

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ORGANİK VE İNORGANİK KATKILI İLAÇ SALIMLI
POLİVİNİL ALKOL VE JELATİN POLİMER FİBER
MATRİS TABANLI YENİ BİR YARA ÖRTÜSÜ
MALZEME TASARIMI, ANTİBAKTERİYEL VE YARA
İYİLEŞTİRME ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Tülay Merve SOYLU

DOKTORA TEZİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı
Biyomühendislik Programı

Danışman

Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Eş Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Yeliz ELALMIŞ

Mart, 2024

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ORGANİK VE İNORGANİK KATKILI İLAÇ SALIMLI
POLİVİNİL ALKOL VE JELATİN POLİMER FİBER MATRİS
TABANLI YENİ BİR YARA ÖRTÜSÜ MALZEME TASARIMI,
ANTİBAKTERİYEL VE YARA İYİLEŞTİRME ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Tülay Merve SOYLU tarafından hazırlanan tez çalışması 20.03.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sevil YÜCEL
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Yeliz ELALMIŞ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sevil YÜCEL, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Serap ACAR DERMAN, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Emrah Şefik ABAMOR, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Yeşim Müge ŞAHİN, Üye

Arel Üniversitesi

Doç. Dr. Pınar TERZİOĞLU Üye

Bursa Teknik Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Sevil YÜCEL sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Organik ve İnorganik Katkılı İlaç Salımlı Polivinil Alkol ve Jelatin Polimer Fiber Matris Tabanlı Yeni Bir Yara Örtüsü Malzeme Tasarımı, Antibakteriyel ve Yara İyileştirme Etkisinin İncelenmesi” 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.

Tülay Merve SOYLU

İmza



Bu çalışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FBA-2021-4219 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Ailem
ve
Arkadaşlarıma



TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışması boyunca benden desteğini esirgemeyen, çalışmalarım boyunca engin bilgi birikiminden yararlandığım ve tecrübeleriyle bana yol gösteren kıymetli danışmanım Prof. Dr. Sevil YÜCEL' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince beni destekleyen ve önerileriyle bana yol gösteren eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Yeliz ELALMIŞ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez izleme komitemde jüri üyeleri olarak yer alan, akademik tecrübeleri ve önerileriyle bana yol gösteren değerli hocalarım Prof. Dr. Serap DERMAN ve Doç. Dr. Pınar TERZİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tezimde *in vivo* hayvan deneyleri ve histopatoloji çalışmalarımızda emekleri bulunan ve bana değerli zamanlarını ayıran hocalarım Arş.Gör. Ömer KIRGIZ, Dr.Öğr.Üyesi İlke Evrim SEÇİNTİ ve Dr.Öğr.Üyesi Ufuk KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tezim süresince emeği geçen ve yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım; Cem ÖZEL, Ceren EMİR KEÇECİLER, Dilan ALTAN'a ayrıca beni her zaman destekleyen arkadaşlarım; Ali Can ÖZARSLAN, Burcu KARAKUZU-İKİZLER, Deniz ISMIK'a teşekkür ederim.

Bana her zaman güvenen, beni her fırsatta destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Ahmet Serhat SOYLU 'ya, beni bu günlere getiren, bana her zaman güvenen ve inanan annem Günay TEMEL'e, babam Ömer TEMEL'e, kardeşim Ali Volkan TEMEL'e teşekkür ederim.

Teşekkür: Bu tez Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'nün FBA-2021-4219 numaralı projesi ile desteklenmiştir. Ayrıca, YÖK tarafından 100/2000 doktora projesinin öncelikli alan programı kapsamında desteklenmiştir.

Tülay Merve SOYLU

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	v
SİMGE LİSTESİ	x
KISALTMA LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
TABLO LİSTESİ	xviii
ÖZET	xx
ABSTRACT	xxii
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	3
1.3 Hipotez	4
2 GENEL BİLGİLER	5
2.1 Deri	5
2.1.1 Epidermis	5
2.1.2 Dermis	6
2.1.3 Hipodermis	6
2.2 Yara ve Yara Çeşitleri	7
2.2.1 Akut Yaralar	8
2.2.2 Kronik Yaralar	8
2.3 Yara İyileşme Süreci	10
2.4 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	12
2.5 Yara Örtüsü	12

2.5.1	Hidrojeller	13
2.5.2	Hidrokolloidler	13
2.5.3	Aljinatlar	13
2.5.4	Köpükler.....	14
2.5.5	Süngerler	14
2.5.6	Filmler	14
2.5.7	Fiberler	14
2.6	Elektrospinning Yöntemi ve Yara Örtüsü Üretiminde Kullanılması.....	15
2.6.1	Elektrospinning Yöntemi	15
2.6.2	Elektrospinning Yöntemi ile Yara Örtü Malzemelerinin Üretimi .	18
2.7	Polivinil alkol (PVA) ve Yara İyileşmesine Etkileri	18
2.8	Jelatin ve Yara İyileşmesine Etkileri	19
2.9	45S5 Biyoaktif Cam ve Yara İyileşmesine Etkileri	19
2.10	Üre Kristali ve Yara İyileşmesine Etkileri.....	19
2.11	Kontrollü İlaç Salımı.....	20
2.11.1	Polimerik Nanopartiküllerin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı ve Salım Mekanizmaları.....	20
2.12	Kitosan ve Kitosan Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri	22
2.12.1	Kitosan Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri	23
2.12.2	Kitosan Nanopartiküllerin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı	25
2.13	İbuprofen.....	25
3	MATERYAL-METOD	27
3.1	Deneylerde Kullanılan Kimyasallar.....	27
3.3	Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	28
3.4	Deneylerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	40

3.4.1	Membran Üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	40
3.4.2	Kitosan Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.....	41
3.5	Deneysel Metotlar.....	42
3.5.1	Elektrospinning Yöntemiyle Membranın Üretimi.....	42
3.5.2	Üre İçeren Yara Örtü Malzemesi Üretimi.....	42
3.5.3	Üretilen Membranların Sitrik Asitle Çapraz Bağlanması.....	48
3.5.4	İbuprofen Yüklü Kitosan Nanopartikül Sentezi.....	48
3.5.5	İbuprofen Yüklü Kitosan Nanopartiküllerin Membran Yüzeyine Kaplanması.....	52
4	BULGULAR VE TARTIŞMA	53
4.1	Membran Analizleri.....	53
4.1.1	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	53
4.1.1.1.	Biyoaktif Cam SEM Analizi.....	53
4.1.1.2.	Membranların SEM Analizi.....	54
4.1.2	Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS).....	61
4.1.3	Membranların Ortalama Fiber Kalınlık Dağılımları (Image J).....	63
4.1.4	Karışımların pH Analizi.....	66
4.1.5	Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR).....	67
4.1.6	Biyoaktif Cam ve Membranların yüzey alanı ve gözenek boyut analizi (BET).....	73
4.1.7	Porozite.....	75
4.1.8	Su Tutma (Şişme).....	77
4.1.9	Su Buharı İletimi (WVT) ve Su Buharı Geçirgenliği (WVP).....	78
4.1.10	Çekme Testi.....	81

4.1.11	Biyobozunurluk.....	83
4.1.12	Antibakteriyel Aktivite.....	83
4.1.13	Sitotoksosite	84
4.1.14	In vivo yara modeli	86
4.1.15	Histopatoloji.....	89
4.1.16	İmmünohistokimyasal analiz	96
4.2	Kitosan Nanopartikül ve Kitosan Nanopartikül Yüklü Membran Analizleri	100
4.2.1	Nanopartikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli	100
4.2.2	Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR).....	106
4.2.3	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	108
4.2.4	Verim, Enkapsülasyon Etkinliği ve İlaç Yükleme	110
4.2.5	In vitro İlaç Salınımı ve Salım Kinetiği	111
4.2.6	Sitotoksosite	113
5	SONUÇ	115
	KAYNAKÇA	118
	A EKLER	139
	TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	140

SİMGELİSTESİ

α	Alfa
dk	Dakika
rpm	Dakikada gerçekleşen dönüş kuvveti
$^{\circ}C$	Derece
g	Gram
pH	Hidrojen Kuvveti
Kg	Kilogram
kV	Kilovolt
λ	Lamda
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
mg	Miligram
mV	Milivolt
nm	Nanometre
N	Normal
sa	Saat
sn	Saniye
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
W	Watt
t	Zaman
ζ	Zeta

KISALTMA LİSTESİ

AGE	Glikasyon Son Ürünleri
BET	Brunauer-Emmett-Teller
BG	Biyoaktif Cam
DLS	Dinamik Işık Saçılımı
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EE	Enkapsülasyon Etkinliği
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
GAG	Glikozaminoglikanlar
HE	Hematoksilen-Eozin
IBU	İbuprofen
Jel	Jelatin
KNP	Kitosan Nanopartikül
M1	PVA:Jel (80:20) - SA (15 %)
M10	PVA:Jel (90:10)- SA (15% - BG (2%)
M11	PVA:Jel (90:10)- SA (15% - BG (3%)
M12	PVA:Jel (90:10) SA (15%) - BG (3%) - Üre (10 %)
M2	PVA:Jel (80:20) - SA (10 %) - BG (1%)
M3	PVA:Jel (80:20) - SA (15%) - BG (1%)
M4	PVA:Jel (80:20) - SA (20%) - BG (1%)
M5	PVA:Jel (85:15)- SA (15%)
M6	PVA:Jel (85:15)- SA (15% - BG (1%)
M7	PVA:Jel (85:15)- SA (15% - BG (2%)
M8	PVA:Jel (90:10)- SA (15%)
M9	PVA:Jel (90:10)- SA (15% - BG (1%)
MT	Masson's Trikróm
NMF	Doğal Nemlendirme Faktörleri
NP	Nanopartikül
NSAID	Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar
PEG	Polietilen Glikol
PVA	Polivinil Alkol

SA	Sitrik Asit
SC	Stratum Corneum
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TPP	Sodyum Tripolifosfat
UV	Ultraviyole
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WVP	Su Buharı Geçirgenliği
WVT	Su Buharı İletimi
YK	Yükleme Kapasitesi
YVS	Yapay Vücut Sıvısı



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Derinin yapısı[35]	7
Şekil 2.2 Yara iyileşme süreci [45]	11
Şekil 2.3 Elektrosinning sisteminin şeması [55]	15
Şekil 2.4 Nanoküre ve Nanokapsül Yapısı[80]	21
Şekil 2.5 Kitin ve Kitosanın yapısı[83]	22
Şekil 2.6 İbuprofenin yapısı[97].....	26
Şekil 3.1 <i>In vivo</i> yara modeli deneysel tasarımı	34
Şekil 3.2 İbuprofen kalibrasyon eğrisi.....	38
Şekil 3.3 İbuprofen yüklü kitosan nanopartikül ve ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül membrandan ilaç salım çalışması	39
Şekil 3.4 Elektrosinning çalışmaları.....	43
Şekil 3.5 Membranların sitrik asitle farklı sıcaklık ve sürelerde çapraz bağlanma denemeleri.....	48
Şekil 4.1 Üretilen 45S5 Biyoaktif camların farklı büyütme ölçeklerinde SEM görüntüsü	53
Şekil 4.2 PVA (%15) çözeltisi ile hazırlanan nanofiber membranların x30k ve x8k büyütme ölçeklerindeki SEM Görüntüleri	54
Şekil 4.3 PVA-Jelatin (90:10) membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü	54
Şekil 4.4 PVA-Jelatin (80:20) membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü	54
Şekil 4.5 PVA-Jelatin (70:30) membranının x30k ve x8k büyütmesi ile SEM görüntüsü	55
Şekil 4.6 PVA-Jelatin (70:30) -Üre % 10 w/w membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü	55
Şekil 4.7. PVA-Jelatin (70:30) -Üre % 10 w/w - BG membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	55
Şekil 4.8 PVA-Jelatin (80:20) %15 Sitrik Asit ve %1 Biyoaktif Cam ile hazırlanan membranının çapraz bağlama öncesi ve sonrası x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü	56
Şekil 4.9 PVA-Jelatin (80:20) ve %15 Sitrik Asit ile hazırlanan membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	57

Şekil 4.10	PVA-Jelatin (80:20), %10 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	57
Şekil 4.11	PVA-Jelatin (80:20), %15 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	58
Şekil 4.12	PVA-Jelatin (80:20), %20 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	58
Şekil 4.13	PVA-Jelatin (85:15) ve %15 Sitrik Asit ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	58
Şekil 4.14	PVA-Jelatin (85:15), %15 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	59
Şekil 4.15	PVA-Jelatin (85:15), %15 Sitrik Asit ve %2 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	59
Şekil 4.16	PVA-Jelatin (90:10) ve %15 Sitrik Asit ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	59
Şekil 4.17	PVA-Jelatin (90:10), %15 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	60
Şekil 4.18	PVA-Jelatin (90:10), %15 Sitrik Asit ve %2 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	60
Şekil 4.19	PVA-Jelatin (90:10), %15 Sitrik Asit ve %3 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	60
Şekil 4.20	PVA-Jelatin (90:10), %15 (w/w) Sitrik Asit, %3 BG ve %10 Üre ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü...	61
Şekil 4.21	90:10PVA:Jel- %15 SA%1 BG (A) ve 90:10PVA:Jel-%15 SA%1 BG (B), 90:10PVA:Jel-%15 SA%1 BG %10Üre (C) SEM-EDS spektrumu	62
Şekil 4.22	Sitrik asit ile hazırlanan membranların ortalama fiber çapı histogram grafikleri.....	65
Şekil 4.23	45S5 biyoaktif camların FTIR analizi spektrumu	67
Şekil 4.24	Farklı oranlarda birleştirilen PVA (%15, w/v) ve jelatin (%12,5, w/v) çözeltilerinden hazırlanan membranlarının FTIR analizi sonuçları....	68
Şekil 4.25	80:20 PVA:Jel kombinasyonu ile %1 Biyoaktif Cam içeren farklı sitrik asit oranları ile hazırlanan membranların FTIR analizi sonuçları	69
Şekil 4.26	Farklı (80:20,850:15,90:10) PVA:Jel kombinasyonları hazırlanan membranların FTIR analizi sonuçları	69

Şekil 4.27 85:15 PVA:Jel kombinasyonu ile farklı Biyoaktif Cam oranları içeren karışımlardan hazırlanan membranların FTIR analizi sonuçları	70
Şekil 4.28 90:10 PVA:Jel kombinasyonu ile %1 Biyoaktif Cam oranıyla hazırlanan membranın çapraz bağlanmadan öncesi ve sonrası FTIR spektrumlarının karşılaştırması.....	70
Şekil 4.29 90:10 PVA:Jel kombinasyonu ile farklı Biyoaktif Cam oranları ve üre içeren membranların FTIR analizi sonuçları	71
Şekil 4.30 45S5 Biyoaktif cam ve Üre FTIR spektrumları	71
Şekil 4.31 45S5 Biyoaktif Cam ve PVA/Jel 90:10 %15SA fiberin N ₂ adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi.....	74
Şekil 4.32 Hazırlanan membranların porozite (a) ve şişme derecesi (b) değerleri. (Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (n = 6)). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını göstermektedir (p < 0.05).....	77
Şekil 4.33 Membranların Su buharı iletimi (WVT) ve Su buharı geçirgenliği (WVP) Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını göstermektedir (p < 0.05).	80
Şekil 4.34 Üretilen membranların su buharı iletim profili	81
Şekil 4.35 PVA/Jel membranların farklı içeriklerinin (A) <i>E. Coli</i> ve (B) <i>S. Aerous</i> 'a karşı antibakteriyel aktivitesi	84
Şekil 4.36 Fibroblast hücreleri elektrospun nanofiber membran ekstraktları ile muamele edildikten sonra hücre canlılığı (%) sonuçları (veriler ortalama $\pm$ SEM (n = 6) olarak verilmiştir). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını göstermektedir (p < 0.05).....	85
Şekil 4.37 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (1, 3, 5, 7, 10 ve 14. günler) yara kapanma oranları. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (1, 3, 5, 7, 10 gün için n=12, 10 ve 14 gün için n=6). Anlamlı fark **p < 0.01 ve ***p < 0.001 olarak kabul edilmiştir. A, B: Farklı büyük harfler her gün için gruplar arasındaki anlamlılığını göstermektedir (p < 0.05).....	88

Şekil 4.38 Yara bölgelerinin farklı grup ve günlerdeki görüntüleri	89
Şekil 4.39 Sham, farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) epitel kalınlığı. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (n = 6). Çubuk üzerindeki aynı harfler, her gün için Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını gösterir ($p > 0,05$).	90
Şekil 4.40 Yara bölgelerinin hematoksilin-eozin (HE) boyama görüntüleri	92
Şekil 4.41 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) enflamasyon seviyeleri. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (n = 6). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Kruskal-Wallis testi ve ardından çoklu karşılaştırmalar için Dunn testine göre her gün için değerler arasında fark olmadığını göstermektedir (7. ve 14. günlerdeki enflamasyon skorları için $p < 0,05$.)	93
Şekil 4.42 Yara bölgelerinin Masson's trichrome (MT) boyama görüntüleri	95
Şekil 4.43 Sham ve membran ile tedavi edilen grupların farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) kolajenizasyon seviyeleri. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (n = 6). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Kruskal-Wallis testi ve ardından çoklu karşılaştırmalar için Dunn testine göre her gün için değerler arasında fark olmadığını göstermektedir (7. gündeki kolajenizasyon skorları için $p < 0.01$ ve 14. gündeki kolajenizasyon skorlarında anlamlı fark yoktur $p > 0.05$).	96
Şekil 4.44 Farklı zaman noktalarında (7. ve 14. günler) yara bölgelerinin CD31 immünohistokimyasal boyaması.....	98
Şekil 4.45 Sham ve farklı membran gruplarının farklı zaman noktalarında (7. ve 14. günler) yeni oluşan damar sayısı. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (n = 6). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farklılıkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını göstermektedir ($p < 0,05$).	99
Şekil 4.46 Kitosan Nanopartiküllerin DLC ile ölçülen yoğunluğuna göre parçacık boyutu dağılımı KNP (A), IBU(%20)-KNP(6h) (B), IBU(%20)-	

KNP(2h) (C), IBU(%20)-KNP(4h) (D), IBU(%25)-KNP(4h) (E), IBU(%30)-KNP(4h) (F).....	105
Şekil 4.47 Saf ibuprofen (a), kitosan nanopartikül (KNP) (b), IBU(%20)-KNP(4h) (c), IBU(%25)-KNP(4h) (d), IBU(%30)-KNP(4h)(e) FTIR spektrumları	107
Şekil 4.48 Daldırma yöntemiyle üretilen %25 İbuprofen- kitosan nanopartikül katkılı Membranın (90:10 (PVA-JEL) %15SA %3BG) FTIR analiz sonucu	107
Şekil 4.49 Püskürtme yöntemiyle üretilen %25 İbuprofen- kitosan nanopartikül katkılı Membranın (90:10 (PVA-JEL) %15SA %3BG) FTIR analiz sonucu	108
Şekil 4.50 Kitosan nanopartikül x20k ve x60k büyütmesi ile SEM görüntüsü...	109
Şekil 4.51 %25 ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül x20k ve x60k büyütmesi ile SEM görüntüsü	109
Şekil 4.52 Daldırma yöntemi ile üretilen KNP-İBU katkılı PVA-Jelatin (90:10) %15 Sitrik Asit ve %3 Biyoaktif Cam ile hazırlanan membranın x30k ve x1k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	109
Şekil 4.53 %25 ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül kaplı membranın x1k ve x30k büyütmesi ile SEM görüntüsü.....	110
Şekil 4.54 İbuprofenin IBU(%25)-KNP ve IBU-KNP-Membrandan salım kinetiği	112
Şekil 4.55 L929 fibroblast hücrelerinin farklı konsantrasyonlardaki kitosan nanopartikülleri (KNP), IBU(%25)-KNP(4 sa) ve IBU(%25)-KNP(4 sa) yüklü membran ekstraktları (%100, %75, %50, %25 ve %10) ile muamelesini takiben hücre canlılığı (%) sonuçları. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir. (Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur, $n = 6$).....	114

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Elektrospinning parametrelerinin fiber morfolojisi üzerindeki etkileri [55].....	16
Tablo 3.1 Deneylerde Kullanılan Kimyasal Listesi	27
Tablo 3.2 Deneylerde Kullanılan Cihaz Listesi	28
Tablo 3.3 PVA Konsantrasyon Deneme Çalışmaları (Sulu Sistem).....	43
Tablo 3.4 Sulu Sistem Membran Üretim Çalışmaları	44
Tablo 3.5 % 20 (v/w) Asetik Asit ile Membran Üretim Çalışmaları	44
Tablo 3.6 Sitrik Asit ile Membran Üretim Çalışmaları	46
Tablo 3.7 Medium Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örnekler	49
Tablo 3.8 Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örnekler (Metanol) .	51
Tablo 3.9. Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örnekler (Etanol) ...	52
Tablo 4.1 Biyoaktif cam ve Üre içeren membranların SEM-EDS Karşılaştırma Tablosu.....	61
Tablo 4.2 Membranların Ortalama Fiber Kalınlıkları.....	63
Tablo 4.3 Karışımların pH değerleri	66
Tablo 4.4 Üretilen membranlar ve biyoaktif camın yüzey alanı, ortalama gözenek çapı ve kümülatif gözenek hacmi özellikleri	75
Tablo 4.5 Membranların porozite ve şişme (%) değerleri	75
Tablo 4.6 Membranların su buharı iletimi (WVT) ve su buharı geçirgenliği (WVP)	78
Tablo 4.7 Çeşitli membranların çekme mukavemeti, young modülü ve kopma uzaması değerleri	81
Tablo 4.8 90:10%15SA ve 90:10%15SA%3BG membranların belirlenen periyotta biyobozunma yüzdeleri.....	83
Tablo 4.9 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) enflamasyon seviyeleri.....	90
Tablo4.10 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) kollajenizasyon seviyeleri.	93
Tablo 4.12 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) damar sayısı.....	96
Tablo 4. 13 Medium Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örneklerin Boyut Analizi.....	100

Tablo 4.14 Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örneklerin Boyut Analizi (Metanol).....	102
Tablo 4.15 Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örneklerin Boyut Analizi (Etanol).....	103
Tablo 4.16 İbuprofen yüklü nanopartikül verimi (%), ilaç yüklemesi (%) ve enkapsülasyon etkinliği (%).....	110
Tablo 4.17 Çeşitli kinetik modellerden elde edilen ibuprofen salım parametreleri	112



Organik ve İnorganik Katkılı İlaç Salımlı PVA-Jelatin Polimer Fiber Matris Tabanlı Yeni Bir Yara Örtüsü Malzeme Tasarımı, Antibakteriyel ve Yara İyileştirme Etkisinin İncelenmesi

Tülay Merve SOYLU

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Eş-Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yeliz ELALMIŞ

Bu tez çalışmasında, nano 45S5 biyoaktif cam (BG) ve ürenin dahil edildiği yeşil elektroegirme yöntemiyle sitrik asit (SA) ile çapraz bağlanmış Polivinil alkol (PVA) ve jelatin (Jel) bazlı nanofiber membranların üretimi ve karakterizasyonunu gerçekleştirilmiştir. PVA, jelatin ve BG'nin çeşitli kombinasyonları hazırlanmış ve ortalama lif çapları 238-595 nm arasında değişen nanolif membranlar üretilmiştir. Üretilen membranların morfolojik, kimyasal ve mekanik özellikleri, gözeneklilik, şişme, su tutma ve su buharı iletim hızı değerlendirilmiştir. PVA:Jel (90:10), %15 SA ve %3 BG, elektrospinning yoluyla nanolif membran üretimi için optimum karışım olarak belirlenmiştir. Bu karışım kullanılarak elde edilen membran, çapraz bağlamayı takiben elektrosprey yöntemiyle %10 w/w polimer Üre kaplama ile daha da işlevselleştirilmiştir. *In vitro* biyouyumluluk testleri, antibakteriyel ve *in vivo* testler gerçekleştirilmiştir. Üre ile işlevselleştirilen membran hariç, üretilen tüm membranların biyouyumlu olduğunu ortaya koymuştur. PVA/Jel/BG ve PVA/Jel/BG/Üre ile muamele edilmiş yaraların *in vivo* makroskopik ve histopatolojik analiz sonuçları, kolajenizasyon ve vaskülarizasyonun arttığını ve anti-enflamatuar bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküllerin üretim optimizasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Üretilen nanopartiküllerin boyutu 222-401 nm arasında bulunmuştur. Üretilen

optimum membranın üzerine kitosan nanopartiküller elektrospreyleme yöntemi ile entegre edilmiştir. Kitosan nanopartiküllere ve üretilen kitosan katkılı membran için SEM, FTIR ve MTT analizleri yapılmış ve ilaç salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, geliştirilen çok işlevli ve biyomimetik özelliklere sahip PVA/Jel/BG, PVA/Jel/BG/Üre ve PVA/Jel/BG/Ibu-Kitosan NP elektrospun membranları faydalı yara örtüleri olarak kullanılma potansiyeline sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Yara Örtüsü, Biyoaktif cam, Üre, Kitosan nanopartikül, İbuprofen



ABSTRACT

Design of a New Wound Dressing Material Based on Organic and Inorganic Doped Drug-Releasing Polyvinyl Alcohol and Gelatin Polymer Fiber Matrix and Investigation of Its Antibacterial and Wound Healing Effect

Tülay Merve SOYLU

Department of Bioengineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Sevil YÜCEL

Co-supervisor: Asst. Prof. Yeliz ELALMIŞ

In this thesis, the production and characterization of nanofiber membranes based on poly(vinyl alcohol) (PVA) and Gelatin (Gel) crosslinked with citric acid (CA) by green electrospinning method including nano 45S5 bioactive glass (BG) and urea was carried out. Various combinations of PVA, Gelatin and BG were prepared and nanofiber membranes with average fiber diameters ranging from 238-595 nm were produced. The morphological, chemical, and mechanical properties, porosity, swelling, water retention and water vapor transmission rate of the membranes were evaluated. PVA:Jel (90:10), 15% CA and 3% BG was determined as the optimum blend for nanofiber membrane production by electrospinning. The membrane obtained using this blend was further functionalized with 10% w/w polymer Urea coating by electrospray method following crosslinking. In vitro biocompatibility tests, antibacterial and in vivo tests were performed. It was revealed that all membranes produced were biocompatible, except for the membrane functionalized with urea. The results of in vivo macroscopic and histopathological analysis of PVA/Gel/BG and PVA/Gel/BG/Urea treated wounds showed increased collagenization and vascularization and an anti-inflammatory effect. In addition, production optimization study of ibuprofen-loaded chitosan nanoparticles was

carried out. The size of the nanoparticles produced was found to be between 222-401 nm. Chitosan nanoparticles were integrated onto the produced optimum membrane by electrospraying method. SEM, FTIR and MTT analyses were performed for the chitosan nanoparticles and the produced chitosan doped membrane and drug release studies were carried out. In conclusion, the developed multifunctional and biomimetic PVA/Gel/BG, PVA/Gel/BG/Urea and PVA/Gel/BG/Ibu-Chitosan NP electrospun membranes may have the potential to be used as useful wound dressings.

Keywords: Wound Dressing, Bioactive glass, Urea, Chitosan nanoparticles, Ibuprofen



1.1 Literatür Özeti

Küresel olarak, hem akut hem de kronik yaralar bireylerin refahı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir ve sağlık sistemleri için önemli mali yükler getirmektedir [1]. Yara örtüleri de dahil olmak üzere Gelişmiş yara bakımı için dünya çapındaki pazarın 2019'da 14,8 milyar £'dan 2024'te 18,6 milyar £'a çıkması beklenmektedir [1]. Ayrıca, cilt yara izlerinin tedavisi, yıllık 12 milyar dolarlık bir pazar olan yara iyileşmesi ile ilişkili ek bir masraftır[2]. Yara iyileşmesi, cildin koruyucu bir bariyer olarak işlevini sürdürmesini sağlayan çok önemli ve son derece organize bir süreçtir[3]. Doğal yara iyileşmesi üç ana aşamada gerçekleşir: enflamasyon, büyüme ve yeniden şekillenme. Basınç, sıcaklık, oksijen seviyeleri ve yaranın nemi gibi çeşitli faktörler yara iyileşmesinde önemli bir rol oynar[3, 4]. Akut yaralar tipik olarak normal iyileşme sürecini takip eder ve 8 ila 12 hafta içinde kapanır [5]. Buna karşın, kronik yaraların iyileşmesi enfeksiyon, diyabet ve periferik vasküler hastalıklar gibi komplikasyonlar nedeniyle 3 aydan uzun sürer [6, 7]. Ayrıca, yara izi oluşumu, önemli fonksiyonel ve estetik sonuçları olabilen yara iyileşmesi ile ilişkili ek bir zorluktur. Hem hipertrofik hem de normal yara izlerini tamamen önlemek ve tedavi etmek zordur[2].

Yarayı enfeksiyondan korumak ve yara iyileşme sürecini hızlandırmak için yara örtüleri geliştirilmiştir[8, 9]. Geleneksel yara örtüleri düşük maliyetleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak yara nemini koruyamamaları, granülasyon dokusuna yapışmaları ve mikroorganizmaların girişini önlemede etkisiz olmaları gibi bazı sınırlamaları vardır [9, 10]. Geleneksel yara örtülerinin sınırlamaları nedeniyle, araştırmacılar yara iyileşme sürecindeki çok yönlü engelleri ortadan kaldırmak için modern yara örtüleri Geliştirmeye odaklanmıştır[9-11]. Modern yara örtüleri biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, eksuda yönetimi, gaz geçirgenliği, nem düzenlemesi, mikrobiyal inhibisyon ve mekanik stabilite gibi önemli avantajlara sahiptir[8-12].

Modern yara örtüleri hidrojeller, hidrokolloidler, aljinatlar, köpükler, filmler ve membranlar dahil olmak üzere çeşitli formlarda bulunmaktadır[9, 11, 12].

Elektrospinning yöntemi ile yara örtü malzemeleri nanofibröz yapıda üretilirler ve bu malzemeler doğal ekstra selüler matriks yapısındaki kolajen, fibronektin gibi fiberlerin yapısını taklit edebilirler. Bu özellik elektrospun yara örtü malzemelerine poroz yapı sağlarken hücrelerin büyümesi ve tutunması için imkan sağlanır. Elektrospinning tekniği ile üretilen malzemelerin porları bakterilerin geçişine izin vermeyecek kadar küçüktür ayrıca yara bölgesinin nem kontrolü, oksijen ve besin geçişide sağlanır[13, 14].

Polivinil alkol (PVA), toksik olmayan yapısı ve biyoyumluluğu ile karakterize edilen tanınmış bir termoplastik polimerdir. Hidrofilik ve suda çözünür özelliklere sahip olan PVA aynı zamanda biyolojik olarak parçalanabilir, yapısındaki -OH grubu hidroliz yoluyla bozunabilirliğin artmasına katkıda bulunur. PVA elektrospinning yöntemi ile kolayca işlenebilen, yeterli kimyasal ve ısıl stabiliteye sahip sentetik bir polimerdir ayrıca canlı dokularla etkileşime girdiğinde herhangi bir toksik etki oluşturmamaktadır[15, 16].

Jelatin omurgalıların vücudunda % 25 oranında bulunan kolajen proteininin hidrolizi ile elde edilen doğal bir polimerdir. Biyobozunur ve biyoyumlu özellikleri yanında yara iyileşmesinde kan durdurucu etkisi ve makrofajları aktive etme özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir[17].

Ergitme yöntemiyle üretilen 45S5 Bioglass® camların bileşimi temel alınarak yapılan araştırmalar, sol-jel tekniğiyle üretilen biyoaktif camların, ergitme yöntemiyle üretilenlere kıyasla daha iyi biyobozunurluk ve biyoaktivite sergilediğini göstermektedir. Sol-jel tekniğiyle üretilen biyoaktif camların nano gözenekli yapıları ve geniş yüzey alanları, hücre cevabını artırarak dokuların iyileşme sürecini hızlandırabileceği konusunda önemli bir potansiyele sahiptir[18]. Üre her ne kadar antibakteriyel etkisi ile yara iyileşmesinde etkili olduğu bilirse de epidermisin doğal nemlendirme faktörü (NMF)'ünün kompleks karışımının bir parçası olarak cilt neminin korunmasında fizyolojik bir anahtar role sahiptir[19], [20]. Ayrıca proteolitik etkisi nedeniyle de nekrotik doku oluşumunu engeller [21].

İlaç dağıtım sistemleri, çeşitli farmasötik bileşiklerin sürekli salınımını sağlamak için etkili bir yaklaşım olarak hizmet eder [22]. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerik nanopartiküller, suda çözünen veya çözünmeyen çeşitli tıbbi ilaçların ve biyoaktif moleküllerin terapötik etkinliğini artırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır[23]. Ayrıca, biyolojik olarak parçalanabilen polimerler zaman içinde toksik olmayan yan ürünlere dönüşme avantajına sahiptir [24].

Katyonik bir polisakkarit olarak karakterize edilen kitosan, kitinin kısmi deasetilasyonu yoluyla elde edilir[25]. Kitosan, yüksek biyobozunurluk ve biyouyumluluk, antijenik olmama, uygun adsorpsiyon özellikleri, toksik olmama ve doğal işlevsellik gibi ayırt edici özellikler sergiler[22, 26]. Kitosan, önemli ilaç yükleme kapasitesi, etkili adsorpsiyon performansı ve uzun raf ömrü nedeniyle ilaç dağıtım alanında çok yönlü uygulamalar bulmuştur[27].

Nonsteroidal antienflamatuar ilaç (NSAİİ) olarak sınıflandırılan ibuprofen, ağrının hafifletilmesi, enflamasyonun azaltılması ve ateşin düşürülmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır[28]. IBP'nin biyolojik etkinliğini arttırmak ve yarı ömrünü uzatmak için nano-polimerik bir sisteme entegre edilmesi önerilmektedir[29].

1.2 Tezin Amacı

Yara tedavisi alanında, yara örtüleri önemli bir yer tutmaktadır ve dünya genelinde bu konuda yapılan araştırmalar ve uygulamalar hızla gelişmektedir. Yara örtüsü, yaranın nemli ve steril bir ortamda kalmasını sağlayarak iyileşme sürecini hızlandırır. Yara örtüleri için farklı polimerler kullanılarak elektroegirme yöntemiyle oluşturulan nanoliflerden oluşan membranlar öne çıkmaktadır. Bu membranların biyolojik etkinliklerini ve mekanik özelliklerini iyileştirmek amacıyla inorganik ve organik bileşenler farklı oranlarda bir araya getirilmekte ve yara bölgesinde daha hızlı iyileşme sağlanmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında PVA jelatin polimerleri ve 45S5 nano biyoaktif cam bir araya getirilerek elektrospinning yöntemiyle membran üretimi optimizasyon çalışması gerçekleştirilecektir. Optimize edilen karışımdaki membran temel alınarak iki farklı özellikte yara örtü malzemeleri üretilecektir.

- (1) PVA ve jelatin polimerleri ile 45S5 nano biyoaktif camın kullanılarak elektrosinning yöntemi ile nanofiber membranların üretim optimizasyonu gerçekleştirilerek optimize membran yüzeyine elektrosprey yöntemiyle üre entegre edilmesi ile çok fonksiyonlu organik ve inorganik katkı PVA-GEL-BG-Üre bileşimli yeni bir yara örtüsü geliştirilmesi amaçlanmaktadır.
- (2) Optimize membran yüzeyi tez çalışması kapsamında üretilen ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküller ile kaplanması ve çok fonksiyonlu ilaç salımlı PVA-GEL-BG-IBU/KNP yara örtüsü üretilmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

PVA jelatin polimerleri yara iyileşmesinde kullanılan ve yara örtüsü olarak kullanımda biyouyumlu ve biyobozunur özellikleriyle yara iyileşmesinde etkilidir. Ayrıca bu polimerlerin elektrosinning yöntemiyle uygulanması da oldukça elverişlidir. Elektrosinning yöntemi ECM yapısına benzer özellikte nanofiber lifler üretebilme kapasitesinden dolayı yara örtüsü uygulamalarında yara iyileşmesini hızlandırmada etkili şekilde kullanılır. 45S5 nano biyoaktif cam yapısında bulunan iyonlar yardımıyla yara iyileşmesinde inflamasyonu azaltıcı kollajenizasyon ve damarlanmayı artırıcı etki göstermektedir. Ayrıca büyüme hormonlarını da uyararak yara bölgesinin hızlı bir şekilde iyileşmesini sağlamaktadır. Üre çok uzun zamandır deri de nemlendirici, debridman ajanı olarak kullanılan bir organik bileşiktir.

(1) PVA jelatin BG ve ürenin bir araya getirilmesiyle çok fonksiyonlu organik ve inorganik katkı PVA-JEL-BG-Üre yara örtüsü BG ve Ürenin sinerjik etkisi ile yara iyileşmesi hızının artırılmasında kullanılabilir.

Kitosan ilaç salımında biyouyumlu ve yüksek yükleme kapasitesinden dolayı oldukça tercih edilmektedir.

İbuprofenin yara örtüsünden kontrollü salımı ile yara iyileşmesine ek olarak ağrı kesici kullanımını da bir araya getirilmesi çok fonksiyonlu etki sağlamaktadır.

(2) Optimize membran yüzeyi tez çalışması kapsamında üretilen ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküller ile kaplanacak ve çok fonksiyonlu ilaç salımlı PVA-JEL-BG-IBU/KNP yara örtüsü üretilerek yara iyileşmesine ek olarak ilaç kullanımı da hasta açısından kolaylaştırılabilir.

GENEL BİLGİLER

2.1 Deri

Deri iç organları dehidrasyon, patojenler ve diğer çevresel etkenlere karşı koruyarak vücut savunmasına katkı sağlayan yaklaşık 1-8 m²'lik geniş bir yüzey alanına sahip vücudun en dış tabakasıdır [30, 31]. Deri epidermis, dermis ve hipodermis olarak 3 katmandan oluşmaktadır[31, 32].

2.1.1 Epidermis

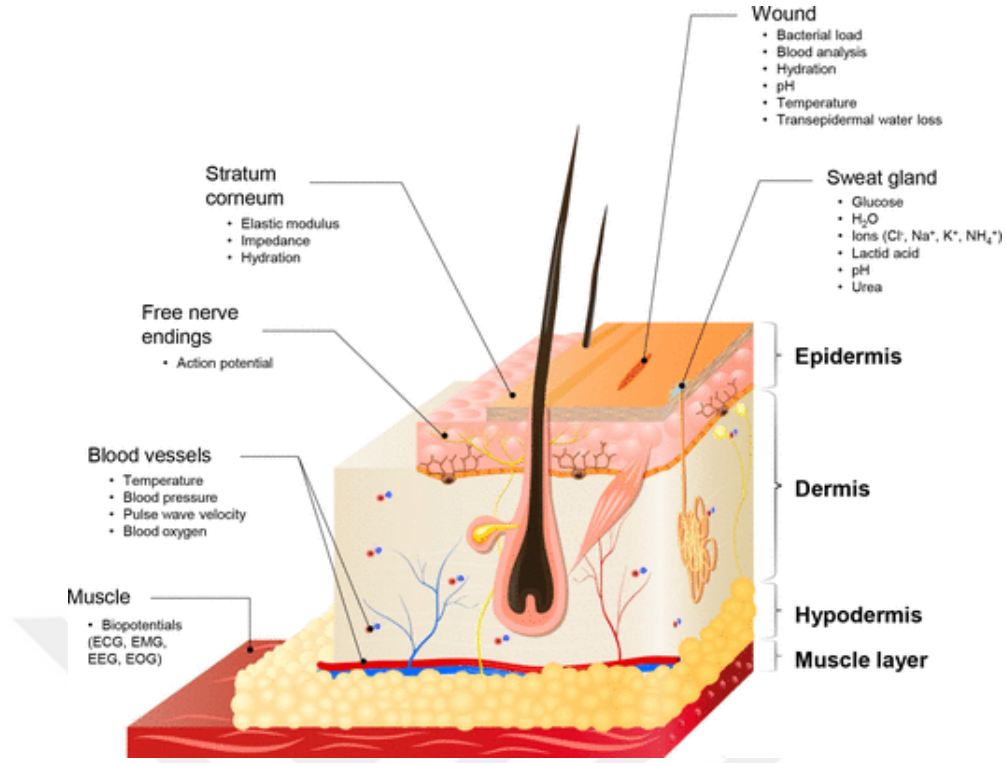
Epidermis, 50 µm ila 100 µm kalınlığında olan ve başlıca keratinositler olmak üzere langerhans hücreleri ve melanositlerden oluşan derinin en dış katmanıdır[31, 32]. Epidermal bariyer, pasif su kaybını önlemek, çevresel kimyasalların emilimini sınırlamak ve mikrobiyal enfeksiyonları engellemek için kritik bir rol oynar. Bu bariyer, terminal olarak farklılaşmış keratinositlerin oluşumu yoluyla mekanik, kimyasal ve mikrobiyal hasara karşı koruma sağlar, bu sürece keratinizasyon olarak adlandırılır. Keratinizasyon sırasında, epidermal hücreler aşamalı olarak olgunlaşarak bazal epidermal katmanlardan Stratum Corneum'un (SC) düzleşmiş hücrelerini oluştururlar. Keratinosit proliferasyonu epidermisin bazal hücre katmanlarıyla sınırlıdır. Bazal tabakadaki mitoz bölünmeden sonra keratinositler farklılaşır ve epidermis boyunca SC'ye doğru göç eder. Bu farklılaşma süreci sonucunda epidermis içinde birkaç keratinosit tabakası oluşur: stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum ve stratum corneum. Her farklılaşma aşamasında, keratinositler farklı belirteç genler ifade ederler. Epidermisin en dış tabakası olan ve kalınlığı 10-20 µm olan SC, epidermal geçirgenlik bariyerinin ana bileşenidir ve derinin işlevselliğinin %90'ından fazlasını oluşturur[33]. Stratum corneum %60 yapısal proteinler, %20 su ve %20 lipidlerden oluşan dinamik ve metabolik etkileşimli bir dokudur[31, 32].

2.1.2 Dermis

Dermis, 2 mm ila 3 mm kalınlıkta ağırlıklı olarak bağ dokusu ve kan damarları içeren derinin orta katmanıdır. Dermis epidermisi destekler ve hipodermise bağlar. Dermis tabakası iki katmandan oluşur bunlar papiller dermis, retiküler dermistir[33]. Papiller dermis kan damarları ve duyuşal sinir uçları tarafından zengin bir şekilde beslenen katmandır, retiküler dermis ise dermisin hipodermis ile temas halinde olan kısmıdır. Fibroblastlar dermisteki baskın hücre tipidir. Kolajenler, elastik lifler ve zemin maddesi salgılar[34]. Dermisin bağ dokusu kolajen ve elastin liflerden oluşur. Kolajen gerilme mukavemetini artırırken, elastik lifler elastikiyet ve esnekliğe katkıda bulunur[32]. Dermis tabakası ayrıca dermis sinir lifleri, duyu reseptörleri, hyaluronik asit, ter bezleri (ekrin ve apokrin bezleri) ve destekleyici glikozaminoglikanlar (GAG) gibi yapıları da içeririr[31, 32]. Dermis, histiyositler adı verilen antijen sunan hücreleri içerir. Bu hücreler, yabancı maddeleri vücuda girdiklerinde fagosite edip parçalayarak ve T hücrelerine antijen sunumunu gerçekleştirirler[34].

2.1.3 Hipodermis

Hipodermis ise yağ ve bağ dokudan oluşan derinin en alt tabakasıdır[30]. Dermisin altında bulunan hipodermis dermisi iç organlara bağlayarak yastıklama, cilt stabilitesi ve termoregülasyon sağlar[32].



Şekil 2.1 Derinin yapısı[35]

2.2 Yara ve Yara Çeşitleri

Normal derinin anatomik yapısında ve fonksiyonunda hasar veya bozulma oluşumu yara olarak tanımlanır. Yara, deri altı dokuya yani damar, tendon, kas, sinir ve kemik dokuya inebilir[36]. Yaralar, yaralanma yöntemi ve onarım zamanı gibi çeşitli kriterlere göre sınıflara ayrılabilir. Klinik olarak yaralar iyileşme zamanı faktörüne göre akut ve kronik yara olarak sınıflandırılır [36]. Genel olarak akut yaralar kronik yaraların sayısından fazla olmasına rağmen 2015 yılında Avustralya’da sadece kronik yara maliyeti 2,85 milyar ABD doları civarı, 2018 yılında ABD’de akut ve kronik yaralar için toplam 28-96 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir [37] Bu verilerden yola çıkılarak yara bakımı büyük bir pazardır, yara bakım ürünleri 15 milyar ABD dolarını aşar, yara izlerinin tedavisi için ise 12 milyar ABD doları daha gerektirmektedir[38]. Ayrıca, cilt yara izlerinin tedavisi, yıllık 12 milyar dolarlık bir pazar olan yara iyileşmesi ile ilişkili ek bir masraftır[39].

2.2.1 Akut Yaralar

Akut yaralar, fonksiyonel ve anatomik olarak normal bir iyileşme prosesi izleyerek kendi kendini onaran yaralardır. İyileşme süresi 5-30 gün arasında değişir. Travmatik doku kaybı veya cerrahi müdahale sonucu oluşabilir [36]. Sağlıklı bir yetişkinde yara iyileşmesi aşamaları 1) hemostaz, 2) uygun iltihaplanma, 3) mezenkimal hücre çoğalması farklılaşması ve göçü, 4) anjiyogenez, 5) epitelizasyon ve 6) kollojen sentezi çapraz bağlanması ve hizalanması olarak gerçekleşmektedir [40].

2.2.2 Kronik Yaralar

Kronik yaralar, hemostaz, inflamasyon, poliferasyon veya yeniden modellenme aşamalarından birinde veya birkaçında iyileşme sürecini olumsuz etkileyen faktörlerin meydana gelmesi sonucunda oluşan yara çeşididir[36]. Bu faktörler; enfeksiyon, diyabet, bağışıklık baskılanması, radyasyon periferik vasküler hastalık vb olabilir[41]. Dünya genelinde insanların %1 'i kronik yaradan etkilenmektedir ve Gelecekte bu sayının yaşlanan nüfusumuz ve yüksek diyabet prevalansı nedeniyle daha çok artacağı düşünülmektedir[42, 43]. Kronik yaralar yaşam kalitesini böbrek ve kalp rahatsızlıkları seviyesinde etkileyebilir hatta bazı hastalar için ölüm oranı kanser ile benzerdir [43]. Kronik yaraların tedavisinde klinik yönetimi en optimuma ulaştırmak yara yatağı hazırlığı gerçekleştirilmektedir.

İyi bir yara yatağı hazırlanması için cansız dokunun debridmanı kritik öneme sahip bir adımdır [42, 43]. Debridman ile yara ortamından cansız doku çıkarılarak, bakteri yükü ve biyofilm azaltılır, enfeksiyon riski en aza indirilir bu şekilde akut yara ortamı elde edilmesi yani sağlıklı granül doku oluşması ve yara iyileşmesinin hızlanması amaçlanmaktadır. Yara debridmanı otolitik, cerrahi, enzimatik, mekanik ve biyolojik olarak çeşitlendirilmektedir. Kronik yaralar, altta yatan nedene bağlı olarak debridman tekrarı gerektirebilir[42].

□ Otolitik Debridman

Otolitik debridman, yara nemli tutulduğunda (örneğin nem tutucu sargılarla) endojen proteolitik enziminin (örneğin, proteolitik, fibrinolitik ve kollajenolitik) kendi kendini aktive etmesi ile cansız dokunun parçalanmasını gerçekleştirmesi işlemidir. Diğer debridmanlara kıyasla daha yavaş olmakla birlikte daha az acı verir ve cerrahi debridmandan daha seçicidir [42, 43].

□ Enzimatik Debridman

Cansız dokuyu uzaklaştırmak için endojen içeren kimyasallar kullanılmaktadır. Otolitik debridmana kıyasla daha hızlıdır [42].

□ Cerrahi Debridman

Bir cerrah tarafından ameliyathane koşullarında gerçekleştirilen yaradaki cansız dokunun makas ve neşter ile uzaklaştırılması işlemidir. Sonuç hızlıdır fakat hastane ortamında bakım gerektirebilir ve bazı durumlarda canlı dokuya zarar verilebilir [42, 43].

□ Biyolojik Debridman

Larval tedavi olarak da bilinir ve *Lucilia sericata*, *Phaenicia sericata* ve *Lucilia cuprina* steril larvalarını kullanarak cansız dokunun atılması işlemidir. İnatçı fibrinli yaraların tedavisinde hızlı ve etkili debridman yöntemidir. Yapılan çalışmalarda hidrojel sargılarla tedavi edilen deneklerden daha fazla rahatsızlık yaşadıkları tespit edilmiştir [42, 43].

□ Mekanik Debridman

Mekanik debridman, ıslak ila kuru pansumanlar, hidrocerrahi, düşük frekanslı ultrasonik debridman veya yüksek basınçlı yara irrigasyonu gibi çeşitli yöntemler kullanılarak gerçekleştirilebilir. Bu yöntemler cerrahi debridmana göre daha az acıdır ancak seçici olmadığından canlı dokuya zarar verebilir [42, 43].

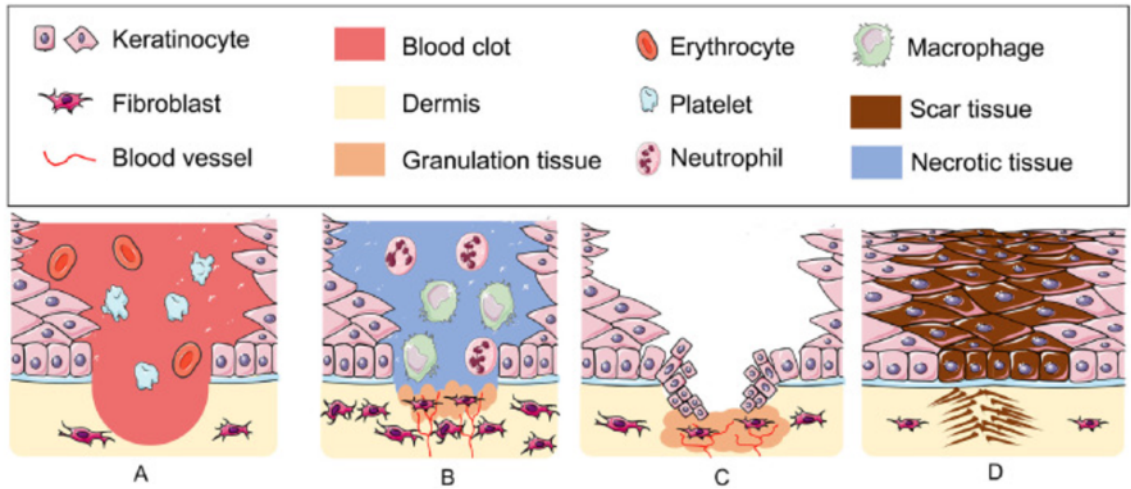
2.3 Yara İyileşme Süreci

Yara iyileşmesi, cildin bariyer görevini tekrardan sağlıklı bir şekilde sürdürebilmesi için yüksek düzeyde kritik ve programlanmış bir süreçtir. Yara ortamının basıncı, sıcaklığı, yeterli oksijen temini ve nemi yara iyileşmesinde önemlidir. Ancak yara iyileşme süreci sınırlı derecede başarılıdır ve bir yara en iyi ihtimalle yaralanmamış derinin %70-80 oranında gerilme mukavemetine ulaşır. Cildin normal yapısını eski haline getirebilmek için yara iyileşmesi 3 adımda gerçekleşir; inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme[38, 41].

- Enflamasyon (Hemen Yaralanma Başlangıcından 4 ila 6. Günlere kadar): Enflamatuvar fazda, kan pıhtılaşması, hemostaz, yara onarımı için poliferatif yanıtı (antimikrobiyal ve sitokin salımı) başlatan lökositlerin infiltrasyonu olayları gerçekleşir[44]. Kolajen pıhtılaşma sürecini aktive eder. Bu şekilde inflamasyon fazı başlamış olur. Oluşan pıhtı kolajen, trombositler, trombin ve fibronektinden meydana gelmektedir. Bu faktörler enflamasyon yanıtını başlatan sitokinler ve büyüme faktörlerini serbest bırakır. Pıhtı oluştuktan sonra ilk olarak nötrofiller hasarlı bölgeye çekilir, kan damarları vazodilatasyon ile yaparak bölgeye hücresel trafiği artırır. Kandaki monositler hasarlı bölgeye çekilerek yaklaşık 48-96 saat sonra makrofajlara dönüşürler. Nötrofil, bakterileri ve cansız dokuları sindirecek olan kostikproteolitik enzimleri serbest bırakır. Yarada bulunan sonraki hücreler lökositler ve makrofajlardır [41]. İnflamasyon fazında yaradaki patojenlerin ve yabancı maddeleri uzaklaştırılması gerçekleştirilir[38, 41].
- Proliferasyon (Epitelizasyon, Anjiyogenez ve Geçici Matriks Oluşumu; 4. Gün- 14. Gün): Poliferatif fazda, yara yüzeyini kaplamak için epitel doku oluşumu (epitelizasyon), anjiyogenez, yara bölgesini doldurmak için granülasyon dokusunun oluşması ve kolajen birikimi gerçekleşir[41, 44]. Öncelikle epitel hücreleri oluşur ve normal epidermis katmanları 2 veya 3 gün içerisinde yeniden yapılandırılır. Anjiyogenez ile yara bölgesinin yeterince beslenebilmesi için kılcal damar oluşumu gerçekleşir.

Granülasyon fazı ve doku birikimi için kılcal damarlar tarafından sağlanan besinler gereklidir ve bunun olmaması durumunda kronik olarak iyileşmeyen yara durumu ortaya çıkar. Yara bölgesi kenarında bulunan epitel hücreler su kaybını engellemek ve bakteri istilasını önlemek amacıyla çoğalarak normal cilt bariyerini oluşturmaya çalışırlar[41].

- Yeniden Şekillenme (Olgunlaşma 8. Gün- Yıl 1): Klinik olarak bu faz en önemli aşamadır ve yeniden şekillenme yani olgunlaşmanın temel özelliği organize ve iyi huylu bir ağda kolajen birikmesidir. Hastaların normal matriks birikimini olumsuz etkileyen sorunları varsa (diyabet, kemoterapi... vb.) yaranın iyileşmesi büyük ölçüde tehlikeye girer. Net kolajen sentezi yaralanmadan sonra 4 veya 5 hafta devam eder normal deride bulunan kolajen lifi kalınlığı ve yönü ile gerilme mukavemeti arasında pozitif bir korelasyon vardır. 1 yıllık olgunlaşma evresinden sonra bile yaranın gücü yaralanmamış derinin gücüne ulaşamaz[38, 41].



Şekil 2.2 Yara iyileşme süreci [45]

A: Hemostaz; B: Enflamasyon C: Proliferasyon. D: Yeniden şekillenmesi

2.4 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler lokal (yaranın özelliklerini doğrudan etkileyen faktörler; oksijen ve enfeksiyon) ve sistemik (bireyin sağlık ve hastalık durumu; yaş, stres, diyabet, obezite, beslenme vb.) olarak sınıflandırılabilir. Faktörlerin çoğu birbirleriyle ilişkilidir ve birden fazla faktör yara iyileşmesini etkileyebilir [40]. Doğal yara iyileşmesi sürecini olumsuz etkileyen başlıca faktörler; enfeksiyonlar, periferik vasküler hastalıklar ve nöropatilerdir [46].

2.5 Yara Örtüsü

Yara örtüleri, yarayı enfeksiyondan korumak ve yara iyileşme sürecini hızlandırmak için geliştirilmiştir [47, 48]. Optimum bir yara örtüsü, yara iyileşme sürecindeki çok yönlü engelleri ortadan kaldırabilmeli bununla birlikte biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, eksüdayı uzaklaştırabilme, gaz geçirgenliği, nem kontrolü, mikroorganizmaların geçişini engelleme ve mekanik stabilite gibi özelliklere sahip olmalıdır [33, 49]. Doğal, sentetik veya doğal/sentetik polimerler yara örtüsü olarak kullanılabilmektedir. Doğal polimerler yüksek biyoyumluluk gösterirken, sentetik olanlar ise düşük biyoyumluluk göstermekte fakat mekanik dayanıklılık ve ayarlanmış özelliklere gibi avantajlara sahiptir [49]. Geleneksel yara örtüleri düşük maliyetleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak yaranın nemini koruyamamaları, granülasyon dokusuna yapışmaları ve mikroorganizmaların girişini önlemede etkisiz olmaları gibi bazı sınırlamaları vardır[47, 48] Geleneksel yara örtüsünün sınırlamaları nedeniyle, araştırmacılar yara iyileşme sürecindeki çok yönlü engelleri ortadan kaldırmak için modern yara örtüleri geliştirmeye odaklanmıştır[47, 48, 50]. Modern yara örtüleri biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, eksuda yönetimi, gaz geçirgenliği, nem düzenlemesi, mikrobiyal inhibisyon ve mekanik stabilite gibi önemli avantajlara sahiptir[31, 47, 48, 51]. Modern yara örtüleri hidrojel, hidrokolloidler, aljinatlar, köpükler, filmler ve membranlar dahil olmak üzere çeşitli formlarda bulunmaktadır [48, 50, 51].

2.5.1 Hidrojeller

Hidrojeller hidrofilik, suda çözünmeyen ve genellikle fiziksel veya kimyasal çapraz bağlama yoluyla üç boyutlu yapıda, doğal/sentetik polimerlerden oluşur. Kendi ağırlıklarının %10'undan binlerce katına kadar suyu emme kapasiteleri bulunmaktadır. Yarayı nemli tutarlar ve buna bağlı olarak nekrotik dokunun temizlenmesine katkı sağlarlar. Şeffaf olduklarından olayı yara bölgesinin iyileşme süreci izlenebilir[33, 52]. Hidrojellerin mekanik özellikleri sınırlıdır bu nedenle çapraz bağlanarak veya ikincil bir membran kullanılarak geliştirilebilir[49]. Bozunma hızlarının ayarlanabilir olması ilaç taşıyıcısı olarak kullanımında avantaj sağlar. Hyaluronik asit, antimikrobiyaller ve antibiyotikler vb gibi ajanları içeren hidrojel yara örtüleri (Örn; Oxyzyme) geliştirilmiştir. Yaralarda otolitik debridmanı kolaylaştırmak amacıyla hidrojeller kullanılabilir[53]. Basınç ülseri, cerrahi yaralar, yanıklar, radyasyon dermatiti, minimal ve orta eksüdalı yaralar vb. kullanılabilir[33, 52].

2.5.2 Hidrokolloidler

Hidrokolloid yara örtüleri sentetik kauçuk ve yapışkan malzemelerle karıştırılmış hidrojel yara örtüleridir. Karboksimetilselüloz, pektin veya jelatin gibi mükemmel emme kapasitesi olan malzemelerden oluşur[52, 53]. Oklüzif özelliklerinden dolayı yaraya su, oksijen veya bakteri geçişine izin vermez. Yara yüzeyinde pH düşmesine neden olduğundan bakteri üremesini engelleyebilir. Epitelleşme ve granülleşmeye yardım eder ve otolitik debridmanı teşvik edebilir. Tıkayıcı yapılarından dolayı yara veya çevresindeki doku enfekte ise hidrokolloid yara örtüleri tercih edilmemelidir. Diyabetik ayak ülserinde kullanılmamalıdır[53]. Şiddetli eksüdatif yaralarda kullanılabilir[52].

2.5.3 Aljinatlar

Sodyum aljinat kahverengi deniz yosunundan elde edilen ve yara eksüdasıyla temas ettiğinde jel oluşturabilen lifli malzemelerdir. Mükemmel eksüda emilimi, hemostaz özelliklerine sahiptir. Bu yara örtüleri yaranın şekline göre kesilebilen tabaka elyaftan yapılmaktadır. Yüksek eksüda absorpsiyonuna sahip olduğundan çok miktarda eksüda içeren enfekte ve enfekte olmayan yaralarda kullanıma uygundur fakat kuru veya düşük eksüdalı yaralarda kullanılmamalıdır[49, 52].

2.5.4 Köpükler

Köpük yara örtüleri Poliüretan veya silikon bazlıdır. Yarı geçirgenlik, ısı yalıtımı, antimikrobiyal aktivite gibi özelliklere sahiptir. Enfekte yaralarda kullanımı uygundur[52]. Ayrıca hidrojel ve aljinat yara örtülerine ikincil yara örtüsü olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptirler [53].

2.5.5 Süngerler

Süngerler yüksek gözenek yapısına sahip ve buna bağlı olarak nem tutma ve eksuda emme kapasitesi yüksek polimer yapıda yara örtü malzemeleridir. Mikron boyuttaki gözenekler doku büyümesini teşvik etmektedir. Süngerlerin gözenek yapısı polimer konsantrasyonu ve türü çapraz bağlama derecesi ile ayarlanabilir [33]. Örneğin Kolajen süngerler yüksek gözeneklilik ve su tutma kapasitesine sahiptirler ancak hızlı bozunurlar [49]. Kuru eskarlı yaralar ve 3. Derece yanık yaralarında kullanım için uygun değildir [33].

2.5.6 Filmler

Filmler ince elastik polimerlerden üretilen gözenekli yapıda, oksijen ve nemi geçirebilen, mikroorganizmaların geçişini engelleyen, otolitik debridmanı destekleyen ve yara bölgesine uygun şekilde şekillendirilebilen yara örtü malzemeleridir. Sınırlı emme kapasitelerinden dolayı hafif eksudalı yaralarda, ince yanık yaralarında, venöz katater bölgelerinde kullanıma uygundur. Filmler antibiyotik, nanopartikül vb. biyoaktif ajanlar için mükemmel taşıyıcı olmasından dolayı işlevselleştirilebilir [33, 52].

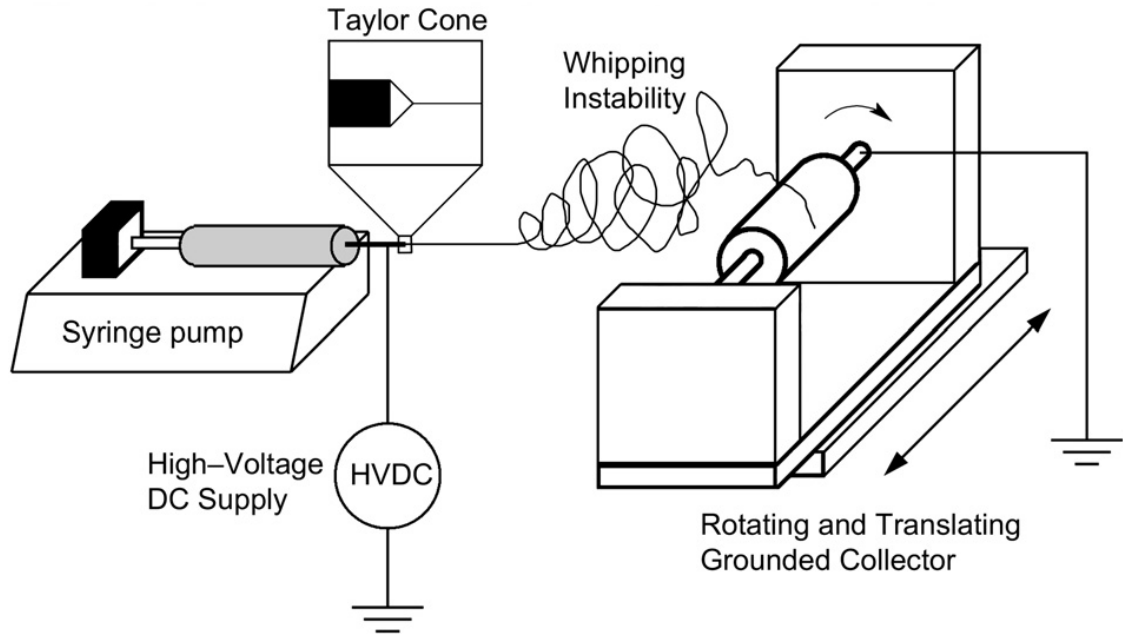
2.5.7 Fiberler

Elektrospun yara örtü malzemeleri yüksek yüzey alanı, yüksek gözeneklilik, gelişmiş eksuda absorpsiyonu, su ve oksijen geçirgenliği, eksojen mikroorganizmaların geçişini engelleyen küçük gözenek çapı gibi birçok avantaja sahiptir[33]. Elektrospinning basit, hızlı ve verimli bir yöntem olduğundan nano lifli yara örtüsü üretimi için kullanımı oldukça yaygındır[54].

2.6 Elektrosinning Yöntemi ve Yara Örtüsü Üretiminde Kullanılması

2.6.1 Elektrosinning Yöntemi

Tipik bir elektrosinning düzeneği, içinden elektrosin yapılacak sıvının zorlandığı bir kılıcaldan sıvıya yük enjekte eden pozitif veya negatif polariteye sahip bir yüksek voltaj kaynağından oluşur. Elektrosinning yönteminde elektrik alan kuvveti sıvının yüzey gerilimini aştığında Taylor konisinin sonunda bir fiber jet dışarı atılır. Fiber jeti atmosfer boyunca ilerleyerek çözücünün buharlaşmasını sağlar ve sonunda katı polimer fiberlerin kolektör üzerinde birikimi gerçekleşir[55].



Şekil 2.3 Elektrosinning sisteminin şeması [55]

Elektrosinning yönteminde pürüzsüz ve boncuksuz lif oluşumu elektroēirme parametrelerinden etkilemektedir. Bu parametreler voltaj, iğne toplayıcı arası mesafe, akış hızı, çözücü, polimer konsantrasyonu (viskozite) ve çözelti iletkenliğidir[56]

Tablo 2.1 Elektrospinning parametrelerinin fiber morfolojisi üzerindeki etkileri [55]

Parametre	Fiber morfolojisine etkisi
Voltaj ↑	Fiber çapı önce ↓ , sonra ↑ (monoton değil)
Akış Hızı ↑	Fiber çapı ↑(akış hızı çok yüksekse boncuklu morfolojiler oluşur)
İğne- Toplayıcı arası mesafe	Fiber çapı ↓ (iğne ve toplayıcı arasındaki mesafe çok kısa ise boncuklu morfolojiler oluşur)
Polimer Konsantrasyonu (Viskozite)	Fiber çapı ↓ (optimum aralıkta)
Çözelti iletkenliği ↑	Fiber çapı ↓(geniş çap dağılımı)
Çözücü uçuculuğu ↑	Fiberler mikro-doku sergiler (yüzeylerinde yüzey alanını artıran gözenekler)

- Voltaj: Uygulanan elektrik alanının gücü, çap olarak birkaç mikrondan onlarca nanometreye kadar olan liflerin oluşumunu kontrol etmektedir[55]. Uygulanan voltajın kritik değeri polimerden polimere değişmektedir ve uygulanan voltajın artmasıyla daha ince polimer lifleri elde edilmektedir. Bunun yanında çok zayıf ya da çok güçlü bir voltaj boncuklu liflerin oluşumuna yol açabilmektedir[56].
- Akış Hızı: Polimer akış hızı nanoliflerin morfolojisi üzerinde bir etkiye sahiptir ve ayrıca lif morfolojisinin yanı sıra lif gözenekliliğini de etkileyebilir. Ek olarak, yüksek akış hızlarında, liflerin toplayıcıya ulaşmadan önce tamamen kurumaması nedeniyle önemli miktarlarda boncuk kusurları fark edilmektedir. Eksik lif kurutması ayrıca şerit benzeri oluşumuna yol açabilmektedir[55, 56].

- İğne-Toplayıcı mesafesi: düzgün ve homojen elektrospun nanolifler elde etmek için iğne toplayıcı mesafesinin optimum olması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarla mesafe kısa tutulduğunda boncuk kusurlu ve büyük çaplı mesafelerin olduğu mesafe uzatıldığında ise fiber çaplarının azaldığı tespit edilmiştir. Mesafe kısa tutulduğunda oluşan boncuk kusurlarının, polimer fiberin yetersiz kurumamasından kaynaklandığı belirtilebilir [55, 56].
- Polimer Konsantrasyonu (viskozite): Polimer konsantrasyonu çözeltinin hem viskozitesini hem de yüzey gerilimini etkilemektedir [55]. Elektrospinning yüklü bir jetin tek eksenli gerilmesine dayanan bir süreçtir. Yüklü jet ise polimer konsantrasyonundan önemli ölçüde etkilenir. Düşük polimer konsantrasyonunda uygulanan elektrik alanı ile dolanmış polimer zincirlerinin toplayıcıya ulaşmadan parçalanmasına neden olur ve böylece boncuk kusuru ortaya çıkar. Polimer konsantrasyonu kritik değerin üzerine çıkarıldığında ise çözeltinin viskozitesinin artmasına bağlı olarak çözeltinin iğne ucundan akışı zorlaşacak ve iğne ucunda polimerin kuruması gerçekleşecektir. Optimum polimer konsantrasyonunda ise viskozitedeki artış ile polimer zincirlerinin dolaşması artar ve yüzey geriliminin üstesinden gelinerek istenen boncuksuz fiberler elde edilir[56].
- Çözelti İletkenliği: Çözelti iletkenliği Taylor konisi oluşumunu etkilemekle birlikte nanoliflerin çaplarının da kontrol edilmesinde etkilidir. Düşük iletkenliğe sahip çözeltilerde Taylor konisi oluşumunu sağlayacak yeterli yük olmadığından elektrospinning işlemi gerçekleştirilemez. İletkenliğin kritik değerin üzerine çıkarılması da aynı şekilde Taylor konisi oluşumunu etkiler ve elektrospinning prosesini engeller[56].
- Çözücü Uçuculuğu: Çözücü seçimi, liflerin oluşturup oluşturamayacağı ve lif gözenekliliğini etkileyip etkilemediği konusunda da kritik öneme sahiptir. İğne ucu ile toplayıcı arasında yeterli çözücü buharlaşmasının gerçekleşmesi için uçucu bir çözücü kullanılması gereklidir[55].

2.6.2 Elektrospinning Yöntemi ile Yara Örtü Malzemelerinin Üretimi

Elektrospinning basit, hızlı ve verimli bir yöntem olduğundan, nanolif sargıların üretimi için yaygın olarak kullanılmaktadır [54]. Elektrospun fiber matlar, yüksek yüzey alanı, yüksek gözeneklilik, fiziksel ve kimyasal özelliklerin modülasyonu için fiber yüzeyleri işlevselleştirme yeteneği, eksüda emilimi için artırılmış kapasite, su ve oksijene karşı artırılmış geçirgenlik ve ayrıca eksojen infiltrasyonunun etkili bir şekilde azaltılmasıyla ilgili küçük gözenek çaplarının varlığı gibi dikkate değer özelliklere sahiptir[57, 58]. Ayrıca, elektroöğirme işlemiyle oluşturulan lifli mimari, doğal hücre dışı matrise (ECM) benzerlik gösterir ve hücre bağlanmasını ve çoğalmasını teşvik eder[59]. Bu avantajlar, elektroöğirme yönteminin son yıllarda biyomalzeme üretiminde ön plana çıkmasını sağlamaktadır [46].

Elektrospinning yöntemi hem doğal hem de sentetik polimerlerin uygulanmasında kullanıma uygundur. Elektrospun kompozit matrislerin imalatı yoluyla, sentetik biyopolimerlerin sağlam mekanik özelliklerini ve azaltılmış bozunma oranlarını doğal polimerlerin doğal biyoaktif özellikleriyle entegre etmek mümkün hale gelmektedir [46, 59].

2.7 Polivinil alkol (PVA) ve Yara İyileşmesine Etkileri

Polivinil alkol (PVA), uygun kimyasal ve termal stabilite, biyoyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir ve biyomekanik gibi önemli özelliklere sahip yarı kristalli suda çözünür sentetik bir polimerdir [15, 54, 60, 61]. Özellikle elektrospinning ile nanofiber malzeme üretim kapasitesi nedeniyle yara örtülerinin üretiminde öne çıkmaktadır [54]. PVA fiziksel (dondurma-çözme, UV maruziyeti ve ısı işlem) veya kimyasal (glutaraldehit, formaldehit veya glioksal gibi bazı aldehitler ve 1,2,3,4-bütan- tetrakarboksilik asit, sitrik asit gibi polikarboksilik asitler) yöntemlerle kolaylıkla çapraz bağlanabilir[62, 63]. Sitrik asit bir hidroksil ve üç karboksil grubu içeren doğal bir polisakkarittir, yeşil elektrospinning işlemine izin veren doğal çapraz bağlama maddesi olarak kullanılabilir ve yüksek sıcaklıkta karboksil grupları ile PVA'nın hidroksil grupları arasında ester bağları oluşturarak PVA'nın çapraz bağlanmasını sağlar [64, 65].

2.8 Jelatin ve Yara İyileşmesine Etkileri

Jelatin (Jel), kolajenden türetilen biyoyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen doğal bir polimerdir [66]. Ayrıca jelatin, hücrelerdeki integrin reseptörlerine bağlanan peptit dizilerine sahiptir, bu da yara sargısı uygulamalarında hücre yapışmasını teşvik etmede önemli bir rol oynamasına yardımcı olur[66]. Maliyet etkinliğine rağmen, biyomedikal uygulamalarda kullanım için uygunluğu, bozulma eğilimi ve düşük mekanik mukavemet gibi bazı dezavantajlarla sınırlıdır. Bu zorluklar jelatinin polivinil alkol (PVA) gibi polimerlerle birleştirilmesiyle aşılabılır [67, 68]

2.9 45S5 Biyoaktif Cam ve Yara İyileşmesine Etkileri

Biyoaktif camların kemik rejenerasyonu için kullanımı, osteojenik hücreleri uyarma özellikleri nedeniyle iyi belgelenmiştir[69]. Son çalışmalar 45S5 biyoaktif camın (ağırlıkça %45 SiO₂, %24,5 CaO, %24,5 Na₂O ve %6,0 P₂O₅) yumuşak dokularla etkileşime girebildiğini ve anjiyogenezi teşvik ederek ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonunu artırarak hızlandırılmış yara iyileşmesinde etkili olduğunu ortaya koymuştur [70-72] Ayrıca, 45S5 biyoaktif cam nanopartiküllerinin kan pıhtılaşmasını hızlandırdığı, yüzey pürüzlülüğünü, ıslanabilirliği ve yara örtüsü malzemelerinin genel biyoyumluluğunu artırdığı bildirilmiştir[73].

2.10 Üre Kristali ve Yara İyileşmesine Etkileri

Doğal Nemlendirme Faktörleri (NMF) cildin nemlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. NMF seviyelerindeki azalma stratum corneum da su kaybına neden olmakta ve cildin elastikiyetini etkilemektedir. Üre cildin SC tabakasında %7 civarında bulunan doğal nemlendirici bir faktördür. Cildin doğal nemlendirme faktörünün bir bileşeni olan üre, cildin neminin ve bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynamaktadır[74].

Üre, nemlendirme, keratolitik etki, antimikrobiyal savunma, epidermal proliferasyonun düzenlenmesi ve cildin bariyer işlevi için gereklidir ve suda yüksek oranda çözünür olduğundan dermatolojide sıklıkla kullanılır.

Ürenin farklı konsantrasyonlardaki etkileri şu şekildedir; Düşük konsantrasyonda (%2–%10), nemlendirici ve keratolitik ajan orta konsantrasyonda (%10–%30), keratolitik ajan ve yüksek konsantrasyonda (%30) nekrotik dokunun giderilmesinde cildin bariyer fonksiyonunun nemlendirilmesi ve optimize edilmesi [75].

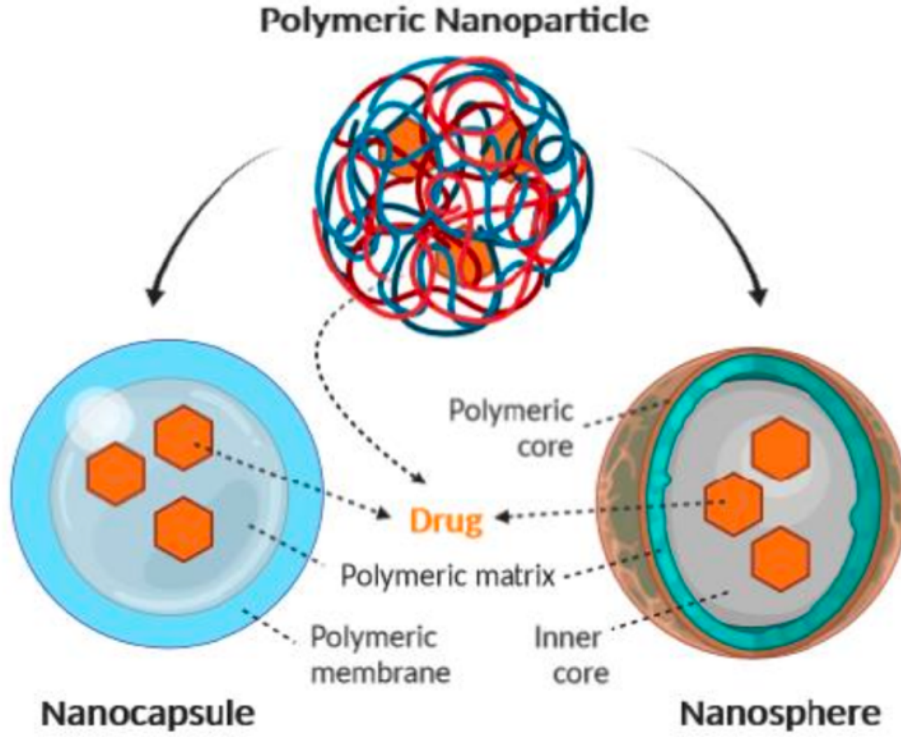
2.11 Kontrollü İlaç Salımı

Suda az çözünen ilaçlar için uygun nano-taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi son zamanlarda üzerinde en çok çalışılan konulardan biridir. Çünkü ilaçların büyük bir kısmı suda az çözünür, buna bağlı olarak az miktarda adsorbe edilir ve düşük biyoyararlılık özelliği gösterir [76].

2.11.1 Polimerik Nanopartiküllerin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı ve Salım Mekanizmaları

Polimerik nanopartiküller, 10-1000 nm aralığında bir boyuta sahip katı koloidal partiküllerdir ve ilacı tutulabilen veya kapsülleyebilen biyobozunur ve biyouyumlu polimerler veya kopolimerlerden elde edilirler. İlaç polimer yüzeyinde fiziksel olarak tutulabilir veya kimyasal olarak yüzeye bağlanabilir. Bu nano-taşıyıcılar, küçük boyut, biyolojik bozunabilirlik, suda çözünürlük, toksik olmama, uzun raf ömrü ve depolama sırasındaki stabilite gibi çekici özellikleri ile bilinmektedir. Polimerik nanoparçacıkların ana işlevi, farmasötik maddeyi belirli bir etki bölgesine ulaştırmak, daha yüksek bir ilaç konsantrasyonu elde etmek ve uçucu ilaçların stabilitesini ve ilacın etkinliğini ve verimliliğini arttırmaktır[77].

Polimerik nanopartiküller, hazırlama yöntemlerine göre sınıflandırılır. Bunlar nanoküre (ilacın polimer matrisine kovalent bağlandığı) ve ilacı çevreleyen bir polimer membrandan (ilacın polimer içerisinde hapsedilmiş olduğu) oluşan nanokapsüllerdir [78, 79].



Şekil 2.4 Nanoküre ve Nanokapsül Yapısı[80]

Başlıca kontrollü ilaç salım mekanizmaları; gözeneklerin su dolması yoluyla ilaç difüzyonu, polimer matrinden difüzyon, ozmotik pompalama ve erozyondur[81].

2.11.1.1 Gözeneklerin su dolması ile ilaç difüzyonu:

Bozunabilir polimerik ilaç salım sistemlerinde su polimerler tarafından emilir, bozunmaya başlar. Zamanla su dolu gözenekler oluşur ve gözeneklerin boyutu büyür. Bu sistemde ilaç salım hızı bir gözenek ağı boyunca difüzyonla kontrol edilir.

2.11.1.2 Polimer matrinden difüzyon:

Bozunmayan ilaç salım sistemlerinde ilaç molekülleri polimer matrinden dışarı difüze olur salım hızı sabittir.

2.11.1.3 Ozmotik pompalama:

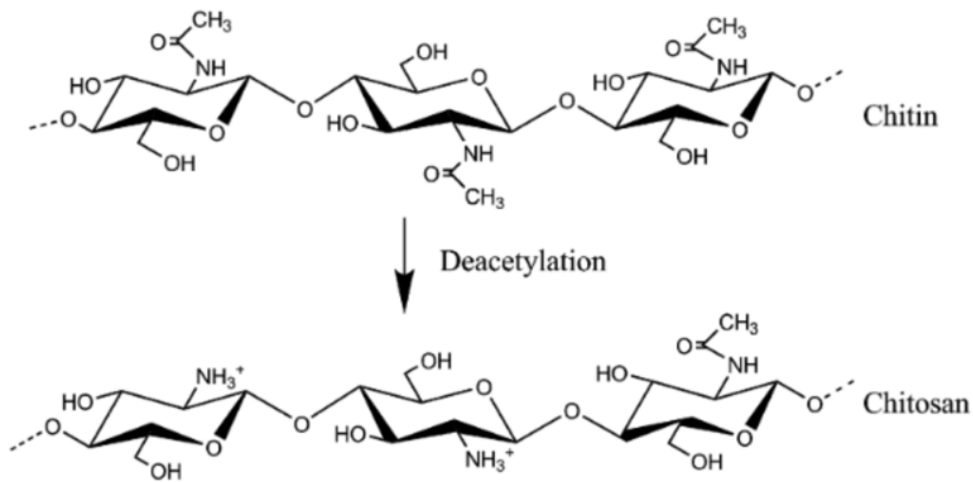
Su dolu gözeneklerden ilaç taşınmasının konveksiyonla gerçekleşmesi yoludur. Suyun şişmeyen bir sisteme akması ozmotik basınçtan kaynaklanır ve bu kuvvet sonucunda ilaç salımı ozmotik pompalama yolu ile gerçekleşir.

2.11.1.4 Erozyon:

Yüzey erozyonu ve yığın erozyonu olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Yüzey Erozyonu, polimer matrisin yüzeyden başlayarak bozunması ile gerçekleşir. Erozyon hızı su penetrasyonu hızından yüksek olduğu durumlarda gerçekleşir. Erozyon kinetiği kontrol edilebilir ve birçok ilaç salım uygulamaları için idealdir. Ayrıca yavaş su geçirgenliğinden dolayı suya hassas ilaçların korunması avantajı bulunmaktadır. Yığın Erozyonu, suyun penetrasyonu hızının erozyon hızından yüksek olduğu durumlarda gerçekleşir. Tüm matris homojen bir şekilde bozunur[81].

2.12 Kitosan ve Kitosan Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri

Kitin, doğada selülozdan sonra en fazla bulunan, N-asetil-D-glukozaminden oluşmuş önemli polisakkaritlerden biridir. Kitinin deasetillenmiş bir türevi olan kitosan, β -(1,4)-2-asetoamido-2-deoksi-D-glikoz ve β -(1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glikoz ünitelerinin bir kopolimeridir. Kitosan da yapı olarak selüloza benzemektedir ve selüloz gibi bir fiberdir [82].



Şekil 2.5 Kitin ve Kitosanın yapısı[83]

Kitosan, suda çözünmez; ancak pH değeri 6.5'ten düşük olan asidik ortamlarda oldukça iyi çözünür. Formik, tartarik, sitrik ve asetik asit gibi seyreltik çözeltilerde iyi çözünme gösterir. Kitosanın, kitin ve selülozdan farklı olarak sahip olduğu amin grubu, çözünme sırasında protonlanır ve bu nedenle kitosan pozitif yüklü hale gelir [84]. Bu özellik, kitosanın katyonik bir polisakkarit olduğunu göstermektedir. Diğer polimerlerin aksine, kitosan pozitif yüklü (zayıf bazik gruplardan dolayı) hidrofilik bir polimerdir [85]. Bu özelliklerinden dolayı, kitosan negatif yüklü polimerler, makromoleküller ve polianyonlar gibi bileşiklerle etkileşebilme kabiliyetine sahiptir. Ayrıca, kitosan biyoyumlu, toksik olmayan, stabil, biyolojik olarak parçalanabilir ve sterilize edilebilir özelliklere sahiptir [86].

2.12.1 Kitosan Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri

Kitosan anyonlarla temas ettiğinde jel ve boncuk oluşturma eğilimi gösterir. Kitosan nanopartikülleri hazırlamak için emülsiyon-çapraz bağlama, emülsiyon-damlacık birleştirme, çöktürme, ters misel yöntemi ve iyonik jelleşme teknikleri kullanılabilir. Üretim yöntemlerine göre partikül boyutu, stabilitesi, salım kinetik profili ve toksisite gibi faktörler ayarlanabilir. Kitosan nanopartikülleri kar taneleri ve küresel şekil gibi düzenli bir araya gelme şekilleri sergiler[87, 88].

2.12.1.1 Emülsiyon-çapraz bağlama

Bu yöntem kitosan nanopartikül üretiminde kullanılan ilk yöntemdir. Ayrıca hem kitosan nanopartikül hem de mikropartikül üretimine elverişlidir. Kitosan çözeltisi bir yağ fazında emülsiyon haline getirilir ve yağ içinde su emülsiyonu geliştirmek amaçlanır. Yüzey aktif madde kullanılarak sulu damlacıklar stabilize edilir. Kitosanın reaktif amino gruplarıyla gluteraldehitin aldehit grupları çapraz bağlanarak çapraz bağlama işlemi gerçekleştirilir. Bu yöntemde sulu parçacıkların boyutu ayarlanarak veya karıştırma hızı ile nanopartikül boyutu kontrol edilebilir. Ancak bu yöntemde organik çözücülerin ve gluteraldehit gibi toksik çapraz bağlayıcıların kullanılması hücre canlılığı üzerine olumsuz etki yapabilmesinden dolayı dezavantajdır. Buna ek olarak yıkama aşamasında reaksiyona girmemiş çapraz bağlayıcıların tamamen uzaklaştırılması zordur[87, 88].

2.12.1.2 Emülsiyon-damlacık birleştirme

Bu yöntem emülsiyon çapraz bağlama yönteminin bir türevidir ve ilk olarak mikropartiküllerin üretimi için önerilmiştir. Sıvı parafin yağı içinde ilaç ve sulu kitosan çözeltisi, diğer tarafta NaOH'ın sulu kitosan çözeltisi olarak iki ayrı emülsiyon hazırlanır. Bu emülsiyonlar yüksek karıştırma altında bir araya getirilerek emülsiyon damlacıklarının rastgele çarpışması sağlanır. NaOH çökeltici ajan olarak göre yapar ve kitosan nanopartiküllerini katılaşmasını sağlar. Bu yöntemde kitosan nanopartiküller emülsiyon damlacıklar içerisinde oluşurlar [87, 88].

2.12.1.3 Çöktürme

Çöktürme yönteminde , kitosan öncelikle asetik asit içerisinde çözülür sonra kitosan çözeltisi yüksek karıştırma , püskürtme gibi yöntemlerle etanol, metanol ve sodyum hidroksit gibi alkali çözeltilere eklenerek nanopartiküllerin oluşumu sağlanır. Nanopartiküllerin ayrıştırılması için filtrasyon veya santrifüj kullanılır [87].

2.12.1.4 Ters Misel Yöntemi

Kitosan nanopartikül üretimi geleneksel Yağ/Su fazının aksine ters miseller Su/Yağ fazında oluşurlar. Ters misel yönteminde n-hekzan gibi bir organik çözücünde lipofilik bir yüzey aktif madde kullanılarak Su/Yağ emülsiyonu oluşturulur. Kitosan, ilaç ve gluteraldehit içeren sulu faz sürekli karıştırma altında organik faza eklenir. Çözücü buharlaştırılmasıyla nanopartiküller elde edilir. Bu yöntemde çapraz bağlayıcı miktarı arttıkça partiküllerin boyutlarında artış olduğu bildirilmiştir [87, 88].

2.12.1.5 İyonik jelleşme

Kitosanın yapısında bulunan amin grupları asidik çözeltilerde NH^{3+} oluşturmak üzere protonlanır. Kitosan amin gruplarının protonlanması ile katyonik özellik göstermektedir ve katyonik yapısından dolayı polianyonlarla moleküller arası ve moleküller içi çapraz bağlanma gerçekleştirerek hidrojel oluşturma kapasitesi gösterir. Fiziksel çapraz bağlanma toksik reaktiflerin kullanılmaması ile istenmeyen etkilerin azaltılması ve gelişmiş biyouyumluluk açısından oldukça ilgi görmektedir.

İyonotropik jelleşme tekniğinde, katyonik bir polisakkarit olan kitosan, anyonik bir polielektrolit olan TPP ile etkileşime girerek fiziksel çapraz bağlanma gerçekleştirir. Bu etkileşim bir jel matrisinin oluşmasına yol açarak küresel formda kitosan nanopartiküllerinin üretimiyle sonuçlanır. Elde edilen süspansiyondan kitosan nanopartiküllerin ve reaksiyona girmemiş TPP'ın ayrılması santrifüj yöntemi kullanılarak yapılır. Kitosan nanopartiküllerinin sentezi için geliştirilen çok sayıda yöntem arasında, iyonik jelleşme tekniği, organik çözücü içermemesi, toksik olmaması, hazırlama sürecinde kullanışlı ve kontrol edilebilir olması gibi avantajları nedeniyle büyük ilgi görmüştür [87-90].

2.12.2 Kitosan Nanopartiküllerin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı

Kitosan nanopartiküller biyobozunur , kararlı, daha az toksik, biyouyumlu, yerinde jelleşme özellikleri, mukoadezif karakteri ve hazırlanması basit olduğundan ilaç salım uygulamaları için çokça tercih edilirler. Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi tarafından güvenli olarak onaylanmıştır. Kitosanın sulu asidik çözeltide çözünmesi de tehlikeli organik çözücülerin kullanımını gerektirmemesi yönünden avantaj sağlamaktadır. Kitosan NP'ler ilaç dağıtımında etkilidir ve ayrıca ilaçların terapötik etkinliğini artırır[91]. Kitosan, önemli ilaç yükleme kapasitesi, etkili adsorpsiyon performansı ve uzun raf ömrü nedeniyle ilaç dağıtımı alanında çok yönlü uygulamalar bulmuştur[22, 27].

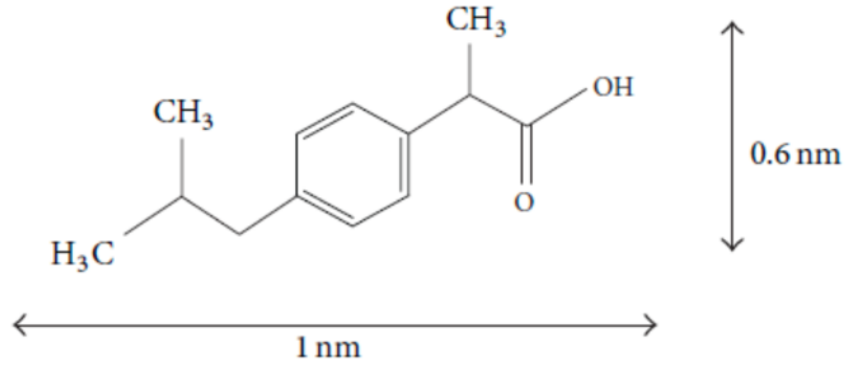
2.13 İbuprofen

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) sınıfına dahil edilen ibuprofen (α - metil-4-(2-metilpropil)-benzen asetik asit), ağrının hafifletilmesi, inflamasyonun azaltılması ve ateşin düşürülmesi amacıyla geniş çapta kullanılmaktadır[28].

İbuprofen (IBP), Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemine göre Sınıf II ilaç olarak belirtilmiş olup, yüksek geçirgenlik ve az çözünürlük özelliklerine sahiptir [29, 92].

İbuprofenin suda az çözünmesi nedeniyle yüksek dozajlarda kullanılması durumunda yan etkilere yol açmaktadır[93]. Bu etkiler kontrollü ilaç salımı yoluyla sınırlandırılacağından ibuprofenin kontrollü salımı tercih edilmektedir. Ayrıca ibuprofenin kısa yarı ömrü de (1.8-2.0 saat) kontrollü salım formülasyonunu gerektirmektedir[94].

IBU ile nanomalzeme yüzey arasındaki birincil etkileşim alanlarının hidrojen bağı ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır. Özellikle, ilaç moleküllerinin karboksil grupları ile OH grupları arasındaki hidrojen bağlarının oluşumunun hem gözenek duvarlarında hem de yüzeyde meydana geldiği varsayılmaktadır[95]. İbuprofen taşıyıcı sistemlerinde çözünürlüğün artırılması ve ilaç salınımının kontrol edilmesi amaçlanmaktadır[93]. İbuprofenin biyolojik etkinliğini arttırmak ve yarılanma ömrünü uzatmak için, nano-polimerik bir sistem içine entegre edilmesi önerilmektedir. Nanoenkapsülasyon süreci partikül boyutlarını küçültür, sonuç olarak yüzey alanını yükseltir ve ilaç çözünürlüğünü artırır. Bunun sonucu olarak terapötik etkinlik artar [96].



Şekil 2.6 İbuprofenin yapısı[97]

MATERYAL-METOD

3.1 Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılan kimyasal listesi Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1 Deneylerde Kullanılan Kimyasal Listesi

Malzeme	Firma	KAT ve CAS numarası
Kitosan (low molecular weight)	Sigma-Aldrich	9012-72-4
Kitosan (medium molecular weight)	Sigma-Aldrich	9012-76-4
TPP	Sigma-Aldrich	7758-29-4
HCl	Merck	K44798686 330
NaOH	Merck	1310-73-2
Asetik Asit	Merck	K45886263 432
Ibuprofen	Sigma	15687-27-1
Etanol	Merck	64-17-5
Jelatin	AppliChem	9000-70-8
Poli(vinil alkol) (PVA)	Aldrich	9002-89-5
Sitrik Asit	Merck	77-92-9
Üre	Sigma	57-13-6
Acetonitril	Sigma-Aldrich	34851
Di-Sodyum Hidrojen Fosfat	Fluka	7782-85-6
Sodyum Fosfat Monobasic Dihidrat	Riedel-de Haen	13472-35-0

3.2 Hayvan Deneyleri

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden 48 adet sağlıklı erişkin erkek Wistar rat (200–300 g, altı-sekiz haftalık) satın alındı. Çalışma onayı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alındı (Karar no: 2021/01-15). Deneyler, Türk Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlarla Kullanılan Hayvanların Refahı ve Korunması Kanunu'na ve 2010/63/EU sayılı Bilimsel Amaçlı Hayvanların Korunmasına İlişkin Direktif'e uygun olarak yapılmıştır. Hayvanlar çalışmadan bir hafta önce rutin sağlık kontrolleri yapılmak üzere çalışma yerine götürüldü ve adaptasyon için süre verildi. Sıçanlar çalışma boyunca kontrollü sıcaklıkta ($22^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$) ve 12 saat fotoperiyotta tutuldu.

3.3 Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.2 Deneylerde Kullanılan Cihaz Listesi

Cihaz	Marka-Model
Elektrospinning	Fytronix
Zetasizer Nano ZS	Malvern Instruments, Worcestershire, UK
UV-Vis spectrophotometer	Scinco, S-3100, Seoul, Korea
Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR)	Shimadzu- IRPrestige21
pH Metre	Inolab
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	SEM, Zeiss Evo Ls 10
Santrifüj	NUVE NF 1200R
Hassas Terazı	Sartorius marka /CP225D model
Sonikatör	Bandelin Sonopuls HD 2200
Liyoofilizatör	Martin Christ –Alpha 1N2 LDplus
Brunauer-Emmett-Teller (BET)	Micromeritics, TriStar II 3020
Viskozimetre	RM100 LAMY RHEOLOGY
Ultrasonik Su Banyosu	Protech

3.3.1 Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR) Analizi

FTIR analizi ile 650-4000 cm^{-1} aralığında belirlenen transmitans değerleri ve literatürde bunlara karşılık gelen gruplar temsil edilerek numunelerin içerikleri ve fonksiyonel gruplar tespit edilmiştir. FT-IR spektroskopisi, BG, kitosan NP ve üretilen membranların yüzey kimyasını analiz etmek üzere kullanılmıştır.

3.3.2 Morfolojik Değerlendirme (SEM, EDS, ImageJ)

Üretilen biyoaktif cam, kitosan ve liflerin morfolojisi, bir taramalı elektron mikroskobu (SEM; Carl Zeiss, EVO® Ls 10 T, Almanya) kullanılarak belirlendi. SEM analizi öncesinde sputter coater cihazı (Emitech, Emitech K550X, UK) ile vakum altında tüm numunelerin yüzeylerine altın püskürtüldü. Liflerin ortalama çapını hesaplamak için Java'nın ImageJ® yazılımı (sürüm 1.53t) kullanıldı ve her numune için 60 lif çapı ölçüldü. Biyoaktif cam içeriği ve membranlardaki dağılımı SEM/EDS (EDS; Carl Zeiss, SmartEDX) ile üç farklı nokta ile nokta analizi yapılarak karakterize edilmiştir.

3.3.3 N₂ adsorpsiyon-desorpsiyon analizi (Spesifik Yüzey Alanı Analizi)

Biyoaktif cam tozları ve üretilen yara örtüsü lifleri 77.3 K'de yüzey alanı ve gözeneklilik analizörü (TriStar™ II 3020, Micromeritics, ABD) ile karakterize edilerek numunelerin spesifik yüzey alanı, ortalama gözenek çapı ve kümülatif gözenek hacmi belirlenmiştir. Yüksek saflıkta nitrojen (%99,9999, Habaş, Türkiye) kullanılmıştır. Analiz öncesinde, yara örtüsü liflerinin degaz işlemi 40 °C'de 24 saat iken, biyoaktif cam tozlarının degaz işlemi 300 °C'de 16 saat boyunca yapılmıştır. Brunauer-Emmett-Teller (BET) yöntemi, numunelerin spesifik BET yüzey alanını tahmin etmek için N₂ adsorpsiyon-desorpsiyon izoterminden hesaplanmıştır. BET yüzey alanını hesaplamak için 0,05 ila 0,3 arasında değişen bağıl basınçlar (P/P₀) kullanılmıştır. Ortalama gözenek çapı ve kümülatif gözenek hacmi Barrett-Joiner-Halenda (BJH) yöntemi ile hesaplanmıştır.

3.3.4 Çözeltilerin Viskozitelerinin Ölçümü

Çözeltinin akışa direnme kapasitesi olan viskozitesinin ölçümü için Viskozimetre (RM100 LAMY RHEOLOGY) kullanılmıştır. Viskozimetre, her ölçüm noktası için kesme gerilimini kesme hızına bölerek viskoziteyi hesaplar. Akışkan bir kesme hızına (dönme hızı) zorlanır ve kesme gerilimi (motor torku) ölçülür. Kayma hızı ve kayma gerilimi değerleri daha sonra Newton denklemini ve kullanılan mobil ile ilişkili sabitleri kullanarak viskoziteyi hesaplar. Her bir çözelti için 3 tekrarlı ölçüm alınmış, standart sapma hesaplanmıştır.

3.3.5 Çözeltilerin pH ölçümleri

Elektroegirme atımı öncesi, hazırlanan PVA, Jelatin, BG ve sitrik asit içeren sulu çözeltiler hazırlandıktan sonra 3 tekrarlı olarak oda sıcaklığında pH ölçümü yapılmıştır.

3.3.6 Membranların Kalınlıklarının Ölçülmesi

Membranların kalınlıkları dijital kumpas kullanılarak (Insize SL-1108-200), membranların 6 farklı bölgesinden ölçüm alınarak belirlenmiştir.

3.3.7 Membranların Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi

Membranların mekanik özellikleri küçük değişikliklerle ASTM D882-10 protokolüne uyularak Dinamik Mekanik Analizi (Devotrans- GPUG/R, Türkiye) tension modunda (çekme modunda) oda sıcaklığında belirlenmiştir. Bu amaçla 1 cm eninde 3 cm uzunluğunda membranlar kullanılmıştır. Ölçümlerden önce, filmlerin kalınlığı bir kumpas kullanılarak rastgele alınan noktalarının ortalama değeri olarak kullanılmıştır. Test hızı 5 mm/dk. ve ön yükleme hızı 0.1 mm/dk. olacak şekilde çekme testi gerçekleştirilmiştir. Test sonucunda elde edilen verilerle young's modulus ve elongation at break değeri belirlenmiştir [98].

3.3.8 Şişme (Sıvı absorpsiyon) Testi

Membranların şişme derecesi sıvı absorplama kapasitesiyle belirlenmiştir. Öncelikle membranlar 1x1 cm² kesilmiştir. 2 saat 105 °C etüvde kurutulmuş ve kuru ağırlıkları kaydedilmiştir.

Membranlar 24 saat boyunca ortam koşullarında (25°C) distile su içerisinde bekletilmiş ve sonrasında fazla yüzey suyu bir filtre kağıdı kullanılarak uzaklaştırılarak tartımları alınmıştır. Şişme yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Şişme (\%)} = [(W_2 - W_1) / W_1] \times 100 \quad (1)$$

Burada W_2 ve W_1 ise sırasıyla ıslak ve kuru filmin ağırlıklarını göstermektedir [99].

3.3.9 Porozite Testi

Membranların gözenekliliği etanol yer değiştirme tekniği ile ölçülmüştür. Öncelikle membranlar $1 \times 2 \text{ cm}^2$ kesilerek hazırlanmıştır. Membranların kalınlıkları dijital kumpas kullanılarak (Insize SL-1108-200) ölçülmüş ve membranların hacimleri hesaplanmıştır. Membranların kuru ağırlıkları tartılmış ve sonrasında 1 saat etanol içerisinde ıslatılarak doygunluk ağırlıkları kaydedilmiştir. Porozite yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Porozite (\%)} = [(W_1 - W_0) / \rho V] \times 100 \quad (2)$$

Burada W_0 (g) ve W_1 (g), sırasıyla kuru ağırlık ve etanol sonrası membranın ağırlığını temsil eder. ρ (g/cm³) etanolün yoğunluğunu ve V (cm³) membranın hacmini göstermektedir [100].

3.3.10 Su buharı iletim hızı (SBİH)

Yara örtüsü membranların Su Buharı İletimi (WVT) ve Su Buharı Geçirgenliği (WVP) ölçümleri, küçük modifikasyonlarla ASTM E-96-00 kurutucu (dessicant) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Raheem, 2019). Daha sonra bir tarafı kapatılmış 1000 mikro litrelik pipetlerin içine yaklaşık 400 mg olacak şekilde nem çekici (kurutucu) ajan olarak mavi silika boncuklar eklenmiş ve uç tarafı kesilmiş 200 mikrometrelik pipetler ile membranlar arada kalacak şekilde kapatılmıştır. Tüm tüpler tartılmış ve toplam ilk ağırlık olarak kaydedilmiştir. Daha sonra bu deney sistemi içine su konulmuştur ve 24 saat boyunca 37 °C'de % 90 bağıl nemde (RH) bir desikatöre yerleştirilmiştir. WVT ve WVP, aşağıda verilen denklem kullanılarak belirli zamanlardaki tüplerin ağırlık değişimine göre belirlenmiştir [101].

$$WVT=[(w/t)/A] \quad (3)$$

Burada w/t zamanla ağırlık artışı ve A membranın yüzey alanıdır (m^2).

$$WVP=[(WVT) \times (e)/(P_s \times (RH_1 - RH_2))] \quad (4)$$

Burada e membranın ortalama kalınlığı (m), P_s ölçüm sıcaklığındaki su buharı doyma basıncı, RH_1 desikatördeki bağıl nem ve RH_2 tüpteki bağıl nemdir.

3.3.11 Biyodegradasyon

Nanofibröz membranların bozunma davranışları yapay vücut sıvıları (YVS, pH 7.4) içerisinde belirli periyotlarda bekletilerek gerçekleştirilmiştir. Öncelikle membranlar tartılarak ilk ağırlıkları belirlenmiş ve kaydedilmiştir. Daha sonra membranlar falcon içerisinde YVS'ye daldırılmış ve belirtilen süreler boyunca (1., 2., 7., 28., 84. gün) 37 °C'de çalkalayıcıda bekletilmiştir. Membranlar falconlardan çıkarılarak, vakum etüvde kurutulmuş ve son ağırlıkları tartılmıştır. Yüzde bozunma oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\text{Biyodegradasyon (\%)} = [(W_i - W_f) / W_i] \times 100 \quad (5)$$

W_i , YVS'ye daldırılmadan önce membranın ilk ağırlığı ve W_f ise YVS'den çıkartıldıktan sonraki ağırlığıdır.

3.3.12 *In vitro* Antibakteriyel Test

Membranların antimikrobiyal aktivitesi gram-pozitif *Staphylococcus aureus* (S. aerous) ATCC (25923) ve gram-negatif *Escherichia coli* (E. coli) ATCC (25922) bakteri suşlarına karşı agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Steril PBS içinde 0,5 McFarland S. Aerous ve E. coli bakteri kolonisi kullanılarak homojen bir bakteri çözeltisi oluşturulmuştur. Bakteriler daha sonra sterilize edilmiş bir cam çubuk kullanılarak nutrient-agar büyüme ortamına yayılmıştır. UV ile sterilize edilmiş 6 mm çapındaki membranlar petri kaplarına yerleştirilmiş ve agar plakaları 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnhibisyon çapını hassas bir şekilde ölçmek için cetvel kullanılmıştır. Testler $n = 3$ olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.3.13 *In vitro* Hücre Canlılık Testi

Membranların hücre canlılığı testi, ISO 10993-5:2009 prosedürüne göre MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide) tekniğine dayalı olarak L929 fibroblast hücre hattı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Testten önce membranlar UV ışığı altında 30 dakika boyunca her iki yönde sterilize edilmiştir. Membranların ekstraksiyonu için ISO 10993-12:2012 standardı referans alınmıştır. Bu nedenle, tüm steril membranlar 0,1 g olarak tartılmıştır. Membranlar Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içinde 37 °C'de 24 saat boyunca ekstrakte edilmiş ve membranların ekstraktları sterilizasyondan sonra sitotoksite testi için steril 0,22 µl şırınga filtresi kullanılarak kullanılmıştır. L929 fibroblast hücreleri (1 × 10⁵ hücre/ml) 96 kuyucuklu bir plakaya ekilmiş ve 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. 50 µl MTT boyası plakanın her kuyucuğuna eklenmiş, 2 saatlik inkübasyondan sonra kolorimetrik yoğunluk (absorbans değeri) bir Mikroplaka Okuyucu kullanılarak 570 nm'de (referans dalga boyu 650 nm) ölçülmüştür. Pozitif kontrol %1 fenol çözeltisi, negatif kontrol ise DMEM idi. Sonuçlar negatif kontrolün %100 canlı olduğu varsayılarak hesaplanmıştır. Hücre canlılığı yüzdesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Hücre Canlılığı (\%)} = [(A_s - A_b)/(A_c - A_b)] \times 100 \quad (6)$$

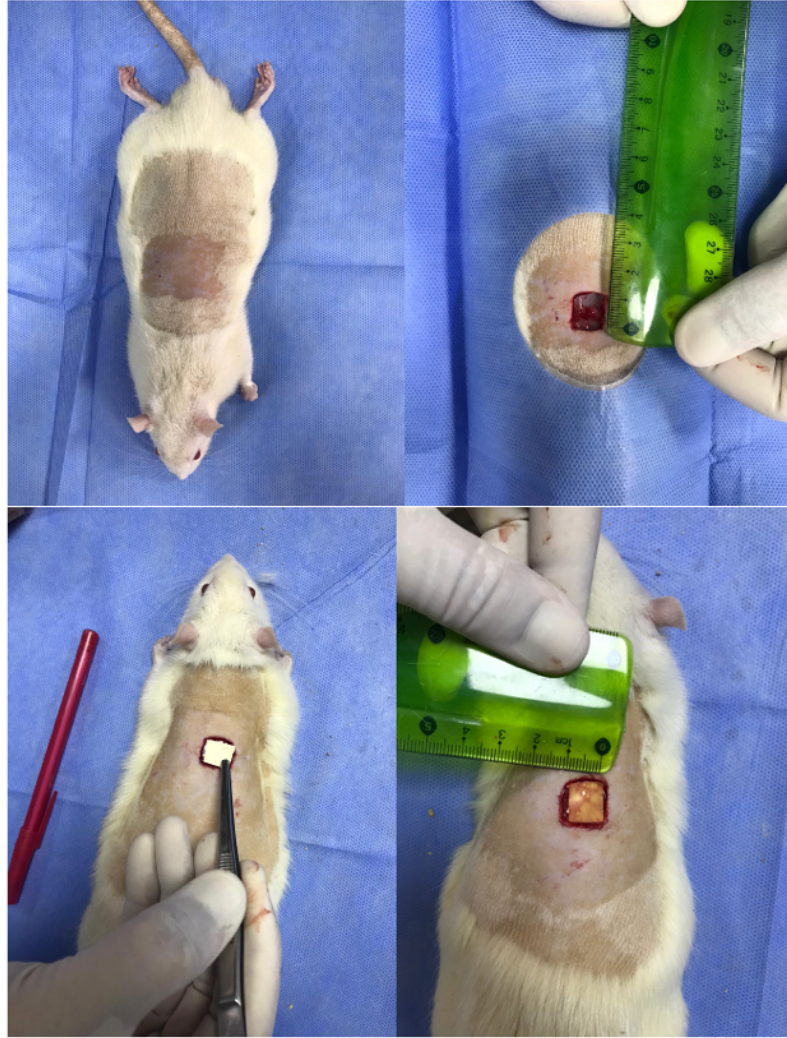
A_s; Hücre-ekstrakt etkileşiminin absorbansı, A_c; Ekstrakt etkileşimi olmayan hücrenin absorbansı, A_b; Boş (DMSO) absorbansı [102].

3.3.14 *In vivo* yara modeli ve histopatolojik değerlendirme

3.3.14.1 Geliştirilen yara örtülerinin *in vivo* deneysel tasarımı ve yara alanı ölçümü

In vivo hayvan deneyi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde kırk sekiz adet sağlıklı yetişkin erkek Wistar sıçan (200-300 g, altı-sekiz haftalık) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan bir hafta önce hayvanlar rutin sağlık kontrollerinden geçirilmek üzere çalışma yerine götürülmüş ve adaptasyon için zaman tanınmıştır. Sıçanlar çalışma boyunca kontrollü bir sıcaklıkta (22° ± 2 °C) ve 12 saatlik fotoperiyotta tutulmuştur. Genel anestezi indüksiyonunu takiben (Ketamin HCl 50 mg/kg ve Ksilazin HCl 10 mg/kg, i.p.), sıçanların sırt kılları tıraş edildi ve bölge povidon iyot ile sterilize edildi.

Tüm sıçanların dorsal tarafında 1x1 cm (1 cm²) tam kalınlıkta eksizyonel yara oluşturuldu. Hayvanlar rastgele dört deney grubuna ayrıldı (her biri n=12). Tüm tedaviler yara bölgesini kapsayacak şekilde bir kez uygulanmıştır. Tüm gruplar 7. gün ve 14. gündeki iyileşme derecelerini karşılaştırmak için 7 ve 14 günlük alt gruplara ayrılmış ve ayrı kafeslere yerleştirilmiştir (her biri n=6). 7. ve 14. günlerde sıçanlara derin anestezi (ksilazin HCl 10 mg/kg ve ketamin HCl 100 mg/kg, i.p.) uygulandı ve ötenazi yapıldı. Dorsal hat yara bölgesi cerrahi bir bıçak ve makas ile eksize edildi. Her hayvandan alınan örnekler histopatolojik ve immünohistokimyasal analiz için % 10 formalin solüsyonunda saklandı. Tüm hayvanların yara alanları, yara oluşturulduktan 0, 1, 3, 5, 7, 10 ve 14 gün sonra dijital bir kamera ile ayrı ayrı fotoğraflandı. Yara yüzey alanı (cm²) Image Jx2 yazılımı kullanılarak ölçülmüştür.



Şekil 3.1 *In vivo* yara modeli deneysel tasarımı

3.3.14.2 Yara bölgelerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal analizi

Mikroskopik değerlendirme için 7. ve 14. günlerde biyopsiler alınmıştır. 10 nötral tamponlu formalin içinde 24 saat fiksasyondan sonra, deri ve deri altı dokular standart histolojik işlemler için kesi hattı merkez alınarak eksize edilmiştir. Örnekler %10 nötral tamponlu formalin içinde sabitlendi, kademeli alkollerde dehidrate edildi ve ardından parafine gömüldü. 4 µm kalınlığında kesitler yapılmış ve rutin histolojik protokoller kullanılarak hematoxilen-eozin (HE) ve Masson'un trikromu (MT) ile boyanmıştır. HE boyalı kesitlerde yeniden epitelizasyon ve enflamasyon değerlendirilmiş, yeniden epitelizasyonu değerlendirmek için yara alanındaki epitel kalınlığı bazal tabakadan en üst tabaka kalınlığına kadar 3 farklı alandan ölçülmüş ve ortalaması Olympus DP2BSW yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Enflamasyonun değerlendirilmesi için Atıcı ve arkadaşlarının çalışması modifiye edilmiştir. Yara alanı x100 büyütmede (BBA) tarandıktan sonra inflamasyonun en yoğun olduğu alan seçilerek x200 BBA'da enflamatuar hücre sayımı yapılmıştır. Akut enflamasyonu değerlendirmek için nötrofil lökositler (PMNL), kronik enflamasyonu değerlendirmek için lenfositler, makrofajlar ve plazma hücreleri sayılmış ve toplamalarına göre skorlanmıştır [103]:

Skor 0: 0-4 enflamatuar hücre/200 BBA

Skor 1: 5-20 enflamatuar hücre /200 BBA

Skor 2: 21-80 enflamatuar hücre/200 BBA

Skor 3: >80 enflamatuar hücre/200 BBA

Masson trikrom ile mavi boyanan kolajen liflerin x200 BBA kaplayan dokuya oranı Java'nın ImageJ® yazılımı (sürüm 1.53t) kullanılarak hesaplandı ve aşağıdaki şekilde puanlandı [103].

Skor 0: yok

Skor 1: <%10 kolajenizasyon

Skor 2: %10-49 kolajenizasyon

Skor 3: ≥%50 kolajenizasyon

Neovaskularizasyon immünohistokimyasal çalışma ile değerlendirilmiştir; doku kesitleri ksilende deparafinize edilmiş ve ardından kademeli etil alkol konsantrasyonlarında (%100, %96, %80, %70 ve su) dehidre edilmiştir. Anti-CD 31 (DAKO, Monoklonal Fare Anti-İnsan, Klon JC70A, kullanıma hazır, Danimarka) antikor için antijen geri kazanımını indüklemek üzere sitrat tamponunda mikrodalgada ısıtılmıştır (1/50 dilüsyon, Dako). Endojen peroksidaz aktivitesi, lamlar peroksidaz bloklama solüsyonunda 5 dakika inkübe edilerek bloke edilmiştir. Boyama tespit sistemi olarak EnVision Tespit Kiti (Env FLEX, Yüksek pH, DAKO) kullanıldı. Kesitler hematoksilen ile karşı boyandı, etanol ile dehidrate edildi ve bir lamel ile kalıcı olarak kapatıldı. Mikrovasküler yoğunluk anti-CD31 monoklonal antikor uygulanmış preparatlarda değerlendirildi. Mikrovasküler yoğunluk x200 büyütme optik alanı başına yeni mikrodamar sayısı olarak ölçülmüştür. X100 büyütmede yüksek vasküler yoğunluğa sahip rastgele üç alan seçildi ve mikrodamarlar x200 büyütmede sayıldı. Nihai mikrodamar yoğunluğu skoru bu üç alandaki damarların ortalama sayısı olarak hesaplandı. Kas tabakası içeren damarlar mikrodamar sayımına dahil edilmemiştir. Her gruptaki tüm örnekler Olympus BX51 (Olympus corp., Tokyo, Japonya) ışık mikroskobu, Olympus DP72 mikroskop dijital kamera sistemi ve Olympus DP2BSW yazılımı kullanılarak enflamasyon, kolajenizasyon, epitelizasyon ve neovaskularizasyon açısından sistematik olarak değerlendirildi.

3.3.15 Nanopartikül boyutu, polidispersite indeksi ve zeta potansiyeli

İbuprofen içeren ve içermeyen kitosan nanopartikülleri, Zetasizer Nano ZS (ZEN0040, Malvern Instruments, Worcestershire, UK) cihazı kullanılarak ortalama partikül boyutu, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli açısından karakterize edilmiştir. Ortalama partikül boyutunun belirlenmesi dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Zeta potansiyel dağılımı Lazer Doppler Elektroforez (LDE) yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir ve Z-ortalaması (Z-avg) harmonik ağırlıklı yoğunluk ortalamasını temsil etmektedir. Analiz üç kopya olarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.16 Verim, Enkapsülasyon Etkinliği ve İlaç Yükleme

İyonik jelleşme yöntemiyle sentezlenen IBU yüklü KNP'lerin verimi gravimetrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Sentezlenen IBU yüklü KNP'leri süspansiyondan izole etmek için santrifüj kullanılmıştır. Santrifüjleme işlemi 4 °C'de 40 dakika boyunca 14.000 rpm'de gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, liyofilizasyonu takiben nanopartiküller tartılmıştır. Verim yüzdesi Eşitlik[22] kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Verim(\%)} = [\text{Nanopartiküllerin ağırlığı} / \text{Polimer ve ibuprofenin ilk ağırlığı}] \times 100 \quad (7)$$

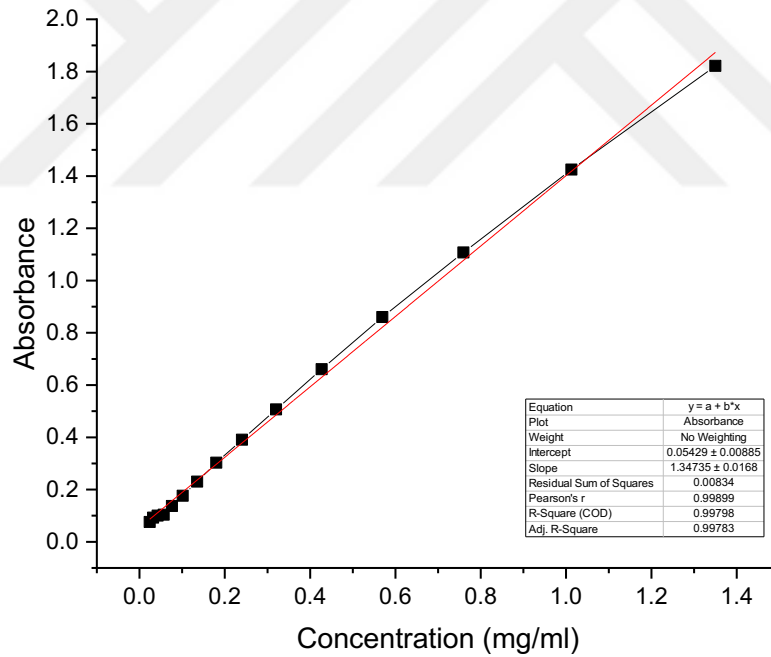
İbuprofen yüklü KNP'lerin kapsülleme etkinliği (EE) ve yükleme kapasitesi (YK) UV-Vis spektrofotometresi (Scinco, S-3100, Seul, Kore) ile değerlendirilmiştir. Hapsedilmemiş ibuprofeni ölçmek için, hazırlanan süspansiyon 4°C'de 40 dakika boyunca 14.000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Santrifüj işleminden sonra elde edilen süpernatant, UV-Vis spektrofotometre kullanılarak analize tabi tutulmuş ve maksimum absorpsiyon 265 nm'de tespit edilmiştir. İbuprofen konsantrasyonu bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak tespit edilmiştir. Enkapsülasyon etkinliği (EE) ve yükleme kapasitesi (YK) yüzdesi sırasıyla Eşitlik (8) ve Eşitlik (9) kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{EE (\%)} = [\text{Nanopartiküllerdeki ibuprofen ağırlığı} / \text{İbuprofenin başlangıç ağırlığı}] \times 100 \quad (8)$$

$$\text{YK (\%)} = [\text{Nanopartiküllerdeki ibuprofen ağırlığı} / \text{Nanopartikül ağırlığı}] \times 100 \quad (9)$$

3.3.17 İbuprofenin *In Vitro* İlaç Salım Çalışmaları

KNP'lerden kapsüllenmiş ibuprofenin salım çalışması, simüle edilmiş bir biyolojik sıvı olan fosfat tampon salin (45 ml, pH 7.4) içinde gerçekleştirilmiştir. Dondurularak kurutulmuş IBU yüklü-KNP'ler diyaliz membranları (50 mg) içine yerleştirilmiş ve salım süreci 37 °C'de 100 rpm'de çalkalamalı inkübatör (Lab Companion SI-300R, Kore) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Belirlenen zaman aralıklarında, salım ortamından 3 mL çekilmiş ve taze ortamla doldurulmuştur. Fosfat tampon salin (PBS) çözeltisindeki İbuprofen miktarı 265 nm'lik maksimum absorpsiyonda (λ_{max}) UV-Vis spektrofotometre (Scinco, S-3100, Seul, Kore) kullanılarak belirlenmiştir. Her ölçüm üç bağımsız belirlemenin ortalaması olarak elde edilmiştir. Konsantrasyonlar kalibrasyon eğrisi kullanılarak belirlenmiştir (R^2 , 0.998).



Şekil 3.2 İbuprofen kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.3 İbuprofen yüklü kitosan nanopartikül ve ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül membrandan ilaç salım çalışması

3.3.18 Matematiksel Modelleme ve Salım Kinetiği

Kitosan nanopartiküllerden ibuprofen salım mekanizmasını araştırmak için, *in vitro* salım verilerini analiz etmek üzere bir dizi kinetik model kullanılmıştır. Kinetik modellerin denklemleri aşağıda verilmiştir[104]:

Sıfırıncı dereceden kinetik model

$$Q_t = Q_o + k_0 t \quad (10)$$

Birinci dereceden kinetik model

$$\log Q_t = \log Q_o - k_1 t \quad (11)$$

Higuchi kinetik modeli (difüzyon modeli)

$$Q_t = Q_o + k_H t^{1/2} \quad (12)$$

Korsmeyer-Peppas kinetik modeli (difüzyon/relaksasyon modeli)

$$Q_t = k_K t^n \quad (13)$$

Q_0 başlangıçtaki ilaç miktarını, Q_t "t" zamanındaki kümülatif ilaç salımını, K_0 sıfırdan dereceden salım sabitini, K_1 birinci dereceden salım sabitini, K_H Higuchi sabitini, KKP Korsmeyer-Peppas sabitini ve n ilaç salım mekanizmasını karakterize eden salım üssünü göstermektedir.

Salım mekanizması, Korsmeyer-Peppas modelindeki n üssü ile karakterize edilir. n ≤ 0.43 olduğunda, Fickian difüzyonu gösterir. Eğer n = 0.85 ise, polimer matrisinin gevşemesi ve şişmesi ile ilişkili Durum II taşınımını ifade eder. $0.43 < n < 0.85$ olduğunda, hem difüzyon hem de Durum II taşıma mekanizmalarının bir kombinasyonundan kaynaklanan anormal taşımayı temsil eder[105].

3.3.19 İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analiz yapılmadan önce, veriler parametrik test varsayımları olarak normallik açısından incelenmiştir. Her değişken için tanımlayıcı istatistikler hesaplanmış ve "Ortalama $\pm$ Ortalamanın Standart Hatası" olarak sunulmuştur. Porozite, şişme testi, su buharı iletim hızı, hücre canlılığı (%), yara kapanması (%), epitel kalınlığı ve yeni oluşan yara damarlarının sayısı için istatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ardından Tukey'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır. Enflamasyon ve kolajenizasyon için istatistiksel analiz Kruskal-Wallis testi ve ardından çoklu karşılaştırmalar için Dunn's testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verilerin analizi için Stata versiyon 16.1 (StataCorp, College Station, TX, ABD) ve GraphPad Prism istatistik yazılımı (GraphPad Software Inc., ABD) kullanılmıştır.ve GraphPad Prism istatistik yazılımı (GraphPad Software Inc., ABD) kullanılmıştır.

3.4 Deneylerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.4.1 Membran Üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması.

3.4.1.1 PVA Stok Çözeltisinin Hazırlanması

Ağırlıkça farklı PVA konsantrasyonlarında (%10, %12, %12.5 %15, %18, %20) sulu veya %20 v/v asetik asit içeren stok çözeltiler hazırlanmıştır. Ultra saf deiyonize suda veya %20 v/v asetik asitte 80°C'de 4'er saat boyunca manyetik karıştırıcıda tamamen çözündürülür.

3.4.1.2 Jelatin Stok Çözeltisinin Hazırlanması

Ağırlıkça farklı Jelatin konsantrasyonlarında (%10, %12.5) sulu stok çözelti ultra saf deiyonize suda oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda homojenize edilerek hazırlanır.

3.4.1.3 Üre Çözeltisinin Hazırlanması

Üretilen membranın toplam polimer ağırlığının %10 'u oranında üre (inorganik tuz) içeren sulu çözelti hazırlanır.

3.4.2 Kitosan Nanopartikül Üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.4.2.1 Kitosan Çözeltisinin Hazırlanması

Medium veya düşük (low) moleküler ağırlıklı kitosan 125 mg/ 25 ml asetik asit (% 2 v/v), 200 mg/25 ml (%2 v/v) asetik asit çözeltisinde 50 °C 24 saat boyunca çözündürülür. Çözünmeyen kitosanın uzaklaştırılması için +4 °C 9000 rpm'de 40 dakika santrifüj edilir. Verim hesabı için falkonlarda kalan kitosan 50 °C 24 saat boyunca kurutulur ve tartım alınır.

3.4.2.2 Asetik Asit Stok Çözeltisinin Hazırlanması

% 2 v/v asetik asit çözeltisi 20 ml glacial asetik asit ve 1000 ml ultra saf su balon jode karıştırılarak hazırlanır ve ortam şartlarında saklanır.

3.4.2.3 TPP Çözeltisinin Hazırlanması

Sodyum Tripolifosfat (TPP) stok çözeltisi 2 mg/ml olacak şekilde ultra saf suda çözülerek hazırlanır.

3.4.2.4 PVA Çözeltisinin Hazırlanması

PVA çözeltisi % 1 w/w oranında 1g/100 ml olarak hazırlanır ve +4 °C'de muhafaza edilir.

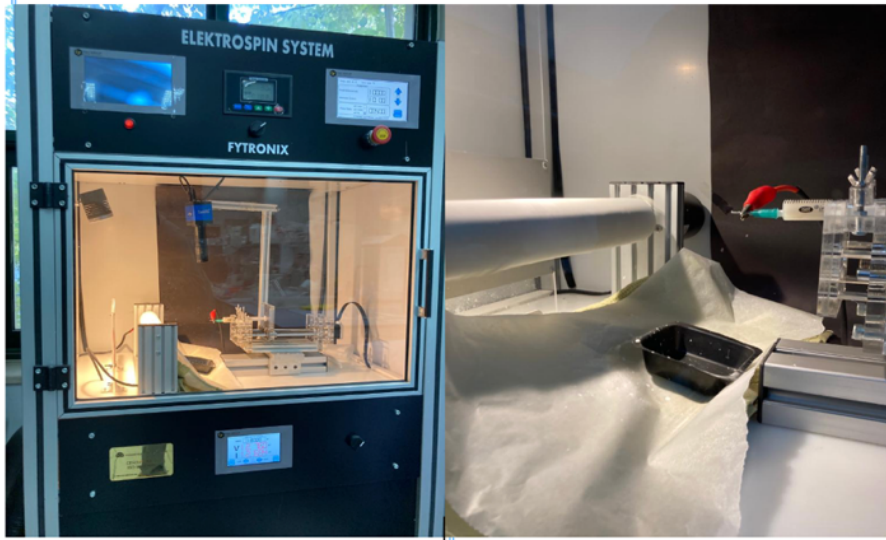
3.5 Deneyisel Metotlar

3.5.1 Elektrosinning Yöntemiyle Membranın Üretimi

PVA (%15 w/w) ve Jelatin (% 12.5 w/w) 90:10, 85:15, 80:20, 70:30 ve 60:40 oranlarında hazırlanarak, elektrot ile kapiller arası 10 cm olarak belirlenmiş ve 18-25 kV'a ayarlanmış pozitif bir yüksek voltaj kaynağına bağlı 19,21,22,23 gauge metal iğne üretim gerçekleştirilmiştir. Şırınga besleme hızı 450-500 µl/ saat veya 8 µl/dakika olacak şekilde ve tambur dönüş hızı % 30 (300 rpm) olarak ayarlanmıştır. Membranın çapraz bağlanması ise; PVA-Jelatin karışımına polimer ağırlığının % 5-20 arasında sitrik asit eklenerek oluşturulan membranların 170 °C'de 3 saat ısıtılarak çapraz bağlanma gerçekleştirilmiştir[106].

3.5.2 Üre İçeren Yara Örtü Malzemesi Üretimi

PVA:Jelatin 90:10 kombinasyonunda, ağırlıkça %3 biyoaktif cam ve ağırlıkça %15 sitrik asit içeren membran, çapraz bağlamadan sonra tambura sarılır. %10 üre konsantrasyonunun cilt hidrasyonunu iyileştirmede en büyük etkiye sahip olduğu bildirildiğinden çalışmada %10 üre tercih edilmiştir[107]. Membrandaki polimerin ağırlığına göre %10 üre, saf deiyonize su içinde çözülür. Üre solüsyonu 12kV voltaj bağlı şırıngaya yerleştirilir ve toplayıcıdan pompaya 10 cm mesafede, 200 rpm'lik bir tambur rotor hızında ve 3500 µl/sa'lik bir akış hızında elektrospreyleme ile membran yüzeyine atılır. Yüzeyi üre içeren membran vakum etüvünde 50°C'de 2 saat kurutulur.



Şekil 3.4 Elektrosinning çalışmaları

Tablo 3.3 PVA Konsantrasyon Deneme Çalışmaları (Sulu Sistem)

No	PVA (%)	Jel (%)	Üre (%)	BG (%)	Voltaj (kV)	Besleme Hacmi (ml)	Akış Hızı (ml/dk)	Sonuç
1	10	-	-	-	26-28	1	8-12	Atış yapıldı ancak çözelti çok seyreltik olduğundan püskürtme gözlemlenmiştir.
2	12	-	-	-	28	1	20	Atış yapıldı çözelti seyreltik olduğundan yer yer püskürtme gözlemlenmiştir. Membran oluşumu gözlemlenmiştir.
3	15	-	-	-	28	2.5	200 (ml/h)	Atış yapıldı ve membran oluşumu gözlemlenmiştir.
4	18	-	-		*	1	*	Çözelti çok viskoz olduğundan atış yapılamamıştır.
5	20	-	-		*	1	*	Çözelti çok viskoz olduğundan atış yapılamamıştır.

□ Atım yapılamadığından data bulunmamaktadır.

Tablo 3.4 Sulu Sistem Membran Üretim Çalışmaları

No	PVA (%)	Jel (%)	Üre (%)	BG (%)	Voltaj (kV)	Besleme Hacmi (ml)	Akış Hızı (ml/dk)	Rotor Hızı (rpm)	Oda Sıcaklığı (°C)	Uzaklık (cm)	İğne (G)
1	15	-	-	-	28	6	8	300	30	14	23
2	12	10	-	-	28	8	10	300	31.5	12	21
3	15	12.5	-	-	28	10	10	300	26.5	6	23
4	15	12.5	-	-	28	10	8	300	25.8	6	23
5	15	12.5	10	-	25-27	10	8	-	24.2	10	21
6	12.5	12.5	-	-	23-27	10	450-500 (ml/h)	-	24.1	10	22

Tablo 3.5 % 20 (v/w) Asetik Asit ile Membran Üretim Çalışmaları

No	PVA (%)	Jel (%)	Üre (%)	BG (%)	Voltaj (kV)	Besleme Hacmi (ml)	Akış Hızı (ml/dk)	Rotor Hızı (rpm)	Oda Sıcaklığı (°C)	Uzaklık (cm)	İğne (G)
1	12	-	-	-	28	2	8	300	31.9	12	19
2	15	-	-	-	26	8	8	300	31.2	11	23
3	15	-	10	-	26	6	8	300	31.4	11	23
4	12	10	-	-	28	8	10	300	31.5	12	19-21
5	15	-	-	-	28	10	10	300	26.3	6	23

Tablo 3.5 (devamı) % 20 (v/w) Asetik Asit ile Membran Üretim Çalışmaları

No	PVA (%)	Jel (%)	Üre (%)	BG (%)	Voltaj (kV)	Besleme Hacmi (ml)	Akış Hızı (ml/dk)	Rotor Hızı (rpm)	Oda Sıcaklığı (°C)	Uzaklık (cm)	İğne (G)
6	15 (70)	12.5 (30)	-	-	15.3	10	8	300	26.5	6	23
7	15	12.5	-	-	16.5	10	8	300	25.8	6	23
8	15 (90)	12.5 (10)	-	-	15-20	10	8	300	25.4	6	23
7	15 (80)	12.5 (20)	-	-	15-20	10	8	300	25.4	6	23
8	15 (70)	12.5 (30)	10	-	15-20	10	8	300	24	10	23
9	15 (70)	12.5 (30)	10	10	15-20	5	8	300	24	10	23
10	15 (70)	12.5 (30)	10	1	15	8	8	300	24	10	23
11	15 (80)	12.5 (20)	10	-	17	10	8	300	22.6	10	23
12	15 (80)	12.5 (20)	-	-	12-23	10	8	300	21.6	10	21

Sitrik asit ile çapraz bağlama işlemi gerçekleştirileceğinden asetik asit yerine sitrik asit tercih edilmiştir ve sonraki deneyler sitrik asit ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.6 Sitrik Asit ile Membran Üretim Çalışmaları

No	PVA : Jelatin	Üre (%)	BG (%)	Sitrik Asit (%)	Voltaj (kV)	Besleme Hacmi (ml)	Akış Hızı (µl/h)	Rotor Hızı (rpm)	Oda Sıcaklığı (°C)	Nem (%)	Uzaklık (cm)
1	70:30	-	2	15	15-18	5 ml	450	300	21.3	35	10
2	80:20	-	1	5	15	5 ml	450	300	23.7	36	10
3	80:20	-	1	7.5	18	5 ml	450	300	22	33	10
4	80:20	-	1	10	18	5ml	450	300	24.6	37	10
5	80:20	-	1	15	18	5 ml	450	300	22.2	32	10
6	80:20	-	1	20	18	5 ml	450	300	21.1	36	10
7	80:20	-	-	20	18	5 ml	450	300	19.3	24	10
8	80:20	-	-	15	18	5 ml	450	300	20.3	32	10
9	80:20	-	2	15	18	5 ml	450	300	20.1	36	10
10	80:20	-	3	15	15-18	5 ml	500- 450	300	21.4	33	10
11	80:20	-	4	15	18	5 ml	450	300	22.1	32	10
12	80:20	-	5	15	15-18	5 ml	450	300	22.6	32	10
13	80:20	-	2	10	18	5 ml	450	300	20.6	33	10
14	85:15	-	-	15	18	5 ml	450	%30	20.2	31	10
15	85:15	-	1	15	18	5 ml	450	300	19.4	34	10
16	85:15	-	2	15	18	5 ml	450	300	19.2	32	10
17	85:15	-	3	15	18	5 ml	450 - 500	300	21.1	26	10
18	85:15	-	4	15	18	5 ml	450	300	17.7	29	10

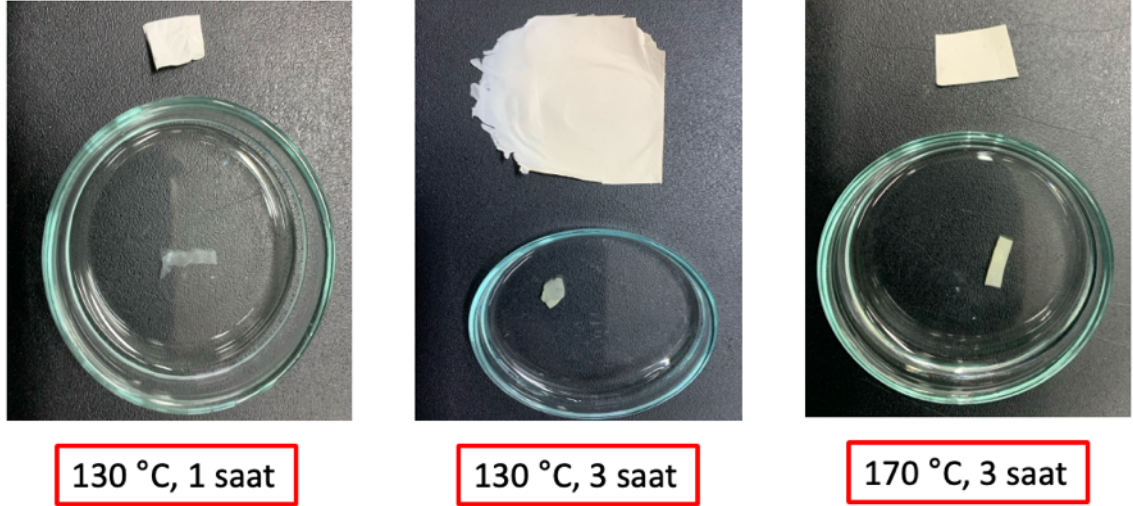
Tablo 3.6 (devamı) Sitrik Asit ile Membran Üretim Çalışmaları

No	PVA : Jelatin	Üre (%)	BG (%)	Sitrik Asit (%)	Voltaj (kV)	Besleme Hacmi (ml)	Akış Hızı (µl/h)	Rotor Hızı (rpm)	Oda Sıcaklığı (°C)	Nem (%)	Uzaklık (cm)
19	85:15	-	5	15	18	5 ml	450	300	21.6	33	10
20	85:15	-	4	10	18	5 ml	450 - 500	%30	18.2	26	10
21	85:15	-	5	10	18	5 ml	450 - 500	%30	17.7	27	10
22	90:10	-	-	15	18	5 ml	450	300	20	35	10
23	90:10	-	1	15	18	5 ml	450	300	17.9	28	10
24	90:10	-	2	15	18	5 ml	450	300	21.4	26	10
25	90:10	-	3	15	18	5 ml	450 - 500	300	20.8	22	10
26	90:10	-	4	15	18	5 ml	450	300	18.3	32	10
27	90:10	-	5	15	18	5 ml	450	300	20.1	28	10
28	90:10	-	3	10	18	5 ml	450 - 500	300	23.5	32	10
29	90:10	-	4	10	18	5 ml	450 - 500	300	21.3	36	10
30	90:10	-	5	10	18	5 ml	450 - 500	300	23.2	32	10

Tablo 3.6’da yeşil ile işaretli olan örnekler yeterli miktarda membranın oluştuğu deneysel koşulları göstermektedir. Turuncu ile işaretli olanlar yetersiz membran oluşumu gözlemlenen yani yeterli miktarda membran oluşmayan ve erime gerçekleşen örneklerdir. Kırmızı ile işaretli olanlar ise membran oluşumu gerçekleşmeyen numunelerdir.

3.5.3 Üretilen Membranların Sitrik Asitle Çapraz Bağlanması

Sitrik asit yüksek sıcaklıkta karboksil grupları ile PVA'nın hidroksil grupları arasında ester bağları oluşturarak PVA'nın çapraz bağlanmasını sağlar[64]. 90:10 PVA:Jelatin %15 Sitrik asit içeren membranın farklı sıcaklıklarda ve sürede çapraz bağlama işlemi gerçekleştirilmiş ve dayanıklılığı su içerisinde ortam koşullarında 24 saat sonunda kontrol edilmiştir.



Şekil 3.5 Membranların sitrik asitle farklı sıcaklık ve sürelerde çapraz bağlanma denemeleri

24 saat sonunda en dayanıklı membranın 170 °C 'de 3 saat çapraz bağlanan membran olduğu gözlemlenmiştir ve çalışmadaki tüm membranlar için çapraz bağlama işlemi 170 3 saat olarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.4 İbuprofen Yüklü Kitosan Nanopartikül Sentezi

İbuprofen yüklü kitosan nanopartiküller iyonik jelasyon yöntemiyle üretilmiştir. Medium veya düşük moleküler ağırlıklı kitosan 125 mg/ 25 ml asetik asit (% 2 v/v), 200 mg/25 ml (%2 v/v) asetik asit ile hazırlanan kitosan çözeltileri stok 1 M HCl ve 1M NaOH ile pH 4.5 veya 4.9'a ayarlanır. 2 ml PVA çözeltisi (% 1 w/w) eklenir. İbuprofen 8 ml metanol veya 3 ml etanol içerisinde çözülerek farklı miktarlarında eklenir. Ardından 30 dakika 750 rpm'de manyetik karıştırma yapılır. 2 dakika boyunca prob sonikatörde (100 W) bekletilir. 2mg/mL 25 mL olan sulu bir TPP çözeltisi ibuprofen-kitosan karışımına manyetik karıştırıcıda (1250 rpm) eklenir. Nanopartiküller 1,2, 4 veya 6 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılır.

9000 rpm’de 40 dakika santrifüj yapılır ve 20 ml ultra saf su ile yıkama yapılır. 9000 rpm’de 40 dakika santrifüj yapılır. Elde edilen nanopartiküller yeniden süspanse edilerek -18 °C’de liyofilizatör için saklanır ve liyofilizatörde kurutulur.

Tablo 3.7 Medium Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örnekler

No	pH	Kitosan (mg)/25 ml	TPP 2 mg/ml	Manyetik K. (dk)	Sonikatör (dk)	Manyetik K. (dk)	Ibuprofen (mg)
1	4.5	125	5 ml	30	30	30	1 (10 ml)
2	4.9	125	5 ml	30	30	30	1 (10 ml)
3	4.5	200	25 ml	30	2	4	1 (10 ml)
4	4.5	200	25 ml	30	2	1	1 (10 ml)
5	4.5	200	25 ml	30	2	2	1 (10 ml)
6	4.9	200	25 ml	30	2	1	1 (10 ml)
7	4.5	200	25 ml	30	2	4	1.247 (10 ml)
8	4.9	200	25 ml	30	2	4	1.247 (10 ml)
9	4.5	200	25 ml	30	2	1	1.247 (10 ml)
10	4.9	200	25 ml	30	2	1	1.247 (10 ml)
11	4.5	200	25 ml	30	2	2	1.247 (10 ml)

Tablo 3.7 (devamı) Medium Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örnekler

No	pH	Kitosan (mg)/25 ml	TPP 2 mg/ml	Manyetik K. (dk)	Sonikatör (dk)	Manyetik K. (dk)	Ibuprofen (mg)
12	4.9	200	25 ml	30	2	2	1.247 (10 ml)
13	4.5	200	25 ml	30	2	6	15.3 (10 ml)
14	4.5	200	25 ml	30	2	4	15.2 (10 ml)
15	4.5	200	25 ml	30	2	2	15.5 (10 ml)
16	4.5	200	25 ml	30	2	4	14.8 (8 ml)
17	4.5	200	25 ml	30	2	4	12.3 (8 ml)
18	4.5	200	25 ml	30	2	4	9 (8 ml)
19	4.5	200	25 ml	30	2	4	5.8 (8 ml)
20	4.5	200	25 ml	30	2	6	12.6 (8 ml)
21	4.5	200	25 ml	30	2	4	12.1 (8 ml)
22	4.5	200	25 ml	30	2	2	12.2 (8 ml)
23	4.5	200	25 ml	30	2	4	12 (8 ml)
24	4.5	200	25 ml	30	2	4	12 (8 ml)

Tablo 3.7 ‘de 13-15 nolu numunelerin TPP eklemesi sonikatörde yapılmıştır. 16-19 nolu numunelerin TPP eklenmesi manyetik karıştırıcıda yapılmıştır. 20-22 nolu numunelerin TPP eklenmesi sonikatörde yapılmıştır fakat TPP ekleme öncesinde 2 dk sonikatörde bekletilmiştir.

Tablo 3.8 Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örnekler (Metanol)

No	pH	Kitosan (mg)/25 ml	TPP 2 mg/ml	Manyetik K. (dk)	Sonikatör (dk)	Manyetik K. (saat)	Ibuprofen (mg)
1	4.5	200	25 ml	30	2	6	12 mg (8 ml)
2	4.5	200	25 ml	30	2	4	12 mg 8 ml
3	4.5	200	25 ml	30	2	2	12.2mg (8 ml)
4	4.5	200	25 ml	30	2	4	9.1 mg (8 ml)
5	4.5	200	25 ml	30	2	4	12.1mg (8 ml)
6	4.5	200	25 ml	30	2	4	15 mg (8 ml)
7	4.5	200	25 ml	30	2	4	18.2mg (8 ml)
8	4.5	200	25 ml	30	2	4	-
9	4.5	200	25 ml	30	2	4	-

Tablo 3.9. Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örnekler (Etanol)

No	pH	Kitosan (mg)/25 ml	TPP 2 mg/ml	Man.K. (dk)	Son. (dk)	Man. K. (saat)	Ibu (mg)	İsimlendirme
1	4.5	200	25 ml	30	2	4	-	KNP
2	4.5	200	25 ml	30	2	6	16 mg (3 ml)	IBU(20%)-KNP(6sa)
3	4.5	200	25 ml	30	2	4	16 mg (3 ml)	IBU(20%)-KNP(4sa)
4	4.5	200	25 ml	30	2	2	16 mg (3 ml)	IBU(20%)-KNP(2sa)
5	4.5	200	25 ml	30	2	4	20 mg (3 ml)	IBU(25%)-KNP(4sa)
6	4.5	200	25 ml	30	2	4	24 mg (3 ml)	IBU(30%)-KNP(4sa)

3.5.5 İbuprofen Yüklü Kitosan Nanopartiküllerin Membran Yüzeyine Kaplanması

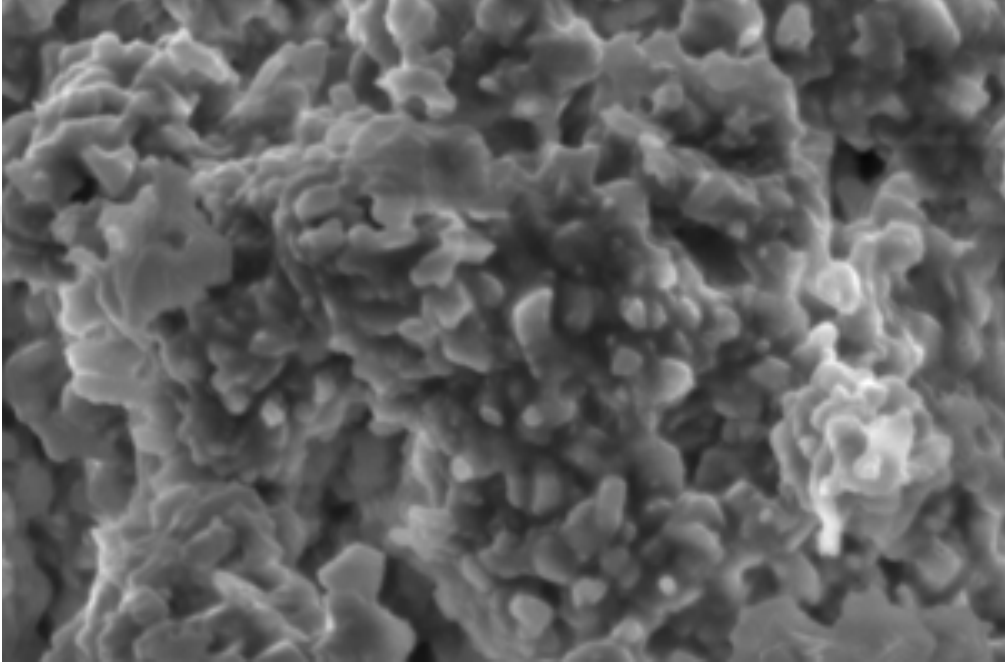
Optimum özelliklerde üretilen ve çapraz bağlı olan 90:10PVA-Jel %15SA%3 45S5 biyoaktif cam membran elektrospinning tambur rotoruna sarıldı. Elde edilen nanopartiküller dondurulmadan prob sonikatörde (50 W) sonike edildi ve 14kV voltaj bağlı şırıngaya yerleştirilir ve toplayıcıdan pompaya 10 cm mesafede, 300 rpm'lik bir tambur rotor hızında ve 2000 µl/sa'lık bir akış hızında elektrospreyleme ile membran yüzeyine kaplandı. Yüzeyi ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül içeren membran ortam koşullarında 24 saat kurutuldu.

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Membran Analizleri

4.1.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

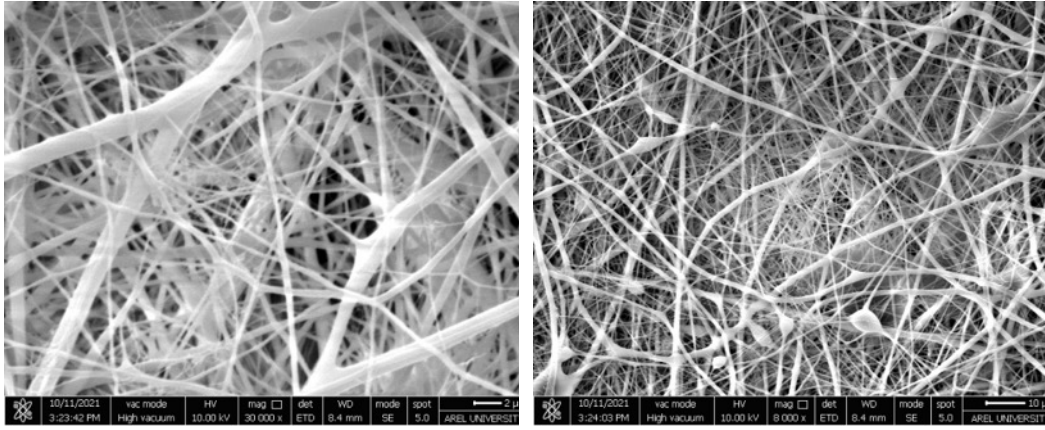
4.1.1.1. Biyoaktif Cam SEM Analizi



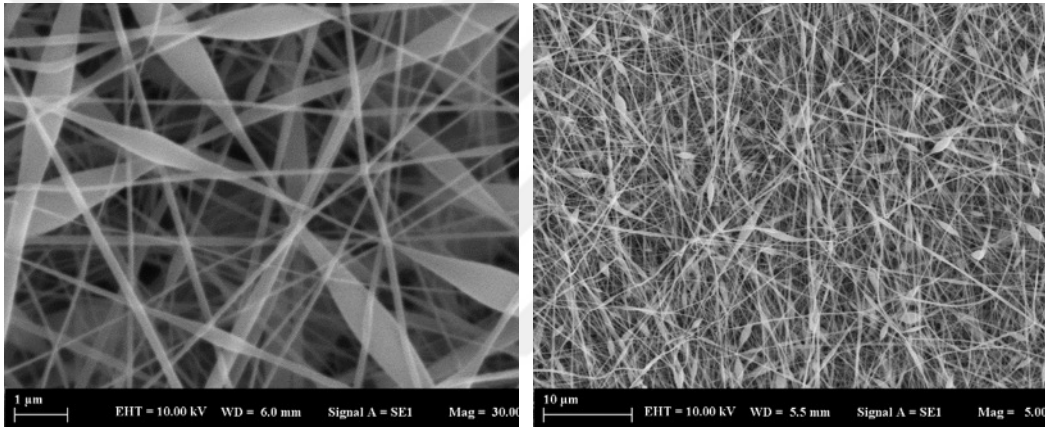
Şekil 4.1 Üretilen 45S5 Biyoaktif camların farklı büyütme ölçeklerinde SEM görüntüsü

45S5 Biyoaktif camların SEM görüntüleri Şekil 4.1’de verilmektedir. 45S5 Biyoaktif camların bir yığın olarak, bir araya gelme eğilimleri gösterdikleri ancak boyutlarının partikül boyut analizi sonuçları paralellik gösterdiği görülmektedir.

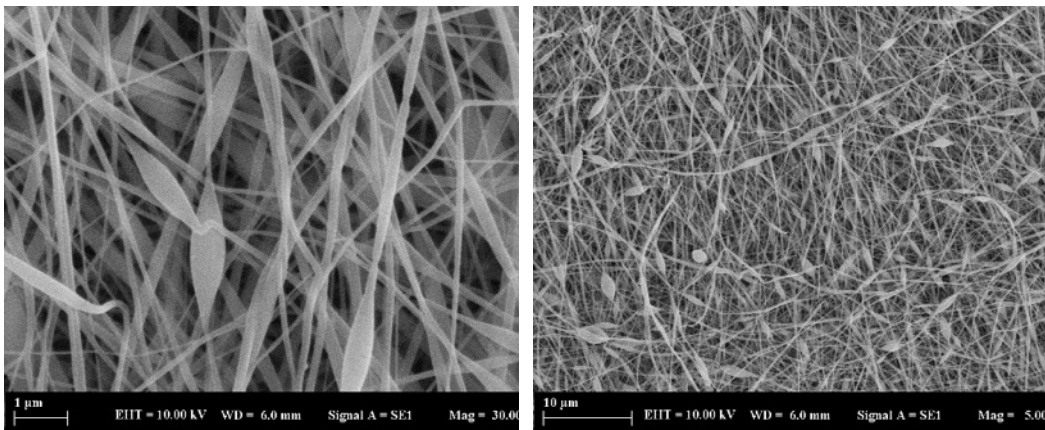
4.1.1.2. Membranların SEM Analizi



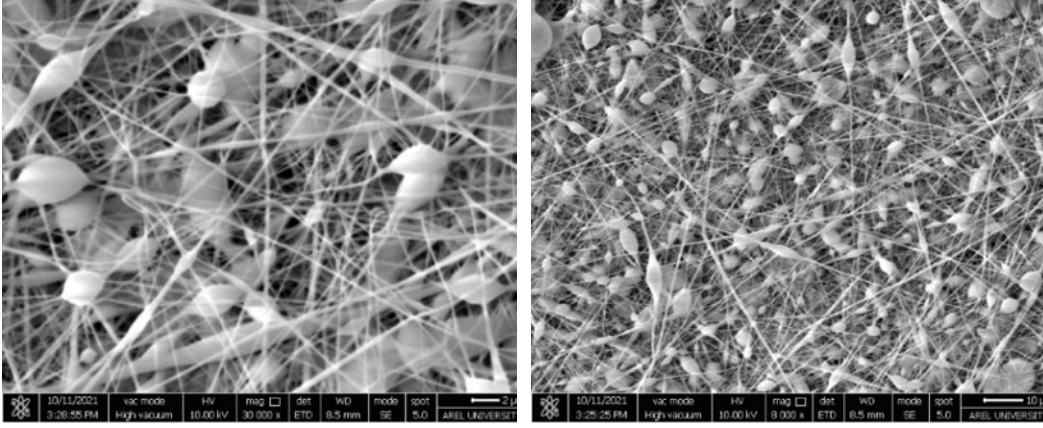
Şekil 4.2 PVA (%15) çözeltisi ile hazırlanan nanofiber membranların x30k ve x8k büyütmelerdeki SEM Görüntüleri



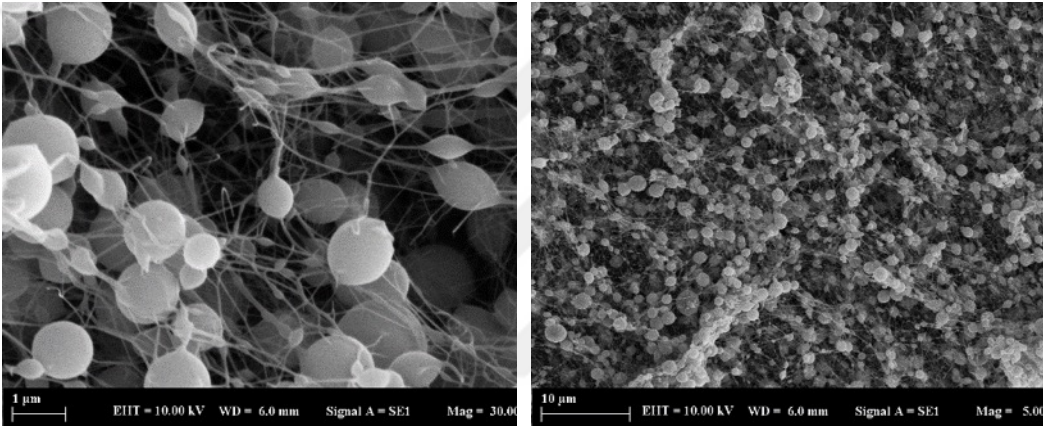
Şekil 4.3 PVA-Jelatin (90:10) membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



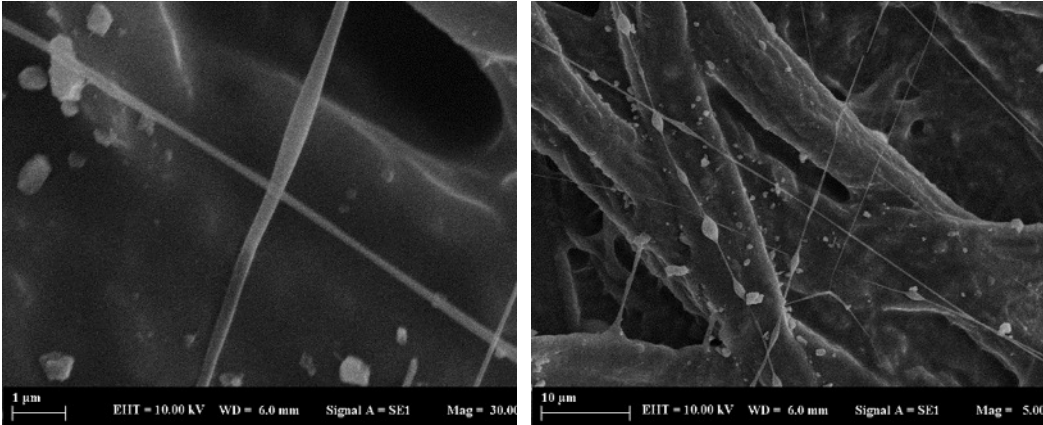
Şekil 4.4 PVA-Jelatin (80:20) membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



Şekil 4.5 PVA-Jelatin (70:30) membranının x30k ve x8k büyütmesi ile SEM görüntüsü

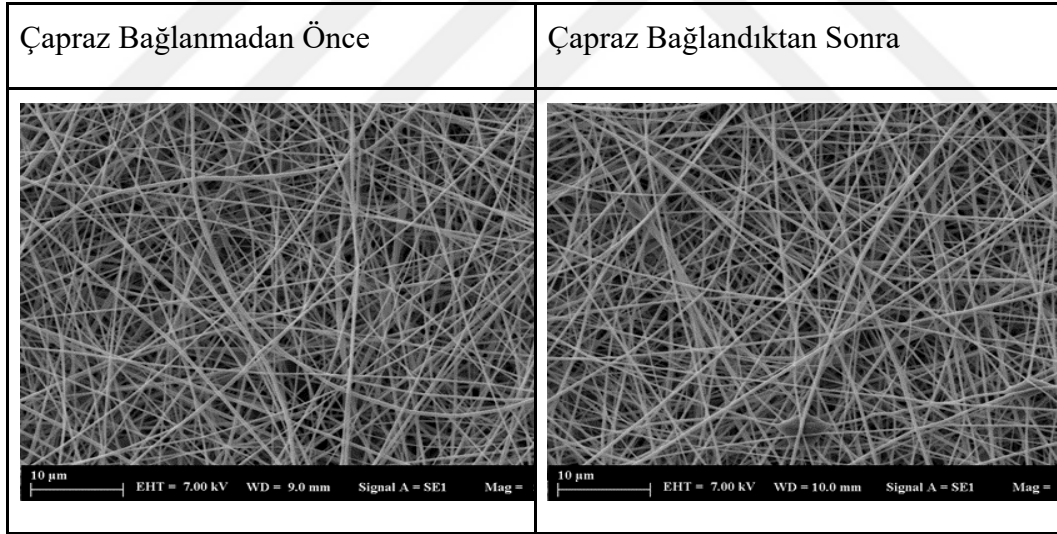


Şekil 4.6 PVA-Jelatin (70:30) -Üre % 10 w/w membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



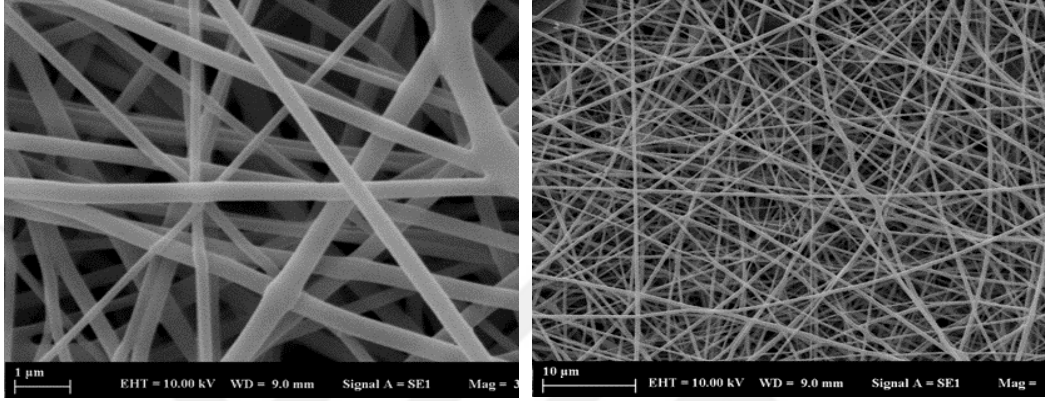
Şekil 4.7. PVA-Jelatin (70:30) -Üre % 10 w/w - BG membranının x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü

Şekil 4.2 'de % 15 w/w PVA çözeltisi ile üretilen membranın SEM görüntüsü verilmektedir. SEM görüntüsüne bakıldığında istenen fiber yapısına yaklaşıldığı belirlenmiş ve jelatin fiber kombinasyonu çalışmaları için % 15 w/w PVA çözeltisi ile devam edilmiştir. PVA:Jel kombinasyonları 90:10 (Şekil 4.3), 80:20 (Şekil 4.4) ve 70:30 (Şekil 4.5) olarak gerçekleştirilmiştir. 70:30 üre katkılı ise Şekil 4.6 da verilmektedir. PVA-Jelatin-Üre-BG (70:30:10:10) çözeltisinden hazırlanan membranın SEM görüntüsü Şekil 4.7 'de verilmektedir. Jelatin miktarı artması ile fiber çaplarında gözle görünür azalma tespit edilmiştir. Fakat 70:30 oranının fiberleri yüksek boncuk oranına sahiptir ve istenen fiber yapısı elde edilemediğinden biyoaktif cam ve üre çalışmaları 90:10 ve 80:20 oranlarında devam edilmiştir. Asetik asit ile üretilen membranların (Şekil 4.2-4.7) yeterli fiber yapısında olmaması ve çapraz bağlanması için gluteraldehit gerekmesinden dolayı sonraki çalışmalar sitrik asit çapraz bağlayıcı ile gerçekleştirilmiş ve gluteraldehit adımı çalışmadan çıkarılmıştır.

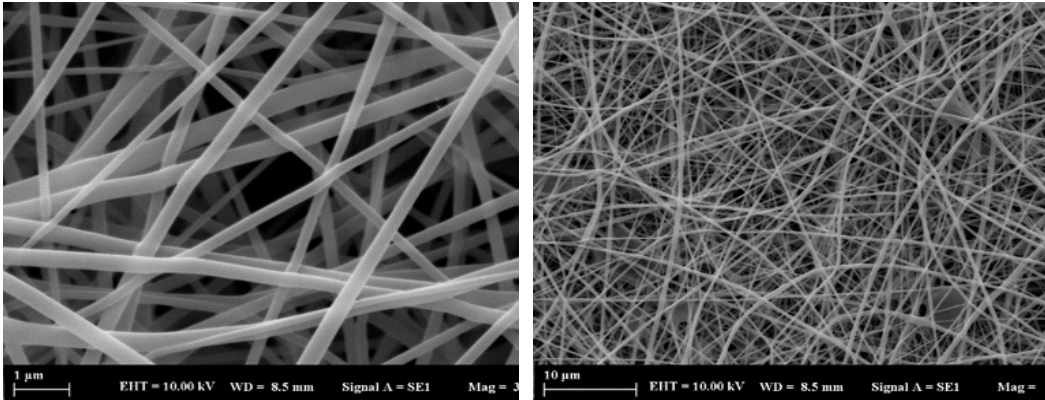


Şekil 4.8 PVA-Jelatin (80:20) %15 Sitrik Asit ve %1 Biyoaktif Cam ile hazırlanan membranın çapraz bağlama öncesi ve sonrası x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü

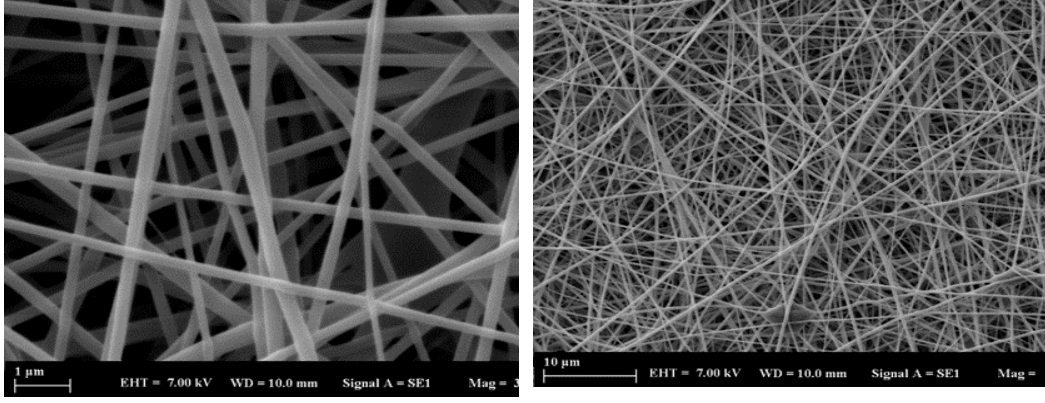
PVA:Jel 80:20 kombinasyonunda %15 Sitrik Asit ve %1 Biyoaktif Cam ile hazırlanan karışımdan hazırlanan membranın çapraz bağlı ve bağlı olmayan SEM görüntüsü Şekil 4.8 'de verilmektedir. SEM görüsüntüsünden elde edilen fiberlerin pürüzsüz ve homojen dağılımlı oldukları ve çapraz bağlama işleminden sonra fiber yapısının bozulmadığı çapraz bağlanmayana göre daha düz yapıda olduğu gözlemlenmiştir.



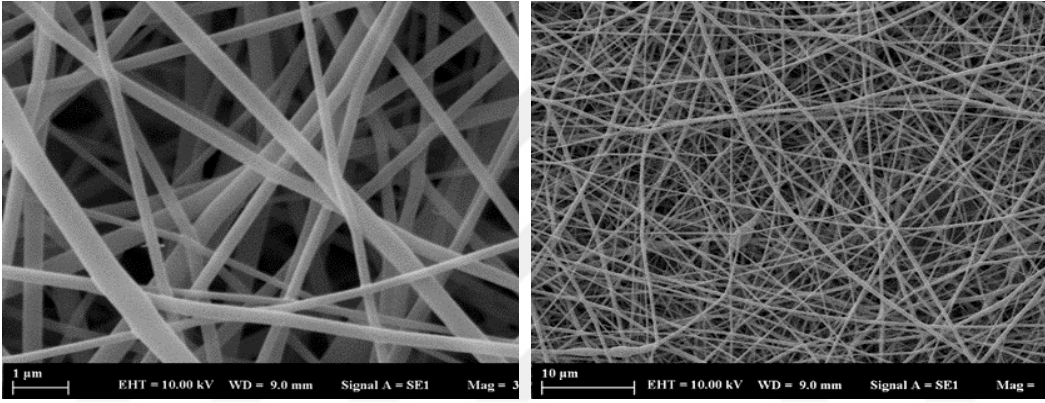
Şekil 4.9 PVA-Jelatin (80:20) ve %15 Sitrik Asit ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



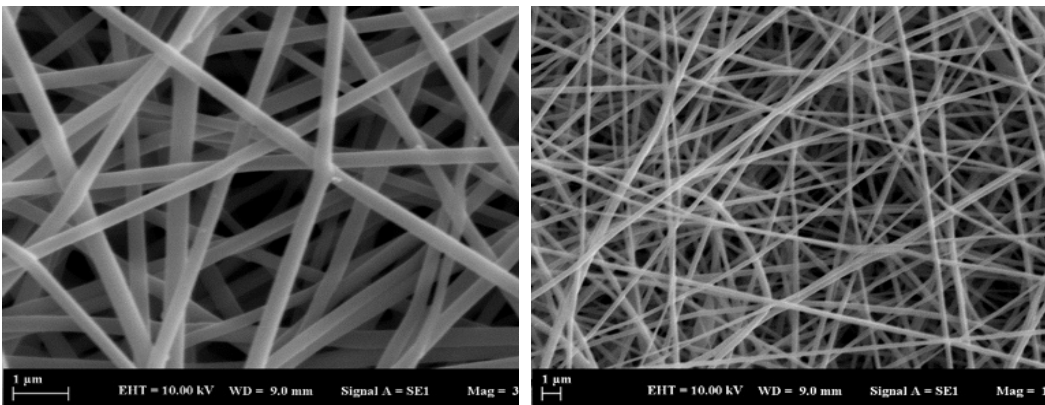
Şekil 4.10 PVA-Jelatin (80:20), %10 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



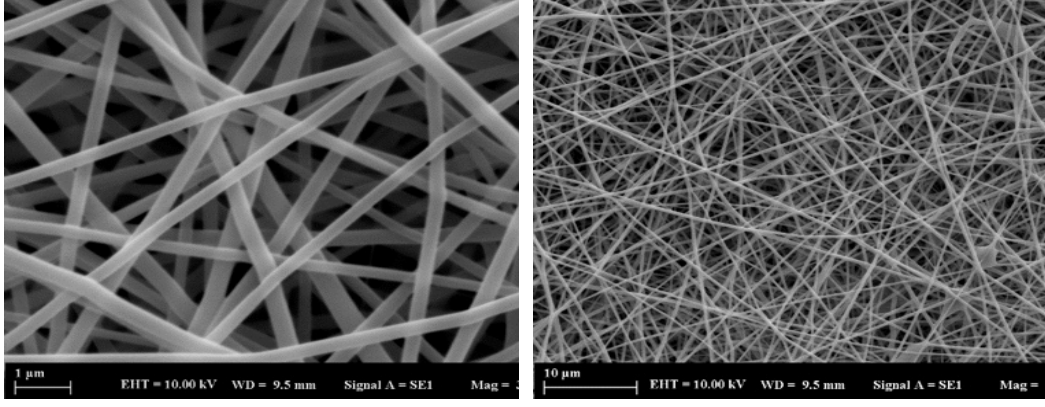
Şekil 4.11 PVA-Jelatin (80:20), %15 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



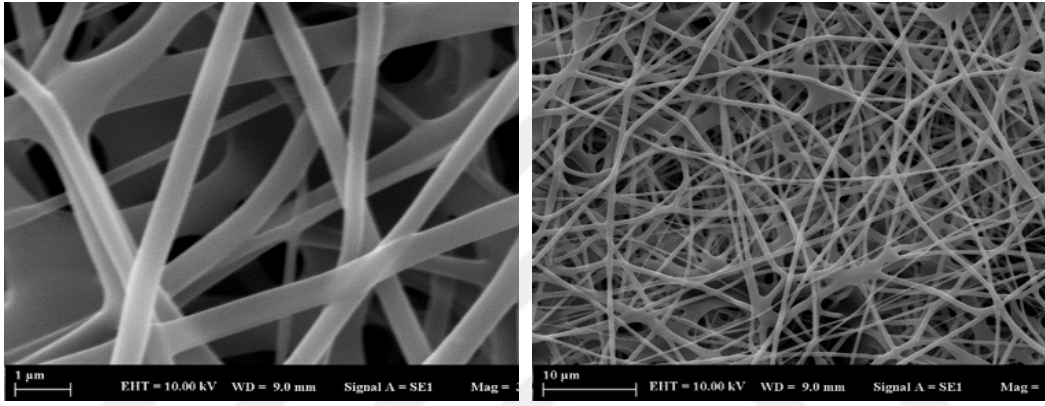
Şekil 4.12 PVA-Jelatin (80:20), %20 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



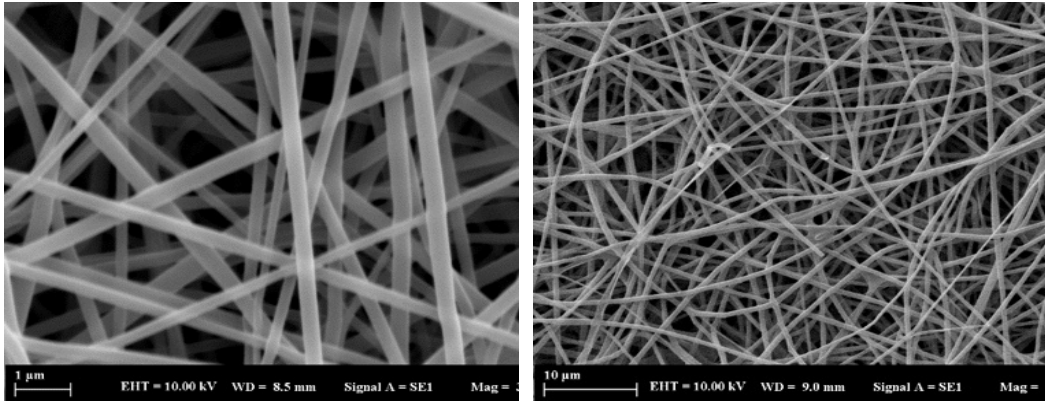
Şekil 4.13 PVA-Jelatin (85:15) ve %15 Sitrik Asit ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



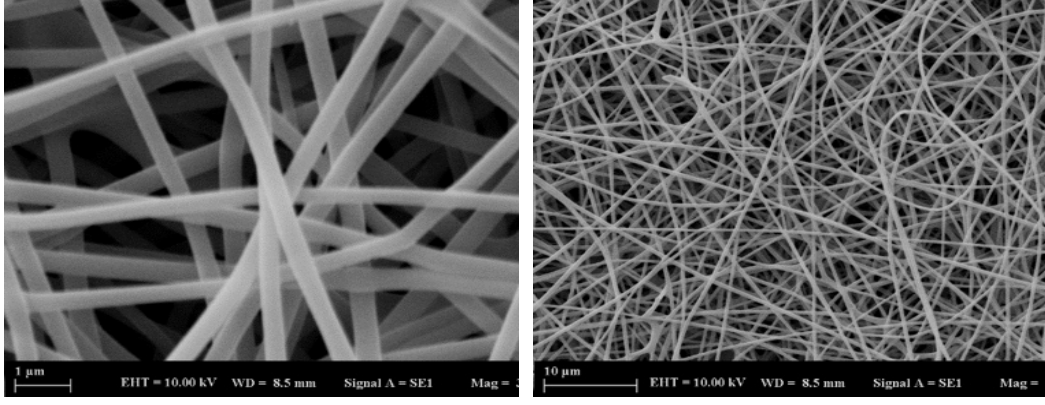
Şekil 4.14 PVA-Jelatin (85:15), %15 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



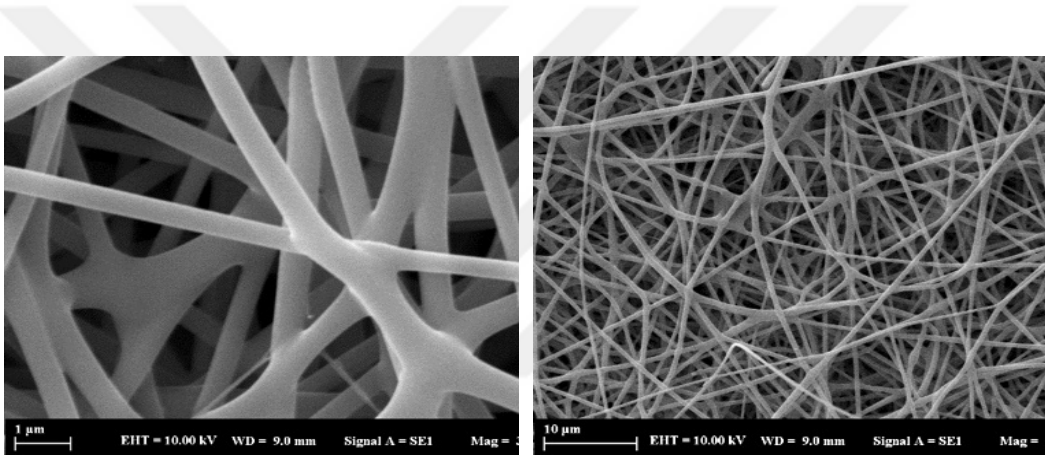
Şekil 4.15 PVA-Jelatin (85:15), %15 Sitrik Asit ve %2 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



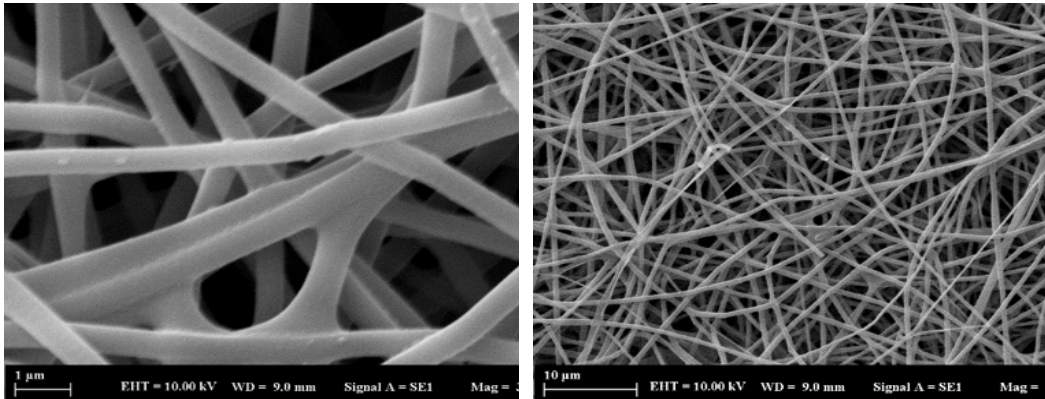
Şekil 4.16 PVA-Jelatin (90:10) ve %15 Sitrik Asit ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



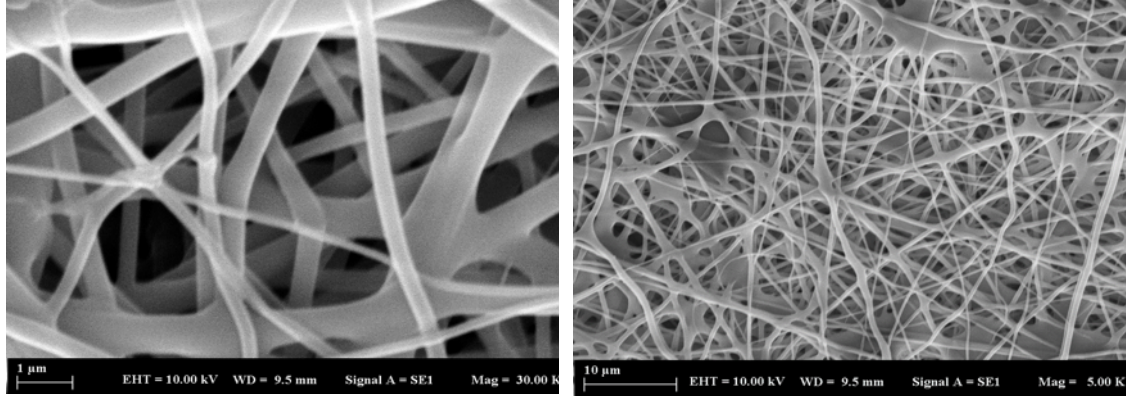
Şekil 4.17 PVA-Jelatin (90:10), %15 Sitrik Asit ve %1 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



Şekil 4.18 PVA-Jelatin (90:10), %15 Sitrik Asit ve %2 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



Şekil 4.19 PVA-Jelatin (90:10), %15 Sitrik Asit ve %3 BG ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü



Şekil 4.20 PVA-Jelatin (90:10), %15 (w/w) Sitrik Asit, %3 BG ve %10 Üre ile hazırlanan membranın x30k ve x5k büyütmesi ile SEM görüntüsü

Şekil 4.8-19 arasındaki SEM görüntülerinde farklı PVA:Jel oranında (90:10, 85:15, 80:20) ve farklı biyoaktif cam (%0-3) içeriğinde hazırlanan membranlar verilmektedir. Üretilen membranlar homojen ve pürüzsüz fiber yapılarına sahiptir. Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'deki membranlar sırasıyla 90:10 %15SA %3BG ve 90:10 %15SA %3BG-%10 üre olarak üretilmiştir. Bu membranlar kıyaslandığında üre püskürtülen membranın fiberlerinin kalınlaştığı ve birbirlerine yaklaştıkları gözlemlenmiştir.

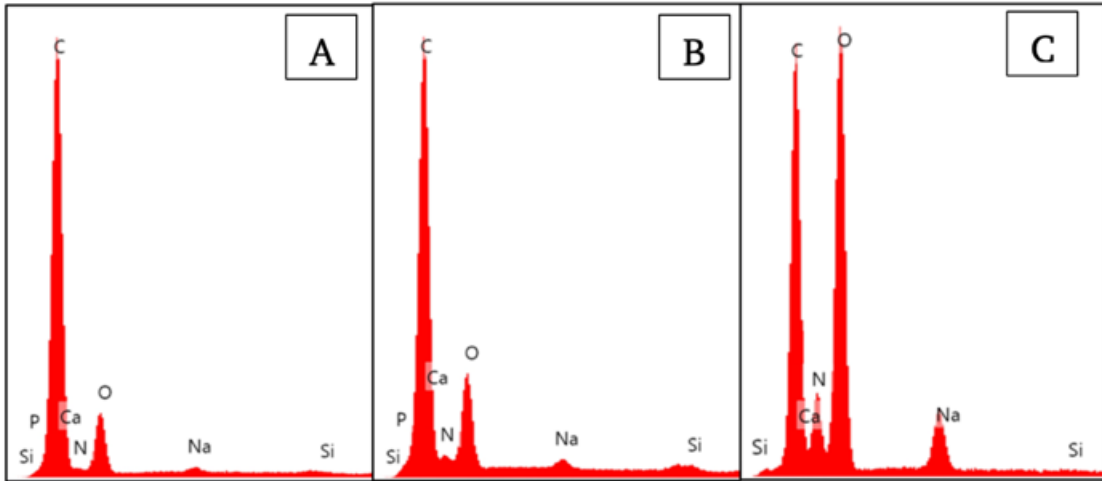
4.1.2 Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDS)

Tablo 4.1 Biyoaktif cam ve Üre içeren membranların SEM-EDS Karşılaştırma Tablosu

Membranlar	Element (wt%)				
	Sodyum	Silisyum	Oksijen	Kalsiyum	Azot
90:10PVA:Jel- %15 SA%1 BG	1,76	1,61	14,77	1,38	0
90:10PVA:Jel- %15 SA%3 BG	2,60	1,98	18,11	2,36	0,46
90:10PVA:Jel- %15 SA%3 BG- %10 Üre	7,70	0,31	34,91	1,06	7,70

Membrandaki biyoaktif cam ve üre içeriği enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDS; Carl Zeiss, SmartEDX) ile üç farklı nokta ile nokta analizi ile belirlenmiştir. Tablo 4.1.'de 3 farklı noktadan alınan verilerin ortalaması verilmiştir.

45S5 BG ((%ağırlıkça): %45 SiO₂, %24,5 Na₂O, %24,5 CaO ve %6,0 P₂O₅)[72] içeriği göz önüne alındığında, polimer karışımındaki 45S5 BG partiküllerinin miktarı %1'den %3'e (w/w polimer) çıkarıldığında, membrandaki 45S5 biyoaktif cam miktarının da arttığı Tablo 4.1. ve Şekil 4.21 ile doğrulanmıştır. Üre içeren membrandaki üre varlığı, üre içeren membrandaki nitrojen miktarının üre içermeyen membranlara kıyasla artırılmasıyla doğrulanmıştır. Bu sonuca göre, 90:10PVA:Jel- %15 SA%3 BG- %10 Üre membranının, elektrosprey tekniği kullanılarak 90:10PVA:Jel- %15 SA%3 BG membranının yüzeyinin üre ile başarılı bir şekilde kaplanmasıyla üretildiği sonucuna varılabilir.



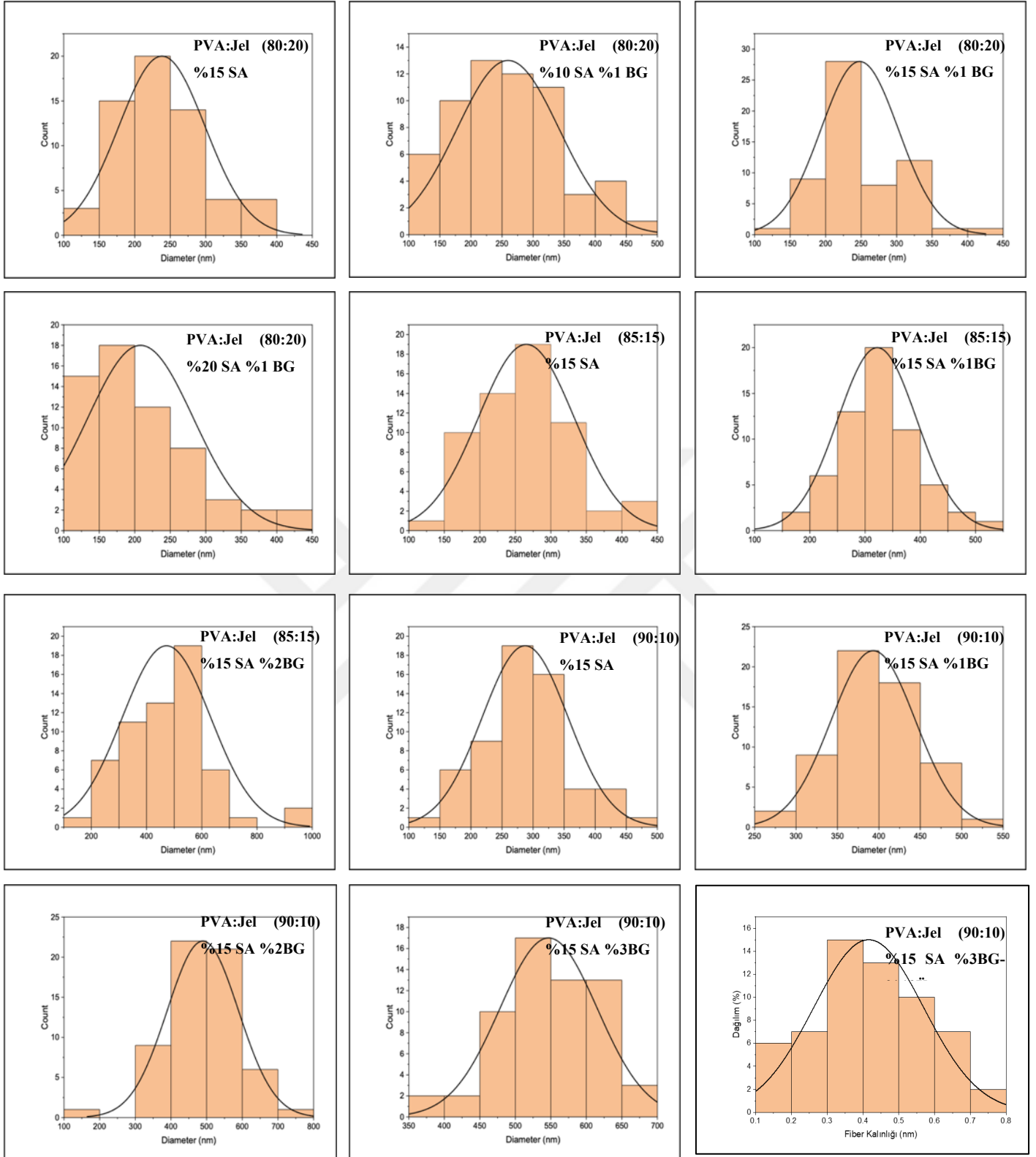
Şekil 4.21 90:10PVA:Jel- %15 SA%1 BG (A) ve 90:10PVA:Jel-%15 SA%1 BG (B), 90:10PVA:Jel-%15 SA%1 BG %10Üre (C) SEM-EDS spektrumu

4.1.3 Membranların Ortalama Fiber Kalınlık Dağılımları (Image J)

Tablo 4.2 Membranların Ortalama Fiber Kalınlıkları

Membran	Kullanılan asit Çeşidi	Fiber kalınlığı (nm)
PVA	Asetik asit	256± 112
PVA:Jel (90:10)	Asetik asit	231± 120
PVA:Jel (80:20)	Asetik asit	159 ± 37
PVA:Jel (70:30)	Asetik asit	106 ± 35
PVA-Jel (90:10) %15 SA	Sitrik asit	287± 69
PVA:Jel (85:15) %15 SA	Sitrik asit	265± 67
PVA:Jel (80:20) %15 SA	Sitrik asit	238± 60
PVA:Jel (80:20) %10 SA %1 BG	Sitrik asit	260± 82
PVA:Jel (80:20) %15 SA %1 BG (çapraz bağlı değil)	Sitrik asit	238± 64
PVA:Jel (80:20) %15 SA %1 BG	Sitrik asit	248± 54
PVA-Jel (80:20) %20 SA %1 BG	Sitrik asit	208± 74
PVA-Jel (85:15) %15 SA	Sitrik asit	265± 67
PVA-Jel (85:15) %15 SA %1 BG	Sitrik asit	322± 71
PVA-Jel (85:15) %15 SA %2 BG	Sitrik asit	472± 158
PVA-Jel (90:10) %15 SA %1 BG	Sitrik asit	393± 50
PVA-Jel (90:10) %15 SA %2 BG	Sitrik asit	489± 99
PVA:Jel (90:10) %15 SA %3 BG	Sitrik asit	547± 68
PVA:Jel (90:10) %15 SA %3 BG %10 üre	Sitrik asit	595± 158

Tablo 4.2 'de farklı içeriklerde hazırlanan membranların ortalama fiber çapları ve Şekil 4.22 'de membranların ortalama fiber çapı histogram grafikleri verilmektedir. Sitrik asidin çapraz bağlayıcı olarak doğrudan karışıma eklenmesi durumunda, sitrik asidin iyonlaşması nedeniyle karışımın pH'ının düştüğü ve elektrik iletkenliğinin arttığı, karışımın viskozitesinin ise değişmediği bilinmektedir[64], [108]. Bu bağlamda, %10'dan %20'ye (w/w polimerler) kadar çeşitli sitrik asit oranları test edilmiştir. Biyoaktif cam oranı (%1 w/w) ve polimer bileşimi (PVA: Jel, 80:20) sabit tutularak sadece çapraz bağlayıcı miktarı %10'dan %20'ye (w/w polimerler) çıkarıldığında lif kalınlıklarının azaldığı gözlemlenmiştir. 15 (w/w polimer) sitrik asit içeren membran diğerlerine kıyasla daha düzgün ve tek tip (standart sapmaya bağlı olarak) lif görünümüne sahiptir. Literatürde PVA'nın hacimsel oranının artmasının iletkenliğin azalmasına yol açtığı ve karışımın viskozitesinin arttığı, yüzey yük yoğunluğunun ve jetin itme kuvvetinin azaldığı ve sonuç olarak daha büyük lif çapları elde edildiği belirtilmektedir [109]. Buna göre, PVA:Jel (80:20) %15 SA , PVA:Jel (85:15) %15 SA ve PVA:Jel (90:10) %15 SA (sadece PVA:Jel nanoliflerinin çeşitli kombinasyonları) ortalama lif çaplarının sırasıyla 238, 265 ve 287 nm olarak arttığı belirlenmiştir. PVA:Jel nanoliflerin farklı kompozisyonlarındaki (90:10, 85:15, 80:20) BG konsantrasyonunun lif çaplarının kalınlığı üzerindeki etkisi incelenmiş, tüm polimer oranlarında biyoaktif cam oranları arttıkça ortalama lif çaplarının ve standart sapmaların arttığı gözlemlenmiştir. Liverani ve arkadaşları tarafından Biyoaktif cam partikülleri içeren polimerik çözeltinin iletkenliğinin artmasına bağlı olarak maksimum ve minimum lif çapı aralıklarının genişlediği ve buna bağlı olarak standart sapmanın arttığı bildirilmiştir[110]. Özellikle, PVA: Jel (85:15) kombinasyonunda liflerin kalınlaştığı ve bazı liflerin birbiriyle birleştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, PVA:Jel (85:15) %15CA%2BG'nin ortalama lif çapı ve standart sapmasında önemli bir artış tespit edilmiştir. Bu verilerle karşılaştırıldığında, 90:10 PVA:Jel içeren liflerin daha tutarlı ve pürüzsüz olduğu görülmektedir. Elektrosprey yöntemiyle üretilen üre katkılı membranın, üre katkısı içermeyen üre içermeyen (PVA:Jel (90:10) %15 SA %3BG) kıyasla daha kalın bir yapıya sahip olduğu fark edilmiştir. Bu durumun, elektrosprey sırasında liflerin su emerek şişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.22 Sitrik asit ile hazırlanan membranların ortalama fiber çapı histogram grafikleri

4.1.4 Karışımların pH Analizi

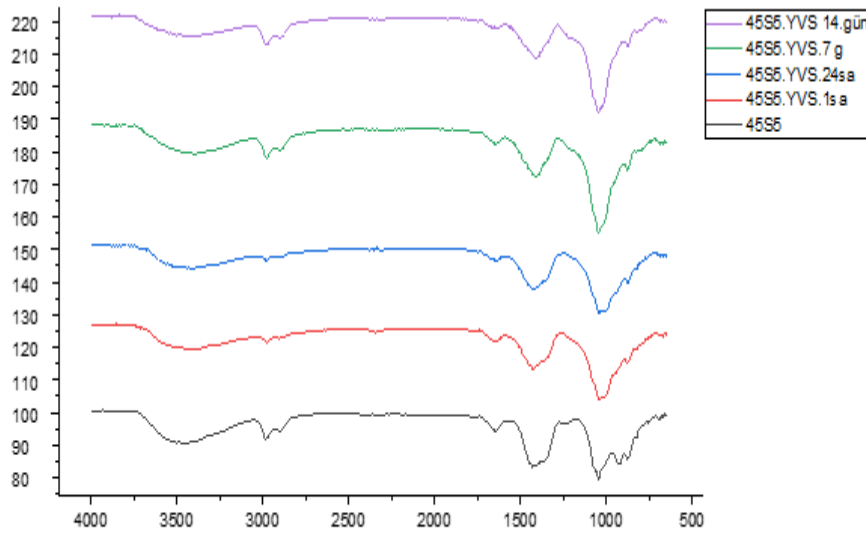
Tablo 4.3 Karışımların pH değerleri

Örnek	PVA/Jelatin	Sitrik Asit (%)	BG (%)	pH
1	80:20	5	1	3.86
2	80:20	7.5	1	3.84
3	80:20	10	1	3.81
4	80:20	15	1	3.60
5	80:20	20	1	3.16
6	80:20	-	-	5.18
7	85:15	-	-	5.38
8	90:10	-	-	5.41
9	90:10	15	1	2.58
10	90:10	15	2	2.70
11	90:10	15	3	3.12
12	90:10	15	4	3.40
13	90:10	15	5	3.60
14	85:15	15	1	2.59
15	85:15	15	2	2.92
16	85:15	15	-	2.33
17	80:20	20	-	2.28
18	80:20	15	-	2.42
19	85:15	15	3	3.01
20	85:15	15	4	3.40
21	85:15	15	5	3.70

Elektro eğirme öncesi hazırlanan PVA, jelatin, Sitrik Asit ve Biyoaktif cam içeren çözeltilerin pH değişimini gösteren bulgular Tablo 4.3'te verilmiştir. Sitrik asidin çapraz bağlayıcı olarak doğrudan karışıma eklenmesiyle, sitrik asidin iyonlaşması sonucunda karışımın pH'ının düştüğü ve elektrik iletkenliğinin arttığı, karışımın viskozitesinin ise değişmediği bilinmektedir[64]. Tablo 4.3'te 1-5 numunelerinin pH'ları kıyaslandığında sitrik asit miktarının artmasıyla ortamın pH 'ının literatürle uyumlu olarak düştüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca çözeltideki biyoaktif cam miktarının artmasıyla pH değerinde artış olduğu belirlenmiştir.

4.1.5 Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR)

45S5 biyoaktif camların biyoaktivitesini incelemek üzere YVS'de belirli sürelerle bekletildikten sonra FTIR analizleri gerçekleştirilmiş ve FTIR spektrumu Şekil 4.23'te verilmiştir.

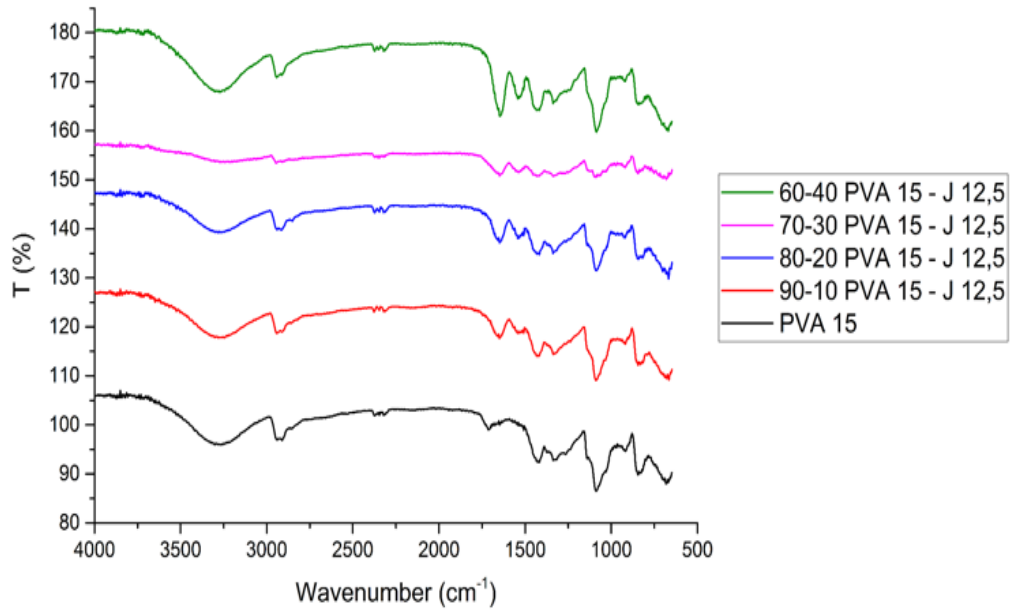


Şekil 4.23 45S5 biyoaktif camların FTIR analizi spektrumu

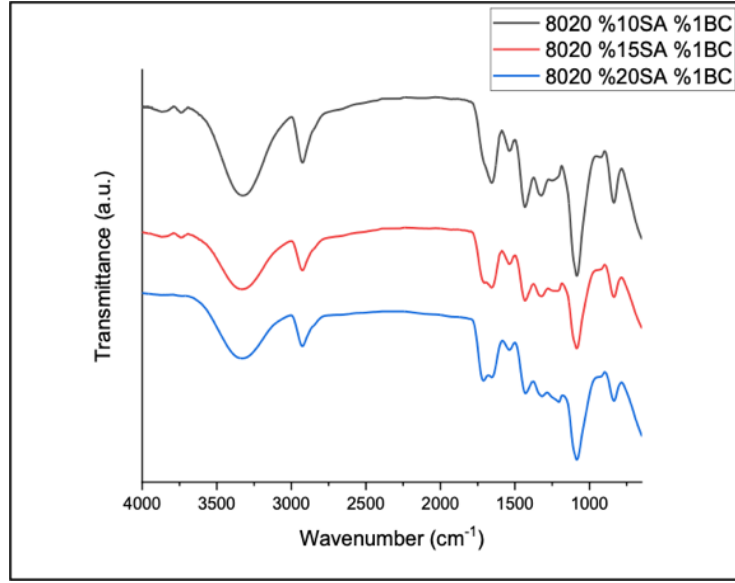
FTIR spektrumları incelendiğinde biyoaktif camların yapısında olması muhtemel Si-O-Si grupları 1020 cm^{-1} dalga boylarında görülmektedir. 850 cm^{-1} dalga boyunda görülen pik SiO_4 tetrahedron yapısında iki adet köprü yapmamış oksijen içeren Si-OH gruplarını göstermektedir. 1020 cm^{-1} civarında ayrılmamış olan pik genel olarak 980 cm^{-1} 'de görülen pik $(\text{PO}_4)^{3-}$ gruplarını göstermektedir. 1648 cm^{-1} 'de ve 3000 cm^{-1} civarındaki pikler OH- gruplarını temsil etmektedir.

Üretilen camların kalsinasyon öncesi FTIR analiz sonuçları incelendiğinde 1033, 858 ve 790 cm^{-1} dalga boyunda biyoaktif camın yapısında bulunan Si-O-Si titreşimlerden kaynaklanan piklere rastlandığı gözlemlenmiştir. Ayrıca 1637 cm^{-1} dalga boyunda C-H gerilmelerine ait pikler gözlenmiştir. Organik fazların ve yapıdaki safsızlıkların uzaklaştırılması amacıyla gerçekleştirilen kalsinasyon işlemi sonrasında FTIR analizleri tekrarlanmıştır. Analizler sonucunda C-H gerilmelerine ait piklerin büyük oranda yok olduğu görülmüştür.

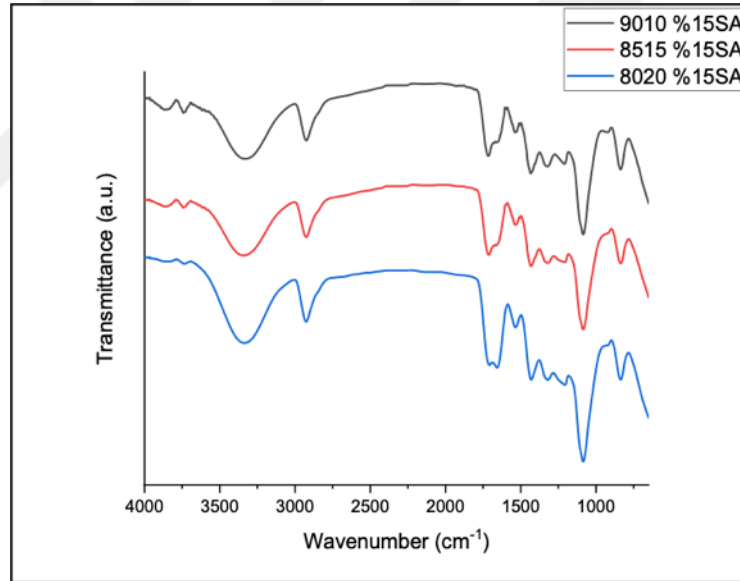
Üretilen camların biyoaktivitelerini belirlemek amacıyla camlar hazırlanan YVS içerisinde bekletildikten sonra FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir. Biyoaktif camların YVS’de bekletilen sonra FTIR analiz sonuçları incelendiğinde, 1508 ve 1631 cm^{-1} dalga boylarında HCA (hidroksikarbon apatit)’e ait piklere rastlandığı ve biyoaktif camların biyoaktivite göstermeye başladıkları belirlenmiştir [111, 112].



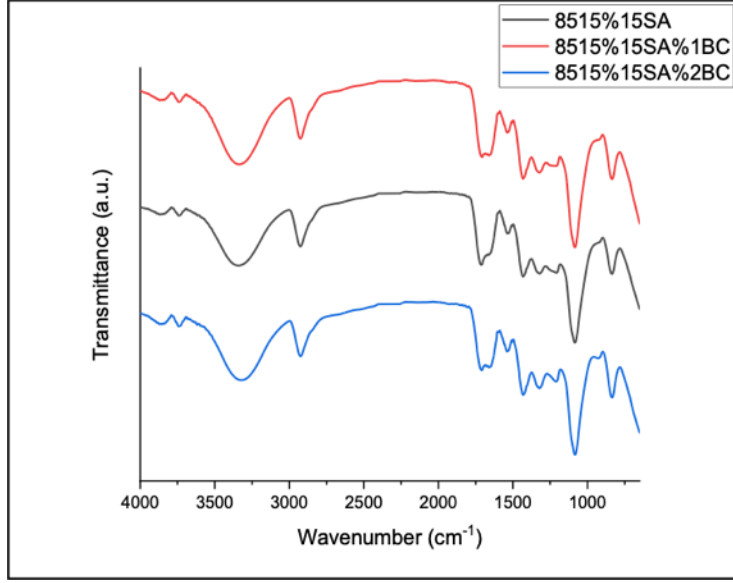
Şekil 4.24 Farklı oranlarda birleştirilen PVA (%15, w/v) ve jelatin (%12,5, w/v) çözeltilerinden hazırlanan membranlarının FTIR analizi sonuçları



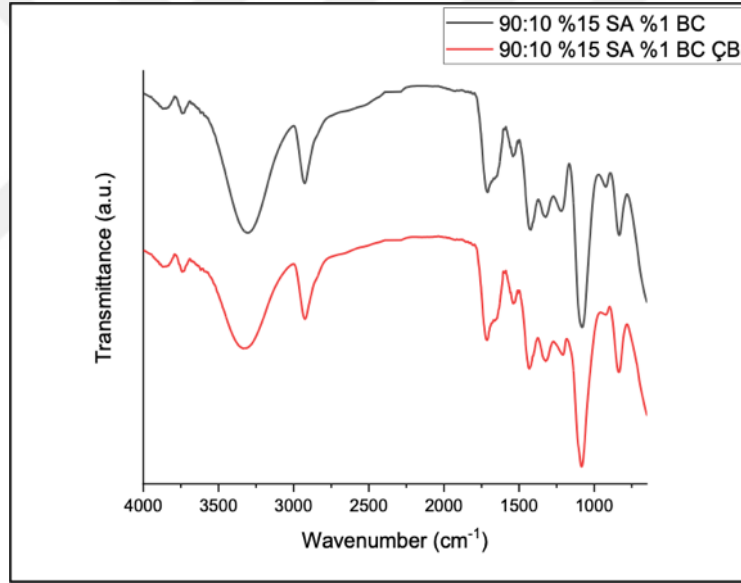
Şekil 4.25 80:20 PVA:Jel kombinasyonu ile %1 Biyoaktif Cam içeren farklı sitrik asit oranları ile hazırlanan membranların FTIR analizi sonuçları



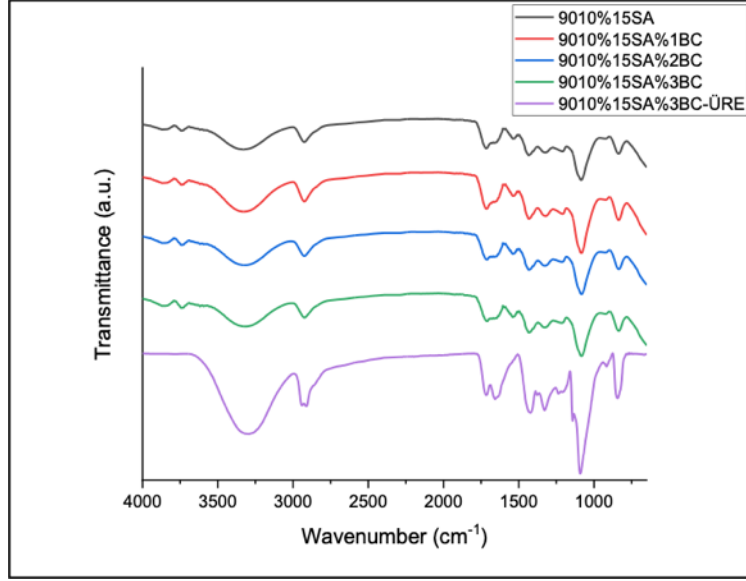
Şekil 4.26 Farklı (80:20,850:15,90:10) PVA:Jel kombinasyonları hazırlanan membranların FTIR analizi sonuçları



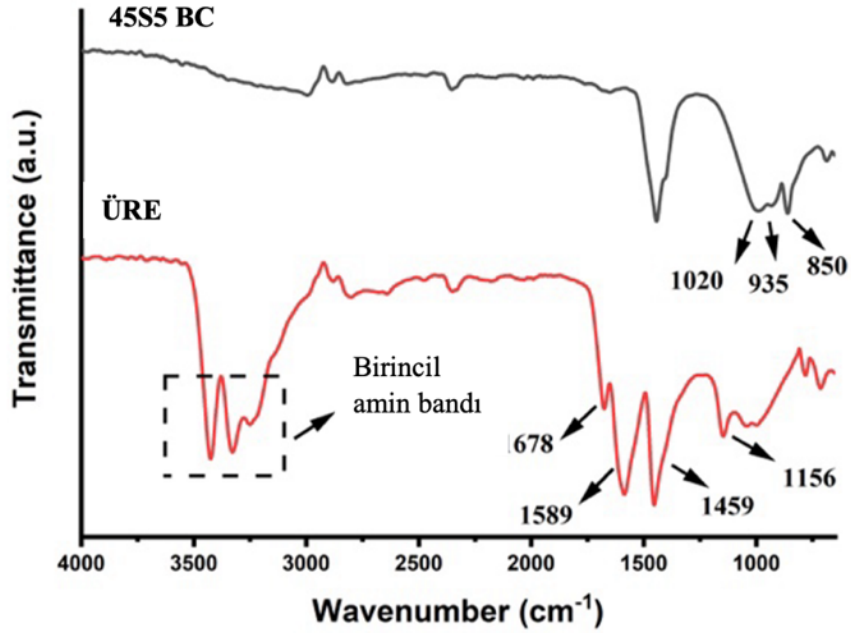
Şekil 4.27 85:15 PVA:Jel kombinasyonu ile farklı Biyoaktif Cam oranları içeren karışımlardan hazırlanan membranların FTIR analizi sonuçları



Şekil 4.28 90:10 PVA:Jel kombinasyonu ile %1 Biyoaktif Cam oranıyla hazırlanan membranın çapraz bağlanmadan öncesi ve sonrası FTIR spektrumlarının karşılaştırması



Şekil 4.29 90:10 PVA:Jel kombinasyonu ile farklı Biyoaktif Cam oranları ve üre içeren membranların FTIR analizi sonuçları



Şekil 4.30 45S5 Biyoaktif cam ve Üre FTIR spektrumları

Kimyasal bağları ve üretilen membranların belirli gruplarını araştırmak için FTIR analizi kullanılmıştır ve Şekil 4.24-29 arasında üretilen membranların karşılaştırmalı FTIR analiz spektrumları verilmektedir. PVA'nın karakteristik pikleri; 3000–3600 cm^{-1} ve 3280 cm^{-1} dalga boylarında geniş ve yoğun olarak belirtilir.

Bu pikler moleküller arası ve molekül içi hidrojen bağlarından O–H grubunun düzenli gerilme titreşim piklerinden kaynaklanır, pikler 2920–2870 cm^{-1} dalga boyu aralığı, $-\text{CH}_2$ 'nin C–H gerilme titreşimlerine atanır. 1485 cm^{-1} ve 1342 cm^{-1} 'deki pik, makaslama $-\text{CH}_2$ grubunu ve titreşimsel bükülme $-\text{OH}$ grubunu gösterir. 1085 cm^{-1} , 1024 cm^{-1} ve 845 cm^{-1} 'de görülen pikler, sırasıyla C– O esneme, C– C esneme ve C– O– C asimetric esneme olarak atanır. Jelatin yapısındaki ikincil amidlerin $-\text{N}-\text{H}$ grubu, 1657 cm^{-1} dalga boyu, C=O gerilmesini ve COO-gerilmesiyle birlikte hidrojen bağı gösterirken, 1544 ve 1236 cm^{-1} 'deki tepe noktaları N–H ve C–N'yi gösterir. amid II grubunun gerilmesi. Pik 1530 cm^{-1} amid I ve C–N germe gruplarında. 1237,6 cm^{-1} 'deki pik, $-\text{N}-\text{H}$ bükülmesini ve amid-III'ü gösterir[63, 113-116]. Özellikle 1630 cm^{-1} dalga boyunda pik yoğunluğundaki artış, PVA/Jelatin zarında jelatinin varlığını gösterir. Çapraz bağlanma, PVA'nın hidroksil grupları ile sitrik asidin karboksilik grupları arasındaki esterleşme reaksiyonu nedeniyle meydana gelir. Şekil 4.25'te, 1715 cm^{-1} 'deki pik ester karbonil grubunun oluşumundan dolayı C=O'yu göstermektedir [64, 108]. Şekil 4.25'te sitrik asit miktarının artmasıyla pikin 1714 cm^{-1} 'den 1720 cm^{-1} kaydığı gözlenmiştir (ester karbonil grubunun oluşumuna bağlı olarak C=O). Şekil 4.26'da, PVA miktarının artmasıyla pikin sırasıyla 1715 cm^{-1} , 1718 cm^{-1} 'den 1723 cm^{-1} 'e (ester karbonil grubunun oluşumuna bağlı C=O) kaydığı gözlemlenmiştir. Sitrik asit miktarı % 10'dan %15 w/w polimere çıkarıldığında, 3000-3600 cm^{-1} dalga boyundaki O-H pikinin yoğunluğunun azaldığı ve sitrik asit oranı %20 w/w polimer olduğunda, %15 w/w polimer sitrik asit oranıyla aynı özelliği gösterdiği gözlemlenmiştir. Yüksek asitlikten kaçınmak için sitrik asidin esterleşmemiş karboksil gruplarını en aza indirmek için, % 15 w/w polimer sitrik asit oranının liflerin çapraz bağlanması için yeterli olduğu kabul edilmiştir. 45S5 BG'nin karakteristik pikleri Şekil 4.30'da verilmiştir. SiO_4 tetrahedron yapısında 850 cm^{-1} dalga boyunda gözlenen pik iki adet köprülenmemiş oksijen içeren Si-OH grubunu gösterirken, 1020 cm^{-1} dalga boyundaki pik Si-O-Si gruplarını göstermektedir. Sol-jel BG'lerde kristalleşmenin varlığını gösteren 935 cm^{-1} 'deki pikler, Si ile köprülenmemiş oksijen spektrumu arasındaki gerilme bağından kaynaklanmaktadır [117].

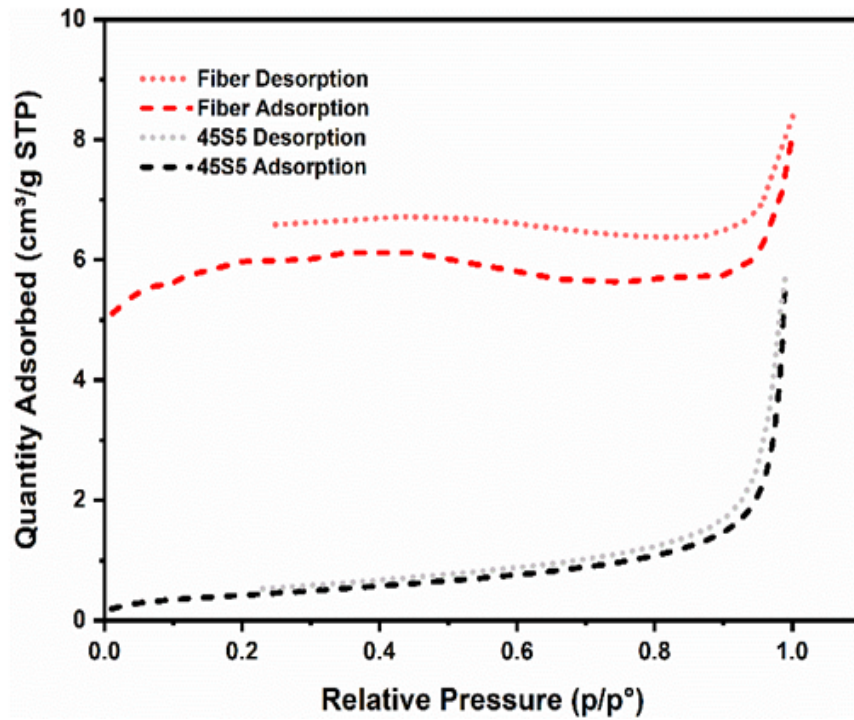
Biyoaktif camın karakteristik bantları polimerlerin bantlarıyla örtüştüğü ve biyoaktif cam miktarı polimerden çok daha az olduğu için spektrumlarda tespit edilememektedir[118]. C=O, C-N ve C-O'nun gerilme frekansı üre analizine göre sırasıyla 1678, 1459, 1156 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır (Şekil 4.30)[107].

N-H bağının gerilme ve deformasyonu sırasıyla 3427 cm^{-1} ve 1589 cm^{-1} 'de gözlenmiştir[107]. PVA/Jel bazlı üre içeren membranların FTIR spektrumlarının Şekil 4.29'da bazı karakteristik pikler görülmektedir; N-H/O-H örtüşen bandı 3600-3200 cm^{-1} aralığında görülmektedir. Buna ek olarak, üre içeren membranın FTIR spektrumunun C-H gerilme titreşimleri nedeniyle 2934 cm^{-1} dalga boyunda diğer membranlara göre daha yoğun olduğu görülmüştür. Ayrıca, üre içeren membranlarda 1657 cm^{-1} dalga boyunda geniş bir pik ortaya çıkmaktadır. Bu bölgede amid absorpsiyon piki yer almaktadır. Pikin genişliği C=O absorpsiyon bandının amid bandı ile örtüştüğünü göstermektedir[119] .

4.1.6 Biyoaktif Cam ve Membranların yüzey alanı ve gözenek boyut analizi (BET)

Yüzey alanı ve gözenek boyut analizörü ile PVA/Jelatin bazlı yara örtüsü liflerinin ve 45S5 BG spesifik BET yüzey alanı ve gözenekliliği Şekil 4.31 ve Tablo 4.4'te verilmiştir. BG 2.29 m^2/g spesifik BET yüzey alanına, 4.646 cm^3/g gözenek hacmine ve 0.00216 nm ortalama gözenek çapına sahiptir. Üretilen lifler ise 8.0796 ile 13.0721 m^2/g spesifik BET yüzey alanı; 0.00158 ile 0.01059 cm^3/g toplam gözenek hacmi ve 2.176 ile 5.003 nm ortalama gözenek çapı arasında gözlenmiştir. Literatürde rapor edilen elektropspin polimerik nanofibröz liflerin değerlerinin bu değerlere benzer olduğu görülmektedir[120]. Üretilen liflerin ortalama lif çapının yüzey alanı üzerindeki en büyük etkenlerden biri olduğu yaygın olarak bilinmektedir. Aynı oranda Sitrik asit içeren ve biyoaktif cam içermeyen numuneler incelendiğinde ise en düşük BET yüzey alanının PVA:Jel 85 %15 SA numunesinde gözlemlendiği ve bu durumun SEM görüntülerine göre 85:15 oranında ortalama lif çapının en yüksek olmasından kaynaklandığı söylenebilir [121]. Ayrıca biyoaktif cam ilavesinin genel olarak BET yüzey alanını azalttığı söylenebilir. Öte yandan, farklı SA konsantrasyonlarının yüzey alanı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı ifade edilebilir.

Ayrıca, üretilen yara örtüsü liflerinin mezogözenekli yapılarını gösteren açık uçlu tip IV izotermi (Şekil 4.46'daki izotermin şeklinden) sergilediği gözlemlenmiştir. Fiber, yüksek basınçta ($P/P_0 = 0,4$ ve $1,0$ arasında) H3 tipi histerezis döngüsü sergilemiştir; bu, fiber membranların şekli olan plaka benzeri partiküllerin sert agregalarındaki yarık şekilli gözeneklere ait olduğu düşünülmektedir[122]. Literatürde, açık uçlu izotermilerin belirli karbon içeren malzemelerle ilişkili olduğu bilinmektedir ve bunun, azot adsorpsiyonunun neden olduğu liflerin kütle yoğunluğundaki değişikliklerden kaynaklandığı bildirilmiştir[123]. BJH ile belirlenen ortalama gözenek çapı ve kümülatif gözenek hacmi, muhtemelen düşük yüzey düzensizliği oranı nedeniyle liflere biyoaktif cam eklenmesinden sonra azalmıştır[121]. Ayrıca, liflerin düşük kümülatif gözenek hacmi, yapıyı sıkıca bağlayan güçlü hidrojen bağlarından kaynaklanabilir[101]. İdeal bir yara örtüsünün, çeşitli enfeksiyon ajanlarının penetrasyonunu önlemek için 1000 nm'den daha küçük gözenek boyutlarına ve uygun sıvı emilimini ve dermal dağıtım uygulamasını desteklemek için 5-100 m²/g arasında değişen bir yüzey alanına sahip olması gerektiği belirtilmiştir[124]. Jeliştirilen membranların uygun BET yüzey alanı ve gözenek boyutları, bu membranların yara örtüsü malzemesi olarak kullanılma potansiyelini sağlamaktadır.



Şekil 4.31 45S5 Biyoaktif Cam ve PVA/Jel 90:10 %15SA fiberin N₂ adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi.

Tablo 4.4 Üretilen membranlar ve biyoaktif camın yüzey alanı, ortalama gözenek çapı ve kümülatif gözenek hacmi özellikleri

Örnekler	BET Yüzey alan (m ² /g)	Ortalama gözenek çapı (nm)	Kümülatif gözenek hacmi (cm ³ /g)
45S5 BG	2,29	4,646	0,00216
PVA:Jel (80:20) %15SA	13,07	4,829	0,00158
PVA:Jel (80:20) %15SA%1BG	10,1	2,414	0,01059
PVA:Jel (85:15) %15SA	8,08	2,512	0,00320
PVA:Jel (85:15) %15SA %1BG	9,47	2,485	0,00252
PVA:Jel (90:10) %15SA	12,55	4,782	0,00625
PVA:Jel (90:10) %15SA %3BG	8,70	2,176	0,00186

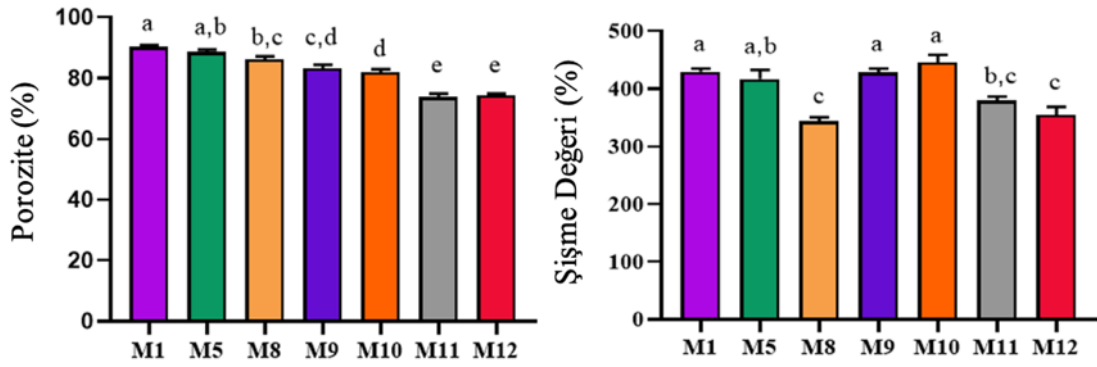
4.1.7 Porozite

Tablo 4.5 Membranların porozite ve şişme (%) değerleri

Membran	Porozite (%)	Şişme değeri (%)
PVA:Jel (80:20) %15SA	90,23 ± 1,57	429,56 ± 11,84
PVA:Jel (85:15) %15SA	88,57 ± 1,86	416,62 ± 35,19
PVA:Jel (90:10) %15SA	86,13 ± 2,30	343,08 ± 16,57
PVA:Jel (90:10) %15SA%1BG	83,31 ± 2,32	427,85 ± 15,85
PVA:Jel (90:10) %15SA%2BG	81,91 ± 2,28	446,23 ± 28,30
PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG	73,80 ± 2,47	379,32 ± 16,11
PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG- %10Üre	74,45 ± 1,01	354,51 ± 31,34

Yara örtüsünün gözenekliliği, yara bölgesindeki nemi desteklediği, yeterli gaz ve besin alışverişini sağladığı ve patojenlerin penetrasyonunu önlediği için (daha küçük gözenek boyutu sayesinde) yara iyileşmesinde önemli bir parametredir.

Doku rejenerasyonu (hücre penetrasyonu ve proliferasyonu) için membranların %60-90 oranında gözenekli olması gerekmektedir [125]. Tablo 4.5'te görüldüğü gibi üretilen tüm membranların poroziteleri (%73-90 arasında değişmektedir) doku rejenerasyonu için gerekli aralıktadır. Tüm membranlar incelendiğinde, en yüksek gözenekliliğe sahip membranların jelatin oranı daha yüksek olan örnekler olduğu görülmüştür. Ayrıca, membranların biyoaktif cam içerikleri arttıkça gözenekliliklerinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı dikkat çekmiştir ($p<0.05$). Stiglic ve arkadaşları tarafından çapraz bağlayıcı olarak sitrik asit kullanılarak yapılan çalışmada, artan çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ile artan çapraz bağlama yoğunluğunun poroziteyi azalttığı bildirilmiştir [126]. Tez çalışmasında karışımdaki sitrik asit konsantrasyonu sabit tutulmuş ve PVA oranı artırılmıştır ve Şekil 4.29 incelendiğinde, polivinil alkol (PVA) oranındaki artışla birlikte çapraz bağlanmada da eş zamanlı bir artış olduğu söylenebilir. Bu durum PVA miktarının artmasına bağlı olarak porozite düşüşünü açıklamaktadır. PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG (%74,01) ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG-%10Üre (%74,92) membranlarının poroziteleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Sonuç olarak çapraz bağlı membran üzerine elektrosprey yöntemi ile kaplanan ürenin membran gözenekliliği üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı söylenebilir.



Şekil 4.32 Hazırlanan membranların porozite (a) ve şişme derecesi (b) değerleri. (Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (n = 6)). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını göstermektedir ($p < 0.05$).

4.1.8 Su Tutma (Şişme)

Şişme, yara örtüleri için önemli bir özelliktir ve yara iyileşme sürecinde eksüdayı, vücut sıvılarını ve metabolitleri emme kapasitesini gösterir[54], [127]. Üretilen membranların su tutma kapasiteleri Tablo 4.5'te verilmiştir. Çapraz bağlanma yoğunluğunun artmasıyla interpolimer bağları güçlenir ve su moleküllerinin ağlara girmesini engelleyen daha az gözenekli yapılar oluşur[62]. Şekil 4. 32'deki sonuçlar M1 ve M5 membranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını, ancak M8 membranın şişme derecesi M1 ve M5 membranlarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğunu göstermektedir. Bu bakımdan PVA oranının artırılması gözenekliliği azaltmakta ve dolaylı olarak membranların şişme derecesini azaltmaktadır (PVA:Jel (80:20) %15SA, PVA:Jel (85:15) %15SA ve PVA:Jel (90:10) %15SA sırasıyla %429,56, %416,62 ve %343,08). WU ve ark. tarafından üretilen farklı miktarlarda borosilikat biyoaktif cam içeriğine sahip membranlarda, membranın biyoaktif cam içeriği artarken, membranın şişme kapasitesinin önce arttığı daha sonra azaldığı gözlemlenmiştir[128].

Sergi ve arkadaşlarının ürettiği kitosan membrana 45S5 biyoaktif cam ilavesi ile yara örtüsünün gözenekliliğinin azalması beklenirken şişme kapasitesinin düşmesi beklenmektedir ancak şişme analizi sonuçlarında %10 biyoaktif cam içeren membranın %5 biyoaktif cam içeren membrana göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir [129].

1 ve %2 biyoaktif cam içerikli membran (M9 ve M10) en yüksek şişme kapasitesini sergilerken, %3 biyoaktif cam içeren membran (M11) beklenenin aksine şişme derecesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p < 0.05$). Ürenin M11 membranı üzerine elektrospreylenmesi ile üretilen M12 membranının şişme derecesi M11 membranı ile benzerdir ($p > 0.05$).

4.1.9 Su Buharı İletimi (WVT) ve Su Buharı Geçirgenliği (WVP)

Tablo 4.6 Membranların su buharı iletimi (WVT) ve su buharı geçirgenliği (WVP)

Membran	WVT ($\text{g m}^{-2} \text{ day}^{-1}$)	WVP $\times 10^{-8}$ ($\text{g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$)
PVA:Jel (80:20) %15SA	1282.24 ± 50.12	19.71 ± 1.80
PVA:Jel (85:15) %15SA	1486.13 ± 57.45	39.97 ± 2.21
PVA:Jel (85:15) %15SA%1BG	1345.67 ± 48.46	30.73 ± 1.88
PVA:Jel (85:15) %15SA%2BG	1454.42 ± 38.75	33.61 ± 1.52
PVA:Jel (90:10) %15SA	1780.64 ± 58.59	41.05 ± 2.20
PVA:Jel (90:10) %15SA%1BG	1431.76 ± 42.86	34.30 ± 1.80
PVA:Jel (90:10) %15SA%2BG	1585.81 ± 42.10	34.73 ± 1.80
PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG	1581.28 ± 43.83	34.75 ± 1.81
PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG- %10Üre	1535.97 ± 50.32	34.51 ± 1.97

Su Buharı İletimi (WVT) ve Su Buharı Geçirgenliği (WVP), biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere ambalaj malzemeleri veya yara iyileştirici biyomalzemeler geliştirilirken dikkate alınması gereken en önemli özelliklerden ve analizlerden biridir[130].

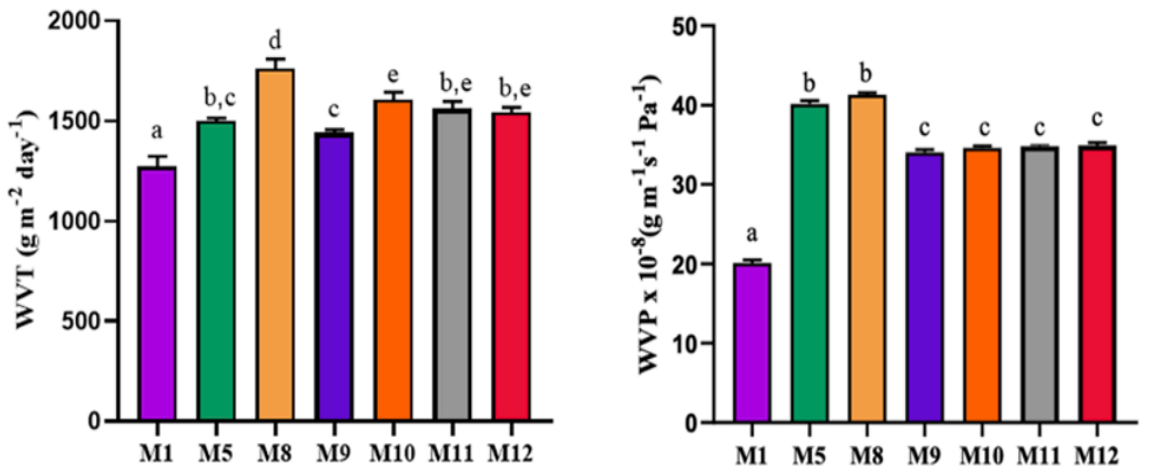
WVT, belirli bir süre içinde atmosferden membranlardan geçen su buharı miktarını temsil eder ve zarın geçirgenlik özelliklerinin bir göstergesidir[131, 132]. Üretilen membranların su buharı iletim profili, WVT ve WVP verileri Şekil 4.33'te gösterilmiş ve Tablo 4.6'da verilmiştir. Sağlıklı derinin WVT'si tipik olarak yaklaşık 204 ± 12 g/m²/gün iken, hasar görmüş travma geçirmiş ciltte (yanık cilt gibi) bu değer 279 ± 26 g/m²/gün[133] kadar yüksek olabilirken, ticari geliştirilen deri yara örtüleri 426-2,047 g/m²/gün aralığındadır[134]. Üretilen tüm membranların hem sağlıklı cilt hem de yara örtüleri için uygun su buharı geçirgenliğine sahip olduğu belirlenmiş ve su buharı iletim hızı profilinin birim zamanda sabit bir su buharı geçirgenliği gösteren sıfır derece kinetiğine sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.34'de gösterildiği gibi)[132].

Sonuçların PVA/jelatin oranına göre analizi yapıldığında, 80:20 PVA/jelatin oranına sahip membranın en düşük WVT değerini (PVA:Jel (80:20) %15SA) sergilediği, en yüksek değer ise 90:10 oranında olduğu görülmüştür (PVA:Jel (90:10) %15SA) ($p < 0.05$). Membranlar arasında 90:10 PVA/jelatin oranına sahip olanlar yara örtüleri uygulamaları için en uygun aday olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, jelatine kıyasla PVA'nın daha fazla su buharı iletimine bağlanabilir. Hubner ve ark. PVA ve jelatinden yapılan hidrojellerin WVT değerinin PVA oranındaki artışla birlikte önemli bir değişiklik göstermediğini bildirmiştir. Ancak hidrojel içerisindeki jelatin miktarının artması ile WVT değerinde önemli bir azalma gözlenmiştir [135]. Membrandaki artan jelatin içeriği ile WVT değerindeki önemli düşüşün nedeni, jelatinin bağıl hava nemine duyarlı olan ve ortamdaki nemi emebilen higroskopik yapısından kaynaklanmaktadır. Tersine, PVA jelatinden daha az higroskopiktir, bu da neme karşı daha az hassasiyet ve dolayısıyla WVT değeri üzerinde daha az etki ile sonuçlanır [136, 137]. Biyoaktif camların PVA/jel membranlara dahil edilmesinin WVT üzerinde olumsuz bir etkisi olmuştur ve WVT değerlerinde bir azalmaya yol açmıştır. Özellikle PVA:Jel (90:10) %15SA membranında biyoaktif cam ilavesi, biyoaktif camlar sağlam bir ağ yapısı oluşturarak su moleküllerinin membranlardan geçişini engelleyerek WVT değerlerinde önemli bir azalmaya neden olmuşlardır[101].

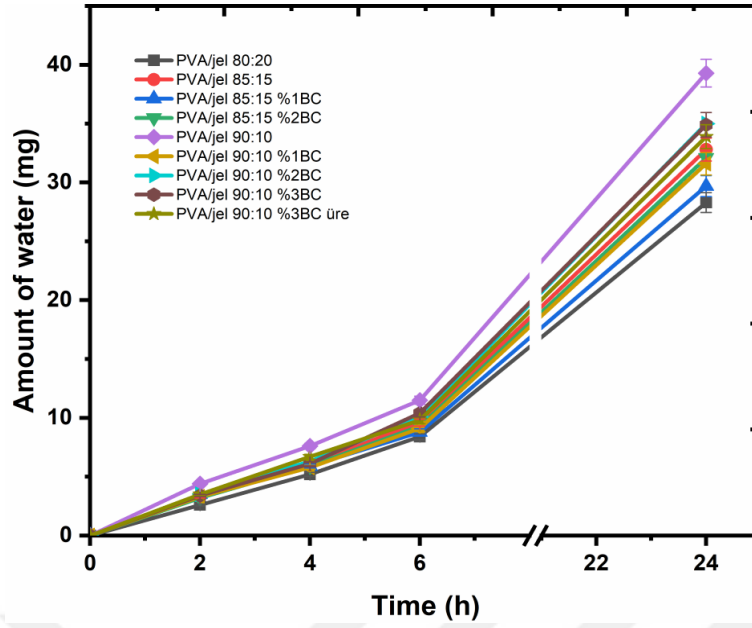
Ayrıca, nanopartiküllerin membranlar gibi makro molekül yapılara dahil edilmesi, yapı içindeki gözenekleri işgal ederek su buharı geçirgenliğini ve gazların geçirgenliğini engelleyebilir [138].

Ek olarak, çalışma, membranların WVT değerlerinin, farklı miktarlarda biyoaktif cam ve üre ilavesiyle istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değişmediğini ortaya konmuştur. WVP, bir zarın zara nem transferini sınırlama kapasitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan çok önemli parametrelerden biridir[139]. Bir yara örtüsünün WVP değeri yaranın aşırı dehidrasyonunu önlemelidir çünkü yara örtüsü yara yatağında uygun sıvı dengesinin korunmasında önemli bir rol oynar. WVP, filmin yapısı boyunca buharı ve havayı iletme yeteneğini belirleyerek buna hizmet eder [135, 140].

Biyoaktif camın eklenmesi ve jelatin miktarındaki artış benzer bir eğilimle sonuçlanarak her iki WVP ve WVT değerlerinde de azalmaya neden olmuştur. Bununla birlikte, üre ilavesinin, membranın WVP veya WVT'si üzerinde önemli bir etkisi olmamıştır.



Şekil 4.33 Membranların Su buharı iletimi (WVT) ve Su buharı geçirgenliği (WVP) Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.34 Üretilen membranların su buharı iletim profili

4.1.10 Çekme Testi

Tablo 4.7 Çeşitli membranların çekme mukavemeti, young modülü ve kopma uzaması değerleri

Membran	Çekme Mukavemeti (MPa)	Young Modülü (MPa)	Kopma Uzaması (%)
PVA:Jel (80:20) %15SA	10,28	325,24 ± 0,98	8,61
PVA:Jel (85:15) %15SA	9,38	245,07 ± 0,84	12,46
PVA:Jel (90:10) %15SA	8,46	307,46 ± 0,83	13,48
PVA:Jel (90:10) %15SA%1BG	8,22	239,56 ± 0,70	12,04
PVA:Jel (90:10) %15SA%2BG	8,09	199,82 ± 0,14	13,62
PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG	7,76	256,50 ± 0,21	13,64
PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG-%10Üre	4,52	130,06 ± 0,33	12,04

Çekme testi, belirli bir numunenin mukavemetini değerlendirmek için önemli bir parametredir. Yara örtüsü olarak kullanılması amaçlanan biyomalzemeler için hem uygun mukavemete hem de esnekliğe sahip olmaları oldukça arzu edilir bir durumdur [141].

Tablo 4.7'de farklı PVA:Jel oranlarında ve biyoaktif cam, üre içeriklerinde hazırlanan membranların çekme mukavemetleri, Young modül ve kopma uzaması değerleri gösterilmektedir. Tablo 4.7'de gösterildiği gibi, PVA içeriği %80 w/w polimerden (10,28 MPa) %90 w/w polimere (8,46 MPa) artırıldığında yara örtüsü liflerinin gerilme mukavemeti zayıflamaktadır, bu Thuy ve arkadaşları tarafından yapılan benzer bir çalışmanın sonuçlarıyla tutarlıdır ve lif çapındaki artışla ilişkilendirilmiştir (ayrıca bkz. Tablo 4.2) [68]. Yara örtüsü liflerinin gerilme mukavemetinin biyoaktif cam ilavesiyle 8,46 MPa'dan 7,76 MPa'ya düştüğü gözlemlenmiştir. Bu durum, polimere dahil edilen partiküllerin (biyoaktif cam vb.) sert inklüzyonlar gibi davranarak kopma esnasındaki gerinimi azaltmasıyla açıklanabilir [142]. Çekme mukavemetindeki azalmanın bir diğer nedeninin de biyoaktif cam içeren membranların lif çapındaki artış olduğu söylenebilir [68]. Buna ek olarak, liflerin üzerine üre püskürtülmesinin çekme mukavemetlerinde kayda değer bir düşüşe neden olduğu sonucuna varılabilir; bu da potansiyel olarak üre çözeltisindeki fazla suyun lif matrisinin yüzeyinde kurumasını takiben lifin potansiyel sertleşmesine bağlanabilir. Sonuç olarak, üretilen tüm membranların cilt dokusunun mekanik özellikleriyle (0.1-10MPa aralığında) uyumlu olduğu gözlemlenmiştir [72]. Biyoaktif cam içeren membranların Young modülü, biyoaktif cam içermeyen membrana kıyasla azalmıştır. Bu düşüşün, Liverani ve arkadaşları tarafından daha önce yapılan benzer bir çalışmada olduğu gibi biyoaktif cam içeren membranların lif çaplarının homojen olmamasından kaynaklandığı söylenebilir (ayrıca bkz. Tablo 4.2) [110]. Bu bilgiye dayanarak, üre içeren membranın da Young modülündeki düşüşün nedeni lif çaplarının homojen olmamasına bağlanabilir. Membranların kopma uzaması % değerleri karşılaştırıldığında, PVA miktarı arttıkça kopma uzaması değerinin arttığı gözlemlenmiştir. Bunun nedeni jelatinin ani kırılması, PVA'nın ise elastik davranışı nedeniyle kademeli olarak kırılmasıdır [68]. Membrana biyoaktif cam ve üre eklenmesi ile kopma uzaması değerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bu bulgular, geliştirilen liflerin yara örtüsü uygulamaları için ideal bir malzeme olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

4.1.11 Biyobozunurluk

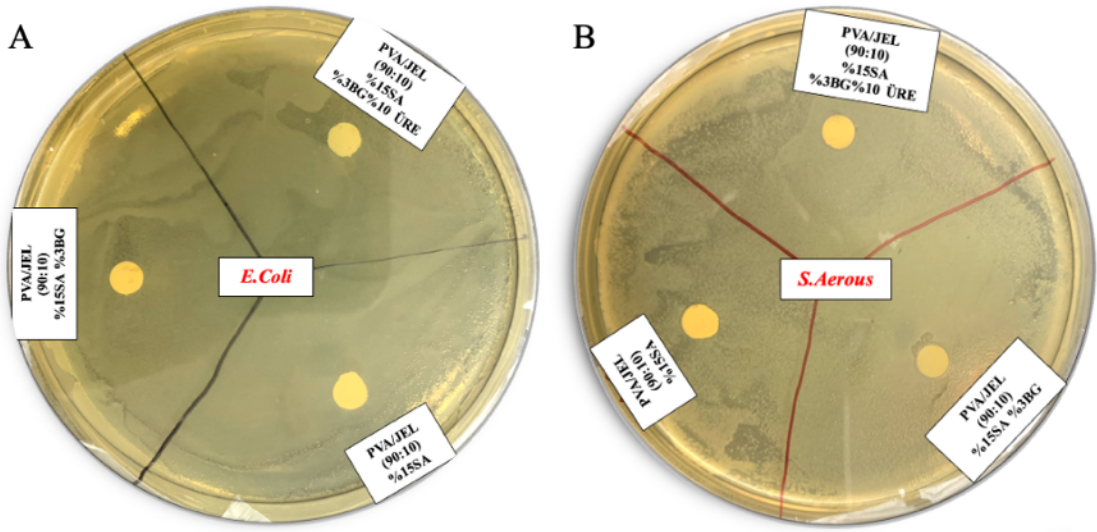
Tablo 4.8’de PVA:Jel (90:10) %15SA ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG membranların biyodegradasyon yüzdeleri verilmiştir. Değerler incelendiğinde beklenen biyobozunmanın gerçekleşmediği gözlemlenmiştir. Biyobozunma için oluşturulan YVS (pH7.4) ortamında enzim bulunmamaktadır ve yapılan çalışmada membranların bozunması için statik degradasyonun yeterli olmadığı belirlenmiştir. *In vivo* çalışmasında ortamda dinamik sıvı sirkülasyonunun olması nedeniyle membranların degrede olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.38’te görüldüğü üzere).

Tablo 4.8 90:10%15SA ve 90:10%15SA%3BG membranların belirlenen periyotta biyobozunma yüzdeleri

Membran	Biyobozunurluk % Değişim				
	1.Gün	2.Gün	7.Gün	28.Gün	84.Gün
PVA:Jel (90:10) %15SA	4	-0.5	-0.5	-3	-1.5
PVA:Jel (90:10) %15SA %3BG	9	5	0.1	1	-25

4.1.12 Antibakteriyel Aktivite

S. aerous (gram pozitif) ve *E. Coli* (gram negatif) bakterileri, üretilen PVA:Jel (90:10) %15SA, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG %10 Üre membranlarının antibakteriyel aktivitesini ve özelliklerini incelemek için kullanılmıştır (Şekil 4.35). Membranların etrafındaki inhibisyon zonu, *S. aerous* ve *E. coli* bakterilerinin membrana olan duyarlılığından kaynaklanmaktadır. 24 saatlik inkübasyondan sonra, membranlar etrafında *E. coli* ve *S.aerous*’a karşı herhangi bir inhibisyon zonu gözlenmemiştir.

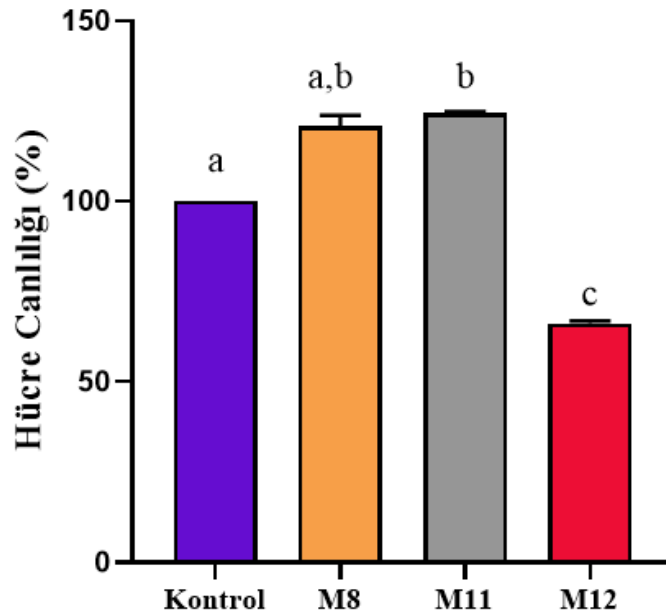


Şekil 4.35 PVA/Jel membranların farklı içeriklerinin (A) *E. Coli* ve (B) *S. Aerous*'a karşı antibakteriyel aktivitesi

4.1.13 Sitotoksisite

Yara örtüsü uygulamalarında, nanofiber membranların fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinin değerlendirilmesi önemlidir. Nanofiber membranların biyoyumluluğunu değerlendirmek için L929 fare fibroblast hücre hatları kullanılarak MTT deneyi gerçekleştirilmiştir. Membran ekstraktları ile 24 saat inkübasyondan sonra hücre canlılığı sonuçları Şekil 4.36'da verilmiştir. PVA:Jel (90:10) %15SA, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre nanofiber ekstraktlarının hücre canlılığı sırasıyla $120,83 \pm 4,25$, $124,48 \pm 0,47$ ve $66,21 \pm 0,91$ iken, kontrol grubunun hücre canlılığı %100'dür. ISO 10993-5:2009 standartlarına göre, hücre canlılığının %70'ten fazla olması durumunda maddeler sitotoksik olmayan olarak kabul edilir. PVA:Jel (90:10) %15SA ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG nanofiber membranların hücreler üzerinde herhangi bir sitotoksik etki göstermediği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, membranlardaki PVA ve jelatinin biyoyumlu davranış gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG membranı fibroblast hücre proliferasyonunun hızlanmasına katkıda bulunduğu bilinen BG içermesi nedeniyle fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu artırmıştır [143]. Shoba ve arkadaşları tarafından hazırlanan papain-üre-PVA elektrospun nanoliflerin sitotoksisite sonucu HaCaT hücrelerinde yaklaşık %80 olarak bulunmuştur [144].

Ghorai ve arkadaşları poliüretan-üre bazlı elektrospun nanolif membranların hücre canlılığını %90 ve üzerinde bulmuşlardır [145]. Öte yandan, Krysiak ve arkadaşları elektroğirme ve elektrospreyleme teknikleri ile üretilen üre içeren polimer liflerin in vitro keratojenik hücreler üzerinde toksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Üre konsantrasyonu maksimuma ulaştığında keratinosit sayısının azalmaya başladığını belirtmişlerdir. Ayrıca hücrelerin üre ile doğrudan temasının sitotoksik etkiye neden olduğu sonucuna varmışlardır [107]. Hafif poliüretan-üre köpüğünün sitotoksitesi daha önce Liu ve arkadaşları tarafından NIH 3T3 hücreleri üzerinde test edilmiş ve hücre canlılığı %68,64 (24 saat) olarak bulunmuştur. Hafif poliüretan-üre köpüğünün hücreler üzerinde hafif bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir [146]. Üre varlığına bağlı olarak üre içeren membran L929 fare fibroblast hücreleri üzerinde hafif sitotoksik etki göstermiştir. Üre içeren membranın hafif toksik etkisinin, fiber üzerinde serbest formda üre kullanımına bağlı olarak ürenin hücrelerle doğrudan temasına dayanabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.36 Fibroblast hücreleri elektrospun nanofiber membran ekstraktları ile muamele edildikten sonra hücre canlılığı (%) sonuçları (veriler ortalama $\pm$ SEM (n = 6) olarak verilmiştir). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını göstermektedir ($p < 0.05$).

4.1.14 In vivo yara modeli

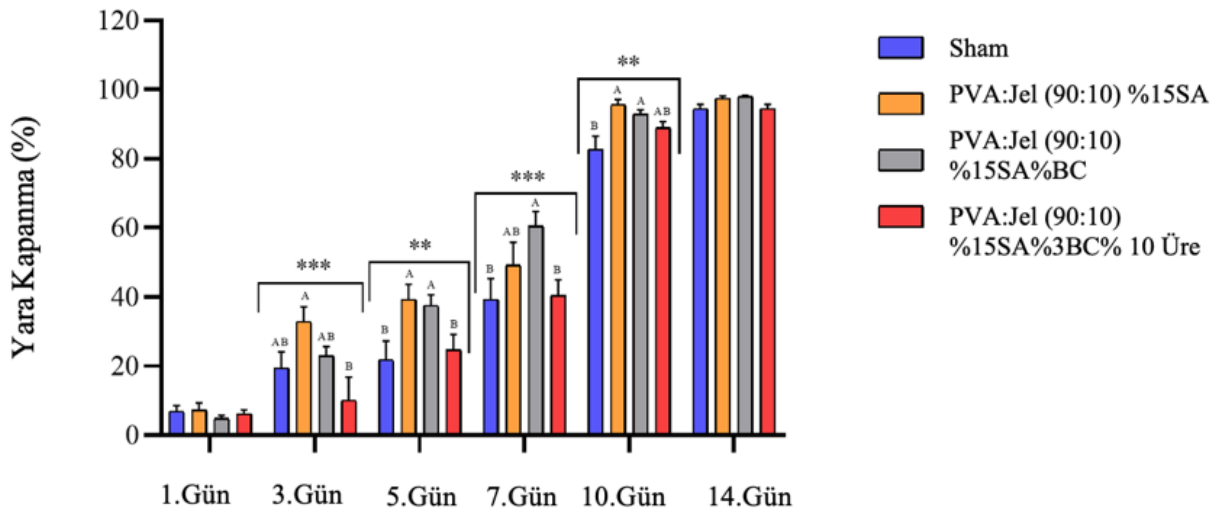
Yara alanı ölçümleri, yara iyileşmesini klinik olarak değerlendirmenin en radikal yolu olarak çalışmalara dahil edilmektedir [147-149]. Bu çalışmada, yara örtüsü olarak kullanılan üç farklı membranın (PVA:Jel (90:10) %15SA, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre) yara iyileşmesi potansiyelini değerlendirmek için Wistar sıçan tam kalınlık eksizyonel yara modeli kullanılmıştır. Zamana bağlı yara kapanma oranı sonuçları ve yara alanlarının görünümü sırasıyla Şekil 4.37 ve Şekil 4.38'de sunulmuştur. Yara iyileşme oranları günlere göre incelendiğinde, PVA:Jel (90:10) %15SA membranı ile tedavi edilen grubun yara kapanma yüzdesinin 3. günde en yüksek olduğu görülmüştür. İlerleyen günlerde PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG membranının yara iyileşme oranının arttığı tespit edilmiştir. Ameliyat sonrası 7. günde, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ile tedavi edilen grubun yara kapanma oranının (%61) sham grubuna (%39) göre anlamlı derecede yüksek olduğu ($p<0,001$), diğer yandan sham ile PVA:Jel (90:10) %15SA(%49) veya PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre (%40) ile tedavi edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu durum, biyolojik olarak bozunmuş membrandaki BG nanopartiküllerinin zaman içinde fizyolojik vücut sıvılarıyla etkileşime girmesiyle açıklanabilir. Ameliyat sonrası 10. günde, PVA:Jel (90:10) %15SA% (95) ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG (%93) grupları sham (%82) grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek ($p<0,01$) yara kapanma oranı gösterirken, M12 grubu (%90) göstermemiştir. Membran grupları arasında yara kapanma oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Dolayısıyla, 10. gündeki yara kapanma oranlarına dayanarak bu gruplar için yara iyileşmesinin hızlandığı sonucuna varılabilir. PVA:Jel (90:10) %15SA membranının yara iyileşmesi üzerindeki etkisi, doğada bulunan ECM'yi taklit etme kabiliyeti ve yara bölgesine fibroblast göçünü kolaylaştıran ve enflamatuvar bir fazı teşvik ederek hücre çoğalmasını teşvik eden hemostatik bir ajan (jelatin) içermesi ile açıklanabilir [150]. Öte yandan, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG membranı, PVA:Jel (90:10) %15SA membranı ile aynı özelliklere sahip olmasının yanı sıra 45S5 BG içererek yara iyileşmesini desteklemeye katkıda bulunur.

Yu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmaya göre, biyoaktif camlardan fizyolojik vücut sıvılarına salınan Si, Ca ve P iyonları, anjiyogenez ve fibroblast göçünü hızlandırmak için büyüme faktörlerinin (bFGF, VEGF ve EGF) salgılanmasını uyarmaktadır. Ayrıca kolajen I ve fibronektin sentezini de artırır. Böylece, biyoaktif camların yaraların iyileşmesini hızlandırmada önemli bir rol oynadığı iddia edilmiştir [143]. Başka bir çalışmada Sharaf ve arkadaşları, Biyoaktif camların faydalı etkileri nedeniyle diyabetik sıçanların yara iyileşmesini hızlandırmak için biyoaktif cam yüklü selüloz asetat elektrospun nanofiber membran kullanılması önermiştir [151]. PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre içeren membranın da PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG membranı gibi BG ve PVA/Jelatin içermesi nedeniyle yara kapanmasını hızlandıracağı öngörülmüştür. Ancak, üre içermesi nedeniyle, iyileşme oranının PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG grubuna göre biraz daha düşük olduğu fark edilmiştir. Bunun nedeni, ürenin bazal hücrelerde DNA sentezini azaltarak ve mitozdan sonra epidermal hücrelerin oluşum süresini uzatarak epidermal hücrelerin çoğalmasını düzenlemesidir [152, 153]. Ameliyat sonrası 14. günde tüm gruplarda Sham, PVA:Jel (90:10) %15SA ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG yaranın neredeyse kapandığı ve gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Şekil 4.36'daki yara bölgelerinin görüntüleri, membranların eksüdayı emme yeteneğine sahip olduğunu ve biyolojik olarak parçalanabilir olduğunu göstermektedir. Yara yatağındaki nemi korumak, yara örtülerinin sağlaması gereken temel işlevlerden biridir. Doğrudan havaya maruz kalan bir yara, susuz kalmasına ve kabuk bağlamasına neden olur. Araştırmalar, nemli bir ortamda iyileşmenin daha hızlı gerçekleştiğini göstermiştir [154]. Üre içeren membranının içerdiği üre nedeniyle kabuk oluşumunu azalttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.38'da gösterilmiştir).

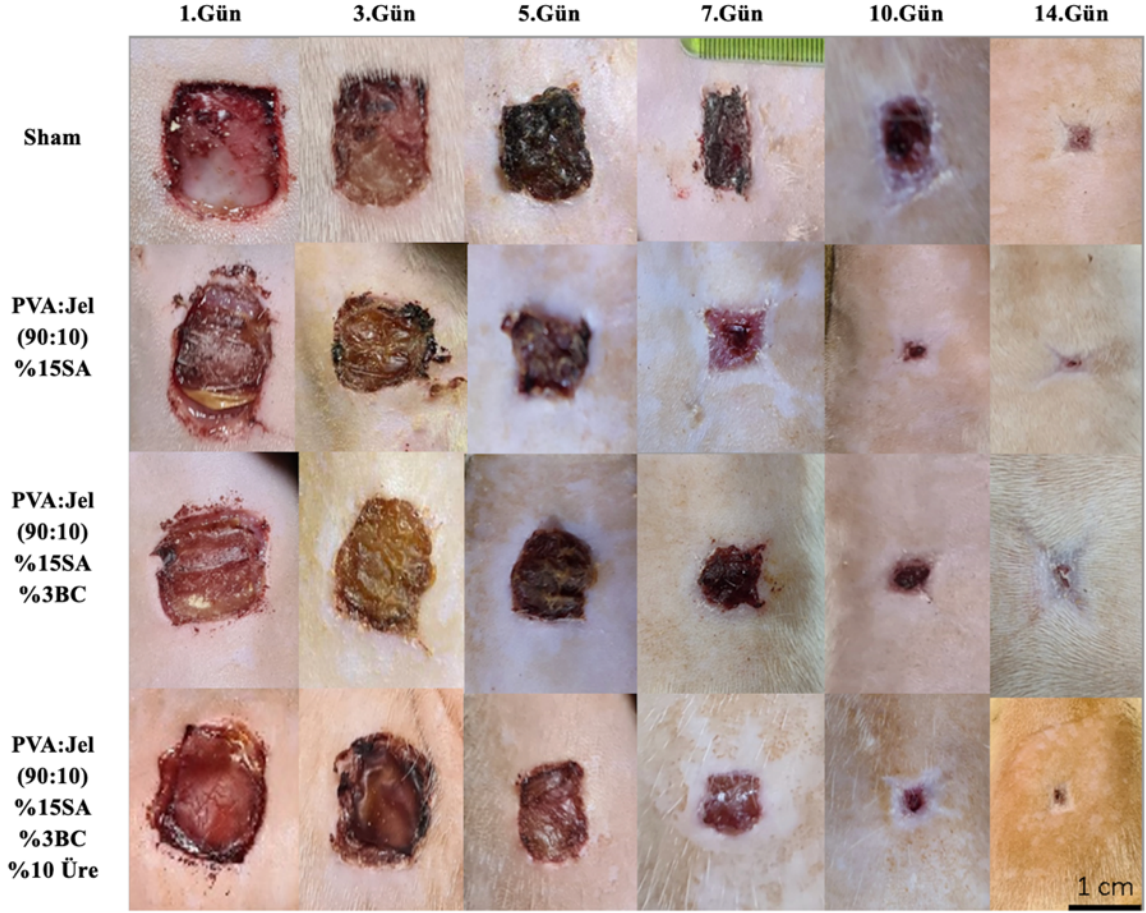
Böylece diğerlerine göre daha nemli bir yara ortamı sağlamış olabilir. Choi ve arkadaşları daha önce yara iyileşmesinde poliüretan-üre bazlı sıvı bandaj malzemesi kullanımının yara bölgesinin nemini yeterli seviyede tuttuğunu ve buna bağlı olarak yara kabuklarının oluşumunun engellendiğini gözlemlemişlerdir [154]. Yara kabuğunun olmamasının yara izini azalttığı da iyi bilinmektedir [155]. Üre, cildin en dış tabakasında bulunan doğal bir nemlendirici faktördür (NMF) ve üre %1-20 gibi düşük konsantrasyonlarda nemlendirici olarak görev yaptığı bilinmektedir [156].

Ayrıca üre, keratinosit farklılaşması ile ilgili bazı genlerin mRNA ekspresyonunu kontrol ederek insan cildinin bariyer fonksiyonunu düzenlemek için kullanılır ve epidermiste antimikrobiyal peptitlerin sentezini artırarak cildin bağışıklık sisteminin güçlendirilmesine katkıda bulunur.

Normal ciltte bile, üre kullanımı bu peptitlerin bariyer fonksiyonunu iyileştirmesine ve cildin bağışıklık sistemini güçlendirmesine yardımcı olur[156]. Ürenin yukarıda bahsedilen özellikleri doğrultusunda, yara görüntüleri (Şekil 4.38) daha dikkatli incelendiğinde, üre içeren membran tedavisi sonrası yenilenen cildin diğer membranlara kıyasla düzensiz bir yara izi olmadan normal cilde daha çok benzediği görülmüştür. Ayrıca, Tablo 4.9'daki enflamasyon analizi ve Şekil 4.42'deki düzenli kolajen birikimi de bu gözlemi desteklemektedir. Sonuç olarak, üre içeren membranın BG ve ürenin sinerjik etkisiyle normal, hipertrofik ve keloid skarların gelişimini engelleyici bir etkiye sahip olabileceğinden skar oluşumunu azaltmak için kullanılabileceği önerilebilir.



Şekil 4.37 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (1, 3, 5, 7, 10 ve 14. günler) yara kapanma oranları. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (1, 3, 5, 7, 10 gün için n=12, 10 ve 14 gün için n=6). Anlamlı fark $**p < 0.01$ ve $***p < 0.001$ olarak kabul edilmiştir. A, B: Farklı büyük harfler her gün için gruplar arasındaki anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$).

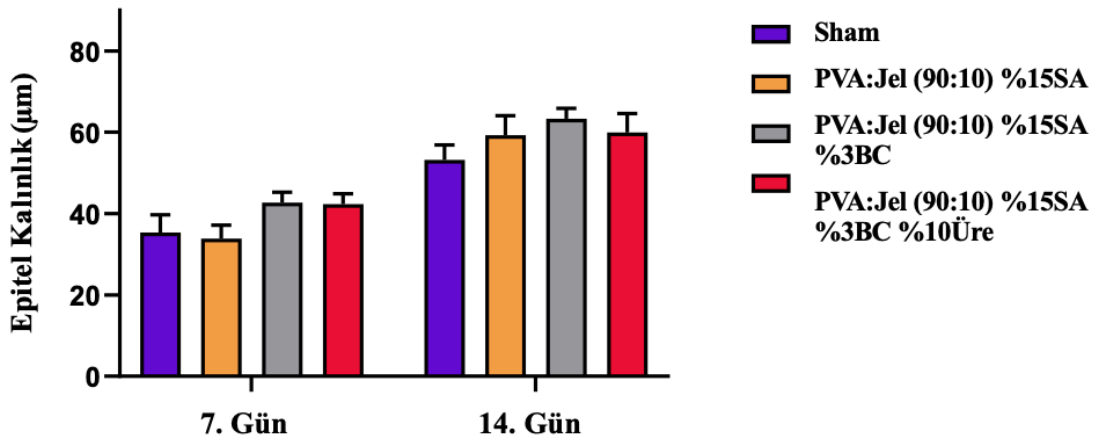


Şekil 4.38 Yara bölgelerinin farklı grup ve günlerdeki görüntüleri

4.1.15 Histopatoloji

Yara iyileşmesini daha yakından incelemek için nakli takip eden 7. ve 14. günlerde histopatolojik analiz yapılmıştır. Yeniden epitelizasyonu araştırmak amacıyla epitel kalınlığını ölçmek için yara bölgesinden alınan kesitler HE ile boyanmıştır; sonuçlar Şekil 4.39'de verilmiştir. 7. günde, Sham, PVA:Jel (90:10) %15SA, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre membran gruplarının ortalama epitel kalınlıkları ölçülmüş ve sırasıyla $35,4 \pm 4,32$ μm , $33,9 \pm 3,27$ μm , $42,7 \pm 2,61$ μm ve $42,4 \pm 2,49$ μm olarak belirlenmiştir. 14. günde, grupların epitel kalınlıkları sırasıyla $53,2 \pm 3,68$ μm , $59,3 \pm 4,84$ μm , $63,3 \pm 2,55$ μm ve $60,0 \pm 4,61$ μm olarak ölçülmüştür. PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre grupları her iki günde de daha yüksek epitel kalınlığına sahip olsa da, sham grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Ayrıca, 14. günde yara boyutu makroskobik olarak tüm gruplarda aynı olmasına rağmen, mikroskobik analiz gözlemine göre, sham gruplarının tamamında ve PVA:Jel (90:10) %15SA gruplarının bir kısmında erode (tamamen epitel doku ile kaplanmamış) alan devam ederken, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG gruplarının tamamında ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre gruplarının neredeyse tamamında tam kalınlıkta epitelizasyon gözlenmiştir.



Şekil 4.39 Sham, farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) epitel kalınlığı. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir ($n = 6$). Çubuk üzerindeki aynı harfler, her gün için Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını gösterir ($p > 0,05$).

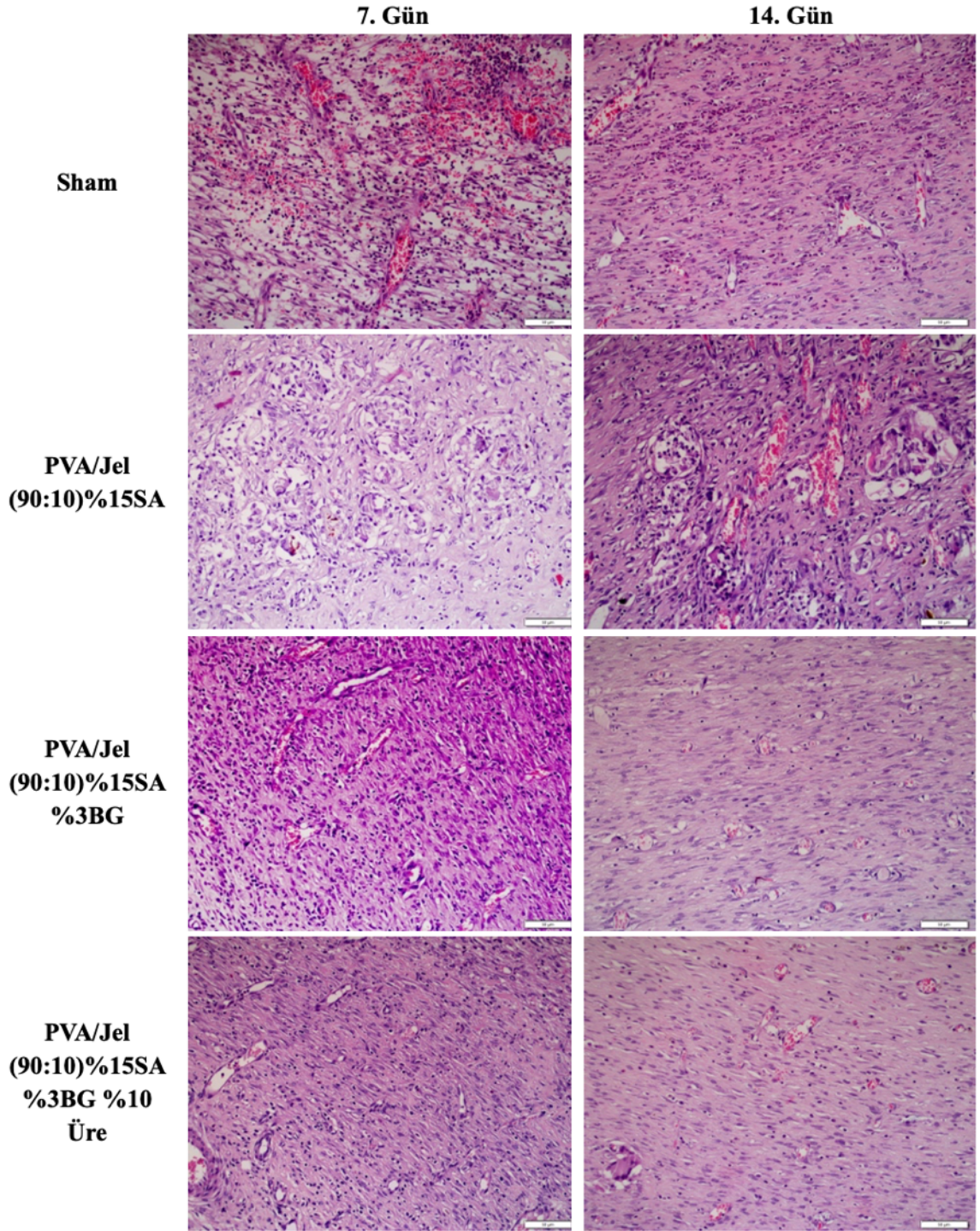
Tablo 4.9 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) enflamasyon seviyeleri.

Günler	Enflamasyon Skoru			
	Sham	PVA/JEL (90:10)%15SA	PVA/JEL (90:10) %15SA %3BG	PVA/JEL (90:10) %15SA %3BG %10 ÜRE
7. Gün	2.83 $\pm$ 0.17	2.67 $\pm$ 0.21	2.00 $\pm$ 0.01	2.17 $\pm$ 0.17
14. Gün	2.67 $\pm$ 0.21	2.33 $\pm$ 0.33	1.50 $\pm$ 0.22	1.67 $\pm$ 0.21

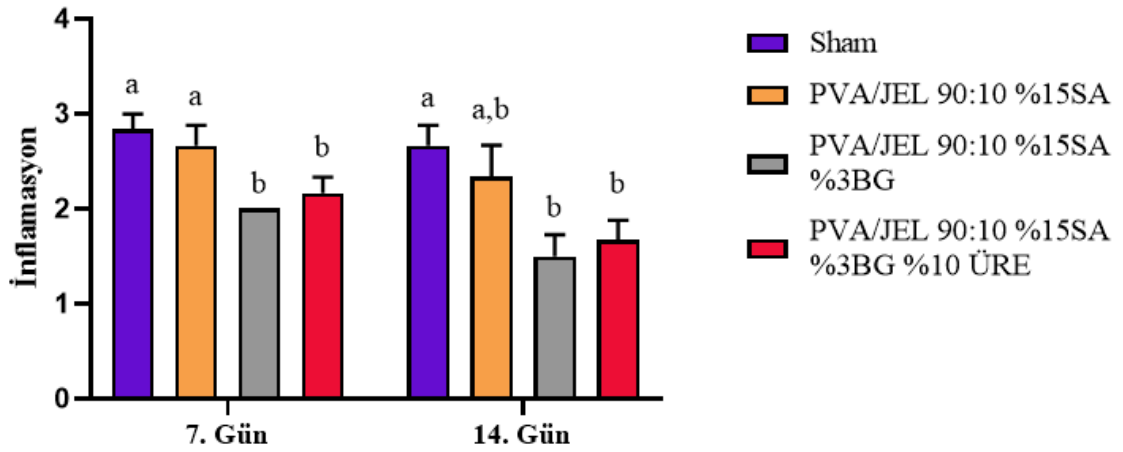
Enflamatuar faz, patojenleri önlemek ve ölü dokuyu uzaklaştırmak için gerekli olduğundan yaraların iyileşmesinde önemli bir aşamadır [157]. Yara bölgesinde enflamasyon azaldıkça, yeni kan damarları ve bağ dokusu oluşmaya başlar. Sonuç olarak, yara alanı daralır ve proliferasyon aşaması başlar[158]. Uzun süreli enflamasyon, yara iyileşmesinin normal ilerleyişini etkileyerek iyileşme sürecinde gecikmeye neden olabilir ve keratinositlerin aktivasyonunda ve farklılaşmasında anormalliklere yol açabilir [157]. Ayrıca, enflamasyon kolajen sentezinin modüle edilmesinde rol oynar ve enflamasyonun yoğunluğu yaranın nihai skarındaki artışla ilişkilendirilmiştir [158]. Enflamasyonu değerlendirmek için hematoksilen-eozin (HE) ile boyanmış yara bölgelerinin görüntüleri Şekil 4.40'ta sunulmuş ve sonuçlar Tablo 4.9 ve Şekil 4.41'de verilmiştir. Sham grubuna kıyasla PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre membranları ile tedavi edilen gruplarda enflamatuar reaksiyonun önemli ölçüde baskılandığı sonucuna varılmıştır ($p < 0.05$).

14. günde, hem M8 hem de Sham gruplarında orta ila şiddetli enflamasyonun devam ettiği, Sham grubunun ağırlıklı olarak akut inflamasyon sergilediği görülmüştür. Nötrofillerin normal yara iyileşme sürecinin 3-4. günlerinde lenfositler ve plazma hücreleri ile yer değiştirmesi gerekir. Bu günlerden sonra nötrofil lökositlerin varlığı akut enflamasyonun bir göstergesidir ve yara iyileşmesini geciktiren faktörlerden biridir [159]. PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre gruplarındaki enflamatuar hücreler incelendiğinde, lenfositlerin ve plazma hücrelerinin en yaygın enflamatuar hücre türleri olduğu görülmüştür. Buna göre, ne PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ne de PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre gruplarında uzun süreli akut enflamasyon görülmüştür. 45S5 biyoaktif camın iyonik çözünme ürünlerinin makrofajlarda anti-enflamatuar faktörlerin ekspresyonunu artırıcı etkisi olduğu ve böylece enflamatuar yanıtı azaltarak yara iyileşme sürecini hızlandırdığı bilinmektedir [160]. Sonuçlar, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre membranlarının 45S5 biyoaktif camın varlığıyla enflamatuar yanıtı azaltarak yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermektedir.

H&E BOYAMA



Şekil 4.40 Yara bölgelerinin hematoksilin-eozin (HE) boyama görüntüleri



Şekil 4.41 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) enflamasyon seviyeleri. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir ($n = 6$). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Kruskal-Wallis testi ve ardından çoklu karşılaştırmalar için Dunn testine göre her gün için değerler arasında fark olmadığını göstermektedir (7. ve 14. günlerdeki enflamasyon skorları için $p < 0,05$.)

Tablo4.10 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) kollajenizasyon seviyeleri.

Günler	Kollajenizasyon skoru			
	Sham	PVA/JEL (90:10)%15SA	PVA/JEL (90:10) %15SA %3BG	PVA/JEL (90:10) %15SA %3BG %10 ÜRE
7. Gün	1.33 $\pm$ 0.21	1.67 $\pm$ 0.21	2.50 $\pm$ 0.22	2.17 $\pm$ 0.17
14. Gün	1.67 $\pm$ 0.21	2.17 $\pm$ 0.31	2.17 $\pm$ 0.31	2.50 $\pm$ 0.22

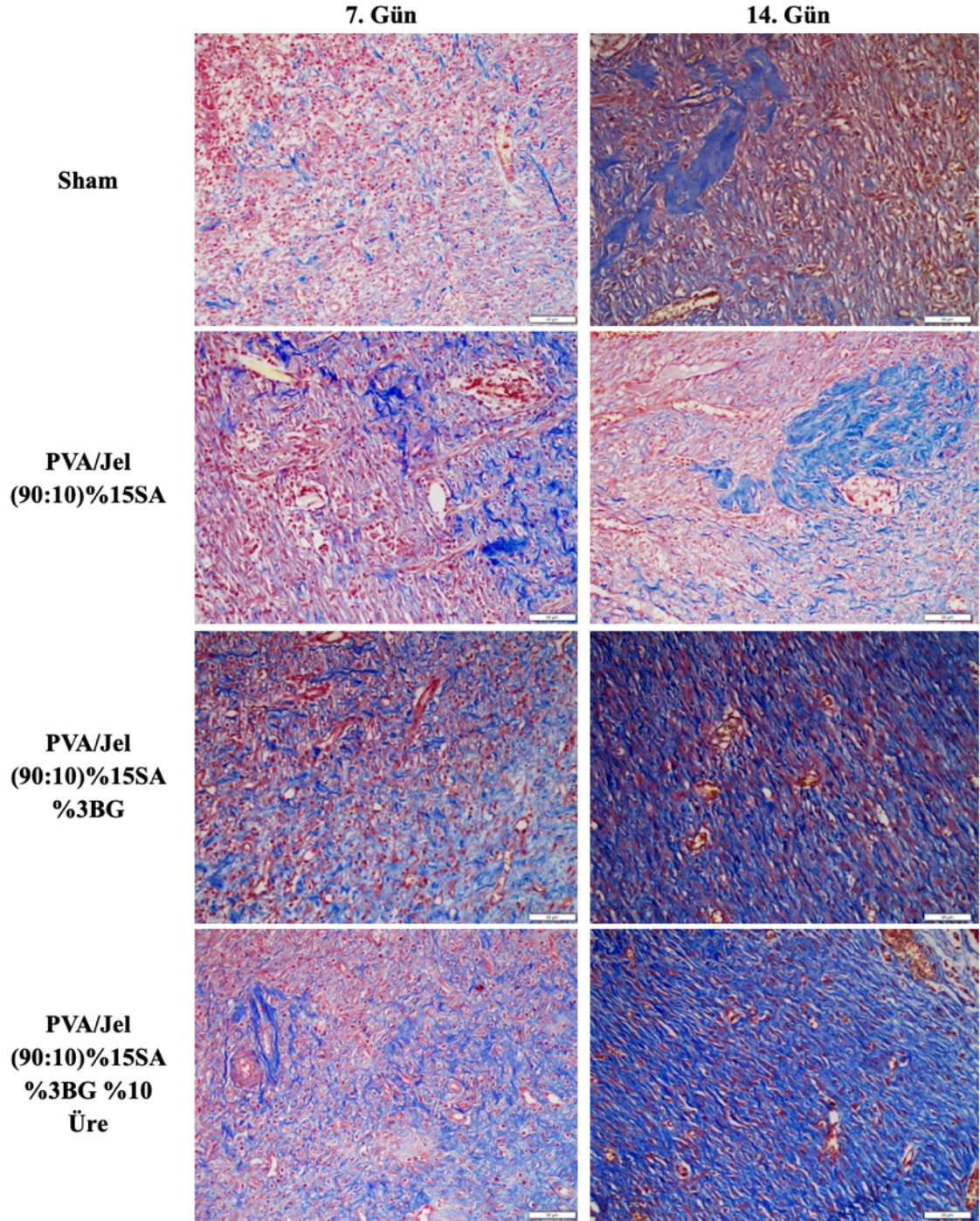
Bağ dokusunda en yaygın protein olan ve fibroblastlar tarafından üretilen kolajen, doku rejenerasyonu için çok önemlidir çünkü onarılan cildin mekanik gücünü, elastikiyetini ve işlevselliğini yeniden kazanmasına yardımcı olur.

Ayrıca, yara oluşumunu önlemek için kolajen sentezi ve yıkımı arasındaki dinamik dengeyi korumak gerekir [161].

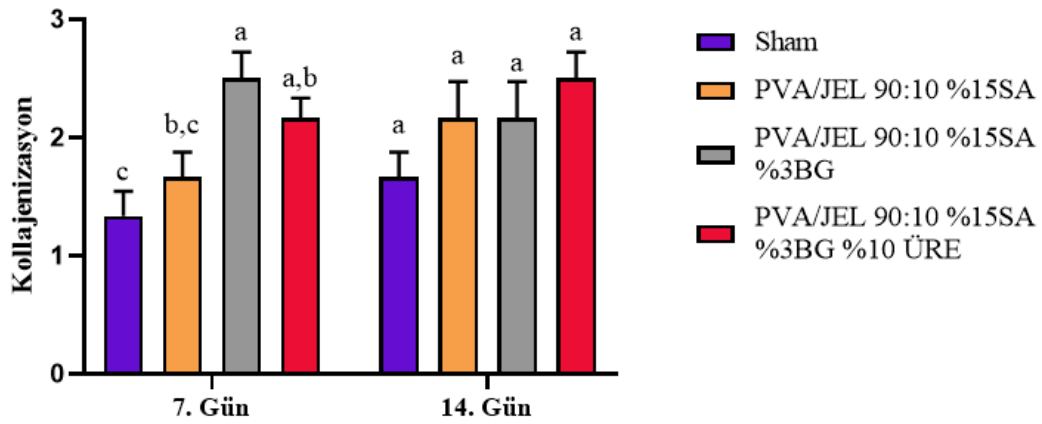
Transplantasyondan 7 ve 14 gün sonra gerçekleşen kolajen birikimini değerlendirmek için, Masson's trichrome (MT) ile boyanmış yara alanlarının görüntüleri Şekil 4.42'de ve sonuçlar Tablo 4.10 ve Şekil 4.43'te verilmiştir. 7. günde, grupların kolajen birikimi incelenmiştir, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre grupları sham grubuna göre önemli ölçüde artmış kolajen oluşumu ($p<0.01$) göstermiştir.

Bu durum, BG'den salınan Si, Ca ve P iyonlarının tetiklediği artmış fibroblast proliferasyonunun kolajen sentezi üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmasıyla açıklanabilir [143]. Tüm grupların kolajen birikimleri 14. günün sonunda benzer olsa da ($p>0,05$), Şekil 4.42'de açıkça görüldüğü gibi, Sham ve PVA:Jel (90:10) %15SA gruplarına kıyasla PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre gruplarında kolajen demetlerinin daha düzenli dağıldığı gözlenmiştir. Bu durum, sham ve PVA:Jel (90:10) %15SA gruplarında gelecekte hipertrofik skar veya keloid dokusu gelişebileceğini düşündürmektedir. Miyofibroblastlar, keloidler ve hipertrofik skarlar gibi aşırı skar oluşumunu önlemek amacıyla aşırı kolajen birikimini azaltmak için yara iyileşmesinde yeniden epitelizeasyondan sonra apoptozise uğrar. BG'nin düzenli, düzgün konumlanmış kolajen liflerinin oluşumunu teşvik ettiği iyi bilinmektedir. Ayrıca BG, fibroblasttan miyofibroblasta farklılaşmayı inhibe ederek hipertrofik skarlar ve keloidler gibi aşırı skar oluşumunu azaltmada etkili bir rol oynamaktadır [160]. Bununla birlikte, %6-30'luk konsantrasyonlarda üre proteolitik aktivite gösterir [153]. Ürenin proteolitik aktivitesinin eşit olmayan ve kaba kolajen gelişimini engellemiş olması muhtemeldir. Ayrıca, sitotoksikite analizi sonuçları PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre membranının fibroblast hücreleri üzerinde hafif bir toksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, enflamasyon ve kolajenizasyon sonuçları, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre membranına üre dahil edilmesinin in vivo olarak tolere edilebileceğini açıkça göstermiştir. Genel olarak, bu sonuçlar PVA/Jel/BG/Üre membranlarının hafif bir sitotoksik etkiye sahip olmasına rağmen biyouyumlu özellikler sergilediğini göstermektedir.

Masson's Trichrome Boyama



Şekil 4.42 Yara bölgelerinin Masson's trichrome (MT) boyama görüntüleri



Şekil 4.43 Sham ve membran ile tedavi edilen grupların farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) kolajenizasyon seviyeleri. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir ($n = 6$). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Kruskal-Wallis testi ve ardından çoklu karşılaştırmalar için Dunn testine göre her gün için değerler arasında fark olmadığını göstermektedir (7. gündeki kolajenizasyon skorları için $p < 0.01$ ve 14. gündeki kolajenizasyon skorlarında anlamlı fark yoktur $p > 0.05$).

4.1.16 İmmünohistokimyasal analiz

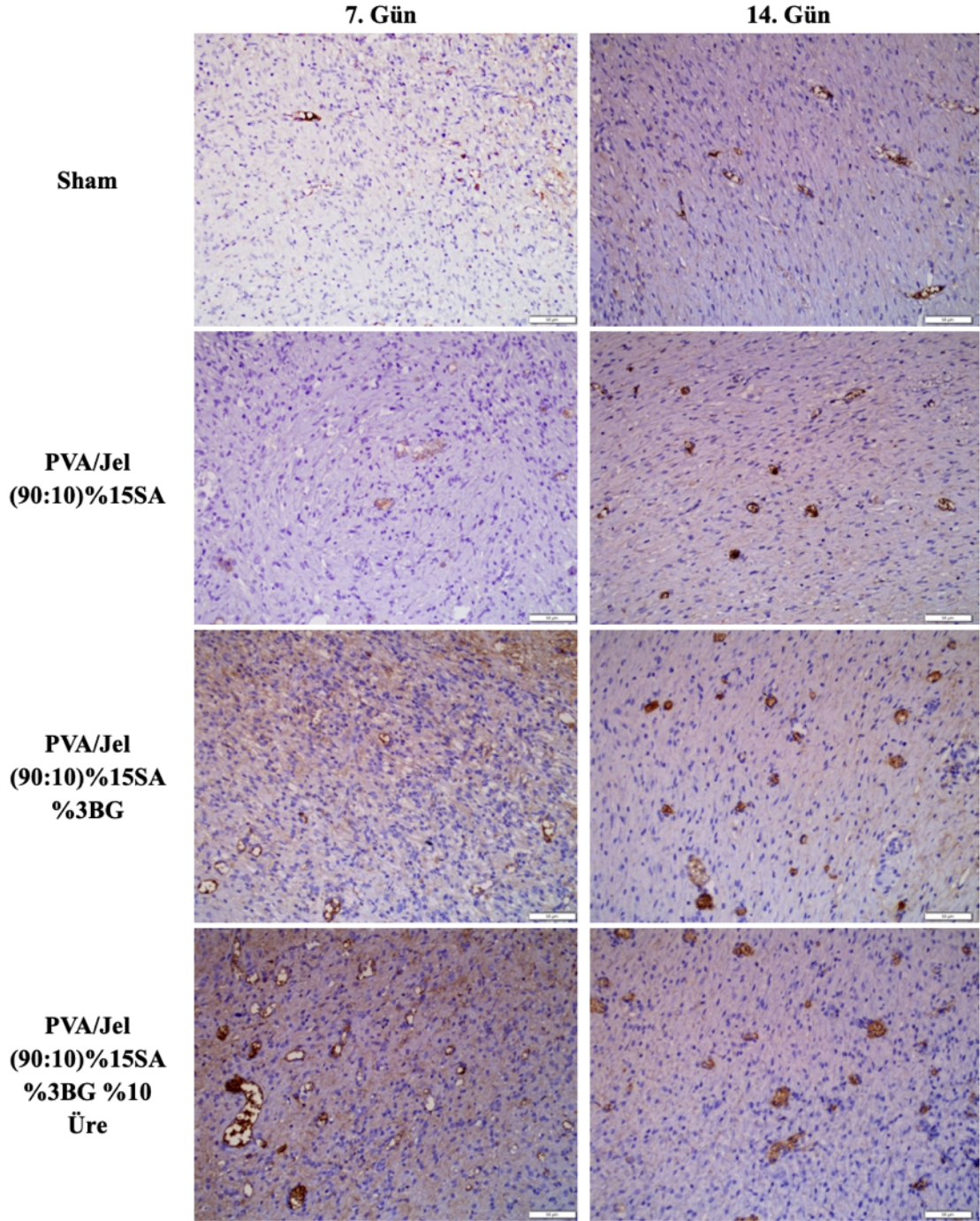
Tablo 4.11 Sham ve farklı içerikli membran gruplarının farklı zaman noktalarındaki (7. ve 14. günler) damar sayısı

Günler	Damar Sayısı			
	Sham	PVA/JEL (90:10)%15SA	PVA/JEL (90:10) %15SA %3BG	PVA/JEL (90:10) %15SA %3BG %10 ÜRE
7. Gün	1,57 $\pm$ 0,20	2,33 $\pm$ 0,84	3,70 $\pm$ 0,29	4,47 $\pm$ 0,35
14. Gün	5,95 $\pm$ 1,22	11,58 $\pm$ 2,19	13,72 $\pm$ 1,24	14,97 $\pm$ 1,62

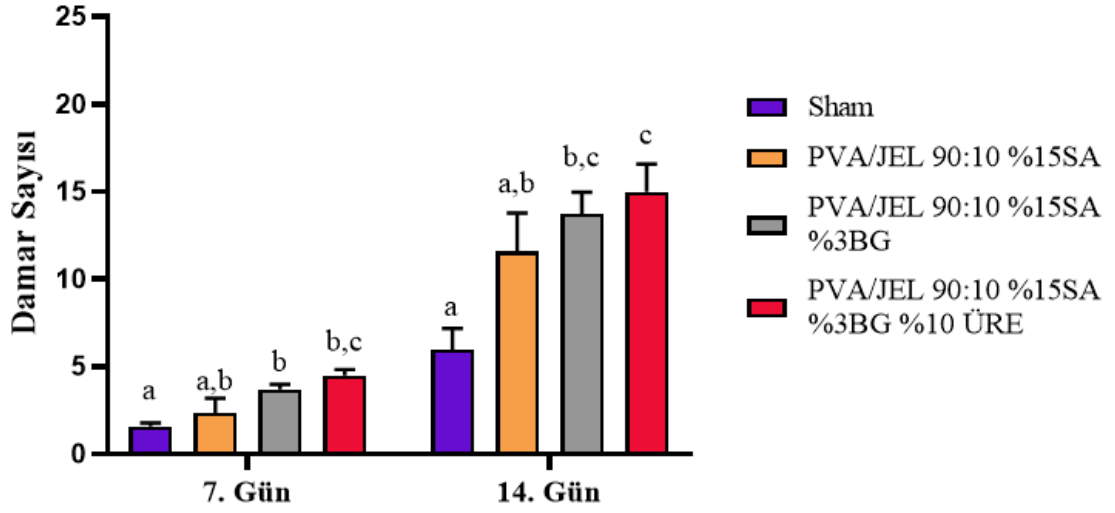
Birçok mikrodamar içeren granülasyon dokusu, yara iyileşmesinin proliferasyon fazı sırasında oluşur. Anjiyogenez, oksijenlenme, beslenme desteği, onarıcı hücrelerin yara bölgesine hızlı bir şekilde ulaşması ve oluşan artıkların dengeli bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlayarak yara onarım sürecine katkıda bulunur [162]. İyileşme sürecinde membranlarla tedavi edilen veya edilmeyen yaraların damarlanmasını değerlendirmek için, yeni oluşan kan damarlarını ortaya çıkarmak amacıyla CD31 boyaması yapılmıştır (Şekil 4.44). Sonuçlar Tablo 4.11 ve Şekil 4.45'te verilmiştir. PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre gruplarındaki damar miktarları her iki günde de sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p değerleri sırasıyla $p < 0.05$ ve $p < 0.01$).

Ayrıca, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Sonuç olarak, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG ve PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre membranları, anjiyogenezi teşvik eden BG'nin dahil edilmesi sayesinde vaskülarizasyonu artırmıştır [72], [163], [164]. Üre konsantrasyonunun granülasyon dokusu oluşumunun boyutunu ve hızını artırırken epitelizasyon hızını geciktirdiği, Olson ve arkadaşları tarafından ürenin yara iyileşmesi üzerindeki etkisi üzerine yapılan araştırmaya göre tespit edilmiştir [165]. Bulgularımıza göre, PVA:Jel (90:10) %15SA%3BG%10Üre membranı her iki günde de en yüksek seviyede vaskülarizasyon sergilemiştir. Biyoaktif camın üre ile kullanılmasının, tek başına biyoaktif cam kullanımına kıyasla vaskülarizasyonu kısmen artırabileceği sonucuna varılabilir.

CD31



Şekil 4.44 Farklı zaman noktalarında (7. ve 14. günler) yara bölgelerinin CD31 immünohistokimyasal boyaması



Şekil 4.45 Sham ve farklı membran gruplarının farklı zaman noktalarında (7. ve 14. günler) yeni oluşan damar sayısı. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir (n = 6). Çubuk üzerindeki farklı harfler değerler arasındaki anlamlı farklılıkları, çubuk üzerindeki aynı harfler ise Tukey'in çoklu karşılaştırma testine göre değerler arasında fark olmadığını göstermektedir ($p < 0,05$).

4.2 Kitosan Nanopartikül ve Kitosan Nanopartikül Yüklü Membran Analizleri

4.2.1 Nanopartikül Boyutu, Polidispersite İndeksi ve Zeta Potansiyeli

Tablo 4. 12 Medium Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örneklerin Boyut Analizi

No	pH	Kitosan (mg)/25 ml	TPP 2 mg/ml	Man.K. (dk)	Son. (dk)	Man. K. (saat)	Ibu (mg) (10 ml)	Boyut (nm)	PDI	Zeta
1	4.5	125	5 ml	30	30	30 dk	1	144.1	0.322	36.4
2	4.9	125	5 ml	30	30	30 dk	1	153.2	0.396	26.5
3	4.5	200	25 ml	30	2	4	1	412	0.503	25.9
4	4.5	200	25 ml	30	2	1	1	342	0.602	42.9
5	4.5	200	25 ml	30	2	2	1	377	-	-
6	4.9	200	25 ml	30	2	1	1	237	-	-
7	4.5	200	25 ml	30	2	4	1.247	452.3	0.433	31
8	4.9	200	25 ml	30	2	4	1.247	367.3	0.528	28
9	4.5	200	25 ml	30	2	1	1.247	341	0.703	30.3
10	4.9	200	25 ml	30	2	1	1.247	421	0.668	30.3
11	4.5	200	25 ml	30	2	2	1.247	380	0.478	25
12	4.9	200	25 ml	30	2	2	1.247	382	0.449	29.3
13	4.5	200	25 ml	30	2	6	15.3	1154	0.749	-

Tablo 4.12 (devamı) Medium Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan
Örneklerin Boyut Analizi

No	pH	Kitosan (mg)/25 ml	TPP 2 mg/ml	Man.K. (dk)	Son. (dk)	Man. K. (saat)	Ibu (mg)	Boyut (nm)	PDI	Zeta
14	4.5	200	25 ml	30	2	4	15.2 (10 ml)	864,7	0.745	-
15	4.5	200	25 ml	30	2	2	15.5 (10 ml)	595.7	0.667	-
16	4.5	200	25 ml	30	2	4	14.8 (8 ml)	1020	0.930	-
17	4.5	200	25 ml	30	2	4	12.3 (8 ml)	497.7	0.545	-
18	4.5	200	25 ml	30	2	4	9 (8 ml)	798.8	0.678	-
19	4.5	200	25 ml	30	2	4	5.8 (8 ml)	1630	0.928	-
20	4.5	200	25 ml	30	2	6	12.6 (8 ml)	704.7	0.667	-
21	4.5	200	25 ml	30	2	4	12.1 (8 ml)	516.8	0.669	-
22	4.5	200	25 ml	30	2	2	12.2 (8 ml)	367.2	0.715	-
23	4.5	200	25 ml	30	2	4	12 (8 ml)	1169	0.947	-
24	4.5	200	25 ml	30	2	4	12 (8 ml)	982.1	0.783	-

Tablo 4.12’de 13-15 nolu numunelerin TPP eklemesi sonikatörde yapılmıştır. 16-19 nolu numunelerin TPP eklenmesi manyetik karıştırıcıda yapılmıştır. 20-22 nolu numunelerin TPP eklenmesi sonikatörde yapılmıştır fakat TPP ekleme öncesinde 2 dk sonikatörde bekletilmiştir. 23 ve 24 nolu numuneler 17 nolu numunenin tekrarıdır. Tablo 4.12’deki elde edilen sonuçlar incelendiğinde, ilaç miktarı arttıkça nano boyuttan mikro boyutlara çıktığı belirlenmiştir. TPP eklenmeden önce sonikatörde 2 dk beklenmesi ve TPP’nin sonikatörde eklenmesi partikül boyutunu azaltmıştır. Fakat tüm sonuçlar incelendiğinde Medium molekül ağırlıklı kitosanın istenilen nano boyutta partikül üretimi için uygun olmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle sonraki çalışmalara düşük molekül ağırlıklı kitosan ile devam edilmiştir.

Tablo 4.13 Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örneklerin Boyut Analizi (Metanol)

No	pH	Kitosan (mg)/25 ml	TPP 2 mg/ml	Man.K. (dk)	Son. (dk)	Man. K. (saat)	Ibu (mg)	Boyut (nm)	PDI	Zeta (mV)
1	4.5	200	25 ml	30	2	6	12 mg (8 ml)	400,7	0.445	22.6
2	4.5	200	25 ml	30	2	4	12 mg 8 ml	234.1	0.405	25.9
3	4.5	200	25 ml	30	2	2	12.2mg (8 ml)	252.5	0.366	22.8
4	4.5	200	25 ml	30	2	4	9.1 mg (8 ml)	274.1	0.430	28.8
5	4.5	200	25 ml	30	2	4	12.1mg (8 ml)	234.2	0.442	28.1
6	4.5	200	25 ml	30	2	4	15 mg (8 ml)	265.3	0.367	29.5
7	4.5	200	25 ml	30	2	4	18.2mg (8 ml)	338.4	0.458	29.4
8	4.5	200	25 ml	30	2	4	-	376.7	0.436	22.3
9	4.5	200	25 ml	30	2	4	-	328.8	0.488	28.8

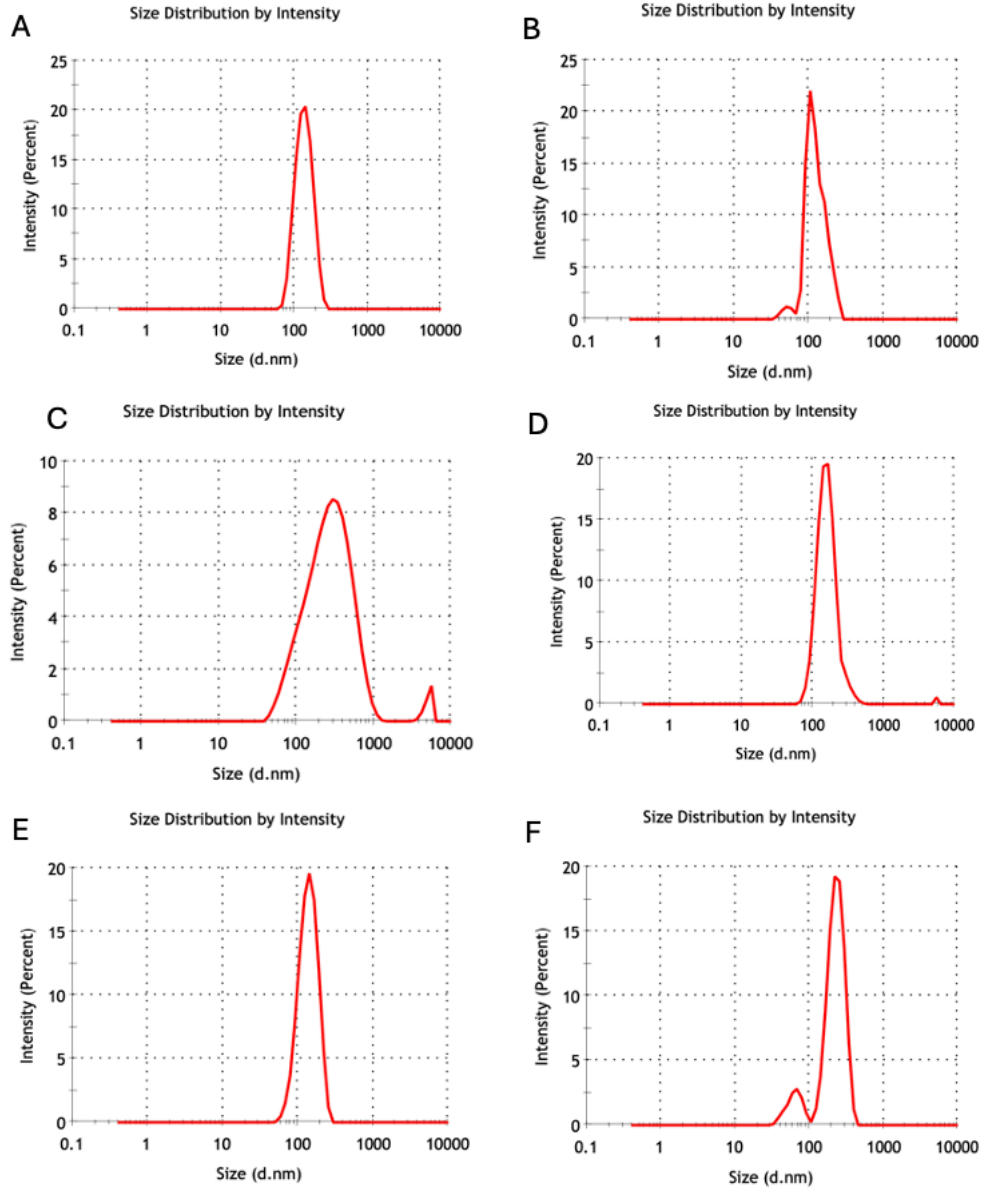
Tablo 4.13' deki 1-3 nolu numuneler incelendiğinde 4 saatlik karıştırmanın optimum süre olduğu tespit edilmiştir. 4-7 nolu numunelere bakıldığında %15 ilaç içeren kitosan nanopartikül boyutu %20 ve %25'ten büyüktür. %20-30 numunelerinde ise partikül boyutu ilaç miktarının artmasıyla doğru orantılı olarak artmıştır. İbuprofen içermeyen 8 ve 9 nolu numunelerde PVA ve Metanolün partikül boyutuna ciddi bir etkisinin olmadığını göstermekle birlikte PDI miktarını bir miktar azaltmıştır. Çalışmalara ibuprofen miktarı artırılarak ve çözücü olarak etanol kullanılarak devam edilmiştir.

Tablo 4.14 Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan ile Hazırlanan Örneklerin Boyut Analizi (Etanol)

Nanopartikül	Partikül Boyutu (d.nm)	PDI	Zeta potansiyeli (mV)
KNP	210.7±8.20	0.354±0,01	+28.8
IBU(20%)-KNP(6sa)	380.4±64.7	0.460±0,05	+31.7
IBU(20%)-KNP(2sa)	222.8±1.1	0.394±0,01	+22.8
IBU(20%)-KNP(4sa)	234.1±6.9	0.405±0,03	+31.2
IBU(25%)-KNP(4sa)	265.3±14.8	0.367±0,05	+30.7
IBU(30%)-KNP(4sa)	338.4±63.7	0.458±0,07	+34.9

Sentezlenen nanopartiküller partikül boyutu, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli açısından değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.14'te sunulmuştur. Boyut dağılımı modellerinin grafiksel gösterimi Şekil 4.14' de gösterilmiştir. Polidispersite indeksi (PDI) değerinin 0,5'in altında olması nispeten dar, homojen bir boyut dağılımını ve nanopartiküllerin minimal agregasyonunu gösterir [166], [167]. Zeta potansiyeli, koloidal sistemlerin stabilitesini gösteren önemli bir parametredir ve ± 30 mV'den büyük değerler tipik olarak stabilizasyon için yeterli kabul edilir[168] Nanopartikül Z-ortalama çaplarının karıştırma süresinin artmasıyla 222,8 nm'den 400,7 nm'ye yükseldiği tespit edilmiştir. Ayrıca Polidispersite İndeksi (PDI) sırasıyla 0.394'ten 0.460'a olmak üzere artış göstermiştir. 2 saatlik bir karıştırma süresinin ardından nanopartiküller 22,8'lik bir zeta potansiyeli sergileyerek kararsızlık göstermiştir. Ancak, 4 ve 6 saatlik karıştırma sürelerinin sonunda, zeta potansiyelleri sırasıyla 31,2 ve 31,7 gibi benzer değerler göstermiştir.

Z-ortalama çapı, polidispersite indeksi (PDI) ve zeta potansiyeli sonuçları karşılaştıırıldığında, optimum karıştırma süresinin 4 saat olduğu tespit edilmiştir. Sonraki araştırmalarda, farklı başlangıç ibuprofen konsantrasyonları (özeltideki kitosan konsantrasyonuna göre %20, %25 ve %30) deneye tabi tutulmuştur. İbuprofen içeren kitosan partikülleri 234.1 ila 338.4 nm arasında değişen partikül boyutu sergilemiştir. Z-ortalama çapları, literatürdeki bulgularla tutarlı olarak başlangıçtaki ibuprofen içeriğiyle orantılı olarak artmıştır[167]. Ayrıca, IBU(%20)-KNP(4sa), IBU(%25)-KNP(4sa) ve IBU(%30)-KNP(4sa)'nin polidispersite indeksi sırasıyla 0,405, 0,367 ve 0,458 olarak bulunmuştur. Çeşitli ibuprofen konsantrasyonlarında gözlenen minimum polidispersite indeksi (PDI) değeri, özellikle IBU (%25)-KNP (4 saat)'de 0,367'dir. Çeşitli başlangıç ibuprofen konsantrasyonlarında sentezlenen nanopartiküllerin zeta potansiyelleri 30 mV civarındadır ve bu da koloidal sistemlerin kararlılığına işaret etmektedir.



Şekil 4.46 Kitosan Nanopartiküllerin DLC ile ölçülen yoğunluğuna göre parçacık boyutu dağılımı KNP (A), IBU(%20)-KNP(6h) (B), IBU(%20)-KNP(2h) (C), IBU(%20)-KNP(4h) (D), IBU(%25)-KNP(4h) (E), IBU(%30)-KNP(4h) (F)

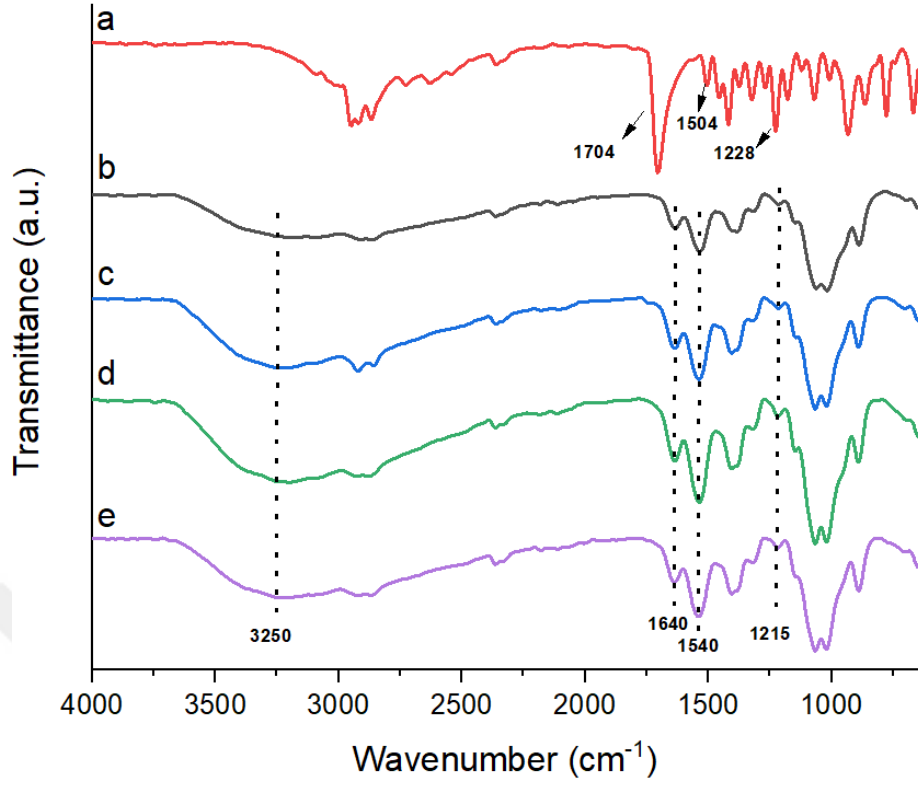
4.2.2 Fourier Transform Infrared Spektrofotometre (FTIR)

Nanopartiküllerin ve ibuprofenin kimyasal yapısını aydınlatmak için ibuprofen, kitosan nanopartikülleri ve ibuprofen yüklü kitosan nanopartikülleri üzerinde Fourier-transform infrared (FTIR) analizleri yapılmıştır. İbuprofen, kitosan nanopartikülleri ve ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküllerinin karakteristik titreşim modellerini gösteren FTIR spektrumları Şekil 4.47'de gösterilmiştir. Saf ibuprofende belirgin karakteristik pikler ayırt edilmiştir. 3000-2800 cm^{-1} bölgesindeki pikler alifatik C-H bağlarının gerilme titreşimlerine atfedilmektedir(20).

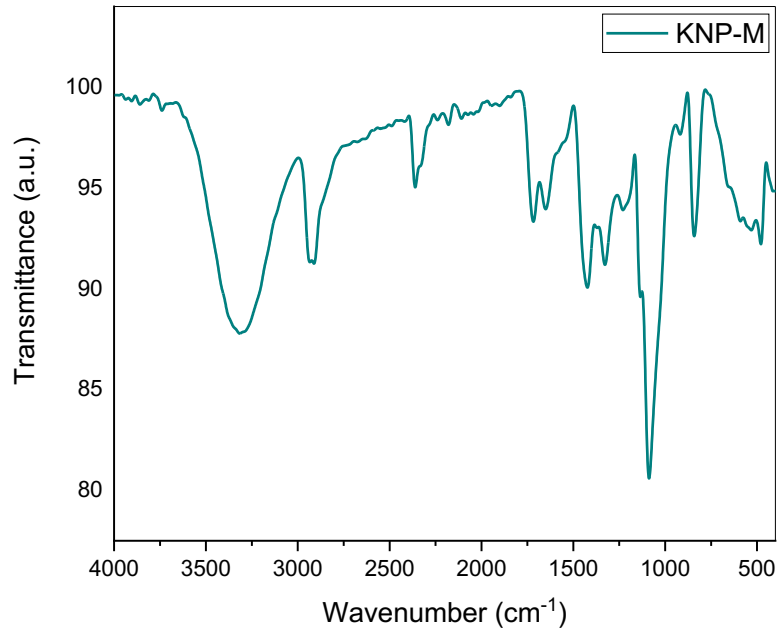
Özellikle, 1704 cm^{-1} 'de belirgin karbonil gerilmesinin göstergesi olan sağlam ve iyi tanımlanmış bir karbonil piki (C = O) ortaya çıkmıştır. Ayrıca, 1504 cm^{-1} 'de gözlemlenebilir bir aromatik halka titreşimi (C = C) ortaya çıkmış ve 1228 cm^{-1} 'de fark edilebilir bir C-O (veya C-OH) germe modu tespit edilmiştir[169].

Kitosan nanopartikülleri 3250 cm^{-1} 'de geniş bir -OH germe piki göstermiştir. Gözlenen pikler karbonil grubunun (C=O) gerilme titreşimine karşılık gelen 1640 cm^{-1} 'de ve amino grubunun (-NH) gerilme titreşimini gösteren 1545 cm^{-1} 'de tanımlanmıştır. Kızılötesi spektrumda 1215 cm^{-1} 'de kaydedilen pik, P=O germe titreşimine karşılık gelir ve kitosanın (CS) doğasında bulunan amino grupları ile tripolifosfat (TPP) içindeki fosfat grupları arasındaki bağların kurulduğunu gösterir [170] .

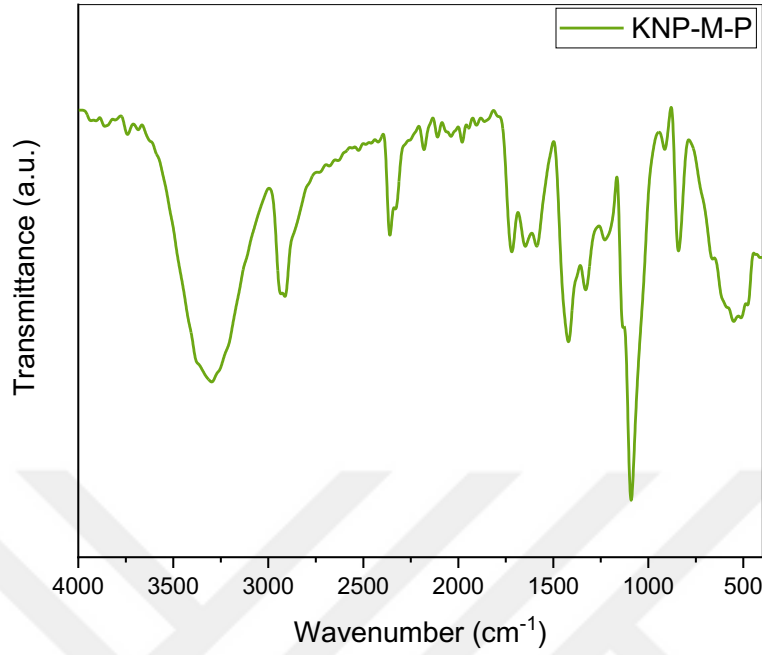
İbuprofen ile ilişkili ayırt edici pikler, nanopartiküllerin üretilmesinin ardından algılanamaz hale gelir. Bu sonuç ilacın etkili bir şekilde kapsüllendiğini kanıtlamaktadır. Şekil 4.48 ve Şekil 4.49 incelendiğinde membranlarda ibuprofenin 1704 cm^{-1} 'de karbonil piki (C = O) gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.47 Saf ibuprofen (a), kitosan nanopartikül (KNP) (b), IBU(%20)-KNP(4h) (c), IBU(%25)-KNP(4h) (d), IBU(%30)-KNP(4h)(e) FTIR spektrumları



Şekil 4.48 Daldırma yöntemiyle üretilen %25 İbuprofen- kitosan nanopartikül katkılı Membranın (90:10 (PVA-JEL) %15SA %3BG) FTIR analiz sonucu

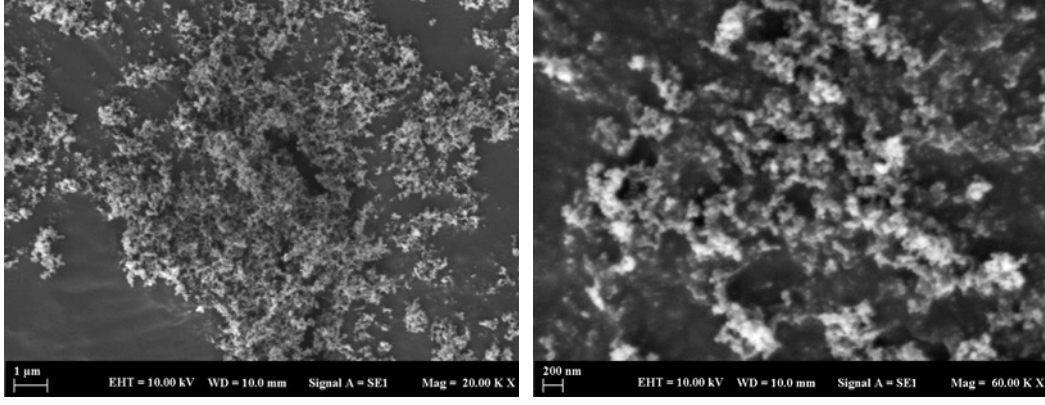


Şekil 4.49 Püskürtme yöntemiyle üretilen %25 İbuprofen- kitosan nanopartikül katkılı Membranın (90:10 (PVA-JEL) %15SA %3BG) FTIR analiz sonucu

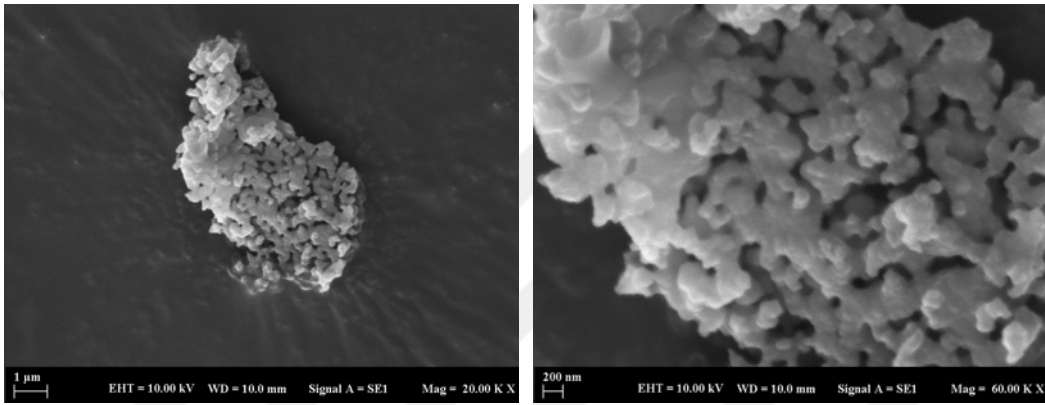
4.2.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Şekil 4.50 ve Şekil 4.51 kitosan nanopartikülleri ve ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküllerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile gözlemlenen morfolojik özelliklerini göstermektedir. Şekil 4.42'da gösterilen elektron mikrosrafı, TPP ile çapraz bağlanmış kitosan nanopartiküllerinin pürüzsüz, daha küçük ve küresel bir morfoloji sergilediğini ortaya koymaktadır. Şekil 4.50 incelendiğinde ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküllerinin küresel bir şekil aldığı görülmektedir.

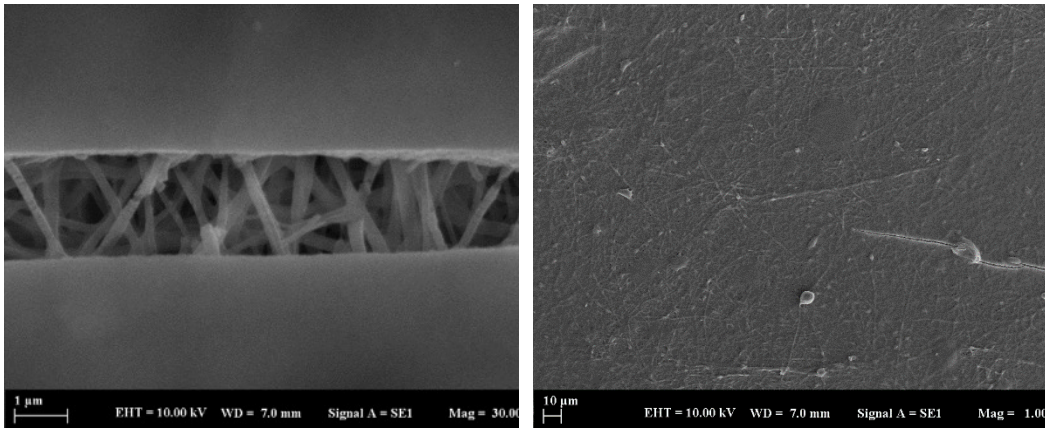
Şekil 4.52 ve şekil 4.53 incelendiğinde elektrosprey yöntemiyle membran üzerine kitosan nanopartiküllerin eklenmesi sonucunda üretilen membranın daldırma yöntemine göre üretilene kıyasla daha pürüzsüz bir kaplama gerçekleştirdiği tespit edilmiştir.



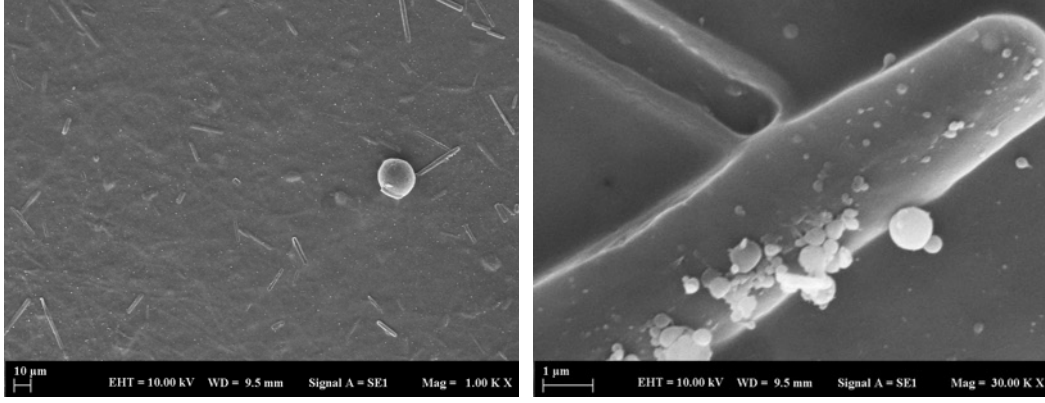
Şekil 4.50 Kitosan nanopartikül x20k ve x60k büyütmesi ile SEM görüntüsü



Şekil 4.51 %25 ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül x20k ve x60k büyütmesi ile SEM görüntüsü



Şekil 4.52 Daldırma yöntemi ile üretilen KNP-İBU katkılı PVA-Jelatin (90:10) %15 Sitrik Asit ve %3 Biyoaktif Cam ile hazırlanan membranın x30k ve x1k büyütmesi ile SEM görüntüsü



Şekil 4.53 %25 ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül kaplı membranın x1k ve x30k büyütmesi ile SEM görüntüsü

4.2.4 Verim, Enkapsülasyon Etkinliği ve İlaç Yükleme

Tablo 4.15 İbuprofen yüklü nanopartikül verimi (%), ilaç yüklemesi (%) ve enkapsülasyon etkinliği (%)

Nanopartikül	Verim (%)	YK (%)	EE (%)
IBU(20%)-KNP(4sa)	82.2	16.8	79.8
IBU(25%)-KNP(4sa)	86.1	19.1	78.1
IBU(30%)-KNP(4sa)	78.9	22.4	74.0

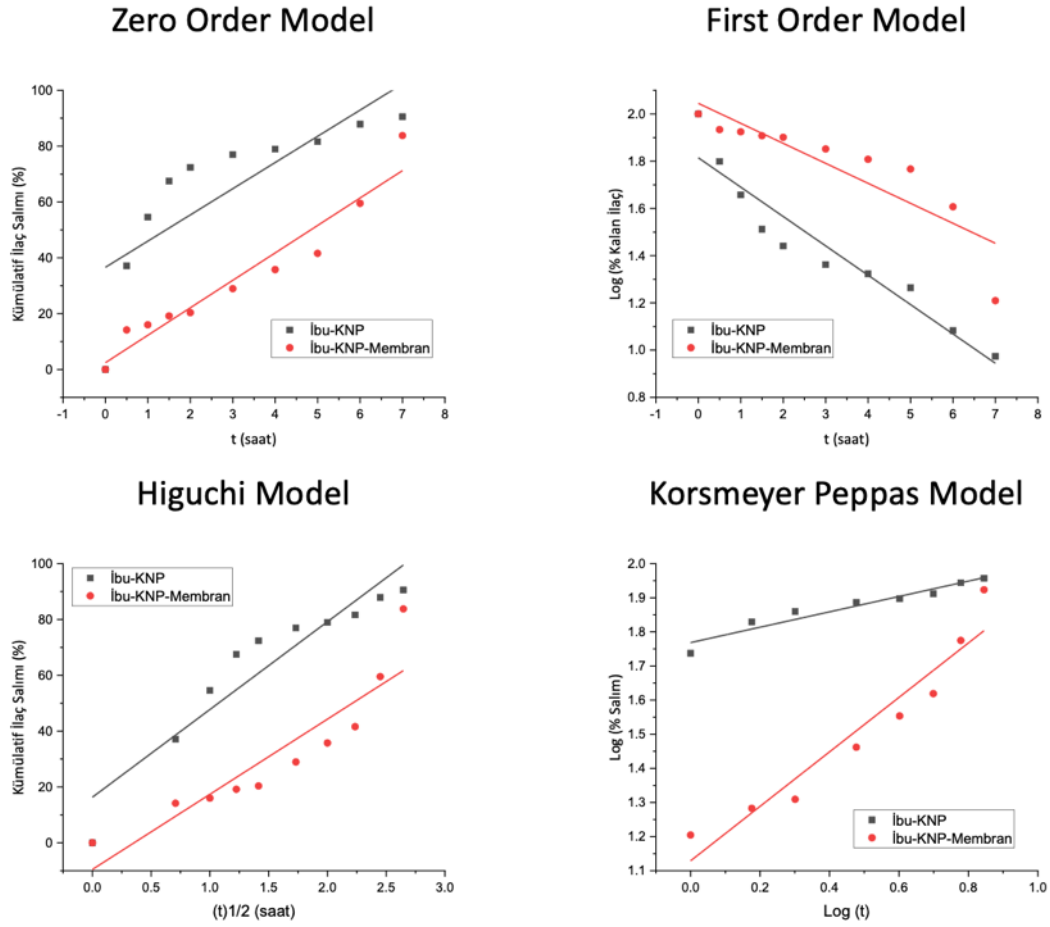
Sentezlenen ibuprofen (IBU) yüklü kitosan nanopartiküllerinin verimi, Eşitlik (7) kullanılarak gravimetrik yöntemle belirlenmiştir. Kantitatif analiz UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirilmiş, yüklenen ibuprofen miktarı 265 nm dalga boyunda absorbans ölçülerek tespit edilmiştir. İbuprofen için enkapsülasyon etkinliği (EE) ve ilaç yükleme kapasitesi (YK) sırasıyla Denklem (8) ve (9) kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.12'de sunulmuştur. İbuprofenin başlangıç konsantrasyonlarındaki artışla birlikte, enkapsülasyon verimliliğinde bir düşüşle birlikte ilaç yükleme kapasitesinde bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular mevcut literatürle uyumludur [171]. En yüksek reaksiyon verimini sergileyen nanopartikül formülasyonu IBU(%25)-KNP(4h) olarak belirlenmiş ve %86,1'lik bir verimlilik elde edilmiştir.

Tüm sonuçların kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesinin ardından, en düşük polidispersite indeksi (PDI), yeterli zeta potansiyeli, uygun zeta çapı ve yüksek reaksiyon verimi nedeniyle optimum formülasyonun IBU(%25)-KNP(4h) olduğu belirlenmiştir.

4.2.5 In vitro İlaç Salınımı ve Salım Kinetiği

İbuprofenin IBU(%25)-KNP(4h)'den salınım davranışını incelemek için, salınım ortamı olarak fosfat tamponlu salin (PBS) kullanılmış ve pH 7.4 olarak tutulmuştur. IBU(%25)-KNP(4h)'den ibuprofenin salımı 7 saat boyunca kontrollü olarak gerçekleşmiştir. İbuprofenin kümülatif salımı 7 saatlik bir sürenin ardından %90'a ulaşmıştır.

IBU(%25)-KNP(4h) yüklü membrandan ilaç salımı 7 saat boyunca kontrollü olarak gerçekleşmiş ve 7 saat sonunda ibuprofenin membranın yüzeyinden salımı %83'e ulaşmıştır. Bu ilaç salım profilleri, IBU(%25)-KNP(4h) nanopartiküllerinin kontrollü ve uzun süreli ilaç salım uygulamaları için potansiyel faydasının altını çizmektedir.



Şekil 4.54 İbuprofenin IBU(%25)-KNP ve IBU-KNP-Membrandan salım kinetiği

Tablo 4.16 Çeşitli kinetik modellerden elde edilen ibuprofen salım parametreleri

Nanopartikül	Zero-order	First-order	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	
	R ²	R ²	R ²	R ²	n
IBU(25%)-KNP	0,622	0.900	0.873	0.922	0.26
IBU(25%)-KNP Membran	0,921	0.750	0.810	0.909	1.04

IBU(%25)-KNP(4h)'den ibuprofen salım kinetiği ve mekanizmalarının değerlendirilmesi, sıfıncı derece, birinci derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas dahil olmak üzere çeşitli matematiksel modellerin uygulanmasını içermiştir. Sıfıncı dereceden kinetik, dozaj formundaki ilaç konsantrasyonundan bağımsız bir salım mekanizmasını ifade eder [172]. Birinci dereceden kinetik modelde, ilaç salım hızının dozaj formunda kalan ilaç miktarı ile doğru orantılı olduğu varsayılır [173].

Özellikle salım mekanizmasında Fickian difüzyonun baskın olduğu sistemler için uygun olan Higuchi modeli, ilaç salımının matriks boyunca difüzyon ile kontrol edildiğini varsayar [174]. Korsmeyer-Peppas modeli, özellikle polimerik matrisler gibi kontrollü ilaç salım sistemleri için yaygın olarak kullanılan bir matematiksel modeldir[175].

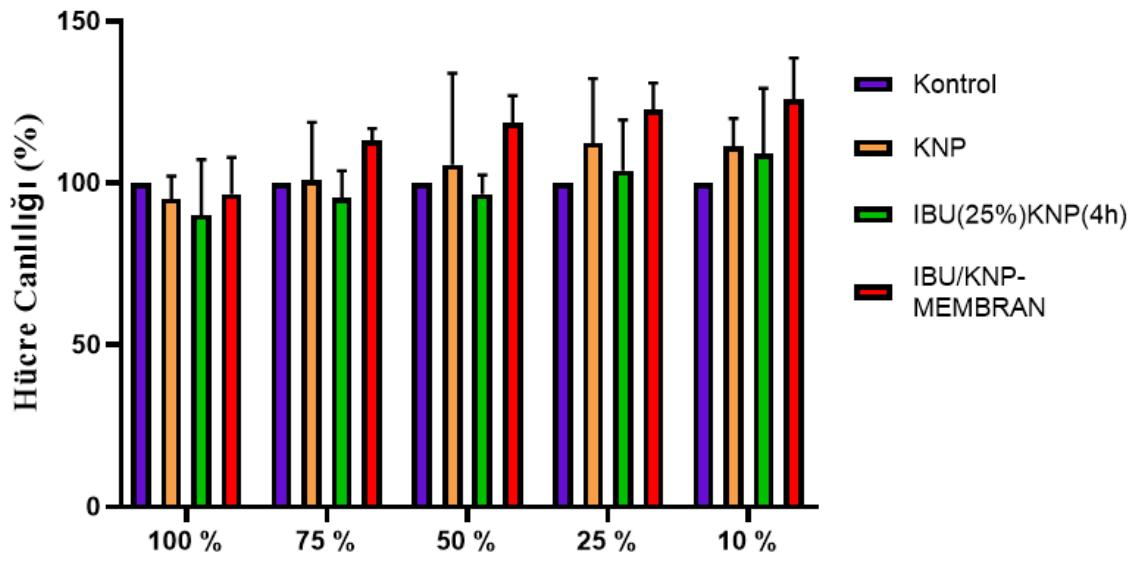
Salım kinetik grafikleri Şekil 4.54'te ve kinetik modellerden elde edilen ilgili parametreler Tablo 4.16'da sunulmuştur. Her bir modelle ilişkili R^2 değerine dayanarak, ibuprofenin kitosan nanopartiküllerden salım profilinin Korsmeyer-Peppas kinetiğine daha yakın bir uygunluk sergilediği tespit edilmiştir. Korsmeyer-Peppas kinetiğindeki n parametresi ilaç salım mekanizmasını tanımlamak için kullanılır [176]. İbuprofenin IBU(%25)-KNP(4h)'den salım mekanizmasını karakterize eden n parametresi, Korsmeyer-Peppas kinetiği modelinin uygulanmasıyla belirlendiği üzere, 0,26 olarak tespit edilmiştir. $n \leq 0.43$ olduğunda, Fickian difüzyonu gösterir [105]. Bu çalışmada sentezlenen IBU yüklü kitosan nanopartiküllerden ibuprofenin salınımının, polimer matristen difüzyon yoluyla gerçekleştiği söylenebilir. IBU(25%)-KNP Membrandan ibuprofenin salım kinetik modelleri incelendiğinde R^2 değerine dayanarak, sıfırıncı dereceden salım kinetiğine uygun olduğu belirlenmiştir. Bu durum membrandan ibuprofen salımının zamanla sabit oranda ilaç salımı gerçekleştiğini göstermektedir.

4.2.6 Sitotoksosite

Kitosan nanopartiküllerin ve IBU yüklü kitosan nanopartikülün hücre canlılığını değerlendirmek için L929 fare fibroblastlarının *in vitro* kültürü gerçekleştirilmiştir. Şekil4.49 , farklı ekstrakt konsantrasyonlarında KNP , IBU(%25)-KNP(4sa) ve IBU-KNP-Membrana uygulanan fibroblastların hücre canlılığını karşılaştırmaktadır. ISO 10993-5:2009 standartlarına göre, hücre canlılığı %70'i aştığında maddeler sitotoksik olmayan olarak kabul edilir.

KNP, IBU(%25)-KNP(4saat) ve IBU-KNP-Membran için %100 ekstrakte hücre canlılığı sırasıyla 95.18 ± 6.94 , 90.17 ± 17.02 ve 96.57 ± 19.62 olarak belirlenmiştir. Daha da önemlisi, hiçbir ekstrakt konsantrasyonunda hücre canlılığı %70 eşiğinin altına düşmemiştir. Çeşitli ekstrakt konsantrasyonlarında, deney grupları kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

KNP ve IBU yüklü kitosan nanopartikül (IBU(%25)-KNP(4sa)) ekstraktları tüm potansiyel bozunma ürünlerini içermekte olup, hiçbir konsantrasyonda toksisite gözlenmemiştir. Araştırmalar kitosan nanopartiküllerinin biyoyoumluluğunu ortaya koymuştur [177]. Mevcut literatür ibuprofenin toksik olmadığını ileri sürmektedir [178]. Araştırma bulgularımız literatürde fark edilen bilgilerle uyumludur. Bu sonuç, sentezlenen KNP, IBU(%25)-KNP(4sa) ve IBU-KNP-Membranın biyoyoumluluğunu göstermektedir.



Şekil 4.55 L929 fibroblast hücrelerinin farklı konsantrasyonlardaki kitosan nanopartikülleri (KNP), IBU(%25)-KNP(4 sa) ve IBU(%25)-KNP(4 sa) yüklü membran ekstraktları (%100, %75, %50, %25 ve %10) ile muamelesini takiben hücre canlılığı (%) sonuçları. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir. (Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur, $n = 6$)

Bu tez çalışması kapsamında PVA, jelatin ve biyoaktif cam içeren membran üretim optimizasyonu ve optimize edilen membranın yüzeyine elektrosprey yöntemiyle başarılı şekilde üretilmesi yapılmıştır. Optimize edilmiş koşullar altında, PVA:Jel (90:10) %15CA %3 BG (M11) ve PVA:Jel (90:10) %15CA %3 BG-%10 Üre (M12) kombinasyonuna sahip çok işlevli ve biyomimetik elektrospun membranlar yeni yara örtüleri olarak geliştirilmiştir.

- Yapılan analiz sonuçlarında elektrospinning için hazırlanan karışımlarda sitrik asit miktarının artması karışımın pH'ını azaltırken, BG miktarının artması pH'ı artırmaktadır.
- Sitrik asit miktarının artmasıyla fiber çaplarının azalmasını sağlamıştır. Karışımındaki PVA'nın artması ile fiber çaplarının arttığı ayrıca FTIR sonuçlarıyla sitrik asit ile çapraz bağlanma oranının da arttığı belirlenmiştir. PVA:Jel (90:10) %15CA %3 BG membranın yüzeyine elektrosprey yöntemiyle üretilmesi sonucunda ortalama fiber çapının arttığı belirlenmiştir.
- Çekme testi sonuçlarına göre karışımındaki PVA oranının artması üretilen membranların çekme mukavemetinin azalmasına kopma uzamasının ise artmasına neden olmuştur. Üretilen tüm membranların derinin mekanik özellikleri ile benzerlik gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.
- Çalışma kapsamında üretilen membranların poroziteleri %73-90 arasında değişmektedir. Porozite sonuçları membranların porozitelerinin doku rejenerasyonunu destekleyecek ölçüde (%60-90) olduğunu göstermiştir.
- Su buharı iletimi ve su buharı geçişi analizleri sonucunda karışımındaki jelatin miktarı arttıkça su buharı iletimi ve geçişinin azaldığı gözlemlenmiştir ve en uygun oranın 90:10 PVA/Jel olduğu belirlenmiştir.
- Elektrosprey yöntemiyle üretilmesi sonucunda membranın porozite, şişme ve su buharı iletimi değerleri değişmemiştir. Üretilen membranlar mekanik morfolojik ve kimyasal yapı açısından yara iyileşmesi için gereklilikleri sağlamaktadır.

- Sitotoksosite çalışmasında PVA, jelatin ve BG bileşimi biyouyumlu özellikler sergilerken üre entegre edilmesi ile düşük toksisite gözlemlenmiştir.
- *İn vivo* yara modeli ve histopatolojik sonuçlar incelendiğinde PVA:Jel (90:10) %15CA %3 BG (M11) membranın inflamasyonu azaltarak ve kolajenizasyonu artırarak yara iyileşmesini hızlandırdığı belirlenmiştir.
- Öte yandan üre içeren membranın makroskobik ve mikroskobik değerlendirmelerine bakıldığında yaranın daha düzenli kapandığı gözlenmiş, bunun da ürenin proteolitik aktivitesine bağlı olarak skar oluşumunu önleme ve epitel hücre proliferasyonunu düzenleme özelliğinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Üre içeren membranın da (M12) yara izi oluşumunu azalttığı belirlenmiştir.
- Histopatolojik sonuçlarda, üre içeren (M12) ve sadece biyoaktif cam (M11) membranların sham grubuna kıyasla daha iyi kolajen birikimi ve neovaskülarizasyona sahip olduğu ve inflamasyonu azalttığı belirlenmiştir. Reepitelizasyonda, en yüksek epitel kalınlığına sahip membran M11 $63.3 \pm 6.2 \mu\text{m}$ idi ve üre içeren membranın (M12) epitel kalınlığı da yakındı ($60 \pm 11.3 \mu\text{m}$). On dördüncü gün sonuçları incelendiğinde, tüm Sham gruplarında erode alan devam ederken, tüm M11 gruplarında ve neredeyse tüm M12 gruplarında tam kalınlıkta epitelizasyon gözlemlendi. Bu veriler doğrultusunda geliştirilen üre içermeyen membran (M11), üre içeren membrana (M12) göre yara iyileşme sürecini daha fazla hızlandırdığı tespit edilmiştir. İnflamasyon ve kolajenizasyon sonuçları, membrana üre dahil edilmesinin *in vivo* olarak tolere edilebileceğini açıkça göstermiştir.
- PVA/Jel/BG/Üre membranının, Biyoaktif cam ve ürenin sinerjik etkisiyle normal, hipertrofik ve keloid skarların gelişimini engelleyici bir etkiye sahip olabileceğinden skar oluşumunu azaltmak ve yara iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kullanılabileceği belirlenmiştir.

Ayrıca tez çalışması kapsamında diğer bir çalışma olarak ilaç salımlı yara örtüsü başarı ile üretilmiştir. İlaç salımlı yara örtüsü üretmek amacıyla optimize edilen membranın yüzeyine elektrosprey yöntemiyle üretilen ibuprofen yüklü nanopartiküller başarı ile entegre edilmiştir.

Çalışma kapsamında ibuprofen yüklü kitosan nanopartikülleri iyonik jelleşme yöntemi ve polivinil alkol (PVA) yüzey aktif maddesi kullanılarak başarıyla sentezlenmiştir.

- Partikül boyut analiz sonuçları, karıştırma süresinin ve başlangıç ilaç konsantrasyonunun artırılmasının nanopartikül boyutunun büyümesi üzerinde fark edilebilir bir etki yarattığını ortaya koymuştur.
- Üretilen ibuprofen yüklü nanopartiküller membran yüzeyine daldırma veya elektrosprey yöntemi ile entegrasyonu yapılmış ve SEM analizleri sonucunda elektrosprey yöntemiyle ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül kaplanan membranın daha homojen ve pürüzsüz olduğu tespit edilmiştir.
- Farklı salım kinetik modelleri kullanılarak PBS çözeltisinde (pH 7.4) salım kinetiğinin araştırılması hem ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküllere hem de ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküller ile kaplı membranda araştırılmıştır. Korsmeyer-Peppas kinetik modelinin optimize edilmiş ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküllerinde gözlemlenen salım profiliyle en iyi şekilde uyumlu olduğunu göstermiştir.
- Ayrıca, L929 fare fibroblast hücre hattı üzerinde yapılan kapsamlı bir biyoyumluluk değerlendirmesi sonucunda, kitosan nanopartiküllerin ,ibuprofen yüklü kitosan nanopartiküller ve ibuprofen yüklü kitosan nanopartikül kaplı membranın biyoyumluluğu doğrulanmıştır. Bu bulgular, sentezlenen nanopartiküllerin ve membranın biyoyumlu doğasını vurgulamakta ve ilaç dağıtım uygulamalarında güvenli kullanım potansiyellerini desteklemektedir.

Sonuç olarak, PVA/Jel/BG, PVA/Jel/BG/Üre membranları biyolojik olarak parçalanabilir, biyoyumlu özellikleri ve eksüdayı emme kabiliyetleriyle hızlandırılmış yara iyileşmesi sergilemiştir. Bu nedenle, yara iyileştirme uygulamaları için iyi adaylar olarak kabul edilebilirler. Ayrıca, umut verici özellikleri nedeniyle, PVA/Jel/BG/Üre membranı, yara izi önleyici tedavi uygulamaları için bir yara örtüsü olarak önerilebilir. Bu, günümüzde var olan estetik kaygılar göz önüne alındığında özellikle önemlidir. Ayrıca PVA/Jel/BG/IBU-KNP membranın kontrollü ilaç salımı gerektiren yara iyileşmesi uygulamalarında kendisine yer edinebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

- [1] S. Homaeigohar, M. Li, and Boccaccini A.R., “Bioactive glass-based fibrous wound dressings,” *Burns Trauma*, vol. 10, p. 038, 2022.
- [2] C. K. Sen *et al.*, “Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy,” *Wound repair and regeneration*, pp. 763–771, 2009, doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00543.x.
- [3] G. Han and R. Ceilley, “Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments,” *Adv Ther*, vol. 34, no. 3, pp. 599–610, 2017, doi: 10.1007/S12325-017-0478-Y.
- [4] G. Broughton, J. E. Jeffrey, and C. Attinger, “Wound healing: an overview,” *Plast Reconstr Surg*, vol. 117, no. 7S, p. 1e-S, 2006, doi: 10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9.
- [5] S. Dhivya, V. V. Padma, and E. Santhini, “Wound dressings - A review,” *BioMedicine (Netherlands)*, vol. 5, no. 4, pp. 24–28, 2015, doi: 10.7603/S40681-015-0022-9.
- [6] R. Nunan, K. G. Harding, and P. Martin, “Clinical challenges of chronic wounds: searching for an optimal animal model to recapitulate their complexity,” *Dis Model Mech*, vol. 7, no. 11, pp. 1205–1213, 2014.
- [7] R. Zhao, H. Liang, E. Clarke, C. Jackson, and M. Xue, “Inflammation in Chronic Wounds,” *International Journal of Molecular Sciences 2016, Vol. 17, Page 2085*, vol. 17, no. 12, p. 2085, Dec. 2016, doi: 10.3390/IJMS17122085.
- [8] E. Naseri and A. Ahmadi, “A review on wound dressings: Antimicrobial agents, biomaterials, fabrication techniques, and stimuli-responsive drug release,” *Eur Polym J*, vol. 173, p. 111293, 2022.
- [9] C. Shi *et al.*, “Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 8, p. 182, Mar. 2020, doi: 10.3389/FBIOE.2020.00182/FULL.

- [10] M. , Farahani and A. Shafiee, "Wound healing: From passive to smart dressings," *Adv Healthc Mater*, vol. 10, no. 16, p. 2100477, Aug. 2021, doi: 10.1002/adhm.202100477.
- [11] K. J. B. Kus and E. S. Ruiz, "Wound Dressings – A Practical Review," *Curr Dermatol Rep*, vol. 9, no. 4, pp. 298–308, Dec. 2020, doi: 10.1007/S13671-020-00319-W.
- [12] D. Simões, S. P. Miguel, M. P. Ribeiro, P. Coutinho, A. G. Mendonça, and I. J. Correia, "Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review," *uropean journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, vol. 127, pp. 130–141, 2018.
- [13] P. Zahedi, I. Rezaeian, S.-O. Ranaei-Siadat, S.-H. Jafari, and P. Supaphol, "A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages," *Polym Adv Technol*, vol. 21, no. 2, pp. 77–95, Feb. 2010, doi: 10.1002/pat.1625.
- [14] N. Ketabchi *et al.*, "Study of third-degree burn wounds debridement and treatment by actinidin enzyme immobilized on electrospun chitosan/PEO nanofibers in rats," *Biointerface Res. Appl. Chem*, vol. 11, no. 3, pp. 10358–10370, 2021, doi: 10.33263/BRIAC113.1035810370.
- [15] M. Foroutan Koudehi and R. Zibaseresht, "Synthesis of molecularly imprinted polymer nanoparticles containing gentamicin drug as wound dressing based polyvinyl alcohol/gelatin nanofiber," *Materials Technology*, vol. 35, no. 1, pp. 21–30, 2020.
- [16] R. Nagarkar and J. Patel, "Polyvinyl alcohol: A comprehensive study," *Acta Sci. Pharm. Sci*, vol. 3, no. 4, pp. 34–44, 2019.
- [17] Y. Choi, S. Hong, Y. Lee, K. Song, M. H. , Park, and Y. S. Nam, "Study on gelatin-containing artificial skin: I. Preparation and characteristics of novel gelatin-alginate sponge," *Biomaterials*, vol. 20, no. 5, pp. 409–417, 1999.
- [18] Y. Li, Q. Hu, G. Miao, Q. Zhang, and B. Yuan, "Size-dependent mechanism of intracellular localization and cytotoxicity of mono-disperse spherical mesoporous nano-and micron-bioactive glass particles," *J Biomed Nanotechnol*, vol. 12, no. 5, p. 863., 2016.

- [19] A. J. Friedman, E. C. Von Grote, and M. H. Meckfessel, "Urea: a clinically oriented overview from bench to bedside," *J Drugs Dermatol*, vol. 15, no. 5, pp. 633–639, 2016.
- [20] A. Verzi, M. Musumeci, F. , Lacarrubba, and G. Micali, "History of urea as a dermatological agent in clinical practice," *Int J Clin Pract*, vol. 74, no. S187, p. e13621, Dec. 2020, doi: 10.1111/ijcp.13621.
- [21] M. Pelle and O. Miller, "Debridement of necrotic eschar with 40% urea paste speeds healing of residual limbs and avoids further surgery," *Arch Dermatol*, vol. 137, no. 10, pp. 1288–1290, 2001.
- [22] H. Liu and C. Gao, "Preparation and properties of ionically cross-linked chitosan nanoparticles," *Polym Adv Technol*, vol. 20, no. 7, pp. 613–619, Jul. 2009, doi: 10.1002/PAT.1306.
- [23] A. Kumari, S. K. Yadav, and S. C. Yadav, "Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems," *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 75, no. 1, pp. 1–18, Jan. 2010, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2009.09.001.
- [24] A. Dev *et al.*, "Preparation of poly(lactic acid)/chitosan nanoparticles for anti-HIV drug delivery applications," *Carbohydr Polym*, vol. 80, no. 3, pp. 833–838, May 2010, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2009.12.040.
- [25] T. López-León, E. L. S. Carvalho, B. Seijo, J. L. Ortega-Vinuesa, and D. Bastos-González, "Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles: electrokinetic and stability behavior," *J Colloid Interface Sci*, vol. 283, no. 2, pp. 344–351, Mar. 2005, doi: 10.1016/J.JCIS.2004.08.186.
- [26] H. M. N. Iqbal and T. Keshavarz, "Bioinspired polymeric carriers for drug delivery applications," *Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications: Volume 1: Types and Triggers*, pp. 377–404, Jan. 2018, doi: 10.1016/B978-0-08-101997-9.00018-7.
- [27] L. H. Zoe, S. R. David, and R. Rajabalaya, "Chitosan nanoparticle toxicity: A comprehensive literature review of in vivo and in vitro assessments for medical applications," *Toxicol Rep*, vol. 11, pp. 83–106, Dec. 2023, doi: 10.1016/J.TOXREP.2023.06.012.

- [28] I. Campos *et al.*, “Biocompatible superparamagnetic nanoparticles with ibuprofen as potential drug carriers,” *SN Appl Sci*, vol. 2, no. 3, Mar. 2020, doi: 10.1007/S42452-020-2265-7.
- [29] I. A. Sogias, A. C. Williams, and V. V. Khutoryanskiy, “Chitosan-based mucoadhesive tablets for oral delivery of ibuprofen,” *Int J Pharm*, vol. 436, no. 1–2, pp. 602–610, Oct. 2012, doi: 10.1016/J.IJPHARM.2012.07.007.
- [30] E. S. , Chambers and M. Vukmanovic-Stejic, “Skin barrier immunity and ageing,” *Immunology*, vol. 2020, no. 2, pp. 171–182, Jun. 2020, doi: 10.1111/imm.13152.
- [31] E. Naseri and A. Ahmadi, “A review on wound dressings: Antimicrobial agents, biomaterials, fabrication techniques, and stimuli-responsive drug release,” *Eur Polym J*, vol. 173, p. 111293, 2022.
- [32] M. A. Farage, K. W. Miller, P. Elsner, and H. I. Maibach, “Structural characteristics of the aging skin: a review,” *Cutan Ocul Toxicol*, vol. 26, no. 4, pp. 343–357, Oct. 2007, doi: 10.1080/15569520701622951.
- [33] G. , Yang, J. K. Seok, H. C. Kang, Y. Y. Cho, H. S. Lee, and J. Y. Lee, “Skin barrier abnormalities and immune dysfunction in atopic dermatitis,” *Int J Mol Sci*, vol. 21, no. 8, p. 2867, 2020.
- [34] J. E. Lai-Cheong and J. A. McGrath, “Structure and function of skin, hair and nails,” *Medicine*, vol. 41, no. 6, pp. 317–320, 2013.
- [35] Y. Liu, M. Pharr, and G. A. Salvatore, “Lab-on-skin: a review of flexible and stretchable electronics for wearable health monitoring,” *ACS Nano*, vol. 11, no. 10, pp. 9614–9635, Oct. 2017, doi: 10.1021/acsnano.7b04898.
- [36] T. Velnar, T. Bailey, and V. Smrkolj, “The wound healing process: An overview of the cellular and molecular mechanisms,” *Journal of International Medical Research*, vol. 37, no. 5, pp. 1528–1542, 2009, doi: 10.1177/147323000903700531.
- [37] G. Neilsen and K. Coleman, “Healing wound management,” *Clinics in Integrated Care*, vol. 11, p. 100096, Apr. 2022, doi: 10.1016/J.INTCAR.2022.100096.

- [38] G. Han and R. Ceilley, "Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments," *Advances in Therapy*, vol. 34, no. 3. Springer Healthcare, pp. 599–610, Mar. 01, 2017. doi: 10.1007/s12325-017-0478-y.
- [39] C. K. Sen *et al.*, "Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy," *Wound repair and regeneration*, vol. 17, no. 6, pp. 763–771, Nov. 2009, doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00543.x.
- [40] S. A. Guo and L. A. DiPietro, "Factors affecting wound healing," *J Dent Res*, vol. 89, no. 3, pp. 219–229, Mar. 2010, doi: 10.1177/0022034509359125.
- [41] I. I. George Broughton, J. E. Janis, and C. E. Attinger, "CME Wound Healing: An Overview," *Plast Reconstr Surg*, vol. 117, no. 7s, pp. 1e–S, 2006, doi: 10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9.
- [42] D. C. Thomas, C. L. Tsu, R. A. Nain, N. Arsat, S. S. Fun, and N. A. Sahid Nik Lah, "The role of debridement in wound bed preparation in chronic wound: A narrative review," *Annals of Medicine and Surgery*, vol. 71, p. 102876, Nov. 2021, doi: 10.1016/J.AMSU.2021.102876.
- [43] J. G. Powers, C. Higham, K. Broussard, and T. J. Phillips, "Wound healing and treating wounds: Chronic wound care and management," *J Am Acad Dermatol*, vol. 74, no. 4, pp. 607–625, Apr. 2016, doi: 10.1016/J.JAAD.2015.08.070.
- [44] J. , C. J. Li and R. Kirsner, "Pathophysiology of acute wound healing," *Clin Dermatol*, vol. 25, no. 1, pp. 9–18, 2007.
- [45] W. Peng *et al.*, "Recent progress of collagen, chitosan, alginate and other hydrogels in skin repair and wound dressing applications," *Int J Biol Macromol*, vol. 208, pp. 400–408, 2022.
- [46] A. U. Khan *et al.*, "Electrospinning: An emerging technology to construct polymer-based nanofibrous scaffolds for diabetic wound healing," *Front Mater Sci*, vol. 15, no. 1, pp. 10–35, Mar. 2021, doi: 10.1007/s11706-021-0540-1.
- [47] M. Farahani and A. Shafiee, "Wound healing: From passive to smart dressings," *Adv Healthc Mater*, vol. 10, no. 16, p. 2100477, Aug. 2021, doi: 10.1002/adhm.202100477.

- [48] C. Shi *et al.*, “Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 8, Mar. 2020, doi: 10.3389/FBIOE.2020.00182/FULL.
- [49] E. Naseri and A. Ahmadi, “A review on wound dressings: antimicrobial agents, biomaterials, fabrication techniques, and stimuli-responsive drug release,” *Eur Polym J*, vol. 173, p. 111293, 2022.
- [50] K. J. B. Kus and E. S. Ruiz, “Wound Dressings – A Practical Review,” *Curr Dermatol Rep*, vol. 9, no. 4, pp. 298–308, Dec. 2020, doi: 10.1007/S13671-020-00319-W.
- [51] D. Simões, S. P. Miguel, M. P. Ribeiro, P. Coutinho, A. G. Mendonça, and I. J. Correia, “Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 127, pp. 130–141, Jun. 2018, doi: 10.1016/J.EJPB.2018.02.022.
- [52] C. Shi *et al.*, “Selection of Appropriate Wound Dressing for Various Wounds,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 8, p. 182, Mar. 2020, doi: 10.3389/FBIOE.2020.00182/BIBTEX.
- [53] K. Vowden and P. Vowden, “Wound dressings: principles and practice,” *Surgery (Oxford)*, vol. 35, no. 9, pp. 489–494, 2017.
- [54] M. Baniasadi, H. Baniasadi, R. Azimi, and N. Khosravi Dehaghi, “Fabrication and characterization of a wound dressing composed of polyvinyl alcohol/nanochitosan/*Artemisia ciniformis* extract: An RSM study,” *Polym Eng Sci*, vol. 60, no. 7, pp. 1459–1473, Jul. 2020, doi: 10.1002/PEN.25393.
- [55] T. Sill, H. V. R.- Biomaterials, and undefined 2008, “Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering,” *Elsevier*.
- [56] A. Haider, S. Haider, and I. K. Kang, “A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology,” *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 8, pp. 1165–1188, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.ARABJC.2015.11.015.
- [57] Y. Liang, Y. Liang, H. Zhang, B. G.-J. of P. Sciences, and undefined 2022, “Antibacterial biomaterials for skin wound dressing,” *Elsevier*.

- [58] M. Abrigo, S. L. McArthur, and P. Kingshott, "Electrospun nanofibers as dressings for chronic wound care: advances, challenges, and future prospects," *Macromol Biosci*, vol. 14, no. 6, pp. 772–792, 2014, doi: 10.1002/mabi.201300561.
- [59] H. Adeli, M. T. Khorasani, and M. Parvazinia, "Wound dressing based on electrospun PVA/chitosan/starch nanofibrous mats: Fabrication, antibacterial and cytocompatibility evaluation and in vitro healing," *Int J Biol Macromol*, vol. 122, pp. 238–254, 2019.
- [60] G. Kavooosi, Z. Bordbar, S. M. Dadfar, S. Mohammad, and M. Dadfar, "Preparation and characterization of a novel gelatin–poly(vinyl alcohol) hydrogel film loaded with Zataria multiflora essential oil for antibacterial–antioxidant wound," *J Appl Polym Sci*, vol. 134, no. 39, p. 45351, Oct. 2017, doi: 10.1002/app.45351.
- [61] A. Yilmaz, "Synthesis and characterization of nanoparticles possessing bioactive properties," *Emerging Materials Research*, vol. 10, no. 2, pp. 158–167, May 2021, doi: 10.1680/JEMMR.20.00328.
- [62] B. Díez *et al.*, "Chemically cross-linked poly (vinyl alcohol) electrospun fibrous mats as wound dressing materials," *Wiley Online Library*, vol. 97, no. 3, pp. 620–632, Mar. 2021, doi: 10.1002/jctb.7006.
- [63] S. H. Rooholghodos, M. Pourmadadi, F. Yazdian, and H. Rashedi, "Optimization of electrospun CQDs-Fe₃O₄-RE loaded PVA-cellulose nanofibrils via central composite design for wound dressing applications: Kinetics and in," *International Journal of Biological Macromolecules*, 237, 124067., vol. 237, p. 12406, 2023.
- [64] D. Yu, Y. Feng, J. Xu, B. Kong, Q. Liu, and H. Wang, "Fabrication, characterization, and antibacterial properties of citric acid crosslinked PVA electrospun microfibre mats for active food packaging," *Packaging Technology and Science*, vol. 34, no. 6, pp. 361–370, Jun. 2021, doi: 10.1002/pts.2566.
- [65] J. Shi and E. L. Yang, "Green electrospinning and crosslinking of polyvinyl alcohol/citric acid," *Journal of Nano Research*, vol. 32, pp. 32–42, 2015, doi: 10.4028/www.scientific.net/JNanoR.32.32.

- [66] Y. Zheng *et al.*, “Gelatin-Based Hydrogels Blended with Gellan as an Injectable Wound Dressing,” *ACS Omega*, vol. 3, no. 5, pp. 4766–4775, May 2018, doi: 10.1021/ACSOMEGA.8B00308.
- [67] J. Ahlawat, V. Kumar, and P. Gopinath, “Carica papaya loaded poly (vinyl alcohol)-gelatin nanofibrous scaffold for potential application in wound dressing,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 103, p. 109834, 2019.
- [68] N. T. B. Linh, Y. K. Min, H. Y. Song, and B. T. Lee, “Fabrication of polyvinyl alcohol/gelatin nanofiber composites and evaluation of their material properties,” *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, vol. 95, no. 1, pp. 184–191, Oct. 2010, doi: 10.1002/jbm.b.31701.
- [69] A. C. Özarslan, “Preparation of biosilica glass-based porous scaffolds using various elements (Mg–Zn, Mg–Cu, and Sr–Cu) as bioactive glass co-dopants: In vitro bioactivity and biocompatibility behaviors,” *J Mater Res*, vol. 38, no. 16, pp. 3874–3889, Aug. 2023, doi: 10.1557/S43578-023-01105-7.
- [70] C. Wu *et al.*, “Preparation and characterization of borosilicate-bioglass-incorporated sodium alginate composite wound dressing for accelerated full-thickness skin wound healing,” *Biomedical Materials*, vol. 18, p. 59703, 2023, doi: 10.1088/1748-605X/acee68.
- [71] A. C. Özarslan and S. Yücel, “Evaluation of novel composition (SiO₂–CaO–Na₂O–P₂O₅, SrO–CuO) degradable amorphous silicate glasses properties and comprehensive characterization of the thermal features,” *Ceram Int*, vol. 49, no. 5, pp. 7424–7437, Mar. 2023, doi: 10.1016/J.CERAMINT.2022.10.228.
- [72] S. Homaeigohar, M. Li, and Boccaccini AR, “Bioactive glass-based fibrous wound dressings,” *Burns Trauma*, vol. 10, p. 38, 2022.
- [73] R. Rai *et al.*, “Fabrication of a novel poly(3-hydroxyoctanoate) / nanoscale bioactive glass composite film with potential as a multifunctional wound dressing,” *AIP Conf Proc*, vol. 1255, pp. 126–128, 2010, doi: 10.1063/1.3455552.
- [74] L. Celleno, “Topical urea in skincare: A review,” *Dermatol Ther*, vol. 31, no. 6, p. e12690, Nov. 2018, doi: 10.1111/DTH.12690.

- [75] J. Piquero-Casals, D. Morgado-Carrasco, C. Granger, C. Trullàs, A. Jesús-Silva, and J. Krutmann, "Urea in Dermatology: A Review of its Emollient, Moisturizing, Keratolytic, Skin Barrier Enhancing and Antimicrobial Properties," *Dermatol Ther (Heidelb)*, vol. 11, no. 6, pp. 1905–1915, Dec. 2021, doi: 10.1007/S13555-021-00611-Y.
- [76] F. Danhier, O. Feron, and V. Préat, "To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery," *Journal of controlled release*, vol. 148, no. 2, pp. 135–146, 2010.
- [77] T. M. Allen and P. R. Cullis, "Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream," *Science (1979)*, vol. 303, no. 5665, pp. 1818–1822, Mar. 2004, doi: 10.1126/SCIENCE.1095833.
- [78] H. K. Yadav, A. A. Almokdad, I. M. Sumia, and M. S. Debe, "Polymer-based nanomaterials for drug-delivery carriers," *Nanocarriers for drug delivery*, vol. Elsevier, pp. 531–556, 2019.
- [79] K. Cho, X. Wang, S. Nie, Z. Chen, and D. Shin, "Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer," *Clinical cancer research*, vol. 14, no. 5, pp. 1310–1316, 2008.
- [80] A. Zielinska *et al.*, "Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology," *Molecules*, vol. 25, no. 16, Aug. 2020, doi: 10.3390/MOLECULES25163731.
- [81] N. Kamaly, B. Yameen, J. Wu, and O. C. Farokhzad, "Degradable controlled-release polymers and polymeric nanoparticles: Mechanisms of controlling drug release," *Chem Rev*, vol. 116, no. 4, pp. 2602–2663, Feb. 2016, doi: 10.1021/ACS.CHEMREV.5B00346.
- [82] D. Lee, K. Powers, and R. Baney, "Physicochemical properties and blood compatibility of acylated chitosan nanoparticles," *Carbohydr Polym*, vol. 58, no. 4, pp. 371–377, 2004.
- [83] J. Nilsen-Nygaard, S. P. Strand, K. M. Vårum, K. I. Draget, and C. T. Nordgård, "Chitosan: Gels and interfacial properties," *Polymers (Basel)*, vol. 7, no. 3, pp. 552–579, 2015, doi: 10.3390/POLYM7030552.
- [84] Tuncer Mehmet, "Çoklu ilaca dirençli kanser hücre hattına nanopartiküllerle ilaç aktarımı," *Master's thesis, Fen Bilimleri*

- Enstitüsü*, 2014, Accessed: Nov. 21, 2022. [Online]. Available: <http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/handle/11655/2263>
- [85] T. , López-León, E. L. S. , Carvalho, B. , Seijo, J. L. , Ortega-Vinuesa, and D. Bastos-González, “Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles: electrokinetic and stability behavior,” *J Colloid Interface Sci*, vol. 283, no. 2, pp. 344–351, 2005.
 - [86] H. M. Iqbal and T. Keshavarz, “Bioinspired polymeric carriers for drug delivery applications,” *Woodhead Publishing*, vol. 1, pp. 377–404, 2018.
 - [87] U. M. S. P. Perera and N. Rajapakse, “Chitosan nanoparticles: Preparation, characterization, and applications,” *Seafood Processing By-Products: Trends and Applications*, vol. 9781461495901, pp. 371–387, Oct. 2014, doi: 10.1007/978-1-4614-9590-1_18.
 - [88] A. G.-J. of drug targeting and undefined 2012, “Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods,” *Taylor & FrancisA GrenhaJournal of drug targeting, 2012•Taylor & Francis*, vol. 20, no. 4, pp. 291–300, May 2012, doi: 10.3109/1061186X.2011.654121.
 - [89] C. Pan, J. Qian, C. Zhao, H. Yang, X. Zhao, and H. Guo, “Study on the relationship between crosslinking degree and properties of TPP crosslinked chitosan nanoparticles,” *Carbohydr Polym*, vol. 241, p. 116349, Aug. 2020, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2020.116349.
 - [90] K. Divya and M. S. Jisha, “Chitosan nanoparticles preparation and applications,” *Environ Chem Lett*, vol. 16, no. 1, pp. 101–112, Mar. 2018, doi: 10.1007/S10311-017-0670-Y.
 - [91] U. Garg, S. Chauhan, U. Nagaich, and N. Jain, “Current advances in chitosan nanoparticles based drug delivery and targeting,” *Adv Pharm Bull*, vol. 9, no. 2, p. 195, 2019.
 - [92] J. Irvine, A. Afrose, and N. Islam, “Formulation and delivery strategies of ibuprofen: challenges and opportunities,” *Drug Dev Ind Pharm*, vol. 44, no. 2, pp. 173–183, Feb. 2018, doi: 10.1080/03639045.2017.1391838.
 - [93] J. , Irvine, A. Afrose, and N. Islam, “Formulation and delivery strategies of ibuprofen: challenges and opportunities,” *Drug Dev Ind*

- Pharm*, vol. 44, no. 2, pp. 173–183, Feb. 2018, doi: 10.1080/03639045.2017.1391838.
- [94] J. Zheng, L. Luan, H. Wang, L. Xi, and K. Yao, “Study on ibuprofen/montmorillonite intercalation composites as drug release system,” *Appl Clay Sci*, vol. 36, no. 4, pp. 297–301, 2007.
- [95] M. Öner, E. Yetiz, E. Ay, and Uysal U, “Ibuprofen release from porous hydroxyapatite tablets,” *Ceram Int*, vol. 37, no. 7, pp. 2117–2125, 2011.
- [96] S. Bensouiki *et al.*, “Evaluation of Anti-inflammatory Activity and In Vitro Drug Release of Ibuprofen-Loaded Nanoparticles Based on Sodium Alginate and Chitosan,” *Arab J Sci Eng*, vol. 45, no. 9, pp. 7599–7609, Sep. 2020, doi: 10.1007/S13369-020-04720-2/TABLES/7.
- [97] G. Gonzalez, A. Sagarzazu, and T. Zoltan, “Influence of Microstructure in Drug Release Behavior of Silica Nanocapsules,” *J Drug Deliv*, vol. 2013, pp. 1–8, Aug. 2013, doi: 10.1155/2013/803585.
- [98] M. Yıldırım, M. Demirbilek, H. Gürsu, Y. Şahin, and N. Türkoğlu, “Manipulating cell behavior on a bacterial macro-polymer poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) via tuning the S-doped graphene ratio,” *Int J Biol Macromol*, vol. 182, pp. 2076–2086, 2021.
- [99] V. Pitpisutkul and J. Prachayawarakorn, “Hydroxypropyl methylcellulose/carboxymethyl starch/zinc oxide porous nanocomposite films for wound dressing application,” *Carbohydr Polym*, vol. 298, p. 120082, 2022.
- [100] Z. Yang, X. Ren, and Y. Liu, “Multifunctional 3D printed porous GelMA/xanthan gum based dressing with biofilm control and wound healing activity,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 131, p. 112493, 2021.
- [101] A. E. Karaca, C. Özel, A. C. Özarslan, and S. Yücel, “The simultaneous extraction of cellulose fiber and crystal biogenic silica from the same rice husk and evaluation in cellulose-based composite bioplastic films,” *Polym Compos*, vol. 43, no. 10, pp. 6838–6853, Oct. 2022, doi: 10.1002/pc.26729.

- [102] A. Özarslan, Y. Elalmis, and S. Yücel, "Production of biosilica based bioactive glass-alginate composite putty as bone support material, and evaluation of in vitro properties; bioactivity and," *J Non Cryst Solids*, vol. 561, p. 120755, 2021.
- [103] A. Atıcı, İ. Seçinti, M. Çelikkaya, and B. Akçora, "The histopathological effect of tissue adhesive on urethra wound healing process: An experimental animal study," *Journal of Pediatric Urology*, 16(6), 805-e1., vol. 16, no. 6, pp. 805-e-1, 2020.
- [104] R. S. T. Aydin and M. Pulat, "5-Fluorouracil encapsulated chitosan nanoparticles for pH-stimulated drug delivery: evaluation of controlled release kinetics," *J Nanomater*, vol. 2012, pp. 42–42, 2012, doi: 10.1155/2012/313961.
- [105] P. I. P. Soares, A. I. Sousa, J. C. Silva, I. M. M. Ferreira, C. M. M. Novo, and J. P. Borges, "Chitosan-based nanoparticles as drug delivery systems for doxorubicin: Optimization and modelling," *Carbohydr Polym*, vol. 147, pp. 304–312, Aug. 2016, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2016.03.028.
- [106] C. , Schramm, B. , Rinderer, and O. Bobleter, "Kinetic data for the crosslinking reaction of polycarboxylic acids with cellulose," *Journal of the Society of Dyers and Colourists*, vol. 113, no. 12, pp. 346–349, 1997, doi: 10.1111/j.1478-4408.1997.tb01861.x.
- [107] Z. Krysiak and U. Stachewicz, "Urea-based patches with controlled release for potential atopic dermatitis treatment," *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 7, p. 1494, 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14071494.
- [108] A. Çay, E. P. Akçakoca Kumbasar, Z. Keskin, Ç. Akduman, and A. Şendemir Ürkmez, "Crosslinking of poly(vinyl alcohol) nanofibres with polycarboxylic acids: biocompatibility with human skin keratinocyte cells," *J Mater Sci*, vol. 52, no. 20, pp. 12098–12108, Oct. 2017, doi: 10.1007/S10853-017-1370-5.
- [109] A. Razzaq *et al.*, "Development of cephradine-loaded gelatin/polyvinyl alcohol electrospun nanofibers for effective diabetic wound healing: in-vitro and in-vivo assessments," *Pharmaceutics*, vol. 13, p. 349, 2021, doi: 10.3390/pharmaceutics13030349.

- [110] L. Liverani, J. Lacina, J. Roether, E. B.-B. materials, and undefined 2018, "Incorporation of bioactive glass nanoparticles in electrospun PCL/chitosan fibers by using benign solvents," *Bioact Mater*, vol. 3, no. 1, pp. 55–63, 2018.
- [111] H. , Pirayesh and J. A. Nychka, "Sol–Gel Synthesis of Bioactive Glass-Ceramic 45S5 and its in vitro Dissolution and Mineralization Behavior," *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 96, no. 5, pp. 1643–1650, May 2013, doi: 10.1111/jace.12190.
- [112] L. C. , Gerhardt and A. R. Boccaccini, "Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering," *Materials*, vol. 3, pp. 3867–3910, 2010, doi: 10.3390/ma3073867.
- [113] Y. , Liu, L. M. , Geever, J. E. , Kennedy, C. L. , Higginbotham, P. A. , Cahill, and G. B. McGuinness, "Thermal behavior and mechanical properties of physically crosslinked PVA/Gelatin hydrogels," *J Mech Behav Biomed Mater*, vol. 3, no. 2, pp. 203–209, 2010.
- [114] K. F. , El-Nemr, H. R. , Mohamed, M. A. , Ali, R. M. , Fathy, and A. S. Dhmees, "Polyvinyl alcohol/gelatin irradiated blends filled by lignin as green filler for antimicrobial packaging materials," *Int J Environ Anal Chem*, vol. 100, no. 14, pp. 1578–1602, Nov. 2020, doi: 10.1080/03067319.2019.1657108.
- [115] S. He, L. Jiang, J. Liu, J. Zhang, and W. Shao, "Electrospun PVA/gelatin based nanofiber membranes with synergistic antibacterial performance," *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, vol. 637, p. 128196, 2022.
- [116] M. Akhlaq *et al.*, "Methotrexate-loaded gelatin and polyvinyl alcohol (Gel/PVA) hydrogel as a pH-sensitive matrix," *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 14, p. 2300, 2021, doi: 10.3390/polym13142300.
- [117] C. , Keçeciler-Emir, Y. , Başaran-Elalmiş, Y. M. , Şahin, E. , Buluş, and S. Yücel, "Fabrication and characterization of chlorhexidine gluconate loaded poly (vinyl alcohol)/45S5 nano-bioactive glass nanofibrous membrane for guided tissue," *Biopolymers*, vol. 114, no. 10, p. e23562, Oct. 2023, doi: 10.1002/bip.23562.
- [118] K. Schuhladen *et al.*, "Production of a novel poly (ϵ -caprolactone)-methylcellulose electrospun wound dressing by incorporating

- bioactive glass and Manuka honey,” *Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 109, no. 2, pp. 180–192, Feb. 2021, doi: 10.1002/jbm.b.34690.
- [119] M. Naznin, M. Zainul Abedin, Y. Chen, S. Fakirov, and J. I. Velasco, “Effect of Sugar, Urea, and Molasses and the Influence of Radiation on the Plasticization of Acacia catechu Extract Incorporated Starch/Poly-(Vinyl Alcohol),” *Int Sch Res Notices*, vol. 2013, pp. 1–10, Jun. 2013, doi: 10.1155/2013/593862.
- [120] A. , Celebioglu, Z. I. , Yildiz, and T. Uyar, “Electrospun crosslinked poly-cyclodextrin nanofibers: Highly efficient molecular filtration thru host-guest inclusion complexation,” *Sci Rep*, vol. 7, no. 2, p. 7369, 2017.
- [121] F. , Kayaci, Z. , Aytac, and T. Uyar, “Surface modification of electrospun polyester nanofibers with cyclodextrin polymer for the removal of phenanthrene from aqueous solution,” *J Hazard Mater*, vol. 261, pp. 286–294, 2013.
- [122] E. , Omollo, C. , Zhang, J. I. , Mwasiagi, and S. Ncube, “Electrospinning cellulose acetate nanofibers and a study of their possible use in high-efficiency filtration,” *Journal of Industrial Textiles*, vol. 45, no. 5, pp. 716–729, Mar. 2016, doi: 10.1177/1528083714540696.
- [123] Y. , Liang, D. , Wu, and R. Fu, “Carbon microfibers with hierarchical porous structure from electrospun fiber-like natural biopolymer,” *Sci Rep*, vol. 3, no. 1, p. 1119, 2013.
- [124] O. Bozkaya, E. , Arat, Z. G. , Gök, M. , Yiğitoğlu, and I. Vargel, “Production and characterization of hybrid nanofiber wound dressing containing Centella asiatica coated silver nanoparticles by mutual electrospinning,” *Eur Polym J*, vol. 166, p. 111023, 2022.
- [125] M. A. Mohamady Hussein, O. Gunduz, A. Sahin, M. Grinholc, I. M. El-Sherbiny, and M. Megahed, “Dual Spinneret Electrospun Polyurethane/PVA-Gelatin Nanofibrous Scaffolds Containing Cinnamon Essential Oil and Nanoceria for Chronic Diabetic Wound Healing: Preparation, Physicochemical Characterization and In-Vitro

- Evaluation,” *Molecules* 2022, Vol. 27, Page 2146, vol. 27, no. 7, p. 2146, Mar. 2022, doi: 10.3390/MOLECULES27072146.
- [126] A. Štiglic, F. Güler, F. Lackner, D. Bračič, and A. Winter, “Organic acid cross-linked 3D printed cellulose nanocomposite bioscaffolds with controlled porosity, mechanical strength, and biocompatibility,” *Iscience*, vol. 25, no. 5, 2022.
- [127] U. , Siripatrawan and P. Kaewklin, “Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging,” *Food Hydrocoll*, vol. 84, pp. 125–134, 2018.
- [128] C. Wu *et al.*, “Preparation and characterization of borosilicate-bioglass-incorporated sodium alginate composite wound dressing for accelerated full-thickness skin wound healing,” *Biomedical Materials*, vol. 15, no. 5, p. 055009, 2020, doi: 10.1088/1748-605X/ab9421.
- [129] R. , Sergi, D. , Bellucci, R. , Salvatori, and V. Cannillo, “Chitosan-based bioactive glass gauze: microstructural properties, in vitro bioactivity, and biological tests,” *Materials*, vol. 13, no. 12, p. 2819, 2020, doi: 10.3390/ma13122819.
- [130] U. , Siripatrawan and P. Kaewklin, “Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging,” *Food Hydrocoll*, vol. 84, pp. 125–134, 2018.
- [131] E. M. Hussein, W. M. Desoky, M. F. , Hanafy, and O. W. Guirguis, “Effect of TiO₂ nanoparticles on the structural configurations and thermal, mechanical, and optical properties of chitosan/TiO₂ nanoparticle composites,” *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 152, p. 109983, 2021.
- [132] R. V. , Kulkarni, V. , Sreedhar, S. , Mutalik, C. M. , Setty, and B. Sa, “Interpenetrating network hydrogel membranes of sodium alginate and poly (vinyl alcohol) for controlled release of prazosin hydrochloride through skin,” *Int J Biol Macromol*, vol. 47, no. 4, pp. 520–527, 2010.

- [133] K. Muthuramalingam, S. I. Choi, C. Hyun, Y. M. Kim, and M. Cho, "B-glucan-based wet dressing for cutaneous wound healing," *Adv Wound Care (New Rochelle)*, vol. 8, no. 4, pp. 125–135, Apr. 2019, doi: 10.1089/wound.2018.0843.
- [134] T. Costa *et al.*, "Polymeric Electrospun Fibrous Dressings for Topical Co-delivery of Acyclovir and Omega-3 Fatty Acids," *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 7, Dec. 2019, doi: 10.3389/FBIOE.2019.00390/FULL.
- [135] P. , Hubner, N. R. , Marcilio, and I. C. Tessaro, "Gelatin/poly (vinyl alcohol) based hydrogel film—A potential biomaterial for wound dressing: Experimental design and optimization followed by rotatable central," *J Biomater Appl*, vol. 36, no. 3, pp. 682–700, Oct. 2021, doi: 10.1177/0885328221992260.
- [136] I. C. , Moraes, G. G. D. D. , Silva, R. A. D. , Carvalho, A. M. Q. B. , Habitante, P. V. D. A. , Bergo, and P. J. D. A. Sobral, "Influence of the degree of hydrolysis of poly (vinyl alcohol) on the physical properties of films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol) plasticized with glycerol," *Food Science and Technology*, 28, 738-745., vol. 28, pp. 738–745, 2008.
- [137] G. G. D. Silva, P. J. A. Sobral, R. A. Carvalho, P. V. A. Bergo, O. Mendieta-Taboada, and A. M. Q. B. Habitante, "Biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol): Effect of PVA type or concentration on some physical properties of films," *J Polym Environ*, vol. 16, no. 4, pp. 276–285, Oct. 2008, doi: 10.1007/S10924-008-0112-9/FIGURES/7.
- [138] Z. Torabi and A. Mohammadi, "The effects of SiO₂ nanoparticles on mechanical and physicochemical properties of potato starch films," *jchr.damghan.iau.ir*, vol. 3, no. 1, pp. 33–42, 2013.
- [139] E. M. , Hussein, W. M. , Desoky, M. F. , Hanafy, and O. W. Guirguis, "Effect of TiO₂ nanoparticles on the structural configurations and thermal, mechanical, and optical properties of chitosan/TiO₂ nanoparticle composites," *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 152, p. 109983, 2021.

- [140] S. Chen *et al.*, “Novel poly (vinyl alcohol)/chitosan/modified graphene oxide biocomposite for wound dressing application,” *Macromol Biosci*, vol. 20, no. 3, p. 1900385, Mar. 2020, doi: 10.1002/mabi.201900385.
- [141] B. , Singh, S. , Sharma, and A. Dhiman, “Design of antibiotic containing hydrogel wound dressings: biomedical properties and histological study of wound healing,” *Int J Pharm*, vol. 457, no. 1, pp. 82–91, 2013.
- [142] R. , Sergi, V. , Cannillo, A. R. , Boccaccini, and L. Liverani, “A new generation of electrospun fibers containing bioactive glass particles for wound healing,” *Materials*, vol. 13, no. 24, pp. 1–14, Dec. 2020, doi: 10.3390/ma13245651.
- [143] H. Yu, J. Peng, Y. Xu, J. Chang, & H. L.-A. applied materials, and undefined 2016, “Bioglass activated skin tissue engineering constructs for wound healing,” *ACS Publications*, vol. 8, no. 1, pp. 703–715, Jan. 2015, doi: 10.1021/acsami.5b09853.
- [144] E. , Shoba, R. , Lakra, M. S. , Kiran, and P. S. Korrapati, “Design and development of papain–urea loaded PVA nanofibers for wound debridement,” *RSC Advances* , vol. 4, no. 104, pp. 60209–60215, 2014, doi: 10.1039/x0xx00000x.
- [145] S. K. Ghorai, T. Roy, S. Maji, P. G. Ray, and K. Sarkar, “A judicious approach of exploiting polyurethane-urea based electrospun nanofibrous scaffold for stimulated bone tissue regeneration through functionally nobbled nanohydroxyapatite.,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 429, p. 132179, 2022.
- [146] X. Liu, Y. Niu, K. C. Chen, and S. Chen, “Rapid hemostatic and mild polyurethane-urea foam wound dressing for promoting wound healing,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 71, pp. 289–297, Feb. 2017, doi: 10.1016/J.MSEC.2016.10.019.
- [147] M. Z. Y. , Deveci, C. T. , Işler, and Ö. Kırgız, “Investigation of wound healing by infrared thermography in a full-thickness skin wound model in rats,” *Journal of Applied Biological Sciences*, vol. 16, no. 3, pp. 493–502, 2022, doi: 10.5281/zenodo.7114213.

- [148] T. , Zhou, B. , Sui, X. , Mo, and J. Sun, “Multifunctional and biomimetic fish collagen/bioactive glass nanofibers: Fabrication, antibacterial activity and inducing skin regeneration in vitro and in vivo,” *Int J Nanomedicine*, pp. 3495–3507, 2017.
- [149] M. Kemal Üniv, V. Fak, A. Uyar, T. Akyol, T. Yaman, and Ö. Faruk KELEŞ, “Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Yara Modelinde Civanperçemi (*Achillea millefolium*) Bitkisinin Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması,” *Van Veterinary Journal*, vol. 28, no. 3, pp. 157–163, Dec. 2017.
- [150] R. , Naomi, H. , Bahari, P. M. , Ridzuan, and F. Othman, “Natural-based biomaterial for skin wound healing (Gelatin vs. collagen): Expert review,” *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 14, p. 2319, 2021, doi: 10.3390/polym13142319.
- [151] S. S. Sharaf, A. M. El-Shafei, R. Refaie, A. A. Gibriel, and R. Abdel-Sattar, “Antibacterial and wound healing properties of cellulose acetate electrospun nanofibers loaded with bioactive glass nanoparticles; in-vivo study,” *Cellulose*, vol. 29, no. 8, pp. 4565–4577, May 2022, doi: 10.1007/S10570-022-04570-1.
- [152] E. , Berardesca and N. Cameli, “Non-invasive assessment of urea efficacy: A review,” *Int J Clin Pract*, vol. 74, no. S187, p. 13603, Dec. 2020, doi: 10.1111/ijcp.13603.
- [153] I. Hagemann and E. Proksch, “Topical treatment by urea reduces epidermal hyperproliferation and induces differentiation in psoriasis,” *Acta Derm Venereol*, vol. 76, no. 5, pp. 353–356, 1996, doi: 10.2340/0001555576353356.
- [154] S. J. , Choi, J. H. , Lee, Y. H. , Lee, D. Y. , Hwang, and H. D. Kim, “Synthesis and properties of polyurethane-urea-based liquid bandage materials,” *J Appl Polym Sci*, vol. 121, no. 6, pp. 3516–3524, Sep. 2011, doi: 10.1002/app.34135.
- [155] E. van der Pol, Y. D. Mudde, F. A. W. Coumans, T. G. van Leeuwen, A. Sturk, and R. Nieuwland, “Wound scabs protect regenerating tissue against harmful ultraviolet radiation,” *Med Hypotheses*, vol. 96, pp. 39–41, Nov. 2016, doi: 10.1016/J.MEHY.2016.09.011.

- [156] A. Marini, J. Krutmann, and S. Grether-Beck, "Urea and skin: A well-known molecule revisited," *Treatment of Dry Skin Syndrome: The Art and Science of Moisturizers*, vol. 9783642276064, pp. 493–501, Dec. 2012, doi: 10.1007/978-3-642-27606-4_34.
- [157] N. X. Landén, D. Li, and M. Ståhle, "Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing," *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 73, no. 20, pp. 3861–3885, Oct. 2016, doi: 10.1007/S00018-016-2268-0.
- [158] Z. C. Wang *et al.*, "The Roles of Inflammation in Keloid and Hypertrophic Scars," *Front Immunol*, vol. 11, Dec. 2020, doi: 10.3389/FIMMU.2020.603187/FULL.
- [159] V. Kumar, A. Abbas, and J. Aster, *Robbins basic pathology e-book*, 10th ed. 2017.
- [160] T. , Mehrabi, A. S. , Mesgar, and Z. Mohammadi, "Bioactive glasses: a promising therapeutic ion release strategy for enhancing wound healing," *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 6, no. 10, pp. 5399–5430, Oct. 2020, doi: 10.1021/acsbiomaterials.0c00528.
- [161] L. , Sun, L. , Li, Y. , Wang, M. , Li, S. , Xu, and C. Zhang, "A collagen-based bi-layered composite dressing for accelerated wound healing," *J Tissue Viability*, vol. 31, no. 1, pp. 180–189, 2022.
- [162] Y. Wang *et al.*, "A Biomimetic Composite Bilayer Dressing Composed of Alginate and Fibroin for Enhancing Full-Thickness Wound Healing," *Macromol Biosci*, vol. 22, no. 4, Apr. 2022, doi: 10.1002/mabi.202100352.
- [163] A. Özarslan and S. Yücel, "Comprehensive assessment of SrO and CuO co-incorporated 50S6P amorphous silicate bioactive glasses in vitro: Revealing bioactivity properties of bone," *Ceram Int*, vol. 49, no. 9, pp. 13940-13952., 2023.
- [164] K. E. Öksüz, B. Kurt, Z. D. Şahin İnan, and C. Hepokur, "Novel Bioactive Glass/Graphene Oxide-Coated Surgical Sutures for Soft Tissue Regeneration," *ACS Omega*, vol. 8, no. 24, pp. 21628–21641, Jun. 2023, doi: 10.1021/ACSOMEGA.3C00978/SUPPL_FILE/AO3C00978_SI_001.AVI.

- [165] M. Olson, E. Slider, W. G. Clark, and R. Macdonald, "Effect of Urea in Sulfonamide Base on Healing of Clean Skin Wounds in Rabbits," *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, vol. 49, no. 3, pp. 396–399, 1942, doi: 10.3181/00379727-49-13577.
- [166] A. Jain, K. Thakur, P. Kush, and U. K. Jain, "Docetaxel loaded chitosan nanoparticles: Formulation, characterization and cytotoxicity studies," *Int J Biol Macromol*, vol. 69, pp. 546–553, Aug. 2014, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2014.06.029.
- [167] L. Keawchaoon and R. Yoksan, "Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles," *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 84, no. 1, pp. 163–171, May 2011, doi: 10.1016/J.COLSURFB.2010.12.031.
- [168] Y. Kamari and M. Ghiaci, "Preparation and characterization of ibuprofen/modified chitosan/TiO₂ hybrid composite as a controlled drug-delivery system," *Microporous and Mesoporous Materials*, vol. 234, pp. 361–369, Nov. 2016, doi: 10.1016/J.MICROMESO.2016.07.030.
- [169] A. O. Abioye, R. Armitage, and A. T. Kola-Mustapha, "Thermodynamic Changes Induced by Intermolecular Interaction between Ibuprofen and Chitosan: Effect on Crystal Habit, Solubility and in Vitro Release Kinetics of Ibuprofen," *Pharm Res*, vol. 33, no. 2, pp. 337–357, Feb. 2016, doi: 10.1007/S11095-015-1793-0/TABLES/5.
- [170] N. I. , Buyuk, P. P. , Arayici, S. , Derman, Z. , Mustafaeva, and S. Yucel, "Synthesis of Chitosan Nanoparticles for Controlled Release of Amiodarone.," *Indian J Pharm Sci*, vol. 82, no. 1, pp. 10-36468., 2020.
- [171] G. , Michailidou *et al.*, "Effect of poly (vinyl alcohol) on nanoencapsulation of budesonide in chitosan nanoparticles via ionic gelation and its improved bioavailability," *Polymers (Basel)*, vol. 12, no. 5, p. 1101, 2020, doi: 10.3390/polym12051101.
- [172] M. L. Laracuenta, M. H. Yu, and K. J. McHugh, "Zero-order drug delivery: State of the art and future prospects," *Journal of Controlled*

- Release*, vol. 327, pp. 834–856, Nov. 2020, doi: 10.1016/J.JCONREL.2020.09.020.
- [173] S. S. Shah, J. Wertheim, C. T. Wang, and C. G. Pitt, “Polymer-drug conjugates: manipulating drug delivery kinetics using model LCST systems,” *Journal of Controlled Release*, vol. 45, no. 1, pp. 95–101, Mar. 1997, doi: 10.1016/S0168-3659(96)01550-7.
- [174] S. S. Dukhin and M. E. Labib, “Theory of effective drug release from medical implants based on the Higuchi model and physico-chemical hydrodynamics,” *Physicochem. Eng. Aspects*, vol. 409, pp. 10–20, 2012, doi: 10.1016/j.colsurfa.2012.04.040.
- [175] E. Gronczewska, A. Defort, and J. J. Koziół, “Kinetics of Ibuprofen Release From Magnetic Nanoparticles Coated with Chitosan, Peg and Dextran,” *Pharm Chem J*, vol. 50, no. 7, pp. 491–499, Oct. 2016, doi: 10.1007/S11094-016-1475-1.
- [176] M. Hassanpour *et al.*, “Salicylic acid-loaded chitosan nanoparticles (SA/CTS NPs) for breast cancer targeting: Synthesis, characterization and controlled release kinetics,” *J Mol Struct*, vol. 1245, p. 131040, 2021.
- [177] B. R. Rizeq, N. N. Younes, K. Rasool, and G. K. Nasrallah, “Synthesis, Bioapplications, and Toxicity Evaluation of Chitosan-Based Nanoparticles,” *International Journal of Molecular Sciences* 2019, Vol. 20, Page 5776, vol. 20, no. 22, p. 5776, Nov. 2019, doi: 10.3390/IJMS20225776.
- [178] K. Abbas, M. Amin, M. A. Hussain, M. Sher, S. N. Abbas Bukhari, and K. J. Edgar, “Design, characterization and pharmaceutical/pharmacological applications of ibuprofen conjugates based on hydroxyethylcellulose,” *RSC Adv*, vol. 7, no. 80, pp. 50672–50679, Oct. 2017, doi: 10.1039/C7RA08502H.

A

EKLER

Evrak Tarih ve Sayısı: 01/02/2021-9612



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-40595970-100-9612
Konu : Prof. Dr. Sevil YÜCEL

SAYIN PROF.DR. MUHAMMED ENES ALTUĞ
ÖĞRETİM ÜYESİ

İlgi : 25/01/2021 tarihli 11257327-100-7611 sayılı yazı.

Kurulumuzun 28/01/2021 tarihli toplantısında almış olduğu 2021/01-15 numaralı karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

KARAR 2021/01-15 Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya ve Metalurji Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sevil YÜCEL'in (Biyomühendislik AD) yürütücüsü olduğu Prof. Dr. Muhammed Enes ALTUĞ (HMKÜ Cerrahi AD), Dr. Öğretim Üyesi İlke Evrim SEÇİNTİ (HMKÜ Tıbbi Patoloji AD), Arş. Gör. Ömer KIRGIZ (HMKÜ Cerrahi AD), Dr. Arş. Gör. Yeliz ELALMIŞ (Biyomühendislik AD) Arş. Gör. Ceren EMİR (Biyomühendislik AD), Arş. Gör. Cem ÖZEL (Biyomühendislik AD) ve Dilan ALTAN'ın ortak çalışmaları "*Poli(vinil alkol), Üre, Jelatin ve 45S5 Biyoaktif Cam içeren nanofiber membranların üretimi, karakterizasyonu ve yara örtüsü olarak değerlendirilmesi*" adlı proje Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına oybirliğiyle karar verilmiştir.

Prof.Dr. İlker YAVAŞ
Kurul Başkanı

Mevcut Elektronik İmzalar

İLKER YAVAŞ - Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Kurul Başkanı) - 01/02/2021
Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: BEAC669EL Pin Kodu: 79112

Kep Adresi: mku@hs01.kep.tr

Belge Takip Adresi: <http://dogrula.mku.edu.tr/cn/Vision-Sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BEA566YKE>

Bilgi için: Hükümet Ardılı
Unvanı: Veri Hazırlama ve Kontrol
İşletmeni
Tel No: 3262455845



TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Makaleler

1. T. M. Temel-Soylu, C. Emir-Keçeciler, T. Rababah, , C. Özel, S. Yücel, Y. Başaran-Elalmış, D. Altan, Ö. Kırgız, i. Seçinti, U. Kaya, M. Altuğ, “Green Electrospun Poli(vinyl alcohol)/ Gelatin Based Nanofibrous Membrane by Incorporating 45S5 Bioglass nanoparticle and Urea for Wound Dressing Applications: Characterization , *In Vitro* and *In Vivo* Evaluations,” *ACS Omega*, DOI: 10.1021/acsomega.4c01102

Projeler

1. Prof. Dr. Sevil YÜCEL, “Poli(Vinil Alkol), Üre, Jelatin ve 45S5 Biyoaktif Cam İçeren Nanofiber Membranların Üretimi, Karakterizasyonu ve Yara Örtüsü Olarak Değerlendirilmesi”, FBA-2021-4219, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Genel Araştırma Projesi, 2021-2023.