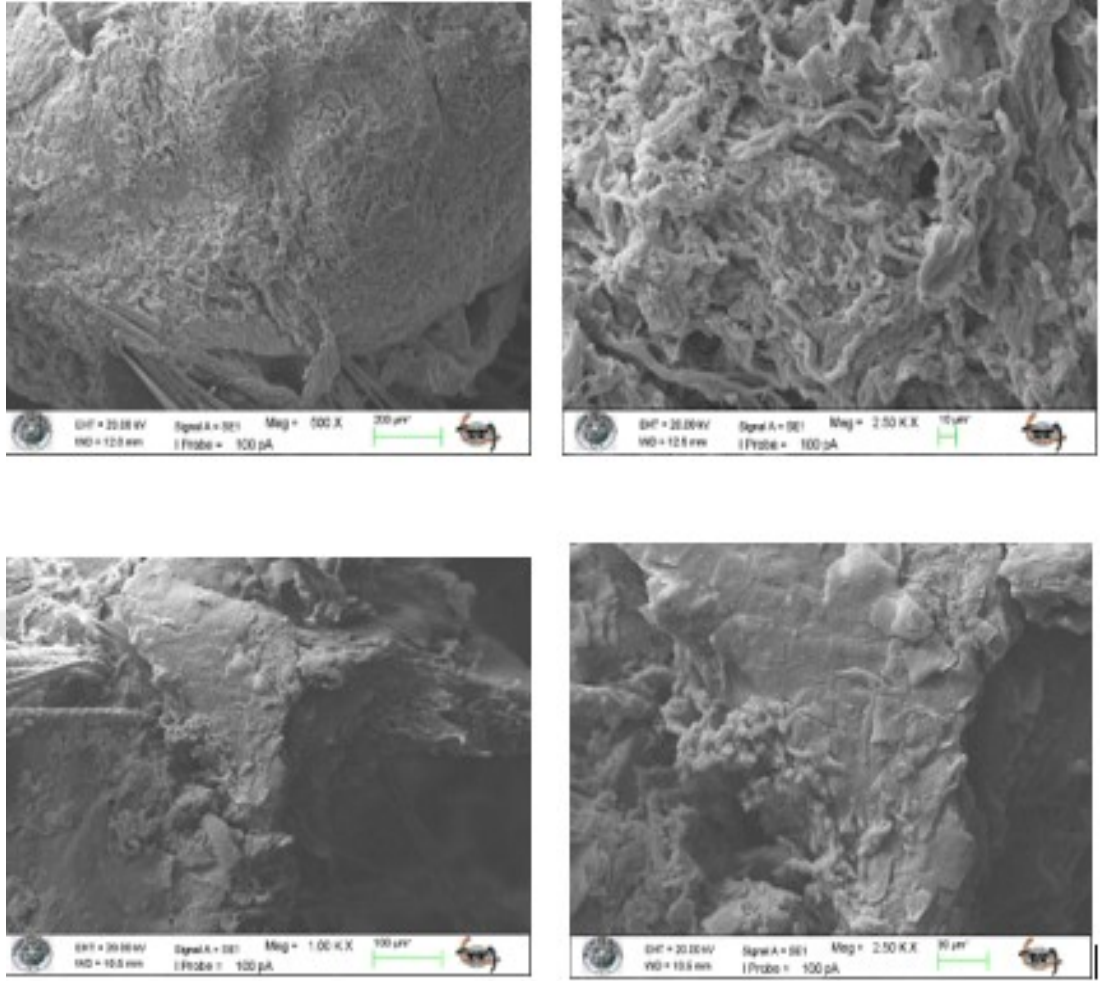
Şekil 3.12. PVA-HA'nin SEM Analizi

PVA-HA'nin SEM analizi 20.00 kV EHT, 100 pA akımda 13 mm çalışma mesafesinde farklı bölgelerden ikincil elektron dedektörü (SE) ile 50.000 X (50.00 K), 25.000 X (25.00 KX) ve 1.000 X (1.00 KX) farklı büyütme oranlarında görüntü alınmıştır. PVA-HA'nin SEM görüntülerine baktığımızda homojen yüzey morfolojinin olduğu, nanofiber yüzeyinin saydam, parlak olduğu ve nanofiber çapının 150-250 nm arasında olduğu görülmektedir (Şekil 3.12.).

### 3.2.2 Doku Analizleri

Dokuları SEM analizne değinecek olursak 500K büyütmede örtülerin iskelelerinin arasındaki fibroblast haznelerinin görüldüğü analiz edilmiştir, ayrıca dokuların iyileşmesi için öncelikle bu haznelerin arasını sağlamlaştıran hyaluronatlarda görülmekte olup, 1.0 K ve 2.5K kesitlerde yara örtülerinden özellikle Kollajen örtülerin yara yüzeyini tam olarak kapladığı ve aralarında boşluk kalmadığı görüntülenmiş olup buna en yakın örtü grubu olarak EGF grubunun yüzeyi aralarında boşluklarda olsa yüzey için ideal olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.13.).

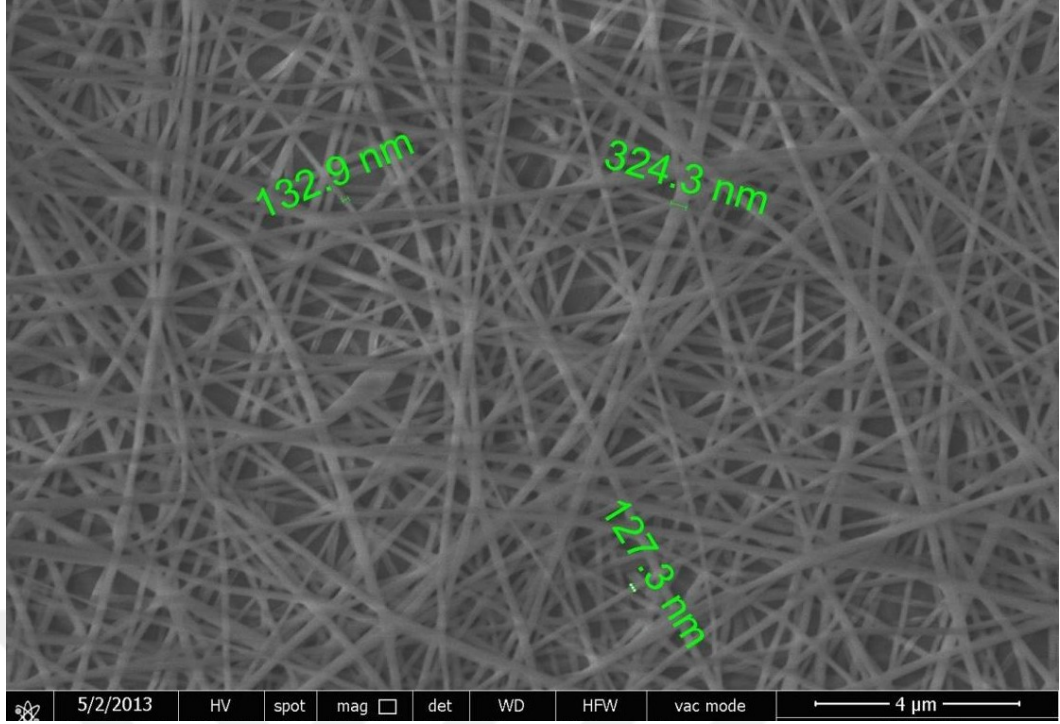




Şekil 3.13. **Dokuların** SEM analizleri ile incelenmesi

### 3.2.3 Çap Analizi

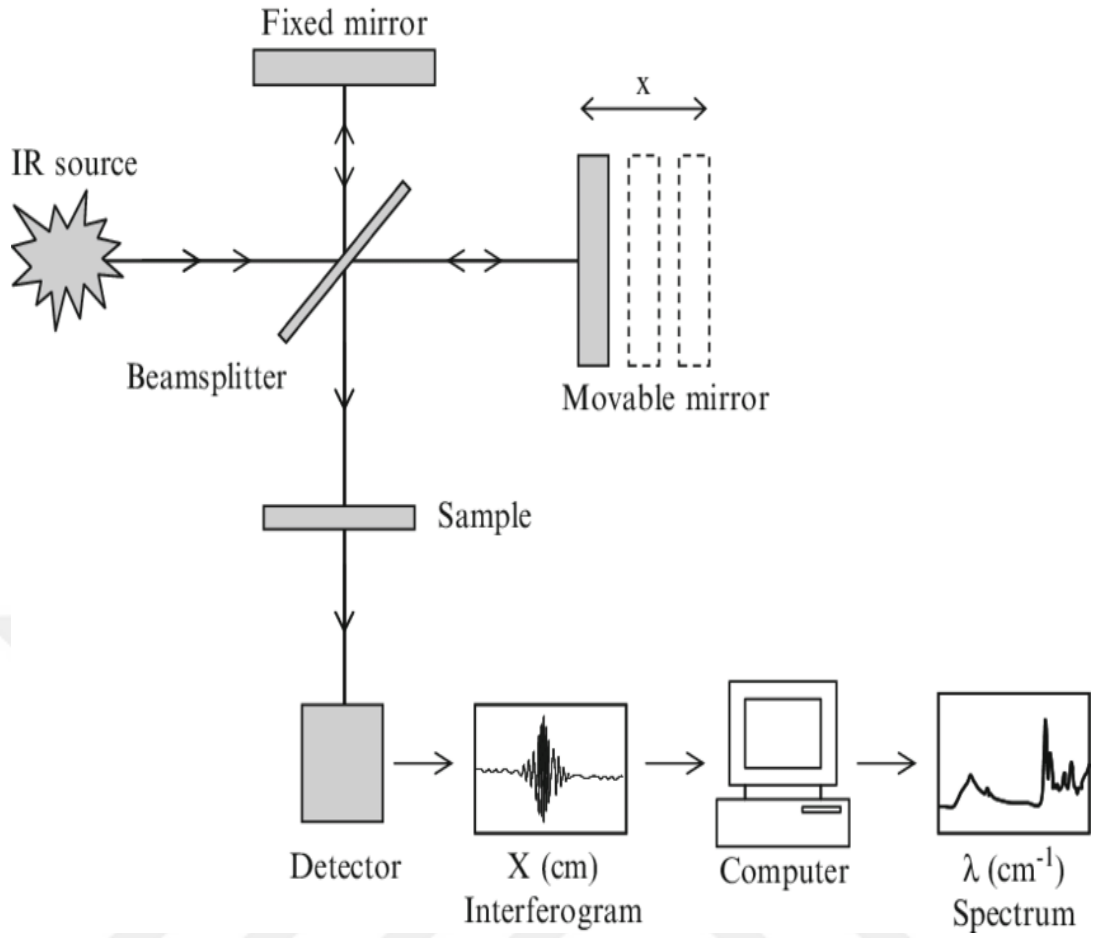
SEM analizi ile elde edilen yüzeylerin hepsi numaralandırılarak SEM cihazında farklı büyütmelerde görüntüleri alınmış olup görüntülerde imageJ analiz programı yardımı ile çap ölçümü yapılmıştır. Her bir numuneye ait görüntüden 5 er adet çap ölçülerek ortalama lif çapı, standart sapma değeri hesaplanmıştır (Şekil 3.13).



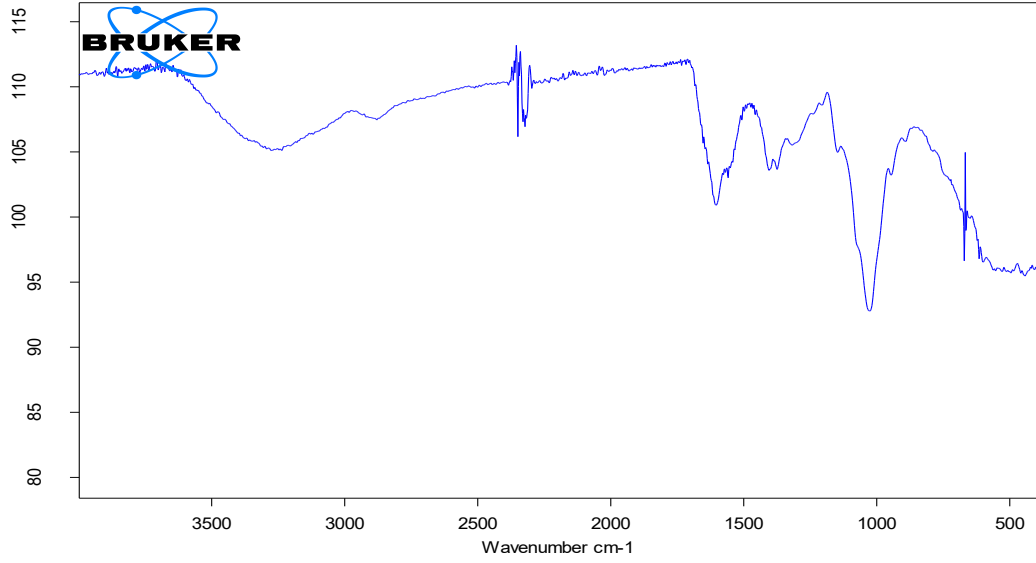
Şekil 3.13. SEM görüntüsü üzerinde nano örtü kalınlık miktarı ölçümü

### 3.3 FT-IR Analizleri

EGF, Hyaluronik asit ve Tip-1 Kollajenin etkileşimi hakkında bilgi elde etmek için FT-IR spektroskopisi üretilen nanoliflerde kullanılmıştır. FTIR yapılması için, üretilen nanolifler FT-IR (Bruker, Spectrum 100) cihazında  $4000-500\text{ cm}^{-1}$  arasındaki bölgede incelenmiştir. En yüksek antibakteriyel özelliklere sahip olan Kollajen ve EGF gruplarıdır.



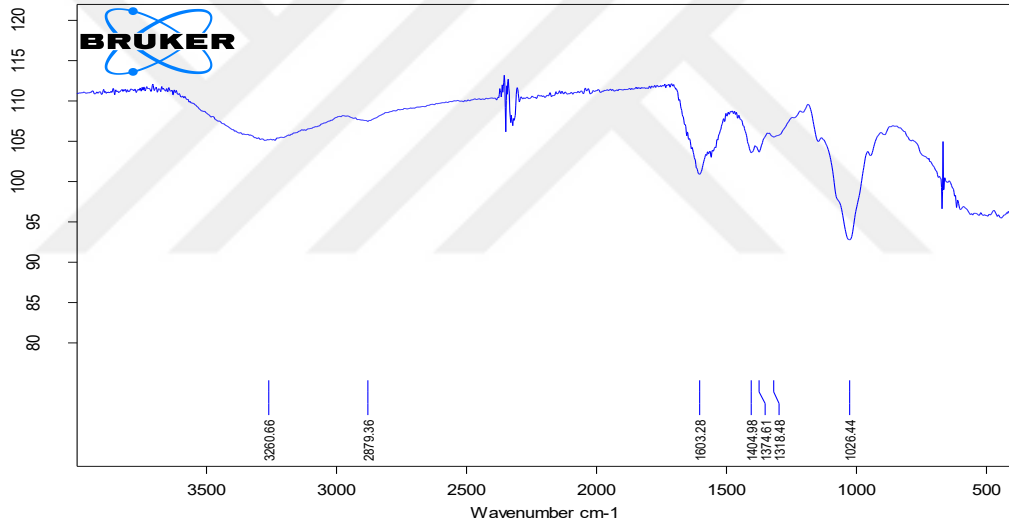
Şekil 3.14. FT-IR şematik gösterimi



C:\OPUS\_7.2.139.1294\MEAS\HA.0 HA Instrument type and / or accessory

22.05.2025

Page 1/1



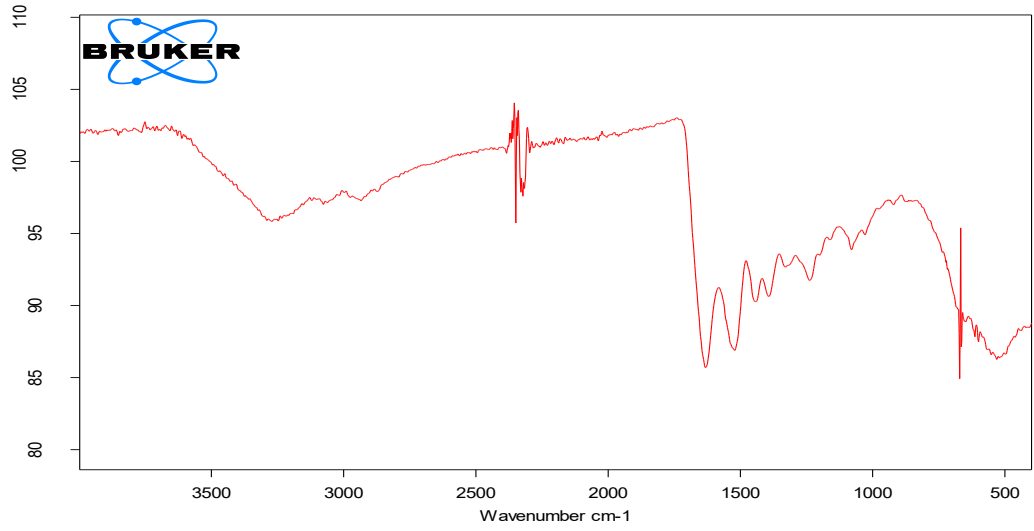
C:\OPUS\_7.2.139.1294\MEAS\HA.0 HA Instrument type and / or accessory

22.05.2025

Page 1/1

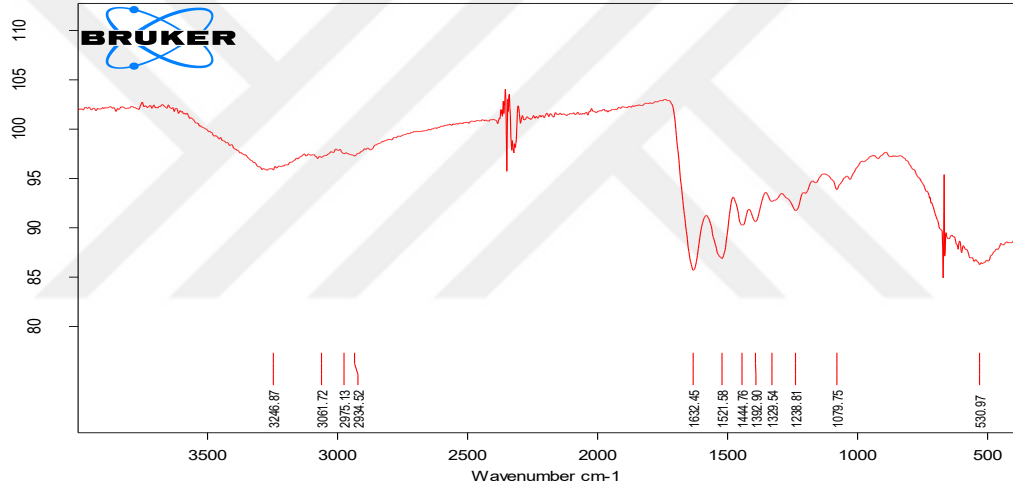
Şekil 3.15. Hyaluronik asit FT-IR spektrumu

Hyaluronik asitin FT-IR spektrumuna baktığımızda  $3260\text{ cm}^{-1}$ 'de O-H ve N-H titreşim bandı,  $2879\text{ cm}^{-1}$  de C-H titreşim bandı,  $1603\text{ cm}^{-1}$  de C-C titreşim bandı,  $1404\text{ cm}^{-1}$  de C-O titreşim bandı görülmektedir (Şekil 3.14,15).



|                                           |               |                                    |            |
|-------------------------------------------|---------------|------------------------------------|------------|
| C:\OPUS_7.2.139.1294\MEAS\TIP-1 KOLOJEN.0 | TIP-1 KOLOJEN | Instrument type and / or accessory | 22.05.2025 |
|-------------------------------------------|---------------|------------------------------------|------------|

Page 1/1

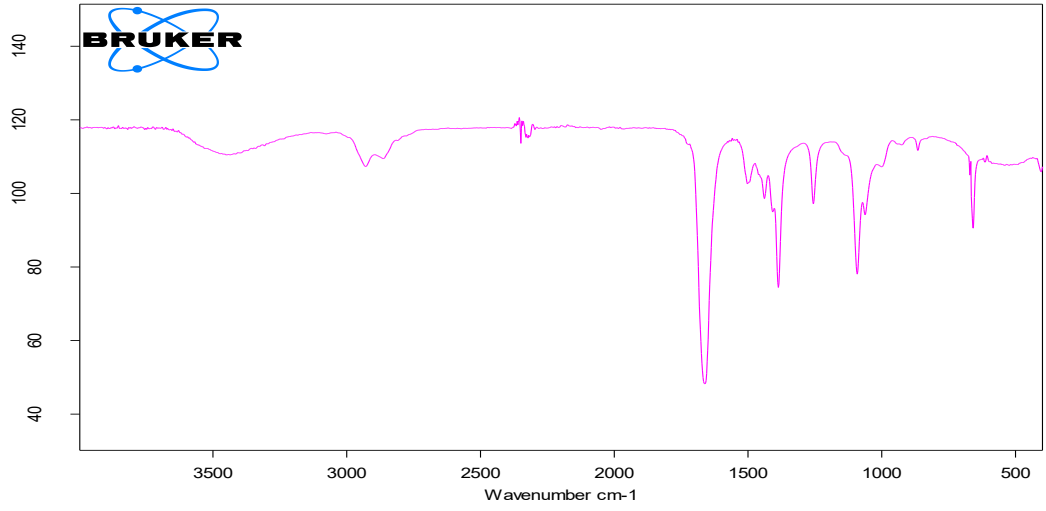


|                                           |               |                                    |            |
|-------------------------------------------|---------------|------------------------------------|------------|
| C:\OPUS_7.2.139.1294\MEAS\TIP-1 KOLOJEN.0 | TIP-1 KOLOJEN | Instrument type and / or accessory | 22.05.2025 |
|-------------------------------------------|---------------|------------------------------------|------------|

Page 1/1

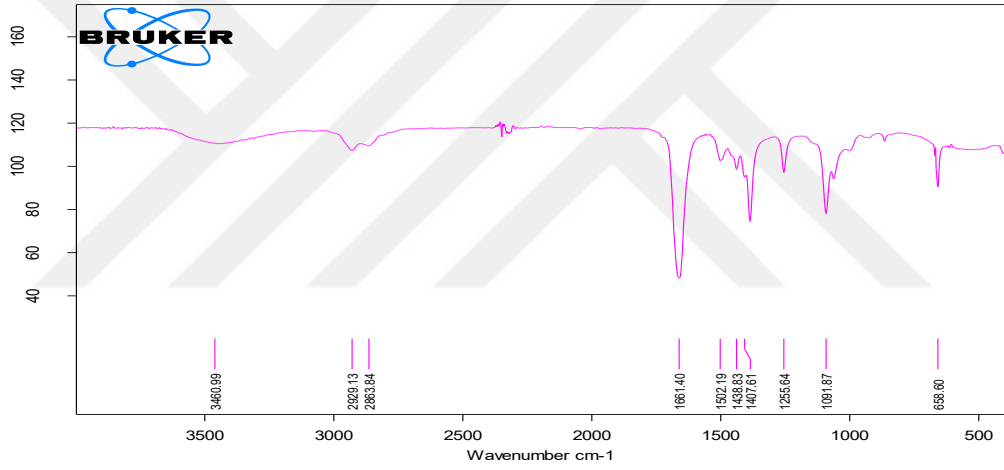
Şekil 3.16. Tip 1 Kollajen FT-IR spektrumu

Tip 1 Kollajen ip-1 Kollajenin FT-IR spektrumuna baktığımızda 3246 cm<sup>-1</sup>'de N-H titreşim bandı, 3061-2975 cm<sup>-1</sup> de C-H titreşim bandı, 1632 cm<sup>-1</sup> de C-C titreşim bandı, 1521 cm<sup>-1</sup> de C-N titreşim bandı 1444 cm<sup>-1</sup> de C-O titreşim bandı görülmektedir (Şekil 3.16.,17.)



|                                       |           |                                    |            |
|---------------------------------------|-----------|------------------------------------|------------|
| C:\OPUS_7.2.139.1294\MEAS\HIPERBLOT.0 | HIPERBLOT | Instrument type and / or accessory | 22.05.2025 |
|---------------------------------------|-----------|------------------------------------|------------|

Page 1/1

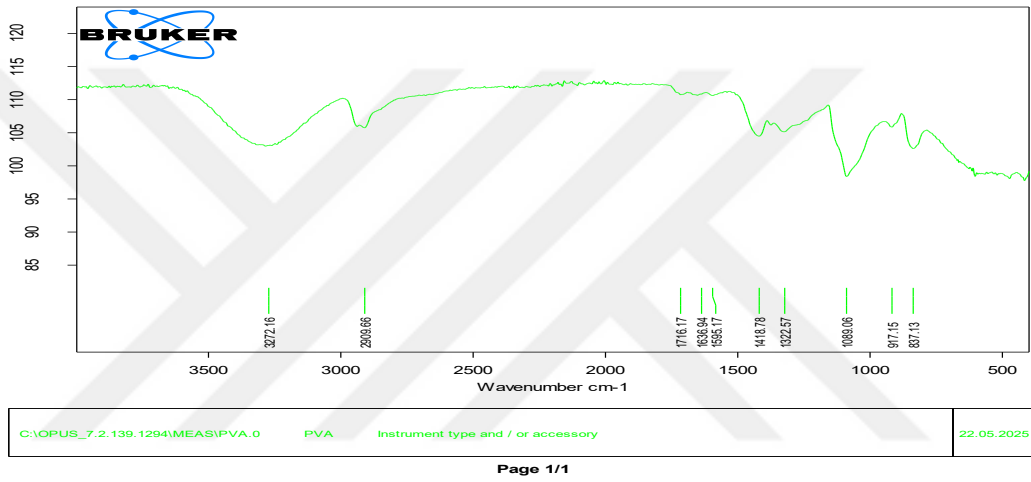
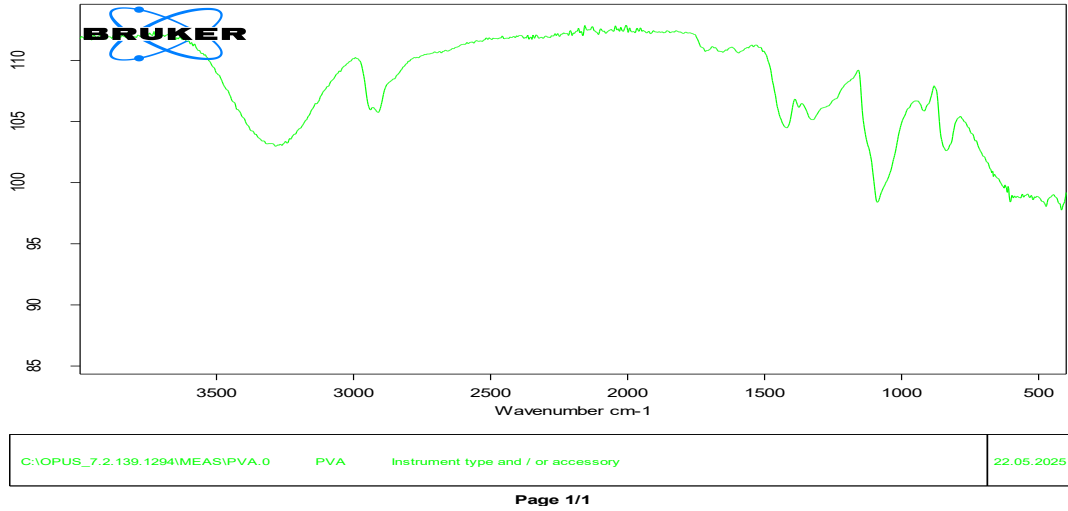


|                                       |           |                                    |            |
|---------------------------------------|-----------|------------------------------------|------------|
| C:\OPUS_7.2.139.1294\MEAS\HIPERBLOT.0 | HIPERBLOT | Instrument type and / or accessory | 22.05.2025 |
|---------------------------------------|-----------|------------------------------------|------------|

Page 1/1

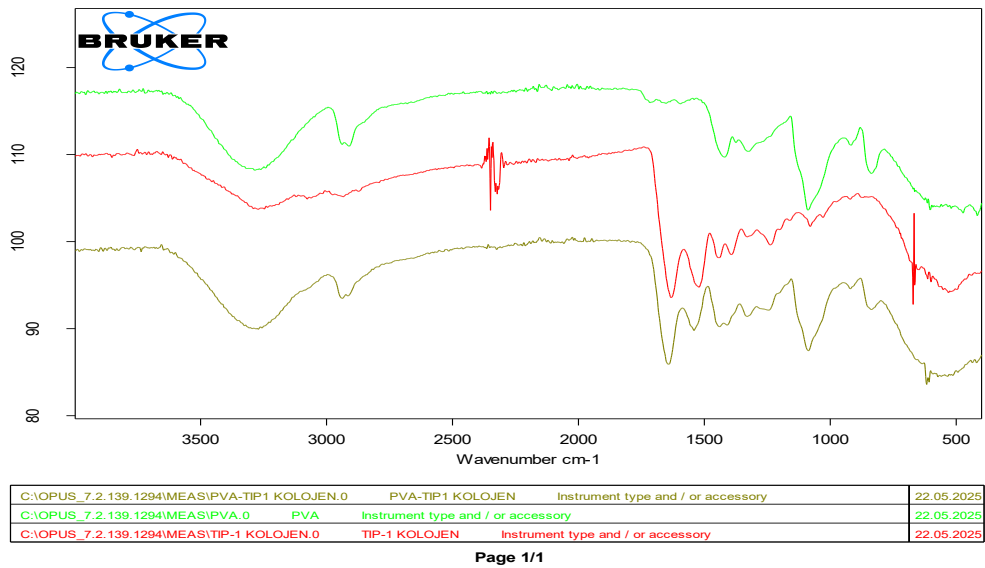
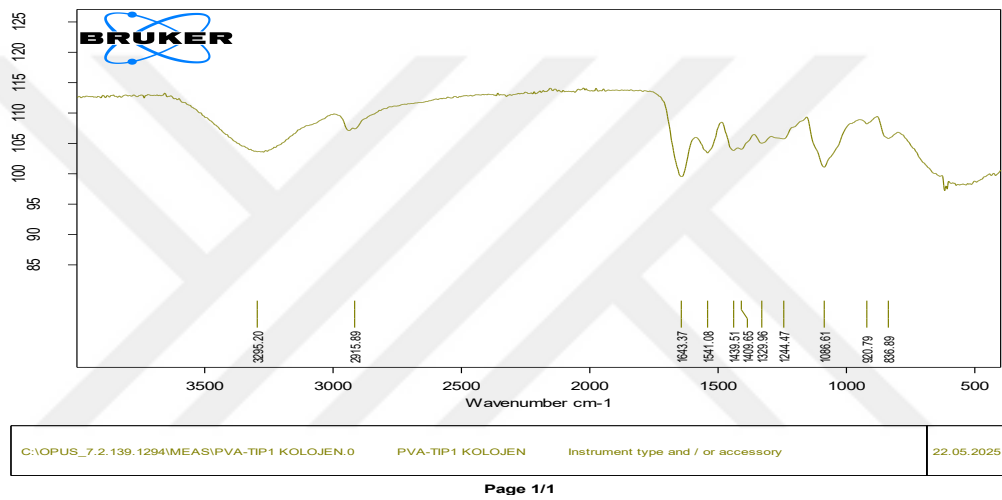
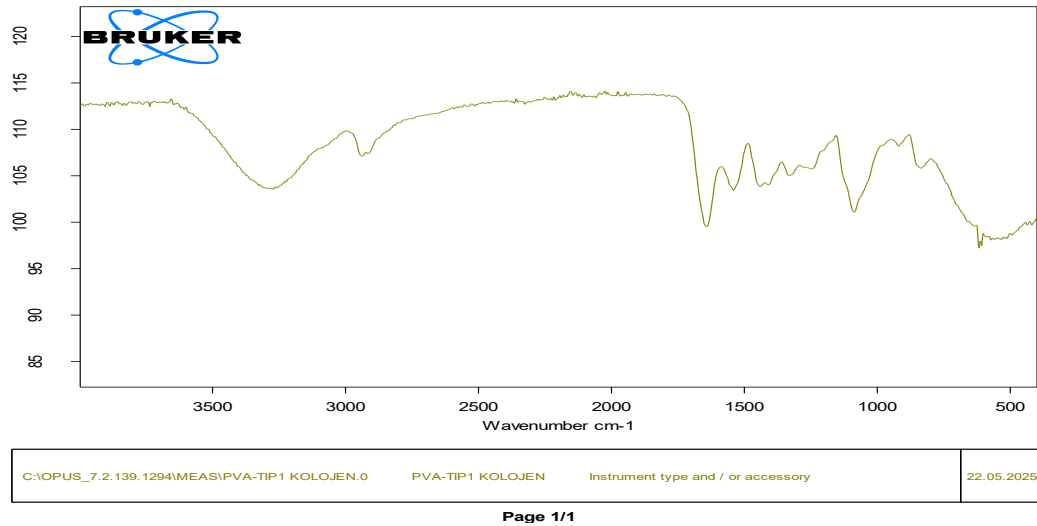
Şekil 3.18. EGF FT-IR spektrumu

EGF'nin FT-IR spektrumuna baktığımızda  $3460\text{ cm}^{-1}$ 'de O-H ve N-H titreşim bandı,  $2929\text{--}2863\text{ cm}^{-1}$  de C-H titreşim bandı,  $1661\text{ cm}^{-1}$  de C=O titreşim bandı,  $1502\text{ cm}^{-1}$  de C-N titreşim bandı  $1438\text{ cm}^{-1}$  de C-O titreşim bandı görülmektedir (Şekil 3.18,19.)



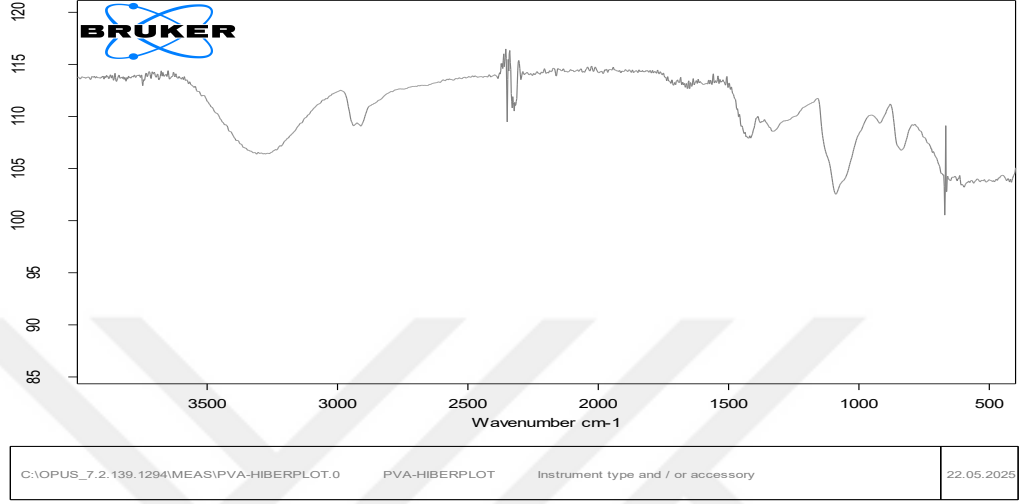
**Şekil 3.20.** PVA FT-IR spektrumu

Polivinil alko nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda  $3272\text{ cm}^{-1}$ 'de O-H titreşim bandı,  $2909\text{ cm}^{-1}$  de C-H titreşim bandı,  $1716\text{-}1595\text{ cm}^{-1}$  de C-C titreşim bandı,  $1418\text{ cm}^{-1}$  de C-O titreşim bandı görülmektedir (Şekil 3.20,21).

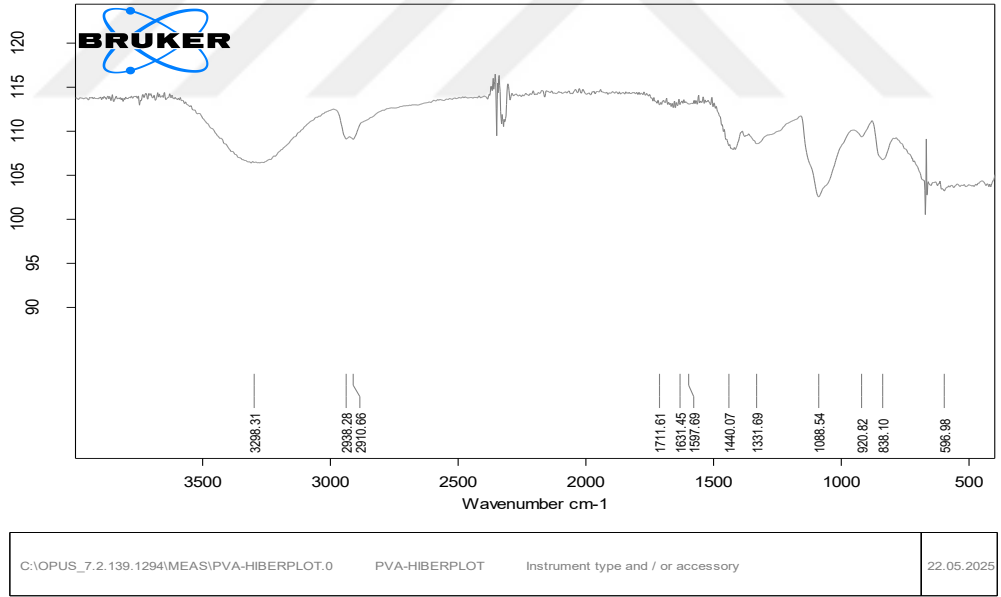


Şekil 3.22. PVA-Tip Kollajen FT-IR spektrumu

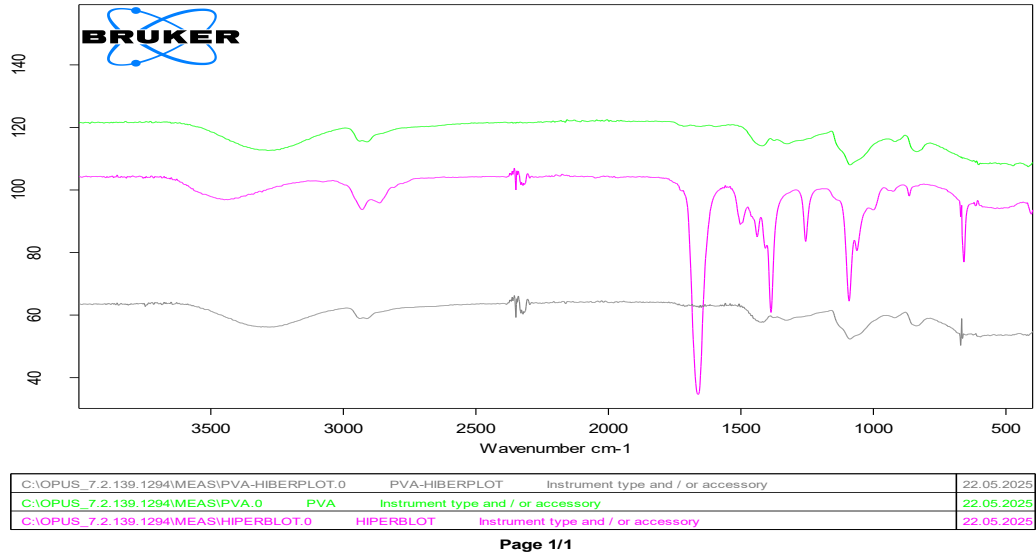
PVA-TİP-1 kollajen nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda  $3295\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve TİP-1 Kalojene ait O-H titreşim bandı,  $2915\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve TİP-1 kalojene ait C-H titreşim bandı,  $1632\text{-}1541\text{-}1439\text{-}1409\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve TİP-1 kalojene ait C-C, C-N, C-O titreşim bandlarının olduğu görülmektedir (Şekil 3.22)



Page 1/1

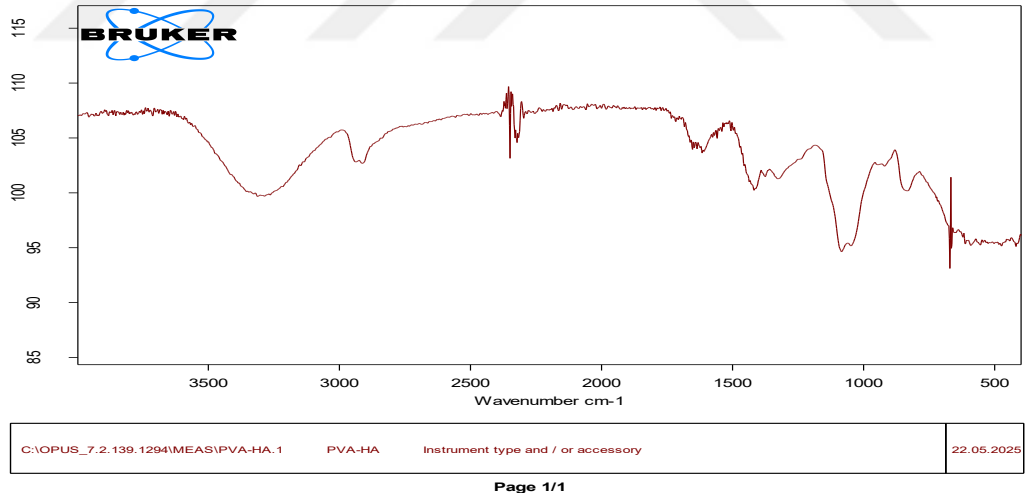


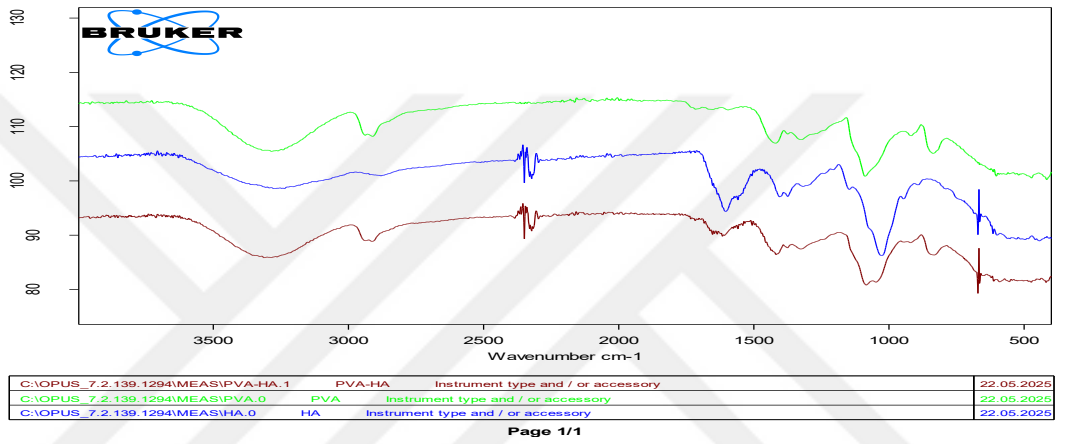
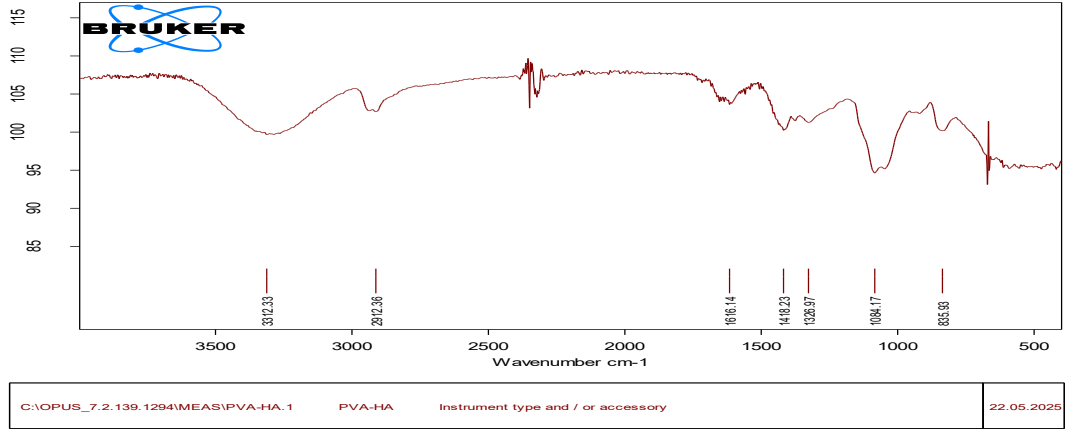
Page 1/1



Şekil 3.23. PVA-EGF FT-IR spektrumu

PVA-EGF nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda  $3298\text{ cm}^{-1}$ 'de PVA ve EGF' ye ait O-H ve N-H titreşim bandı,  $2938\text{-}2910\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve EGF'ye ait C-H titreşim bandı,  $1711\text{-}1631\text{-}1597\text{-}1440\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve EGF'ye ait C-C, C-N, C-O titreşim bandlarının olduğu görülmektedir (Şekil 3.23)



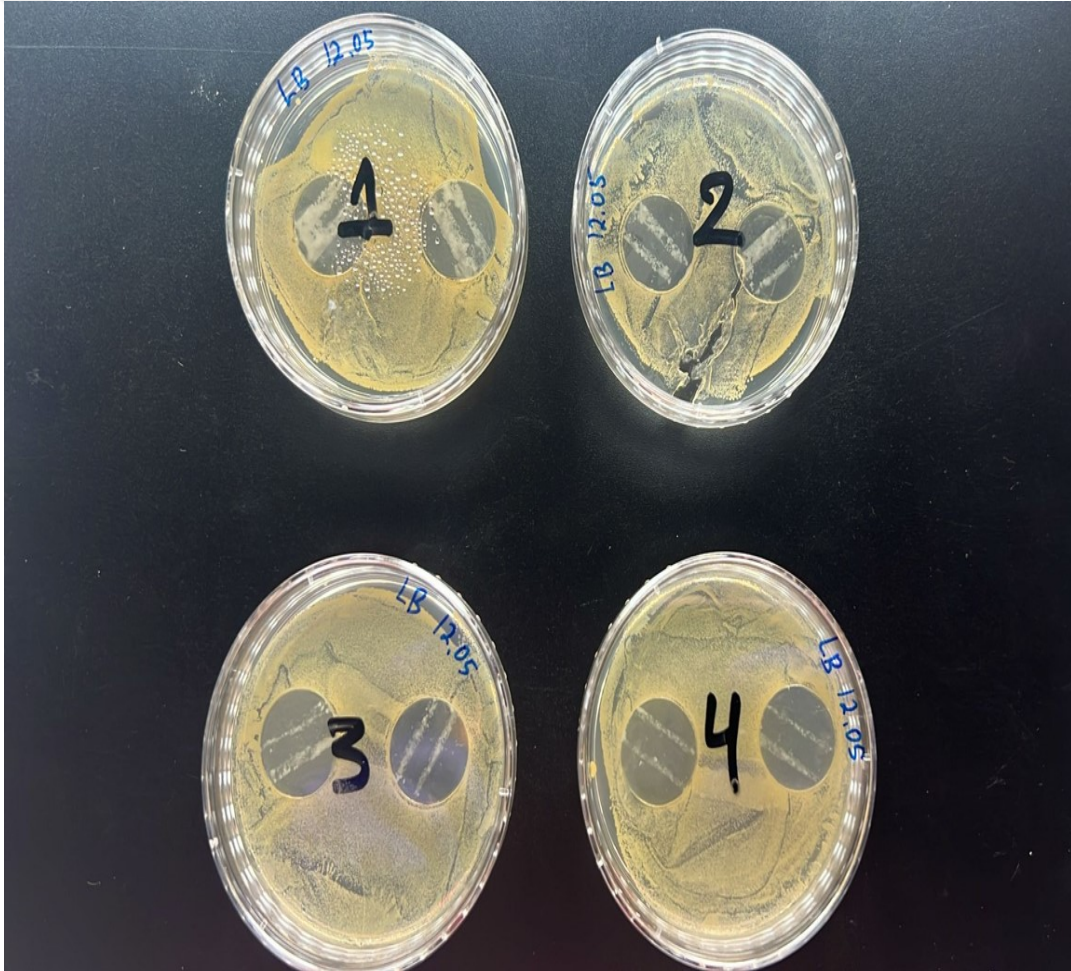


Şekil 3.24. PVA-HA FT-IR spektrumu

PVA-HA nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda  $3312\text{ cm}^{-1}$ 'de PVA ve HA' ye ait O-H ve N-H titreşim bandı,  $2912\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve HA'ye ait C-H titreşim bandı,  $1616\text{-}1418\text{-}1326\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve HA'ye ait C-C, C-N, C-O titreşim bandlarının olduğu görülmektedir (Şekil 3.24.)

### 3.4. Antibakteriyel Aktivite – Disk Difüzyon Yöntemi

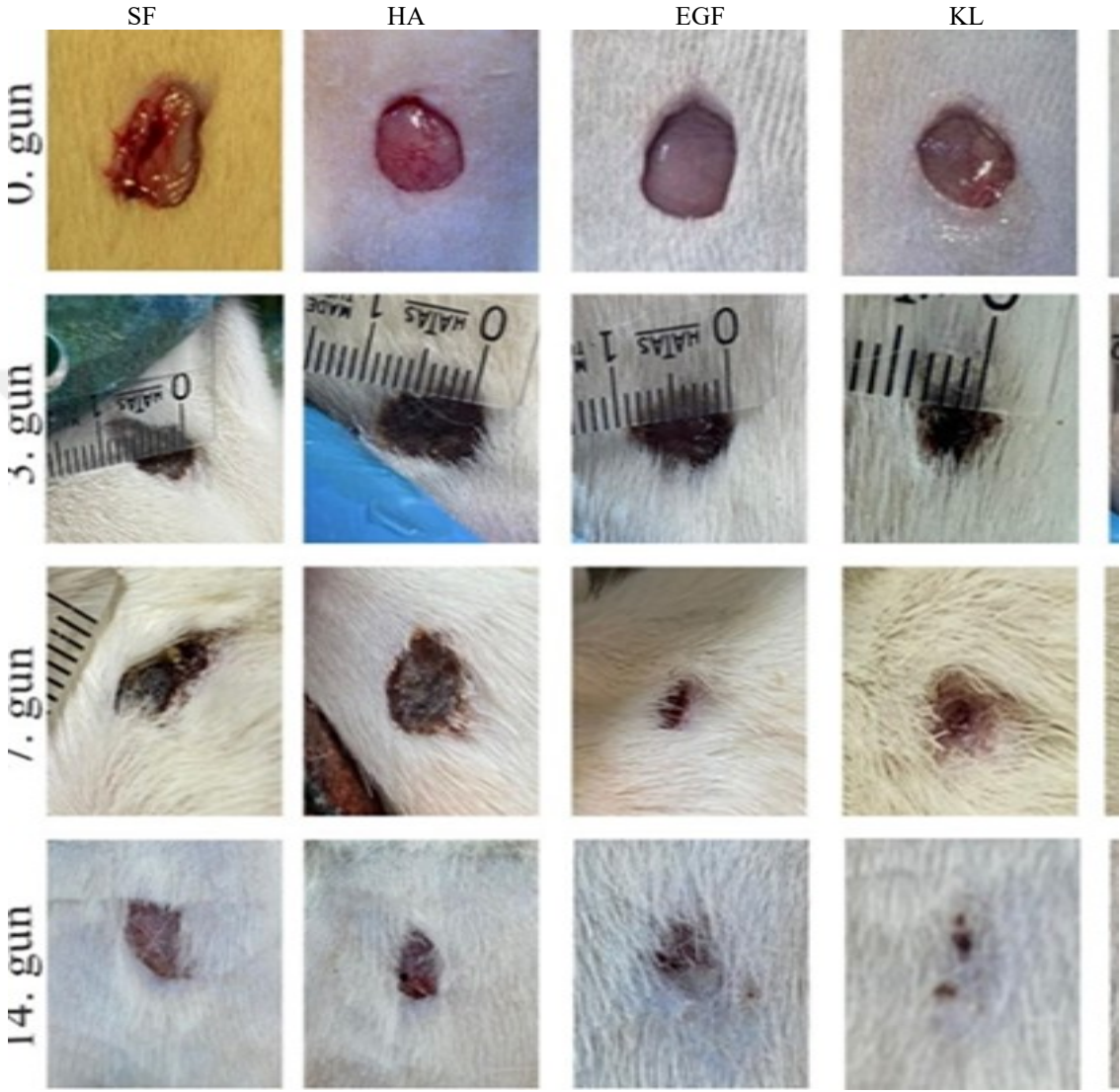
Nanofiberlerin antibakteriyel etkinliği, *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Nanofiber örnekleri, 15 mm çapında diskler şeklinde hazırlanmıştır. LB broth ortamında 37 °C’de 24 saat inkübe edilen *S. aureus* kültürlerinden, OD<sub>600</sub> = 0.1 olacak şekilde ayarlanmış bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Ardından, 100 µL süspansiyon, LB agar yüzeyine homojen olarak yayılmıştır. Diskler dikkatlice agar yüzeyine yerleştirilmiş ve Petri kapları 37 °C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, inhibisyon zon çapları ölçülerek antibakteriyel aktivite değerlendirilmiştir. Deneyler, sonuçların güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini sağlamak amacıyla üçlü (n=3) olarak yürütülmüştür.



Şekil 3.25. Grupların inhibisyon zonları 1: Sham, 2: Kollajen, 3: EGF, 4: HA

Deney sonucunda, test edilen dört farklı nanofiber örneğinden en çok 2. Grupta ardından da 3. Grupta inhibisyon zonu oluşmuştur. Bu durum, nanofiberlerden sadece 2 grubun test edilen konsantrasyon ve koşullarda *Staphylococcus aureus* bakterisine

karşı doğrudan bir antibakteriyel etki gösterdiğini düşündürmektedir. Bazı gruplarda Zon oluşmamasının nedeni, nanofiberlerin bakteri üzerindeki etkisinin zayıf olması, etken maddenin salınımının yetersizliği veya nanofiber yapısında antibakteriyel aktiviteyi destekleyecek bileşenlerin bulunmaması olabilir.



Şekil 3.26. Tam kat eksizyonel yaralarının farklı günlerdeki görüntüleri

İnvivo yara iyileştirme deneyinin 14. gününde sonra sıçanlara ötenazi uygulandı ve histolojik inceleme ve immüno Floresan analizi için yara dokusu örnekleri toplandı. 14. günlerde sıçanlardan alınan yara yeri doku örneklerinde doku boyaması H&E boyaları kullanılarak yapıldı (Şekil 3.26). H&E, re-epitelizasyon, granülasyon dokusu, kollajen göçü, İnflamatuar hücre varlığı, neovaskülarizasyon ve ülser gibi yapıları incelemek için kullanıldı.

Şekil 11.26a SHAM grubundan 14. günde alınan deri örneklerinin ışık mikroskopik görüntüsüdür. Deride bulunan epidermis tabakasının (Epi) kalınlığının

normal histolojik yapıya göre kalınlaşmadığı ve rejeneratif alanların bulunmadığı izlenmektedir.

Şekil 11.26b HA grubundan 14. günde alınan deri örneklerinin ışık mikroskopik görüntüsüdür. Epidermis tabakasının (Epi) normal histolojik kalınlıkta olduğu ve rejeneratif alanların az olarak bulunduğu görülmektedir.

Şekil 11.26c EGF grubundan 14. günde alınan deri örneklerinin ışık mikroskopik görüntüsüdür. Görüntüde epidermis tabakasındaki belirgin kalınlaşma dikkat çekmektedir.

Şekil 11.26d KL grubundan 14. günde alınan deri örneklerinin ışık mikroskopik görüntüsüdür. Görüntüde epidermis (Epi) tabakasında daha belirgin bir kalınlaşma görülmekte olup dermis bölgesinde yoğun kollajen lif artışı gözlenmektedir. Rejenerasyonun gerçekleştiği bu grupta diğer gruplara göre (NT, SHAM, Bepangel) hücre proliferasyonunun ve doku yeniden yapılandırılmasının daha aktif olduğu izlenmektedir. Rejeneratif tıp uygulamalarının deri iyileşmesinde etkili olduğu ve bu grupta daha yüksek bir rejeneratif potansiyel olduğunu göstermektedir.

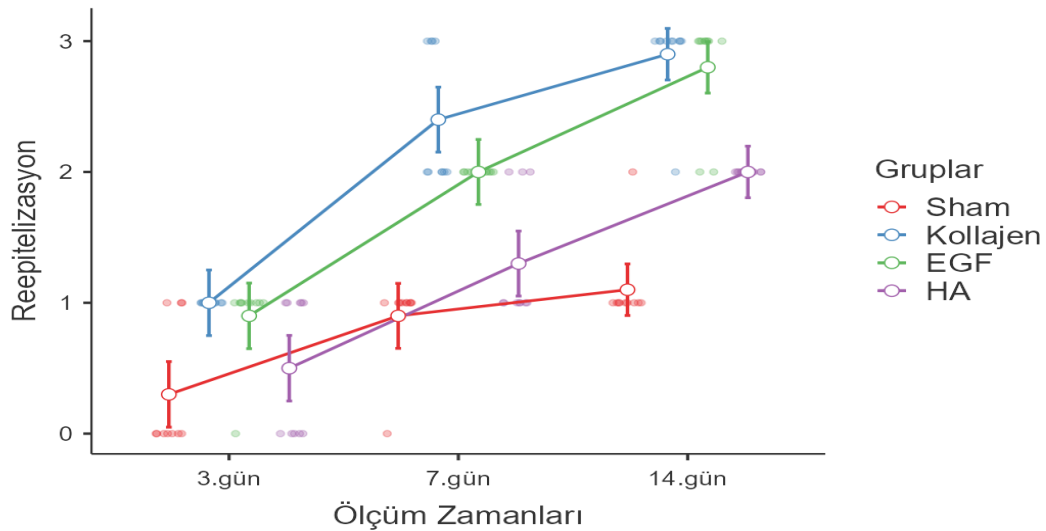
### **3.4.1.Bulgular**

Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının Reepitelizasyon bakımından kıyasına ilişkin sonuçlar Tablo 3.2. ve Şekil 3.27.'de verildi. Gruplar arası 3.gün sonuçları incelendiğinde, Kollajen ve EGF uygulanan gruplardaki reepitelizasyon miktarının sham ve HA gruplarındakinden anlamlı düzeyde fazla olduğu, ancak bu iki grup arasında anlamlı farklılığın olmadığı görüldü. 7.günde en yüksek reepitelizasyon Kollajen ve EGF grubunda olduğu ve tüm grupların birbirinden farklı olduğu saptanırken, 14.günde Kollajenin diğer uygulanan gruplardaki reepitelazasyon düzeyinden anlamlı derecede farklı olduğu belirlendi. Grup-içi karşılaştırmalar incelendiğinde, Sham grubunda 7.nci ve 14.ncü gündeki reepitelazasyonun 3.ncü güne kıyasla anlamlı şekilde arttığı saptandı.

Tablo 3.2. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının Reepitelizasyon bakımından kıyası

| Gruplar      | Ölçüm Zamanları |             |             | Grup-İçi karşılaştırma |               |               |
|--------------|-----------------|-------------|-------------|------------------------|---------------|---------------|
|              | 3.gün           | 7.gün       | 14.gün      | 3. vs. 7.gün           | 3. vs. 14.gün | 7. vs. 14.gün |
| (A) Sham     | 0.30 ± 0.15     | 0.90 ± 0.10 | 1.10 ± 0.10 | .005                   | .003          | .167          |
| (B) Kollajen | 1.00 ± 0.00     | 2.40 ± 0.16 | 2.90 ± 0.10 | <.001                  | <.001         | .052          |
| (C) EGF      | 0.90 ± 0.10     | 2.00 ± 0.00 | 2.80 ± 0.13 | <.001                  | <.001         | <.001         |
| (D) HA       | 0.50 ± 0.17     | 1.30 ± 0.15 | 2.00 ± 0.00 | .022                   | <.001         | .001          |

7.gün ve 14.gün re epitelizasyon ölçümünde gruplar arasından Kollajen ve EGF gruplarının diğer gruplardan farklı olduğu saptanırken, ( $p<.001$ ). 14.gün reepitelizasyon ölçümünde Kollajenin diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ( $p<.001$ ). Sham grubundaki ratlarda 14.gün re epitelizasyon ölçümünün, HA, EGF ve KL grubundakilere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu elde edildi ( $p<.001$ ).

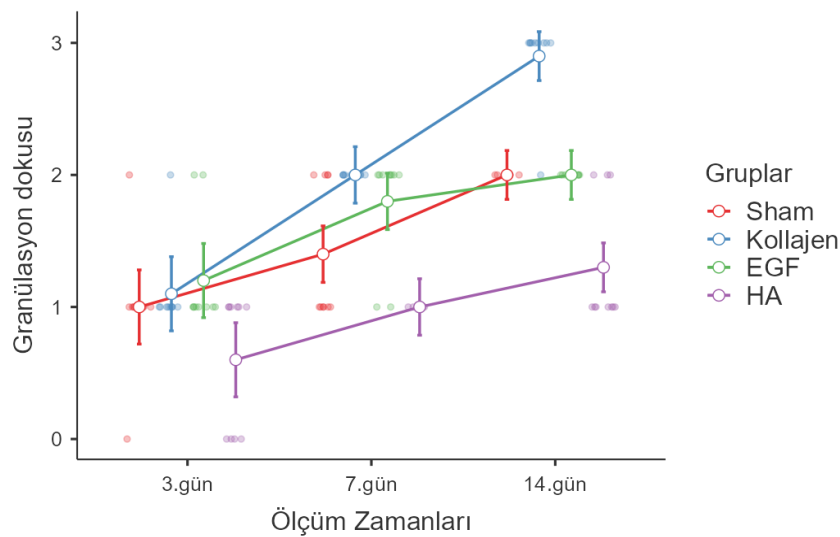


Şekil 3.27. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının Reepitelizasyon düzeyleri

Gruplar arası üçüncü gün granülasyon dokusu sonuçları incelendiğinde, kollajen uygulanan gruplardaki granülasyon miktarının diğer gruplarındakinden anlamlı düzeyde fazla olduğu, ancak. Yedinci günde en yüksek granülasyon dokusunun kollajen ve EGF grubunda olduğu ve diğer gruplardan farklı olduğu saptanırken, ondördüncü günde kollajenin diğer uygulanan gruplardaki granülasyon dokusu düzeyinden anlamlı derecede farklı olduğu belirlendi. Grup-içi karşılaştırmalar incelendiğinde, Sham grubunda 3.ve 7.günler arası anlamlı farklılık saptanmazken 7. ve 14. gündeki granülasyon dokusunun 3. güne kıyasla anlamlı şekilde arttığı saptandı (Tablo 3.3. Şekil 3.28).

Tablo 3.3. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının granülasyon dokusu bakımından kıyası

| Gruplar     | Ölçüm Zamanları |             |             | Grup-içi karşılaştırma |              |               |
|-------------|-----------------|-------------|-------------|------------------------|--------------|---------------|
|             | 3.gün           | 7.gün       | 14.gün      | 3. vs. 7.gün           | 3.vs. 14.gün | 7. vs. 14.gün |
| (A) Sham    | 1.00 ± 0.15     | 1.40 ± 0.16 | 2.00 ± 0.00 | .167                   | <.001        | .005          |
| (B)Kollajen | 1.10 ± 0.10     | 2.00 ± 0.00 | 2.90 ± 0.10 | <.001                  | <.001        | <.001         |
| (C) EGF     | 1.20 ± 0.13     | 1.80 ± 0.13 | 2.00 ± 0.00 | .005                   | <.001        | .167          |
| (D) HA      | 0.60 ± 0.16     | 1.00 ± 0.00 | 1.30 ± 0.15 | .036                   | .009         | .081          |



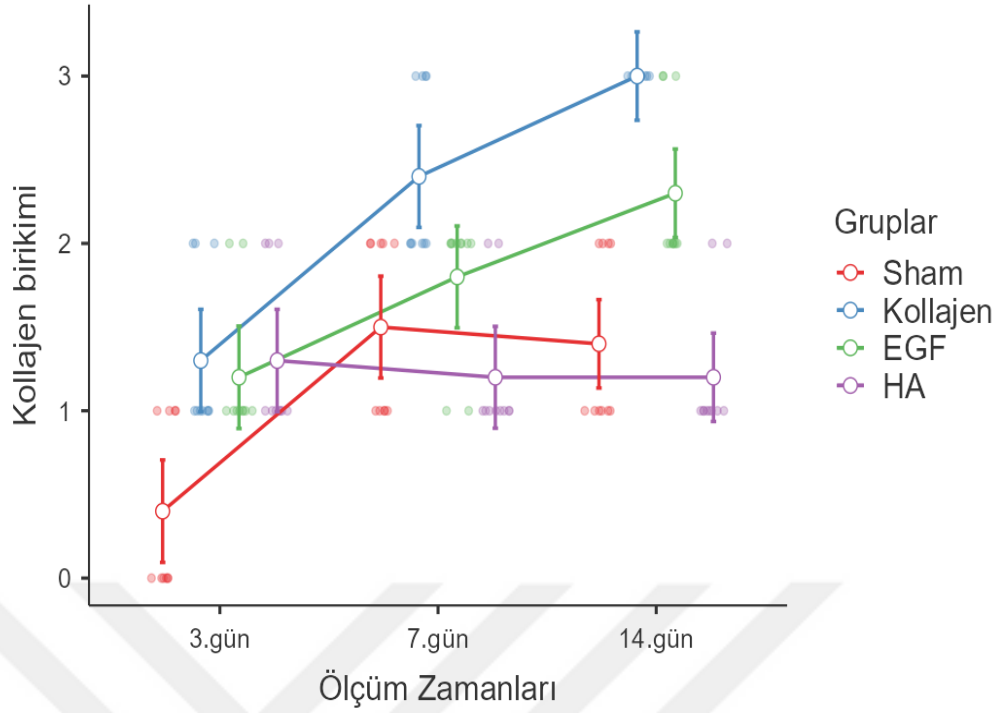
Şekil 3.28. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının granulasyon dokusu düzeyleri

Gruplar arası üçüncü gün Kollajen birikimi sonuçları incelendiğinde, Kollajen uygulanan gruptaki Kollajen birikimi miktarının tabii ki diğer gruplarındakinden anlamlı düzeyde fazla olduğu, ancak. Yedinci günde en yüksek Kollajen birikiminin Kollajen ve EGF grubunda olduğu ve diğer gruplardan farklı olduğu saptanırken, ondördüncü günde Kollajenin diğer uygulanan gruplardaki Kollajen birikimi düzeyinden anlamlı derecede farklı olduğu belirlendi. Grup-içi karşılaştırmalar incelendiğinde, Kollajen grubunda üçüncü ve yedinci günler arası anlamlı farklılık saptanırken Yedinci ve ondördüncü gündeki Kollajen birikiminin üçüncü güne kıyasla anlamlı şekilde arttığı saptandı (Tablo 3.4. Şekil 3.29).

Tablo 3.4. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının kollajen birikimi bakımından kıyası

| Gruplar      | Ölçüm Zamanları |             |             | Grup-içi karşılaştırma |                  |                  |
|--------------|-----------------|-------------|-------------|------------------------|------------------|------------------|
|              | 3.gün           | 7.gün       | 14.gün      | 3.gün vs. 7.gün        | 3.gün vs. 14.gün | 7.gün vs. 14.gün |
| (A) Sham     | 0.40 ± 0.16     | 1.50 ± 0.17 | 1.40 ± 0.16 | <.001                  | .001             | .678             |
| (B) Kollajen | 1.30 ± 0.15     | 2.40 ± 0.16 | 3.00 ± 0.00 | .003                   | <.001            | <.001            |
| (C) EGF      | 1.20 ± 0.13     | 1.80 ± 0.13 | 2.30 ± 0.15 | .005                   | .001             | .052             |
| (D) HA       | 1.30 ± 0.15     | 1.20 ± 0.13 | 1.20 ± 0.13 | .343                   | .343             | -                |

Dört gruptan sadece KL grubunda 3. ile 14.gün, 7. ile 14.gün arası Kollajen birikimi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdi. Sham grubu ratlarında ortalama Kollajen birikimi, son güne geçerken istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı elde edildi. EGF grubu ratlarındaki Kollajen birikiminin de son güne geçerken arttığı lakin kollajen grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farkı olduğu tespit edildi.

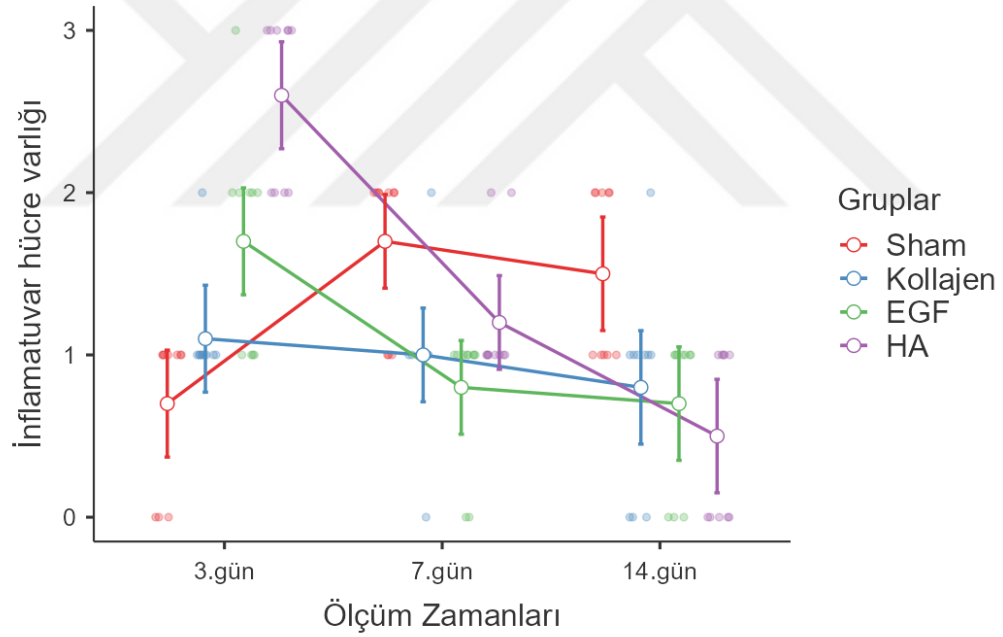


Şekil 3.29. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının kollajen birikimi düzeyleri

Gruplar arası İnflamatuvar hücre varlığı bakımından 3.gün sonuçları incelendiğinde, Sham ve HA uygulanan gruptaki hücresel varlığın diğer gruplarındakinden anlamlı düzeyde fazla olduğu, ancak 7. günde en yüksek İnflamatuvar hücre varlığının Sham ve HA grubunda olduğu ve diğer gruplardan farklı olduğu saptanırken, 14.günde Sham grubundaki İnflamatuvar hücre varlığının diğer uygulanan gruplardan hücresel olarak farklı olduğu aynı zamanda da istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu görüldü. Grup-içi karşılaştırmalar incelendiğinde, Sham grubunda 3. ve 7.günler arası diğer gruplardan anlamlı farklılık saptanırken 7. ve 14. gündeki İnflamatuvar hücre varlığının üçüncü güne kıyasla anlamlı şekilde azaldığı saptandı (Tablo 3.5. Şekil 3.30).

Tablo 3.5. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının İnflamatuvar hücre varlığı bakımından kıyası

| Gruplar      | Ölçüm Zamanları |             |             | Grup-İçi karşılaştırma |               |               |
|--------------|-----------------|-------------|-------------|------------------------|---------------|---------------|
|              | 3.gün           | 7.gün       | 14.gün      | 3.vs. 7.gün            | 3. vs. 14.gün | 7. vs. 14.gün |
| (A) Sham     | 0.70 ± 0.15     | 1.70 ± 0.15 | 1.50 ± 0.17 | <.001                  | <.001         | .168          |
| (B) Kollajen | 1.10 ± 0.10     | 1.00 ± 0.15 | 0.50 ± 0.20 | <.001                  | .193          | .343          |
| (C) EGF      | 1.70 ± 0.21     | 0.80 ± 0.13 | 0.70 ± 0.15 | <.001                  | .003          | .591          |
| (D) HA       | 2.60 ± 0.16     | 1.20 ± 0.13 | 0.80 ± 0.17 | <.001                  | <.001         | .001          |



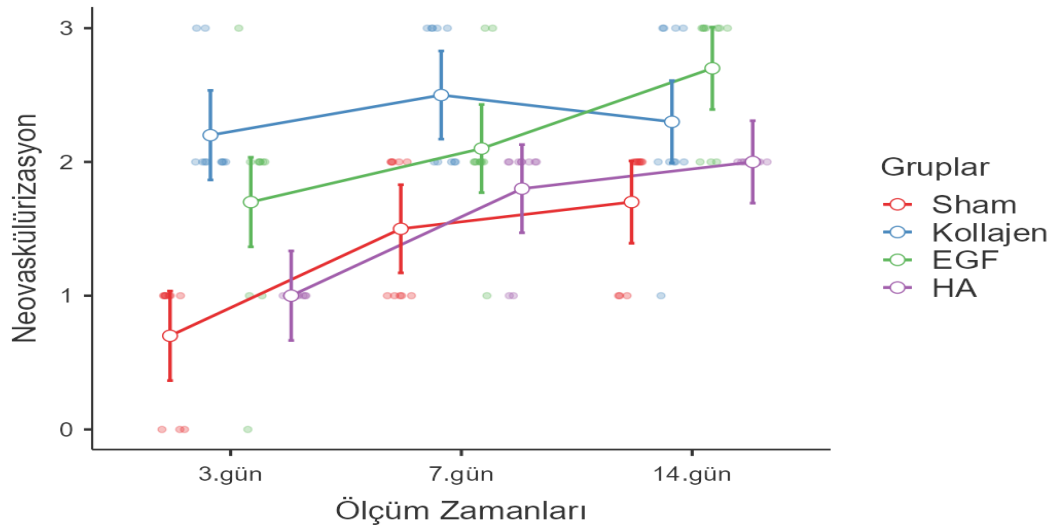
Şekil 3.30. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının İnflamatuvar hücre varlığı bakımından kıyası

Gruplar arası neovaskülürizasyon bakımından sonuçları incelendiğinde, 3.gün KL ve EGF uygulanan gruptaki neovaskülürizasyonun sham ve HA gruplarından anlamlı düzeyde fazla olduğu, ancak 7.günde en yüksek neovaskülürizasyonun sırasıyla KL grubunda olduğu ardından EGF grubunda olduğu ve Sham ve HA gruplarından olduğu saptanırken, 14.günde KL grubundaki neovaskülürizasyonun

diğer uygulanan gruplardan hücresel ve istatistiksel olarak da anlamlı derecede farklı olduğu görüldü. Grup-içi karşılaştırmalar incelendiğinde, neovaskülürizasyonun KL grubunda 3. ve 7.günler arası diğer gruplardan anlamlı farklılık saptanırken 7. ve 14.ncü günlerdeki neovaskülürizasyonun aralarında anlamlı şekilde farklılık olduğu saptanmakla beraber 14.Gündeki KL grubundaki neovaskularizasyonun azalma ivmesine geldiğini EGF grubundaki neovaskularizasyonun ise devam ettiği görüldü. (Tablo 3.5. Şekil 3.30).

Tablo 3.6. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının neovaskülerizasyon bakımından kıyası

| Gruplar      | Ölçüm Zamanları |             |             | Grup-içi karşılaştırma |               |               |
|--------------|-----------------|-------------|-------------|------------------------|---------------|---------------|
|              | 3.gün           | 7.gün       | 14.gün      | 3. vs. 7.gün           | 3. vs. 14.gün | 7. vs. 14.gün |
| (A) Sham     | 0.70 ± 0.15     | 1.50 ± 0.17 | 1.70 ± 0.15 | .003                   | .001          | .343          |
| (B) Kollajen | 2.00 ± 0.13     | 2.30 ± 0.17 | 2.50 ± 0.21 | <.001                  | <.001         | <.001         |
| (C) EGF      | 1.70 ± 0.26     | 2.10 ± 0.18 | 2.70 ± 0.15 | <.001                  | <.001         | .023          |
| (D) HA       | 1.00 ± 0.00     | 1.80 ± 0.13 | 2.00 ± 0.00 | .167                   | <.001         | .168          |

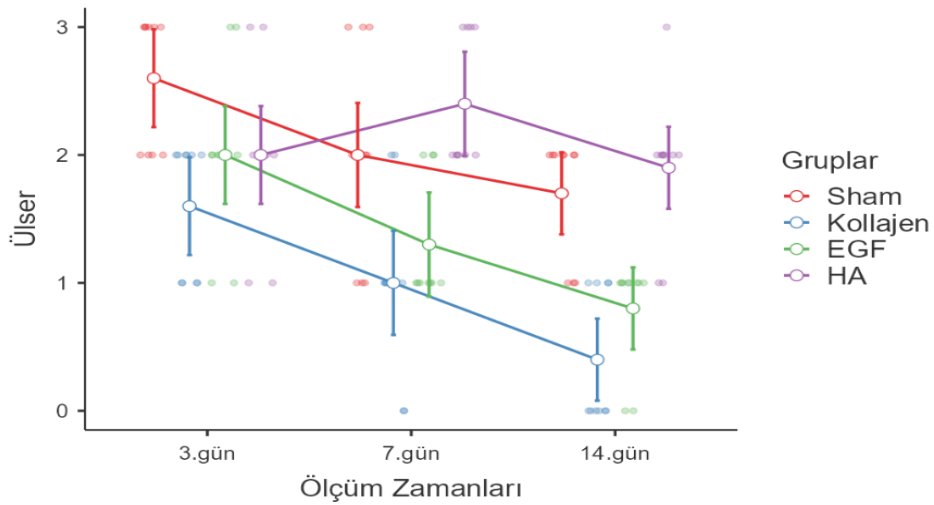


Şekil 3.30. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının neovaskülerizasyon bakımından kıyası

Son olarak gruplar arası ülser bakımından sonuçları incelendiğinde, tüm gruplardaki ortak durumun ülserin günden güne azaldığı gözlenmiş olup, 3.gün KL ve EGF uygulanan gruptaki ülserin 3. Ve 14. Günkü kıyaslamasında ülserlerin azaldığı ve istatistiksel olarak anlamlı fark gözleendiği görülmektedir. Ülserin Sham ve HA gruplarından anlamlı düzeyde azaldığı, 14. günde gruplar arasında Sham-KL ve Sham-Egf arasında anlamlı farklar saptanmış olup burdaki ülser alanını azalmasında kullanılan örtü materyalleri kaynaklı olduğu düşünmekteyiz. Grup-içi karşılaştırmalar incelendiğinde, ülserin Sham ve HA grubu hariç olmak üzere gruplar arası etkileşimlerde giderekazaldığı anlamlı farklar ortaya çıktığı görülmektedir (Tablo 3.7. Şekil 3.31).

Tablo 3.7. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının ülser bakımından kıyası

| Gruplar      | Ölçüm Zamanları |             |             | Grup-içi karşılaştırma |                  |                  |
|--------------|-----------------|-------------|-------------|------------------------|------------------|------------------|
|              | 3.gün           | 7.gün       | 14.gün      | 3.gün vs. 7.gün        | 3.gün vs. 14.gün | 7.gün vs. 14.gün |
| (A) Sham     | 2.60 ± 0.16     | 2.00 ± 0.26 | 1.70 ± 0.15 | .111                   | .003             | .193             |
| (B) Kollajen | 1.60 ± 0.16     | 1.00 ± 0.21 | 0.40 ± 0.16 | .023                   | <.001            | .051             |
| (C) EGF      | 2.00 ± 0.21     | 1.30 ± 0.15 | 0.80 ± 0.13 | .009                   | <.001            | .014             |
| (D) HA       | 2.00 ± 0.21     | 2.40 ± 0.16 | 1.90 ± 0.18 | .167                   | .726             | .052             |



Şekil 3.31. Çalışma grupları ve ölçüm zamanlarının ülser bakımından kıyası

#### 4. TARTIŞMA

Yanık organizmanın bölgesel olarak ateş, buhar, sıcak cisimler, vb. ile karşılaşması sonucu gelişen doku travmasıdır (Radzikowska-Büchner E ve ark 2023). Yanık yaraları genelde özel bir yara kategorisinde kabul edilmesine rağmen diğer travmatik yaralardan farklılık göstermez, genel yara iyileşmesi ilkeleri yanık yaraları için de geçerlidir (Qi L ve ark 2022). Yara iyileşmesi; hemostaz ve inflamasyon fazı, proliferatif faz ve maturasyon ve remodelling fazı olmak üzere 3 evrede incelenir (Siavash M 2023). Yanık tedavisinde farklı modalitede ürünler kullanılıyor olsa da en önemlisi; basit ve iyi bir yara bakım planının oluşturulması ve uygulanmasıdır. İdeal pansuman ürünü ucuz olmalı, kolay uygulanabilmeli, uzun peryotta etkinliğini koruyabilmelidir (Çetinkale O 2001). Tedavide esas amaç epitelyal iyileşmeyi hızlandırıcı yöntemlerin doğru seçilmesidir. Topikal yanık tedavisinde metod seçimi, yanık alanının invazyon derinliğine ve tedavi amaçlarına bağlıdır (Çetinkale O 2001). Enfeksiyon ise özellikle yanık yaraların yönetiminde önemli bir sorun olup Yara iyileşmesinde gecikmeye, yarada eksüda oluşumuna ve dokuda kolajen sentezinin bozulmasına neden olur (Rondas ve ark 2015). Global dünyada artan nüfus, hayat kalite ve konforunu bozan ek hastalıklarla birlikte yanık ve yaraların görülmesinin artmasıyla birlikte modernize ve geniş perspektifli yara yönetimi, yaraların iyileşme sürecini hızlandırmak ve iyileştirmek için yenilikçi yara örtüleri keşfetmeye çalışmaktadır (Leong ve ark 2023). Yaşlanan nüfusla birlikte kronik yaraların yaygınlığının artmasıyla birlikte modern yara yönetimi, yara iyileşme sürecini kolaylaştırmak ve iyileştirmek için yenilikçi yara örtülerini keşfetmeye çalışmaktadır. Tez kapsamında hazırlanan örtülerde PVA kullanılmasının sebebi ise molekülerle uyum sağlama, örtü oluşumu, biyo-görüntüleme, dahil olmak üzere tıp alanındaki uygulamalarının oldukça fazla olmasıdır.

PVA'nın viskozitesindeki hızlı artış ve suyun donmasıyla PVA katmanlarının hareketinin durması nedeniyle çözeltide jelatinleşebildiği çapraz bağlanma mekanizması ile gerçekleşir (Gonzalez ve ark 2014). PVA-çözeltisinin sıcaklığı düştükçe, buz kristallerinin boyutu artar, PVA dışarı atılır ve yüksek PVA yoğunluğu bölgeleri oluşur. Böylece, PVA zincirleri birbirlerine daha yakın hale gelerek kristalitlerin oluşumunu ve her bir polimerik zincirin asılı hidroksil grupları (OH) arasında hidrojen bağı kurulmasını destekler. Bu etkileşimler çözülmenin ardından bozulmadan kalır ve tekrarlanan donma-çözülme döngüleriyle, birleşme noktaları

olarak hareket eden PVA kristalitlerinden bozunmayan üç boyutlu bir ağ oluşur. Nano örtüde kullanılan ürünlerin PVA matrisi boyunca yeterli dağılımını sağlamak için, nanopartiküller donma-çözülme döngülerinden önce doğrudan PVA çözeltisine eklenmiştir. Dong ve arkadaşları, periodontal hastalık ve diğer durumların tedavisi için PVA, CS ve metronidazolden yapılmış ilaç yüklü bir yapışkan örtü geliştirmiştir (Dong ve ark 2019). Daha sonra, Xiang ve arkadaşları çapraz bağlama yoluyla bir PVA/HA/TA/kolajen Tip I jelli örtüsü hazırlamıştır (Xiang ve ark 2024). Sıkıştırma testleri, numunenin elastik modüle ve basınç dayanımına sahip olduğunu göstererek mükemmel mekanik özelliklere işaret etmiştir. In vitro biyoyumluluk testlerinde örtünün sitotoksik olmadığını ve hücre proliferasyonunu artırdığını ortaya koymuştur. Ek olarak Dong ve arkadaşları, (Dong ve ark 2019) İlk olarak, CS kullanarak metronidazol mikrokapsülleri hazırladılar, ardından bunları 4-karboksifenilboronik asit (CPBA) içeren bir PVA içinde eşit olarak dağıttılar. Bu tasarlanmış molekül, enjekte edilebilirlik, su koşullarında mükemmel yapışma ve güçlü antibakteriyel özellikler gibi arzu edilen özellikler sergilemiştir. Daha sonra, Xiang ve arkadaşları fiziksel çapraz bağlama yoluyla bir PVA/HA/kolajen I (Col I) hidrojelini hazırlamış olup (Xiang ve ark 2024) sıkıştırma testlerinde numunenin mükemmel mekanik özelliklerine işaret etmiştir. In vitro biyoyumluluk testleri ise ürünün sitotoksik olmadığını ve hücre proliferasyonunu artırdığını ortaya koymuştur.

Deneyisel ikinci derece yanık uygulayarak oluşturduğumuz tez çalışmamızda ayrıca ülkemizde kullanılan EGF, HA ve Kollajenin ile ayrı olarak oluşturulan nano fiber yara örtü yöntemlerinin aynı şartlar altında aynı yanık alanına histopatolojik etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla tüm gruplarda inflamatuvar hücre artışı, neo vaskülarizasyon, fibroblast proliferasyonu, kollajen birikimi, neo vaskülarizasyon ve re-epitelizasyon bulguları histopatolojik boyama yöntemleri ile değerlendirilip istatistiksel olarak analizleri yapıldı.

Tez çalışmamızda, tüm gruplara ait dermal örneklerinin ilk gününde yanığa bağlı olarak epidermis katmanının belirgin şekilde hasarlandığı gözlemlendi. Bununla birlikte ilk günde inflamatuvar hücre artışı en üst seviyedeydi. Tüm gruplarda fibroblast proliferasyonu, kollajen birikimi, neo vaskülarizasyon ise ikinci gözlem günde en üst seviyedeydi. Re-Epitelizasyon ise gruplarda son günde en anlamlı seviyedeydi. Sezer ve ark. (2002) yaptıkları deneysel araştırmada yanık yapılan ve fukoidan içeren farmakognozik şekillerdeki yanık tedavisinde çalışmamıza benzer olarak yanığın 7, 14

ve 21. günlerinde yara iyileşmesi histopatolojik olarak araştırmışlar 14. ve 21. günlerde fibroblast ve kollajen birikiminin en yüksek olduğunu göstermişler ve çalışmamızın bulgularına paralel şekilde sonuçlara ulaşmışlardır.

Yanıkta invazyon derinliğinin incelemesinde diğer tekniklerle karşılaştırıldığında tam kat deri biyopsi alınarak yapılan histopatolojik değerlendirme gold standart olarak kabul edilmiştir. Ancak, bu tekniğin yaygın klinik kullanımı invazif oluşu, örnekleme sayısının yetersizliği, örneklem hatası, diagnozda gecikme ve deneyimli histopatolog ihtiyacı gibi nedenlerden dolayı kısıtlanmıştır (Poon VK ve ark 2004). Yaman ve ark. (Yaman AS ve ark 2010) çalışmasında ise yanık iyileşmesinde *Nigella sativa* adlı bitkisel oluşumu kullanmış ve gümüş sülfadiazin kullanımı ile kıyaslamışlar ve deneyin 4.gününde tüm gruplarda re-epitelizasyon artışı olduğunu çalışmanın 9. gününde ise skar dokusunun çalışma gruplarında halen artarak devam ettiğini göstermişlerdir. Eski ve ark. (Eski M. 1999), ise yaptıkları deneysel çalışmada yanık oluşturmuş ve cerium nitrat ile salini karşılaştırmışlardır. Deneylerinde yanıkta nötrofil aktivasyonunu (İnflamasyonu gösterir) sistemik olarak arttığını göstererek verilen grupta aktivasyonun değişmediğini, cerium nitrat verilen grupta ise düştüğü gösterilmiştir. Özyamaner ve ark. ise ikinci derece epidermis yanıklarındaki yara iyileşmesinde steril likid vazelin ile antibiyotikli pomadın yara iyileşme peryoduna etkilerini karşılaştırmış ve re-epitelizasyon oluşumu ile enfeksiyon gelişmemesi açısından antibiyotikli pomad uygulanmasının mutlak surette olması kanaatine varmışlardır (Gül den Ö 2004).

Bu çalışmalar 2.seviye yanığı olan ve takip edilen hastalarda yara iyileşme hızının daha ivmeli olduğunu ve 3. Haftadan itibaren yaraların tam epitelize olduğunu göstermişlerdir. Yaranın tabii ki inisiasyon fazında iyileşip iyileşmeyeceğini anlamak oldukça zordur bu nedenle yaranın net kararı için 2. hafta beklenmelidir (Monafo WW ve ark 2002). Çalışmamızın bu araştırmalardan farklılığı özellikle uygulanan canlı türü olup ratlarda yara iyileşmesinin insana göre daha hızlı olması da özellikle bizi bu çalışmaya itmiştir, çalışmamızda yanık iyileşmesi için tedavi gruplarında kullandığımız ürünlerin yara iyileşmesi açısından olumlu yönlerinde tüm gruplarda saptamakla beraber özellikle EGF ve Kollajen gruplarında istatistiksel olarak anlamlı iyileşme skorlarına rastladık.

Ayrıca çalışmamız bir deneysel rat yanık modeli olmakla beraber yanık yara iyileşmesinde gruplardan en çok EGF ve Kollajenin, HA ve kontrol grubuyla aralarında anlamlı bir fark oluştuğunu saptadık bunun yanısıra ürünlerin yanık yarasına farklı miktar ve periyotlarda verilip iyileşmeye olan etkilerinin anlaşılması için daha kapsamlı ve uzun periyotlu çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz. Tez çalışmamızda, epidermal büyüme faktörünün (EGF), Hyaluronik asit (HA) ve Kollajenden (KL) oluşan örtülerin yanık yaralarının iyileşmesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve sonuçlar literatürdeki bulgularla karşılaştırılmıştır.

Yara örtülerinde kullanılan ürünlerden biri olan EGF'nin yanık yaralarının iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri, literatürde geniş bir şekilde desteklenmiştir. Berlanga-Acosta ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, EGF'nin diyabetik ayak ülserlerinde iyileşmeyi ivmelendirdiği ve nedbe dokusunu azalttığını göstermiştir (Berlanga-Acosta 2017). Aynı zamanda, hücre proliferasyonu ve dokuya invazyonu üzerinde olumlu etkileri olduğu da rapor edilmiştir. Çalışmamızda da EGF'nin, yanık yaralarının iyileşmesini hızlandıran bir büyüme faktörü olarak klinik potansiyelini ortaya koymaktadır. EGF'nin fizyopatolojik etkileri ise epidermal büyüme faktör reseptörleri (EGFR) aracılığıyla hücre içi sinyal yollarının aktivasyonuna dayanmaktadır. EGFR aktivasyonu, hücre proliferasyonu, farklılaşma ve doku rejenerasyonunu teşvik eden PI3K/AKT ve MAPK/ERK yollarını aktive eder.

EGF epidermal büyüme faktörü reseptörüne (EGFR) bağlanarak sinyal yollarını aktive eder, bu da birçok hücrede, özellikle epitel, mezotel ve endotel hücrelerinde proliferasyonu, farklılaşmayı ve göçü uyarır (Tang ve ark., 2018 ). Brown ve ark. (Brown ve ark 1986 ), biyosentetik insan EGF'sinin kısmi kalınlıktaki yanık yaralanmalarına topikal uygulamasının, domuzlarda 7 günde tam epitel rejenerasyonunu sağladığını göstermiştir. Cribbs ve ark. (Cribbs ve ark 1998 ), rekombinant insan EGF'sinin sıçanlara 5 gün boyunca topikal uygulanmasının keratinosit proliferasyonunu ve endojen TGF alfa üretimini artırdığını, yeniden epitelizasyonu sağladığını ve yanık yaralanması alanını azalttığını göstermiştir. Ancak, mevcut çalışma yanık yaralanmasından hemen sonra uygulanan EGF'nin staz bölgesi dokuları üzerindeki etkisini değerlendiren ilk çalışmadır. Ayrıca yanık travmasından sonra staz bölgesinde inflamasyon ve serbest oksijen radikal birikimi artar. Bu durum doku perfüzyonunda azalmaya neden olur ve daha sonra 24-48 saat içinde apoptozis ve nekroz oluşumuna yol açar (Shupp ve ark. 2010 ). Deneysel

alışmalar EGF'nin nöronlar, bağırsaklar, karaciğerler ve akciğerler gibi dokularda iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruduğunu göstermiştir (Geng ve ark. 2013 ; James ve ark.2010 ). Tez alışmamızda EGF'nin dermal yara örtüsü olarak uygulanmasının yanık staz bölgelerinde doku nekrozunu azalttığı histolojik olarak da gösterilmiştir. EGF'nin klinik uygulamalarda da yara tedavisinde etkili olduğu bilinmektedir. Özellikle, EGF içeren topikal formülasyonların yara iyileşmesini hızlandırdığı ve enfeksiyon riskini azalttığı birçok çalışma tarafından bildirilmiştir. Bu alışmalarda, EGF'nin yalnızca epitelizasyonu hızlandırmakla kalmayıp aynı zamanda inflamatuvar Hücre varlığını da modüle ettiği ispatlanmıştır, bu da daha hızlı ve sağlıklı bir iyileşme sürecine katkıda bulunmaktadır. Çalışmada, inflamasyonun kontrol altına alınmasında EGF'nin etkileri de değerlendirilmiş olup, Bulgular EGF uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük PMNL (polimorfonükleer lökosit) skorları olduğunu göstermektedir. Bu bulgular literatürde Bodnar ve ark. yaptığı EGF'nin inflamasyonu modüle ettiği ve inflamatuvar yanıtı azalttığını göstermiş ve tez çalışmamızla benzer histolojik sonuçlar göstermiştir (Bodnar RJ. 2013).

Tez alışmamızdaki diğer bir yara örtüsü olarak kullanılan Hyaluronik asit (HA) örtünün sonuçları ve ilgili çalışmalara değinecek olursak. HA biyoyumluluk, viskoelastisite, biyolojik olarak parçalanabilirlik, immünojen olmama ve anti-inflamatuvar, yara iyileştirme etkiler gibi biyolojik işlevler için benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle endüstriyel sektörde olağanüstü ilgi görmüştür. Bu nedenle, uygun maliyetli, yüksek kaliteli, HA'nın optimize edilmiş üretimi için sistemler geliştirmeye yönelik ilgi artmaktadır (Fallacara ve diğerleri, 2018). Snetkov ve ark (Snetkvo 2020), %1,9 (ağırlıkça) kurkumin/usnik asit ve su-DMSO (Di-metil sülfoksit) özeltisi içeren HA özeltisinin elektrospinning yoluyla kararlı kurkumin/usnik asit yüklü HA yara örtüleri (NF) üretmiştir. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri, NF'lerin ortalama çapının 298 nm olduğunu ortaya koymuştur. Elektrospinning sırasında ise elektrik voltajının en etkili faktör olduğu ve kararlı lifin 20-22 KV uygulanan voltajda elde edildiği bildirilmiştir. Ancak, bu voltajda görünen bazı düzensiz morfolojilerin (boncuklar, bükülmeler ve damlalar) 26-28 KV uygulanan voltajda büyük ölçüde azaldığını ve elektroeğirilmiş NF'de olası kalıntı oluşumunun, örtünün antiseptik, analjezik ve antiinflamatuvar aktivitesini artırabileceğini bildirdiler ( Snetkov ve ark.,2020 ) Salim ve ark ise çalışmamızdan

farklı olarak (14 kv) elektroegirme yoluyla oldukça gözenekli, 30 KV'lik bir voltaj ile kararlı lif elde etmişler , sentezlenen PVA/HA örtüye mata kitosan ve hidroksiapatit (HAP) dahil edilerek daha da iyileştirilmiş olup kitosanın eklenmesinin PVA/HA molekülünün antimikrobiyal aktivitesini ve hemokompatibilitesini büyük ölçüde artırdığını bildirdi (Salim ve ark, 2021). Tez çalışmamızdan farklı voltajın uygulanması üründe kullanılan kitosan ve hidroksi apatit kristallerinin moleküler yoğunlaşma düzeyini sağlanması için gerekli şartların farklı olduğu görüşünde olmakla beraber her 2 çalışmada da optimize bir örtü uygulanmıştır. El Masry ve ark. (El Masry ve ark 2019) tarafından yapılan çalışmada, eksozom tedavisinin ve HA tedavisine göre hücre proliferasyonunu, yara iyileşmesini ve fibroblastlarda kollajen birikimini artırdığı bulunurken. Tez çalışmamız ile kıyasladığımızda ise yapılan histopatolojik incelemede, HA grubunun re-epitelizasyon, neo vaskularizasyon, kollajen birikimi ve granülasyon dokularının yüzdelerinin kontrol grubuna göre önde olduğu lakin EGF ve KL grubuna göre istatistiksel olarak daha anlamsız olduğu tespit edildi. De Francesco ve arkadaşlarının (De Francesco F ve ark 2023) yaptıkları çalışmada, HA'nın re epitelizasyon yüzdesi, neo vaskularizasyon ve inflamatuvar hüce varlığı oluşumunda daha iyi olduğu belirlenmiştir. Tez çalışmamızda ise histopatolojik değerlendirmede 3.gündeki neovaskularizasyon, inflamatuvar hüce varlığı değerleri HA grubunda diğer gruplara göre daha yüksek bulunurken bu durum çalışmanın sonunda giderek azalmış ve EGF ve KL grupları ile arasında anlamlı fark saptanmıştır. Bu çalışmada EGF nin yanısıra farklı örtülerinde yara iyileşmesindeki etkilerini incelemek amacıyla çalışılan günlerde FT-IR, SEM analizleri, histopatolojik ve image j ile fotografik değerlendirmeler yapıldı. Yara iyileşme analizlerine göre yara genişliği değerlendirmesinde bakılan tüm gruplar arasında EGF ve KL grupları diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yara kapanması neredeyse tama yakın izlendi.

Yara örtülerinden bir diğer bileşen olan Kollajene değinecek olursak. Kollajenin sağlıklı dokuların ana yapı karakterinde olduğu günümüzde bilinmekte olup, yeniden şekillendirme aşamasında, tip III kolajen mekanik olarak daha dirençli tip I kolajenle değiştirilir. Travmatize Aşıl tendonlarını karşılaştıran Krapf ve ark. tarafından yapılan çalışmada kollajen kaynaklı destek elemanlarının doku iyileşme peryodunu kısalttığı ve hücresel yapıda önemli sayıda artış yaptığı gösterilmiştir (Krapf D ve ark 2012).

Histopatolojik analizlerde ise insan dokusunda kollajen yapıların artmış uyumluluğu ve yara iyileşmesindeki pozitif etkileri Buchaim ve ark.'nın tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca Histopatolojik olarak, kollajene bağlı herhangi bir olumsuz etki bulunmamakla beraber ve ilerde doku mühendisliğinde basit ama umut vadeden bir ürün olduğu desteklenmiştir (Buchaim RL ve ark 2010). Bunun yanısıra Natarajan D. & Kiran, M.'ın yaptıkları çalışmada kinon fonksiyonlu bir gümüş nanopartikül olan juglonu kollajenle emdirip ısıya maruz bırakarak dokunun karalılığı ve yara iyileşmesine olan etkisini incelemişler (Natarajan, D., & Kiran, M. S. 2019) ve sonuç olarak dokudaki kollajen liflerin dokudaki termal baskıya karşı dokuyu koruduğunu ve derinin mekanik direngenliğini artırdığı kanıtlanmışlardır.

Elektrospinning metoduna değinecek olursak bu metod, kolajen nanofiberleri hazırlamak için en yaygın kullanılan yöntemdir. Elektrospinning, birkaç mikrometreden üzlerce nanometreye kadar değişen çaplara sahip nanofiberler üretmek için yüksek voltajlı bir güç kaynağı kullanır ve çeşitli malzemelerden nanofiberler üretmek için basit ve düşük maliyetli bir yöntemdir (V.Perez Puyana ve ark 2019). Kolajen nanofiberleri, elektroeğrilme işlemi kullanılarak nanofibrlerin formüle edilmesiyle sunulan doğal kolajen ECM'nin yapısal ve biyolojik özelliklerine benzeyebilir. Bu nedenle, bu işlem son yıllarda doku mühendisliği uygulamaları için en yaygın iskele üretim yöntemlerinden biri olarak ortaya çıkmıştır ( S.A. Sell ve ark 2009). Elektrospinning ile üretilen kolajen nanofiberler, diğer üretim yöntemlerinden daha iyi yara iyileşmesini desteklemiştir ( J.X. Law ve ark 2019). Bir çalışmada, Powell ve arkadaşları, elektrospinning (ES) kolajen iskelelerinin kullanımını, dondurularak kurutulmuş (FS) kolajen iskeleleriyle karşılaştırarak değerlendirmiştir. Her iki deri ikamesi de in vitro dermal-epidermal birleşim noktasında bazal membran oluşumu ile görülen benzer çoğalma oranları, hücre organizasyonu ve tabakalaşma göstermiştir. Bununla birlikte, atimik farelerde tam kalınlıktaki yaraların invivo tatmini, ES kolajen deri ikamesinin (ECSS), dondurularak kurutulmuş kolajen deri ikamesine (FCSS) göre %87,5 olan insan keratinositlerinin %100 'ünü tuttuğunu ortaya koymuştur. Ayrıca ECSS grubunda yara büzülmesi, büzülmeye devam eden FCSS grubuna göre 4 hafta sonra stabilize olmuştur ve bu da daha yüksek greft stabilitesini göstermektedir (H.M. Powell ve ark 2008) Mathews ve arkadaşları, elektrospinning kollajen nanofiberleri için bir çözücü olarak HFP kullandılar. Bu elektrospinning lifleri, düz kas hücrelerinin matrisin derinliklerine nüfuz etmesini kolaylaştırdı.

Ek olarak, kolajen kaynağının ve tipinin bu elektrospinning nanofiberlerin özelliklerini etkileyebileceği görüldü. İnsan plasentasından izole edilen tip I kolajen, dana derisinden elde edilen tip I kolajene ( $100 \pm 40$  nm) kıyasla 100 ila 730 nm arasında değişen daha az homojen bir lif matrisi oluşturdu. Ayrıca, elektrospinning işlemi sırasında kolajen nanofiberinin oluşumu doğrudan temel kolajen dizisinden etkilenir (J.A. Matthews ve ark 2002).

Elektroeğrilmiş kolajen nanofibrleri genellikle mekanik olarak zayıftır ve suda çözünür. Bu nedenle, mekanik güçlerini korumak için çapraz bağlanmaları gerekir. Rho ve arkadaşları, kolajen tip I nanofibr matrisi ürettirler ve bunları çapraz bağlama için %25 glutaraldehit sulu çözeltisiyle doyurulmuş glutaraldehit buharları kullanarak çapraz bağladılar ve daha sonra 0,1 M sulu glisin ile işlediler. Kolajen nanofibröz matrisinin çekme mukavemeti, sulu bir çözeltide bile iyiydi. Ayrıca, bu elektroeğrilmiş çapraz bağlanmış kolajen matrisleri, daha fazla hücre yapışmasını ve yayılmasını teşvik etmede işlevsel olarak yetenekliydi. Ayrıca, dört hafta sonra sıçanlarda yapılan tam kalınlıktaki yaralar üzerinde çalışıldığında hücre bağlanması, büyümesi ve göçü için 3B bir yapı sağladılar (K.S. Rho ve ark 2006). Hu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise cerrahi suturler Kollajenle karıştırılarak elektrospinning yapılarak lifli bir matrise yüklendi. İn vivo fare modelinde, bu dikişler ticari vikril suturlerle karşılaştırıldı ve sonuç olarak gelişmiş yara iyileşmesini gösteren erken dönemdeki granülasyon dokusu, artmış kollajen birikimi ve re-epitelizasyonu artırdıklarını gösterdiler (J.Hu ve ark 2020). Bu çalışmanın kendi sonuçlarımızla uyumluluğu ortak ürün ve yöntem kullanılmasından kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz.

Kolajen, majör ECM proteini olduğundan, dokunun kendi yapısına çok benzer. Kollajen nanofiberleri, hücre çoğalmasını ve göçünü teşvik eder ve ECM'yi taklit ederek yara iyileşmesini kolaylaştırır. Bu nedenle, kolajen nanofiberleri, özellikle yara iyileşmesinde, polimer nanofiberlere tercih edilebilir. Ayrıca, yüksek gözenekliliğe, etkili hücresel yapışmaya, iyi şişme kapasitesine sahiptirler ve yara iyileşme sürecini hızlandırmak için nem sağlayabilirler. Kolajen nanofiberlerinin en belirgin dezavantajları ise, mekanik yapı ve bozunma eğilimidir. G. Rath ve ark yaptığı araştırmada ise Elektrospinning prosedürü ile gümüş nanopartikülleri (AgNP'ler) kollajen nanofibrelerine dahil ederek yara iyileşmesi için en uygun ortamı yarattı. Sonuçlara bakıldığında ise, AgNP yüklü nanofibrenin, kontrol grubuna kıyasla en yüksek yara iyileşme oranına sahip olduğunu gösterdi. Ayrıca, hiçbir yara izi oluşumu görülmedi. İskele, hücre yapışmasını teşvik eden gelişmiş yüzey nitelikleri

gösterdi ve bu da yara iyileşmesine yardımcı olan hücresel çoğalma için elverişli bir ortam sağladığı görüşüne varıldı ve kollajenin yara tedavisinde etkili olması ve iyileşme sürecini hızlandırması için altın ve gümüş gibi farklı metallerin nanopartikülleriyle birlikte kullanılabilirliği sonucuna erişildi ( G. Rath ve ark 2016) . Rath ve ark çalışmamızın bizim tez sonuçlarımızla uyumlu olmakla beraber Ag nin biyotoksik özelliği gözönünde bulundurulmadan yapıldığı ve çalışmamızdaki sonuçlarındaki ürünün daha biyolojik ve non toksik olması nedeniyle gümüşsüz örtülerin daha iyi olacağı kanısındayız.

Kollajen filmler sadece yara bölgesini stabilize etmeye yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda yüksek miktarda hidrasyon da sağlar. Gopinath ve arkadaşları, yaraya doğru fibroblast ve kolajen proliferasyonunu artıran ve yara iyileşme kaskadı'na yardımcı olan kurkumin içeren bir kolajen matrisi (CICM) hazırladılar. Yedi gün sonra tam kalınlıkta yaraları olan CICM ile tedavi edilen sıçan grubundaki yara azalması %42.4 idi. Bu nedenle, CICM filmleri uygulanabilir ve yara iyileşmesini kolaylaştırmada yardımcı olarak kabul edildiği sonucuna vardılar (D. Gopinath. ve ark 2004). Ayrıca, Q.Q. Leng ve ark çalışmasında kurkumin yüklü poli (e-kaprolakton) (Cur/PCEC) nanofibreleri, yara iyileşmesini desteklemek için kolajen/PVA kompozit filmlere üretildi. İn vitro çalışmalar, artan kolajen konsantrasyonuyla hücre canlılığının iyileştiğini gösterdi. Canlı organizmada yapılan çalışma için yaralar kollajen/PVA kompozit kurkumin filmleri ile kapatıldı ve 3, 6, 9, 12 ve 15 gün sonra gözlemlendi. 15. günde, yaralanma bölgesinde düzgün bir şekilde organize olmuş ve yoğun bir şekilde dağılmış birçok kollajen lifi vardı. Veriler ayrıca kollajen inklüzyonunun biyoyumluluğu artırdığını, fibroblast yapışmasını ve çoğalmasını uyardığını ve yara iyileşmesini iyileştirdiğini ortaya koydu (Q.Q. Leng, Y. Ve ark 2020) .

Bunun yanı sıra M. Maeda ve ark tarafından yapılan çalışmada İnsan büyüme hormonu (hGH) içeren kollajen filmler hazırlandı ve bunların yararlılığı farelerde tam kalınlıktaki yaralar üzerinde incelendi. Kollajen filmi deneyin 21. günde diğer gruplara kıyasla %45 olduğu görüldü (Maeda ve ark 2001). Çalışmamızdaki kullanılan EGF hGH ile biyolojik köken olarak aynı olup yara iyileşmesindeki hızlandırmayı bu EGF ve Kollajenin bileşiğinin de güçlü şekilde artıracağı kanısındayız. Ayrıca Perumal ve arkadaşları, kollajen fukoidan karışımı filmler yaptılar. Bu filmler doğal kollajen filmlerle karşılaştırıldığında, bu filmlerde olağanüstü hücre çoğalması ve göçü tespit edildi (Perumal ve ark 2018). Yapılan çalışmalarda öncelikli ürünün çalışmamızdaki

gibi kollajen olduğu görölmekle beraber tüm çalışmalarda olumlu sonuçlar alınmış ve kollajenin pozitif iyileştirmeye etkisi örtü modeli konularak daha da güçlendirilmiştir. Tüm global gelişmelere rağmen kollajen kaynaklı patojenik enfeksiyonlar nadir olsa da tıpta hayvansal kaynaklı kolajenler immünojenik ve patojenik tehlikelere neden olmaya nadir de gözlenirse devam etmektedir.

Kolajenin yara iyileşmesinde birçok avantajı vardır, yaygın kullanımı, düşük immünojenitesi ve biyouyumlu örtülerde kolaylıkla yer alma özelliği nedeniyle yara bakımının önemli bir bileşeni haline gelmektedir. Yaranın durumunu doğrudan değiştirebilir; işlevsel iskeleler olarak kullanılabilir veya yara iyileşmesini desteklemek için biyolojik olarak aktif maddeler veya antimikrobiyaller iletebilir. Yara iyileşme sürecini destekleyecek veya iyileştirecek modifiye edilmiş kolajen iskeleleri veya diğer dağıtım formları oluşturmak için teknik gelişmeler hızla ortaya çıkmaktadır. Gelecekte, yara yönetimi için kolajenden üretilen ürünler için klinik uygulama ve ticari çeviri konusunda kapsamlı araştırmalar yapılmalıdır.

Tez kapsamında hazırlanan örtülerin karakterizasyonu için kullanılan FTIR analizinde PVA-TİP-1 kollajen nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda 3295 cm<sup>-1</sup>'de PVA ve TİP-1 Kalojene ait O-H titreşim bandı, 2915 cm<sup>-1</sup> de PVA ve TİP-1 kalojene ait C-H titreşim bandı, 1632-1541-1439-1409 cm<sup>-1</sup> de PVA ve TİP-1 kalojene ait C-C, C-N, C-O titreşim bandlarının olduğu görölmektedir. PVA-EGF nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda ise 3298 cm<sup>-1</sup>'de PVA ve EGF' ye ait O-H ve N-H titreşim bandı, 2938-2910 cm<sup>-1</sup> de PVA ve EGF'ye ait C-H titreşim bandı, 1711-1631-1597-1440 cm<sup>-1</sup> de PVA ve EGF'ye ait C-C, C-N, C-O titreşim bandlarının olduğu görölmektedir. Son olarak PVA-HA nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda 3312 cm<sup>-1</sup>de PVA ve HA' ye ait O-H ve N-H titreşim bandı , 2912 cm<sup>-1</sup> de PVA ve HA'ye ait C-H titreşim bandı, 1616-1418-1326 cm<sup>-1</sup> de PVA ve HA'ye ait C-C, C-N, C-O titreşim bandlarının olduğu görölmektedir.ürünleri FT-IR leri benzemekle beraber KLiçin doğal selülozik lıf yapıda olması nedeniyle örtüde etkin rol oynamıştır.Aynı zamanda içeriğinde fonksiyonel olarak OH,C,Amid ve Amit yapıları olması nedeniyle yara iyileşmesinde farklı kombinasyonlara cevap vermiş ve iyileşmede diğer örtüler oranla daha başarılı bulunmuştur.

Pasaribu ve ark BC/kolajen/kitosanlı yara örtüsü üretmiş ve FTIR analiznde, BC (Bakteriyel selüloz), kitosan ve kollajen biyopolimerinin fonksiyonel gruplarının

BC/kolajen/kitosan yara örtüsü bantlarında gözlendiğini göstermekle beraber. Canlı hücreler üzerinde yapılan in vitro testte de BC/kolajen/kitosan hidrojelinin toksik olmayan malzemeler olduğu doğrulandığı için yanık yara örtüsü olarak kullanılmasının kabul edilebilir olduğunu gösterdi. In vivo testler, BC lifine kitosan ve kollajenin eklenmesinin, sırasıyla ikinci derece yanıkta bakteri büyümesini engellemede ve yara iyileşme sürecini desteklemede etkin bir rol oynadığını ortaya koydu. Bircă AC ve ark ise yara tedavisinde kollajen destekli hidrojeller yapmışlar ve FTIR spektroskopisinde, kollajen destekli ZnO ve CuO nanopartiküllerinin anahtar fonksiyonel grupların varlığını ortaya koyarak, yarada iyileşmeyi göstermişlerdir.

PVA-EGF nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda  $3298\text{ cm}^{-1}$ 'de PVA ve EGF' ye ait O-H ve N-H titreşim bandı,  $2938\text{-}2910\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve EGF'ye ait C-H titreşim bandı,  $1711\text{-}1631\text{-}1597\text{-}1440\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve EGF'ye ait C-C, C-N, C-O titreşim bandlarının olduğu görülmektedir. EGF hem molekul ağırlığının daha büyük olması, sarmal yapıda olması polimerler gibi etkin yüzeyinin molekulun içinde, üstünde veya farklı formasyonlarında olması nedeniyle yara iyileşmesinde yara yerine temasın net olmaması nedeniyle KL kadar efektifite göstermemiştir. Mohanty ve ark. İse EGF-Curcumin kaplı yara örtü modelinde dermal diyabetik yara iyileşmesindeki terapötik potansiyelinin bir araştırmış EGF-Cur un daha iyi yara iyileşmesine yönelik terapötik MSC'lerin iletimi için stabil, toksik olmayan ve biyouyumlu bir platform oluşturduğunu göstermiştir. Ayrıca, EGF-Cur bandajlarının da kollajen birikimini ve granülasyon doku oluşumunu artırma dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla yara iyileşmesini etkilediği doğrulanmıştır.

PVA-HA nanofiberinin FT-IR spektrumuna baktığımızda  $3312\text{ cm}^{-1}$ 'de PVA ve HA' ye ait O-H ve N-H titreşim bandı,  $2912\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve HA'ye ait C-H titreşim bandı,  $1616\text{-}1418\text{-}1326\text{ cm}^{-1}$  de PVA ve HA'ye ait C-C, C-N, C-O titreşim bandlarının olduğu görülmektedir. HA ne kadar da endüstri de dolgu, krem ve kayganlaştırıcılarda kullanılsada aisdik yapıda olduğu için yara yüzeyini muhurlama yaptığı için iyileşmede çok etki yapamamıştır. Eskandarinia ve ark yaptığı yara örtü çalışmasında ise mısır özü HA ve propolis kombine edilmiş ve FTIR analizlerinde göre de kimyasal etkileşimlere veya yeni bağ oluşumuna dair hiçbir kanıt gözlenmemiş olup ve bu malzemelerin fiziksel etkileşimler yoluyla etkileşime girdiği düşünülmüş olup hyaluronik asit ve propolis içeren mısır nişastası bazlı HA yara örtüsünün, deri onarımı için etkili bir yara örtüsü malzemesi olarak kullanılma potansiyeli olduğu görüşüne varmışlardır.

Sentezlenen malzemelerin yüzey morfolojisini karakterize etmek için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. SEM incelemesinde Lif çapı, imal edilmiş ağ-yapının yüzey alanını büyük ölçüde etkilemektedir (lif çapı ne kadar büyük olursa, yüzey alanı o kadar az olur). Ürün salınma profilinde salınma oranı liflerin salın ortamı ile etkileştiği yüzey alanına bağlıdır. Daha geniş bir yüzey alanı başka bir tabirle daha ince lifler katkı maddelerini daha hızlı serbest bırakacaktır (Okuda, Tominaga and Kidoaki, 2010). Hazırlanan membranların yüzey morfolojisini incelemek için SEM analizleri gerçekleştirilmiştir. SEM analizinden elde edilen sonuca göre. Kollajen yüklü nanopartiküllerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile gözlemlenen mikrografide, KL ile yüklenen nanopartiküllerinin EGF ile olan örtüye oranla daha pürüzsüz, küçük ve küresel bir morfoloji sergilediğini ortaya koymaktadır.

Tez kapsamında saf PVA molekulunun SEM görüntüsü gözenekli bir morfoloji göstermektedir. SEM görüntülerinde saf PVA'ya kıyasla PVA-KL örtünün yüzey morfolojisinin daha düz olduğu PVA- EGF nin ise daha sarmaşık, gözenekli ağ benzeri bir yapı olduğu gözlemlendi. Bhowmick ve ark. benzer şekilde hazırladıkları gümüş nanopartikül yüklü PVA jelin ağı yapıda olduğunu göstermiştir (Bhowmick ve Koul 2016). Yara örtülerinin antibakteriyel özelliklerini değerlendirmek için özellikle yaa ortamlarında en sık rastlanan mikroorganizma olan *S. aureus* bakterisi kullanılmıştır. Nanofiberlerin antibakteriyel etkinliği, *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Nanofiber örnekleri, 15 mm çapında diskler şeklinde hazırlanmıştır. LB broth ortamında 37 °C'de 24 saat inkübe edilen *S. aureus* kültürlerinden,  $OD_{600} = 0.1$  olacak şekilde ayarlanmış bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Ardından, 100 µL süspansiyon, LB agar yüzeyine homojen olarak yayılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda, inhibisyon zon çapları ölçülerek antibakteriyel aktivite değerlendirilmiştir.

Deney sonucunda, test edilen dört farklı nanofiber örneğinin antibakteriyel etkinliğinin incelenmesinde KL ve EGF de inhibisyon zonu oluşmuş, Sham ve HA grubunda ise oluşmamıştır. Bu durum, nanofiberlerden Sham ve HA gruplarının test edilen konsantrasyon ve koşullarda *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı doğrudan bir antibakteriyel etki göstermediğini düşündürmektedir. Zon oluşmamasının nedeni olarak da nanofiberlerin bakteri üzerindeki etkisinin zayıf olması, etken maddenin salınımının yetersizliği veya nanofiber yapısında antibakteriyel aktiviteyi destekleyecek bileşenlerin bulunmaması olabileceği görüşündeyiz.

Literatüre baktığımızda, Huang ve ark yaptığı EGF yüklü örtünün anti mikrobiyal çalışmasında örtünün üstün antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu, örtü konsantrasyonunun *S. aureus* ortadan kaldırdığını, bunun da antibiyotiklerin (mupirosin ve ofloksasin) antimikrobiyal aktivitesinden üstün olduğunu ve *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlu yara iyileşmesini hızlandığını göstermiş olup Tez çalışmamızla uyumlu korelasyon göstermiştir. Eskandarinia ve ark yaptığı yara örtü çalışmasında pansumanlarının *Escherichiacoli*, *Staphylococcal aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivitesi disk inhibisyon zonu testi ile belirlendiği. Film pansumanlarının hiçbirinin *Pseudomonas aeruginosa* suşları için herhangi bir inhibisyon zonu göstermediği bu da CS (mısır özü) ve HA'nın antibakteriyel aktivitesinin olmadığı görülmüştür. Ancak, EEP (propolis) içeren CS/HA film pansumanları, film pansumanlarının altındaki temas yüzeyinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. Bu çalışma sonucu da staf aereus açısından tez çalışmamızla uyumlu korelasyon göstermiştir.

Yara örtülerinin yara kapatma etkinliği ölçümü için ise hücre göçü ve büyümesine dayalı yara iyileşmesi, basit, uygun maliyetli ve iyi bilinen bir yöntem olan Image-J programı uygulanmış olup bu uygulamayla yaraların iyileşme yeteneğini belirlenmiştir (Alavarse ve ark 2017). Ningrum ve ark. yara sargısı için dondurma-çözme işlemi kullanılarak PVA, GO ve *Moringa oleifera* yaprağı bazlı yara örtüsü geliştirilmiştir. Yara iyileştirme deneyinde 24 saat süre sonunda yara yerinin tamamen kapandığı ve bu durumun örtülerin biyouyumlu olduğunu göstermiştir (Ningrum ve ark 2023).

Hazırlanan yara örtüsünün yara iyileştirme etkinliğini değerlendirmek için, KL, EGF, HA lı örtüler sıçanlardaki sırt kısmında oluşturulan eksizyonel yaraya uygulanmıştır. Yara alanları yara oluşturulduktan sonra belirli günlerde yaranın boyutu ölçüldü. Geer ve arkadaşları da yaranın yeniden epitelizeasyonunu ve anjiyogenezisini incelemek için ImageJ'i kullanmışlar ve yara iyileşmesinde olumlu sonuçlara ulaşmış olup tez çalışmamızda da olumlu sonuçlara ulaşmamızla da korelasyon göstermektedir.

Sonuçlarımız, varyans penceresi yarıçaplarının 3 ila 25 arasında, eşik değerlerinin 50 ila 150 aralığında ve doymuş piksel yüzdelерinin 0,001 ila 0,4 arasında olması durumunda doğru analizlerin bulunma olasılığının yüksek olduğunu göstermektedir. Dijital resimlerle ImageJ yazılımını kullanarak, değerlendirici içi ve

değerlendiriciler arası güvenilirliğimiz mükemmeldir. Öte yandan bu yöntemin eğimli bir alandaki yaraları ölçmek için yararlı olmadığı (en azından araştırılan) ve yaranın hacmini sağlamadığı dikkate alınmalıdır. Yara iyileşmesi için teknoloji kullanımıyla ilgili son fikir birliğinde, derin yaraların hacminin belirlenmesi önerilmiştir (Mani R ve ark 2016).

Tüm gruptaki kalan iyileşen yara alanını ve zamanla değişimini açıklayacak olursak. Son günde kontrol grubu dahil olmak üzere deney gruplarının hepsinde yaralarda iyi iyileşme hızı gözlemlendi. Son günde, KL grubundaki yara neredeyse iyileşmişti. Son çalışmalar, KL içeren örtülerin yara iyileşmesinde selülozik lif yapıda olduğu içbüyük bir potansiyele sahip olduğunu, hücreler ve dokular için özellikle çekici olduğunu doğrulamıştır. (Xue ve ark 2022). Elde edilen iyileşme sonuçlarıyla, kollajen bazlı yara örtülerinin uygulamaları için yeni bir pansuman olarak gelecekteki çalışmalarda daha fazla dikkat edilmelidir. Kollajenin ayrıca anjiyogenezi, yeni kan damarlarının oluşumunu ve anti-enflamatuar özellikleri uyardığı bildirilmiştir (Chang CT 2023). Tez kapsamında sentezlenen 3 yara örtü grubunda da epidermis tabakasında kalınlaşma, yoğun kollajen lif artışı ve dokunun yeniden yapılandırmasının daha çok olduğu H&E boyama sonrasında görülmüştür. Tripathi D ve ark çalışmasında ise kollajen içeren örtülerin antimikrobiyal aktiviteye ek olarak yara iyileşme sürecini hızlandırdığı ve yara izi oluşumunu azaltma potansiyeline sahip olduğunu belirtmiştir (Tripathi D ve ark 2021).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda, yara örtüsü bazlı pansumanların hızla gelişmesiyle birlikte, biyomedikal alanda örtülere verilen önem artmış, klinikte büyük adımlar atılmış ve yara pansumanı olarak önemli kullanım alanına sahip olmuştur. Buna ek olarak, eşsiz yapısal özellikleriyle birlikte, yara örtüleri güvenli ve etkili tedavi yönleri açısından global alanda araştırılmakta ve antimikrobiyal kaplı, hemostatik kaplı ve neo anjiogenik progenitor örtüler de dahil olmak üzere belirli işlevlere sahip birçok yara örtüsü geliştirilmektedir. Tez kapsamında yanık yarasına yönelik 3 adet yeni ürün hazırlandı ve bu ürünler karşılaştırmalı olarak incelendi.

Bu tez çalışması kapsamında PVA içeren yara örtüsü üretimi optimizasyonu ile optimize edilen içeren örtünün yüzeyine elektrospinning yöntemiyle EGF, Hyaluronik asit ve Kollajen elektrospin membranlar yeni yara örtüleri olarak geliştirilmiştir.

Histopatolojik sonuçlarda yapılan örtülerden sham, hyaluronik asit ve EGF grubuna kıyasla Kollajen grubunda daha iyi kolajen birikimi, neovaskülarizasyonun ve re epitelizasyonun olduğu ve inflamasyonu azalttığı belirlenmiştir. On dördüncü gün sonuçları incelendiğinde ise, Sham grubunda ülser alan devam ederken, EGF ve KL gruplarında neredeyse tam kalınlıkta epitelizasyon gözlemlendi. Bu veriler doğrultusunda geliştirilen yara örtüsünün yara iyileşme sürecini daha fazla hızlandırdığı tespit edilmiştir. Yara örtülerinin antibakteriyel inhibisyon zon çapları ölçülerek antibakteriyel aktivite potansiyelleri incelendiğinde S. aureus için en çok zon çapını Kollajenli yara örtüsü ardından diğer en yakın zon çapını ise EGF'li yara örtüsü oluşturmuştur. In vitro ve in vivo yara iyileşmesi çalışmalarında Kollajenli yara örtüsü ise yara yerini en hızlı kapatan örtü olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak PVA'lı örtüler biyolojik olarak parçalanabilir, biyouyumlu özellikleri ve eksudayı emme kabiliyetleri nedeniyle hızlandırılmış bir yara iyileşmesi sergilemiştir. Bu nedenle, yara iyileştirme uygulamaları için iyi adaylar arasında kabul edilebilirler. Ayrıca sıçanlarda yara iyileşmesi modellenerek, yara örtüsü yanık yarasının iyileşme döngüsünü kısaltmış olup, yara iyileşmesini desteklemede önemli potansiyele sahiptir. Bu bulgular, yara örtülerinin, bakteriyel enfeksiyonu engellemek ve yara iyileşme hızını artırabilmek için gelişmiş yara bakım ve pansuman malzemelerinin geliştirilmesi için umut verici bir aday olma potansiyelinin altını çizmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abdelrahman T, Newton H, 2011. Wound dressings: principles and practice. Surgery (oxford), 29, 10, 491-5.
- Açık, G., Kamacı, M., Özata, B., & Özen Cansoy, C. E. (2019). Effect of polyvinyl alcohol/chitosan blend ratios on morphological, optical, and thermal properties of electrospun nanofibers. Turkish Journal of Chemistry, 43(1). <https://doi.org/10.3906/kim-1801-68>
- Alavarse AC, de Oliveira Silva FW, Colque JT, da Silva VM, Prieto T, Venancio EC, Bonvent J-J, 2017. Tetracycline hydrochloride-loaded electrospun nanofibers mats based on PVA and chitosan for wound dressing. Materials Science and Engineering: C, 77, 271-81.
- Alemdaroglu, C., Degim, Z., Celebi, N., Zor, F., Ozturk, S., & Erdogan, D. (2006). An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. Burns, 32(3), 319–327
- Ali DS. Fukoidan İçeren Farmasötik Şekillerin Yanık Tedavisinde Değerlendirilmesi. Doktora Tezi Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü -2006
- Alvarado R, Chung KK, Cancio LC, Wolf SE. Burn resuscitation. Burns. 2009 Feb 1;35(1):4–14.
- Alven S, Aderibigbe BA, 2020. Chitosan and cellulose-based hydrogels for wound management. International journal of molecular sciences, 21, 24, 9656.
- An J, Gou Y, Yang C, Hu F, Wang C, 2013. Synthesis of a biocompatible gelatin functionalized graphene nanosheets and its application for drug delivery. Materials Science and Engineering: C, 33, 5, 2827-37.
- Anderson CR, Abecunas C, Warrenner M, Laschewsky A, Wischerhoff E, 2017. Effects of methacrylate-based thermoresponsive polymer brush composition on fibroblast adhesion and morphology. Cellular and molecular bioengineering, 10, 75-88.
- Andrews CJ, Cuttle L. Comparing the reported burn conditions for different severity burns in porcine models: a systematic review. International wound journal. 2017;14(6):1199-212
- Arturson G. Pathophysiology of the burn wound and pharmacological treatment. Elsevier sci.1996; 22(4): 255-74.2010; 2(1): 8-14.
- Atiyeh BS, Ioannovich J, Al-Amm CA. Management of acute and chronic open wounds: the importance of moist environment in wound healing. Current Pharmaceutical Biotech 2002; 3: 179-196.
- Banerjee P, Das P, Zaman A, Das P, 2016. Application of graphene oxide nanoplatelets for adsorption of ibuprofen from aqueous solutions: evaluation of process kinetics and thermodynamics. Process Safety and Environmental Protection, 101, 45-53.
- Bangera MK, Kotian R, Madhyastha P, 2023. Effects of silver nanoparticle-based antimicrobial formulations on the properties of denture polymer: A systematic review and meta-analysis of in vitro studies. The Journal of Prosthetic Dentistry, 129, 2, 310-21.
- Barbosa, G. P., Debone, H. S., Severino, P., Souto, E. B., and Silva, C. F. (2016). Design and characterization of chitosan/zeolite composite films — Effect of zeolite type and zeolite dose on the film properties. Mat. Sci. Eng. C 60, 246–254. doi:10. 1016/j.msec.2015.11.034
- Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society, 16(5), 585–601.

- Berlanga-Acosta J, Fernández-Montequín J, Valdés-Pérez C, Savigne-Gutiérrez W, Mendoza-Mari Y, García-Ojalvo A, et al. Diabetic foot ulcers and epidermal growth factor: revisiting the local delivery route for a successful outcome. *BioMed research international*. 2017;2017(1):2923759.
- Boateng J, Catanzano O, 2015. Advanced therapeutic dressings for effective wound healing—a review. *Journal of pharmaceutical sciences*, 104, 11, 3653-80.
- Bodnar RJ. Epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor: the Yin and Yang in the treatment of cutaneous wounds and cancer. *Advances in wound care*. 2013;2(1):24-9.
- Boeriu, C. G., Springer, J., Kooy, F. K., van den Broek, L. A. M., and Eggink, G. (2013). Production methods for hyaluronan. *Int. J. Carbohydr. Chem.* 14, 1–14.doi:10.1155/2013/624967
- Bolton L, Van Rijswijk L, 1991. Wound dressings: meeting clinical and biological needs. *Dermatology nursing*, 3, 3, 146-61.
- Bourguignon LYW, Ramez M, Gilad E, Singleton PA, Man MQ, Crumrine DA, Elias PM, Feingold KR. Hyaluronan-CD44 interaction stimulates keratinocyte differentiation, lamellar body formation/secretion, and permeability barrier homeostasis. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1356–1365.
- Bowers S, Franco E, 2020. Chronic wounds: evaluation and management. *American family physician*, 101, 3, 159-66.
- Braddock M, Campbell CJ, Zuder D. Current therapies for wound healing: electrical stimulation, biological therapeutics, and the potential for gene therapy. *Int J Dermatol* 1999; 38: 808–817.
- Breasted JH. *The Edwin Smith Surgical Papyrus*. Chicago: University Chicago Press; 1930
- Breitbart, A. S., Grande, D. A., Laser, J., Barcia, M., Porti, D. et al. (2001). Treatment of ischemic wounds using cultured dermal fibroblasts transduced retrovirally with PDGF-B and VEGF121 genes. *Annals of plastic surgery*, 46(5), 555–562
- Broughton G, George II M.D., Ph.D., COL., M.C., U.S.A.; Janis, Jeffrey E. M.D.; Attinger, Christopher E. M.D. *The Basic Science of Wound Healing*. Plastic and Reconstructive Surgery 117(7S):p 12S-34S, June 2006. | DOI: 10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2
- Brown GL, Nanney LB, Griffen J, Cramer AB, Yancey JM, Curtsinger III LJ, et al. Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. *New England Journal of Medicine*. 1989;321(2):76-9.
- Brown TM, Krishnamurthy K. *Histology, dermis*. 2018
- Brown, G. L., Curtsinger, L., 3rd, Brightwell, J. R., Ackerman, D. M., Tobin, G. R., Polk, H. C., Jr., ... Schultz, G. S. (1986). Enhancement of epidermal regeneration by biosynthetic epidermal growth factor. *The Journal of Experimental Medicine*, 163(5), 1319–1324
- Buchaim RL, Goissis G, Andreo JC, et al. Biocompatibility of anionic collagen matrices and its influence on the orientation of cellular growth. *Braz Dent Sci*. 2010; 10:12-20.
- Buchko, C. J., Chen, L. C., Shen, Y., and Mart'in, D. C., 1999, Processing and microstructural characterization of porous biocompatible protein polymer thin films, *Polymer*, 40(26), 7397-7407
- Campos AC, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008 May;11(3):281-8. doi: 10.1097/MCO.0b013e3282fbd35a. PMID: 18403925.
- Carpenter G, Cohen S. Human epidermal growth factor and the proliferation of human fibroblasts. *Journal of cellular physiology*. 1976;88(2):227-37
- Chai J, Sheng Z, Guo Z. Analysis of factors influencing healing time of burn wounds. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 1999; 15(3): 211-3.

- Chang CT. The hemostatic effect and wound healing of novel collagen-containing polyester dressing. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2023 nov;34(15):2124-2143. doi: 10.1080/09205063.2023.2230842. Epub 2023.
- Chen K, Wang F, Liu S, Wu X, Xu L, Zhang D, 2020. In situ reduction of silver nanoparticles by sodium alginate to obtain silver-loaded composite wound dressing with enhanced mechanical and antimicrobial property. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 501-9.
- Chen, S., Carlson, M. A., Zhang, Y. S., Hu, Y., and Xie, J. (2018). Fabrication of injectable and superelastic nanofiber rectangle matrices ("peanuts") and their potential applications in hemostasis. *Biomaterials* 179, 46–59. doi:10.1016/j.biomaterials.2018.06.031
- Ching, Y. H., Sutton, T. L., Pierpont, Y. N., Robson, M. C., & Payne, W. G. (2011). The use of growth factors and other humoral agents to accelerate and enhance burn wound healing. *Eplasty*, 11, e41.
- Chiquetti JA, Rodrigues MA, Delfino VE ARK. An experimental model for the study of drug effects on cutaneous healing. *Acta Cir Bras.* 2007; 22:317-321
- Chouhan D, Chakraborty B, Nandi SK, Mandal BB, 2017. Role of non-mulberry silk fibroin in deposition and regulation of extracellular matrix towards accelerated wound healing. *Acta biomaterialia*, 48, 157-74.
- Cohen S. Epidermal growth factor. *In vitro cellular & developmental biology.* 1987;23(4):239-46
- Corral, C. J., Siddiqui, A., Wu, L., Farrell, C. L., Lyons, D. et al. (1999). Vascular endothelial growth factor is more important than basic fibroblastic growth factor during ischemic wound healing. *Archives of surgery (Chicago, Ill. : 1960)*, 134(2), 200–205.
- Cribbs, R. K., Luquette, M. H., & Besner, G. E. (1998). Acceleration of partial-thickness burn wound healing with topical application of heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF). *The Journal of Burn Care & Rehabilitation*, 19(2), 95–101.
- Crick C, Noimark S, Peveler WJ, Bear J, Ivanov A, Edel J, Parkin I, 2015. Advanced analysis of nanoparticle composites—a means toward increasing the efficiency of functional materials. *RSC Advances*, 5, 66, 53789-95.
- Çetinkale O. Yanık yaraları. *Güncel Cerrahi Tedavi.* Ergüney S, Çiçek Y. (Çevved). İstanbul: Avrupa Tıp Kitapçılık, 2001: 966-991.
- D. Gopinath, M.R. Ahmed, K. Gomathi, K. Chitra, P.K. Sehgal, R. Jayakumar, Dermal wound healing processes with curcumin incorporated collagen films, *Biomaterials* 25 (2004) 1911–1917, [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00625-2](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00625-2).
- Dana PM, Hallajzadeh J, Asemi Z, Mansournia MA, Yousefi B, 2024. Advances in Chitosan-based Drug Delivery Systems in Melanoma: A Narrative Review. *Current Medicinal Chemistry*, 31, 23, 3488-501.
- Das, A.; Abas, M.; Biswas, N.; Banerjee, P.; Ghosh, N.; Rawat, A.; Khanna, S.; Roy, S.; Sen, C.K. A Modified Collagen Dressing Induces Transition of Inflammatory to Reparative Phenotype of Wound Macrophages. *Sci. Rep.* 2019, 9, 14293.
- Dasari Shareena TP, McShan D, Dasmahapatra AK, Tchounwou PB, 2018. A review on graphene-based nanomaterials in biomedical applications and risks in environment and health. *Nano-micro letters*, 10, 1-34.
- De Francesco F, Saparov A, Riccio M. Hyaluronic acid accelerates re-epithelialization and healing of acute cutaneous wounds. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2023 Apr;27(3 Suppl):37-45. doi: 10.26355/eurrev\_202304\_31320. Erratum in: *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2023

May;27(10):4327.

De-Oliveira, J. D., Carvalho, L. S., Gomes, A. M., Queiroz, L. R., Magalhães, B. S., and Parachin, N. S. (2016). Genetic basis for hyper production of hyaluronic acid in natural and engineered microorganisms. *Microb. Cell Fact.* 15, 119. doi:10.1186/s12934-016-0517-4

Deitzel, J. M., Kleinmeyer, J., Harris, D., and Tan, N. B., 2001, The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles, *Polymer*, 42(1), 261-272.

Delfino RT, Ribeiro TS, Figueroa-Villar JD, 2009. Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20, 407-28.

Devos H, Zoidakis J, Roubelakis MG, Latosinska A, Vlahou A, 2023. Reviewing the Regulators of COL1A1. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 12, 10004.

Dumantepe, M., Fazliogullari, O., Seren, M., Uyar, I., & Basar, F. (2015). Efficacy of intralesional recombinant human epidermal growth factor in chronic diabetic foot ulcers. *Growth factors* (Chur, Switzerland), 33(2), 128–132.

Duzyj C, Buhimschi I, Laky C, Cozzini G, Zhao G, Wehrum M, Buhimschi C, 2018. Extravillous trophoblast invasion in placenta accreta is associated with differential local expression of angiogenic and growth factors: a cross-sectional study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 125, 11, 1441-8.

El Masry, M.S.; Chaffee, S.; Das Ghatak, P.; Mathew-Steiner, S.S.; Das, A.; Higuaita-Castro, N.; Roy, S.; Anani, R.A.; Sen, C.K. Stabilized collagen matrix dressing improves wound macrophage function and epithelialization. *FASEB J.* 2019, 33, 2144–2155.

Elbially ZI, Assar DH, Abdelnaby A, Asa SA, Abdelhiee EY, Ibrahim SS, Abdel-Daim MM, Almeer R, Atiba A, (2021). RETRACTED: healing potential of spirulina platensis for skin wounds by modulating bFGF, VEGF, TGF- $\beta$ 1 and  $\alpha$ -SMA genes expression targeting angiogenesis and scar tissue formation in the rat model, Elsevier.

Elgharably, H.; Roy, S.; Khanna, S.; Abas, M.; Dasghatak, P.; Das, A.; Mohammed, K.; Sen, C.K. A modified collagen gel enhances healing outcome in a preclinical swine model of excisional wounds. *Wound Repair Regen.* 2013, 21, 473–481.

Eskandarinia A, Kefayat A, Rafienia M, Agheb M, Navid S, Ebrahimpour K. Cornstarch-based wound dressing incorporated with hyaluronic acid and propolis: In vitro and in vivo studies. *Carbohydr Polym.* 2019 Jul 15; 216:25-35

Eski M. Yanıkta Cerium Nitratın Nötrofil Fonksiyonlarına Etkisinin Rat Kremaster Kas Flebinde Vital Olarak İncelenmesi. Uzmanlık tezi: GATA Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı. Ankara, 1999.

Falabella, A. F. (2006). Debridement and wound bed preparation. In *Dermatologic Therapy* (Vol. 19, Issue 6). <https://doi.org/10.1111/j.1529-8019.2006.00090.x>

Falanga V, 2020. Bioengineered skin constructs. In: *Principles of tissue engineering*. Eds: Elsevier, p. 1331-52.

Farjadian F, Abbaspour S, Sadatlu MAA, Mirkiani S, Ghasemi A, Hoseini-Ghahfarokhi M, Mozaffari N, Karimi M, Hamblin MR, 2020. Recent developments in graphene and graphene oxide: Properties, synthesis, and modifications: A review. *ChemistrySelect*, 5, 33, 10200-19.

Farjadian F, Ghasemi A, Gohari O, Roointan A, Karimi M, Hamblin MR, 2019. Nanopharmaceuticals and nanomedicines currently on the market: challenges and opportunities. *Nanomedicine*, 14, 1, 93-126.

Feng L, Li K, Shi X, Gao M, Liu J, Liu Z, 2014. Smart pH-responsive nanocarriers based on nano-graphene oxide for combined chemo-and photothermal therapy overcoming drug resistance.

Advanced healthcare materials, 3, 8, 1261-71.

Ferguson EL, Roberts JL, Moseley R, Griffiths PC, Thomas DW. Evaluation of the physical and biological properties of hyaluronan and hyaluronan fragments. *Int J Pharm.* 2011 Nov 25;420(1):84-92. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.08.031. Epub 2011 Aug 22. PMID: 21884772

Ferrara N, Kerbel RS, 2005. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*, 438, 7070, 967-74.

Ferreti M, Casini V, Pizarro T. Neutralization of endogenous IL-1 receptor antagonist exacerbates and prolongs inflammation in rabbit immune colitis. *J Clin Investig.* 1994; 4: 449-

Freiberg J. A. (2017). The mythos of laudable pus along with an explanation for its origin. *Journal of community hospital internal medicine perspectives*, 7(3), 196–198.

G.D. Winter, Some factors affecting skin and wound healing, *J. Tissue Viability* 16 (2006) 20–23, [https://doi.org/10.1016/S0965-206X\(06\)62006-8](https://doi.org/10.1016/S0965-206X(06)62006-8)

G. Rath, T. Hussain, G. Chauhan, T. Garg, A.K. Goyal, Collagen nanofiber containing silver nanoparticles for improved wound-healing applications, *J. Drug Target.* 24 (2016) 520–529, <https://doi.org/10.3109/1061186X.2015.1095922>.

Gantwerker EA, Hom DB, 2011. Skin: histology and physiology of wound healing. *Facial plastic surgery clinics of North America*, 19, 3, 441.

Geer DJ, Swartz DD, Andreadis ST. In vivo model of wound healing based on transplanted tissue-engineered skin. *Tissue Eng.* 2004; 10:1006-1017.

Geng, Y., Li, J., Wang, F., Li, Q., Wang, X., Sun, L., & Li, W. (2013). Epidermal growth factor promotes proliferation and improves restoration after intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *Inflammation*, 36(3), 670–679

Ghasemali K, Seyed JH, Peyman Z, Maryam G, Amirhossein A. The Effect of Saffron (*Crocus Sativus*) Extract for Healing of Second-degree Burn Wounds in Rats. *Keio J Med* 2008; 57: 190-195.

Gibran NS, Heimbach DM. Current status of burn wound pathophysiology. *Clinics in plastic surgery.* 2000;27(1):11-21

Gilaberte Y, Prieto-Torres L, Pastushenko I, Juarranz Á. Anatomy and Function of the Skin. *Nanoscience in dermatology: Elsevier*; 2016. p. 1-14

Gill SE, Parks WC, Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2008. 40, 6-7, 1334-47.

Goenka S, Sant V, Sant S, 2014. Graphene-based nanomaterials for drug delivery and tissue engineering. *Journal of Controlled Release*, 173, 75-88.

Gorbach S. L. (1995). Good and laudable pus. *The Journal of clinical investigation*, 96(6), 2545.

Gottrup F, Agren MS, Karlsmark T. Models for use in wound healing research: a survey focusing on in vitro and in vivo adult soft tissue. *Wound Repair Regen.* 2000;8:83-96

Grotendorst, G. R., Soma, Y., Takehara, K., & Charette, M. (1989). EGF and TGF- $\alpha$  are potent chemoattractants for endothelial cells and EGF-like peptides are present at sites of tissue regeneration. *Journal of cellular physiology*, 139(3), 617–623. *Environmental Technology & Innovation*, 13, 398-407.

Guo, S., & Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*, 89(3), 219–229.

Guo, X., Tan, M., Guo, L., Xiong, A., Li, Y., & He, X. (2010). Clinical study on repair of burn

wounds of degree II with recombinant human epidermal growth factor in elderly patients. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 24(4), 462–464.

Gupta RC, 2015. Handbook of toxicology of chemical warfare agents, Academic Press, p. Gupta S, Goswami S, Sinha A, 2012. A combined effect of freeze--thaw cycles and polymer concentration on the structure and mechanical properties of transparent PVA gels. *Biomedical Materials*, 7, 1, 015006.

Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008;453(7193):314-21.

Henry, G., & Garner, W. L. (2003). Inflammatory mediators in wound healing. *The Surgical clinics of North America*, 83(3), 483–507.

Hoseini-Ghahfarokhi M, Mirkiani S, Mozaffari N, Abdolahi Sadatlu MA, Ghasemi A, Abbaspour S, Akbarian M, Farjadian F, Karimi M, 2020. Applications of graphene and graphene oxide in smart drug/gene delivery: is the world still flat? *International Journal of Nanomedicine*, 9469-96.

Ingraham JM, Weber RA, Childs EW. Intrinsic tendon healing requires the recycling of tendon collagen fibril segments. *J Hand Surg Eur*. 2011; 36:154-155. Crossref. PubMed. Web of Science.

Inngjerdigen, K., Nergård, C. S., Diallo, D., Mounkoro, P. P., & Paulsen, B. S. (2004). An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2–3). <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.021>

J. Xu, J. Zhang, W. Gao, H. Liang, H. Wang ve J. Li, «Preparation of chitosan PLA blend micro/nanofibers by electrospinning,» *Material Letters*, cilt 8, no. 63, pp. 658-660, 2009

J. Xue, T. Wu, Y. Dai, Y. Xia, Electrospinning and electrospun nanofibers: methods, materials, and applications, *Chem. Rev.* 119 (2019) 5298–5415, <https://doi.org/10.1021/ACS.CHEMREV.8B00593>. [62]

J.P. Chen, G.Y. Chang, J.K. Chen, Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing, *Colloids Surf.A Physicochem. Eng. Asp.* 313–314 (2008) 183–188, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.04.129>.

J.S. Park, Electrospinning and its applications, *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.* 1 (2010), <https://doi.org/10.1088/2043-6262/1/4/043002>.

Jahovic, N., Guzel, E., Arbak, S., & Yegen, B. C. (2004). The healingpromoting effect of saliva on skin burn is mediated by epidermal growth factor (EGF): Role of the neutrophils. *Burns*, 30(6), 531–538.

Jin T, Liu T, Lam E, Moores A, 2021. Chitin and chitosan on the nanoscale. *Nanoscale Horizons*, 6, 7, 505-42.

Justin R, Chen B, 2014. Strong and conductive chitosan–reduced graphene oxide nanocomposites for transdermal drug delivery. *Journal of Materials Chemistry B*, 2, 24, 3759-70.

K.S. Rho, L. Jeong, G. Lee, B.M. Seo, Y.J. Park, S.D. Hong, S. Roh, J.J. Cho, W. H. Park, B.M. Min, Electrospinning of collagen nanofibers: effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing, *Biomaterials* 27 (2006) 1452–1461, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.08.004>.

Kirkpatrick, N.D.; Andreou, S.; Hoving, J.B.; Utzinger, U. Live imaging of collagen remodeling during angiogenesis. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007, 292, H3198–H3206

Kisling, A.; Lust, R.M.; Katwa, L.C. What is the role of peptide fragments of collagen I and IV in health and disease? *Life Sci.* 2019, 228, 30–34. E 2016, 11, e0166655.

- Kloske M, Witkiewicz Z, 2019. Novichoks–The A group of organophosphorus chemical warfare agents. *Chemosphere*, 221, 672-82.
- Knopf-Marques, H., Prave arka, M., Wolfova, L., Velebny, V., Schaaf, P., Vrana, N. E., et al. (2016). Hyaluronic acid and its derivatives in coating and delivery systems: Applications in tissue engineering, regenerative medicine and immunomodulation. *Adv. Health C. Mat.* 5, 2841–2855. doi:10.1002/adhm.201600316
- Ko, F. K., & Wan, L. Y. (2017). Nanofiber technology: Bridging the gap between nano and macro world. In *Nanomaterials Handbook*, Second Edition. <https://doi.org/10.1201/9781315371795>
- Krasner D, Kennedy K, Rolstad B, Roma A, 1993. The ABCs of wound care dressings. *Ostomy/wound management*, 39, 8, 66, 8-9, 72 passim.
- Kurczewska J, Pecyna P, Ratajczak M, Gajęcka M, Schroeder G, 2017. Halloysite nanotubes as carriers of vancomycin in alginate-based wound dressing. *Saudi pharmaceutical journal*, 25, 6, 911-20.
- L. Buttafoco, N.G. Kolkman, P. Engbers-Buijtenhuijs, A.A. Poot, P.J. Dijkstra, I. Vermes, J. Feijen, Electrospinning of collagen and elastin for tissue engineering applications, *Biomaterials* 27 (2006) 724–734, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.06.024>.
- Lam P-L, Wong W-Y, Bian Z, Chui C-H, Gambari R, 2017. Recent advances in green nanoparticulate systems for drug delivery: efficient delivery and safety concern. *Nanomedicine*, 12, 4, 357-85.
- Larrondo, L., and St John Manley, R., 1981, Electrostatic fiber spinning from polymer melts. I. Experimental observations on fiber formation and properties, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 19(6), 909-920
- Laurens N, Koolwijk P, De Maat M, 2006. Fibrin structure and wound healing. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 4, 5, 932-9.
- Lee, K., Kim, H., Bang, H., Jung, Y., and Lee, S., 2003, The change of bead morphology formed on electrospun polystyrene fibers, *Polymer*, 44(14), 4029-4034.
- Li M, Hou Q, Zhong L, Zhao Y, Fu X, 2021. Macrophage related chronic inflammation in non-healing wounds. *Frontiers in Immunology*, 12, 681710.
- Limpan N, Prodpran T, Benjakul S, Prasarnpran S, 2012. Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly (vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films. *Food hydrocolloids*, 29, 1, 226-33.
- M. Ghorbani, P. Nezhad-Mokhtari, S. Ramazan'i, Aloe vera-loaded nanofibrous scaffold based on zein/polycaprolactone/collagen for wound healing, *Int. J. Biol. Macromol.* 153 (2020) 921–930, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.036>.
- Majno, G. *The Healing Hand: Man and Wound in the Ancient World*. Cambridge: Harvard University Press, 1975. P. 570.
- Mangerich A, Esser C, 2014. Chemical warfare in the First World War: reflections 100 years later. *Archives of toxicology*, 88, 11, 1909-11.
- Miguel, S. P., Sequeira, R. S., Moreira, A. F., Cabral, C. S. D., Mendonca, A. G., Ferreira, P., et al. (2019). An overview of electrospun membranes loaded with bioactive molecules for improving the wound healing process. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 139, 1–22. doi: 10.1016/j.ejpb.2019.03.010
- Mirza AZ, Siddiqui FA, 2014. Nanomedicine and drug delivery: a mini review. *International Nano*

Letters, 4, 1-7.

Mishra S, Trikamji B, 2014. Historical and preventive aspect of biological warfare. *International Journal of Health System and Disaster Management*, 2, 4, 204-.

Moghan M, Naidu P, Zulkifly NB, Selan YN, Setyawan EMN, Winarsih S, Kusindarta DL. Secretome of bovine umbilical vein endothelial cells promote wound healing regeneration on the second degree rat model burn injury. *Open Vet J*. 2023 Dec;13(12):1597-1606.

Monteiro-Riviere NA, 2020. Comparative anatomy, physiology, and biochemistry of mammalian skin. *Dermal and ocular toxicology*, 3-71.

Moore K, McCallion R, Searle RJ, Stacey MC, Harding KG, 2006. Prediction and monitoring the therapeutic response of chronic dermal wounds. *International wound journal*, 3, 2, 89-98.

Mutsaers, S. E., Bishop, J. E., McGrouther, G., & Laurent, G. J. (1997). Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 29(1), 5–17.

Natarajan, D., & Kiran, M. S. (2019). Fabrication of juglone functionalized silver nanoparticle stabilized collagen scaffolds for pro-wound healing activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 1002–1015.

Nestle FO, Di Meglio P, Qin J-Z, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2009;9(10):679-91

Neuman MG, Nanau RM, Oruña-Sanchez L, Coto G, 2015. Hyaluronic acid and wound healing. *J Pharm Pharm Sci*, 18, 1, 53-60.

O. Akturk, K. Kismet, A.C. Yasti, S. Kuru, M.E. Duymus, F. Kaya, M. Caydere, S. Hucumenoglu, D. Keskin, Collagen/gold nanoparticle nanocomposites: a potential skin wound healing biomaterial, *J. Biomater. Appl.* 31 (2016) 283–301, <https://doi.org/10.1177/0885328216644536>.

Oktay K, Erkan , Melike M, Topçu Ç , Özgür G, Bilgehan A, The effects of epidermal growth factor on early Burn-wound progression in rats *Dermatol Ther.*, 2020 Jan;33(1):e13196. doi: 10.1111/dth.13196. Epub 2019 Dec 23

Okuda, T., Tominaga, K., and Kidoaki, S., 2010, Time-programmed dual release formulation by multilayered drug-loaded nanofiber meshes, *Journal of Controlled Release*, 143(2), 258-264.

Palmieri TL, Greenhalgh DG. Topical treatment of pediatric patients with burns: a practical guide. *Am J Clin Dermatol* 2002; 3: 529–234.

Pan F, Giovannini G, Zhang S, Altenried S, Zuber F, Chen Q, Boesel LF, Ren Q, 2022. pH-responsive silica nanoparticles for the treatment of skin wound infections. *Acta biomaterialia*, 145, 172-84.

Parida K, Kumar V, Jiangxin W, Bhavanasi V, Bendi R, Lee PS, 2017. Highly transparent, stretchable, and self-healing ionic-skin triboelectric nanogenerators for energy harvesting and touch applications. *Advanced Materials*, 29, 37, 1702181.

Pasaribu KM, Ilyas S, Tamrin T, Radecka I, Swingler S, Gupta A, Stamboulis AG, Gea S. Bioactive bacterial cellulose wound dressings for burns with collagen in-situ and chitosan ex-situ impregnation *Int J Biol Macromol.* 2023 Mar 1;230:123118. doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.123118. Epub 2023 Jan 1.

Pires PC, Mascarenhas-Melo F, Pedrosa K, Lopes D, Lopes J, Macário-Soares A, Peixoto D, Giram PS, Veiga F, Paiva-Santos AC, 2023. Polymer-based biomaterials for pharmaceutical and biomedical applications: A focus on topical drug administration. *European Polymer Journal*, 187, 111868.

- Poon VK, Burd A. In vitro cytotoxicity of silver: implication for clinical wound care. *Burns* 2004; 30: 140–147.
- Pourkarim R, Farahpour MR, Rezaei SA, 2022. Comparison effects of platelet-rich plasma on healing of infected and non-infected excision wounds by the modulation of the expression of inflammatory mediators: experimental research. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 48, 4, 3339-47.
- Powell J, 2006. Skin physiology. *Women's Health Medicine*, 3, 3, 130-3.
- Qiu Z, Kwon AH, Kamiyama Y. Effects of plasma fibronectin on the healing of full-thickness skin wounds in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Surg Res*. 2007;138:64–70
- Radzikowska-Büchner E, Łopuszyńska I, Flieger W, Tobiasz M, Maciejewski R, Flieger J. An Overview of Recent Developments in the Management of Burn Injuries. *Int J Mol Sci*. 2023 Nov 15;24(22):16357
- Rampersad SN, 2012. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. *Sensors*, 12, 9, 12347-60.
- Reyhani V, Tsioumpekou M, van Wieringen T, Rask L, Lennartsson J, Rubin K, 2017. PDGF-BB enhances collagen gel contraction through a PI3K-PLC $\gamma$ -PKC-cofilin pathway. *Scientific reports*, 7, 1, 8924.
- Reneker M, M.J. McClure, K. Garg, P.S. Wolfe, G.L. Bowlin, Electrospinning of collagen/biopolymers for regenerative medicine and cardiovascular tissue engineering, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61 (2009) 1007–1019, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.012>.
- Romero-Vargas Castrillón S, Perreault Fo, De Faria AF, Elimelech M, 2015. Interaction of graphene oxide with bacterial cell membranes: insights from force spectroscopy. *Environmental Science & Technology Letters*, 2, 4, 112-7.
- Rondas AA, Schols JM, Stobberingh EE, Halfens RJ, 2015. Prevalence of chronic wounds and structural quality indicators of chronic wound care in Dutch nursing homes. *International wound journal*, 12, 6, 630-5.
- S.A. Sell, M.J. McClure, K. Garg, P.S. Wolfe, G.L. Bowlin, Electrospinning of collagen/biopolymers for regenerative medicine and cardiovascular tissue engineering, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 61 (2009) 1007–1019, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.012>.
- Sabiston, D. *Textbook of Surgery: The Biological Basis of Modern Surgical Practice*. 15th Ed. St. Louis, Mo.: Saunders, 1997. P. 209.
- Salim, S. A., Loutfy, S. A., El-Fakharany, E. M., Taha, T. H., Hussein, Y., and Kamoun, E. A. (2021). Influence of chitosan and hydroxyapatite incorporation on properties of electrospun PVA/HA nanofibrous mats for bone tissue regeneration: Nanofibers optimization and in-vitro assessment. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 62, 102417. doi:10.1016/j.jddst.2021.102417
- Shah J. B. (2011). The history of wound care. *The journal of the American College of Certified Wound Specialists*, 3(3), 65–66.
- Shakhakarmi K, Seo J-E, Lamichhane S, Thapa C, Lee S. EGF, a veteran of wound healing: highlights on its mode of action, clinical applications with focus on wound treatment, and recent drug delivery strategies. *Archives of Pharmacal Research*. 2023;46(4):299-322.
- Snetkov, P., Morozkina, S., Olekhovich, R., Hong, T. N. V., Tyanutova, M., and Uspenskaya, M. (2020b). Curcumin/usnic acid-loaded electrospun nanofibers based on hyaluronic acid. *Materials* 13, 3476. doi:10.3390/ma13163476

- Snetkov, P., Morozkina, S., Uspenskaya, M., and Olekhnovich, R. (2019). Hyaluronan-based nanofibers: Fabrication, characterization and application. *Polymers* 11, 2036. doi:10.3390/polym11122036
- Snetkov, P., Zakharova, K., Morozkina, S., Olikhnovich, R., and Uspenskaya, M. (2020a). Hyaluronic acid: The influence of molecular weight on structural, physical, physico-chemical, and degradable properties of biopolymer. *Polymers* 12, 1800. doi:10.3390/polym12081800
- Song DH, Neligan PC. *Plastic Surgery: Volume 4: Trunk and Lower Extremity*. 4 edition. London: Elsevier; 2017. 560 p
- Sorushanova, A.; Delgado, L.M.; Wu, Z.; Shologu, N.; Kshirsagar, A.; Raghunath, R.; Mullen, A.M.; Bayon, Y.; Pandit, A.; Raghunath, M.; et al. The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development. *Adv. Mater.* 2019, 31, 1801651
- Sun L, Zhu X, Zhang X, Chen G, Bian F, Wang J, Zhou Q, Wang D, Zhao Y, 2021. Induced cardiomyocytes-integrated conductive microneedle patch for treating myocardial infarction. *Chemical Engineering Journal*, 414, 128723.
- Szinicz L, 2005. History of chemical and biological warfare agents. *Toxicology*, 214, 3, 167-81.
- Şahin İ, Öztürk S. Yanık Travması: Etiyoloji, İnsidans ve Korunma. *Türkiye Klin Plast Cerrahi – Özel Konular*. 2010;2(1):1.
- Şimdivar N. Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Yanık Modelinde L-Arjinin, L-Glutamin Ve Şimşek ME. Yanık İyileşmesinde Koenzim Q10'un Etkisi [Tıpta uzmanlık tezi]. Bursa: Uludağ Üniversitesi; 2013
- T. Liu, W. Dan, N. Dan, X. Liu, X. Liu, X. Peng, A novel grapheme oxide-modified collagen-chitosan bio-film for controlled growth factor release in wound healing applications, *Mater. Sci. Eng. C* 77 (2017) 202–211, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.256>.
- Takahashi H, Keim P, Kaufmann AF, Keys C, Smith KL, Taniguchi K, Inouye S, Kurata T, 2004. *Bacillus anthracis* bioterrorism incident, Kameido, Tokyo, 1993. *Emerging infectious diseases*, 10, 1, 117.
- Tang, Y., Tong, X., Li, Y., Jiang, G., Yu, M., Chen, Y., & Dong, S. (2018). JAK2/STAT3 pathway is involved in the protective effects of epidermal growth factor receptor activation against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. *Neuroscience Letters*, 662, 219–226.
- Torres FG, Troncoso OP, Pisani A, Gatto F, Bardi G, 2019. Natural polysaccharide nanomaterials: an overview of their immunological properties. *International journal of molecular sciences*, 20, 20, 5092.
- TORT, S., & ACARTÜRK, F. (2015). Wound Healing and Electrospun Wound Dressings: Review. *Türkiye Klinikleri Journal of Pharmacy Sciences*, 4(2), 68–78.
- Tottoli EM, Dorati R, Genta I, Chiesa E, Pisani S, Conti B, 2020. Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics*, 12, 8, 735.
- Traber DL, Barrow RE, Herndon DN, Souba W, Wilmore D. *Animal models of burn injury*. Surgical research Academic Press, San Diego, Calif. 2001:367-77. 60
- Tripathi D, Rastogi K, Tyagi P, Rawat H, Mittal G, Jamini A, Singh H, Tyagi Comparative Analysis of Collagen and Chitosan-based Dressing for Haemostatic and Wound Healing Application *A.AAPS PharmSciTech*. 2021 Feb 16;22(3):76.
- Unal M. Platelet-Rich Plasma in Burn Treatment. In: Kartal SP, Bayramgürler D, editors. *Hot*
- Uzun M. A review of wound management materials. *J Textile Eng Fashion Technol*. 2018;4(1):53-59

- V.Perez Puyana, M. Felix, A. Romero, A. Guerrero, Collagen as a Potential Biopolymer for the Production of Porous Matrices (Scaffolds) With Application in Tissue Engineering, Elsevier Inc., 2019,
- Vishnevetskii DV, Polyakova EE, Andrianova YV, Mekhtiev AR, Ivanova AI, Averkin DV, Alekseev VG, Bykov AV, Sulman MG, 2024. L-Cysteine/Silver Nitrate/Iodate Anions System: Peculiarities of Supramolecular Gel Formation with and Without Visible-Light Exposure. *Gels*, 10, 12, 809.
- Voigt, J., & Driver, V. R. (2012). Hyaluronic acid derivatives and their healing effect on burns, epithelial surgical wounds, and chronic wounds: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Wound Repair and Regeneration*, 20(3), 317–331. doi:10.1111/j.1524-475x.2012.00777.x
- Voică-Mekereş F. Assessment of the Embryological Origin, Anatomical and Histological Structure of the Skin. *Archives of Pharmacy Practice*. 2024;15(2- 2024):69-74
- Wong VW, Sorkin M, Glotzbach JP, Longaker MT, Gurtner GC. Surgical approaches to create murine models of human wound healing. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:969618.
- Xu M, Zhu J, Wang F, Xiong Y, Wu Y, Wang Q, Weng J, Zhang Z, Chen W, Liu S, 2016. Improved in vitro and in vivo biocompatibility of graphene oxide through surface modification: poly (acrylic acid)-functionalization is superior to PEGylation. *ACS nano*, 10, 3, 3267-81.
- Xu, C., Inai, R., Kotaki, M., and Ramakrishna, S., 2004, Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering, *Biomaterials*, 25(5), 877- 886.
- Yaman AS. Durmus S. Ceribasi M. Effects of *Nigella sativa* and silver sulfadiazine on burn wound healing in rats. *Vet Med* 2010; 55: 619–624
- Yang, Q., Li, Z., Hong, Y., Zhao, Y., Qiu, S., Wang, C., and Wei, Y., 2004, Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly (vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 42(20), 3721- 3726.
- Yördem, O., Papila, M., and Menciloğlu, Y. Z., 2008, Effects of electrospinning parameters on polyacrylonitrile nanofiber diameter: An investigation by response surface methodology, *Materials & design*, 29(1), 34-44.
- Yu W, Li X, He J, Chen Y, Qi L, Yuan P, Ou K, Liu F, Zhou Y, Qin X, 2021. Graphene oxide-silver nanocomposites embedded nanofiber core-spun yarns for durable antibacterial textiles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 584, 164-73.
- Yuan, X., Zhang, Y., Dong, C., and Sheng, J., 2004, Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning, *Polymer International*, 53(11), 1704-1710
- Yue X, Yang HB, Han ZM, Lu YX, Yin CH, Zhao X, Liu ZX, Guan QF, Yu SH, 2024. Tough and moldable sustainable cellulose-based structural materials via multiscale interface engineering. *Advanced Materials*, 36, 7, 2306451.
- Zhang, C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y., and Sheng, J., 2005, Study on morphology of electrospun poly (vinyl alcohol) mats, *European polymer journal*, 41(3), 423-432
- Zhang, Y., Ouyang, H., Lim, C. T., Ramakrishna, S., and Huang, Z. M., 2005, Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 72(1), 156-165. a review of methods. *Biomaterials Research*, 25, 1, 41.
- Zhao, Y., Yang, Q., Lu, X.-F., Wang, C., and Wei, Y., 2005, Study on correlation of morphology of electrospun products of polyacrylamide with ultrahigh molecular weight, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 43(16), 2190- 2195.
- Zilinskas RA, 1997. Iraq's biological weapons: the past as future? *Jama*, 278, 5, 418-24.