

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİTOSAN VE KOLLAJEN İÇERİKLİ
ELEKTRO-EĞRİLMİŞ YARA ÖRTÜLERİNİN
ÜRETİLMESİ

Mehtap ERDİNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Programı

Danışman

Doç. Dr. Murat TOPUZOĞULLARI

Eş Danışman

Prof. Dr. Serap ACAR

Kasım, 2024

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİTOSAN VE KOLLAJEN İÇERİKLİ ELEKTRO-EĞRİLMİŞ
YARA ÖRTÜLERİNİN ÜRETİLMESİ

Mehtap ERDİNÇ tarafından hazırlanan tez çalışması 27.11.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Biyoteknoloji Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Murat TOPUZOGULLARI
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Prof. Dr. Serap ACAR
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Murat TOPUZOGULLARI, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Emrah Şefik ABAMOR, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Sezen Canım Ateş, Üye
Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Danışmanım Doç. Dr. Murat TOPUZOĞULLARI sorumluluğunda tarafımda hazırlanan “Kitosan ve Kollajen İçerikli Elektro-eğrilmiş Yara Örtülerinin Üretilmesi” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Mehtap ERDİNÇ



Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FCD-2022-5016 numaralı projesi ve TÜBİTAK 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurtiçi Yüksek Lisans Burs programı ile desteklenmiştir.



Aileme

TEŞEKKÜR

Projeyi maddi olarak destekleyen Tübitak 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı ve Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'ne teşekkürü borç bilirim.

Bitirme tezimi hazırlarken değerli bilgi ve tecrübelerini paylaşarak tezimin planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda desteğini hiç esirgemeyen kıymetli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Murat TOPUZOĞULLARI ve eş danışmanım Prof. Dr. Serap ACAR'a, tüm süreç boyunca gösterdiği destek için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim hayatım boyunca desteğini esirgemeyen, her daim yanımda olan, bana güç veren, her zaman beni en iyisini yapabileceğime inandıran, teşvik eden canım aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Mehtap ERDİNÇ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	v
SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	2
2 GENEL BİLGİLER	4
2.1 Yara ve İyileşme Süreçleri	4
2.1.1 İnflamasyon Hemostaz Aşaması	5
2.1.2 Proliferasyon Fazı	6
2.1.3 Remodelizasyon	7
2.2 Yara Yönetimi	7
2.3 Kutanöz Leishmaniasis	10
2.3.1 Kutanöz Leishmaniasis Mevcut Yara Tedavileri	12
2.4 Yara Örtüleri	16
2.4.1 Antimikrobiyal Aktivite Gösteren Yara Örtüleri	19
2.5 Yara İyileşmesi İçin Tasarlanmış İskeleler ve Üretim Yöntemleri	20
2.5.1 Elektro-Eğirme	24
2.6 Yara Örtülerinde Sık Kullanılan Polimerler	27
2.6.1 Kitosan (CS)	29
2.6.2 Kollajen (Col)	32
2.6.3 Poli (etilen oksit)	33
2.7 Yara Örtülerinde Kullanılan Biyoaktif Bileşenler	34
2.7.1 Kuersetin (q)	35
3 MATERYAL VE YÖNTEMLER	37

3.1 Kimyasal Malzemeler	37
3.2 Cihaz Listesi	38
3.3 Deneysel yöntem.....	39
3.3.1 Kitosanın Kuaternizasyonu	40
3.3.2 Serbest Radikal Konjugasyon: q-(GTMAC-CS)'nin Hazırlanması	41
3.3.3 q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB İskelesinin Üretimi	42
3.3.4 Karakterizasyon	44
4 BULGULAR VE TARTIŞMA	48
4.1 Kitosanın Kuaternizasyonu	48
4.1.1 GTMAC-CS Sentezi	48
4.2 Serbest Radikal Konjugasyonu: q-(GTMAC-CS)'nin Hazırlanması	50
4.3 q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB İskelesinin Üretimi.....	52
5 SONUÇ	59
KAYNAKÇA	61
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	68

SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat derece
mL	Mililitre
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir parçacık
µL	Mikrolitre
µg	Mikrogram

KISALTMA LİSTESİ

AmB	Amfoterisin B
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ECM	Ekstrasellüler Matriks
FTIR	Fourier transform kızılötesi
GTMAC	Glisidil Trimetil Amonyum Klorür
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
CA	Kafeik asit
QAC	Kuaterner amonyum bileşikleri
Q	Kuersetin
CL	Kutanöz Leishmaniasis
MN	Mukokutanöz Leishmaniasis
Glucantime®	N-metil Glukamin Antimonat
Np	Nanoparçacık
PEG	Poli (etilen glikol)
PEO	Poli (etilen Oksit)
PCL	Polikaprolakton
PHB	Poli (3-hidroksibütirat)
PLA	Poli (laktik asit)
PLGA	Poli (laktik-ko-glikolik asit)
PVA	Poli (vinil alkol)
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
Tip-1 Col	Tip-1 Kolajen
Uv-vis	Ultraviyole-Görünür
VL	Visseral Leishmaniasis

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Normal ve normal olmayan (bozulmuş) yara iyileşmesi basamakları	5
Şekil 2.2 Dünyada kutanöz Leishmaniasis insidansı.....	11
Şekil 2.3 Tam yara iyileşmesi ve skar ile yara iyileşmesi	20
Şekil 2.4 Elektro-eğirme kurulumunun tasarımı	24
Şekil 2.5 Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı	29
Şekil 2.6 Kitosanın antibakteriyel aktivitesini açıklamak için önerilen mekanizmaların gösterimi	31
Şekil 2.7 Kolajen Tip I-Primer Amino Asit Dizisinin Kimyasal Yapısı	33
Şekil 2.8 PEO'nun kimyasal yapısı	34
Şekil 2.9 Kuersetinin kimyasal yapısı (3,3',4',5,7-pentahidroksilflavon)	35
Şekil 3.1 Tez çalışmasında uygulanacak olan deneysel işlemlerin şematik gösterimi..	39
Şekil 3.2 GTMAC-CS Reaksiyonu	40
Şekil 3.3 TMAC-CS Reaksiyonuna ait süreç	41
Şekil 3.4 q-(GTMAC-CS)'nin hazırlanmasına ait diyaliz ve liyofilizatörde kurutma süreci.....	42
Şekil 3.5 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileri	46
Şekil 4.1 CS ve GTMAC-CS 'ye ait FTIR spektrumları.....	49
Şekil 4.2 CS, GTMAC-CS 'ye ait H-NMR Spektrumu	49
Şekil 4.3 Standart Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi	50
Şekil 4.4 q, GTMAC-CS ve q-(GTAMAC-CS) yapılarına ait UV-Vis spektrumları	51
Şekil 4.5 q, GTAMAC-CS ve q-(GTMAC-CS) yapılarına ait FTIR spektrumları	52
Şekil 4.6 Amb, Kolajen, PEO, PEO/GTMAC-CS, q-(GTMAC-CS/Peo/Col/Amb yapılarına ait FTIR spektrumları.....	53
Şekil 4.7 Kuersetine ait XRD sonucu	54
Şekil 4.8 Kuersetin, (GTMAC-CS) ve q-(GTMAC-CS) yapılarına ait XRD sonucu....	54
Şekil 4.9 %2,5'luk (w/v) q-(GTMAC-CS) ve %2'lik (w/v) q-(GTMAC-CS) ile hazırlanan nanofiberle ait SEM görüntüleri.....	56
Şekil 4.10 q-(GTMAC-CS)/PEO/AmB) ve q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB) ait SEM görüntüleri.....	56
Şekil 4.11 q-(GTMAC-CS) yapısına ait temas açısı ölçümü sonuçları.....	57

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Yara örtülerinin özellikleri	8
Tablo 2.2 CL ve ML'nin klasik tedavisi için yaygın olarak kullanılan ilaç örnekleri....	14
Tablo 2.3 İskele üretiminde kullanılan yöntemler	22
Tablo 3.1 Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal malzemeler ve bilgileri.....	37
Tablo 3.2 Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ve bilgileri	38
Tablo 3.3 Elektro-eğirme optimizasyon sürecine ait örnek çalışmalar	43

KİTOSAN VE KOLAJEN İÇERİKLİ ELEKTRO- EĞRİLMİŞ YARA ÖRTÜLERİNİN ÜRETİLMESİ

Mehtap ERDİNÇ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Murat TOPUZOĞULLARI

Eş-Danışman: Prof. Dr. Serap ACAR

Günümüzde karmaşık bir süreç olan yara iyileşmesinde kullanılan yara malzemelerinin / örtülerinin mekanik ve fiziksel özelliklerinin yeterli olmaması sebebiyle, yara iyileşme hızında ve süreçlerinde istenilen etkide başarı elde edilememektedir. Yara örtüleri ilaç içermeyen ve yara bölgesinde emici olmayan özelliklere sahip olduğunda yara sıvısı bölgede bakteri üremesine neden olmaktadır. Bu nedenle, yara bölgesinin ihtiyaçlarına uygun ve iyileşme sürecini destekleyen antiinflamatuvar etkili biyoaktif bileşenlerle işlevsel hale getirilmiş yara örtülerine gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca, mevcut tedavilerde kullanılan ilaçlara karşı direnç gelişimi ve bu ilaçların toksik etkileri, tedavide tek başına yeterli olmalarını engellemektedir.

Leishmaniasis tedavisinde sıklıkla kullanılan Amfoterisin B ve benzeri bu tedavide kullanılan antifungal ve antileishmanial ilaçlara geliştirilen direnç ve ilaçların toksik özellik göstermeleri tek başına kullanımlarını sınırlamaktadır. Bu nedenle,

yara iyileşmesini hızlandırmak, ilaçların yan etkilerini azaltmak ve biyoyarlanımlarını arttırmak amacıyla AmB'nin çeşitli ilaç salım yöntemleriyle ve sekonder metabolitler ile kombine edilerek yara örtüsü şeklinde kullanımını içeren alternatif tedaviler üzerinde durulması gerekmektedir. Bu nedenle, bu tez kapsamında yara iyileşmesini hızlandırmak ve AmB'nin tek başına kullanılmasıyla ortaya çıkan çeşitli yan etkileri en aza indirmek amacıyla kitosan esaslı bir elektro-eğrilmiş ilaç salım özelliği olan yara örtü malzemesi geliştirilmiştir. Leishmaniasis ve eşlik eden sekonder kandidiyazis enfeksiyonunun tedavisine yönelik olarak, sekonder metabolit kuersetin ve antifungal ajan AmB ile yüklenmiş q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB içeren nanofiberler tasarlanmıştır. Bu nanofiberler, FTIR spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve yüzey temas açısı ölçümleri gibi ileri karakterizasyon teknikleriyle incelenmiştir. Üretilen elektro-eğrilmiş biyomalzemenin, yara iyileşmesinin hızlanmasını, hücrelerin büyümesini ve proliferasyonunu artıran yara örtü malzemesi olarak değerlendirilmesi hedeflenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Amfoterisin B, kuersetin, nanofiber, kolajen, kitosan

PRODUCTION OF ELECTRO-SPUN WOUND DRESSINGS CONTAINING CHITOSAN AND COLLAGEN

Mehtap ERDİNÇ

Department of Biotechnology

Master of Science Thesis

Supervisor: Dr. Murat TOPUZOĞULLARI

Co-supervisor: Prof. Dr. Serap ACAR

Today, due to the inadequacy of the mechanical and physical properties of wound materials / dressings used in wound healing, which is a complex process, the desired effect cannot be achieved in the speed and processes of wound healing. When wound dressings do not contain drugs and have non-absorbent properties in the wound area, the wound fluid causes bacterial growth in the area. Therefore, wound dressings that are functionalized with anti-inflammatory effective bioactive components that are suitable for the needs of the wound area and support the healing process are needed. In addition, the development of resistance to drugs used in current treatments and the toxic effects of these drugs prevent them from being sufficient alone in the treatment. The resistance developed to antifungal and antileishmanial drugs used in this treatment, such as Amphotericin B, which is frequently used in the treatment of leishmaniasis, and the toxic properties of the drugs limit their use alone. Therefore, alternative treatments that include the use of AmB in combination with various drug delivery methods and secondary metabolites as a wound dressing in order to accelerate wound healing, reduce the side effects of drugs and increase their bioavailability should be considered.

Therefore, in this thesis, a chitosan-based electrospun wound dressing material with drug delivery properties was developed to accelerate wound healing and minimize various side effects that occur when AmB is used alone. Nanofibers containing q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB loaded with secondary metabolite quercetin and antifungal agent AmB were designed for the treatment of leishmaniasis and accompanying secondary candidiasis infection. These nanofibers were examined with advanced characterization techniques such as FTIR spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM) and surface contact angle measurements. The produced electrospun biomaterial is aimed to be evaluated as a wound dressing material that accelerates wound healing and increases cell growth and proliferation.

Keywords: Amphotericin B, quercetin, nanofiber, collagen, chitosan

**YILDIZ TECHNICAL UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCES**

1.1 Literatür Özeti

Leishmaniasis hastalığı enfekte olan dişi kum sinek türünün ısırığı ile insan ve hayvanlara geçen leishmania parazitinin neden olduğu bir hastalıktır. Türkiye’de ve yaklaşık 98 ülkede bu hastalık görülmektedir. Kutanöz, viseral ve mukozal olarak üç formda bulunmaktadır. Hastalığın sebep olduğu lezyonların tedavisi için sistemik tedavi yöntemlerinin yanı sıra lokal tedavi yaklaşımlarında yara örtüleri de sıklıkla tercih edilmektedir. Dolayısıyla leishmaniasis ve kandidiyazisi hedefleyen yaklaşımlar doku mühendisliğini de kapsamaktadır. Doku mühendisliği yaklaşımları ile üretilen nanofiber iskelelerde hem doğal hem de sentetik polimerler kullanılmaktadır. PEO gibi sentetik polimerler, hidrofilik özellikte olup vücut sıvıları ile etkileşime girerek hızlı çözündüklerinden yara örtüleri gibi uygulamalarda tercih edilmektedirler. Ayrıca biyoaktif madde ve ilaçların salımı için de uygun adaylardır. Doğal polimerler ise doğada bol ve kolay bulunmaktadırlar. Ayrıca ECM ile benzer özellikler taşıması nedeniyle hücre büyüme ve çoğalmasını teşvik ederek yara iyileşmesini de hızlandırarak hasarlı dokuları onarıcı etki göstermektedirler. Nanofiber iskelelerde polimerler tek başına kullanılabilceği gibi sekonder metabolitler ve hastalığı tedavi edici ajanlar dahil edilerek etkileri güçlendirilebilmektedir. Bu ajanlar, doğrudan fiziksel veya kimyasal yollarla iskeleye tutturulabilirler. Ayrıca, bir ilaç taşıma sistemi aracılığıyla iskeleye yüklenebilmektedir. İlaç taşıma sistemleri; ilaçların daha etkili olarak hedefe ulaşmasını sağladığı, çözünürlüğü arttırdığı ve ilaçların toksisitesini azalttıkları için tercih edilmektedirler. Yara örtüsü amacıyla kullanılacak nanofiber iskelelerin üretiminde, tedavi süresince işlevlerini doğru şekilde sürdürebilmeleri için biyouyumlu olmalarını sağlayan ve hücre büyümesi ve proliferasyonu destekleyen yöntemler ve bileşenler tercih edilmektedir. Elektro eğirme yöntemi, üstün mekanik özellikler sergileyen nanofiberlerin üretilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Çeşitli malzemelerin kombinasyon kolaylığı, yüksek seviyede

gözenekli yapı ve gaz geçirgenliği sağlaması ile birlikte nano yapıları olmalarının hücre ile etkileşimini artırması yöntemin var olan avantajlarından. Literatür incelemeleri sonucunda, tasarlanması planlanan nanofiberin içeriğinde kullanılan bileşenlerin birlikte yer aldığı ve leishmania ile kandidiyazis üzerindeki etkinliklerinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında; elektro-eğirme yöntemiyle leishmaniasis ve eşlik eden sekonder kandidiyazis enfeksiyonunun tedavisinde kullanılabilecek ilaç (AmB) yüklü ve sekonder metabolit kuersetin ile konjuge edilmiş kitosan içeren nanofiber iskelelerin üretilmesi ve detaylı şekilde karakterize edilmesi hedeflenmiştir. Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen q-(GTMAC-CS)/PEO-Col nanofiberin, leishmaniasis ve kandidiyazis tedavi sürecinin ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde tasarlanarak, sahip olduğu kompleks bileşenlerle maksimum tedavi etkinliği sağlaması öngörülmektedir.

1.3 Hipotez

Leishmaniasis ve buna eşlik eden sekonder enfeksiyonlardan biri olan kandidiyazisin tedavisi için, kuersetin ve antifungal bir ajan olan Amfoterisin B (AmB) yüklü q-(GTMAC-CS)/PEO-Col içerikli nanofiber iskeleler, yenilikçi bir yara örtüsü malzemesi olarak değerlendirilmektedir. Bu tür bir yapı, yara iyileşme sürecini hızlandırmanın yanı sıra hücre büyümesini ve çoğalmasını destekleyerek tedaviye çok yönlü bir katkı sunmaktadır. Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen polimerik nanofiber iskele, yüksek yüzey alanına sahip yapısıyla hem antileishmanial hem de antifungal özellikler sergilemektedir.

Bu yapıda, özellikle kuersetin ve AmB'nin bir arada kullanılarak GTMAC ile modifiye edilmiş kitosan (q-(GTMAC-CS)), polietilen oksit (PEO) ve kollajen (Col) polimerleriyle birleştirildiği ilk nanofiber iskele örneği olarak literatürde bir ilke işaret etmektedir. Bu materyal, enfekte yaralarda enfeksiyonun kontrol altına alınmasını sağlarken, hücre dostu yapısıyla doku yenilenmesini desteklemesi beklenmektedir. İlgili in vitro kültür çalışmaları, bu polimerik yapının hem

leishmaniasis'e karşı etkili olduğunu hem de sekonder fungal enfeksiyonların tedavisinde üstün bir performans sergileyebileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, kuersetin ve AmB yüklü bu yenilikçi nanofiber iskele hem enfeksiyon tedavisinde hem de yara iyileşmesinin hızlandırılmasında önemli bir potansiyele sahiptir. Modern tıp ve biyomalzeme bilimi açısından değerlendirildiğinde, bu yaklaşım hem bilimsel yeniliği hem de klinik uygulama potansiyeliyle dikkat çekmektedir.

Bu malzemede kitosan antimikrobiyal, biyoyumlu ve biyobozunur bir biyopolimerdir. Bu polimere kuarterner amonyum grupları eklenerek hem suda çözünürlüğü hem de antimikrobiyal özelliği arttırılmaktadır. Bu iki polimer beraber kullanılarak hem yara dokusundaki hücrelerin çoğalmasını ve göçünü tetiklerken hem de antimikrobiyal etki gösterecektir.

Yapıya katılacak olan kuersetin ise sahip olduğu antioksidan, antineoplastik ve antienflamatuvar özellikleriyle yara kapanmasına etki göstereceği düşünülmektedir.

Yapıdaki kollajen ise hücre dışı matriste zaten var olan bir proteindir. Hücrelerin çoğalması ve göçüne imkan veren ve yara iyileşmesini hızlandıran bir moleküldür.

AmB ise leishmania sırasında oluşan kandidiyazise karşı antifungal etki gösteren bir ajandır.

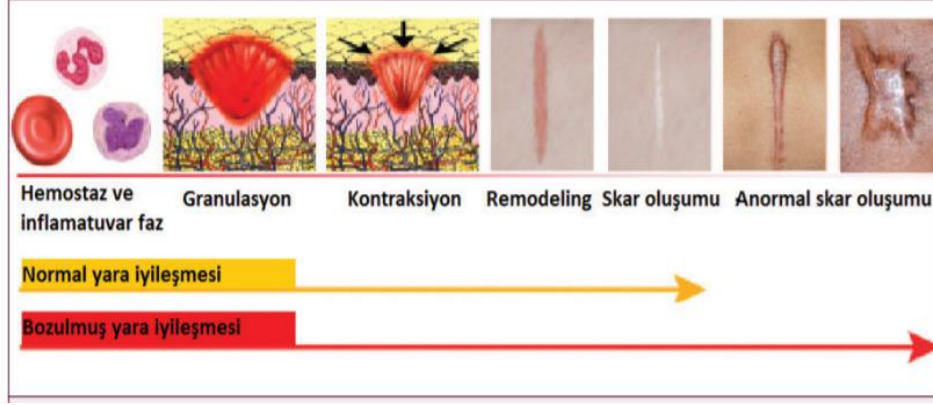
Tüm bu moleküllerin bir araya getirilmesi için kullanılacak olan elektroğirme yöntemi ise hücre dışı matrise benzer yapıda nanometre seviyesinde çaplara sahip fiber yapıların oluşmasını sağlayan bir yöntemdir. Bu sayede hücrelerin çoğalma ve göçüne imkan veren 3 boyutlu bir yapı oluşturabilecektir.

2.1 Yara ve İyileşme Süreçleri

İnsanın bedeninde var olan en büyük organ deridir. Epidermis tabakası, dermis ve hipodermis tabakaları derinin yapısını oluşturan üç ana katmandır. Epidermis denilen derinin dış tabakasını oluşturan katman, vücudun iç ortamının iç dengesini korumada önemli bir görev üstlenmektedir. Epidermis katmanı çevre ile doğrudan etkileşen son katman olduğundan vücudu dış ortamdan ve potansiyel patojenik bakterilerden korumaktadır. İkinci tabakadaki dermis katmanı, ekstraselüler matriksin yapısı ile beraber cilde gerilme kuvveti sağlayacak şekilde etki etmektedir. Bir diğer deri katmanı olan dermis tabakası ise vücut damarlarının, sinirlerin ve ter bezleri gibi yapıları içeren katmandır. Doğal durumunda ciltin yapısı kurudur ve asidik pH (4.0-6.8) değerine sahiptir.

Derinin tahribatı çeşitli nedenlerle meydana gelebilmektedir; yanıklar, travma, ameliyatlar veya yırtıklar gibi çeşitli yollarla zarar görerek işlevinde zayıflıklar ortaya çıkabilmektedir. Yara oluşumundan sonraki süreçte yarayı kontaminasyonlardan ve ek komplikasyonlardan korumak amacıyla doğru yara bakımı zorunludur, bu da yara iyileşmesinin bozulmasına ve birçok morbidite ve mortalite vakasına neden olabilmektedir (Negut vd., 2010). Yara iyileşme sürecinin başlangıcı cilt bölgesinin yapısında tahribat meydana geldiğinde aktifleşerek karmaşık ve dinamik bir şekilde ilerlemektedir. Yara iyileşmesinin basamakları birbirini takip eden aşamalardan meydana gelmektedir: Trombosit agregasyonu denilen trombositlerin zamanla kümelenmesi durumu, süreç geçtikçe oluşan kan pıhtısının aktivasyonu, enfeksiyon in-filtrasyon süreci, hücrelerin birbirinden ve kendi yapılarından farklılaşması ve tahribat gerçekleşen yara bölgesinin kendini tekrardan onarıp şekil alması bu yara iyileşme sürecin aşamalarını oluşturmaktadır. Dokunun yenilenmesinde gerçekleşen her bir basamak birbirinden bağımsız gibi gözüksede iltihaplanma, proliferasyon (hücre çoğalması), yara büzüşmesi ve doğal

yapısı bozulan doku yapısının yeniden şekillenmesi basamaklarıyla bağlantılıdır. (Peppas vd., 2009). Şekil 2.1’de normal ve doğal iyileşme süreci sekteye uğramış yara iyileşmesi gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Normal ve normal olmayan (bozulmuş) yara iyileşmesi basamakları

2.1.1 İnflamasyon Hemostaz Aşaması

Yara iyileşmesinin bu basamağında kan damarlarında fiziki daralma ve zaman geçtikçe süreli olarak hemostaz gerçekleşir. Doku zedelenmesi olduğunda vücutta sitokinlerin üretimi başlayıp salımı hızlanır ve iyileşme süreci yönlendirilir. İyileşme sürecinde kan damarlarının duvarı zarar görürse trombositler zedelenmeyle birlikte damar duvarında açılan kollajenle yapısal olarak etkileşime girer, meydana gelen temas sonrası geçici pıhtı oluşumu gözlemlenir ve diğer bir aşama olan hemostaz tetiklenir. Bu aşama başladıktan sonra inflamasyondan görevli hücreler yara bölgesine hedeflenir ve göç hareketi hızlanır. Yara bölgesinde bulunan hücre ölümünden sorumlu apoptotik hücreleri ve bölgede üreyen bakterileri yarıdan uzaklaştırmaya başlar. Yara alanında yara tipine bağlı olarak 1-4 gün arasında sürececek olan bir aşama gerçekleşmektedir. Bu safhada inflamasyon belirtileri olarak bölgesel şişkinlikler, ağrı, sızı, kızarıklık ve sıcaklık seviyelerinde artış görülmektedir (Baktır, 2019). İnflamasyon sürecinde yara iyileşmesinin temel hedefi zarar görmüş bölgedeki var olan enfeksiyonların önüne geçilmesidir ve oluşan semptomların hafifletilmesidir. Bu aşamada vücudun gösterdiği ilk tepki 48 saatlik süre içerisinde yara dokusuna göç eden nötrofillerin bakterileri ya da vücudun yabancı madde olarak tanımladığı partikülleri fagositozla veya salgıladığı toksik maddelerle etkisiz hale getirmektedir. Nötrofil göçüyle birlikte,

aktifleşmenin ardından ROS denilen serbest oksijen radikallerinin oluşumu gözlemlenmektedir.2-3 günlük süreçte maksimum seviyelerde konsantrasyonda olan makrofaj hücrelerinin boyutları büyüyerek, fagositoz özelliğe sahip hücrelere dönüşürler. Makrofaj hücreleri büyüme faktörlerinin ana merkezi olarak süreçte yer alır. Bu hücreler dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), EGF olarak adlandırılan epidermal büyüme faktörü ve damarlanmanın oluşması ve granülasyon yapısının yeniden onarımında etkili büyüme etkenlerinin oluşumunda yer alan önemli yapılardır. Yaralı bölgenin yeniden oluşması sürecinde hasarlı dokuya doğru lenfosit akımı olur. Lenfositler ECM sentezinin tetiklenmesi ve bölgedeki kolajen miktarının seviyesinin artışında etkin rol oynar. İnflamasyon basamağı bakterilerin bölgeden uzaklaştırılabilmesi için yara temizliği olana kadar süren süreçtir, fakat süreç uzun sürerse bölgede doku hasarı meydana gelir ve hücrelerin çoğalmasının doğal süreci etkilenerek yara kronik yaraya dönüşebilmektedir (Berk vd., 2015). Deri zedelenmesi sonucu, kan damarlarının yapısında gerçekleşen şekil bozuklukları, yaranın olduğu bölgeye hedeflenen hücre hareketine fibrin pıhtısının artışı tetikler. Makrofaj yapıları fagositoz mikroorganizmaları, ECM parçaları, fibrin ve nötrofil, eritrosit gibi hücrelerin salgılanmasını tetikleyerek iyileşmede rol oynayan moleküllerin üretilmesini sağlamaktadır.

2.1.2 Proliferasyon Fazı

Yaralanma meydana geldikten hemen sonra başlayan ve ortalama 3 hafta süren bir fazdır. Bu faz doku onarım sürecinde geçirgen özellik gösteren bariyer oluşması beklenmektedir. Yaranın çeşidi, yaranın derinliğine ve derecesine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Baktır, 2019). Yara iyileşmesinin bu fazı, reepitelizasyon ve granülasyon dokusu fazlarından oluşmaktadır. Reepitelizasyon fazına dokuda bulunan oksijenin seviyesinde azalma görülür. Sitokinler ve büyüme faktörler salınmaya devam ettikçe fibroblast hücrelerinde artış ve yeni ekstraselüler matris ve olgunlaşmamış Tip III kollajen üretilmesini sebebiyet verir. Üretilen kollajenin miktarı arttıkça gerilme kuvvetine karşı direnç geliştirilmeye başlanmış olur. Deforme olmuş bölgenin kenarlarında epitelleşmeden sorumlu hücrelerin etkisiyle bölge etrafında yeni onarılmış yüzey oluşumunu tetikler. Yara kontraksiyonunda fibroblastların miyofibroblastlara dönüştüğü aşamada

yanarın bulunduğu bölgeye, dolayısıyla yanarın derinliğine bağlı olarak gelişmektedir (Berk vd., 2015).

2.1.3 Remodelizasyon

Proliferasyon aşamasının bitmesinin ardından 21 günlük bir remodelizasyon fazı gerçekleşir. Bu safhada yara bölgesindeki fibroblast miktarlarında düşüşler meydana gelir. Bölgedeki kollajenin miktarındaki artış dengeye getirilir ve bir süre sonra sabit tutulur, beraberinde epitelizasyon basamağı tamamlanmış olur. Remodelizasyon kollajen bileşenlerinin tekrardan oluşturulmasıdır. Bu aşamada jelatin formda bulunan tip-III kollajen yapı değiştirerek sıkı form olan tip-I kolajenine dönüşür. 42 gün sonra yara yapısı yanarın oluşumunun deforme olmadan önceki haline göre gücünün ortalama % 90'ının kazanır. Bu aşama yara tipine ve kişinin sağlık durumuna bağlı olarak 6, 12 yada maksimum 24 aya kadar sürebilir. Bu aşamada zaman geçtikçe yanarın yapısı değişir, fiziksel olarak rengi soluklaşır, yanarın gerilim direncinde artış görülür ve skar dokusu oluşumu meydana gelir (Baktır, 2019).

2.2 Yara Yönetimi

Yara iyileşme sürecinde yara yönetiminin amacı, iyileşmeyi hızlı bir şekilde, fonksiyonel ve estetik sonuçlarla tamamlamaktır. Bugüne kadar yapılan tedavilerde amaç yanarın kapatılması esasına dayanmaktadır. Tedavilerde tercih edilen materyallerin ise iyileşme sürecinde etkisi oldukça azdı. Yapılan çalışmalar ve geliştirilen yöntemler sayesinde yara iyileşmesinde görevli ve iyileşme sürecini engelleyici etki gösteren hücresel süreçlerin daha anlaşılabilir oluşu, beraberinde yara yönetimi sürecini şekillendirmiştir. Geliştirilip elde edilen bilgilerle yara malzemelerinin tasarımı ve fonksiyonelliği çok fonksiyonlu olma yönünde gelişmiştir. Yaralar doğası ve özellikleri bakımından benzer değildir, bireyin sağlık durumu, ortamı ve enfeksiyonların tezahürü gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Sonuç olarak, bir yara sargısının sahip olması gereken özellikler büyük ölçüde yanarın tipine bağlı olarak değişmektedir. Bununla birlikte, bazı ortak özellikler yara örtülerinde olması gereken özellikler arasındadır. Yara örtülerinde olması gereken temel özellikler Tablo 2.1' de gösterilmiştir (Talikowska vd., 2019).

Tablo 2.1 Yara örtülerinin özellikleri (Talikowska vd., 2019)

Fiziksel	Kimyasal	Teknolojik
Yara yatağında uygun nemi muhafaza eder	Biyouyumlu	Ekonomik hazırlama süreci
Su ve gaz geçirgendir	Uygun bozunma hızı	Yüksek tekrarlanabilirlik
Yara bölgesinde eksüdalara ve kanı emebilir	Toksik değil	Mekanik kararlılık
Mekanik koruma	Enflamatuvar değil	Kolay sterilizasyon
Yara tipine ve vücut şekline uyum sağlayabilir	Alerjik değil	Uzun raf ömrü
Enfeksiyöz ajanlara karşı koruyucu/etkilidir	Antimikrobiyal etki	-

Tabloda belirtilen özelliklerin çoğu, üretildikleri malzemelerin yapı özelliklerine bağlıdır. Modern yara örtülerinin elzem gereklilikleri arasında biyouyumluluk, sitotoksik etki olmaması, antijenik veya inflamatuvar uyarı olmaması, yeni doku oluşum hızıyla doğru orantılı bir biyobozunurluk oranı, dahil edilmiş biyoaktif bileşenlerin (ilaçlar) salınması ve kontrollü ve istenen şekilde salım yapması bu gerekliliklere örnek verilebilir (Talikowska vd., 2019). Yara örtüleri / doku iskelelerinin çeşitli yara tipleri için; yarayı nemli tutmak, eksüdalara emmek ve hücrel dehidrasyondan kaçınarak, kollajen sentezini ve anjiyogenezi teşvik ederek iyileşme sürecini hızlandırması gerekmektedir. Yara ortamının sahip olduğu nem koşulları ve kontrolü ile iyileşme oranı etkilenmektedir, ortamda yeterli düzeyde bulunan nem ile bölgeyi enfeksiyondan korumak ve bölgedeki ağrıyı azaltmak mümkündür. Eksudaların varlığı yara iyileşme sürecinde dokunun katmanlarında ayrışmaya neden olarak iyileşme sürecini olumsuz etkilemektedir. Sahip oldukları olumsuz özellikten dolayı eksudaların yarayla uyumlu ve drenaj kapasitesine sahip bir örtü ile ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Bununla

birlikte, bölgede iyileşme süreci için olması gereken hidrasyonu devam ettirmesi önemlidir. Yaranın bulunduğu bölgede nemi koruyabilme özelliğine sahip örtülerin tercih edilmesi gerekmektedir, bu örtüler yaranın örtüye yapışmasını önlemektedir. Bu tip örtüler değişimleri sırasında ağrıyı azaltacak şekilde etki göstermektedir (Agarwal vd., 2011). Kuru çeşitte olan yaralar, buharlaşma oranı düşük örtülere; eksudalı yaralar ise buharlaşma oranı yüksek örtülere ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle yarada kullanılacak olan örtünün sıvı emilimini ve salınımını dengelemesi gerekmektedir. Ek olarak geliştirilen örtüler, örtü materyaline absorblanmış ya da eklenmiş ilaçların ve diğer biyoaktif bileşiklerin serbest kalmasına izin vermesi gerekmektedir. Öte yanda örtünün altında sıvı birikmesi maserasyona ve sonrasında enfeksiyon oluşumuna neden olabileceğinden, sıvı buharlaşmasının tamamen sınırlandırılmasından kaçınılması gerekmektedir. Bu nedenle yara örtüsünün sahip olduğu kemo-fiziksel (ör. gözeneklilik, morfoloji) özellikler yara çeşiti ve yaranın sahip olduğu eksüdasyon derecesine bağlı olarak ayarlanması gerekmektedir.

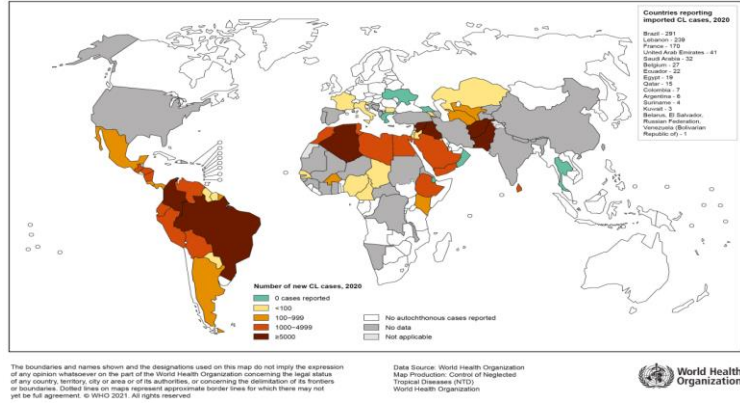
Örtü /iskele, yara bölgesinde kan dolaşımını artırarak, iyileşmede görevli epidermal hücrelerin hareketini tetikleyen normal düzeydeki doku sıcaklığını sabit tutması gerekmektedir. Oksijen, yara iyileşme sürecinde yer alan elzem bir etkidir. Kandaki oksijen düzeyinin düşük olduğu koşulda, granülasyonda ve epitelizasyonda azalma meydana gelir ve yara iyileşmesi süreci engellenmektedir. Bu nedenle, yara örtülerinin gözenekliliği ve morfolojisi, yara bölgesinde nemi muhafaza etme yeteneği, yara iyileşmesini hızlandırmak ve geliştirmek için gerekli olan özellikler arasındadır (Abdelrahman vd. 2011).

Yara örtülerinde olması gereken bir diğer özellik de bulaşıcı mikroorganizmaların kolonize olmasını önleme veya yarada var olanlara savaşma yeteneğidir. Sağlıklı kişilerde, olası enfeksiyon durumlarında bireylerin bağışıklık sistemi aktifleşerek, var olan enfeksiyonu önlemek için makrofaj hücreleri yara bölgesine göçünü indükler ve ardından patojenlerin fagositozunu gerçekleştirilir. Eğer bağışıklık sistemi tam olarak aktifleşmez ya da herhangi başka bir sebepten dolayı patojenleri ortadan kaldıramazsa, iyileşme basamağını enfeksiyon takip eder. Bu aşamada granülasyon dokusu, büyümede görevli faktörleri ve ECM yapısında bulunan görevli bileşenleri bozularak doğal yara iyileşme sürecine olumsuz etki göstermektedir. Bu nedenle, geliştirilmesi hedeflenen örtülerin yapısı, ilaç ya da

etken salımının kontrollü ve ayarlanabilir olması, tedavi edilmesi istenen bölgeye ilacın ulaştırılması için uygun bir ortam sağlaması gerekmektedir (Simões vd., 2020). Yara örtülerinde uygun fiyatlarda ürünü sağlamak ve örtünün değişim sıklığını ayarlamak için teknolojik etkenlerin varlığı hesaba katılarak hareket edilmelidir. Yeterli düzeyde ayarlanabilen raf ömrü, kabul edilebilir mekanik özellikler ve bozunmadaki değişkenlik, topikal kullanım uygulaması ve iyileşme süreçlerinin gerekliliklerini sağlaması gerekmektedir (Negut vd., 2020).

2.3 Kutanöz Leishmaniasis

Leishmaniasis hastalığı *Leishmania* cinsi kamçılı protozoanların varlığında oluşan bir hastalıktır. Hastalık tropikal ve subtropikal olarak iki ana bölgelerde yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır. Avrupa, Afrika, ve Amerika'da olmak üzere ek olarak 99 farklı ülkede bulunmaktadır. Ancak, son zamanlarda hastalığa yakalanan hastaların %90'ından fazlası Cezayir, Bangladeş ve Brezilya gibi on üç ülkede görülmektedir. Her yıl 0,9 ila 1,7 milyon kişinin yeni enfekte olduğu tahmin edilmektedir, ancak bunların sayıca az kısmında hastalığın gelişmesi ve sonuç olarak 20.000-30.000 kişinin etkilenmesi beklenmektedir (Steverding, 2017). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre Şekil 2.2'de Dünyada kutanöz Leishmaniasis insidansı gösterilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında, çoğunlukla kentsel dönüşümde gelişme, orman bölgelerine verilen zararlar, iklim değişikliği ve insanların çeşitli bölgelere göçü nedeniyle hasta sayılarında yükselme görülmektedir. Tropik Hastalıklar Araştırma Programının elde ettiği verilere göre leishmaniasis, klinik süreç karmaşıklığı ve epidemiyolojik fazlalığı sebebiyle günümüzde var olan en kritik altı endemik hastalıktan biri olarak kayıtlara geçmiştir (Severino vd., 2022).



Şekil 2.2 Dünyada kutanöz Leishmaniasis insidansı

Parazit ile enfekte olan vakalar incelendiğinde hastalık sürecinde herhangi bir semptom geliştirmedeği gözlemlenmiştir. Bu nedenle *leishmaniasis* terimi, parazit ile enfekte olma durumu değil, bir *Leishmania* enfeksiyonu nedeniyle hasta olma durumunu belirtmektedir. *Leishmaniasis* lezyonlarının ağrısız olması, yaklaşık bir yıl gibi zaman dilimleri içinde iz bırakarak kendiliğinden iyileşebilmesi, sistemik komplikasyonlara ve ölüme neden olmaması hastalığın toplum tarafından kabul edilmesine yol açmıştır. Ne yazık ki, çoğu ülkede, büyük ölçüde tanınmayan vakalar, sağlık hizmetlerine erişimin olmaması veya yetersiz raporlama nedeniyle hastalık insidansı genellikle hafife alınmaktadır (Nzeli vd., 2019) fakat bunların yanında aktif lezyonu veya sikatrisi olanlarda depresyon, anksiyete ve yaşam kalitesinde azalma gibi sosyal ve psikolojik sorunlara yol açmaktadır (Kaya vd., 2019). *Leishmaniasis*'in klinik belirtileri, *Leishmania* türüne ve virüsün patojenliğine, konağın beslenme yapısına ve bağışıklık düzeyine bağlı olarak klinik durumuna göre değişim göstermektedir. Klinik değişim, kendiliğinden iyileşme gösteren bölgesel bir lezyondan, ölüm riski gösterebilen hastalığa ilerleyen vakalara kadar değişebilmektedir. Klinik semptomlara bakılarak leishmaniasis, makrofajların dermiste lokalize sistem boyunca enfeksiyonuna göre sınıflandırılır. Bu sınıflandırma: visseral leishmaniasis (VL) veya kutanöz leishmaniasis (CL) ve mukokutanöz leishmaniasis (ML) şeklindedir. Her üç farklı tip için enfeksiyon asemptomatikten yüksek düzeye kadar değişim gösterebilir. CL ve ML önemli morbiditeye neden olabilirken, VL formu yaşamı tehdit edici etki gösterebilmektedir. CL genelde vücudun çevre ile etkileşim halinde olan yüz ve bacaklar gibi kısımlarında ülser üretir. Bazen 200'e varan sayıda lezyon olabilir

ve bunlar ciddi hasar veya sakatlıklara neden olabilir. Ülserler iyileştiğinde, her zaman, özellikle kadınlar ve kız çocuklarında kalıcı izler bırakmaktadırlar.

Hastalığın çeşitli şekillerde bulaşması, dişi tatarcıkların memelilerde kanla beslenmesi ve konakçıda promastigotları aşılmasıyla gerçekleşmektedir. Promastigotlar makrofajlar tarafından çevrenmektedir ve 24 ila 72 saatlik bir süre içinde amastigotlara dönüşmektedir. Makrofajların içindeki amastigotlar, fagositik hücrelerin parçalanmasının başlamasına neden olana kadar hızlı şekilde çoğalırlar. Serbest kalan amastigotlar diğer makrofajları enfekte ederek döngüyü tamamlamaktadır. Diğer bir durum ise bir böcek enfekte olmuş bir konakçıyı ısırabilmekte ve amastigotlar tarafından parazitlenen makrofajları yutabilmektedir. Omurgasızın bağırsağında bulunan amastigotlar, omurgalı konakçı için bulaşıcı olan promastigotlara dönüştürülmektedir (Severino vd., 2022).

2.3.1 Kutanöz Leishmaniasis Mevcut Yara Tedavileri

Leishmaniasiste var olan tedaviler oldukça az olup, etkisizdir. İlaç geliştirilmesi ve yeni tedavi yöntemleri açısından leishmaniasis en ihmal edilmiş hastalıklardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Mevcut antileishmanial ilaçların çoğu yüksek derecede toksik etki göstermektedir, direnç sorunu vardır ve sistemik tedavi için hastanın hastaneye yatışını gerektirmektedir (Kaya vd., 2019).

Günümüzde kullanılan mevcut ilaçların çoğu yüksek toksisiteye neden olduğundan leishmaniasis tedavisi oldukça karmaşık ilerlemektedir. CL ve ML tedavisi için etkili bir topikal ilaç formülasyonunun geliştirilmesi gerekmektedir. Topikal ilaç formülasyonları ile günümüzde mevcut alternatiflerin yüksek maliyetlerinin üstesinden gelebilmektir. Sağladığı bir diğer avantaj ilacın kendi kendine uygulanabilmesidir ve beraberinde hastanın tedaviye uyumunu artırmasıdır. Farklı dozaj çeşitleri, membranlar ve merhemler, kremler gibi semi katı formları içermektedir. Topikal uygulanan tedavi ile leishmaniasis ve çeşitli kombinasyonlarına geleneksel ilaçlar için yeni bir uygulama biçimi olarak ve ayrıca yeni maddeleri uygulamak için kullanılmaktadır (Severino vd., 2022). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, *Leishmania* türü ne olursa olsun, antileishmanial tedavi steril bir iyileşme süreci sağlayamaz ve parazit zaman geçtikçe kişinin vücudunda ortaya çıkabilmektedir. Tedavi alanında tecrübeli sağlık çalışanı

tarafından yapılması gerekmektedir. Çoğu antileishmanial ilaç enjekte edilebilmektedir. Leishmaniasis hastalığının iyileşme süreci oldukça karmaşıktır. Tedavi ile ilgili literatürde birçok ilaç tanımlanmıştır. Birincil tedavi, antimon tuzlarına (Sb III) dayalıdır. Bu tedavi yöntemi yüksek toksisitesi, sınırlı terapötik penceresi ve parazitlere karşı direnci, bazı ülkelerde kullanımlarının sınırlı olmasına neden olmaktadır. Var olan olumsuz özelliklere karşılık iyileştirilmiş tedavi potansiyeli ve daha az toksisite ile beş değerlikli antimonialler geliştirilmiştir. Antimonlar iyi tolere edilir, ancak enjeksiyonun hedeflendiği alanda ağrı, gastrointestinal disfonksiyon, kişinin kas kütlelerinde ağrı, e pankreatit gibi çeşitli yan etkilerin meydana gelmesinde etkili olduğu bulunmuştur. Brezilya'da N-metil glukamin antimonat (Glucantime®) Sağlık Bakanlığı kontrolünde hastalara uygulanan ilaçtır. Önerilen Glucantime® dozu, intravenöz ya da intramüsküler kullanım yollarıyla 20 ila 30 gün boyunca kesintisiz bir şekilde çocuklar ve yetişkinlere uygulanmaktadır. Amfoterisin B ve pentamidin izetionat da pentavalan antimonial ile tedavi başarısızlığında tercih edilmektedir. Amfoterisin B'nin kullanımı kalp damar hastalığı, karaciğer hastalığı ve nefropatisi olan hastalarda önerilmemektedir. Tavsiye edilen dozu 1-4 mg/kg/gün olup, maksimum doza veya toleransa ulaşana kadar her gün intravenöz olarak uygulanmasıdır. Daha yakın zamanlarda amfoterisin B, ticari olarak Ambisome® olarak adlandırılan, hidrojene soya fosfatidilkolin, kolesterol, disteroil fosfatidil gliserolden oluşan tek lamelli keseciklere yüklenmiştir. Bu nanoteknoloji tabanlı formülasyonun ateş, titreme, tutukluk, uyuşukluk, karaciğer fonksiyon testlerinde hafif yükselme, böbrek fonksiyon bozukluğu ve kardiyopulmoner toksisite gibi istenmeyen etkileri azaltmak için yararlı olduğu bulunmuştur. Bu ilaç visseral leishmaniasis ve mukokutanöz leishmaniasiste etki göstermektedir. *Pentamidin* izethionate ayrıca iyi tolere edilir ve *L. braziliensis*'in neden olduğu ML'nin tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur. Pentamidin izetionat, N-metil glukozamin antimonate yapısına zayıf etki ve AmB'ye intoleransı olan vakalarda tercih edilmektedir. Leishmaniasis tedavisi için mevcut tedavi edici yaklaşımlar, yüksek düzeyde toksisite, düşük seviyede etkinlik, uygulamadaki zorluk ve parazitiklerin ilaç uygulamalarındaki direnci ile bilinmektedir. Farmakoterapi, tür çeşitliliğine ve çok sayıda hastalığa rağmen, birkaç ilaç seçeneği ile çoğunlukla değişmediği gözlemlenmiştir. Son

zamanlarda leishmaniasis tedavisi için düşük maliyetli ve azaltılmış yan etkileri korurken etkinliğin iyileştirilmesine odaklanan yeni ilaçlar geliştirilmeye çalışılmaktadır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmaya örnek parazitlerin canlılıklarını devam ettirebilmeleri için üstlendikleri mekanizmalara karşı etkili olabileceği düşünülen yapı izopentil kafeattır. Bir diğer çalışmada ise Novais ve diğerleri (2021) koruyucu bağışıklık tepkilerini arttırmak veya aşırı kutanöz enflamasyonu iyileştirmek amacıyla konakçıya yönelik tedavilerin kullanımını üzerine, konakçıya özgü iletimin leishmaniasis tipine göre uyarlanmasını önerdiler. Tablo 2.2'de kutanöz leishmaniasis ve mukokutanöz leishmaniasinin klasik tedavisi için kullanılan ilaç örnekleri özetlenmektedir (Severino vd., 2022).

Tablo 2.2 CL ve ML'nin klasik tedavisi için yaygın olarak kullanılan ilaç örnekleri

İlaç	Etki mekanizması	Yan etkiler	Referanslar
N-metilglukamin antimoniat	Bir kompleks oluşturan ribonükleositlerle bağlanarak DNA topoizomerazların replikasyonu ve transkripsiyon sürecindeki işlevlerini yerine getirmesini engeller; nötrofillerin ve monositlerin fagositik etkisini arttırarak konakçıda proinflatuar sitokinleri arttırır.	Miyalji, karaciğer rahatsızlıkları karın ağrısı ve kalp damar rahatsızlıkları.	Carvalho vd., 2019
AmB-deoksikolata	Patojenlerin yapısındaki plazma zarının ergosterolü ile etkileşime girer, bağlanır. İyon gözenek kanalları oluşturarak hücrelerin işlev bozukluğuna neden olur. Gözenek oluşumu, glikolizin inhibisyonuna ve K ⁺ ve Mg ⁺ iyonlarının hücreler içinde hızlı akışına neden olarak bu hücrelerin asiditesinin artmasına ve hücrelerin ölümüne neden olur.	İnfüzyon anında ateş ve titreme. Anemi, nötropeni, ve karaciğer enzimlerinde ki aktivite değişiklikleri.	Shirzadi vd., 2019; Al-Khikani vd., 2019

Tablo 2.2 CL ve ML'nin klasik tedavisi için yaygın olarak kullanılan ilaç örnekleri (devamı)

İlaç	Etki mekanizması	Yan etkiler	Referanslar
AmB	Amfoterisin B deoksikolat ile aynıdır, fark, yan etkilerin azaltılmasına yardımcı olan ve sadece hedef dokulara maksimum konsantrasyon ve seçicilikle ulaşmaya yardımcı olan lipit formülasyonlarının eklenmesiyle olur, ilacın serum konsantrasyonu düşük tutulmalıdır.	Potasyum ve magnezyum kaybı, anafilaksi, ateş. Anemi ve nefrotoksisite	Falci vd., 2015
Miltefosin	Sitotoksik etkiye sahip makrofajları, hücrenin sinyal yollarına etki ederek, lipit zarında değişimler gerçekleştirme ve programlanmış apoptozu aktive eder. İlacın kullanımında patojen yapının hücre zarına müdahale etme, zarın lipit yapısının geçirgenliğini ve akışkanlığını ek olarak fosfolipitlerin yapıların metabolizmasına etki ederek apoptozun uyarılmasında görev alır.	Kişide mide bulantısı, kusma ve beraberinde ishal, cilt alerjisi, yüksek karaciğer değerlerinde değişim ve böbrek yetmezliği.	Ribeiro vd., 2019
Paromomisin	Protozoa yapısında bulunan proteinlerin sentezini inhibe eder. 30S ribozomal birimine bağlanır ve anormal ribozomal yapıların birikmesine neden olur.	Nefrotoksisite, ototoksisite ve karaciğer fonksiyon bozukluğu	Kip vd., 2018; Santoz vd, 2019
Azitromisin	Protein üretiminin normal yapısını önleyerek ve bakteri üremesine müdahale ederek aktive gösteren bir antibakteriyeldir. Antiparazitik etkisi, sitokinlerin ve proinflamatuvar mediatörlerin üretimini aksi yönde etkileyen immünomodülatör aktivitesi ile ilişkilidir.	Mide bulantısı, kusma ve ishal	Amer vd., 2016

Konvansiyonel ilaçların yenilikçi formülasyonlara (örneğin, topikal katı dozaj formları, filmler ve membranlar, nanomalzemeler) yüklenmesi, klinik sonuçları iyileştirmek, toksikolojik risk ve maliyetleri azaltmak ve nihai amaç hastaların yaşamını ve tedavi sürecini daha kontrol edilebilir hale getirmeyi sağlamaktadır.

2.3.1.1 Amfoterisin B (AmB)

Amfoterisin B deoksikolat, 1960'ların başından beri mukozal leishmaniasis ve CL çoğu pentavalan antimon tedavi süreçlerinde yaşanan olumsuzluklarda için birincil basamak tedaviden sonra kullanılacak süreçteki tedavide tercih edilmektedir. Leishmaniasis'in endemik olarak görüldüğü yerlerde sistemik ve renal toksisite, maliyetteki fazlalık ve intravenöz yöntemin uygulanabilirliğindeki zorluk yaygın kullanımını engellemektedir. Daha düşük seviyede renal toksisite etkisine sahip lipit bağlantılı amfoterisin B ürünlerinin kullanıma girmesi daha yaygın kullanım sağlamaktadır. Düşük cilt geçirgenliği nedeniyle leishmaniasis tedavisi için yaygın olarak kullanılan etkili bir ilaç olan Amfoterisin B'nin (AmB) verilmesi için etkili bir sistemin geliştirilmesi, rahatsız edici ve sorunlu enjeksiyonların yerini alması gerekmektedir.

Amfoterisin B, *Streptomyces nodosus* tarafından üretilen bir polien makrosiklik antifungal yapıda moleküldür. Renal ve sistemik toksisitesi, fazla fiyatı ve leishmaniasis'in endemik görüldüğü bölgelerde uygulamadaki zorluklar nedeniyle ajanın yaygın uygulaması engellenmiştir (Shirzadi vd., 2019).

Leishmaniasis tedavisinde sıklıkla kullanılan Amfoterisin B (AmB) gibi antifungal ve antileishmanial ilaçlara geliştirilen direnç ve ilaçların toksik özellik göstermeleri tek başına kullanımlarını sınırlamaktadır. Bu nedenle, yara iyileşmesini hızlandırmak, ilaçların yan etkilerini azaltmak ve biyoyarlanımlarını arttırmak amacıyla AmB'nin çeşitli ilaç salım yöntemleriyle ve sekonder metabolitler ile kombine edilerek yara örtüsü şeklinde kullanımını içeren alternatif tedaviler üzerinde durulması gerekmektedir (Nemati vd., 2021).

2.4 Yara Örtüleri

Mevcut yara örtü malzemeleri, klinik sonuçlara göre derecelendirilen antimikrobiyal ajanlar, emiciler, tıkaçıcı, yapışma materyali ve debridman örtülerinin kullanımını içermektedir. Bir yara örtü malzemeleri, hayvansal, bitkisel

ya da sentetik gibi farklı kaynaklardan fiziksel olarak yapılabilmektedir. Günümüzde yara örtüleri hidrokolloidler, hidrojeller, alginatlar ve poliüretan filmler/köpükler, terapötik maddeleri de içinde barındıran çeşitli yara örtüleri formlarında üretilmektedir. Günümüzde geliştirilen farklı özellikteki formülasyonlar, onları belirli özellikteki yara tipine uygun tedavi için uygun hale getiren farklı özelliklere sahiptir. Örneğin, süngerler büyük gözenekli bir yapıya sahip olup yarada ısı yalıtımı ve yara ortamının nemli kalmasını sağlarken mekanik özellikleri oldukça zayıftır ve ciltte maserasyona neden olabilirler. Süngerler üçüncü derecedeki tahribata uğramış yanık tedavisinde veya kuru oluşum gösteren yaraların tedavisi için uygun bir seçenek değildir. Bununla birlikte mevcut yara örtü malzemelerine bir başka form olarak hidrojeller örnek verilebilir. Hidrojeller polimerik yapılarındaki ağları içinde yüksek miktarda su depolama kapasitesine sahip olduklarından yaraya nemli bir ortam sağlarlar. Fakat zayıf mekanik özellikler gösterdiklerinden dolayı devamında ikinci bir uygulama gerektirmektedirler. Bir başka form olan hidrokolloidler ise tuzlu su veya steril su ile kolayca uzaklaştırılır yapıda olup yapışmaz, yüksek yoğunluklu ve ağrısız yara örtüleridir. Ancak sitotoksik olma, hoş olmayan kötü koku yayma ve düşük mekanik stabilite gibi bazı dezavantajları vardır. Yara örtüsü olarak üretilen filmler ise bakteri geçirmez, iyileşme sürecine izin verir ve kişide ağrıya neden olmaz. Bu ve benzeri yara örtülerinin kullanımı zordur, yaralı bölgenin yüzeyine yapışır ve eksudanın artışına neden olur ancak bu gibi dezavantajlar çeşitli modifikasyonlarla değiştirilebilir ve geliştirilebilir (Gwarzo vd., 2022 ; Simões vd., 2018).

Membranların özellikle elektro eğirme yöntemiyle elde edilen membranların, doğal ECM'nin üç boyutlu yapısının yeniden üretiminin yanı sıra fiziksel koruyucu bir bariyer gibi hareket ettiği bilinmektedir. Yapıların sahip oldukları yüksek düzeydeki yüzey/hacim oranları ve birbirine bağlı oluşan gözenekler, hücrelerin çoğalmasını, yapıda gaz değişimini, besin gereksinimlerini sağlamak ve sıvı kaybını kontrol etmek için çok önemlidir. Membran kullanımıyla ilgili ana dezavantajlar, üretimlerinde kullanılan malzemeler ve çözücülerden kaynaklanmaktadır (Simões vd., 2018).

Ek olarak, yukarıdaki stratejilerin tümü yaraya nemli bir ortam sağlamada başarısız olur ve çıkarma sırasında hastada ağrıyı artırmaktadır. Günümüzde, antibiyotikler

gibi terapötik ajanlar, nemlendiricilerin yanı sıra, etkilenen cilt bölgesinin hidrasyon seviyelerini korumak, yara iyileşme sürecini hızlandırmak ve mikrobiyal enfeksiyonu önlemek için bandaj sargısına dahil edilmektedir. Günümüzde kadar çok işlevli yara örtüleri oluşturmak için çeşitli ileri teknolojilerle yapay malzemelerin üretilebileceği bir hale gelmektedir. Uygun modern yara örtülerinde olması gereken temel iki özellik: hızlı şekilde kanamayı durdurma özelliği ve iyi antibakteriyel özellik göstermesidir. Bir yara örtüsünde amaç, hızlı hemostaz özelliği göstermesi ve yara çevresindeki bakterilerden kaynaklanan enfeksiyonları önlemek için iyi bir antibakteriyel özelliğe sahip olmasıdır (Gwarzo vd., 2022).

Kronik seyirli iyileşmeyen yaralarla yaşanan semptomlar, mevcut yara tedavilerinin sınırlamaları ile birlikte, yeni terapötik müdahalelerin geliştirilmesine ve ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Nanoteknoloji, yara iyileşmesinin farklı aşamalarında nanomalzemelerin etkileşimi ile kronik yaraların iyileşmesini hızlandırmak için benzersiz ve alternatif yaklaşımlar sunarak etki etmeye çalışmaktadır. Cildin yapısının ve fonksiyonunun tamamen yenilenmesi ve restorasyonu, yara izi bırakmadan veya çok az iz bırakmadan yara iyileştirme araştırmalarının hedefi olmaya devam etmektedir. Yara iyileşmesi için kullanılacak olan malzemelerin, yara kapanmasının desteklenmesi, yara eksudası ile uygun etkileşim, kabul edilebilir mekanik performans (örn. güç, sertlik ve dayanıklılık) ve biyouyumluluk gibi birçok yeni yaklaşımın sergileyemediği spesifik özelliklere sahip olması gerekir. Bu gereksinimlerin karşılanması amacıyla yeni nanoteknolojik yaklaşımların geliştirilmesi gerekmektedir. Geliştirilen yaklaşımlar ile nanometre boyutta düzeni (1-100 nm) içeren nanoteknolojik yöntemler ve cihazlarla birlikte var olan sistemlerin aksine benzersiz özellikler sunar malzemeleri içermektedir. Örneğin, nano boyutlu malzemeler, ilaçların verimli bir şekilde kapsüllenmesini ve kontrollü salım kinetiğini mümkün kılan daha yüksek bir yüzey alanı / hacim oranını kolaylaştırmaktadır. Nanometre aralığındaki malzemelerin hedefle (örneğin bir zar reseptörü veya bir iç hücrenel bileşen) karşılaşma olasılığı yüksek olmaktadır bu da yara bölgesi ile daha iyi bir bağlantı sağlayarak hücrenel davranışı etkilemektedir. Ek olarak hidrofobiklik, yapının yüzey yükü veya yapının parçacık boyutu gibi malzemelerin fizikokimyasal

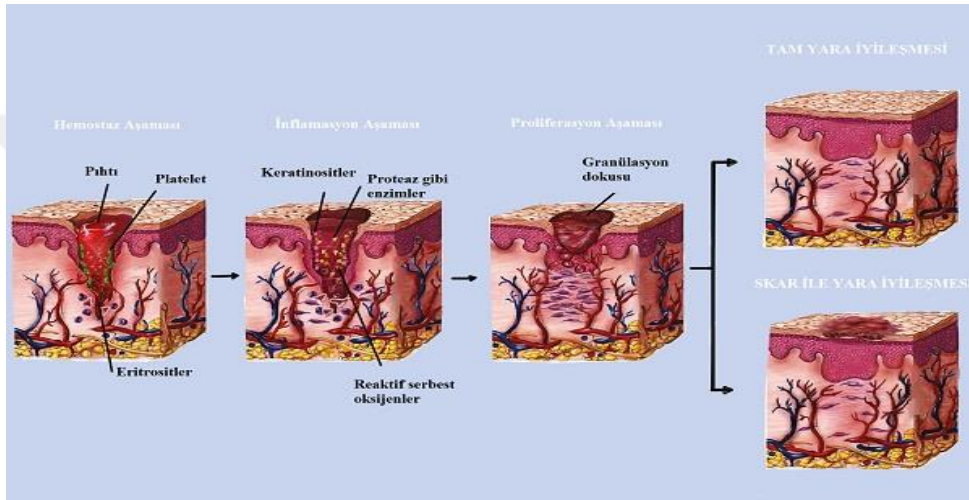
özelliklerde değişim daha kolay olmaktadır. Bu sistemler ekstraselüler matriksi ya da diğer hücresele yapıları taklit edecek şekilde ayarlanabilmektedir.

Piyasada var olan yara iyileşmesini kolaylaştıran çeşitli yara örtülerine göre farklı olarak nanofiber, benzersiz yapıları ve fiziksel ve mekanik özelliklerinin ayarlanabilirliği nedeniyle öne çıkmaktadır. Çok yönlülükleri ve kolay üretim süreci, karmaşık yara iyileşme süreci için istenen özelliklere sahip malzemelerin elde edilmesini kolaylaştırmaktadır. Yüksek yüzey alanı, homojen ilacın dağılması, nano yapıdaki yüksek düzeyde ilaç yükleme kapasitesi ve ilacı kontrollü salım ile ilaç taşıyıcı sistem özelliklerini taşıması yapıyı tercih edilebilir kılmıştır. Nanofiberlerin sağlıklı cildin ECM kolajen veya elastin fiberlere benzerliği, fiber yapıları yapışan, yara yatağını geçen ve hasarlı dokunun yenilenmesini, yaranın kapanmasına yardımcı olan fibroblastlar ve keratinosit yapıları için ek destek etkisi göstermektedir (Akhmetova ve Heinz, 2020).

2.4.1 Antimikrobiyal Aktivite Gösteren Yara Örtüleri

Açık bir yara, mikrobiyal kolonizasyon için uygun bir ortam sağlamaktır. Enfekte olmuş yaralar incelendiğinde çoğunun polimikrobiyaldir yapıda olduğu görülmüştür. Çevrede bulunan patojen yapıları, mukoza zarlarında bulunan endojen mikroplar, bitişik deride bulunan mikroflora tarafından kontamine edilmektedir. Kronik yara başlangıcında oluşumunun ilk safhalarına bakıldığında gram pozitif organizmalar, özellikle *Staphylococcus aureus* baskın olmaktadır. Sonraki aşamalarda, gram negatif *Escherichia coli* ve *Pseudomonas* türleri gözlenmektedir. Bu türler derinin çok daha alt katmanlarına geçerek ciddi doku hasarına neden olmaktadır. Günümüzde deri yaralarının bakteriyel kontaminasyonu yüksek morbidite ve mortaliteye sahip olduğu görülmektedir. Bu sağlık soruna çözüm bulmak, yara bölgesinde oluşacak olan kontaminasyonunu engellemek amacıyla antimikrobiyal etki gösterecek yara örtüleri geliştirilmektedir. Günümüzdeki yara örtüleri, farklı yapıdaki malzemelerden (sentetik (doğal olmayan) veya doğal) ve çeşitli fiziksel şekil ve formlarda (süngerler, hidrojeller, hidrokolloidler vb.) üretilmektedir. Bu farklı yapı ve özellikteki formülasyonlar, onları çeşitli yara tiplerinin tedavisi için tercih edilmesine neden olmaktadır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda yara iyileşmesinde kullanılacak olan örtülerin antimikrobiyal özelliklerini geliştirmek için yapılarına farklı maddeler dahil edilmiştir. Bu antimikrobiyal ajanlar temel olarak tetrasiklin , siprofloksasin , gentamisin vb. gibi antibiyotikleri, gümüş nanopartikül gibi çeşitli nanopartikülleri, bal, esansiyel yağlar ve kitosan gibi doğal ürünleri içermektedir. Karmaşık süreç olan yara iyileşmesinde tam yara iyileşmesi ve skar ile yara iyileşmesindeki aşamaların şematik bir temsili Şekil 2.3'de gösterilmektedir (Simões vd., 2018).



Şekil 2.3 Tam yara iyileşmesi ve skar ile yara iyileşmesi

Açık yara, bakteriyel kontaminasyona karşı savunmasızdır. Açık yara, uzun bir inflamatuvar faz ve ekstraselüler matriksin bozulmasında etkili olan metaloproteinazların ekspresyonunun düzeyinin artmasına neden olmaktadır. İyileşme sürecinde ortamda oluşabilecek enfeksiyon yeni granülasyon dokusu oluşumunu engellemektedir. Antimikrobiyal örtü yara yatağını tedavi etmek için kullanıldığında, çevreden patojenlerin yaraya girmesini önlemek veya istilacı mikroorganizmaları öldürmek için fiziksel bir bariyer görevi üstlenir. Antimikrobiyal pansuman örtü, bağışıklık sistemini ve fibroblast keratinosit göçünü uyararak iyileşme sürecini desteklemektedir (Simões vd., 2018).

2.5 Yara İyileşmesi İçin Tasarlanmış İskeleler ve Üretim Yöntemleri

Günümüzde klinik uygulamalarda kullanılan tipik olarak gazlı bezler, emici pamuk, bandajlar gibi yara örtüleri maliyet açısından uygun olup ekonomik olsalar da, basit

bir fiziksel koruma sağlayabilirler ve yara iyileşme sürecini etkilemede ve enfeksiyonları tedavi etme açısından istenilen yeterli düzeyde etkinliğe sahip değillerdir. Doku mühendisliği ve tıp arasındaki multidisipliner bağlantı mühendislik, biyoloji ve malzeme biliminin bölümlerini içermektedir. Bu alanların varlığıyla yapılan çalışmalar, organlar ve doku rejenerasyonu için uygun alternatiflerin geliştirilmesi ile sonuçlanabilmektedir. Doku mühendisliği yara iyileşme süreçlerinde yara yönetimi düzenlemek üzere alternatif tedaviler geliştirerek, doku iskelelerinin tanıtılması gibi çeşitli çözüm önermiştir. İskeleler, üç boyutlu yapılar, sadece doku oluşumunu desteklemekle kalmayıp, aynı zamanda yarayı dış etkenlere bağlı olarak oluşabilecek kontaminasyonlara karşı da bir "çit" görevi üstlenmektedir. Yara örtüleri yara iyileşmesindeki hücre adezyonu, çoğalması ve farklılaşması gibi fizyolojik ara süreçleri başlatmak amacıyla diğer hücrelerle fiziksel destek ve iletişim sağlamaktadır. İskelelerin morfolojik yapıları gözenekli ve biyouyumlu olmalıdır, çünkü hücrelerin yapışması ve yapısı gereği sahip oldukları ağları boyunca hareket etmesi gerekir. Yara iyileştirme tedavilerinde kullanılması planlanan doku iskelesi tasarlarken bu özellikler göz önünde bulundurulmalı ve üretimini düşük maliyetlerle, yüksek üretkenlikte tutulması gerekmektedir (Rubio-Elizalde vd., 2019). Yara iyileşme sürecinde tedavi amacıyla kullanılacak iskelenin çeşitli işlevlere yardımcı olması beklenmektedir. Hedeflenen yara örtülerinin hücrelerin ve farklı biyokimyasal faktörlerin taşınmasında ve tutulmasında destek sağlaması, uygun hücre bağlanmasını ve göçünü kolaylaştırarak hücrelerin etkileşime girmesine ve bağlanmasına izin vermesi, hayati hücre besinlerinin ve salınan ürünlerin akışına izin vermesi ve mekanik ve biyolojik uyarılar uygulayarak hücrelerin davranışını değiştirmesi gibi özelliklere sahip olması beklenmektedir. ECM benzeri mikro ortamı taklit etmesi de istenilen özellikler arasındadır. Yara örtüsü üretiminde kullanılan teknikler, elde edilen doku iskelelerinin özellikleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Ranjna C. Dutta ve ark. (2019) yara örtüsü üretiminde tercih edilen bu teknikleri geleneksel ve gelişmiş olarak sınıflandırdılar. Tablo 2.3'de iskele üretiminde kullanılan yöntemler gösterilmektedir (Negut vd., 2020).

Tablo 2.3 İskele üretiminde kullanılan yöntemler

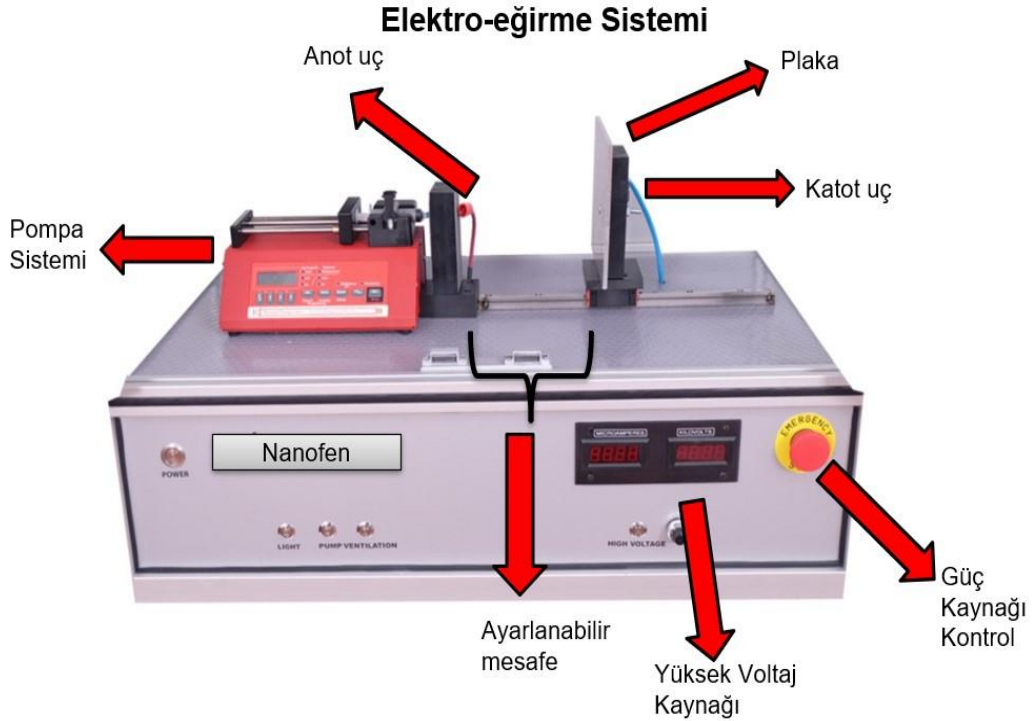
Geleneksel	Avantajlar	Dezavantajları	Ref.
Solvent dökümü/partikül liçi	Gözeneklilik ve kristallik üzerinde kontrol. Minimum malzeme. (PU, PCL, PLA)	Kalıntı çözücülerin varlığı ve yeterli seviyede mekanik özellik göstermeme. Birbirine bağlı olmayan gözenekler	Dutta, R.C vd.,2019
Ekstrüzyon	Gözeneklilik üzerinde kontrol 3D doku iskeleleri elde etme(PCL, PLA Kalsiyum fosfatlar)	Macunlar/paletler ve uçucu çözücü.Yüksek sıcaklıklar veya basınç gerekmekte.	Dávila, J.L. vd., 2016
Kalıplama	Gözeneklilik üzerinde control (HA, PLGA Jelatin)	Şekilsiz polimer için yüksek sıcaklık	Eberli,2010
Dondurarak kurutma	Yüksek sıcaklık ve ayrı liç aşaması zorunlu değil (PLGA PGA)	Diğer yöntemlere göre daha düşük gözeneklilik	Dutta, R.C vd.,2019
Gaz köpürmesi	Organik çözücüler içermez ve gözeneklilik üzerinde kontrol sağlar	Sınırlı mekanik özellikler ve zayıf gözenek bağlantısı	Dutta, R.C vd.,2019
Kaynaşmış biriktirme modelleme	Gözenek boyutu, yüzey morfolojisi ve bağlantı üzerinde kontrol 10–50 mm/s doğrusal baskı hızına sahip olabilmesi	Sıcaklıkların hücrelerin ve-biyoaktif moleküllerin maruz kalabileceği sıcaklığın üstünde oluşu.	Tsai, W.C. vd., 2019
Elyaf yapıştırma	Yüksek yüzey/hacim oranı ve yüksek gözeneklilik (PGA)	Kullanılan sıcaklıklar genellikle hücrelerin veya biyoaktif moleküllerin dahil edilmesi için çok yüksektir.	Dutta, R.C vd.,2019

Tablo 2.3 İskele üretiminde kullanılan yöntemler (devamı)

Gelişmiş	Avantajlar	Dezavantajları	Ref.
Hızlı prototip oluşturma - 3B çizim - 3B baskı -Stereolitografi -Seçici lazer sinterleme	Geometri ve gözeneklilik üzerinde mükemmel control (PCL, PLGA, PVA, PEEK, PDLLA)	Bazı polimerlere sınırlı uygulama ve pahalı ekipman kullanımı	Dutta, R.C vd.,2019
Elektroegirme	Gözeneklilik ve kristallik üzerinde kontrol; liflerin çapı ve yönü manipüle edilebilir (PCL, Kollajen, PLA, EVOH Kitin)	Elyaf kalınlığı ile gözenek boyutunun azalması	Dutta, R.C vd.,2019
Yerinde fotopolimerizasyon	Polimerizasyon üzerinde mekansal ve zamansal kontrol, oda sıcaklığında veya fizyolojik sıcaklıklarda hızlı sertleşme oranları (< bir saniye - birkaç dakika) ve minimum ısı üretimi hidrojeller yerinde sulu öncülerden oluşturulabilir Karmaşık şekiller oluşturmak (Poliüretan, PEGMA, PHBV Poliakrilamid)	Biyolojik duyarlı moleküller bozunabilir Sınırlı malzeme seçimi İskelelerin sınırlı mekanik özellikleri	Tsang, V.L vd., 2004
Yüksek iç fazlı emülsiyon (HIPE)	İyi gözenek morfolojisi (Biyobozunur polimerler)	Yüksek işlem sıcaklıkları Sınırlı sayıda polimer	Nguyen, K.T vd.,2002
Kendi kendine birleşen peptitle	İn vitro kültürlerle uyumlu Peptitler, karmaşık mimarilerde (lifler, tabakalar, küreler) birleştirilebilir (RAD16-II, RAD16-I,EAK16-II,KLD12)	Pahalı malzemelerin kullanımı İskele boyutu sınırlıdır	Nguyen, K.T vd.,2002

2.5.1 Elektro-Eğirme

Elektro-eğirme, doğal ve sentetik polimerlerden mikro ve nano boyutlarda fiber elde etmek için kullanılan bir yöntemdir. Şekil 2.4’de Elektro-eğirme kurulumuna ait tasarım gösterilmektedir (Bombin vd., 2020). Elektro-eğirmede, metalik kütüçlü iğnenin uç noktasından ekstrüde edilen viskoelastik sıvı damlacığa yüksek düzeyde voltajlı bir pozitif yük uygulanmaktadır. Elektrik yükü damlacığı polarize ederek, Taylor konisi olarak bilinen $\sim 49.3^\circ$ yarı dikey açılı konik bir şeklin oluşmasına yol açmaktadır. Elektrik alan ve oluşan Taylor konisi ile birlikte bu ortamda polarize olan damlacığın lifler oluşturmak üzere fırlamasına yol açmaktadır. Elektrik alan etkisinde damlacıklar fiberler oluşturmak üzere anot üzerinde toplanmaktadır. Elektro-eğirmede fiberlerin morfolojisi ve mekanik özellikleri, uygulanan voltaj, besleme hızı ve iğne ucu toplayıcı mesafesi gibi işlem parametreleri, çözelti viskozitesi, çözücü uçuculuğu, polimer moleküler ağırlığı ve çözelti iletkenliği gibi sistem özellikleri ve çevre koşulları tarafından yönetilmektedir (Memci vd., 2019).



Şekil 2.4 Elektro-eğirme kurulumunun tasarımı

Uyarlanabilen ve fonksiyonları zenginleştirilebilecek esnek özelliklere sahip nanomalzemeler olan membranlar, tıbbi uygulamalara alternatif terapötikler olarak ortaya çıkmaktadır. Tıbbi bir yara örtüsü olarak kullanılabilen duyarlı bir ağ oluşturmak için yüksek bir elektrik alanı kullanılarak elektro eğirme yöntemi kullanılarak nanofiber ağlar oluşturulabilir (Bombin vd., 2020). Elektro-eğirme; kritik bir elektrik alan yoğunluğunun üzerinde itici elektrostatik kuvvet ile çözücü buharlaşmasından sonra topraklanmış bir toplama metal ekranı üzerinde nanofiber bir mat oluşturan yüklü bir polimer sıvı jeti püskürtme yoluyla yüzey gerilimini yenerek oluşturulan nanofiber üretimini gerçekleştiren bir yöntemdir (Ghosal vd., 2020).

Elektro-eğirme ile üretilmesi hedeflenen fiberlerin çapı mikrondan nanometre ölçeğine kadar değişmektedir. Oluşturulan fiberler doğal olarak rastgele bir ağ mikro yapısına, yüksek spesifik yüzey alanına ve gözenekliliğe sahiptir. Yara malzemesi hazırlamak için kullanılan bileşenler çeşitlendirilebilir ve yara iyileşmesine faydalı çeşitli ilaçların taşınabilmesi sağlanabilmektedir (Nanditha ve Kumar, 2022). Elektro-eğirme işlemiyle, deride var olan ECM'ninkine benzer morfolojik, mimari özelliklere sahip nanofiber bir yapı üretilmektedir. Bu yöntemle oluşturulan iskele, yapısında bulundurduğu polimer nanofiberlerin zamanla bozunması hücrelerin çoğalmasına ve kendi ECM'lerini üretmesini teşvik eder (Chong vd., 2007). Ayrıca bu sağladığı özellikler ile birlikte elektro eğirme ile üretilen fiberlere büyüme faktörleri, vitaminler, antibakteriyel ajanlar ve çeşitli benzer biyoaktif maddelerin dahil edilmesi yara iyileşme sürecini olumlu yönde etkileyebilmektedir. Fonksiyonelleştirilen yara örtülerinden aktif maddelerin yavaş salımı sadece enfeksiyonu durdurmaz, ek olarak yara iyileşmesini ve dokunun yeniden oluşumu ve şekillenmesini de hızlandırarak etki göstermektedir (Wang vd., 2020).

Sonuç olarak elektro eğirme yöntemiyle, var olan sargıların sahip oldukları çeşitli sınırlamaların üstesinden gelebilecek özelliklere sahip nanofiber örtüler üretilmekte ve özellikle üretilen bu nano boyuttaki fiberler yapısı gereği yaralı bölgede maksimum uyum göstererek, çeşitli terapötiklerin kontrollü ilaç dağıtımını, uygulandığı alanda gaz değişimi, yara örtüsünün kullanıldığı bölgede biyolojik

aktivitesini arttırmak amacıyla eksüda emilimi ve bunlara ek olarak yüzey işlevselleştirme gibi birçok özelliği karşılayarak yara iyileşme sürecinde görev aldığı bildirilmektedir (Bombin vd., 2020).

Fiber bandajlar ve membranlar doğal ECM yapısını kısmen taklit etme yeteneklerinden dolayı, geleneksel bandajlara nazaran daha tercih edilebilir yara bakımı sağlamaktadır. Doğal yapıyı taklit etme durumu, oluşturulan fiber yapıdaki membranda fibroblastın tutunmasını, büyümesini ve göçünü kolaylaştırmaktadır. Sonuç olarak yara bölgesinde cilt dokusunun yenilenmesini destekleyerek etki göstermektedir. Diğer alternatif nanofiber üretim yöntemleri ile kıyaslandığında elektro-eğirme, ayarlanabilir özelliklere, bileşimlere, şekillere ve boyutlara sahip çok çeşitli malzemelerden oluşan fiber iskeleler elde edilmesini sağlamaktadır. Elektro-eğirme optimize edilebilir parametreleri ile ayarlanabilir doğrudan uygulanabilir bir teknik olarak avantaj sağlamaktadır. Bu avantajlar, araştırmacıların doğal doku mikro ortamını taklit edebilen ve yara bölgesini daha iyi tedavi edebilen yara pansuman malzemeleri oluşturmak için elektro-eğirme kullanmalarına izin vermektedir. Elektro-eğirme ile elde edilen fiberlerin oldukça birbirine bağlı gözenekli yapısı, oksijene nüfuz etmelerini, yara eksudası emmelerini, sıvıları değiştirmelerini ve yara bölgesini dehidrasyondan korumalarını sağlamaktadır.

Gelişmiş biyoaktif yara örtüleri, yaradaki enfeksiyon gibi istenmeyen etkilere neden olmadan yara bölgesinde iyileşmeyi artırmak için genellikle kontrollü, yaraya özgün üzerine terapötik ajanların salınmasını gerektirmektedir. Elektro-eğirme, ilaçları ve diğer biyomolekülleri yüklemek için çeşitli yaklaşımlar sağlamaktadır. Elektro-eğirme ile yapılan iskeleler, ayarlanabilir bozunma ve ilaç salım oranları gibi kontrol edilebilir fiziko kimyasal özelliklere sahip olarak oluşturulabilmektedir. Oluşturulması hedeflenen fibere biyoaktif maddeler elektro-eğirme sonrasında ya da elektro-eğirme sırasında iskelelere dahil edilebilmektedir (Memic vd., 2019).

2.5.1.1 Eletro-Eğirme Yöntemiyle Üretilmiş Yara Örtüleri

Elektro-eğirme ile edilen nano yapılar biyoalgılama, doku mühendisliği, ilaç taşıyıcı-dağıtıcı ve yara iyileşmesi dahil olmak üzere birçok biyomedikal üretim-uygulamalarda güçlü potansiyel ve etki gösteren yeni bir malzeme çeşidini temsil etmektedir. ECM, esas olarak gliko proteinler, proteoglikanlar ve hücrelere destek sağlayan diğer küçük moleküllerden oluşan heterojen bir fibriller ağ örgüsünden oluşan doku ve organların her yerinde bulunan hücresel olmayan bir bileşendir. Ancak ekstraselüler matriksin rolü sadece yapısal değil, aynı zamanda işlevseldir. Hücrelerle sürekli iletişim halinde olan, yüzey reseptörleri ile etkileşime giren ve hücre yapışması, göçü, farklılaşması, büyümesi, apoptoz, vb. gibi çeşitli temel süreçlerde yardım sağlayan özel bir mikro-çevre oluşturur ve bu nedenle yara iyileşmesinde rol oynamaktadır. Nanolifler genellikle stokastik hizalanma gösterirler, bu da onları ECM'nin doğal nanofiber ağına benzetmektedir. Ayrıca, nanoliflerin yüksek yüzey alanı, yüzeyin kimyasal işlevselleştirilmesine, verimli sıvı emilimine ve yara iyileşmesini artırabilen antimikrobiyaller veya büyüme faktörleri gibi kapsüllenmiş farmasötiklerin ilaç dağıtımına izin vermektedir. Yüksek etkili yüzey alanı ile birlikte küçük boşluklar, nanoliflerin hemostazı desteklemesini sağlamaktadır. Nanoliflerin yüksek yüzey gözenekliliği, yara boyunca gaz alışverişine izin vererek kurumayı ve dehidrasyonu önlemektedir. Ultra ince liflerden oluşan malzemeler, tıbbi yara malzeme tasarımında çok önemli olan karmaşık 3D malzemelere göre yaranın konturuna daha iyi uyum sağlayabilmektedir. Normal koşullardaki sağlıklı bir ciltte, kolajen fibril yapıları sepet dokulu bir yapı oluşturur ve bu nedenle elektro eğrilen nanofiberlerin özel düzenlemesi yara iyileşme sürecini etkilemektedir (Bombin vd., 2020).

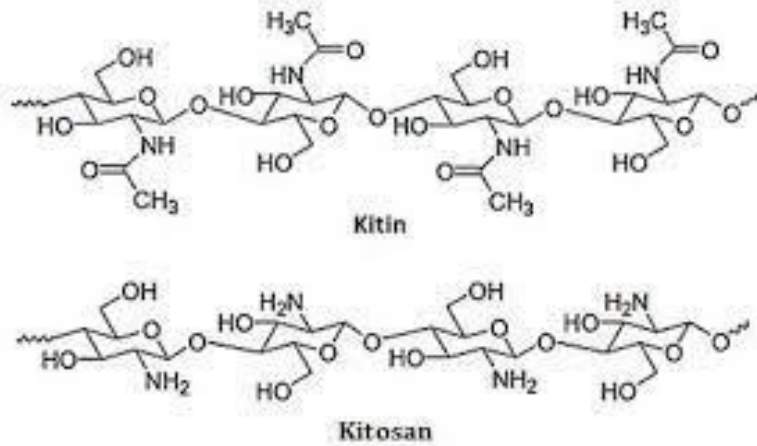
2.6 Yara Örtülerinde Sık Kullanılan Polimerler

Yapılan çalışmalar incelendiğinde antibakteriyel nanofiberleri üretmek için en çok kullanılan polimerler: PCL (polikaprolakton), PLA (polilaktik asit), PLGA (poli(laktik-ko-glikolik asit)), PVA (polivinil alkol) ve kitosandır. Çalışmalarda kullanılan polimerler toksik olmama, iyi mekanik özellikler gösterme, biyouyumluluk ve biyobozunurluk gibi doğal özelliklere sahiptir. Antibakteriyel nanofiberlerin üretiminde antibiyotikler, triklosan, klorheksidin, kuaterner

amonyum bileşikleri (QAC'ler), biguanidler, gümüş nanopartiküller ve metal oksit nanopartiküller gibi yaygın antibakteriyel malzemelerin kullanıldığı bildirilmektedir. Zhang ve ark. (2020), antimikrobiyal mat ve yüzeyi geliştirilmiş Raman saçılımı substratı olarak gümüş nanoparçacık gömülü ve elektro-eğirme ile üretilmiş polivinil alkol (PVA) nanofiberleri rapor etmişlerdir. Bu nanofiberler hem Gram-pozitif *Staphylococcus aureus* hem de Gram-negatif *Escherichia coli* mikroorganizmalarına karşı iyi antibakteriyel aktiviteler gösterdiği gözlemlenmiştir. Başka bir çalışma, elektro-eğirme yöntemi ve mikrodalga destekli prosesin konjugasyonu yoluyla poli (vinil alkol) (PVA) nanotel matlara yüklenmiş gümüş nanopartiküllerin (Ag NP'ler) üretimini göstermektedir (Nguyen vd., 2010). PVA yüklü Ag NP'lerin çeşitli düzeyde ışınlama sürelerinde antibakteriyel aktivitesi *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde test edilmiştir, bakterilerin gelişimlerinin engellemesinde etki ettiği gözlemlenmiştir. Başka bir çalışmada fotodinamik tedavinin antibiyotiklere ve metal bazlı ajanlara başka bir tercih olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Biyouyumlu özellik gösteren kitosan ve ikinci nesil bir fotona duyarlılaştırıcıdan oluşan bir elektro-eğrilmiş mat üretilmiştir (Severyukhina vd., 2017). Işığa duyarlılaştırıcının varlığından dolayı hazırlanan malzeme, *Staphylococcus aureus*'a karşı gösterilen ışığa bağlı ve bulunduğu ortamsal sınırlı antimikrobiyal aktivite sergilemektedir. Doğal kaynaklı fenolik grup kafeik asit (CA) içeren yeni poli(3-hidroksibütirat) (PHB)/poli(etilen glikol) (PEG) bazlı fiber yapıdaki malzemelerin üretilmesine odaklanan başka bir çalışmaya örnektir (Ignatova vd., 2016). Hedeflenen içeriğe sahip malzemeler, aljinat (Alg) bileşeni ek olarak *N, N,N* -trimetilkitosan (TMCh) polielektrolit kompleksi ile kaplanarak elde edilmektedir. Matların mikrobiyolojik değerlendirilmesi ve MTT hücre canlılığı çalışmaları, çıplak matların aksine CA içeren nano fiber materyallerin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'nin büyümesini inhibe etmede etkili olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Yüksel ve ark. bir antimikrobiyal peptit özellik gösteren magainin II bileşeninin (Mag II) PLGA ve PLGA/jelatin elektro-eğrilmiş fibröz yapıdaki membranlar üzerinde kovalent olarak immobilize edilebileceğini göstermiştir (Yüksel vd., 2014).

2.6.1 Kitosan (CS)

Kitosan belirli mantar türlerinde (*Mucoraceae*) bulunan lineer yapıda polimer çeşididir. Kimyasal olarak β -(1-4) glikosidik bağlar yoluyla bağlanan glukozamin ve N-asetilglukozamin monomerlerinden oluşmaktadır. Şekil 2.5’de Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı gösterilmektedir. Kitin polimerinin tamamen N-asetillenmiş yapısı, karides, ıstakoz ve yengeç ve kabuklu türlerin dış iskelet yapısından elde edilmektedir. Kitin kısmi olarak deasetillenerek, kitosan (CS) yapısını kimyasal olarak dönüştürülmektedir. Kitinin bir deasetilasyon formu olan kitosan, serbest amin grubunun asitle kolayca etkileşime girmesi sayesinde düşük pH’lı bir çözeltide çözünerek bir jel oluşturabilmektedir. CS'nin saf suda çözünürlük göstermemesi kozmetik sanayi, ilaç sanayi ve gıda endüstrisi gibi alanlarda kullanımını sınırlamaktadır. Bu özellikten dolayı CS'nin saf sudaki çözünürlüğü iyileştirilmelidir ve böyle bir konu birçok bilim insanının büyük ilgisini çekmektedir.

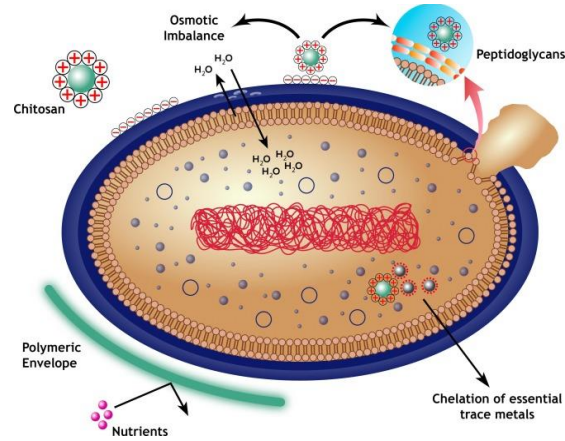


Şekil 2.5 Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı (Parlayıcı vd., 2018)

Kitin C-2 pozisyonunda bir hidroksil grubunun bir amino grubu ile yer değiştirmesi ile selülozdan farklıdır. Kitosan, üç farklı çeşitte nükleofilik fonksiyonel özellikte grup içermektedir: C-2 NH_2 grubu, C-3 ikincil OH grubu ve C-6 birincil OH grubu. Kitosan polimeri yapısında katyonik, hidrofilik ya da hidrofobik kısımları içeren çeşitli türevleri elde etmek amacıyla amino ve hidroksil gruplarında kimyasal olarak modifiye edilmiştir. Kitosanın antimikrobiyal ajan olarak önemi çeşitli çalışmalarda gözlemlenmiştir (No vd., 2002; Jeon vd, 2001). Polimerin

mikroorganizmaların büyümesini engelleme özelliği, sadece polimerin çözünebilir olduğu, pozitif yük taşıdığı asidik koşullarda gözlenir (No vd., 2002; Jung vd., 2010). Polimerin bu özelliğe sahip olması, kitosanın su bazlı çeşitli biyoaktivite ölçümlerinde kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle kitosanın türevlendirilmesi, özellikle kitosanın sulu ortamdaki çözünürlüğünü iyileştirmeyi ve aynı zamanda antimikrobiyal özelliklerini geliştirmeyi amaçlar. Yapılan bir çalışmada, 2 amino grubunun kuaternerleştirilmesi veya kuaterner amonyum veya katyonik grupların dahil edilmesi, kitosanın çözünürlüğünü ve antimikrobiyal aktivitesini geliştirdiği kanıtlanmıştır(Runarsson vd., 2007; Sahariah 2015).

Kitosan ve türevleri, mantarlara, bakterilere, algelere ve virüs gibi türlere karşı yüksek düzeyde bir antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Yapılan örnek çalışmalarda, CS'nin antibakteriyel aktivitesini açıklamak için gösterilen üç farklı mekanizma mevcuttur. Şekil 2.6'da olası üç mekanizma gösterilmiştir (Goy vd., 2009). En çok kabul gören mekanizma, CS antimikrobiyal aktivitesinin, pozitif yüklü kitosan grupları (glukozaminlerin amin grupları) ile bakteri hücre duvarında bulunan negatif yüklü gruplar (peptidoglikanlar gibi yüzey bileşenleri) arasında meydana gelen elektrostatik etkileşimlerden kaynaklandığını önermektedir (Arkoun vd., 2017). Elektrostatik etkileşim, hücre duvarı yapısının geçirgenliğini etkileyerek hücre içi ozmotik dengesizliklere neden olmaktadır, sonuç olarak bu durum mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek etki göstermektedir. Bunlara ek olarak elektrostatik etkileşimler, mikroorganizmaların hücre duvarındaki peptidoglikanların hidrolizini indükleyerek hücre içi elektrolitlerin sızmasına neden olmaktadır (Goy vd., 2009). Önerilen bir diğer mekanizma, bakterilerin etrafında hücreler arası değişimlerin ve besin emiliminin inhibisyonunda etki edecek polimer yapıda zarfın oluşumunu içermektedir (Arkoun vd., 2017). Öngörülen son mekanizma ise bakteri büyümesi için gerekli olan elzem metallerin ve elementlerin şelatlanmasını içermektedir. Bu mekanizmada CS'nin amino grupları, temel eser metallerle etkileşime girer ve böylece toksin yapıların ve mikrobiyal büyümenin üretimini engelleyecek şekilde etki göstermektedir (Goy vd., 2009; Arkoun vd., 2017). Bu spesifik özellikler kitosanın HidroKi®, Patch®, Chitopack®, Tegasorb® ve KytoCel® (Miguel vd., 2017) gibi ticari yara örtülerinin üretiminde kullanımını tetiklemiştir (Simões vd., 2018).



Şekil 2.6 Kitosanın antibakteriyel aktivitesini açıklamak için önerilen mekanizmaların gösterimi (Simões vd., 2018)

β -(1,4)-bağlı 2-amino-2-deoksi-D-glikozdan oluşan kitosan, nano boyutlardaki çalışmalarda yaygın olarak tercih edilen doğal polimerler arasındadır. Kitosanın nano boyuttaki partiküllerinin boyutu ve yüzey yükleri belirgin özelliklere ve polikasyonik yapısından kaynaklanan doğal antimikrobiyal aktiviteye sahiptir (Ignatova vd., 2013).

Kitosan nanopartikülleri, ilaç salım hızının kontrolü, ilacın terapötik etkinliğinin süresini ayarlama ve ilaçları vücuttaki belirli istenen bölgelere ulaştırma özelliklerine sahiptir. Aynı zamanda ilaç aktivitesini artıran doğal antifungal özellikler de sergiler (Salah vd., 2015). Ancak alkali ortamlarda çözünmezlik, alkali pH'ta çözünen ilaç grubu için kitosan uygulamalarının en büyük sınırlamalarından birisidir. Kitosan liflerinin düşük sıvı emme kapasitesine sahip olması ve doğal formunda sınırlı antibakteriyel aktivite sergilemesi, yaraya doğrudan uygulandığında etkili bir sonuç vermesini engellemektedir. Bu durumu iyileştirmek amacıyla, kitosan nanofiberlerin yüzey modifikasyonu üzerine çalışmalar yoğunlaşmış; kimyasal aşılama reaksiyonları veya katman katman fiziksel adsorpsiyon gibi farklı yöntemlerle nanofiberlerin geliştirilmesine yönelik araştırmalar başlatılmıştır (Ahmed vd., 2018). Bu yöntemlerden biri kuaternize kitosanın eldesidir, bu sayede kitosanın biyoyararlanımını artırmak hedeflenmektedir. Kuaternizasyon yöntemiyle üretilen kitosan türevleri, güçlü bakterisit özellikler ve yüksek sıvı emme kapasitesi sergilemektedir (Sajomsang vd., 2010). Kitosan ve kitosanın türevlerinin, epitel hücreleri arasındaki var olan

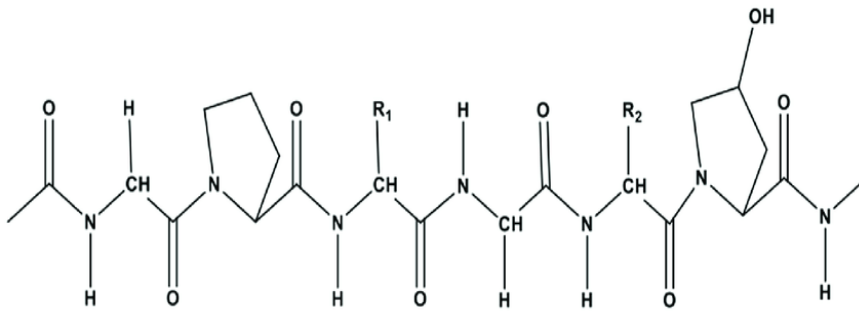
sıkı formdaki bağlantıları açarak etki sağladığı (Wang vd., 2020) ve bu özelliği sayesinde ilaç dağıtımında çeşitli avantajlar gösterdiği bildirilmektedir. Metillenmiş kitosan formu, kitosana göre nötr ve bazik ortamlarda çözünür özellik gösteren, nötr fiziksel pH'da iyi çözünürlük ve geçirgenliği artırma özelliği ile karakterize edilen kısmen kuaternize olmuş bir kitosan türevidir (Chen vd., 2021). Kuaternize kitosan nanopartikülleri, kitosan nano partiküllerine göre çok daha iyi absorpsiyon kapasitesi göstermiştir. Kuaterner amonyum kitosan fiberleri, sadece kitosan fiberleri özelliğini korumakla kalmayıp yara örtüsünde olması beklenen özellikleri karşılayan antimikrobiyal aktiviteyi de artırarak etki göstermektedir. Kuaternize formdaki kitosan fiberleri, yaraya nemli bir ortam sağlamak amacıyla yüksek sıvı emme kapasitesine sahip olmakla birlikte bu durum yarada fazla miktarda skar oluşumunu ve kronik klinik problemleri önleyerek yara iyileşme sürecini olumlu etkiler (Zhou vd., 2016).

Kitosan ve türevlerinden oluşan nanofiberlerin elde edilmesi yara bölgesinde etkinlik gösterecek etkili yeni nesil yara iyileştirme biyomalzemeleri, doku mühendisliği iskeleleri ve ilaç taşıma ve dağıtım sistemleri gibi çeşitli biyomedikal uygulamalar için antibakteriyel özellik gösterecek biyoyumlu elektro-eğrilmiş malzemelerin elde edilmesinde etken olabileceği bildirilmektedir (Ignatova vd., 2013). Kitosanın polielektrolit doğasından dolayı elektro eğirme yöntemiyle fiber üretimi oldukça zordur ancak nanofiber yapıların yüzey modifikasyonu yapılarak veya kitosan çözeltisine yapıyı destekleyecek polimerlerin eklenmesiyle (Kuntzel vd., 2018) üretimleri gerçekleştirilebilir.

2.6.2 Kollajen (Col)

Kollajen bağ dokunun ana yapısında bulunan bir proteindir. Kollajen biyo bozunur ve biyoyumludur. Kollajen kimyasal yapısı birbiri etrafında sarılı üç polimer zincirinden oluşmaktadır. Kollajeni oluşturan üç zincirden her bir zincir bin dört yüz amino asit uzunluğundadır, zincirler üç aminoasidin çeşitli tekrarlı yapısından oluşmaktadır. Yapısındaki bulunan içeride yer alan amino asit türü glisindir dışarıda bulunan amino asit türleri ise prolin ve hidroksprolin (Üner vd., 2021).

Kolajen ECM'nin biyolojik ve yapısal bütünlüğünü korunmasında önemli bir etkidir. Kolajen dokularda mekanik desteğe yardımcı olur ve vücutta en çok bulunan proteindir. Fiziksel olarak, kolajen iyi organize olmuş ağ ve benzeri doğal yapısı nedeniyle herhangi bir bileşen veya ilaç barındırabilir. Farmasötik olarak kolajen, doku iskelesine gözenekli bir yapı, biyouyumluluk, biyoabsorbe edilebilirlik ve geçirgenlik sunar. Bu sahip olduğu temel özellikler, ilacın kontrollü bir şekilde salımının sağlanmasına yardımcı olur. Kolajen, yara iyileşme hızını ve kalitesini iyileştirmek için bir doku iskelesinin fizikokimyasal özelliklerini değiştirerek etki gösterebilir. Sahip olduğu mükemmel özelliklere rağmen zayıf yapısal ve mekanik özellik sergilediğinden kolajenden yapılmış doku iskeleleri, oda sıcaklığında hızlı bir şekilde yapısını değiştirerek bozunur. Bu durum iskelenin, ilacın salım sürecindeki performansını etkiler. Bu olumsuz sınırlamaları aşmak için fiziksel veya kimyasal işlemlerle birçok çapraz bağlama stratejisi, kolajeni farklı bileşenler ve sistemlerle birleştirtirerek stabilizasyonu artırma gibi çeşitli özellikler sağlanmaya çalışılmaktadır (Sanapalli vd., 2022). Şimdiye kadar yara örtüsünde uygun biyomalzemelerin seçimi için kolajenin yara iyileşmesinin her aşamasındaki etkinlikleri iyi anlaşılmıştır. Kolajenin dahil edildiği yara örtülerinin başlıca uygulamaları arasında kolajen filmler, kolajen jeller ve kolajen süngerler yer almaktadır (Chen vd., 2008).

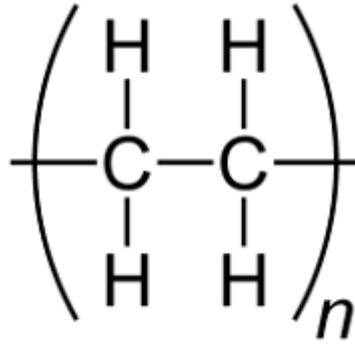


Şekil 2.7 Kolajen Tip I-Primer Amino Asit Dizisinin Kimyasal Yapısı (Senadheera vd., 2020)

2.6.3 Poli (etilen oksit)

Polietilen oksit (PEO), suda çözünebilen, biyouyumlu polimerdir. Şekil 2.8'de polietilen oksitin kimyasal yapısı gösterilmektedir. PEO kimyasal olarak stabil bir polimerdir. Ayrıca, düşük toksisiteye ve yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip

PEO nano lifleri, hücrelerin yapışmasını ve büyümesini destekleme kapasitesine sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı, PEO fiberleri biyomedikal, doku mühendisliği, elektronik, enerji depolama, hemostatik ajanlar, ve antibakteriyel ajanlar gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır.



Şekil 2.8 PEO'nun kimyasal yapısı (Sadeque vd., 2014)

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda PEO hidrojellerinin etkinliği, iyileştirilmiş bir yara olarak hayvan vücutları üzerinde kanıtlanmıştır (Hayranto vd., 2013). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda polimerlerin çoğu antimikrobiyal işlevsellik göstermektedirler. Polimer tek başına değilde diğer polimerler veya nanopartiküller ile konjuge edilerek istenilen özellikte polimerlere dönüşebilirler. Benzer şekilde, antimikrobiyal özelliğe sahip olmayan doğal bir polimer olan kitosanın yapıca kararlılığı fazladır. Kitosan başka bir polimer olan PEO ile birlikte konjuge edildiğinde bakteriyel enfeksiyonları inhibe etmek için yüksek yapı iskelelerini indükleyebilmektedir (Avcı vd., 2013).

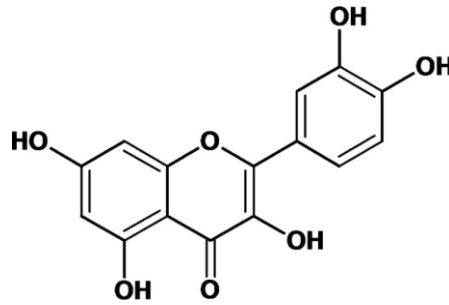
2.7 Yara Örtülerinde Kullanılan Biyoaktif Bileşenler

Dünya nüfusunun %80'inden fazlasının ciltle ilgili sorunu olduğu ve hastalıkların tedavisi için doğal kökenli ilaçlara bağımlı olduğu görülmektedir. Sentetik ilaçların kullanımı sonucu çoğunda ilaç direnci, hastada alerjik durum ve diğer yan etkiler gibi sorunlarla karşılaşmaktadır. Sentetik ilaçların sahip olduğu dezavantajlar bilim adamlarını alternatif ilaçlar aramaya sevk etmektedir. Bir yaranın doğal iyileşme sürecinde; yaranın dezenfeksiyonu, debridmanı ve nemli bir ortam koşullarının sağlanması gerekmektedir. Bir yaranın iyileşmesi için doğal iyileşme sürecini etkileyerek yavaşlatacak ya da engelleyecek tüm etkenlerin ortadan

kaldırılması gerekmektedir. Bitki içeren terapi türlerinde sadece yara iyileşme sürecini hızlandırmakla kalmayıp, ek olarak yara estetiği de doğal bir şekilde korumaktadır. Günümüzde yara iyileştirme süreçlerinde kullanılan ilaçların %70'inden fazlası bitkilerden, %20'si mineral bazlı ürün ve geri kalan kısmı hayvansal kaynaklı ürünlerden elde edilmektedir. Bitki kaynaklı materyaller ilk yardım-antiseptik pıhtılaştırıcılar ve yara temizleyici olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, tüm dünyada bitki araştırmalarına ilgi artmıştır ve çeşitli geleneksel yöntemlerde kullanılan şifalı bitkilerin etki ve potansiyelini göstermek için çalışmalar yapılmaktadır. 2003 yılında Biswas ve Mukarje'ye göre 13.000'den fazla bitki incelenmiştir. Kuersetin molekülü de bitkisel kaynaklı önemli bir flavonoid olarak öne çıkmaktadır ve kuersetinin güçlü anti-inflamatuar ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu bildirilmektedir (Ahmed vd., 2018).

2.7.1 Kuersetin (q)

Kuersetin, 3-, 3'-, 4'-, 5- ve 7-pozisyonlarına yerleştirilmiş beş hidroksi grubuna sahip bir penta hidroksiflavondur. Şekil 2.9'da kuersetin molekülünün kimyasal yapısı (3,3',4',5,7-pentahidroksilflavon) gösterilmektedir. Yenilebilir sebzelerin, meyvelerin ve şarabın en fazla içerdiği flavonoidlerden biridir. Antibakteriyel antioksidan, protein kinaz inhibisyonu, antineoplastik ajan, bir ribosildihidronikotinamid dehidrogenaz kinon inhibisyonu, fitoöstrojen, radikal temizleyici, şelatör, gibi çeşitleri özelliklere sahiptir.



Şekil 2.9 Kuersetinin kimyasal yapısı (3,3',4',5,7-pentahidroksilflavon) (Derman vd., 2020)

Önemli antioksidanlardan (diyet antioksidan) biridir. Bunun başlıca nedeni, fenolik bileşiklerin serbest radikal türleri ile reaktivitesinin, önemli ölçüde daha az reaktif olan fenoksi radikalleri oluşturmasıdır. Osteoporoz, kanser, pulmoner dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda yararlı sağlık etkileri gösterdiği gösterilmiştir. Yapılan

çalışmalarda kuersetinin antiinflamatuvar özellik gösterdiği kanıtlanmıştır. Deneysel hayvan modellerinde var olan inflamasyonun hem akut hem de kronik fazlarını inhibe edebildiği kanıtlanmıştır (Liu vd., 2005). Oksidatif stres ve inflamasyon, yara oluşumu ve yara iyileşme sürecini etkileyen iki ana unsurlardandır. Kuersetinin sahip olduğu hem antioksidasyon hem de antiinflamatuvar özellikler ile yara iyileşme sürecine fayda sağlamak için terapötik bir aday olarak çalışmalarda kullanılmaktadır (Yin vd, 2018). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada kuersetinin sıčanlarda kutanöz yara modelindeki terapötik potansiyelini göstermektedir (Vinay vd., 2017). Yapısında kuersetin bulunduran kollajen matrisi, dermal yara iyileşmesi için yeni bir pansuman malzemesi olarak çalışılmıştır (Gomathi vd., 2003). Kuersetinin epitel hücrelerine ek olarak fibroblastların anjiyojenezini ve çoğalmasını uyardığı bulunmuştur (Gopalakrishnan ve diğerleri, 2016). Yapılan çalışmalarda kuersetin sınırlı yara iyileştirme potansiyelini göstermiştir (Koochpayma ve ark., 2015). Kuersetinin terapötik kullanımıyla ilgili başlıca problemler, düşük suda çözünürlüğu (Frenzel ve Steffen-Heins, 2015) ve zayıf deri penetrasyonudur (Bose ve diğerleri, 2013). Bu faktörler, kuersetinin yara iyileştirme tedavilerinde potansiyel kullanımını sınırlar.

MATERYAL VE YÖNTEMLER

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal malzemeler ve bilgileri Tablo 3.1’de verilmiştir.

3.1 Kimyasal Malzemeler

Tablo 3.1 Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal malzemeler ve bilgileri

Kimyasal	Cas No/Marka	Ozellik
Düşük moleküler ağırlıklı kitosan (CS)	9012-76-4/Sigma	%75–85 deasetillenmiş, 50–190 KDa
Glisidil trimetil amonyum klorür (GTMAC)	3033-77-0/Sigma	151.63 Mw, Teknik kalite, saflık \geq 90%
Aseton	67-64-1/Lab Chem	-
Asetik asit	151785/Sigma	-
Kuersetin (Q/q)	117-39-5/Sigma	MW 302.24
Askorbik asit	50-81-7/Sigma	Mw 176,12 g/mol
H ₂ O ₂	7722-84-1/Sigma	-
Tip1 Kolajen (Col)	5162/Sigma	-
PEO	25322-68-3/Sigma	Mw 600.000 g/mol
Amfoterisin B (AmB)	1397-89-3	Mw 924,08 g/mol
PBS	32129211/Sigma	Steril filtreli ve hücre kültürüne uygun
Folin-ciocalteu reaktifi	56718-71-9/Sigma	-
Etanol	64-17-5	Mw 46.07 g/mol
Na ₂ CO ₃	497-19-8	Mw 105.98 g/mol
DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)	1898-66-4	Mw 394.32g/mol
Askorbik asit	50-81-7	Mw 176.12 g/mol
Tween %1	146614 /Millipore	-

3.2 Cihaz Listesi

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ve bilgileri tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2 Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ve bilgileri

Cihaz	Marka/Model	Kullanım Amacı
Vakumlu etüv	Binder	Numune kurutma
Terazi	Precisa XB220A	Kütle ölçümü
Manyetik karıştırıcı	Heidolph MR300	Reaktantları çözücüsünde çözündürmek
Vortex	Heidolph Reax Top	Kimyasal karıştırma
Etüv	Binder	Isıtma, kurutma
Ultrasonik Su Banyosu	Bandelin	Numuneyi çalkalamak
Su saflaştırma cihazı	Millipore Elix ve Mili Q	İyonlarından uzaklaştırılmış su elde etmek
Santrifüj cihazı	Rotina 300	Reaksiyona girmemiş analitleri uzaklaştırmak
Liyofilizatör	Telstar Cryodos	Dondurarak kurutma
Electro-eğirme cihazı	Nanofen	Elektro-eğirme ilenanofiber üretmek
Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	Shimadzu Ir-Prestige	Kimyasal yapı tayini
H-NMR Spektroskopisi	500 MHz NMR	Demetilasyon derecesinin (DDM) ve kuaternizasyon derecesinin (DQ) belirlenmesi
Uv-Vis (Görünür bölge Spektroskopisi)	Shimadzu UV-1700 PharmaSpec UV Visible Spectrometry	Fonksiyonel grupların tanımlanması
XRD (x-ışını kırınım cihazı)	X’pert pro	Kristalografik yapı tayini
SEM (Scanning Electron Microscope)	Zeiss evo® ls10	Yapı morfolojisinin ve fiber çaplarının incelenmesi
Temas Açısı Ölçüm Cihazı	Drop Shape Analyzer	Temas açısı ölçümü
Çekme dayanım cihazı	Instron 5982	Çekme dayanım testi

3.3 Deneysel yöntem

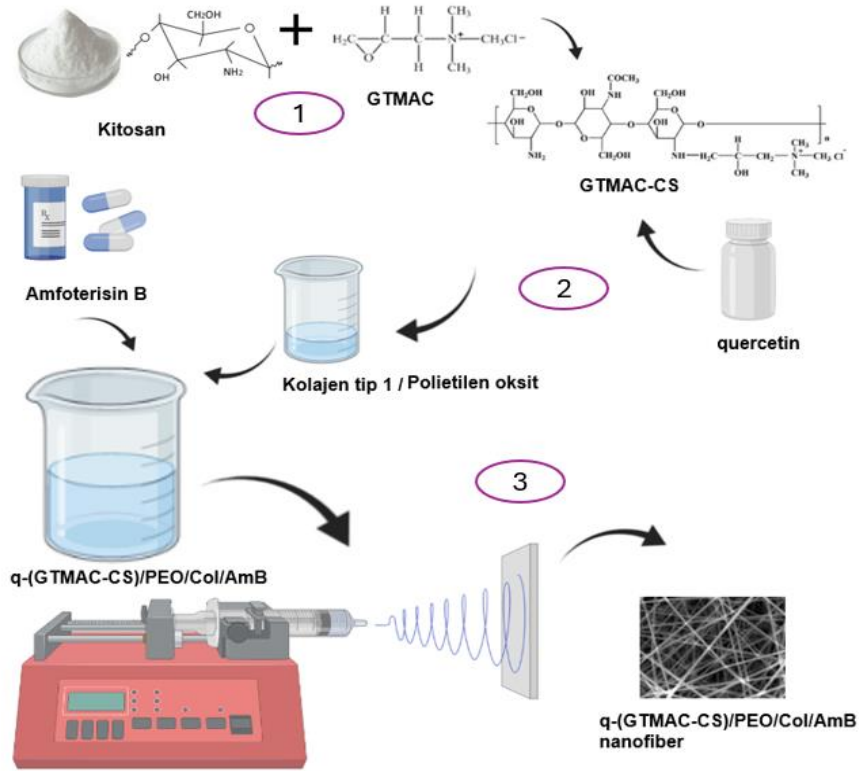
Bu çalışmada, Leishmaniasis ve sekonder enfeksiyonu olan kandidiyazisin tedavisinde kullanılmak üzere; sekonder metabolit olan kuersetin ve antifungal bir ilaç olan AmB ile yüklü q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB içerikli; yara iyileşmesinin hızlanmasını, hücrelerin büyümesini ve proliferasyonunu arttıran yara örtü malzemesinin üretimi amaçlanmıştır. Tez hedeflerine ulaşmak için uygulanacak olan metod üç iş paketinden oluşmaktadır.

1.İş paketi: GTMAC-CS Sentezi

2.İş paketi: Serbest Radikal Konjugasyon: q-(GTMAC-CS)'nin Hazırlanması

3.İş paketi: q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB İskelesinin Üretimi

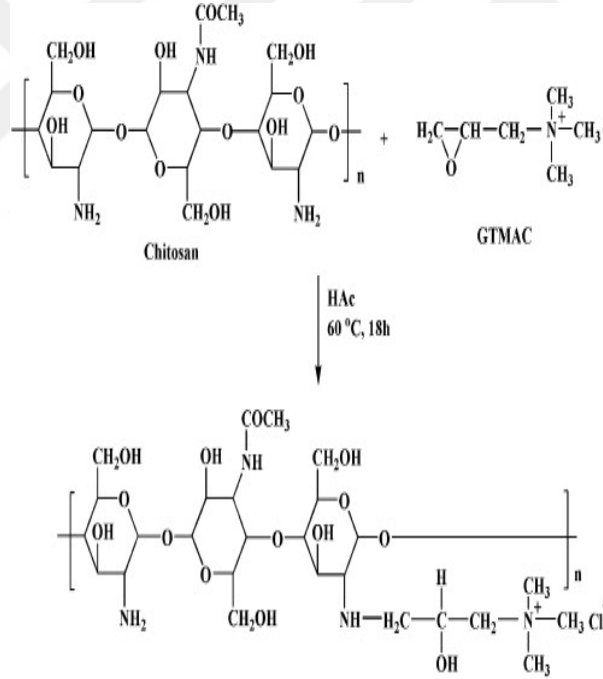
Tez çalışması kapsamında yapılacak olan aşamalar Şekil 3.1'de şematik olarak gösterilmektedir.



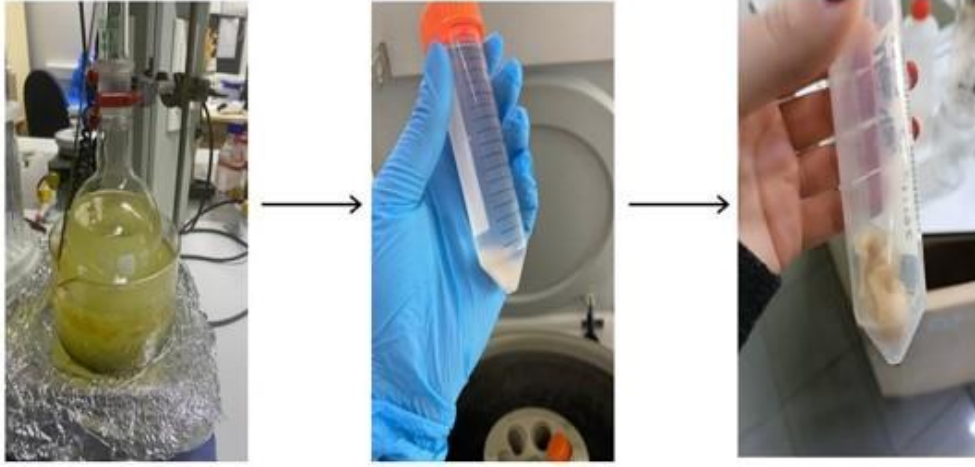
Şekil 3.1 Tez çalışmasında uygulanacak olan deneysel işlemlerin şematik gösterimi

3.3.1 Kitosanın Kuaternizasyonu

GTMAC-CS sentezi için, çözücü olarak %2'lik asetik asit içeren deiyonize su kullanılarak bir kitosan çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltide, kitosan ile glisidil trimetil amonyum klorür (GTMAC) arasındaki reaksiyonla GTMAC-CS elde edildi (Şekil 3.2). 1 g kitosan, %2 asetik asit eklenmiş 38.2 mL deiyonize suda çözülerek homojen bir çözeltisi elde edildi. Ardından, 5.52 mL GTMAC, azot gazı altında 15 dakika boyunca CS çözeltisine enjekte edildi. Reaksiyon, 50 °C'de 18 saat süreyle sürdürüldü. Ürünün çökmesini sağlamak için reaksiyon çözeltisi, soğuk aseton içerisine döküldü ve 10 dakika boyunca 10 °C'de 6000 rpm'de santrifüj işlemi yapıldı. Reaksiyona girmeyen GTMAC'ın uzaklaştırılması için metanol ile yıkama işlemi uygulandı ve son olarak örnek vakumlu etüvde kurutuldu. Şekil 3.3'te, GTMAC-CS reaksiyonunun aşamaları fotoğraflarla gösterilmektedir



Şekil 3.2 GTMAC-CS Reaksiyonu



Şekil 3.3 TMAC-CS Reaksiyonuna ait süreç

3.3.2 Serbest Radikal Konjugasyon: q-(GTMAC-CS)'nin Hazırlanması

q-(GTMAC-CS) sentezi, daha önce yayımlanan bir protokol doğrultusunda gerçekleştirilmiştir (Diao ve ark., 2020). İlk adımda, 1 g GTMAC-CS, 50 mL asetik asit/su çözeltisinde (1 M) tamamen çözündürülmüş, ardından karıştırılarak 45 mL etanol yavaşça eklenmiştir. 0,108 g askorbik asit içeren 2 mL H₂O₂ çözeltisi (1 M) bu karışıma ilave edilmiştir. Reaksiyon çözeltisi 30 dakika boyunca 20 °C'de tutulduktan sonra, q:(GTMAC-CS) molar oranı 0,05:1 olacak şekilde, etanolde çözündürülmüş 5 mL kuersetin (q) çözeltisi eklenmiştir. Karışım, karanlık bir ortamda 20 °C'de 24 saat süreyle reaksiyona girmiştir. Ardından, diyaliz torbası (MWCO 8-10 kDa) içinde 48 saat boyunca distile su ile sekiz su değişimi yapılarak diyaliz edilmiştir. Reaksiyona girmemiş kuersetin ve diğer bileşenler, 8000 g hızda 15 dakika santrifüj işlemi ile uzaklaştırılmıştır. Son adımda, q-(GTMAC-CS) elde etmek için numune çözeltisi liyofilizatörde dondurularak kurutulmuştur. Şekil 3.4'te, q-(GTMAC-CS) hazırlanma aşamaları, diyaliz ve liyofilizasyon süreçleriyle gösterilmektedir.



Şekil 3.4 q-(GTMAC-CS)'nin hazırlanmasına ait diyaliz ve liyofilizatörde kurutma süreci

3.3.3 q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB İskelesinin Üretimi

Elektro-eğirme işlemi daha önce yayınlanmış protokol izlenerek gerçekleştirildi (Jirofti vd., 2021). q-(GTMAC-CS)/PEO çözeltisi, q-(GTMAC-CS) ve PEO polimerlerinin her birinden 0,5 g (%2,0 w/v) olacak şekilde 25 mL sulu asetik asit (%10) içinde oda sıcaklığında 12 saat boyunca karıştırılarak hazırlandı. Ardından çözeltiliye yavaş yavaş 0,10 g Col ilave edilip 5 saat karıştırıldı. Elde edilen çözelti daha sonra elektro-eğirme işleminden önce sonikasyona tabi tutuldu (Sekhar vd., 2011; Souza vd., 2018). Deney optimizasyonunu sağlamak için çeşitli parametrelerde değişiklik yapılarak ilerlenmiştir. Tablo 3.3'de elektro-eğirme optimizasyon sürecine ait örnek çalışmalar gösterilmiştir. Voltaj miktarı, akım, toplayıcı plaka mesafesi ve çözelti akış hızı değiştirilerek plaka üzerinde damlacık veya boncuk oluşmayan homojen bir yapı elde edilene kadar işlemler tekrarlanmıştır. Öncelikle toplayıcı plakanın üzeri alüminyum folyo ile kaplandı ve eksi uçlu elektrot plakaya tutturulmuştur. Polimer çözeltisi, 18–23-gauge değerleri aralığına sahip iğne ucu ile plastik şırıngaya (5-10 mL) yüklendi. Enjektöre doldurulan çözelti pompa kısmına ve elektrodun diğer ucu metal şırınga ucuna takıldı. Böylelikle zıt yüklü elektrotlarla bir elektriksel çekim alanı oluşturulmuştur. Deneyler öncelikle 10 cm toplayıcı plaka mesafesinde ve 16,67 mL/dk hızında başlamıştır. Bu parametrelerde voltaj 18-26 kV'a gelinceye kadar yavaş yavaş artırılmıştır. İlk atımlar damlacık oluşturmuş, akım arttıkça damlacıktan partikül

şeklinde atımlar gerçekleştirilmiştir. Taylor konisi oluşumu yaklaşık 20 kV'dan itibaren oluşmaya başlamıştır. Elektro eğirme işlemi alüminyum folyo ile kaplanmış silindir toplayıcı üzerinde 6-10 saat gerçekleştirildi. Elde edilen ürünlerin ilk aşamada partikül mü yoksa lif mi oluşturduğunu kontrol etmek için optik mikroskoptan faydalanılmıştır. Ardından elde edilen iskeleye suda çözdürülen Amb çözeltisi sprey yardımıyla püskürtülmüştür.

Tablo 3.3 Elektro-eğirme optimizasyon sürecine ait örnek çalışmalar

Polimer Konsantrasyonu	Akış hızı/Mesafe/Volt aj Değeri/Gauge	Sonuç
%2.5 PEO (w/v), %2.5 Kitosan ve Gtmac-Cs (w/v), %10 asetik asit çözeltisi içinde ayrı ayrı çözündürülüp karıştırıldı ve 1:1 oranında eklenip, karıştırıldı	1.0 mL/saat ve 1.2 mL/saat, 12-17 cm, 18-20 kw, 23 Gauge	Çözelti viskozitesi Sorunu: Çözeltinin akışkanlığı fiber elde etmek için yetersiz, bu durumda kullanılan enjektörün ucundaki iğnede tıkanma gibi problemlere yol açabilir. Bu tıkanma sonucu fiber üretimi gerçekleştirilememiş olabilir. Spin gerçekleştirilen kabinin sıcaklığı ve sahip olduğu nem durumu elektro-eğirme işleminin fiziksel koşullarını engelleyici etki göstermiş olabilir.
%2.5 PEO (w/v), %2.5 Kitosan ve q-Gtmac-Cs (w/v), %10 asetik asit çözeltisi içinde ayrı ayrı çözündürülüp karıştırıldı ve 1:1 oranında birleştirildi. Kuercetin tozu polimer çözeltisine doğrudan polimer ağırlığına göre %1 w/w konsantrasyonunda eklendi.	1.0 mL/saat ve 1.2 mL/saat, 12-15 cm, 18-26 kw, 16-21 Gauge	Damlama Sorunu :Elektro-eğirme başlangıcında atış yapılabilmiş ancak sonrasında fiber üretimi sağlanamamış, damlama sorunu meydana gelmiştir. Çözelti viskozitesinin uygun olmaması, uygulanan voltajın ve belirlenen akış hızının uygun olmaması gibi nedenlerden dolayı damlama meydana gelmiş olabileceği düşünüldü. Polimer solüsyonuna, referans alınan çalışmada belirtilen oran ile kuercetin ekleme yapıldığında kuercetin bileşenin solüsyon içinde tam çözünmemiş

Tablo 3.4 Elektro-eğirme optimizasyon sürecine ait örnek çalışmalar (devamı)

Polimer Konsantrasyonu	Akış hızı/Mesafe/Voltaj Değeri/Gauge	Sonuç
		olabileceği beraberinde damlamaya sebebiyet verdiği sonucuna varıldı.
%2 PEO (w/v), %2 Kitosan ve Gtmac-Cs (w/v), %10 asetik asit çözeltisi içinde ayrı ayrı çözündürülüp karıştırıldı ve 1:1 oranında eklendi,bu çözeltiye quercetin %100 Asetik asit ile çözdürülüp karıştırıldı.	1.0 mL/saat, 12-14 cm, 18-23 kw, 16-23 Gauge	Bu optimizasyon sürecinde % 2.5'luk hazırlanan çözelti ile yaşanan viskozite sorunu sonrası polimer çözelti konsantrasyonu %2 olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu çözelti ile taylor konisi oluşumu gözlemlenmiş ve eğirme damlama sorunu olmadan atılabilmektedir. Bu değişikliklere ek olarak quercetin polifenol yapısının toz hali polimer çözeltisine direkt olarak değilde çözücüsü olan %100 Asetik asit ile çözdürüldükten sonra polimer çözeltisine ilave edilmiştir. Ayrıca iğne ucu değiştirilerek gauge denemeleri yapılmıştır. Bu parametrelerde yapılan değişiklikler elektro-eğirme sürecini olumlu yönde etki ederek fiberin oluşumu sağlanmıştır.

3.3.4 Karakterizasyon

FTIR Spektroskopisi

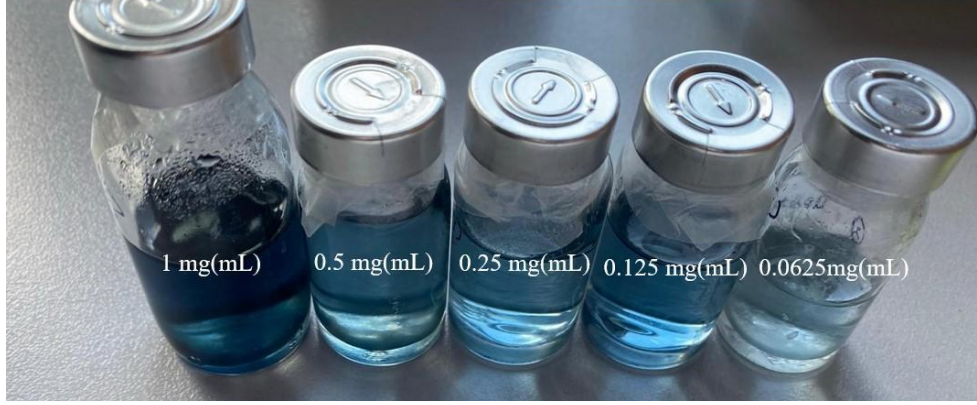
CS, GTMAC-CS ve q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB kimyasal yapıları fourier transform kızılötesi spektroskopisi [(FTIR), (Shimadzu ır-prestige)] ile karakterize edildi. 400-4000 cm^{-1} aralığında okuma yapıldı. q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB nanofiber yapılı iskelenin kimyasal bağ analizi için 650-4000 cm^{-1} spektrum aralığında okuma yapıldı (Lamei ve Hasanzadeh, 2022).

NMR Spektroskopisi

GTMAC-CS için demetilasyon derecesinin (DDM) ve kuaternizasyon derecesinin (DQ) belirlenmesi için NMR spektroskopisi kullanılarak ¹H-NMR spektrumları alınmıştır.

Fenolik İçeriğin Belirlenmesi

q-(GTMAC-CS)'nin fenolik içeriği ve q-(GTMAC-CS)'deki kuersetin eşdeğer içeriği, folin ciocalteu analizi ile değerlendirildi (Chatterjee vd., 2015). q-(GTMAC-CS)'nin toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi için distile su ile %10'luk Na₂CO₃ çözeltisi ve fenol reaktifi hazırlandı. Gallik asit kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Farklı konsantrasyonlarda (1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,03125 mg/mL) gallik asit çözeltisi metanol ile hazırlandı. Hazırlanan her konsantrasyondaki çözeltilerden 50 µL alındı. Her konsantrasyondaki çözeltilere 680 µL distile su, 400 µL Na₂CO₃ çözeltisi ve 400 µL folin ciocalteu ilave edilip 2 saat beklendi. İnkübasyon süreci tamamlandıktan sonra 760 nm'de UV-Vis spektroskopisi ile analiz edilerek absorbans ölçümü yapıldı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asite ait absorbans değerleri kullanılarak gallik asite ait kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Kalibrasyon grafiğinden eğri denklemi elde edildi. q-(GTMAC-CS)'in distile su ile 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL olmak üzere farklı konsantrasyonları hazırlandı. Gallik asit çözeltilerinden her bir konsantrasyondan 50 µL alınarak, üzerine 680 µL saf su, 400 µL Na₂CO₃ çözeltisi ve 400 µL fenol reaktifi eklendi. Karışım, 2 saat inkübe edildikten sonra 760 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometresi ile absorbans değerleri ölçüldü. Ölçülen absorbans değerleri, gallik asit kalibrasyon denklemine yerleştirilerek q-(GTMAC-CS) için gallik asit eşdeğeri toplam fenolik madde miktarları belirlendi. Şekil 3.5'te, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileri gösterilmektedir.



Şekil 3.5 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileri

Ayrıca, q-(GTMAC-CS)'nin kimyasal yapısı, UV-Vis spektroskopisi ve FTIR spektroskopisi ile karakterize edildi. q-(GTMAC-CS)'nin X-ışını kırınım paterni 2θ 5°–80° aralığında ölçüldü.

Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi

q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB nanofiber yapılı iskelenin morfolojisi ve fiber çapları SEM (Zeiss evo® ls10) ile analiz edildi. Ortalama fiber çapları rastgele seçilen 30 fiberin ortalaması alınarak hesaplandı (Wongkanya vd., 2017).

Temas Açısı Ölçümü

Nanofiber yüzeyinin hidrofilitik özelliği, membran yüzeyine bırakılan sabit bir su damlası ile yüzey arasındaki temas açısının ölçülmesiyle analiz edilmiştir. Temas açısı ölçümleri için nanofiber yüzeyine mikro şırınga kullanılarak 2 µL su damlatılmış ve Drop Shape Analyzer cihazıyla damlanın statik görüntüsü kaydedilmiştir. Farklı bölgelerden alınan üç ölçümün ortalama değeri, ilgili nanofiber iskelenin temas açısı olarak kabul edilmiştir (Ajmal ve ark., 2019).

Antioksidan Aktivite Tayini (DPPH)

Nanoliflerin DPPH radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi amacıyla, 2 mL q-(GTMAC-CS) çözeltisi ile etanolde hazırlanmış 2 mL DPPH çözeltisi (0,1 mM) birleştirildi. Karışım, ışığa maruz kalmadan 30 dakika boyunca bekletildikten sonra, 517 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapıldı. DPPH radikal süpürme aktivitesi, aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı. A_s ve A_o sırasıyla numunenin

(q-(GTMAC-CS)) ve kör örneğin (PBS) absorbansını ifade etmektedir (Shizarı vd., 2021).

Radikal süpürme aktivitesi (%): $[(A_0 - A_s) / A_0] * 100$



Bu çalışmada, Leishmaniasis ve sekonder kandidiyazis enfeksiyonlarının tedavisi için sekonder metabolit kuersetin ve antifungal ilaç AmB ile yüklenmiş q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB içeren nanofiber tabanlı yara örtüsünün üretimi ve karakterizasyonu yapılmıştır. Çalışma, üç ana aşamadan oluşmaktadır:

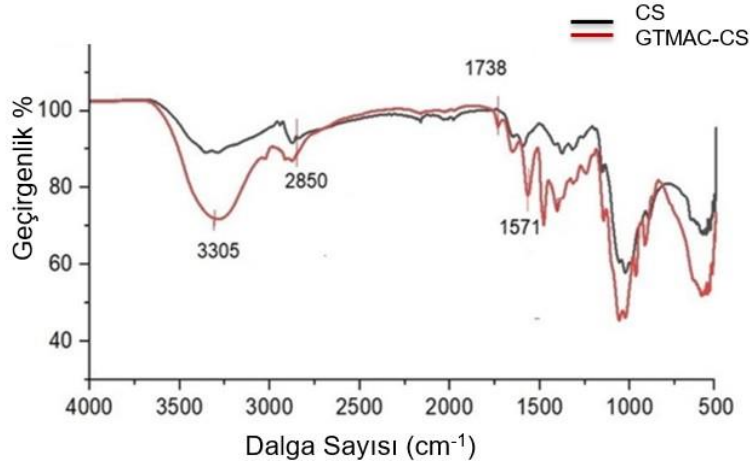
1. GTMAC-CS Sentezi
2. Serbest Radikal Konjugasyonu: q-(GTMAC-CS)'nin Hazırlanması
3. q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB İskelesinin Üretimi

Yukarıda belirtilen çalışma basamaklarında gerçekleştirilen karakterizasyon sonucunda elde edilen veriler aşağıda sunulmaktadır.

4.1 Kitosanın Kuaternizasyonu

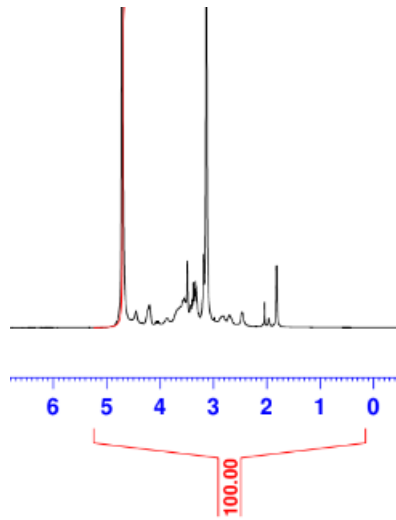
4.1.1 GTMAC-CS Sentezi

Bu çalışmada kitosan, suda iyi bir çözünürlük elde etmek için glisidil trimetil amonyum klorür (GTMAC) ile modifiye edilmiştir. GTMAC-CS sentezini doğrulamak için gerçekleştirilen FTIR analizi sonucu elde edilen spectrum Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Spektrum, GTMAC-CS'ye ait C-N-C esneme titreşimine karşılık gelen, 1571 cm^{-1} 'de güçlü absorpsiyonu içermektedir. Kitin segmentinden amid grubunun 1738 cm^{-1} 'de meydana gelen C=O titreşimi, hem CS hem de GTMAC-CS polimerleri için aynı olması gereken değişmeyen bir tepe noktası olarak kabul edilmektedir. 2850 cm^{-1} merkezli absorpsiyon, CH_2 veya CH_3 gruplarının C-H titreşimine ait bandını temsil etmektedir. Son olarak, 3305 cm^{-1} 'de ortalanan geniş bir tepe noktası, O-H titreşimini ve N-H titreşimini temsil etmektedir.



Şekil 4.1 CS ve GTMAC-CS 'ye ait FTIR spektrumları

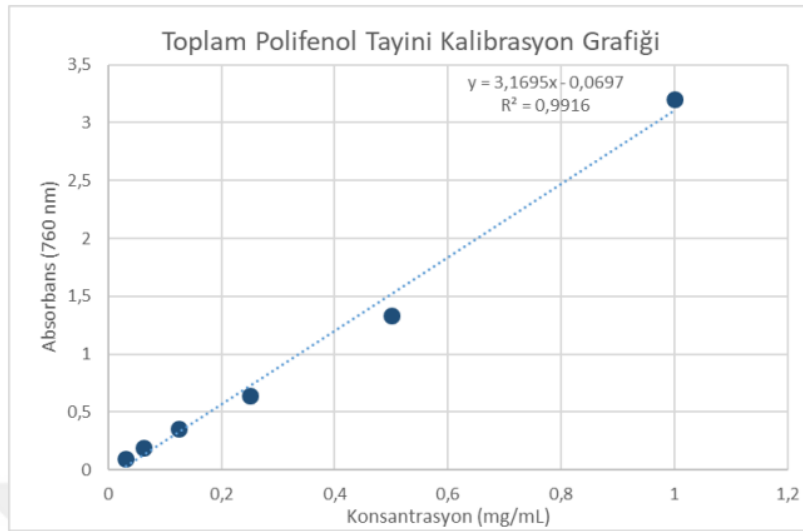
NMR analizi, GTMAC-CS için demetilasyon derecesinin (DDM) ve kuaternizasyon derecesinin belirlenmesi için gerçekleştirilmiştir. GTMAC-CS'ye ait ¹H-NMR spektrumu Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Spektrumda $\delta = 3.12$ ppm'deki pikler N(CH₃)₃ ve -N-CH₂- gruplarının varlığını göstermektedir. NMR analiz sonuçlarına göre, bağlanan grupların toplam GTMAC-CS segmentlerine olan mol oranı yaklaşık %93 olarak belirlenmiştir. Kuaternizasyon işlemi sonrasında yapılan NMR analizinde, ilgili gruba ait ¹H-NMR spektrumunda karakteristik bir bandın görülmesi ve bağlanma oranının %93 olarak hesaplanması, kuaternizasyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini doğrulamaktadır.



Şekil 4. 2 CS, GTMAC-CS 'ye ait H-NMR Spektrumu

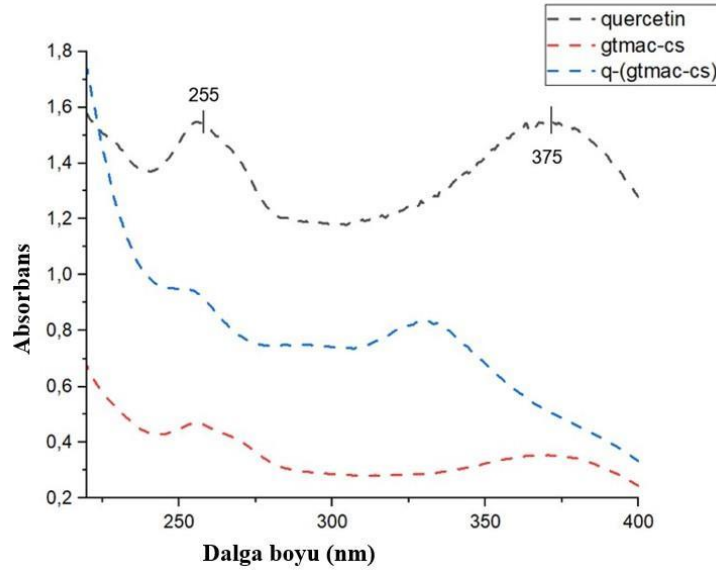
4.2 Serbest Radikal Konjugasyonu: q-(GTMAC-CS)'nin Hazırlanması

q-(GTMAC-CS)'nin fenolik içeriği, yani q-(GTMAC-CS)'deki q eşdeğer içeriği, folin–ciocalteu prosedürü ile değerlendirilmiştir. Fenolik bileşikler bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayırıcını indirgeyip oksitlenmiş forma dönüşerek maddenin fenol içerik oranına göre mavi renk oluşturmaktadır. Oluşan kompleksin absorbansı fenolik maddelerin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Fenolik içerik belirlemek için 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL olmak üzere farklı konsantrasyonlarda q-(GTMAC-CS) çözeltileri hazırlandı. 760 nm'de UV-Vis spektrofotometre ile bileşenin absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen absorbans sonuçları gallik asit ile elde edilen kalibrasyon denkleminde yerine konuldu. Şekil 4.3'te standart gallik asit kalibrasyon eğrisi gösterilmektedir. 0,5 mg/mL konsantrasyondaki çözelti 0.568 absorbans değeri, 1 mg/mL konsantrasyondaki çözültide ise 0.989 absorbans değeri elde edildi. q-(GTMAC-CS)'in gallik asit karşılığı toplam fenolik madde miktarları hesaplandı. Absorbans değerleri kullanılarak standart gallik asit kalibrasyon denkleminde 0,5 mg/mL için 0.201, 1 mg/mL için 0,334 değerleri elde edildi. Elde edilen sonuçlara göre ekstraktın 1 gramındaki gallik asit eşdeğer miktarı (mg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri) /g q-(GTMAC-CS)) fenolik madde miktarı 20 mg olarak hesaplandı.



Şekil 4.3 Standart Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi

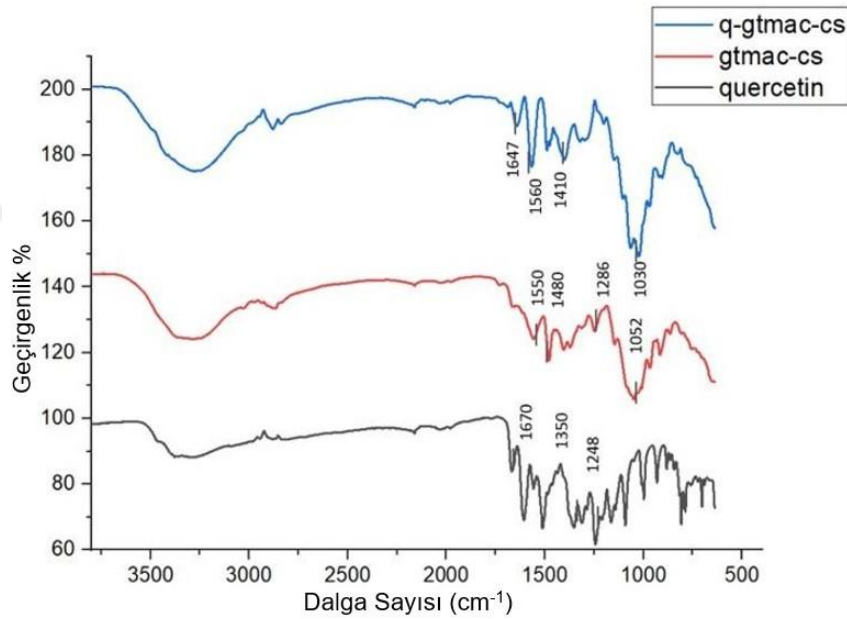
Polifenoller 200-500 nm dalgaboyu aralığında UV-Vis absorpsiyonuna sahip bir veya daha fazla aromatik halkaya sahiptir. Şekil 4.4’de kuersetin, GTMAC-CS, q-(GTAMAC-CS) yapılarına ait UV-Vis spektrumları gösterilmektedir. Burada kuersetin sırasıyla 255 nm ve 375 nm’de iki tipik tepe noktası göstermektedir. Konjugasyondan sonra q-(GTMAC-CS)’nin başarılı sentezini gösteren, q’nun ilk halkasına atfedilebilen 375 nm merkezli geniş bir tepe noktası göstermektedir. Benzer bir gözlem, enzimatik bir yöntemle q-modifiye CS’nin 300 nm’de tipik bir bant gösterdiği önceki bir çalışmada (Torres vd., 2012) bulunmuştur. Ek olarak, q’nun ikinci halkası için bant, q-(GTMAC-CS) spektrumunda görünmüyordu, bu da ikinci halkasının GTMAC-CS ile aşılama dahil olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, polifenollerin aşılama pozisyonu bugüne kadar belirsizliğini halen korumaktadır (Hu ve Luo 2016). Polifenollerin tam aşılama pozisyonunu göstermek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.



Şekil 4.4 q, GTMAC-CS ve q-(GTAMAC-CS) yapılarına ait UV-Vis spektrumları

FTIR spektrumu, polifenol kitosan konjugatlarının oluşumunu doğrulamak için sıklıkla kullanılan bir analiz yöntemidir ve bu analizle aynı zamanda konjugatların yapı bilgileri de elde edilebilmektedir. q-(GTMAC-CS) konjugatının oluşumunu doğrulamak adına q-(GTMAC-CS) ve öncüllerinin FTIR spektroskopisi ile alınan

spektrumları Şekil 4.5’de gösterilmektedir. Kuersetin (q) 1670–1350 cm^{-1} dalga sayısında, benzoil halkalarının esneme titreşiminden dolayı birkaç tipik bant sergiler (Song ve ark. 2009). Aşılama reaksiyonunda, polifenoller normalde CS'nin amino ve hidroksil gruplarına eklenir ve bu da FTIR spektrumunda belirgin farklılıklara yol açmaktadır (Guo ve ark. 2016). Burada, $-\text{NH}_2$ ve $\text{C}_6\text{-OH}$ gruplarının bantları q-(GTMAC-CS) spektrumunda kaybolmuştur, bu da bu iki grubun aşılama katılımını göstermektedir. Ek olarak, 1647 cm^{-1} ve 1410 cm^{-1} 'de q moleküllerine atanan iki yeni bant meydana gelmektedir. q'nun GTMAC-CS üzerine aşılama. Ayrıca, C–O–C köprüsünün tipik bandı q-(GTMAC-CS) spektrumunda da (1147 cm^{-1} 'de) görünerek CS zincirlerinin iskelet yapısının GTMAC-CS'de kaldığını ortaya çıkarmaktadır.

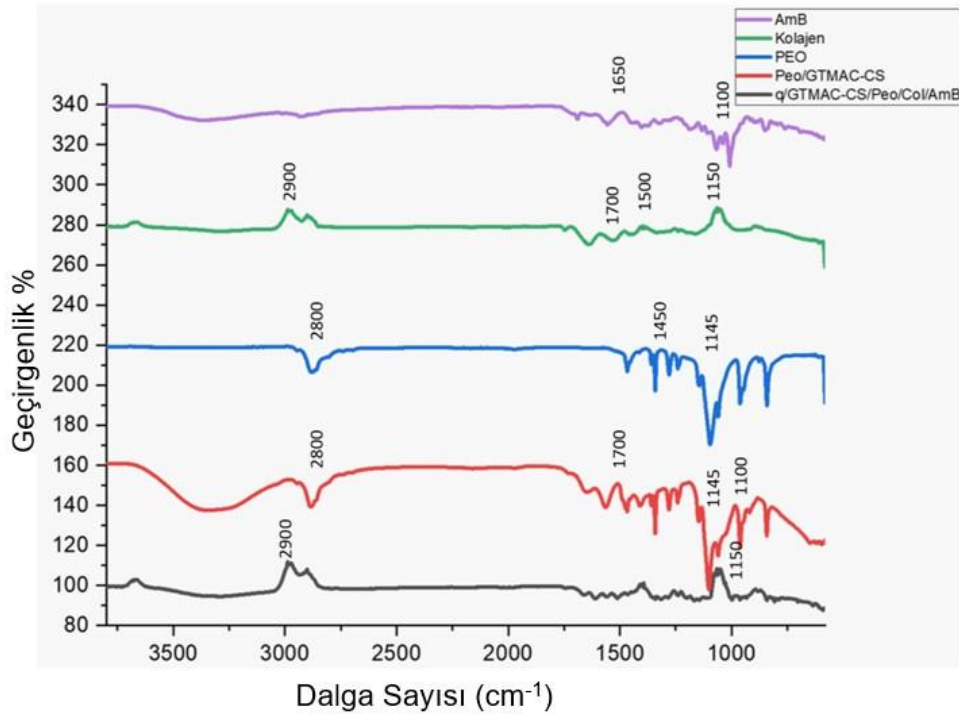


Şekil 4.5 q, GTAMAC-CS ve q-(GTMAC-CS) yapılarına ait FTIR spektrumları

4.3 q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB İskelesinin Üretimi

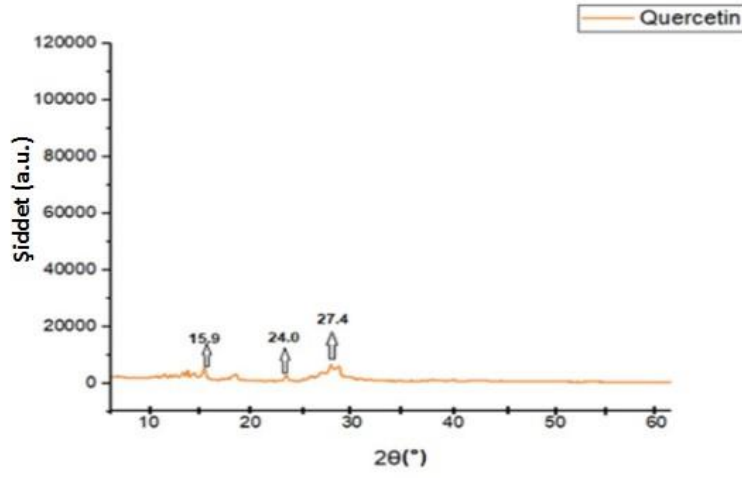
Şekil 4.6’de Amb, Kolajen, PEO, PEO/GTAMAC-CS, q-(GTMAC-CS)/Peo/Col/Amb yapılarına ait FTIR spektrumları gösterilmektedir. Spektrumlarda 3200-3400 cm^{-1} aralığında yer alan OH ve NH grup yapılandırmaları, kolajen, GTMAC-CS, AmB ve kuersetin yapılarına ait hidrojen bağlarının iletişimlerini doğrulamaktadır. Ayrıca, 1650-1700 cm^{-1} arasında görülen C=O gerilmesi, karbonil gruplarının kolajen, kuersetin ve AmB’nin laktone halkasını temsil eden

fonksiyonel grupları doğrulamaktadır. Spektrumda kuaterner amonyum grupları modifiye kitosanın varlığını kanıtlamaktadır. 1000-1150 cm^{-1} de C-O-C gerilmesi eter gruplarını temsil etmektedir. Kolajene ait FTIR spektrumu incelendiğinde 1700-1500 ve 1150 cm^{-1} dalga sayısında protein yapısına ait tipik amid I, amid II ve amid III fonksiyonel gruplarına ait pikler görülmektedir. PEO'nun spektrumu incelendiğinde 1450 cm^{-1} dalga sayısında CH_2 fonksiyonel grubuna ait pik görülmektedir.



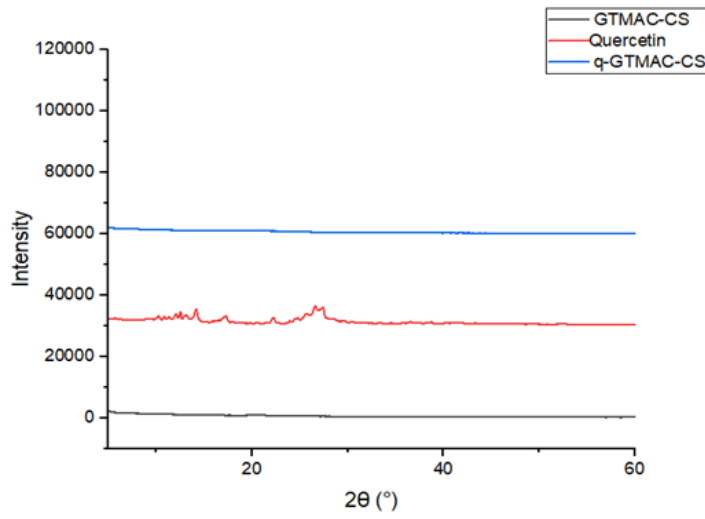
Şekil 4.6 Amb, Kolajen, PEO, PEO/GTMAC-CS, q-(GTMAC-CS/Peo/Col/Amb yapılarına ait FTIR spektrumları

Şekil 4.7’de kuersetin’in XRD paternine ait sonuçlar görülmektedir. Kuersetin flavonoid yapıda bir bileşik olup XRD analizi, kristal yapısını incelemek için kullanılmaktadır. Kuersetin’in XRD analizinde beklenebilecek temel pikler, 10°, 12.3°, 15.9°, 16.9°, 24.0°, ve 27.4° literatürde sıklıkla gözlemlenen 2θ değerlerindedir. Bu açıların karakteristik oluşu, kuersetinin kristal yapısını tanımlamaktadır (Mishra ve ark., 2019).



Şekil 4.7 Kuersetine ait XRD sonucu

Şekil 4.8’de ise kuersetin, (GTMAC-CS) ve q-(GTMAC-CS) yapılarına ait XRD sonuçları verilmektedir. q-(GTMAC-CS)’ye XRD sonucunda kitosana benzer şekilde amorf bir yapı görülmektedir. Kitosan yapısına eklenen kristal yapılu kuersetin molekülleri q-(GTMAC-CS) XRD sonucunda görülmemektedir. Bu durum da ilgili polimerin de kuersetin bağlansa bile amorf yapısını koruduğunu göstermektedir.

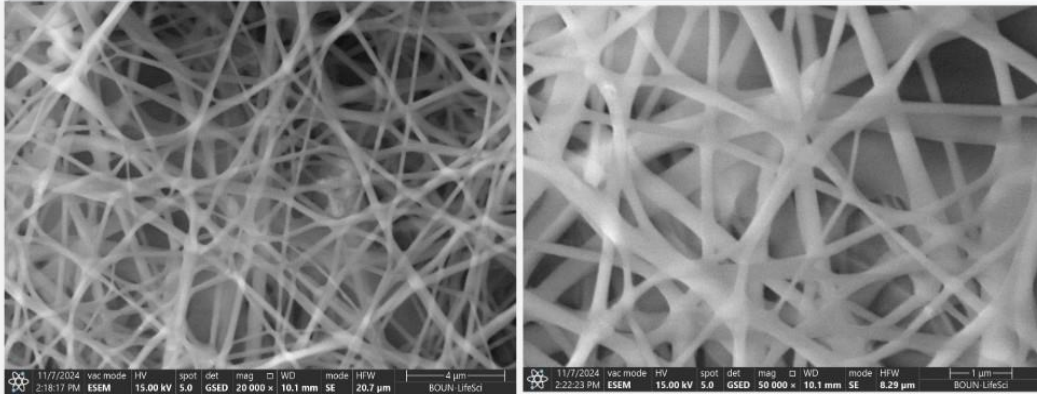


Şekil 4.8 Kuersetin, (GTMAC-CS) ve q-(GTMAC-CS) yapılarına ait XRD sonucu

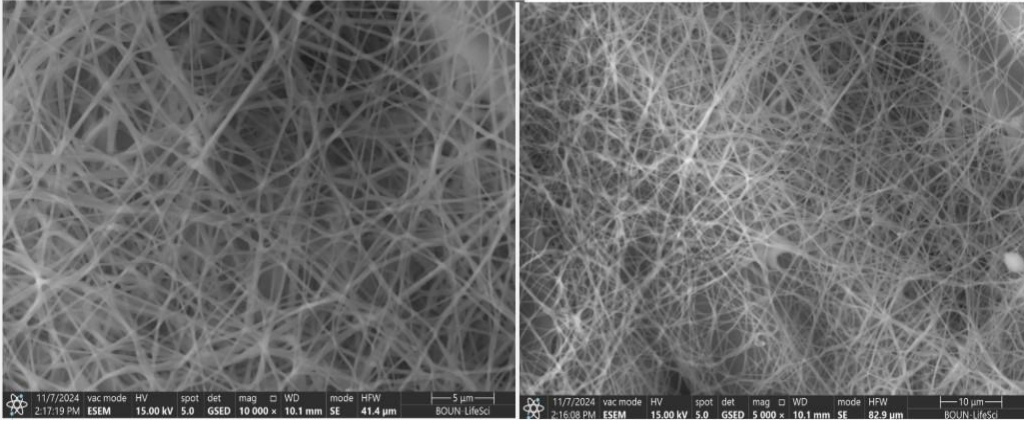
Şekil 4.9 ve 4.10'da %2 (w/v) q-(GTMAC-CS) ve %2.5 (w/v)q-(GTMAC-CS) nanofiber yapıları iskelenin SEM (Zeiss evo® ls10) ile analiz sonrası elde edilen görüntüleri verilmektedir. Şekil 4.10'daki yapılar incelendiğinde hem %2'lik (w/v) hem de %2,5'lik (w/v) q-(GTMAC-CS) çözeltisiyle hazırlanan fiberlerin gaz ve sıvı değişimini kolaylaştırmak için uygun bir poroziteye sahip olduğu görülmektedir. Metodun uygulanabilirliği ve eğirme işlemi esnasında uygun viskozite seçimi için çözeltiler %2'lik (w/v) q-(GTMAC-CS) olarak hazırlanmıştır.

Şekil 4.10'daki q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB ve q-(GTMAC-CS)/PEO//AmB nanofiberlerine ait görüntüleri incelendiğinde ince nanofiberlerin birbirine rastgele bir biçimde bağlı olduğu karmaşık bir ağ yapısını göstermektedir. Fiberlerin homojen bir dağılım göstermesi ve düzgün yüzeylere sahip olması, elektro-eğirme işlemi sırasında uygun parametrelerin uygulandığının kanıtıdır. Ayrıca, herhangi bir boncuklanma (bead) veya deformasyon görülmemektedir, bu da elde edilen fiberin kaliteli bir üretim sürecini destekler niteliktedir. Fiber arasındaki boşluklar (gözenekler), yüksek bir poroziteye işaret etmektedir. Fiber yapının gözenekli yapısı örtü olarak kullanımda bölgede gaz değişiminin, nem kontrolünün sağlanmasında önemli etki göstermektedir. Yapının gözenekli oluşu hücrelerin tutunmasını desteklemek için ve yeterli düzeyde gaz ve sıvı değişimini sağlamak için yeterince geniş bir ağ gibi görev alarak süreci hızlandırabileceği öngörülmektedir.

Şekil 4.10'de sağdaki yapının eğirme çözeltisine Col eklenmesiyle olan etkisi görülmektedir. SEM görüntüsünden elde edilen sonuçlar ImageJ programı kullanılarak 10 rastgele alınmış fiber görüntüsündeki çapların ölçümü incelenerek hesaba alınmıştır. Ortalama değer 165.7 ± 21.20 nm olarak hesaplanmıştır. Görüntü ölçeğine göre elde edilen fiberlerin çaplarının nanometre seviyesinde oluşu yapının daha ince lifler, daha büyük yüzey alanı sağlayarak materyalin sıvı tutma kapasitesini artırabileceği yönünde kanıt sağlamaktadır.



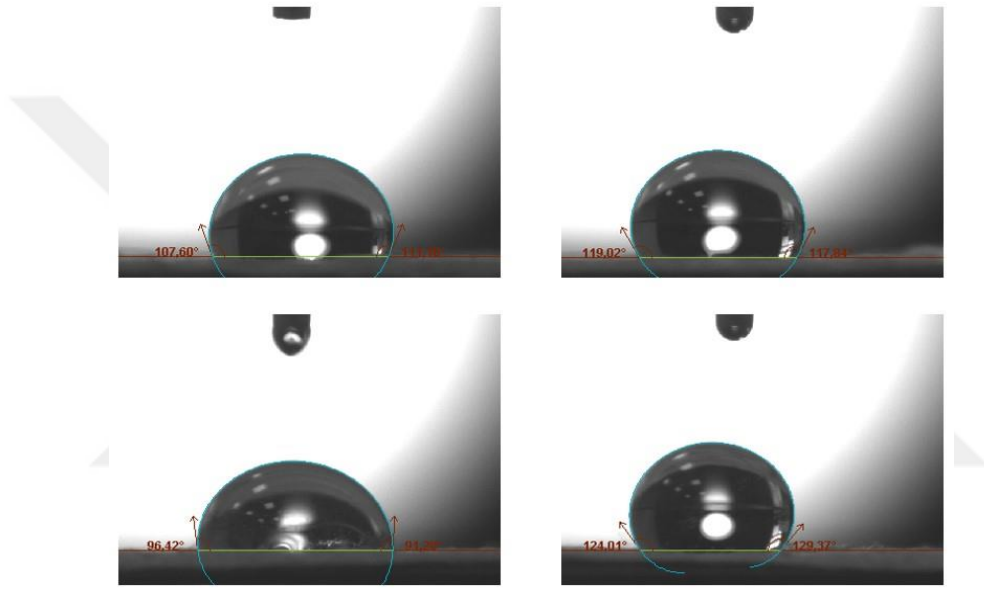
Şekil 4.9 %2,5'luk (w/v) q-(GTMAC-CS) ve %2'lik (w/v) q-(GTMAC-CS) ile hazırlanan nanofiberlee ait SEM görüntüleri



Şekil 4.10 q-(GTMAC-CS)/PEO/AmB) ve q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB) ait SEM görüntüleri

Yara örtülerinin tasarımında, yüzeyin nem yönetim kapasitesi hayati bir rol oynar. İdeal bir örtü, yaranın nemli kalmasına olanak sağlarken eksüda yönetimini etkili bir şekilde gerçekleştirebilmelidir. Temas açısının düşük (90° 'nin altında) olması, yüzeyin sıvılarla daha iyi etkileşime girebildiğini ve sıvıların yüzey boyunca kolayca yayılabildiğini göstermektedir. Bu durum, nem dengesinin korunması gereken durumlarda yara iyileşme sürecini destekler. Özellikle elektro-eğirme tekniğiyle üretilen nanolif yara örtülerinde, temas açısının düşük tutulması (örneğin, 38°) nemli bir ortam yaratarak iyileşme süreçlerini hızlandırmayı amaçlamaktadır. Bu nedenle temas açısının ölçülmesi, yara örtüsünün işlevselliğini değerlendirmek açısından temel bir parametre olarak öne çıkar. Nanofiber yüzeylerin hidrofilik özellikleri, yüzeye yerleştirilen sabit bir su damlasının temas

açısının ölçülmesi ile değerlendirilmektedir. Bu yöntemle yapılan analizlerden elde edilen sonuçlar, membran yüzeyinin sıvı ile etkileşimini anlamak için kritik bilgiler sunar. Ölçümler dört farklı noktadan alınarak ortalaması hesaplanır ve bu değer, nanofiber yapının genel temas açısını temsil etmektedir (Ajmal vd., 2019). Yapılan analiz sonucunda elde edilen temas açısı değerleri 100-110° arasındadır. Şekil 4.11'de temas açısı ölçümüne ait dört farklı noktadan elde edilen sonuçlar gösterilmektedir. Elde edilen değerler yapının hidrofobik olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.11 q-(GTMAC-CS) yapısına ait temas açısı ölçümü sonuçları

PBS ile hazırlanan DPPH içeren çözeltinin (A_0) 517 nm'de dalga boyunda UV-Vİs spektroskopisinde absorbansına bakılmıştır. A_0 absorbansı 0,878 olarak kaydedilmiştir. Yapılan çalışmalar kontrol absorbansının 0,7-0,9 arasında değişkenlik gösterdiğini belirtmektedir. DPPH ile hazırlanan q-(GTMAC-CS)/PEO/Col/AmB) solüsyonu için (A_s) 517 nm'de elde edilen absorbans değeri ise 0,649 olarak kaydedilmiştir.

Radikal süpürme aktivitesi formülüne dayanarak, radikal süpürme aktivitesi %26,08 olarak hesaplanmıştır. Yara örtülerinde antioksidan kapasite, iyileşme sürecinde önemli bir etkiye sahiptir. Kuersetin içeren bir yara örtüsünün antioksidan potansiyeli, formülasyonun özelliklerine ve serbest radikalleri etkisiz hale getirme kapasitesine bağlıdır. DPPH analizi sonuçlarına göre, kuersetin

genellikle 4–6 μM IC_{50} değerine ulaşarak gl bir radikal süpürme etkisi sergiler. Radikal süpürme aktivitesinin yüksek olması, oksidatif stresin azaltılması ve iyileşmenin hızlandırılması açısından kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, ideal bir yara rts, DPPH analizinde %70-90 oranında süpürme etkinliği gösterebilmelidir. Böyle bir ürünün başarısı, kuersetin gibi bilinen antioksidanlarla veya benzer biyomateryallerle karşılaştırılarak değerlendirilmelidir.



5

SONUÇ

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre. Kutanöz leishmaniasis, en sık görülen formu olup genellikle oluşan lezyonlar birkaç ay içinde iyileşmektedir. Ancak bu lezyonlar, iyileşme sürecini yavaşlatabilecek sekonder enfeksiyon geliştirilmekte ve doku yıkımı ile skar oluşumuna yol açmaktadır. Leishmaniasis lezyonlarında sekonder enfeksiyon gelişme insidansı %23,6-81,0 arasında değişmektedir. Leishmania'da görülen sekonder enfeksiyonlardan birisi olan kandidiyazis, fırsatçı bir patojen olan *Candida Albicans* maya mantarının sebep olduğu bir hastalıktır. İnsanların yaklaşık %70'i ve kadınların yaklaşık %75'inin yaşamları boyunca en az bir kez muzdarip olduğu bir enfeksiyondur (Kabir vd., 2012). *Candida* türlerinin patogenezi tam olarak anlaşılamadığında enfeksiyon oranı hızla artmaktadır. Mevcut antifungal ajanlar arasında azoller, *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde tercih edilen ve en sık kullanılan ilaçlardır. Enfeksiyonun tipine, olduğu anatomik bölgeye ve türlerin duyarlılık profiline bağlı olarak diğer antifungal ajanlar da kullanılabilir. Ancak mevcut antifungal ajanlara karşı dirençte sürekli bir artış görüldüğünden farklı konakçı nişlere de uyum sağlayabileceği bilinmektedir (Oliveira vd., 2018). Günümüzde bu hastalığın tedavisinde var olan yaklaşımlar istenilen başarıya ulaşmamaktadır. Bu nedenle tez çalışması kapsamında, antifungal yaralar/hastalıklar ve leishmaniasis hastalığında çokça tercih edilen Amfoterisin B ilacı içeren elektro eğrilmiş nanofiber geliştirilmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, AmB yüklü kuersetin-(GTMAC-CS), PEO, Col moleküllerinin bir arada kullanıldığı herhangi bir nanofiber iskele bulunmamaktadır. Bu tez kapsamında çalışılan nanofiber ile biyoteknolojik ilaç teknolojileri alanında ilk defa kompleks yapı literatüre kazandırılacaktır. Tez çalışmasında aşağıda maddeler halinde verilen sonuçlar elde edilmiştir.

Kitosan, suda iyi bir çözünürlük elde etmek için glisidil trimetil amonyum klorür (GTMAC) ile modifiye edilmiştir ve sentezi doğrulamak için H-NMR analizi gerçekleştirilmiştir. NMR analizi sonucunda kuaternizasyon sonrası ilgili gruba ait

H-NMR spektrumunda band görülmesi ve bağlanma oranının %93 olması kuarternizasyonun başarı ile gerçekleştirildiğini göstermiştir.

UV-Vis spektrumunda kuersetin sırasıyla 255 nm ve 375 nm'de iki tipik tepe noktası göstermektedir. Konjugasyondan sonra q-(GTMAC-CS)'nin başarılı sentezini gösteren, q'nun ilk halkasına atfedilebilen 375 nm merkezli geniş bir tepe noktasının varlığı konjugasyonun gerçekleşip polifenol yapısına bağlandığını göstermektedir, FTIR analizi ile fonksiyonel grupların varlığı desteklenmiştir. XRD analizlerinin sonuçları ile beraber, elde edilen yapının amorf kristalik yapı açısından değerlendirildiğinde 15.9°, 24° ve 27.4° açılarında literatür ile uyumlu pikler görülmektedir. Ancak piklerin düşük yoğunluklu olması amorf yapıların varlığının bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir.

Elektro-eğirme işlemi sonrasında ise nano-boyutlu ve gözenekli bir yapıya sahip ağ yapılı matlar elde edilmiştir. Bu matlarda tezde hedeflenen tüm molekülleri içeren mattaki nanofiberlerin çapları 200 nm altında elde edilmiştir.

Temas açısı ölçümlerinde ise 100°-110° aralığında bir temas açısı ölçülmüştür. Bu durumun yapıya eklenen modifiye olmayan kitosan ve hidrofobik yapılı kuersetinden kaynaklandığı düşünülmektedir. GTMA-CS, Col ve PEO oranları artırılarak hidrofiliği daha yüksek bir yapı elde edilebilir. Elde edilen hidrofobik yüzey sıvıların emilimi konusunda oldukça sınırlıdır. Bu tür yüzeyler, genellikle sıvı ihtiyacının düşük olduğu kuru yara ortamlarının yönetiminde kullanılabilir.

Elde edilen nanofiberin hesaplanan radikal süpürme aktivitesi sonucu değerlendirildiğinde (%26,08), yapıda var olan kuersetin oranının artırılmasının yara örtüsünün sahip olduğu antioksidan aktiviteyi de artıracığından yara iyileşme sürecine olumlu etki göstermesi beklenmektedir.

Sonuç olarak, tez çalışmasında hedeflenen GTMA-CS, Col, PEO, AmB ve kuersetin içeren nanofiberler başarıyla üretilmiştir. İn vitro ve in vivo çalışmalar yapılarak biyolojik aktivitelerinin gösterilmesi sonrasında leishmaniasis ve kandidiyazis kaynaklı oluşan yaraların tedavisinde kullanılacak bir malzemenin ortaya çıkarılmış olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Abdelrahman, T., & Newton, H. (2011). Wound dressings: principles and practice. *Surgery (oxford)*, 29(10), 491-495.
- Ahmed, R., Tariq, M., Ali, I., Asghar, R., Khanam, P. N., Augustine, R., & Hasan, A. (2018). Novel electrospun chitosan/polyvinyl alcohol/zinc oxide nanofibrous mats with antibacterial and antioxidant properties for diabetic wound healing. *International journal of biological macromolecules*, 120, 385-393.
- Ahmed, O. M., Mohamed, T., Moustafa, H., Hamdy, H., Ahmed, R. R., & Aboud, E. (2018). Quercetin and low level laser therapy promote wound healing process in diabetic rats via structural reorganization and modulatory effects on inflammation and oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 58-73.
- Agarwal, A.; McAnulty, J.F.; Schurr, M.J.; Murphy, C.J.; Abbott, N.L. Polymeric materials for chronic wound and burn dressings. In *Advanced Wound Repair Therapies*; Farrar, D., Ed.; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2011; pp. 186–208.
- Akhmetova, A., & Heinz, A. (2020). Electrospinning proteins for wound healing purposes: Opportunities and challenges. *Pharmaceutics*, 13(1), 4.
- Akhoundi, M., Downing, T., Votýpka, J., Kuhls, K., Lukeš, J., Cannet, A., ... & Sereno, D. (2017). Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. *Molecular aspects of medicine*, 57, 1-29.
- Al-Khikani, F. H., & Al-Janabi, A. A. (2019). Topical amphotericin B formulas: Promising new application. *International Journal of Medical Science and Current Research*, 2(4), 187-96.
- Amer, E. I., Eissa, M. M., & Mossallam, S. F. (2016). Oral azithromycin versus its combination with miltefosine for the treatment of experimental Old World cutaneous leishmaniasis. *Journal of Parasitic Diseases*, 40, 475-484.
- Arkoun, M., Daigle, F., Heuzey, M. C., & Aji, A. (2017). Mechanism of action of electrospun chitosan-based nanofibers against meat spoilage and pathogenic bacteria. *Molecules*, 22(4), 585.
- Avci, H., Monticello, R., & Kotek, R. (2013). *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 24(16), 1815–1830. doi:10.1080/09205063.2013.804758
- BAKTIR, G. (2019). Wound Repair and Experimental Wound Models. *Experimed*, 9(3), 130-137.

- BERK, A., DOKUMACI, A., & Kaymaz, M. (2015). Yara iyileşmesi ve diyabetik yara tedavisinde kullanılan tıbbi bitkiler. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 24(3).
- Bombin, A. D. J., Dunne, N. J., & McCarthy, H. O. (2020). Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications. *Materials Science and Engineering: C*, 114, 110994.
- Bose, S., Du, Y., Takhistov, P., & Michniak-Kohn, B. (2013). Formulation optimization and topical delivery of quercetin from solid lipid based nanosystems. *International journal of Pharmaceutics*, 441(1-2), 56-66.
- Carvalho, S. H., Frézard, F., Pereira, N. P., Moura, A. S., Ramos, L. M., Carvalho, G. B., & Rocha, M. O. (2019). American tegumentary leishmaniasis in Brazil: a critical review of the current therapeutic approach with systemic meglumine antimoniate and short-term possibilities for an alternative treatment. *Tropical Medicine & International Health*, 24(4), 380-391.
- Chaturvedi, V., Morgado, P., Kokabi, M., & Kumar, A. (2015). Water vapor transmission and contact angle measurement of hydrogels for wound dressing applications.
- Chen, J. P., Chang, G. Y., & Chen, J. K. (2008). Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing. *Colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects*, 313, 183-188.
- Dávila, J. L., Freitas, M. S. D., Inforçatti Neto, P., Silveira, Z. D. C., Silva, J. V. L. D., & d'Ávila, M. A. (2016). Fabrication of PCL/ β -TCP scaffolds by 3D mini-screw extrusion printing. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(15).
- Dağcı, M., & Öztekin, S. D. (2022). Modern yara bakım örtülerinin etkileri üzerine yapılan randomize kontrollü çalışmaların analizi. *IGUSABDER: Sağlık Bilimleri Dergisi*, 16(1), 271–283.
- Derman, S., Uzunoglu, D., Acar, T., Arasoglu, T., Ucak, S., Ozalp, V. C., & Mansuroglu, B. (2020). Antioxidant activity and hemocompatibility study of quercetin loaded plga nanoparticles. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 19(1), 424.
- Dos Santos, A. M., Noronha, E. F., Ferreira, L. A. M., Carranza-Tamayo, C. O., Cupolillo, E., & Romero, G. A. S. (2008). Effect of a hydrophilic formulation of topical paromomycin on cutaneous leishmaniasis among patients with contraindications for treatment with pentavalent antimonials. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41(5).
- Dutta, R. C., Dey, M., Dutta, A. K., & Basu, B. (2017). Competent processing techniques for scaffolds in tissue engineering. *Biotechnology advances*, 35(2), 240-250.

- Capuana, E., Lopresti, F., Carfi Pavia, F., Brucato, V., & La Carrubba, V. (2021). Solution-based processing for scaffold fabrication in tissue engineering applications: A brief review. *Polymers*, *13*(13), 2041.
- Falci, D. R., & Pasqualotto, A. C. (2015). Anfotericina B: uma revisão sobre suas diferentes formulações, efeitos adversos e toxicidade. *Clinical and biomedical research. Porto Alegre. Vol. 35, n. 2,(2015), p. 65-82.*
- Frenzel, M., Steffen-Heins, A., 2015. Impact of quercetin and fish oil encapsulation on bilayer membrane and oxidation stability of liposomes. *Food Chem.* *185*, 48–57.
- Gomathi, K., Gopinath, D., Ahmed, M. R., & Jayakumar, R. (2003). Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rat. *Biomaterials*, *24*(16), 2767-2772.
- Gopalakrishnan, A., Ram, M., Kumawat, S., Tandan, S. K., & Kumar, D. (2016). Quercetin accelerated cutaneous wound healing in rats by increasing levels of VEGF and TGF- β 1.
- Goy, R. C., Britto, D. D., & Assis, O. B. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, *19*, 241-247.
- Gwarzo, I. D., Mohd Bohari, S. P., Abdul Wahab, R., & Zia, A. (2022). Recent advances and future prospects in topical creams from medicinal plants to expedite wound healing: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *36*(1), 81-93.
- Hasan, M. T., Gonzalez, R., Chipara, M., Materon, L., Parsons, J., & Alcoutlabi, M. (2021). Antibacterial activities of centrifugally spun polyethylene oxide/silver composite nanofibers. *Polymers for Advanced Technologies*, *32*(6), 2327-2338.
- Haryanto, Kim, S., Kim, J. H., Kim, J. O., Ku, S., Cho, H., ... Huh, P. (2013). *Macromolecular Research*, *22*(2), 131–138. doi:10.1007/s13233-014-2023-z
- Hu, Q., Wang, T., Zhou, M., Xue, J., & Luo, Y. (2016). In vitro antioxidant-activity evaluation of gallic-acid-grafted chitosan conjugate synthesized by free-radical-induced grafting method. *Journal of agricultural and food chemistry*, *64*(29), 5893-5900.
- Ignatova, M., Manolova, N., & Rashkov, I. (2013). Electrospun Antibacterial Chitosan-B ased Fibers. *Macromolecular bioscience*, *13*(7), 860-872.
- Ignatova, M. G., Manolova, N. E., Rashkov, I. B., Markova, N. D., Toshkova, R. A., Georgieva, A. K., & Nikolova, E. B. (2016). Poly (3-hydroxybutyrate)/caffeic acid electrospun fibrous materials coated with polyelectrolyte complex and their antibacterial activity and in vitro antitumor effect against HeLa cells. *Materials Science and Engineering: C*, *65*, 379-392.
- Kaya, Ö. M., Akkücüük, Ş., & Yaman, M. (2019). Alternative treatment studies for leishmaniasis. *Turkish Journal of Veterinary Research*, *3*(1), 45-50.

- Khan, H. M., Liao, X., Sheikh, B. A., Wang, Y., Su, Z., Guo, C., ... & Kong, Q. (2022). Smart biomaterials and their potential applications in tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry B*.
- Kip, A. E., Schellens, J. H., Beijnen, J. H., & Dorlo, T. P. (2018). Clinical pharmacokinetics of systemically administered antileishmanial drugs. *Clinical pharmacokinetics*, 57(2), 151-176.
- Koohpayma, H., Goudarzi, I., Salmani, M. E., Abrari, K., & Lashkarbolouki, T. (2015). The effect of quercetin on skin wound healing in dexamethasone-treated rats. *J Arak I Univ Med Sci*, 18(9), 66-73.
- Liu, C. M., Ma, J. Q., Xie, W. R., Liu, S. S., Feng, Z. J., Zheng, G. H., & Wang, A. M. (2015). Quercetin protects mouse liver against nickel-induced DNA methylation and inflammation associated with the Nrf2/HO-1 and p38/STAT1/NF- κ B pathway. *Food and Chemical Toxicology*, 82, 19-26.
- Liu, P., Chen, W., Liu, C., Tian, M., & Liu, P. (2019). A novel poly (vinyl alcohol)/poly (ethylene glycol) scaffold for tissue engineering with a unique bimodal open-celled structure fabricated using supercritical fluid foaming. *Scientific Reports*, 9(1), 9534.
- Memic, A., Abdullah, T., Mohammed, H. S., Joshi Navare, K., Colombani, T., & Bencherif, S. A. (2019). Latest progress in electrospun nanofibers for wound healing applications. *ACS Applied Bio Materials*, 2(3), 952-969.
- Mergen, H. Ş. (2022). Production, characterization, and investigation of in vivo performance of uridine-loaded nanofibrous wound dressings (Master's thesis). Uludağ Üniversitesi.
- Miguel, S. P., Ribeiro, M. P., Coutinho, P., & Correia, I. J. (2017). Electrospun polycaprolactone/aloë vera_chitosan nanofibrous asymmetric membranes aimed for wound healing applications. *Polymers*, 9(5), 183.
- Negut, I., Dorcioman, G. ve Grumezescu, V. (2020). Yara iyileştirme uygulamaları için yapı iskeleleri. *Polimerler* , 12 (9), 2010.
- Nista, S. V. G., Bettini, J., & Mei, L. H. I. (2015). Coaxial nanofibers of chitosan–alginate–PEO polycomplex obtained by electrospinning. *Carbohydrate polymers*, 127, 222-228.
- NO HK, P. N., Lee, S. H., & Meyers, S. P. (2002). Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1), 65-72.
- Nguyen, T., Lee, K., & Lee, B. (2010). Fabrication of Ag nanoparticles dispersed in PVA nanowire mats by microwave irradiation and electro-spinning. *Materials Science And Engineering: C*, 30(7), 944-950. doi: 10.1016/j.msec.2010.04.012
- Nguyen, K. T., & West, J. L. (2002). Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 23(22), 4307-4314.

- Nzulu, C. O., Kato, H., & Peters, N. C. (2019). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): An advanced molecular point-of-care technique for the detection of Leishmania infection. *PLoS neglected tropical diseases*, *13*(11), e0007698.
- Özbilgin, A., Harman, M., Karakuş, M., Bart, A., Töz, S., Kurt, Ö., ... & Özbel, Y. (2017). Leishmaniasis in Turkey: Visceral and cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania donovani* in Turkey. *Acta Tropica*, *173*, 90-96.
- Parlayıcı, Ş., & Altun, T. (2017). Kitosan kaplı kaolin boncukların sulu çözeltilerden krom (vi) uzaklaştırılmasında adsorban olarak kullanımı. *Selçuk üniversitesi mühendislik, bilim ve teknoloji dergisi*, *6*(1), 140-151.
- Ribeiro, J. B. P., Miranda-Vilela, A. L., Amorim, A. A. S., Garcia, R. D., Moreira, J. R., Gomes, C. M., ... & Sampaio, R. N. R. (2019). Study of the efficacy of N-methyl glucamine antimoniate (SbV) associated with photodynamic therapy using liposomal chloroaluminium phthalocyanine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (L.) amazonensis* in C57BL6 mice. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, *26*, 261-269.
- Rubio-Elizalde, I., Bernáldez-Sarabia, J., Moreno-Ulloa, A., Vilanova, C., Juárez, P., Licea-Navarro, A., & Castro-Ceseña, A. B. (2019). Scaffolds based on alginate-PEG methyl ether methacrylate-Moringa oleifera-Aloe vera for wound healing applications. *Carbohydrate polymers*, *206*, 455-467.
- Rúnarsson, Ö. V., Holappa, J., Nevalainen, T., Hjálmsdóttir, M., Järvinen, T., Loftsson, T., ... & Másson, M. (2007). Antibacterial activity of methylated chitosan and chito oligomer derivatives: Synthesis and structure activity relationships. *European Polymer Journal*, *43*(6), 2660-2671.
- Rwei, S. P., Chen, Y. M., Lin, W. Y., & Chiang, W. Y. (2014). Synthesis and rheological characterization of water-soluble glycidyltrimethylammonium-chitosan. *Marine Drugs*, *12*(11), 5547-5562.
- Sahariah, P., & Másson, M. (2017). Antimicrobial chitosan and chitosan derivatives: a review of the structure-activity relationship. *Biomacromolecules*, *18*(11), 3846-3868.
- Sanapalli, BKR, Tyagi, R., Shaik, AB, Ranakishor, P., Bhandare, RR, Annadurai, S., & Karri, VVSR (2022). Diyabetik yaraların hızlandırılmış iyileşmesi için rejeneratif ilaç olarak L-Glutamik asit yüklü kollajen kitosan kompozit iskele. *Arap Kimya Dergisi*, 103841.
- Sajomsang, W., Ruktanonchai, U. R., Gonil, P., & Warin, C. (2010). Quaternization of N-(3-pyridylmethyl) chitosan derivatives: Effects of the degree of quaternization, molecular weight and ratio of N-

- methylpyridinium and N, N, N-trimethyl ammonium moieties on bactericidal activity. *Carbohydrate Polymers*, 82(4), 1143-1152
- Senadheera, Tharindu & Dave, Deepika & Shahidi, Fereidoon. (2020). Sea Cucumber Derived Type I Collagen: A Comprehensive Review. *Marine drugs*. 18. 10.3390/md18090471.
- Severino, P., Santana, W., Lisboa, ES, Santos, VLD, Lima, ETDS, Cardoso, JC, ... & Jain, S. (2022). Yara İyileşmesi İçin Kutanöz/Mukokutanöz Leishmaniasis Tedavisi: Klasik ve Yeni Tedavi Yaklaşımları. *Mikrobiyoloji Araştırması* , 13 (4), 836-852.
- Severyukhina, A. N., Petrova, N. V., Yashchenok, A. M., Bratashov, D. N., Smuda, K., Mamonova, I. A., ... & Gorin, D. A. (2017). Light-induced antibacterial activity of electrospun chitosan-based material containing photosensitizer. *Materials Science and Engineering: C*, 70, 311-316.
- Shyna, S., Nair, P. D., & Thomas, L. V. (2020). A nonadherent chitosan-polyvinyl alcohol absorbent wound dressing prepared via controlled freeze-dry technology. *International journal of biological macromolecules*, 150, 129-140.
- Shirzadi, M. R. (2019). *Research and Reports in Tropical Medicine, Volume 10*, 11–18. doi:10.2147/rrtm.s200218
- Simões, D., Miguel, S. P., Ribeiro, M. P., Coutinho, P., Mendonça, A. G., & Correia, I. J. (2018). Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 127, 130-141.
- Shirzadi, M. R. (2019). Liposomal amphotericin B: a review of its properties, function, and use for treatment of cutaneous leishmaniasis. *Research and reports in tropical medicine*, 11-18.
- Simões, D., Miguel, S. P., Ribeiro, M. P., Coutinho, P., Mendonça, A. G., & Correia, I. J. (2018). Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 127, 130-141.
- Steverding, D. (2017). The history of leishmaniasis. *Parasites & vectors*, 10, 1-10.
- Talikowska, M., Fu, X., & Lisak, G. (2019). Application of conducting polymers to wound care and skin tissue engineering: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 135, 50-63.
- Torres E, Mari´n V, Aburto J, Beltra´n HI, Shirai K, Villanueva S, Sandoval G (2012) Enzymatic modification of chitosan with quercetin and its application as antioxidant edible films. *ApplBiochem Microbiol* 48:151–158
- Tsai, W. C., & Wang, Y. (2019). Progress of supercritical fluid technology in polymerization and its applications in biomedical engineering. *Progress in Polymer Science*, 98, 101161.

- Tsang, V. L., & Bhatia, S. N. (2004). Three-dimensional tissue fabrication. *Advanced drug delivery reviews*, 56(11), 1635-1647.
- Bahar, D. U. (2021). Yara İyileştirme Özellikli Polimerlerin Yara Örtülerinde Kullanımı. *Istanbul Gelisim University Journal of Health Sciences*, (13), 157-181.
- Wang, F., Hu, S., Jia, Q., & Zhang, L. (2020). Advances in electrospinning of natural biomaterials for wound dressing. *Journal of Nanomaterials*, 2020.
- Kant, V., Jangir, B. L., Nigam, A., Kumar, V., & Sharma, S. (2017). Dose regulated cutaneous wound healing potential of quercetin in male rats. *Wound Medicine*, 19, 82-87.
- Yin, G., Wang, Z., Wang, Z., & Wang, X. (2018). Topical application of quercetin improves wound healing in pressure ulcer lesions. *Experimental dermatology*, 27(7), 779-786.
- Yüksel, E., & Karakeçili, A. (2014). Antibacterial activity on electrospun poly (lactide-co-glycolide) based membranes via Magainin II grafting. *Materials Science and Engineering: C*, 45, 510-518.
- Jeon, Y. J., Park, P. J., & Kim, S. K. (2001). Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate polymers*, 44(1), 71-76.
- Jung, E. J., Youn, D. K., Lee, S. H., No, H. K., Ha, J. G., & Prinyawiwatkul, W. (2010). Antibacterial activity of chitosans with different degrees of deacetylation and viscosities. *International journal of food science & technology*, 45(4), 676-682.
- Jirofti, N., Golandi, M., Movaffagh, J., Ahmadi, F. S., & Kalalinia, F. (2021). Improvement of the wound-healing process by curcumin-loaded chitosan/collagen blend electrospun nanofibers: in vitro and in vivo studies. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 7(8), 3886-3897.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirisi

9. Bilim Günleri Kongresine ait yayınlanan Özet Kitabı linki : <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://bilimgunleri.yeniyuzyil.edu.tr/dosyalar/ozetkitap.pdf>

Ödüller

1. TÜBİTAK Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı (2210/C)

