

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOAKTİF YARA ÖRTÜ MALZEMESİ ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

SEÇİL KAYA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SERAP DERMAN**

İSTANBUL, 2019

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOAKTİF YARA ÖRTÜ MALZEMESİ ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Seçil KAYA tarafından hazırlanan tez çalışması 22.05.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Serap DERMAN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Özlem EĞRİ
Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Serap DERMAN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Murat TOPUZOĞULLARI
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Sezen Canım ATEŞ
Yeni Yüzyıl Üniversitesi



Bu tez çalışması, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün FYL-2019-3566 numaralı projesi ile ve TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı tarafından 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimimde bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Serap DERMAN'a,

Bilimsel çalışma alanımı belirlememdeki en büyük role sahip olan değerli Eş Danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Özlem EĞRİ'ye,

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarının gerçekleştirilmesi ve yorumlanması konusunda desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Tülin ARASOĞLU'na ve doktora öğrencisi İlkgül AKMAYAN'a,

Bütün destekleri için INOVENSO ekibine,

Derman'S LAB Araştırma Grubu'na,

Caner CEBECİ'ye teşekkür ederim.

FYL-2019-3566 nolu proje kapsamındaki desteklerinden dolayı Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne,

2210 C Öncelikli Alanlara Yönelik Yüksek Lisans Burs Programı kapsamındaki desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Mayıs, 2019

Seçil KAYA

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	3
1.3 Hipotez	3
BÖLÜM 2.....	4
YARA İYİLEŞMESİ VE YARA ÖRTÜLERİ	4
2.1 Yara İyileşmesi.....	4
2.1.1 Yara Türleri.....	5
2.1.1.1 Diyabetik Yaralar	6
2.1.1.2 Bası Yaraları	6
2.1.1.3 Venöz Ülserler	7
2.1.1.4 Arterial Ülserler.....	7
2.1.1.5 Yanıklar.....	7
2.1.1.6 Cerrahi Yaralar.....	8

2.1.2	Yara İyileşme Evreleri.....	8
2.1.2.1	Pıhtılaşma Evresi	10
2.1.2.2	Yangı Evresi.....	10
2.1.2.3	Çoğalma Evresi	11
2.1.2.4	Yeniden Yapılanma Evresi	12
2.2	Yara Örtüleri	12
2.2.1	Geleneksel Yara Örtüleri	14
2.2.2	Modern Yara Örtüleri.....	15
2.2.3	Transparan Filmler	15
2.2.4	Hidrojeliler	16
2.2.5	Hidrokolloidler	16
2.2.6	Köpük Örtüler	16
2.2.7	Aljinatlar.....	17
2.2.8	Büyüme Faktörleri	17
2.2.9	Antimikrobiyal Yara Örtüleri	18
2.2.10	Nano Lifli Yapıdaki Yara Örtüleri	19
BÖLÜM 3	22
ELEKTRO-EĞİRME YÖNTEMİ	22
3.1	Elektro-eğirme Yönteminin Tarihçesi.....	22
3.2	Çalışma Prensibi	23
3.3	İşlem Parametreleri	25
BÖLÜM 4	27
KARAKTERİZASYONDA KULLANILAN ANALİZ YÖNTEMLERİ	27
4.1	Ultraviyole-Görünür Bölge Spektrofotometresi	27
4.2	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi	29
4.3	X-Işını Kırınımı (XRD)	30
4.4	Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)	32
BÖLÜM 5	34
DENEYSEL ÇALIŞMALAR	34
5.1	Kullanılan Kimyasal Listesi.....	34
5.2	Kullanılan Cihaz Listesi	35
5.3	Kullanılan Çözeltiler.....	36

5.3.1	PLGA Çözeltilerinin Hazırlanması.....	36
5.3.2	Farklı Konsantrasyonlarda CAPE Çözeltilerinin Hazırlanması.....	37
5.3.3	PBS Çözeltisinin Hazırlanması	37
5.4	PLGA Nano Liflerin Üretilmesi.....	38
5.5	Nanofiber Yapıdaki Malzemeye CAPE Yükleneşmesi	39
5.6	Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları	39
5.6.1	SEM Analizi ile Fiber Morfolojisinin İncelenmesi.....	39
5.6.2	ATR FTIR Spektroskopisi.....	40
5.6.3	XRD Analizi	40
5.6.4	Yükleme Verimi	40
5.6.5	CAPE Salımı	41
5.6.6	Şişme	41
5.6.7	Antioksidan Etkinlik Belirleme Testi	42
5.6.8	Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	42
BÖLÜM 6	45
SONUÇ VE ÖNERİLER	45
6.1	CAPE Molekülüne Ait Kalibrasyon Eğrileri	45
6.2	PLGA Nano Liflerin Üretilmesi.....	46
6.3	Üretilen Malzemenin Karakterizasyonu	47
6.3.1	SEM Analizi ile Fiber Morfolojisinin İncelenmesi.....	47
6.3.2	ATR FTIR Spektroskopisi.....	51
6.3.3	XRD Analizi	52
6.3.4	Yükleme Verimi	53
6.3.5	CAPE Salımı	54
6.3.6	Şişme	55
6.3.7	Antioksidan Etkinlik Belirleme Testi	56
6.3.8	Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	58
6.4	Yorumlar.....	67
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	77

SİMGE LİSTESİ

θ	Theta açısı
ϵ	Epsilon
T	Geçirgenlik
A	Absorbans
P	Işın şiddeti
D ₂	Döteryum lamba
Å	Angstrom ölçü birimi
°C	Celcius sıcaklık birimi
λ	Dalga boyu
R ²	Regresyon katsayısı

KISALTMA LİSTESİ

ATR	Zayıflatılmış Toplam Yansıma
CAPE	Kafeik Asit Fenetil Ester
CFU	Koloni Oluşturan Birim Sayısı
Da	Dalton
DCM	Diklorometan
DMF	Dimetilformamid
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
Ma	Moleküler Ağırlık
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
mM	Milimolar
NaOH	Sodyum Hidroksit
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PDGF	Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PEO	Poli(etilen oksit)
PLGA	Poli(Laktik-ko-glikolik asit)
PVP	Poli(vinil pirolidon)
SDA	Sabouraud Dekstrose Agar
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
TGF	Transdermal Büyüme Faktörü
UV	Ultraviyole
XRD	X-Işını Kırınımı
VEGF	Vasküler Endotel Büyüme Faktörü

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	Deri yapısının şematik olarak gösterimi [13] 5
Şekil 2.2	Yara iyileşme evreleri [25]..... 9
Şekil 2.3	CAPE'nin molekül şekli 19
Şekil 2.4	PLGA'nın molekül şekli 20
Şekil 3.1	Elektro-eğirme hakkındaki akademik çalışma sayısının yıllara göre dağılımı 23
Şekil 3.2	Elektro-eğirme düzeneğinin şematik olarak gösterimi 24
Şekil 4.1	Dalga boylarının şematik gösterimi [68] 27
Şekil 4.2	Kalınlığı b olan bir örnek kabına gönderilen P_0 şiddetindeki bir ışının örnek tarafından absorplanarak P şiddetinde örnekten çıkması 28
Şekil 4.3	UV-Görünür Bölge Spektrofotometresinin çalışma prensibinin şematik gösterimi [70] 29
Şekil 4.4	Kızılötesi bölgenin şematik gösterimi 29
Şekil 4.5	X-ışınımı kırınımının şematik olarak gösterimi 31
Şekil 4.6	SEM cihazının çalışma prensibinin şematik gösterimi [79] 33
Şekil 5.1	Bu çalışmada elektro-eğirme işlemleri için kullanılan düzenek 38
Şekil 6.1	CAPE-Su Çözeltilerine Ait Kalibrasyon Eğrisi 46
Şekil 6.2	CAPE-Etanol Çözeltilerine Ait Kalibrasyon Eğrisi..... 46
Şekil 6.3	a) PLGA 1 ve b) PLGA 2 ile üretilen fiberlerin 500x büyütmede SEM görüntüleri 47
Şekil 6.4	a) PLGA 1 ve b) PLGA 2 ile üretilen fiberlerin 2000x büyütmede SEM görüntüleri 47
Şekil 6.5	a) PLGA 1 ve b) PLGA 2 ile üretilen fiberlerin 5000x büyütmede SEM görüntüleri 48
Şekil 6.6	a) PLGA 1 ve b) PLGA 2 ile üretilen fiberlerin 10000x büyütmede SEM görüntüleri ve fiber çapları 48
Şekil 6.7	PLGA 2 ile üretilen nano kalınlıkta fiberlerden oluşan malzemenin kalınlık ölçümüne ait SEM görüntüsü ve malzeme kalınlığı..... 49
Şekil 6.8	a) Damlatma ve b) püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen fiberlerin 500x büyütmede SEM görüntüleri 50
Şekil 6.9	a) Damlatma ve b) püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen fiberlerin 2000x büyütmede SEM görüntüleri 50

Şekil 6.10	a) Damlatma ve b) püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen fiberlerin 5000x büyütmede SEM görüntüleri	50
Şekil 6.11	a) Damlatma ve b) püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen fiberlerin 10000x büyütmede SEM görüntüleri	51
Şekil 6.12	PLGA, CAPE, Damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen malzeme ve Püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen malzemeye ait ATR FTIR spektrumları	52
Şekil 6.13	a) PLGA nano lifler, b) CAPE, c) damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano lifler ve d) püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano liflere ait XRD paternleri	53
Şekil 6.14	Damlatma ve Püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen yara örtülerinin salım grafikleri.....	55
Şekil 6.15	PLGA nano liflerin zamana bağlı şişme grafiği	56
Şekil 6.16	Püskürtme ve damlatma yöntemleriyle CAPE yüklenen yara örtülerinin boş PLGA nano liflerle karşılaştırmalı olarak yüzde antioksidan aktivite grafiği	57
Şekil 6.17	<i>S. aureus</i> için zamana bağlı canlı hücre sayısı (CFU/mL) ve turbidite (OD560) grafikleri	60
Şekil 6.18	<i>P. aeruginosa</i> için zamana bağlı canlı hücre sayısı (CFU/mL) ve turbidite (OD560) grafikleri.....	61
Şekil 6.19	<i>C. albicans</i> için zamana bağlı canlı hücre sayısı (CFU/mL) ve turbidite (OD560) grafikleri.....	62
Şekil 6.20	CAPE yüklü yara örtü malzemesinin mikroorganizma bazında zamana bağlı büyüme inhibisyonu grafiği.....	62

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1	Yara iyileşmesinde rol alan hücre tipleri ve görevleri 9
Çizelge 3.1	Elektro-eğirilmiş fiberlerin özelliklerini etkileyen parametreler 25
Çizelge 5.1	Kimyasal listesi 34
Çizelge 5.2	Cihaz Listesi 35
Çizelge 5.3	PBS çözeltisindeki kimyasal miktarları 37
Çizelge 5.4	Elektro-eğirme işlemlerinde belirlenen parametreler 39
Çizelge 6.1	Disk difüzyon metodu ile elde edilen sonuçlara ait petri görüntüleri 58
Çizelge 6.2	<i>S. aureus</i> ile yapılan zamana bağlı ölüm metodunda standart petri sayımında kullanılan petrilere ait görüntüler ve seyreltme faktörleri 64
Çizelge 6.3	<i>P. aeruginosa</i> ile yapılan zamana bağlı ölüm metodunda standart petri sayımında kullanılan petrilere ait görüntüler ve seyreltme faktörleri 65
Çizelge 6.4	<i>C. albicans</i> ile yapılan zamana bağlı ölüm metodunda standart petri sayımında kullanılan petrilere ait görüntüler ve seyreltme faktörleri 66

Biyoaktif Yara Örtü Malzemesi Üretimi ve Karakterizasyonu

Seçil KAYA

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Serap DERMAN

Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Özlem EĞRİ

Yara iyileşmesi; kanama, yangı, proliferasyon (çoğalma) ve dokunun yeniden yapılanması olmak üzere temelde dört fazdan oluşan kompleks bir süreçtir. Yara bakımı ile ilgili yapılan tüm tıbbi müdahaleler ve üretilen yara örtü malzemelerinin amacı bu evrelerin sırasıyla ve doğal süresinde gerçekleşmesine yardımcı olmaktır. Yara örtü malzemelerinin üretiminde kullanılan yöntemlerden biri olan elektro-eğirme, nano kalınlıkta liflerden oluşan malzemelerin üretilmesine olanak veren, geniş kullanım alanına sahip avantajlı bir yöntemdir.

Bu tez çalışmasında, Poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit) polimeri ile elektro-eğirme yöntemi kullanılarak nano kalınlıkta fiberlerden oluşan bir yara örtü malzemesi üretilmiştir. Üretilen PLGA nano liflere damlatma ve püskürtme yöntemleriyle Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) molekülü yüklenmiştir. CAPE yüklenen yara örtülerinin CAPE içermeyen malzemeyle karşılaştırmalı olarak FTIR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiş ve CAPE yüklü yara örtü malzemelerine ait spektrumlarında CAPE ile benzer şekilde titreşim bantları gözlenmiştir. Yapılan XRD analizinde ise, CAPE yüklü PLGA nano liflerin XRD grafiklerinde CAPE'ye benzer kristalin yapılar ve PLGA'ya ait amorf yapılar birlikte gözlenmiştir. PLGA nano liflerin kalitesinin, çapının ve malzeme kalınlığının belirlenmesi için SEM görüntüleri alınmıştır. İncelenen SEM görüntülerinde fiber çapı 310-410 nm, malzeme kalınlığı ise 100.6 µm olarak ölçülmüştür. CAPE yüklenen malzemelerin etken

madde salım profillerinin incelenmesi için PBS ortamında salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. PLGA nano liflere yüklenen CAPE'nin 7 gün boyunca kontrollü salımı sonucunda püskürtme yönteminde toplam %90'ının, damlatma yönteminde ise %77'sinin salındığı belirlenmiştir. PLGA nano liflerin PBS ortamında sıvı absorplama yetenekleri değerlendirilerek %600 oranında şişme gösterdiği gözlenmiştir. CAPE yüklü yara örtü malzemelerinin DPPH yöntemi kullanılarak test edilen antioksidan aktiviteleri %86.2 (püskürtme yönteminde) ve %85.7 (damlatma yönteminde) olarak tespit edilmiştir. CAPE yüklü yara örtü malzemelerinin antimikrobiyal özellikleri disk difüzyon testi ve zamana bağlı ölüm metodu ile *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* suşları üzerinde değerlendirilmiştir. Zamana bağlı ölüm metodu çalışmasında CAPE yüklü PLGA nano lifler 4. saatte *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerinde %100 büyüme inhibisyonu etkisi göstermiştir. *C. albicans* türü üzerinde ise zamanla artan bir büyüme inhibisyonu etkisi gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yara örtüsü, elektro-eğirme, Poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit), Kafeik Asit Fenetil Ester, antimikrobiyal aktivite



Production and Characterization of Bioactive Wound Dressing Material

Seçil KAYA

Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Assoc. Prof. Dr. Serap DERMAN

Co-Adviser: Asst. Prof. Dr. Özlem EĞRİ

Wound healing is a complex process consisting essentially of four phases: hemostasis, inflammation, proliferation and remodeling. All medical interventions related to wound care and the purpose of the materials produced are to help these phases take place in order and in their natural time, respectively. Electrospinning, which is one of the methods used in the production of wound dressings, is an advantageous method with its wide usage area, which enables the production of materials consisting of nano-thickness fibers.

In this thesis, a dressing material consisting of nanoscale fibers was produced by electrospinning using Poly (D, L-lactic-co-glycolic acid). Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) molecule has been loaded into the produced PLGA nanofibers by dropping and spraying methods. FTIR spectroscopy analysis of CAPE-loaded wound dressings compared to CAPE-free material was performed, and similar bands of CAPE-loaded wound dressing materials were observed with CAPE. In XRD analysis, crystalline structures similar to CAPE and amorphous structures of PLGA were observed together in XRD graphs of PLGA nanofibers with CAPE. SEM images were taken to determine the fiber quality, fiber diameter and material thickness. In the SEM images examined, the fiber diameter was 310-410 nm and the material thickness was 100.6 μm . As a result of controlled release of CAPE loaded into PLGA nanofiber fibers for 7 days, it was determined that 90% in the spraying method and 77% in the dropping method were

released. It was observed that PLGA nano fibers were swollen at 600% by evaluating their liquid absorption ability in PBS medium. The antioxidant activity of CAPE loaded wound dressing materials using DPPH method was determined as 86.2% (in spraying method) and 85.7% (in dropping method). The antimicrobial properties of CAPE-loaded wound dressing materials were evaluated on the *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* strains by disk diffusion test and time-kill method. In the time-kill study, CAPE-loaded PLGA nanofibers showed 100% growth inhibition effect on *S. aureus* and *P. aeruginosa* strains at 4 h. They showed time dependent increased growth inhibition effect on *C. albicans* strain.

Keywords: Wound dressing, electrospinning, Poly(D,L-lactic-co-glycolic acid), Caffeic Acid Phenethyl Ester, antimicrobial activity



1.1 Literatür Özeti

Yara; mekanik, termal, elektriksel ve kimyasal zedelenmeler ya da tıbbi veya fizyolojik rahatsızlıkların altında yatan nedenler sonucu deri veya doku bütünlüğünün bozulması olarak tanımlanabilir [1]. Yaralar cerrahi işlemlerden sonra da oluşabilmekte ve organ veya dokuda fonksiyon kaybına neden olabilmektedir [2].

Yara iyileşme süreci; pıhtılaşma, yangı, proliferasyon (çoğalma) ve dokunun yeniden yapılanması olmak üzere temelde dört fazdan oluşmaktadır. Bu fazların doğru sıralamada, doğru zamanda ve belirli bir zaman aralığında devam etmesi yara iyileşme sürecinin işleyişi açısından oldukça önemlidir [3], [4]. Yaranın mikroorganizmaların girişine ve çoğalmasına açık olması yara iyileşme sürecini olumsuz etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Mikroorganizma üremesini engellemek amacıyla antimikrobiyal etkisi yüzyıllardır bilinen gümüş türevleri (metalik gümüş, gümüş tuzları vd.) ve balın yanı sıra bitkisel yağların da kullanıldığı bilinmektedir [5]. Antimikrobiyal ajanlar ve hücre göçünü destekleyici maddeler yara iyileşmesinde etkili olmakla birlikte yara yüzeyinde uzun süre etkisini devam ettirememektedir. Buna ek olarak gümüş sülfadiazin gibi bazı antimikrobiyal ajanlar sağlıklı deri ve kan hücrelerine de zarar verebilmektedir. Bandajlar, sargı bezleri ve pamuk örtüler gibi geleneksel yara örtüleri yalnızca yarayı koruma işlevini yerine getirdiklerinden etkili bir iyileşme süreci sağlamakta yetersiz kalmaktadır [6].

Geleneksel yara tedavisindeki eksikliklerin kapatılması ve yeni özelliklerin eklenmesiyle günümüzde modern yara örtüleri geliştirilmiştir. Uygulanacak olan malzeme yaranın türüne, derinliğine, evresine; hastanın yaşına ve tıbbi geçmişine bağlı olmakla birlikte

genel anlamda iyi bir yara örtüsünden beklenen özellikler şunlardır: Yarayı kapatarak soğuk, sıcak, nem gibi dış etkenlere karşı korumalı, oksijen ve su buharı geçişine izin vermeli fakat dış ortamdaki mikroorganizma girişini engellemeli, eksudayı (yara sıvısı) absorplamalı, aynı zamanda yarayı nemli tutmalı, bakteri hücrelerini yok etmeli ve çoğalmasını durdurmalı, hücre göçüne ve çoğalmasına uygun ortam sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırmalı, kullanım sırasında immünolojik yanıt ve fibröz kapsül oluşturmayacak kadar biyoyumlu olmalı, yara iyileşme süreciyle beraber yerini sağlıklı dokuya bırakarak bozunmalı, bozunma sonucu oluşan yan ürünleri toksik veya alerjenik olmamalı, yara dokusunun kimyasal ortamına dayanıklı olmalı, uygulanma ve değişim sırasında yarada ve etrafındaki sağlıklı hücrelerde travmaya sebep olmamalı, ekstraselüler matriksin (ECM) fiberli yapısına benzer özellikler göstermeli, mekanik dayanımı ve esnekliği sağlıklı deriye uygun olmalı, skar doku oluşumunu azaltmalı/engellemelidir [7], [8].

GIA'nın (Global Industry Analysts, Inc.) yapmış olduğu araştırmaya göre; küresel ölçekte yara bakımı ürünleri pazarının 2014 yılında 7.53 milyar dolar olduğu ve bu rakamın 2020 yılına kadar % 4.5'lik bir büyüme ile 10.16 milyar dolara ulaşacağı öngörülmektedir [9]. Yara bakım ürünlerinin ekonomik ve ulaşılabilir olması kolay ve ucuz üretim yöntemlerinin kullanılmasıyla mümkündür. Elektro-eğirme tekniği geniş bir kullanım alanı olan, kolay ve hızlı üretim sağlayan oldukça avantajlı bir yöntemdir. Elektro-eğirme ile ECM'nin yapısını taklit edebilecek fiberli yapıda gözenekli membranlar üretilmektedir [10], [11]. Membran üretilmesi için gereken düzenek yüksek voltaj kaynağı, pompalı besleme ünitesi, cam bir kabin ve kolektörden (toplayıcı) oluşmaktadır. Eriyik ya da çözelti halindeki polimer çözeltisi lastiksiz bir şırınga içerisinde besleme ünitesine yerleştirilir ve 10-50 kV voltajın etkisiyle nano ve ya mikro kalınlıkta fiberler halinde kolektörde toplanır. Aynı düzenekte polimer çözeltisinin içine aktif maddeler katılarak biyoaktif özellik kazandırılmaktadır. Basit elektro-eğirme prosesine ek bir besleme ünitesi koyularak karşılıklı iki polimer çözeltisinin aynı kolektörde toplanması mümkün olmaktadır [11], [12].

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında Poli(Laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) ile elektro-eğirme işlemi sonucunda nano kalınlıkta liflerden oluşan bir yara örtü malzemesinin üretilmesi ve üretilen malzemeye CAPE molekülleri yüklenerek antioksidan, antibakteriyel ve antifungal özellik kazandırılması amaçlanmıştır. İki farklı emdirme yöntemi olan damlatma ve püskürtme ile CAPE yüklenen yara örtü malzemelerinin FTIR spektrumundaki IR titreşim bantlarının şiddeti, XRD analizi, etken madde yükleme verimi ve CAPE salımı açısından farklılıkları incelenmiştir. Bu çalışma ile birlikte; literatürde ilk kez PLGA nano liflere CAPE yüklenmiştir ve ilk kez CAPE yüklü PLGA nano liflerin antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir.

1.3 Hipotez

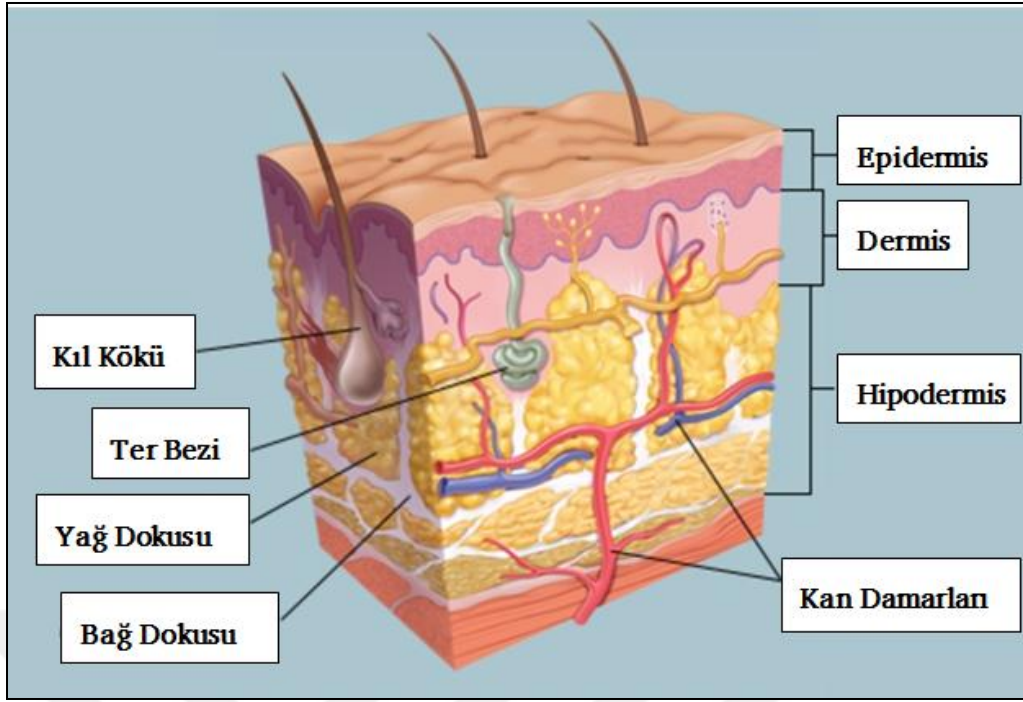
PLGA ile üretilen ve nano kalınlıkta liflerden oluşan malzemeye literatürde antimikrobiyal, antifungal, antioksidan ve yara iyileşmesine yardımcı özellikleri bilinen CAPE molekülleri yüklenmiştir. Yükleme işlemi püskürtme ve damlatma olmak üzere iki farklı emdirme yöntemiyle yapılmıştır. CAPE, polimer çözeltisine katılmayıp sonradan emdirme ile yüklendiği için hızlı bir salım göstermesi, antimikrobiyal özelliğinin yüksek olması ve potansiyel bir yara örtü malzemesinden istenen özellikleri karşılaması beklenmektedir.

YARA İYİLEŞMESİ VE YARA ÖRTÜLERİ

2.1 Yara İyileşmesi

Yara iyileşme süreci iç içe geçmiş bir dizi aşamadan oluşan karmaşık bir süreçtir. Yara iyileşmesinin anlaşılması için öncelikle vücudumuzdaki en büyük yapı olan derinin ve iyileşme sürecini tetikleyen yara oluşumunun incelenmesi gerekmektedir.

Deri omurgalı canlılarda vücudun dış kısmını kaplayan ve epitel hücrelerden oluşan yumuşak bir dokudur. Derinin koruma, düzenleme ve duyu oluşumunu sağlama olmak üzere üç temel görevi vardır. Sıcaklık, basınç, radyasyon gibi tüm dış faktörlere karşı vücudu koruyan deri, aynı zamanda iç organların güvenli bir şekilde fonksiyonlarını yerine getirmesi için uygun ortamı oluşturmaktadır. Vücut içi dengeyi sabit tutarak dışarıdan gelen uyarıların organların işleyişini bozmasını engellemektedir. Deri, beş duyudan biri olan dokunma duyusunun oluşmasını sağlayan bir yapıdır. Dokunma duyusu tüm omurgalı canlıların hayatta kalma ve yaşadıkları çevreyi tanımlamaları açısından çok önemli bir özelliktir [13], [14].



Şekil 2.1 Deri yapısının şematik olarak gösterimi [13]

Şekil 2.1’de görüldüğü gibi deri; epidermis, dermis ve hipodermis adı verilen tabakalardan oluşmaktadır. Epidermis derinin en dış kısmıdır ve iç tabakaları koruyan su geçirmez bir bariyerdir. Deriye rengini veren melatonin pigmentini üreten melanosit hücreleri epidermiste bulunmaktadır. Dermis tabakası; epidermisin altında bulunmaktadır ve bağ dokusu, ter bezleri ve kıl köklerini içermektedir. Hipodermis ise deri altı dokusu olarak da bilinmektedir. Deri altı tabakasında bağ doku hücrelerinin yanı sıra yağ dokusu da bulunmaktadır. Hipodermis, içerdiği yağ dokusuyla ısı izolasyonunu sağlarken aynı zamanda iç organlar için yumuşak bir koruyucu görevi üstlenmektedir [13], [14].

2.1.1 Yara Türleri

Yara; dışarıdan bir etki sonucu veya vücuttaki bir hastalık sebebiyle deri ve doku bütünlüğünün bozulması durumudur. Yaralar fiziksel ya da kimyasal bir etmenin deriye zarar vermesi sonucu oluşabildiği gibi vücuttaki bir bozukluk sebebiyle de meydana gelebilmektedir [15]. Akut yaralar; kendiliğinden iz bırakmadan iyileşen, genelde basit bir pansuman tedavisi gerektiren ve günlük hayatta çok sık karşılaşılan yaralardır. Kronik yaralar ise; kendiliğinden iyileşmesi mümkün olmayan, kalıcı hasarlar bırakan, yara izi denilen skar doku oluşumuna sebep olan ve canlı yaşamını ciddi derecede etkileyen yara

türleridir. Kronik yaralar uygun bir tedavi yöntemiyle iyileştirilse bile zaman içerisinde yara oluşumuna sebep olan etmenlerin devam etmesi durumunda yeniden oluşabilmektedir. Genellikle 6-8 hafta boyunca iyileşmeyen yaralar kronik yara sınıfında incelenmektedir. Klinik vakalarda en çok rastlanan kronik yaralar; diyabetik ülserler, bası yaraları, venöz ülserler, arterial ülserler ve ileri derece yanıklardır [16].

2.1.1.1 Diyabetik Yaralar

Dünya’da her geçen yıl artan diyabet hastalarının sayısına bağlı olarak diyabet yaraları da önemli bir sağlık sorunu haline gelmektedir. Diyabet tek başına yara oluşumuna sebep olmasa da oluşan bir yaranın kronik hale gelmesinde en etkili sebeplerden biridir. Diyabet hastalarının yarısından fazlasında periferik nöropati denilen sinirlerin hasar görmesi durumu gerçekleşmektedir. Periferik nöropati, cildin tahribatını artırarak hastanın mikropalara karşı savunmasız hale gelmesine sebep olmaktadır. Enfeksiyon riski yükselen hastada önemsiz görülebilecek bir yara, hastaya bacağına kaybettirecek hatta hastanın ölümüyle sonuçlanabilecek kadar ciddi bir hal alabilmektedir. Kan şekerinin anormal seviyede olması, kan hücrelerinin yara bölgesine ulaşmasını yavaşlatmaktadır. Bunun sebebi de periferik nöropati sonucunda sinyal iletim yollarının hasar görmesi ve bunun sonucunda hücre göçünü tetikleyen sinyallerin kan hücrelerine geç ulaşmasıdır. Diyabet yaralarının tedavisinde etkili bir yara bakım ürününün kullanılmasının yanı sıra kan şekerinin de dengelenmesi oldukça önemlidir [16], [17].

2.1.1.2 Bası Yaraları

Bası yaraları vücudun belli bir bölgesinin sürekli olarak ağırlığa maruz kalmasıyla meydana gelmektedir. Yatarak tedavi gören hastalarda yatak yarası adıyla bilinen ve hastaların uzun süre aynı pozisyonda kalmaları sonucu oluşan yaralar da bası yaraları olarak bilinmektedir. Basınca maruz kalan dokuda kan akışı yavaşlamakta bu da doku ölümüne sebep olmaktadır. Oluşan yaraya hücre göçünün yavaş gerçekleşmesi de yaranın derinliğini zamanla arttırmakta ve ciddi bir sağlık sorununa dönüşmektedir. Bası yaraları, basınca sebep olan etmen ortadan kaldırıldığında genellikle iyileşmeye başlamaktadır. Bazı bası yaraları erken müdahale edilmediğinden basınç ortadan kaldırılrsa bile etkili bir tedavi yöntemi gerektirmektedir. Bu tür bası yaralarının hücre

göçünü hızlandıran, doku yenilenmesine katkıda bulunan yara bakım ürünleriyle tedavi edilmesi gerekmektedir [18].

2.1.1.3 Venöz Ülserler

Venöz ülserler genellikle bacaklardaki toplardamarlarda basıncın artmasına bağlı olarak gelişmektedir. Obezite sebebiyle bacaklardaki yük oranı yüksek olduğundan toplardamarlardan kalbe kan ulaştırılan pompalama sistemi bozulmaktadır. Bunun sonucunda da epitel hücreler zayıflamakta ve yara oluşumuna açık hale gelmektedir. Venöz ülserlerin tedavisinde hastanın vücut ağırlığının düşürülmesi böylece bacaklardaki basıncın azaltılması hedeflenmektedir [19].

2.1.1.4 Arterial Ülserler

Arterial ülserler, venöz ülserlere benzemekle birlikte atar damarlarda oluşan hasar sonucu meydana gelmektedir. Arterial ülserleri, kalp ve damar hastalıklarına bağlı olarak gelişmektedir. Damarlarda hasar meydana gelmesi dokulara yeterli kan gitmemesine sebep olduğundan yara oluşumunu tetiklemektedir. Dışarıdan bir etmenle oluşan yaraya yeterli kan akışı sağlanamadığı için iyileşme süreci haftalarca sürmektedir. Arterial yaraların tedavisinde damar bütünlüğünün bozulmasına sebep olan hastalık tedavi edilmelidir. Yara bakımı için ise uygun yara örtüsü kullanılarak kombine bir tedavi ile iyileşme sürecine katkı sağlanmalıdır [20].

2.1.1.5 Yanıklar

Yanık; ısı, kimyasal, radyasyon, güneş ışını, elektrik vb etmenlerin deriye zarar vermesi olarak tanımlanmaktadır. Birinci derecede yanıklar, derinin en dış tabakası olan epidermiste gerçekleşen, hafif ağrıya ve kızarıklığa sebep olan yanıklardır. Birinci derecede yanıklarda dermis tabakası etkilenmezken, genellikle pansuman ve ilaç tedavisiyle veya kendiliğinden iyileşme gözlenmektedir. İkinci derecede yanıklarda epidermisle birlikte dermis tabakası da zarar görmektedir. İkinci derecede yanıklar uzun süreli ağrı, kızarıklık ve deride sıvı dolu kabarcıkların oluşuma sebep olmaktadır. İkinci derecedeki yanıkların tedavisinde antibiyotik içeren kremler, ağrıyı azaltmaya yardımcı ek ilaçlar ve uygun yara örtüleri kullanılmaktadır. Üçüncü derecede yanıklarda ise; doku

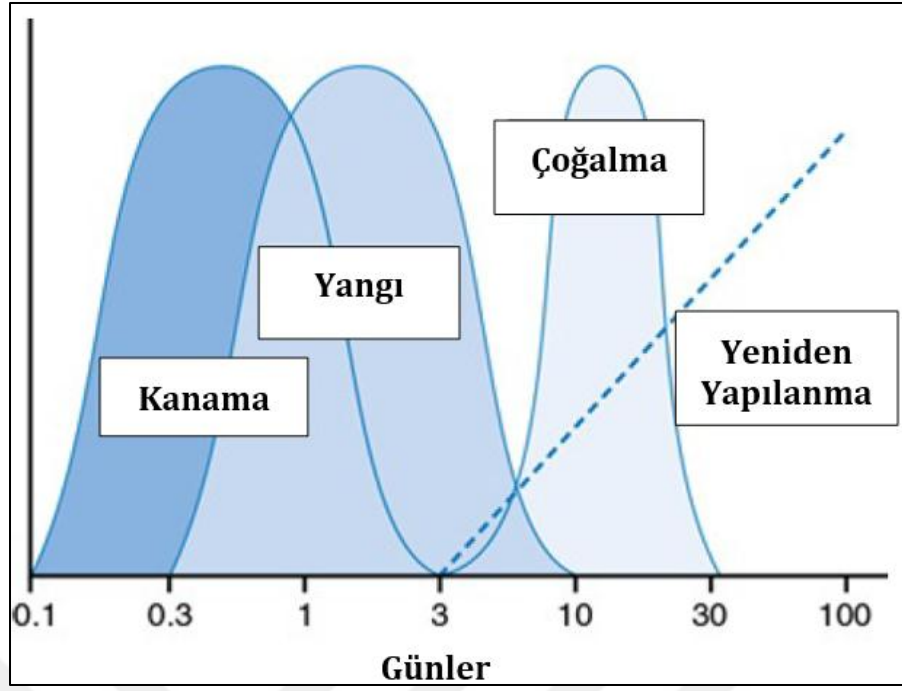
hasarı en alt tabakadaki bağ dokuya kadar ulaşmaktadır. Bu tür yanıklar, şiddetli yangı ve ağrı, yüksek enfeksiyon riski, hasta yaşamının tehlikeye girmesi gibi sonuçları da beraberinde getirmektedir. Üçüncü derece yanıklar, yaradan sızan ve eksuda adı verilen sıvıyı emebilen, antimikrobiyal özellikte yara örtüleriyle ve damar yoluyla verilen antibiyotiklerle tedavi edilmektedir. Üçüncü derece yanıklar sonucunda iyileşme süreci tamamlansa bile deride skar doku denilen ve normal deriden daha dayanıksız bir yapı kalmaktadır. Skar doku çevresel faktörlere karşı sağlıklı deri kadar dayanıklı olmadığı gibi estetik açıdan da istenmeyen bir görüntü sergilemektedir [21], [22].

2.1.1.6 Cerrahi Yaralar

Cerrahi bir işlem sonrası söz konusu bölgede kalıcı yaralar oluşabilmektedir. Cerrahi yaralar müdahale edilmediğinde veya iç organlarda olduğu için fark edilmediğinde giderek kronikleşerek tedavisi zor vakalara dönüşmektedir. Cerrahi bölgede enfeksiyon gerçekleşirse bu durum yıllar süren maliyetli bir tedavi gerektirmektedir. Cerrahi yaralarda enfeksiyon riskini azaltan en önemli faktörlerden biri ameliyat prosedürü tamamlandığında bölgenin etkili bir yara örtü malzemesiyle kapatılmasıdır. Cerrahi yarada kullanılan yara örtüsü antimikrobiyal özelliği ile ameliyat edilen bölgede enfeksiyon oluşmasını engellemelidir. Ayrıca yara örtüsü biyobozunur özellikte olursa yaranın tekrar açılıp örtünün alınmasına gerek kalmamakta böylece hasta konforu en üst düzeyde tutulmaktadır [23], [24].

2.1.2 Yara İyileşme Evreleri

Yara iyileşmesi; vücutta gerçekleşen normal süreçlerden biridir ve kanama, yangı, çoğalma ve yeniden yapılanma olmak üzere dört fazdan oluşmaktadır. Bir yaranın başarılı bir şekilde iyileşmesi bu fazların en uygun şartlarda ve sürede gerçekleşmesine bağlıdır. Yara iyileşme evreleri birbirine bağlı ve süre açısından da iç içe geçmiş şekilde devam etmektedir (Şekil 2.2). Bu evrelerden herhangi birinin normalden uzun sürmesi veya gerçekleşmemesi yaraların kronikleşmesine sebep olmaktadır. Yara bakımı ile ilgili yapılan tüm tıbbi müdahaleler ve üretilen malzemelerin amacı bu evrelerin sırasıyla ve doğal süresinde gerçekleşmesine yardımcı olmaktır [25].



Şekil 2.2 Yara iyileşme evreleri [25]

Yara iyileşmesinin tüm evreleri; trombositler, bağışıklık sistemi hücreleri, sitokinler, büyüme faktörleri, matris metaloproteinazlar ve onların inhibitörlerinin de içinde bulunduğu birçok etmen tarafından düzenlenmektedir. Çizelge 2.1’de yara iyileşme evrelerinde görev alan başlıca hücre tipleri ve görevleri özetlenmiştir [26], [27].

Çizelge 2.1 Yara iyileşmesinde rol alan hücre tipleri ve görevleri

Hücre Tipi	Görevleri
Makrofajlar	Çok sayıda lizozoma sahip tek çekirdekli hücrelerdir. İçlerindeki lizozomlarda fagositik enzimler vardır. Bu enzimlerle mikroorganizmaları ve ölü hücreleri uzaklaştırmada görev alırlar.
Monositler	Kanda gezgin halde bulunan makrofajlardır. Sitokinlerin kaynağıdır. Fibroblastların çoğalmasını ve kollajen sentezini düzenler.
Nötrofiller	Kemik iliğinde oluşturulur ve gerektiğinde hemen kana geçerler. Yabancı maddeleri ve doku artıklarını hızla temizlerler. Yaralanan bölgeye gelen ilk hücreler nötrofillerdir.

Çizelge 2.1 Yara iyileşmesinde rol alan hücre tipleri ve görevleri (devamı)

Trombositler	Kan pıhtılaşmasında görevlidir. Yangı evresinin başlaması için ilk uyarıcıdır. Sitokinlerin üretiminde görev alır [28].
Fibroblastlar	Bağ dokusunda en çok bulunan hücrelerdir. Görevi bağ dokusu liflerini ve hücrelerarası sıvıyı sentezlemektir. Bölünemezler. Yara esnasında fibrin dokunun oluşturulması için özelleşmiş fibroblastlara miyofibroblast adı verilmiştir [25], [28].
Lenfositler	Görevi tam olarak bilinmemekle birlikte sitokinlerin üretiminde görev aldığı düşünülmektedir.

2.1.2.1 Pıhtılaşma Evresi

Pıhtılaşma evresi; damar bütünlüğünün bozulması sonucu yaradan kan sızması ile başlamaktadır. Hücrelerarası yapısal bağlantıların kopması, pıhtılaşma ve damar duvarlarının daralması süreçlerini başlatmaktadır. Böylece ortamda trombosit birikmesi gerçekleşmekte ve kan kaybı azaltılmaktadır [26], [29].

Trombositler ekstraselular matrikste bulunan Selektin ve İntegrin reseptörlerine bağlandığında degranüle olarak; tromboksanlar, prostaglandinler, serotonin, fibrinojen, fibronektin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), transforme edici büyüme faktörü $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) bulunan birçok faktörü aktif hale getirmektedirler. Bu faktörler yara bölgesinin üzerinin kapatılmasında görev almakta ve diğer basamaklardaki hücrel yanıtı düzenlemektedirler [28].

2.1.2.2 Yangı Evresi

Kanama kontrol altına alındığında sıra yara yatağının temizlenmesine gelmektedir. Yangı, bağışıklık sisteminin bir cevabı olup yara enkazı denilen ölü hücrelerin ve mikroorganizmaların yok edilmesini içermektedir. Erken yangı evresinde; kan akışıyla birlikte ortama nötrofil göçü gerçekleşmektedir. Nötrofiller yara bölgesindeki yabancı maddeleri ve bakterileri proteolitik enzimler salgılayarak yok etmeye başlar. Eğer yara yüzeyi enfekte değilse bir süre sonra nötrofiller yok olur. Enfeksiyonlu yaralarda ise

iyileşme süreci boyunca nötrofil faaliyeti devam eder. Geç evrede ise; nötrofil sayısı azalırken makrofaj ve monosit sayısı artış göstermektedir. Makrofajlar yabancı cisim ve debris yani yara enkazını yok eder. Aynı zamanda makrofajlar granülasyon dokusunun oluşumunda görev alan faktörlerin salımını sağlar [25], [28].

2.1.2.3 Çoğalma Evresi

Yara iyileşmesinin üçüncü evresi olan çoğalmada; yara yüzeyi yeni epitelle kaplanmakta, damar bütünlüğü yeniden kazanılmakta ve yeni bağ dokusu ile yara onarılmaktadır. Çoğalma evresinde epitel hücreler çoğalır, kollajen sentezlenir, damarlaşıma artar ve hücrelerarası sıvı oluşumu sınırlandırılır. Yangı oluşumda artan hücrelerarası sıvının çoğalma evresinde sınırlandırılmasının sebebi bağışıklık sistemi hücrelerinin daha az üretilmeye başlanmasıdır. Yara iyileşmesinde epitelizasyon denilen epitel hücre çoğalması yaralanmadan sonraki 24-48 saat içinde başlamaktadır. 3-4 gün içerisinde ise granülasyon dokusu oluşmaktadır. Granülasyon dokusu kılcal damarlardan ve yeni oluşmuş bağ dokusundan meydana gelen ve hücreler arası sıvının yarada oluşan farklı bir formudur. Fibroblastlar ve bağışıklık sistemi hücreleri de granülasyon dokusunda mevcuttur. Damarlaşma ve bağ dokusu oluşumu, yeni hücreler arası sıvıyı oluşturmak için eş zamanlı olarak gerçekleşir. Yeni kılcal damarlar oluşturularak yaralanma sırasında kesilen damarlarla birleştirilmekte böylece yara yatağına oksijen ve besin ulaşması sağlanmaktadır. Damarlaşma, stabil bir şekilde duran endotel hücrelerinin büyüme faktörleri tarafından uyarılmasıyla başlamaktadır. Damarlaşmayı sağlayan büyüme faktörleri; yaralı endotel hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar ve keratinositler tarafından üretilmektedir. Damarlaşmada görev alan en önemli büyüme faktörü olan vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF); yeni damar oluşumunun yanı sıra kök hücreleri yara yatağına çekerek endotel hücrelerine farklılaşmalarını da sağlamaktadır [25], [28].

Çoğalma evresi tamamlanana kadar bakteriyel ve fungal enfeksiyon riski devam ettiğinden steril bir yara bakımı yapılması ve yara örtüsü kullanımı yara iyileşmesinde oldukça önemli bir gereksinimdir [25], [28].

2.1.2.4 Yeniden Yapılanma Evresi

Yara iyileşmesindeki son evre yaralanmadan yaklaşık 21 gün sonra başlayan ve 1 yıla kadar devam edebilen yeniden yapılanma evresidir. İyileşme sırasında normal kollajenden daha zayıf olan tip III kollajen oluşmaktadır. Bu evrede tip III kollajen yerini dermis dokusunda normal olarak bulunan tip I kollajene bırakmaktadır. Oluşan yeni kollajen çekme mukavemeti yüksek bir kollajendir fakat dayanıklılığı zamanla artsa bile sağlıklı dokunun ancak % 80'i kadar bir mukavemet sağlayabilir. Yapılanma sonucu oluşan yeni doku elastin liflerden yoksun olduğu için sağlıklı doku kadar esnek olmayan skar doku (yara izi) oluşmaktadır. Yeniden yapılanma evresi hücreler arası matriksin fibroblastlar tarafından düzenlenen sürekli bozulup yeniden yapıma süreçlerini içermektedir. Bu süreçler arasındaki bir dengesizlik iyileşmeyi geciktirebilmektedir [25], [26].

Yeniden yapılanma evresinde yara bölgesinin etrafındaki keranositlerin sayısında artış görülmektedir. Keranositlerin çoğalması (proliferasyonu) ve göç etmesi büyüme faktörleri aracılığıyla olur. Hücreler arasındaki desmozomların kopmasıyla epidermis ile dermis arasındaki bağlantı bozulur. Bu olay yaralanma sırasında bozulan derinin katmansal düzeninin yeniden sağlanması için gereklidir. Yeniden yapılanmanın sonlarına doğru hücreler arası matriks son halini alırken keranositler de yara yüzeyini örtmek üzere birbirlerine bağlanmaktadır. Bu evrenin sonucunda yara tamamen kapanmakta ve sağlıklı deriden dayanıklılık ve görüntü bakımından farklı olan skar doku oluşmaktadır [25], [26].

2.2 Yara Örtüleri

Her yara türü için farklı özelliklerde yara örtüsü kullanılması gerektiğinden yaranın tanınması ve yara için en uygun olan yara örtüsünün seçilmesi, yaranın en iyi ve doğru şekilde iyileşmesi yönünden önemlidir. Bir yara örtüsü yaranın türü ve durumuna göre yara iyileşmesini oluşturan koşulları en üst düzeyde sağlamalıdır [30]. Günümüze kadar yara bakımı amacıyla birçok bitkisel ve hayvansal kaynaklı madde kullanılmıştır. İçeriğinde değişik etken maddeleri barındıran ve hazır olarak üretilip kullanıma sunulan yara bakım ürünlerinin kullanımının ise son 20 yıldır artış gösterdiği bilinmektedir [2].

Yara örtüleri genel anlamda geleneksel ve modern olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Yaranın kapatılması, yaradan sızan kanın ve yara sıvısının emilmesi gibi ihtiyaçları karşılayan fakat konfor açısından eksiklikleri fark edilmiş olan malzemelere 'geleneksel yara örtüleri' denmektedir. Günümüzde yaygın bir şekilde kullanılan ve bilimdeki gelişmelerle yeni özellikler eklenmeye devam edilen malzemelere ise 'modern yara örtüleri' adı verilmektedir. Pamuk ve silikondan üretilmiş olan örtüler geleneksel örtüler sınıfında incelenmektedir. Modern yara örtüsü üretimi alanında yapılan ilk çalışma 1960' lı yıllarda yaranın nemli tutulması amacıyla yapılan yara örtüsü tasarımıdır. Bu çalışma modern yara örtülerinin üretiminin başlangıcı sayılmaktadır. Daha sonraki tarihlerde hidrokoloid, aljinat, poliüretan köpükler ve hidrojel örtüler tasarlanmıştır ve günümüzde de kullanılmaktadır [1].

Etkili bir tedavi için yara örtülerinde aranan başlıca özellikler vardır. Bu özelliklerin sağlanmasıyla hastaya daha iyi bir yaşam standardı sunulması hedeflenmiştir. Yara örtüsünde aranan özellikler yaranın çeşidine göre değişiyor olsa da genel olarak yara-yanık örtü materyallerinde istenen özellikler aşağıdaki gibidir:

- Yara iyileşmesini hızlandırmalı,
- Kan pıhtılaşmasına yardımcı olarak kanamayı durdurmalı,
- Yaraya nemli ortam sağlarken aynı zamanda oluşan fazla sıvıyı (eksudayı) absorblamalı,
- Koku oluşumunu önlemeli,
- Yara yüzeyinin sıcaklığını korumalı,
- Antimikrobiyal olmalı,
- Biyobozunurluk hızı yara iyileşme sürecine uygun olmalı,
- Oksijen değişimine izin vererek hücre göçüne ve bölünmesine yardımcı olmalı,
- Skar doku oluşumunu önlemeli,
- Kendisi ve parçalanma ürünleri immün cevabı tetikleyecek toksik maddeler içermemeli,

- Pansuman değişimi sırasında yaraya zarar vermemeli ve hastaya acı hissettirmemeli,
- Yara kenarındaki ciltte travma ve doku hasarına neden olmamalı,
- Ağrıyı azaltmalı,
- Kolay bulunan, uygulanması basit ve ekonomik açıdan uygun bir ürün olmalıdır [25], [31], [32], [33], [34], [35].

Ayrıca EWMA (Avrupa’ da Yapılan Ulusal Yara Bakımı Kongresi) yara örtüleriyle ilgili ‘TIME’ adı verilen bir iyileşme stratejisi tanımlamıştır [34]. Bu stratejiye göre bir yara örtüsünün kullanımıyla tedavi süreci şöyle gelişmektedir:

- Yaranın temizliği (Tissue management)
- Koloni oluşumunun engellenmesi ve enfeksiyonların yok edilmesi (Infection or inflammation)
- Nem dengesizliğine karşı yaranın nemlendirilmesi (Moisture imbalance)
- Epitel doku oluşumuna destek vermesi (Epithelialization support)

2.2.1 Geleneksel Yara Örtüleri

Gazlı bez, tiftik, sıva, bandaj (doğal veya sentetik) ve pamuk yünü gibi geleneksel yara pansuman ürünleri kuru olup, yarayı kontaminasyondan korumak için birincil veya ikincil pansuman olarak kullanılmaktadırlar. Pamuklu, suni, polyesterli dokuma ve dokuma olmayan elyaflardan yapılmış gazlı bezler bakteriyel enfeksiyonlara karşı bir çeşit koruma sağlar. Bazı steril gazlı bez pedleri, sahip olduğu liflerin yardımıyla, açık bir yara içindeki atıkları ve sıvıları emmek için kullanılır. Bu pansumanlar sık sık değişiklik gerektirdiğinden uzun süreli kullanım açısından uygun görülmemektedir. Maliyet açısından uygun olan bu tür örtüler aşırı yara sıvısı nedeniyle, nemlenmekte ve yaraya yapışma eğilimi göstermektedir [32].

Geleneksel yara örtüsü olarak piyasada bulunan ürünlerden biri olan Xeroform™ hafif yaralarda sızıntıyı önlemek için kullanılan %3 oranında Bizmut tribromofenat içeren vazelinli gazlı bezdir. Bactigras, Jelonet, Paratulle gibi ticari tül pansumanlar, yüzeysel bir yaranın temiz tutulması için kullanılan tül örtülere örnektir [32].

Geleneksel pansumanlar genellikle, hafif eksuda seviyelerine sahip temiz ve kuru yaralar için ikincil pansumanlar olarak kullanılır. Geleneksel pansumanlar yaraya nemli bir ortam sağlayamadığından, daha gelişmiş formülasyonlara sahip modern pansumanların geliştirilmesine gerek duyulmuştur [31].

2.2.2 Modern Yara Örtüleri

Modern yara örtüleri, yalnızca yarayı kapatma görevi yerine aynı zamanda iyileştirmeyi hızlandırmak üzerine geliştirilmiştir. Yaranın türüne ve hastanın özelliklerine bağlı olarak piyasada sayısız çeşitte ürün bulmak mümkündür. Modern yara örtüleri genellikle sentetik polimerlerden üretilmektedir ve biyoaktif ürünler olarak sınıflandırılmaktadır. Biyoaktif yara örtüleri gazlı bez ve tül pansumanlar gibi ekonomik değildir. Buna karşılık sürekli değiştirme gerektirmezler ve yaraya yapışmadıkları için değişim sırasında travmaya sebep olmazlar. Genellikle antimikrobiyal özelliğe sahiptirler. Transparan filmler, hidrojeller, hidrokolloidler, köpükler, aljinatlar, büyüme faktörü içerenler, antimikrobiyal özellikte olanlar ve nano liflerden oluşanlar; modern yara örtüsü sınıfında incelenen birçok yara örtüsü türünden bazılarıdır [32].

2.2.3 Transparan Filmler

Transparan film şeklindeki yara örtüleri, yaradan su buharı, O₂ ve CO₂ iletimini sağlayan ve ayrıca bakterilerin yara yatağına girişini engelleyen saydam malzemelerdir. Genellikle poliüretan, naylon veya yapışkan polietilen çerçeveli naylondan üretilmektedir. Yalnızca naylondan yapılan film örtüler sınırlı emme kapasitelerinden dolayı yüksek miktarda sıvı üreten yaralarda kullanılmamaktadır. Naylon örtüler buna karşılık çok esnektir ve vücudun her bölgesine rahatlıkla uyum sağlamaktadır [32], [35].

Şeffaf filmlerin diğer yara örtülerine göre en önemli avantajı örtünün çıkarılmasına gerek kalmadan yaranın muayene edilebilmesi ve iyileşmesinin izlenebilmesidir. Bu nedenle eksuda üretimi düşük olan yaralarda rahatlıkla kullanılabilir. Ticari olarak piyasada bulunan transparan film örtülere Opsite™, Tegaderm™, Bioocclusive™ örnek verilebilir. Bunların yapışkanlığı, buhar geçirgenliği, biyouyumluluğu ve esnekliği üretildikleri malzemeye göre değişkenlik göstermektedir [31].

2.2.4 Hidrojeller

Hidrojeller, polimetakrilatlar ve polivinil pirolidin gibi sentetik polimerlerden yapılmış hidrofilik malzemelerdir. Yumuşak ve esnek yapılarıyla iyileşmeden sonra yaraya zarar vermeden kolayca sökülebilirler. Hidrojellerin yaralanmadan dolayı artan sıcaklığı düşürme özelliği vardır. Bu özellikleriyle yara bölgesini soğutarak ağrının hafiflemesine yardımcı olurlar [31]. Timothy Thomson 2001 yılında almış olduğu bir patentte enfekte olmuş ağır yaralarda hidrojel örtülerin yara iyileşmesinin dört aşamasına da uygun olduğunu bildirmiştir [36]. Hidrojel örtüler tahriş edici değildir, biyolojik doku ile reaksiyona girmez ve metabolitlere karşı geçirgendir. Birçok araştırmacı, hidrojel pansumanlarının kronik bacak ülserlerini tedavi etmek için uygun olduğunu bildirmiştir [37], [38], [39]. Hidrojel örtülerin olumsuz yanları ise kötü koku oluşuma engel olamaması ve düşük mukavemetleri yüzünden kolay parçalanmasıdır. Intrasite™, Nugel™, Aquaform™ ticari olarak satılan hidrojel yara örtülerine örneklerdir [32].

2.2.5 Hidrokolloidler

Hidrokolloid yara örtüleri, en yaygın kullanılan modern yara örtülerindedir ve iki tabakadan oluşmaktadır. İç kısımda kolloidal tabaka dışta ise su geçirmez bir bariyer bulunmaktadır. Bu örtüler, jel oluşturucu ajanların (karboksimetilselüloz, jelatin ve pektin) elastomerler ve yapıştırıcılar gibi materyallerle kombinasyonundan oluşur. Hidrokolloidler su buharına geçirgendir, ancak bakterilere karşı geçirimsizdir ve ayrıca yara sızıntılarını emmektedir [34]. Yara eksudasıyla temas ettiğinde jel oluşturarak eksudayı emer ve nemi muhafaza ederek granülasyon dokusunun korunmasına yardımcı olur. Çıkarılma esnasında ağrıya sebep olmaz bu yüzden özellikle çocuklardaki yaralarda kullanıma uygundur. Orta derecede eksuda içeren yaralarda etkili olmakla birlikte yüksek eksudalı yaralarda tercih edilmemektedir. Granuflex™, Comfeel™ ve Tegaserb™ ticari olarak en çok bilinen hidrokolloid yara örtüleridir [32].

2.2.6 Köpük Örtüler

Köpük örtüler yapışkan çerçeveleri olan hidrofilik ve hidrofobik köpükten yapılmaktadır. Dış katmanın hidrofobik özelliği yarayı ıslanmaktan korurken gaz alışverişine ve su buharı giriş-çıkışına izin verir. Silasyik adı verilen silikonlu kauçuk köpükler yaraya

uygulandığında yaranın şeklini alır ve kalınlığına bağlı olarak yara sıvısını absorbe eder. Köpük örtüler yüksek eksudalı yaralar için en uygun yara örtüleridir. Köpük örtülerin dezavantajı ölü dokuları uzaklaştırma özelliğinin bulunmaması ve sık sık değiştirmeye gereksinim duymasındır. Ayrıca eksudası az olan yaralarda kullanıma uygun değildir çünkü görevini yapabilmesi için sıvıya ihtiyaç duyar [31], [36]. Ticari köpük örtülerine Lyofoam™, Allevyn™ ve Tielle™ ürünleri örnek verilebilir.

Köpük örtüler, bazı vakalarda negatif basınçla yara tedavisinde de kullanılmıştır. Negatif basınç tedavisi yaralı bölge bir köpük veya transparan film örtüyle kapatılıp devamlı veya aralıklı olarak negatif basınç uygulanarak yapılmaktadır. Böylece yaradan sızan sıvı alınmakta ve yaranın hijyenik olması sağlanmaktadır [40].

2.2.7 Aljinatlar

Aljinat doğal polimer bir malzeme olup aljinik asitin sodyum ve kalsiyum tuzları ile kahverengi alglerin ürettiği anyonik bir polisakkaritten oluşmaktadır. Biyobozunur özelliği sayesinde yara ve yanık tedavisinde kullanılmaktadır. Aljinat örtülerin hücre sel cevapta etkili olduğu ve böylece yara iyileşmesinin uyarılmasını tetiklediği keşfedilmiştir [41]. Thomas ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada aljinatin enflammatuar sinyalleri başlatan TNF- α üretmek üzere makrofajları aktive ederek iyileşme sürecini hızlandırdığını bildirmiştir [42]. Aljinat yara örtüleri yaraya uygulandığında, aljinatta bulunan iyonlar kana geçer ve bu durum koruyucu bir film oluşmasını sağlar. Aljinatlar kuru yaralar için önerilmemektedir çünkü yaranın kurummasına sebep olmaktadır. Bu dezavantajın aşılması için ikinci bir yara örtüsü ile birlikte kullanılması gerekmektedir. Sorbsan™, Kaltostat™ ve Algisite™ ticari olarak bulunan aljinat örtülere birkaç örnektir [32].

2.2.8 Büyüme Faktörleri

Normal bir yara iyileşmesi; büyüme faktörleri, sitokinler ve hücreler arası matriks arasındaki hassas bir dengeye bağlı olarak gelişmektedir [2]. Büyüme faktörleri ve sitokinler yara iyileşmesinde 'şifre taşıyıcı' olarak rol oynamaktadır. Bu maddeler membran reseptörleri aracılığı ile hedef hücreye özel biyokimyasal mesajlar taşımaktadır [43]. Büyüme faktörleri endokrin, parakrin ve otokrin tarzda etki yaparlar. Parakrin

faktörler bir hücre tarafından salınıp, çevredeki farklı hücreleri de etkileyen maddelerdir. Otokrin faktörler ise salgı yapan hücrenin kendi işlevini arttırmaktadır. Büyüme faktörlerinin işlev görmesiyle damar duvarlarındaki boşluklardan kandaki inflamatuvar hücreler yara yatağına göç etmeye başlamaktadır. Böylece yara iyileşmesinin hızlanmasına katkı sağlanmaktadır. Büyüme faktörlerinin azalması, iyileşmenin uzamasına neden olan önemli biyokimyasal değişimler arasındadır. Bu yüzden yara örtülerinin büyüme faktörleriyle desteklenmesi yara iyileşmesinde önemli bir gelişmedir. Büyüme faktörleri hormon yapısında olduğundan bozunmaları kolaydır ve uygun koşullarda muhafaza edilmeleri gerekir [44].

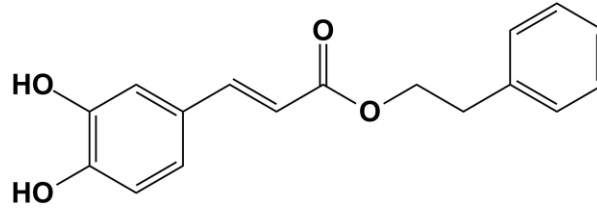
2.2.9 Antimikrobiyal Yara Örtüleri

Bakterilerin çeşitli tiplerinin bir kronik yaranın yüzeyinde ya da içinde yaşamasıyla yara iyileşmesi gecikmektedir. Bazı örtüler sağlıklı hücreler için optimum koşulları sağlarken aynı zamanda bakterilerin büyümesine de ortam hazırlamaktadır. Bu durumda genellikle geleneksel bir örtü antibakteriyel bileşenlerle takviye edilmektedir [45]. Çeşitli polimerlerden üretilen yara örtülerine antimikrobiyal ajanlar (antifungal ürünler ve bölgesel antibiyotikler), kollajen ya da enzim debriding ajanlar emdirilerek antimikrobiyal özellik kazandırılabilir [41].

Antimikrobiyal olma, modern yara örtülerinde aranan en önemli özelliklerden biridir. Araştırmalar sonucunda, antimikrobiyal, anti iltihap ve antioksidan özellikleri olan bazı doğal ürünlerin yara iyileşme sürecini hızlandırdığı sonucuna varılmıştır. Yara örtülerinde antimikrobiyal özellik kazandırmak amacıyla daha çok gümüş ve gümüş bileşikleri kullanılmıştır. Gümüş iyonu, gümüş sülfodiozin, gümüş nitrat bunlara örnek verilebilir [45]. Antimikrobiyal ajan olarak kullanılan diğer bir maddenin de bal olduğu bilinmektedir. Genellikle yanık tedavisinde kullanılan bal emdirilmiş 'Activon Tulle' adı verilen yara örtüsü buna örnektir [46].

Gümüş bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitesinin yüksek olmasının yanında toksik etkileri de vardır. Bu yüzden onların yerine doğal materyallerden elde edilen moleküllerin kullanımı zamanla yaygınlaşmıştır. Bunlardan biri de arıların ürettiği propolis maddesinin etken maddelerinden biri olan Kaffeik Asit Fenetil Esterdir molekülüdür. CAPE, Şekil

2.3'te verildiği gibi alken bağlı katekol grubu ve benzen halkasına bağlı etil grubu içeren bir ester yapısındadır.



Şekil 2.3 CAPE'nin molekül şekli

CAPE, antimikrobiyal özelliği ile literatürde uzun yıllardır bilinmektedir. Son yıllarda ise CAPE ile nanopartikül formülasyonları geliştirilmeye başlanmıştır [47], [48]. CAPE'nin hücre çoğalmasını ve hücre göçünü tetikleyerek yaranın kapanmasında olumlu etki ettiği de bilinmektedir. Yanık yaralarına uygulandığında yara iyileşmesine yardımcı olduğu ve yangıyı azalttığı gözlemlenmiştir [49]. Farklı bir çalışmada ise CAPE'nin cilt insizyonuna sahip farelerdeki yaralı dokuya uygulandığında, dokudaki fibroblast hücrelerinin üretimlerini arttırdığı belirtilmiştir [50]. *E. coli* ve *S. aureus* türlerinin üremesini yüksek oranda durdurduğu ve sitotoksite çalışmalarında ise biyoyumlu olduğu görülmüştür [51]. CAPE yara iyileşmesi açısından gösterdiği tüm olumlu özelliklere rağmen nano liflerle ilgili çalışmalarda oldukça az yer almıştır. Ignatova ve arkadaşlarının 2018'de yapmış oldukları bir çalışmada CAPE molekülü, Poli(hidroksi bütirat) polimerinin elektro-eğirilmesiyle elde edilmiş nano liflere, polimer çözeltisine katılmak suretiyle yüklenmiştir. Söz konusu çalışmada antimikrobiyal aktivite testi sıvı besi kültüründe *S. aureus* ve *E. coli* türlerine karşı gerçekleştirilmiştir [52].

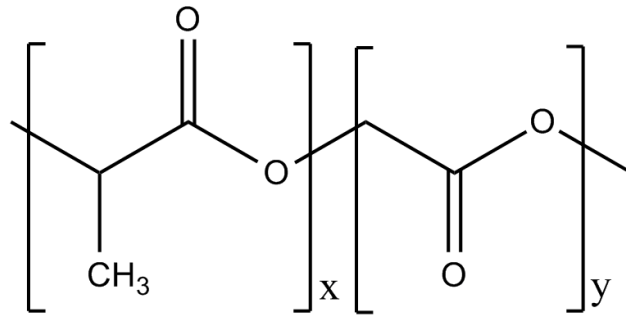
2.2.10 Nano Lifli Yapıdaki Yara Örtüleri

Polimerlerden elde edilen liflerin çapları mikrometrelerden nanometrelere düştüğünde farklı karakteristik özellikler ortaya çıkmaktadır. Yüksek yüzey alanı/hacim oranı, gelişmiş yüzey özellikleri, bilinen herhangi bir materyal formuna göre daha iyi mekanik performans gibi özellikler bunlardan bazılarıdır. Bu özellikler nano lifleri pek çok önemli uygulama alanı için en uygun malzemeler yapmaktadır. Bu uygulama alanları içerisinde biyomedikal uygulamalar en dikkat çekici olanlardır. Nano lifler; elektro-eğirme, çekim prosesi, şablon sentezi, faz ayırma işlemi ve kendiliğinden paketlenme yöntemleriyle

üretilebilmektedirler. Elektro-eğirme yönteminin gelişmesi ve yaygınlaşmasıyla birlikte nano lif üretilen diğer metodlar daha az kullanılır hale gelmiştir [53].

Elektro eğirme yöntemi ile oluşturulabilecek malzemelerde kullanılan polimer çeşidinin çok fazla oluşu, çok çeşitli malzeme üretimine olanak sağlamaktadır. Bunun sonucu olarak bu yöntem ile üretilmiş nano fiberlerin kullanım alanı da oldukça geniş olacaktır. Ayrıca, nano fiberlerden oluşturulan yapıların, birim ağırlıkta sağlanan yüksek alan özelliği, yumuşak tutumu, iyi mukavemet/birim ağırlık özelliği ve mikroorganizmalara ve ince parçacıklara bariyer oluşturması gibi özellikleri, nano fiberlerin birçok alanda kullanılmasının başlıca sebepleridir. Bu avantajlar, nano fiberlerin birçok endüstri alanına rahatlıkla girmesine ve kendisine potansiyel kullanım alanı sağlamasına izin vermektedir [54].

Poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), nano fiberlerden oluşan yara örtülerinin üretiminde oldukça başarılı sonuçlar alınmış, işlenmesi kolay bir polimerdir. Yüksek biyoyumluluğu sayesinde Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından damar veya kas yoluyla vücuda verilmesi açısından da onaylıdır [55]. PLGA, canlı hücrelerin besinlerden enerji elde etmesini sağlayan Krebs döngüsünde kolayca metabolize olabilen laktik asit ve glikolik asit monomerlerinden oluşmaktadır [56] (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 PLGA'nın molekül şekli

Moleküler ağırlığı, kompozisyonu ve yüzey modifikasyonundaki herhangi bir değişim sayesinde bozunuma uğrama süresinin kolayca ayarlanması en büyük avantajları arasındadır [55]. PLGA doku mühendisliği uygulamalarında özellikle de yara örtülerinde tercih edilen bir polimerdir. Bunun sebebi; elektro-eğirilmiş PLGA fiberlerin içerisine eklenen aktif maddelerin yara dokusunun kimyasal ve termal çevresinden korunması ve kontrollü bir etkinlik göstermesidir [55], [57], [58]. Bu alanda yapılan bir çalışmada PLGA

ile nano kalınlıkta lifler üretilmiş ve antimikrobiyal ajan olarak Quercetin molekülü liflere yüklenmiştir. PLGA'nın biyouyumluluğu sayesinde epitel hücrelerin malzemeye tutunarak çoğaldığı ve Quercetin molekülü sayesinde de bakterilerin çoğalmasının engellendiği rapor edilmiştir [59].



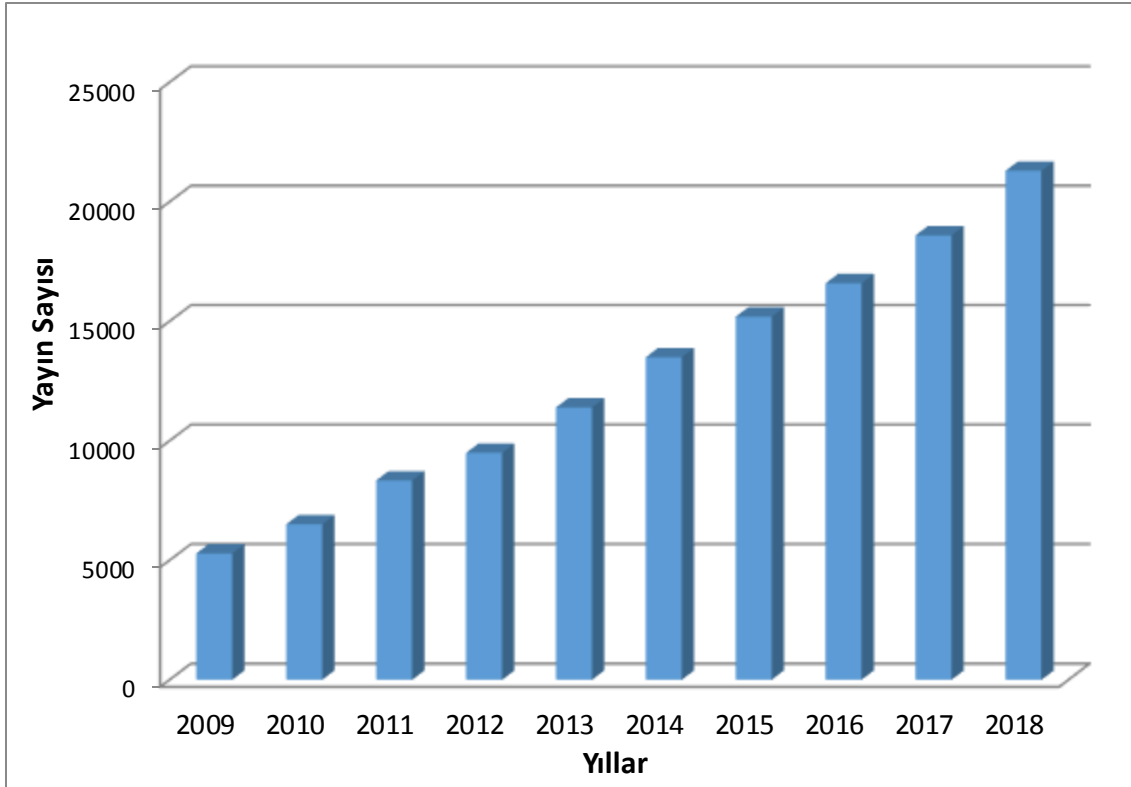
ELEKTRO-EĞİRME YÖNTEMİ

3.1 Elektro-eğirme Yönteminin Tarihçesi

Elektro-eğirme elektrostatik temelli bir üretim tekniği olup nano kalınlıkta fiberlerin üretilmesi için en uygun yöntem olarak görülmektedir. Bu teknik sayesinde son derece uzun, çap dağılımı düzgün ve çeşitli şekillerde fiber üretilmesi mümkün olmaktadır. Elektro-eğirme yöntemi, bir polimer eriyiği veya çözeltilisinden oluşturulan viskoelastik jetin tek eksenli gerilmesine dayanmaktadır. Mekanik çekim yöntemiyle karşılaştırıldığında elektro-eğirme, daha ince çapların elde edilmesi yönünden daha uygundur. Mekanik çekime benzer şekilde, elektro-eğirme de devamlı bir prosestir ve böylece yüksek hacimde malzeme elde edilmesine olanak vermektedir [60].

1934 yılında Formhals tarafından yüzey gerilimleri arasındaki elektrostatik itmelerden faydalanarak filamentlerin üretilmesine olanak veren bir aparatın icat edilmesiyle elektro-eğirme ile ilgili ilk patent tanımlanmıştır. Formhals, söz konusu patente günümüzde kullanılmakta olan laboratuvar ve sanayi ölçekli cihazların alt yapısını ortaya koymuş ve temel çalışma prensibini çizimlerle açıkça anlatmıştır [61]. 1993 yılına kadar bu teknik elektrostatik eğirme olarak bilinmiştir ve bu konuda yalnızca birkaç çalışma yayınlanmıştır. 1990'ların başında, çeşitli araştırma grupları organik polimerlerin birçoğundan ince fiberlerin üretilmesi için bu teknikten faydalanmıştır. Aynı yıllarda electrospinning (elektro-eğirme) terimi ortaya atılmıştır ve şu anda yaygın olarak bu isimle kullanılmaktadır. Yine aynı yıllarda birçok teorik ve deneysel çalışma literatüre girmiştir [60]. Google Akademik veri tabanından alınan verilere göre hazırlanan grafiğe

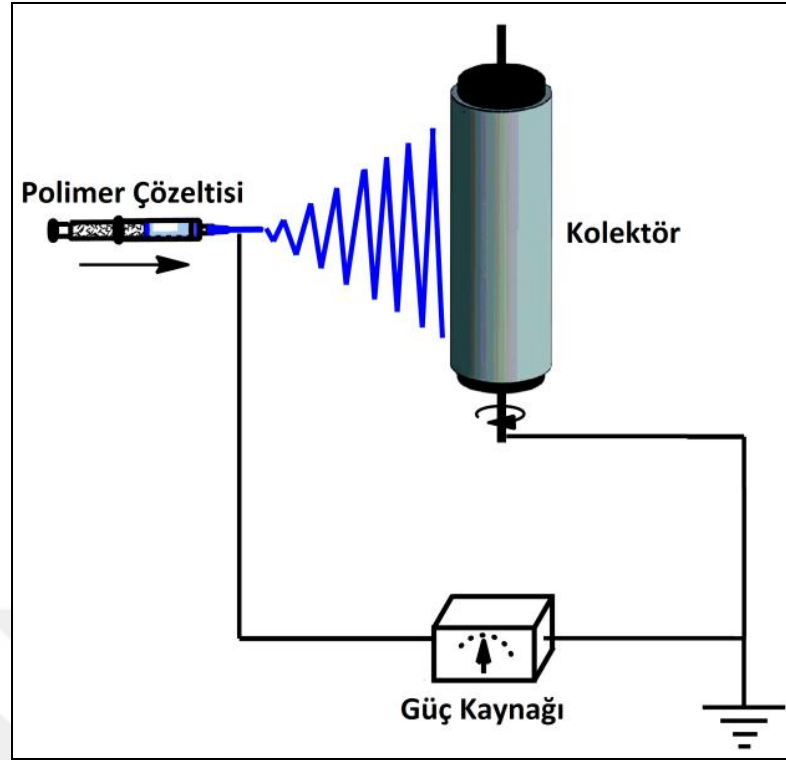
bakıldığında son on yılda bu alanda yapılan çalışmaların sayısında sürekli bir artış olduğu görülmektedir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Elektro-eğirme hakkındaki akademik çalışma sayısının yıllara göre dağılımı

3.2 Çalışma Prensibi

Elektro-eğirme düzeneğinin temel bileşenleri: yüksek voltaj kaynağı, besleme ünitesi ve bir toplayıcıdır (Şekil 3.2). Besleme ünitesinde bir şırınga içerisinde polimer çözeltisi bulunmaktadır ve bu çözelti belirli bir hızla itilerek iğnenin ucunda damlacık oluşturmaktadır. İğnenin ucuna yüksek voltaj uygulanmasıyla birlikte bu damlacık, yüzey gerilimi ve elektriksel güç tarafından uygulanan Colomb kuvvetleri olmak üzere iki adet kuvvetin etkisinde kalmaktadır. Elektrostatik kuvvet, yüzey gerilimini yendiğinde damlacık, Taylor konisi adı verilen koni şeklinde bir jet haline gelmektedir. Jetin elektrostatik kuvvetler tarafından devamlı olarak tek yönlü çekilmesi sonucunda iğnenin karşısında bulunan toplayıcının yüzeyinde fiberler birikmektedir. Fiberlerin toplayıcıya ulaşması sırasında geçen zamanda çözücü buharlaşmakta böylece fiberler katı hale gelmektedir [60].



Şekil 3.2 Elektro-eğirme düzeneğinin şematik olarak gösterimi

Elektro-eğirme parametrelerinin optimize edilmesi amacıyla temel düzeneğe birçok modifikasyonlar yapılabilmektedir. Örneğin dönen bir silindir şeklindeki toplayıcı, Reneker ve çalışma arkadaşları tarafından daha sıkı ve yönelimli yapıda fiberlerin üretilmesi amacıyla geliştirilmiştir. Düz toplayıcıda fiberler karmaşık olarak toplanırken silindirde dönüş hızı arttıkça aynı düzlemde sıralanmış fiberler oluşmaktadır. Elektro-eğirme işlemi normalde tek bir iğne ile çalışıldığında oldukça yavaş bir süreçtir. Birden fazla iğnenin kullanılmasıyla düşük besleme hızlarında bile yüksek hacimde malzeme kısa sürede üretilmektedir [62]. Dual spinning denilen ikili elektro-eğirme düzeneği ise iki adet besleme ünitesi, iki adet voltaj kaynağı ve tek bir toplayıcıdan oluşmaktadır. Böylece tek bir malzemede iki farklı polimere ait fiberlerin elde edilmesi mümkün olmaktadır [63]. İkili düzeneğe besleme ünitelerinden birine viskozitesi yüksek polimer çözeltisi diğer besleme ünitesine viskozitesi düşük bir başka polimer çözeltisi koyularak nanofiber-nanopartikül kombinasyonları da üretilmektedir. Elektro-eğirmenin modifiye edildiği bir diğer örnek de co-axial electrospinning (ko-aksiyel elektro-eğirme) işlemidir. Bu yöntemde içinden iki farklı çözeltinin geçmesine olanak veren bir iğne kullanılmaktadır. Böylece core denilen iç fiberin etrafını shell adı verilen kabuk kaplamaktadır. Ko-aksiyel elektro-eğirme, iç kısmında aktif ajan taşıyan etrafı ise

biyobozunur bir polimerle kaplanmış kontrollü ilaç salım sistemlerinin üretilmesinde son derece avantajlı ve yenilikçi bir yöntem olarak görülmektedir. Örneklerden anlaşıldığı gibi elektro-eğirme sistemi yenileştirmeye ve geliştirmeye son derece elverişli bir sistemdir [60], [64], [65].

3.3 İşlem Parametreleri

Elektro-eğirilmiş fiberlerin morfoloji ve çapları, çözeltiye bağlı faktörler, sisteme bağlı faktörler ve çevresel faktörler olmak üzere bir dizi işlem parametresine bağlı olarak değişmektedir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Elektro-eğirilmiş fiberlerin özelliklerini etkileyen parametreler

Çözeltiye bağlı faktörler	Polimerin özellikleri	Çözücünün özellikleri;
	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Polimerin türü ✓ Moleküler ağırlığı 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Kaynama noktası ✓ Polaritesi ✓ Yüzey gerilimi ✓ Elektriksel iletkenliği
	Polimer Konsantrasyonu	
	Viskozite	
Sisteme Bağlı Faktörler	Uygulanan voltaj	
	İğne-toplayıcı mesafesi	
	Besleme hızı	
Çevreye Bağlı Faktörler	Sıcaklık	
	Nem	

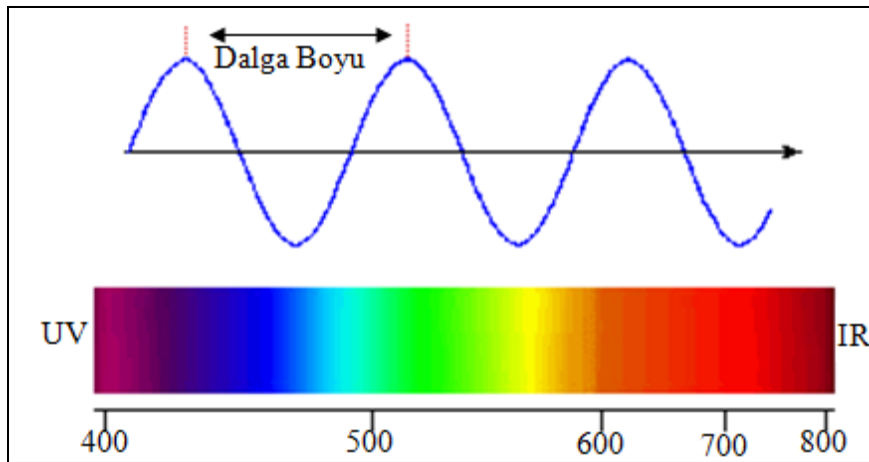
Çözeltiye bağlı faktörler yalnızca polimerin veya yalnızca çözücünün özelliklerine bağlı olabildiği gibi elde edilen polimer çözeltisinin özelliklerine de bağlıdır. Sisteme bağlı faktörler ise elektro-eğirme düzeneğinde yer alan ekipmanların istenilen koşullara ayarlanmasıyla optimize edilmektedir. Son olarak çevreye bağlı faktörler işlemin yapıldığı ortamın sıcaklık ve nem değerleriyle ilişkili olmaktadır [60].

Fiber üretiminde karşılaşılan en yaygın problemler, liflerin tam olarak kurumaması sebebiyle birbirine yapışması ve boncuk oluşumudur. Çözücünün kaynama noktasının çok yüksek olması, iğne-toplayıcı arasındaki mesafenin yetersiz olması ve ortamın nemindeki yükseklik (Çözücünün buharlaşmasını yavaşlatarak liflerin kurummasını engellemektedir.) bu problemlerin nedenleridir. Bu durum, malzemenin mekanik dayanım, por çapı ve por dağılımı gibi fiziksel özelliklerini olumsuz yönde etkilemektedir [60], [64]. Reneker ve arkadaşları Poli etilen oksit ile yaptıkları elektro-eğirme işleminde düşük viskoziteli çözelti kullandıklarında boncukların arttığını, PEO oranını arttırdıklarında ise boncuksuz fiberlerin oluştuğunu rapor etmişlerdir [66]. Xia ve Li ise Poli vinil prolidon (PVP) ile hazırladıkları çözümlerden elde edilen fiberlerde boncuk oluşumu gözlemlenmesi üzerine çözüme düşük oranda tetrametil amonyum klorür tuzu katmışlardır. Tuz eklenmesiyle boncuk oluşumunun elimine edildiği ve fiber çaplarının küçüldüğü belirtilmiştir [60].

KARAKTERİZASYONDA KULLANILAN ANALİZ YÖNTEMLERİ

4.1 Ultraviyole-Görünür Bölge Spektrofotometresi

Işığın farklı derecelerde bükülen bir prizmadan beyaz ışık geçirildiğinde beyaz ışığın farklı renklere ayrıldığı gözlemlenmiştir [67]. Görünür ışık gibi elektromanyetik radyasyon da genellikle bir dalga boyu veya frekans ile karakterize edilen bir dalga olayı olarak kabul edilmektedir. Dalga boyu, ışığın dalga hareketi sonucunda oluşan bitişik tepeler (veya oluklar) arasındaki mesafe olarak tanımlanır ve metre, santimetre veya nanometre olarak belirtilebilir. Görünür dalga boyları genellikle 400-800 nm arasında olmaktadır. Spektrumun görünür kısmındaki belirli renkler olarak algıladığımız dalga boyları Şekil 4.1'de gösterildiği gibidir ve yatay diyagramlarda, dalga boyu soldan sağa doğru hareket ederken artmaktadır. Dalga boyu ve frekans ters orantılıdır [68].

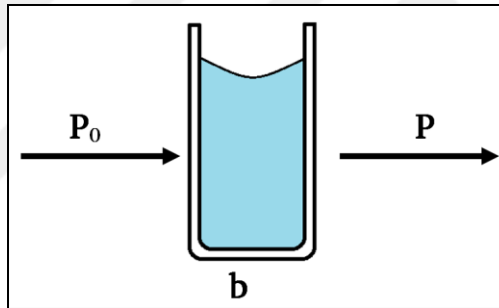


Şekil 4.1 Dalga boylarının şematik gösterimi [68]

UV spektrofotometre cihazları şeffaf bir numune kabındaki örneğin ultraviyole ve görünür bölgedeki dalga boylarına sahip ışığın ne kadarını geçirip ne kadarını absorbe ettiğine göre ölçüm yapmaktadır. Lambert-Beer eşitliğine göre (4.1) ışığı absorbe etme özelliğine sahip bir örneğin absorbansı konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak değişmektedir [69].

$$A = \epsilon bc \quad (4.1)$$

Eşitlik (4.1)'de A; absorbansı, ϵ ; moleküler absorptiviteyi, b; örneğin bulunduğu kabın kalınlığını (genelde 1 cm olmaktadır), c ise konsantrasyonu ifade etmektedir. Şekil 5.2'de görüldüğü gibi b kalınlıktaki örnek kabına gönderilen P_0 şiddetindeki ışık, bir kısmı örnek tarafından absorplandıktan sonra P şiddetinde çıkmaktadır. Eşitlik (4.2)'de ve Eşitlik (4.3)'te bir örneğin ışığa karşı geçirgenliği (T) ve absorbansının (A) giren ışık şiddeti (P_0) ve çıkan ışık şiddeti (P) ile olan ilişkileri verilmiştir [69].



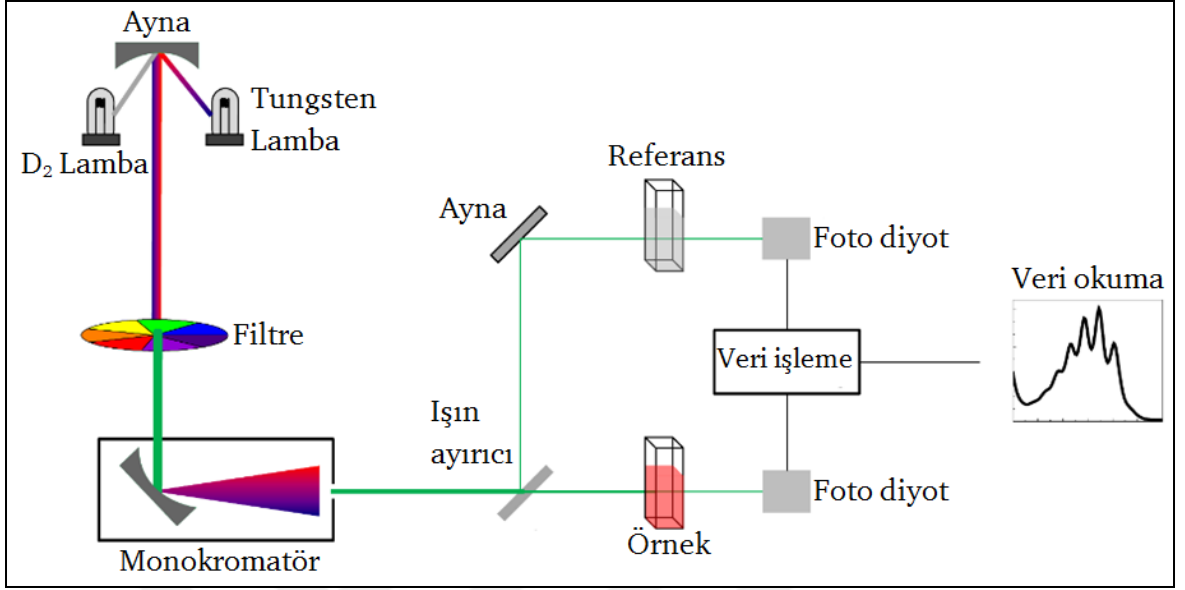
Şekil 4.2 Kalınlığı b olan bir örnek kabına gönderilen P_0 şiddetindeki bir ışığın örnek tarafından absorplanarak P şiddetinde örnekten çıkması

$$T = P/P_0 \quad (4.2)$$

$$A = \log(P_0/P) \quad (4.3)$$

UV-Görünür Bölge Spektrofotometre cihazlarının çalışma prensibi Şekil 4.3'te şematik olarak gösterildiği gibidir. Işık kaynağından gelen bir ışık demeti, prizma veya kırınım ızgarası ile bileşen dalga boylarına ayrılmaktadır. Bu ışık kaynakları döteryum ve tungsten lamba olabilmektedir. Işın demeti monokromatörden geçerek tek dalga boyuna sahip monokromatik ışınlar ayrılmaktadır. Monokromatik ışın, eşit şiddette bölünerek ikiye ayrılmakta biri analiz edilecek maddeyi içeren küvetten geçerken diğeri yalnızca çözücü bulunan küvetten geçer. Her iki küvetten çıkan ışık yoğunlukları bir detektör tarafından ölçülerek bilgisayar ekranında spektrum denilen çizgilere dönüşür.

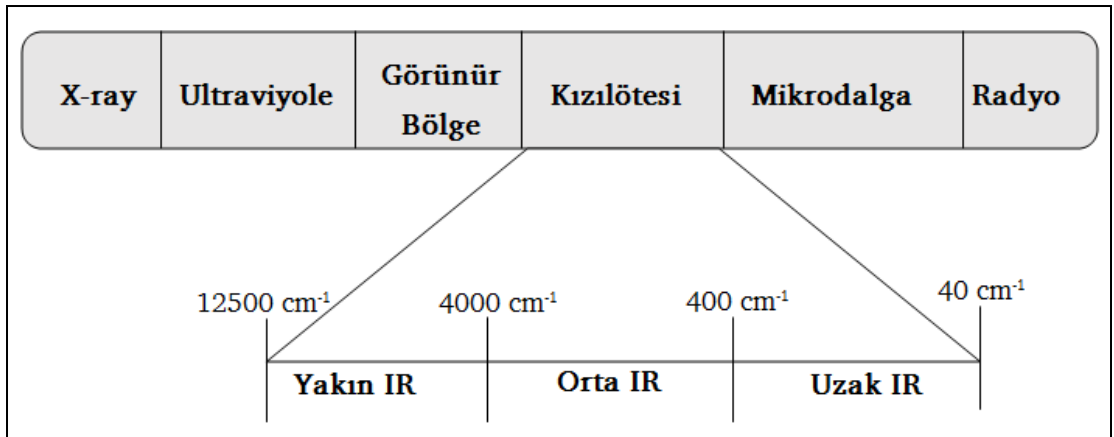
Spektrumda en yüksek absorbansa karşılık gelen dalga boyları λ_{max} olarak adlandırılmaktadır [68], [69].



Şekil 4.3 UV-Görünür Bölge Spektrofotometresinin çalışma prensibinin şematik gösterimi [70]

4.2 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

Kızılötesi bölge, görünür ışık ve mikrodalga bölgesi arasında kalan 0.78-250 μm arasındaki dalga boylarını kapsamaktadır. Moleküller arası titreşimler elektronlar arasındaki geçişlerden daha düşüktür bu yüzden de IR bölgesine düşmektedir. FTIR spektroskopisi moleküller arasındaki titreşimleri araştırmak için kullanıldığından titreşim spektroskopisi olarak da bilinmektedir [71]. Kızılötesi bölge yakın, orta ve uzak kızılötesi olmak üzere üç bölüme oluşur (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Kızılötesi bölgenin şematik gösterimi

Moleküller arası titreşimlerin incelenmesi için orta kızılötesi bölge yani $4000-400\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığı kullanılmaktadır. Sıcaklığın 0 Kelvin'in üzerinde olduğu durumlarda moleküldeki tüm atomlar hareket halindedir. Molekülde gerçekleşen titreşim eğer dipol momentinde bir değişiklikle sonuçlanırsa IR ışını absorplanır, böylece IR titreşim bantları oluşur [72]. Orta IR bölgesinin düşük enerjili ($1500-400\text{ cm}^{-1}$) kısmı karmaşık titreşimlerden kaynaklanan parmak izi bölgesidir. Parmak izinin dışındaki bölgelerde iyi tanımlanmış bağlara ve moleküllere ait titreşim bantları yer almaktadır. Analiz edilen bileşiğin yapısındaki bağlar biliniyorsa saflığı hakkında bilgi sahibi olunabilir. FTIR spektroskopisinde kalitatif analizlerin yanında kantitatif analiz de yapılabilmektedir. Buna örnek olarak havanın bileşeni olan gazların havadaki miktarlarının tespit edilmesi ve kirlilik oranının belirlenmesi verilebilir [71].

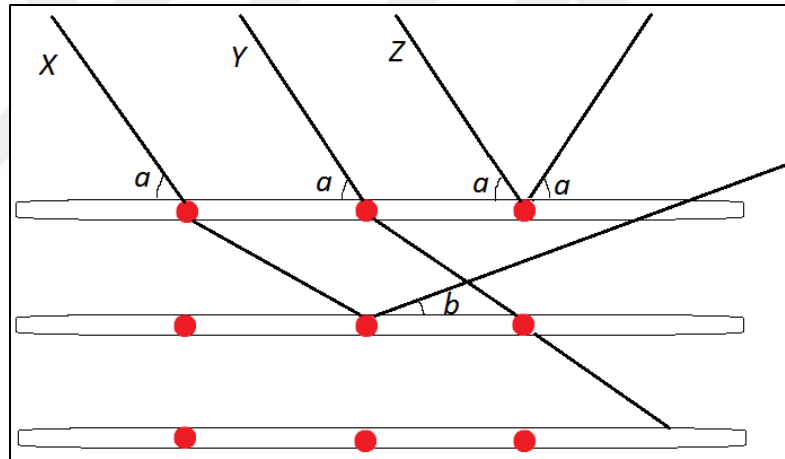
ATR-FTIR, özellikle biyolojik numunelerde analiz yapılmasına daha uygun olan bir FTIR spektroskopisi yöntemidir. ATR aparatı, çoklu tabakalardan oluşan katı veya sıvı numunelerin analiz edilmesine olanak vermektedir. Örneğe gönderilen IR ışını yüksek kırılma indisine sahip olan ATR kristaline yönlendirilerek ışının numunenin iç katmanlarına ulaşması sağlanır. Örnekten geri yansıyan ve şiddeti azalan IR ışını, ATR kristaline geri döner. Dedektör, zayıflatılmış IR ışınını interferogram sinyal olarak kaydederek IR spektrumunun oluşturulmasında kullanır. ATR-FTIR spektroskopisi, bu özelliği sayesinde malzemenin kalınlığına bağlı kalınlıksız çok katmanlı numunelerin iç yapılarının aydınlatılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Nano kalınlıkta fiberlerden oluşan polimerik malzemelerin analizinde ATR yöntemi avantaj sağlamaktadır. Yüzeyinde, liflerin arasında veya liflerin içinde bulunan aktif maddelerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde ATR-FTIR spektroskopisi sıklıkla kullanılan bir karakterizasyon yöntemidir [71].

4.3 X-Işını Kırınımı (XRD)

X ışını kırınımı (XRD), bir kristal malzemenin faz tanımlaması için kullanılan hızlı bir tekniktir. 1895'te, Wilhelm Rontgen tarafından X-ışınlarının keşfedilmesinin ardından X-ışınlarının parçacık mı yoksa elektromanyetik ışımaya mı olduğu tartışılmıştır. 1912 yılında Almanya'daki Munich Üniversitesi'nden Max von Laue, bir kristal düzlemdeki atomların düzenli ve periyodik yapıda olduğunu ve atomlar arasında 1 \AA mesafe bulunduğunu öne

sürmüştür. Laue'nin öne sürdüğü fikir, X-ışınlarının elektromanyetik ışımlar olduğu ve bir kristalin interatomik mesafesinin röntgen ışığıyla aynı büyüklükte olduğu varsayımlarına dayanmaktadır. Friedrich ve Knipping tarafından $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ kristalinin X-ışını kırınımı modelinin başarıyla fotoğraflanmasıyla birlikte Laue'nin fikri doğrulanmıştır. X-ışını kristalografisi, günümüzde araştırmacılar tarafından bileşiklerin yapısını ve bağlanmasını analiz etmede sıklıkla kullanılmaktadır [73], [74].

X-ışını kırınımı, bir X-ışını demetinin katı maddenin atomlarını çevreleyen elektron bulutuyla karşılaşmasıyla meydana gelmektedir. Şekil 4.5'te verildiği gibi, X-ışını katı numuneye ait kristal yapıya a açısıyla geldiğinde ışının bir kısmı yine a açısı yaparak numuneyi terk eder (Şekil 4.5'te Z ışını). Işının geri kalanı kristalin içine girerek ikinci atom düzlemiyle etkileşime geçer. Numunenin iç kısmına ilerleyen ışınların bir kısmı b açısıyla kırınıma uğrarken (Şekil 4.5'te X ışını) geri kalanı atom düzlemleri arasında ilerlemeye devam eder (Şekil 4.5'te Y ışını) [75].



Şekil 4.5 X-ışını kırınımının şematik olarak gösterimi

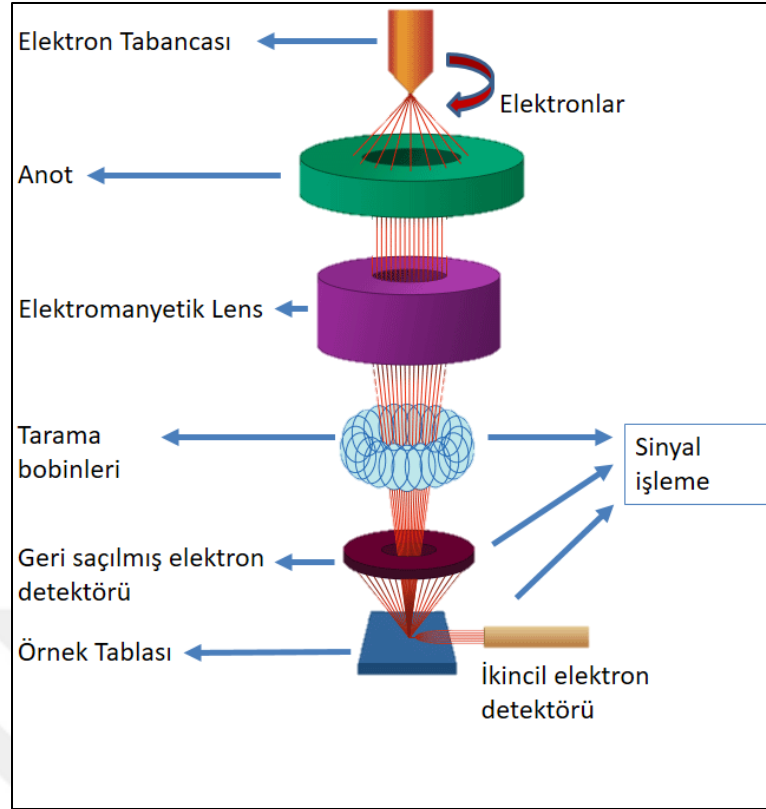
Bir XRD cihazının ana bileşenleri birçok optik spektroskopik cihazınkinden benzerdir. Bunlar bir kaynak, ölçüm için kullanılan dalga boylarını seçmek ve sınırlamak için bir dalga boyu seçici, numune tutucu, detektör ve bir sinyal işleyicidir. Kaynak, X-ışını üretmek üzere tasarlanmış tüplerden oluşmaktadır. X-ışını tüplerinde, katot gibi davranan bir tungsten filament ve katotun karşısında da metal tabakadan yapılmış bir anot bulunmaktadır. Metal tabaka krom, tungsten, bakır, rodyum, gümüş, kobalt veya demir olabilmektedir. Filamentten yüksek voltaj geçirilerek yüksek enerjiye sahip atomlar üretilir. Üretilen atomlar anot yönünde hareket ederken geçen akım miktarı kontrol edilir. Elektronlar anotta bulunan metal tabakaya çarptığında X-ışınlarını

üretirler. Dalga boyu seçici, kırınımın hesaplanması için gereken tek bir dalga boyuna sahip X-ışınlarının üretilmesi için kullanılmaktadır. İstenmeyen dalga boylarını keserek örneğin üzerine yalnızca istenen dalga boyundaki ışının düşmesini sağlar. X-ışını kırınımı analizinde kullanılan numune tutucular, örneği analiz sırasında sabit tutan basit bir iğneden oluşmaktadır. Sinyal işleyici ise, örnekten geri yansıyan ışınların proton sayılarını hesaplayan bir sistemden oluşur. Bu proton hesaplayıcı, birim zamanda detektöre gelen proton sayısını dijital sinyallere dönüştürür. Böylece malzemenin XRD kırınım paternleri oluşur. [76], [77].

4.4 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)

Taramalı elektron mikroskopları örneklerin yüzeylerini gözlemlemek için kullanılan cihazlardır. Örnek, bir elektron probu tarafından uyarıldığında yüzeyinden ikincil elektronlar yayılmaktadır. Elektron probunun yüzey boyunca iki boyutlu tarama yapması sonucu yayılan ikincil elektronlar sayesinde bir görüntü elde edilmektedir. SEM cihazında örneğin yüzeyine gönderilecek olan elektronlar optik bir sistem tarafından üretilir. Optik sistem elektron tabancası, kondansatör lens ve bir objektif lensten oluşmaktadır (Şekil 4.6) [78].

Elektron tabancasından çıkan elektronlar kolondan aşağıya inerek lenslere gelmektedir. Kondansatör ve objektif lensler elektron tabancasından gelen ışınların çapını ayarlar ve örneğin üzerine odaklanmasını sağlar. Örneğin koyulduğu tabla şeklindeki kısım hareket ettirilerek istenilen bölmedeki örnek analiz edilebilmektedir. Örnekten çıkan ikincil elektronlar detektör tarafından görüntüye dönüştürülmek üzere işlenir (Şekil 4.6). Bu işlemlerin tümü yüksek vakum altında gerçekleşmektedir [79].



Şekil 4.6 SEM cihazının çalışma prensibinin şematik gösterimi [80]

SEM’de elektron tabancasından örneğe gelen küçük bir nokta şeklindeki elektron ışını örneğin üzerine piksel piksel yönlendirilmektedir. Her pikselde elektronlar belirli bir süre kalarak örnekle etkileşir ve ikincil elektronların yayılmasına sebep olur. Örnek üzerindeki her bir pikselden türetilen sinyal, bilgisayar ekranının ilgili pikselinde eşzamanlı olarak görüntülenir. Büyütme yapılırken aynı sayıda piksel içeren daha küçük alanlar taranır. Bu sayede piksel boyutu küçülürken çözünürlük artar. SEM analizi yapılabilmesi için numune yüzeyinin iletken olması gerekmektedir. Bu nedenle iletken olmayan numuneler genellikle 4 nm kalınlığında altın veya paladyum tabakasıyla kaplanarak analiz edilir. Biyolojik örnekler hafif elementlerden oluştuğu için kaplama yapılmadan analiz edilmeleri oldukça zordur [81].

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

5.1 Kullanılan Kimyasal Listesi

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasal malzemelerin ismi, markası ve katalog bilgileri Çizelge 5.1’de verilmiştir.

Çizelge 5.1 Kimyasal listesi

ADI	MARKASI	KATALOG NO
Poli(D,L-laktik- <i>ko</i> -glikolik asit) (PLGA 1) (Ma= 76 000-115 000 Da)	Sigma Aldrich	719927
Poli(D,L-laktik- <i>ko</i> -glikolik asit) (PLGA 2) (Ma= 190 000-240 000)	Sigma Aldrich	739979
Kafeik asit fenetil ester (CAPE)	Sigma Aldrich	C8221
Dimetilformamid (DMF)	Sigma Aldrich	227056
Diklorometan (DCM)	Sigma Aldrich	270997
Etanol	Sigma Aldrich	32205
Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	Riedel-de Haën	04273
Sodyum fosfat monobazik (NaH ₂ PO ₄)	Riedel-de Haën	04269
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma Aldrich	S7653

Çizelge 5.1 Kimyasal listesi (devamı)

Sodyum azid (NaN ₃)	Sigma Aldrich	S8032
Sodyum hidroksit (NaOH)	Sigma Aldrich	221465
Mueller Hinton Agar	Oxoid	CM0337
Mueller Hinton Broth	Oxoid	CM0405
Sabouraud Dextrose Agar	Oxoid	PO0192
Sabouraud Dextrose Broth	Oxoid	CM0147

5.2 Kullanılan Cihaz Listesi

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazlar ve marka bilgileri Çizelge 5.2’de verilmiştir.

Çizelge 5.2 Cihaz listesi

ADI	MARKASI
Elektro-eğirme Ekipmanı	Inovenso NE300
Hassas Terazi	Sartorius CP225D
Manyetik Karıştırıcı	Heidolph MR3001
Çoklu Manyetik Karıştırıcı	2mag MIX 15 eco
UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi	Shimadzu UV-1700
Santrifüj	Beckman Coulter Allegra X-30R
Taramalı Elektron Mikroskop (SEM)	Zeiss EVO® LS 10
Vortex	Heidolph Reax top
Su saflaştırma cihazı	Millipore Milli-Q
ATR FTIR Spektrofotometresi	Shimadzu Prestige-2100

Çizelge 5.2 Cihaz listesi (devamı)

Polikristal XRD Cihazı	PANalytical X'Pert PRO
pH Metre	Hanna Instruments HI83141
Çalkalamalı İnkübatör	Biosan ES-20
Ultrasonik su banyosu	Bandelin Sonorex
Steril Kabin	SafeFast Classic 212

5.3 Kullanılan Çözeltiler

5.3.1 PLGA Çözeltilerinin Hazırlanması

Yapılan çalışmada moleküler ağırlıkları farklı olan iki PLGA kullanılmıştır.

- 76 000-115 000 Da moleküler ağırlığa sahip olan PLGA ile (PLGA 1) %27 kütle/hacim oranında polimer çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için öncelikle 6 mL DMF üzerine 3 mL DCM eklenerek manyetik karıştırıcıda 5 dakika karıştırılmıştır. Elde edilen çözücünün içerisine hassas terazide tartılan 2.43 g PLGA eklenmiştir. Eklenen PLGA'nın tam olarak çözünmesi için çözelti oda sıcaklığında gece boyu manyetik karıştırıcıda 100 rpm hızda karıştırılmıştır.
- 190 000-240 000 Da moleküler ağırlığa sahip olan PLGA ile (PLGA 2) %20 kütle/hacim oranında polimer çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için öncelikle 6 mL DMF üzerine 3 mL DCM eklenerek manyetik karıştırıcıda 5 dakika karıştırılmıştır. Elde edilen çözücünün içerisine hassas terazide tartılan 1.8 g PLGA eklenmiştir. Eklenen PLGA'nın tam olarak çözünmesi için çözelti oda sıcaklığında gece boyu manyetik karıştırıcıda 100 rpm hızda karıştırılmıştır.

Hazırlanan PLGA çözeltileri elektro-eğirme işlemlerinde kullanılmak üzere +4 °C sıcaklıkta saklanmıştır.

5.3.2 Farklı Konsantrasyonlarda CAPE Çözeltilerinin Hazırlanması

CAPE molekülleri için çözücü olarak su ve etanol kullanılarak iki farklı kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Her iki kalibrasyon eğrisi için de 100, 75, 50, 40, 30, 20, 10 ve 5 ppm (mg/L) olmak üzere 8'er adet CAPE çözeltisi hazırlanmıştır. Su ile yapılan kalibrasyon eğrisi için hassas terazide 1 mg olarak tartılan CAPE, 10 mL distile suya eklenerek vorteks yardımıyla çözülmüştür. Böylece elde edilen 100 ppm CAPE/su çözeltisinden uygun seyreltmeler yapılarak kalan 7 adet çözelti hazırlanmıştır. Etanolla yapılan kalibrasyon grafiği için ise aynı işlemler 1 mg CAPE ve 10 mL etanolla gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan tüm çözeltilerin UV-Görünür Bölge Spektrofotometre cihazında 200-800 nm dalga boyu aralığında spektrumları alınmıştır. Elde edilen spektrumlardan molekülün maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu (λ_{max} değeri) tespit edilmiştir. Çözeltiler için λ_{max} değerine karşılık gelen absorbans değerleri okunmuştur ve konsantrasyona karşı absorbans grafikleri çizilmiştir.

5.3.3 PBS Çözeltisinin Hazırlanması

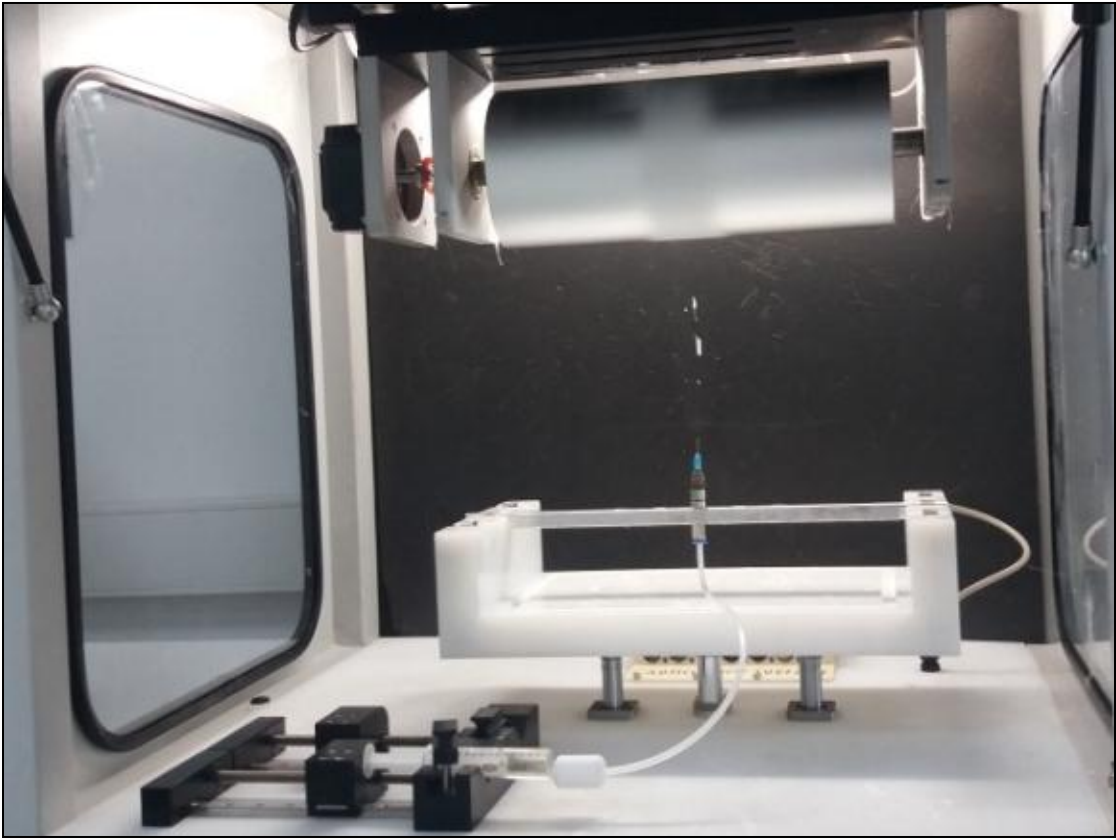
CAPE yüklenen PLGA nano liflerin salım deneyleri pH=7 olan PBS ortamında gerçekleştirilmiştir. PBS (Fosfat Tamponlu Salin) çözeltisi 200 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Bunun için gerekli kimyasallar Çizelge 5.3'te verilen miktarlarda tartılarak 200 mL distile su içerisinde çözülmüştür. Çözünme işleminin daha etkili gerçekleşmesi için PBS çözeltisi sonikatörlü su banyosunda 10 dk sonike edilmiştir. Ardından 0.45 μ M gözenek çapına sahip olan şırınga filtresi yardımıyla süzölmüştür. pH ölçümü yapılarak pH=7 olana kadar 2 Normal NaOH çözeltisi eklenmiştir.

Çizelge 5.3 PBS çözeltisindeki kimyasal miktarları

Kimyasal Adı	PBS Çözeltisindeki Miktarı
Sodyum fosfat monobazik (NaH_2PO_4)	312 mg
Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)	536 mg
Sodyum klorür (NaCl)	1753.2 mg
Sodyum azid (NaN_3)	100 mg

5.4 PLGA Nano Liflerin Üretilmesi

Hazırlanan ve +4 °C'te saklanan PLGA çözeltilerinin her biri iç çapı 16.25 mm olarak ölçülen Set marka plastik şırıngaya doldurulmuştur. Polimer çözeltisi ile dolu olan şırınga Inovenso N300 marka cihazdaki şırınga pompasına yerleştirilerek gerekli ekipmanları yerlerine takılmıştır (Şekil 5.1). Elektro-eğirme işlemlerinde 23G'lik paslanmaz çelik iğneler kullanılmıştır. Elektro-eğirme işleminde kullanılan alüminyum folyo kaplı silindirik toplayıcı 200 rpm hızında döndürülmüştür. İğne ucu ve toplayıcı arasındaki mesafe 150 mm olacak şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 5.1 Bu çalışmada elektro-eğirme işlemleri için kullanılan düzenek

76 000-115 000 Da Ma'lı PLGA (PLGA 1) ve 190 000-240 000 Da Ma'lı PLGA (PLGA 2) ile yapılan elektro-eğirme işlemlerinde kullanılan parametreler Çizelge 5.4'te özetlenmiştir.

Çizelge 5.4 Elektro-eğirme işlemlerinde belirlenen parametreler

PARAMETRE ADI	PLGA 1	PLGA 2
Çözelti besleme hızı	0.5 mL/sa	0.9 mL/sa
Yüksek voltaj	14 kV	15 kV
İğne ucu-toplayıcı mesafesi	150 mm	150 mm
Toplayıcı dönüş hızı	200 rpm	200 rpm
Toplam çözelti	9 mL	9 mL
Polimer/çözücü oranı (%)	27	20

Çözeltiler bittikten sonra silindirik toplayıcının üzerindeki alüminyum folyo kaldırılarak üzerindeki malzeme ile birlikte vakum etüvde bir gece boyunca kurumaya bırakılmıştır. Ardından karakterizasyon çalışmalarında kullanılmak üzere +4 °C’te saklanmıştır.

5.5 Nanofiber Yapıdaki Malzemeye CAPE Yüklenmesi

Elektro-eğirme ile elde edilen malzemedan püskürtme ve damlatma işleminde kullanılmak üzere 4x4 cm² alanında 2 adet kare kesilmiştir. 8 mg CAPE hassas terazide tartılarak 320 µL etil alkolde çözülmüştür. Hazırlanan çözeltinin 160 µL’si mikropipetle çekilerek kare parçalardan birinin üzerine tüm yüzeyini kaplayacak şekilde damlatılmıştır. Hazırlanan malzeme oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Aynı çözeltiden kalan 160 µL CAPE çözeltisi kare şeklindeki diğer parçaya püskürtme yolu ile yüklenmiştir. Püskürtme yapılan parça da oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

5.6 Yapılan Karakterizasyon Çalışmaları

5.6.1 SEM Analizi ile Fiber Morfolojisinin İncelenmesi

Bu çalışmada fiberlerin görüntülenmesi için YTU Merkez Laboratuvar bünyesindeki Zeiss EVO® LS 10 marka cihaz kullanılmıştır. PLGA 1 ve PLGA 2 ile üretilen elektro-eğirilmiş malzemeler SEM cihazında görüntülenerek fiber morfolojileri analiz edilmiştir. Bunun

için malzemelerin her birinden uygun büyüklükte parçalar kesilerek iletken bant yardımıyla numune yerleştirme aparatına yapıştırılmıştır. Numuneler kaplama cihazına koyularak Au-Pd alaşımıyla 10 dk kaplanmıştır. Kaplama işleminin ardından SEM cihazına yerleştirilen numunelerin uygun büyütmelemlerle görüntülenmesi gerçekleştirilmiştir. SEM analizi sonrasında üretilen membranların lif kalitesi karşılaştırılmıştır. Daha uygun lif morfolojisi elde edilen polimer ile (PLGA 2) ayrıca malzeme kalınlığı ölçümü yapılmış ve ileriki çalışmalar PLGA 2 ile devam ettirilmiştir.

5.6.2 ATR FTIR Spektroskopisi

ATR FTIR spektroskopisi; boş PLGA nano lifler, damlatılarak CAPE yüklenen PLGA nano lifler, püskürtülerek CAPE yüklenen nano lifler ve toz haldeki CAPE olmak üzere 4 adet numune ile gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında önce arka plan olarak hava alınmış ardından örnek yerleştirilerek 600-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında örnek başına 16 tarama ile ölçüm yapılmıştır. Cihazdan alınan verilerle tüm örneklerin karşılaştırmalı olarak dalga sayısı-geçirgenlik grafikleri çizilmiştir.

5.6.3 XRD Analizi

XRD analizi, ATR FTIR spektroskopisi yönteminde olduğu gibi dört adet numune ile gerçekleştirilmiştir: toz haldeki CAPE, boş PLGA nano lifler, damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano lifler, püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano lifler. Membranların XRD analizinde ince film detektöründen yararlanılmıştır. XRD analizlerinde X-ışını kaynağı olarak Cu tüp kullanılmıştır. Tarama hızı $1^\circ/\text{dk}$ olarak ayarlanmış ve 2θ açısında $5-32^\circ$ bölgesinde tarama yapılmıştır [82]. XRD analizinden elde edilen sonuçlar ile tüm örneklerin karşılaştırmalı olarak XRD paternleri çizilmiştir.

5.6.4 Yükleme Verimi

CAPE yüklenen malzemelerde damlatılan ve püskürtülen CAPE'nin ne kadarının malzemede kaldığının belirlenmesi için yükleme verimi deneyi yapılmıştır. CAPE yüklenen iki adet $4 \times 4 \text{ cm}^2$ alanındaki malzemelerden $2 \times 2 \text{ cm}^2$ kesilmiş daha sonra bunlar küçük parçalara ayrılarak 2 mL'lik santrifüj tüpüne atılmıştır. Üzerlerine 1'er mL etanol eklenerek UV-Görünür Bölge Spektrofotometresinde ölçüm yapılmış ve 330 nm dalga

boyundaki absorbans değerleri kaydedilmiştir. Daha sonra etanolleri alınarak malzemelerin üzerine taze etanol eklenmiş ve bu işlemler birkaç kez tekrarlanmıştır. Tekrarlar sonucunda absorbansların sıfıra yaklaşmasıyla işlem sonlandırılmıştır. Tüm absorbans değerleri kalibrasyon eğrisi kullanılarak konsantrasyona çevrilmiş ve her bir malzeme için toplam konsantrasyon ve toplam yüklenen CAPE mg cinsinden belirlenmiştir. Son olarak Eşitlik (5.1) kullanılarak yükleme verimi yüzde olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Yükleme Verimi (\%)} = \frac{\text{Hesaplanan CAPE (mg)}}{\text{Başlangıçta Yüklenen CAPE (mg)}} \times 100 \quad (5.1)$$

5.6.5 CAPE Salımı

CAPE yüklenen malzemelerin içerdikleri CAPE moleküllerini ne kadar sürede ve nasıl bir profille saldıklarının belirlenmesi için etken madde salım deneyi yapılmıştır. Bunun için sodyum azid içeren ve pH=7 olan bir PBS tamponu hazırlanmıştır. Hazırlanan tampon 2 mL'lik santifüj tüplerine birer mL olacak şekilde konulmuştur. PBS'lerin içirisine CAPE damlatılmış ve püskürtülmüş malzemedan 4'er cm² konulmuştur. Hazırlanan salım ortamları 37 °C sıcaklıkta ve 100 rpm karışma hızında çalkalamalı inkübatörde bekletilerek belirli zamanlarda UV ölçümleri yapılmıştır. UV ölçümü için santrifüj tüpündeki PBS' in tamamı alınarak yerine taze PBS eklenmiştir. UV cihazında yapılan ölçümler sonucunda 324 nm dalga boyundaki absorbans değerleri kaydedilmiş ve kalibrasyon eğrisi yardımıyla elde edilen absorbans değerleri konsantrasyona çevrilmiştir. Eşitlik (5.2) kullanılarak kümülatif salım yüzdeleri hesaplanmıştır ve zamana karşı kümülatif salım grafikleri çizilmiştir.

$$\text{Kümülatif Salım (\%)} = \frac{\text{Toplam salınan CAPE (mg)}}{\text{Başlangıçta Yüklenen CAPE (mg)}} \times 100 \quad (5.2)$$

5.6.6 şişme

Elektro-eğirme ile üretilen ve nano kalınlıkta liflerden oluşan malzemenin sıvı absorplama yeteneğinin belirlenmesi için şişme testi yapılmıştır. Bu amaçla, PLGA membrandan dikdörtgen şeklinde bir parça kesilerek pH=7 olan PBS tamponunun içirisinde bekletilmiştir. Belirli zamanlarda malzeme PBS'in içinden çıkartılıp kağıt havluya bastırılarak fazla sıvısı alınmış ve hassas terazide tartılmıştır. Eşitlik (5.3)

kullanılarak nano liflerin sıvıyı emme oranı belirlenmiş ve zamana bağlı şişme yüzdesi grafiği çizilmiştir.

$$\text{Şişme (\%)} = \frac{\text{Şişme sonucu ağırlık (mg)}}{\text{Başlangıçtaki ağırlık (mg)}} \times 100 \quad (5.3)$$

5.6.7 Antioksidan Etkinlik Belirleme Testi

CAPE yüklenen ve yüklenmeyen PLGA nano liflerin reaktif oksijen türlerini (ROT)süpürme oranı DPPH yöntemiyle test edilmiştir [83]. Bu yöntemde, öncelikle etanolle 100 µM DPPH çözeltisi hazırlanmıştır. 3 adet santrifüj tüpüne 1'er mL DPPH çözeltisi konularak üzerlerine sırasıyla boş PLGA, damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen ve püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen nano lifler konulmuştur. Tüm deney test örnekleri karanlıkta ve oda sıcaklığı koşullarında 30 dk bekletilmiş ve ardından UV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. UV ölçümü sonucunda 517 nm dalga boyundaki absorbands değerleri kaydedilerek aşağıdaki fomülle antioksidan aktivite yüzdeleri hesaplanmıştır (5.4).

$$\text{Antioksidan Etkinlik (\%)} = \frac{A-B}{A} \times 100 \quad (5.4)$$

Eşitlik (5.4)'te A ve B sırasıyla; kontrol olarak kullanılan DPPH çözeltisinin ve örnekle 30 dk muamele edilmiş DPPH çözeltisinin 517 nm'de göstermiş oldukları absorbands değerlerini ifade etmektedir.

5.6.8 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Bu tez çalışmasında CAPE yüklü yara örtü malzemelerinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon testi ve zamana bağlı ölüm metodu (time kill) olmak üzere iki yöntemle incelenmiştir. Her iki yöntemle değerlendirmek üzere Gram (+) bakteri türü olarak *S. aureus*, Gram (-) bakteri olarak *P. aeruginosa*, fungus türü olarak ise *C. albicans* seçilmiştir.

Yıldız Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Laboratuvarında bulunan stok kültürlerden alınan mikroorganizmalar (*S. aureus* ve *P. aeruginosa* bakterileri) Mueller Hinton Agar besiyerinde geliştirildikten sonra öze ile tek koloni alınarak 37 °C etüvde 16-18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda elde edilen çalışma kültürünün hücre sayısı spektrofotometre ile OD₅₆₀ değeri 0.1-0.2 olacak şekilde ayarlanmıştır (McFarland 10⁸ CFU/mL) [47], [81].

C. albicans çalışma kültürü ise Sabouraud Dekstroz Broth (SDB) içerisine öze yardımıyla alınan bir koloninin 37 °C 200 rpm'de çalkalayıcı etüvde inkübasyonu sonrasında spektrofotometre cihazında OD₅₆₀ nm'de %geçirgenlik değeri 65 olacak şekilde hazırlanmıştır (McFarland 10⁸ CFU/mL) [47], [81].

Disk difüzyon testi yönteminde; tez çalışmasında üretilen CAPE yüklenmiş PLGA nano lifler ve CAPE içermeyen PLGA nano liflerin antimikrobiyal etkisi EUCAST/Ocak 2019 standartı modifiye edilerek değerlendirilmiştir. Özetle, mikroorganizma çalışma kültürlerinden alınan 100 µl'lik sıvı besiyeri Mueller Hinton Agar (MHA) ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyeri yüzeyine steril bir swap yardımıyla yayılmıştır. İlgili petri 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra yüzeyine üretilen yara örtü malzemelerinden 4 cm² alanında kare şeklinde kesitler alınarak yerleştirilmiştir. Petri 37 °C sıcaklıkta 18±2 saat süresince inkübasyona tabi tutularak inkübasyon sonucunda malzemelerin etrafındaki inhibisyon zonları değerlendirilmiştir [82].

Bu çalışmada değerlendirilen deney test örnekleri ve kontrol grupları şunlardır:

- i) PLGA nano lifler
- ii) Damlatma yöntemiyle CAPE yüklenmiş PLGA nano lifler
- iii) Püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenmiş PLGA nano lifler

Zamana bağlı ölüm metodu ise; steril cam tüplerin içerisine yerleştirilen test örneklerinin üzerine 5 mL steril sıvı besiyeri (MHA ve SDA) ilave edildikten sonra 10⁵ hücre/mL olarak ayarlanmış olan mikroorganizma çalışma kültürlerinde 500 µl alınarak ortama eklenmiştir. Sonrasında cam tüpler çalkalamalı inkübatörde 37 °C'te inkübasyona bırakılarak belirlenen zaman aralıklarında (0, 2, 4, 8, 16 ve 24. saat) 100 µL numune alınarak spektrofotometrik ölçümlerle turbidimetrik ve standart petri sayım yöntemiyle de canlı koloni sayısı olarak değerlendirme yapılmıştır [52].

Bu çalışmada değerlendirilen deney test örnekleri ve kontrol grupları ise şunlardır:

- i) Damlatma yöntemiyle CAPE yüklenmiş yara örtü malzemesi (4 cm² kesit alınmıştır.)
- ii) PLGA nano lifler (4 cm² kesit alınmıştır.)
- iii) Etanol emdirilmiş PLGA nano lifler (4 cm² kesit alınmıştır.)
- iv) Sadece ilgili organizmayı içeren sıvı besiyeri

Standart petri sayım yöntemiyle belirlenen canlı koloni sayıları kullanılarak CAPE yüklü yara örtü malzemesinin mikroorganizma büyüme inhibisyonu yüzde olarak aşağıdaki fomülle hesaplanmıştır (5.5).

$$\text{Büyüme inhibisyonu (\%)} = \frac{B-A}{B} \times 100 \quad (5.5)$$

Eşitlik (5.5)'te B; yalnızca mikroorganizma içeren tüpteki canlı mikroorganizma sayısını, A; CAPE yüklü yara örtü malzemesini içeren tüpteki canlı mikroorganizma sayısını ifade etmektedir.

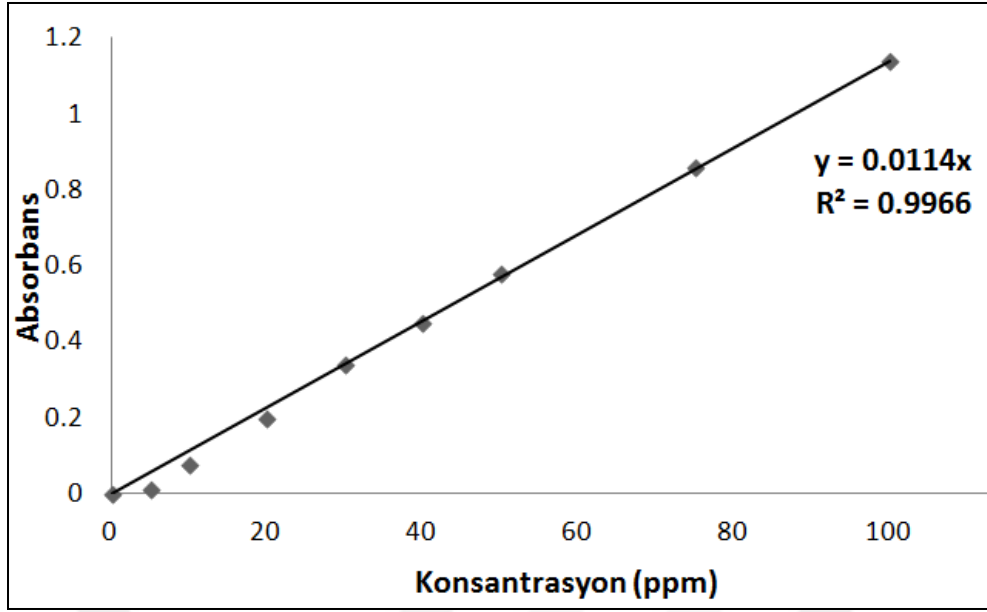


SONUÇ VE ÖNERİLER

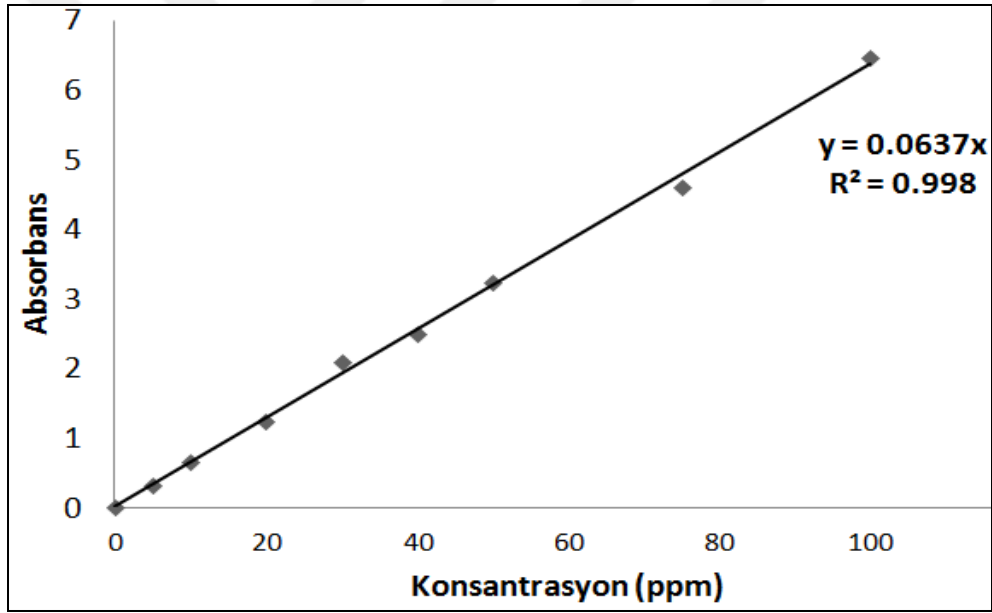
6.1 CAPE Molekülüne Ait Kalibrasyon Eğrileri

CAPE moleküllerinin hem suda hem de alkolde 8 farklı çözeltisi hazırlanarak UV ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri ile kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Şekil 6.1’de çözücü olarak su kullanıldığında çizilen kalibrasyon eğrisi ve bu eğrinin R^2 değeri ile doğru denklemi verilmiştir. CAPE-Su çözeltilerine ait kalibrasyon eğrisi salım çalışmalarında PBS ortamına salınan CAPE miktarının belirlenmesi için kullanılmıştır. Şekil 6.2’de ise çözücü olarak etanol kullanılarak hazırlanan kalibrasyon eğrisi ve bu eğriye ait R^2 değeriyle doğru denklemi verilmiştir. CAPE-Etanol çözeltilerine ait kalibrasyon eğrisi yükleme verimi çalışmalarında PLGA nano liflere yüklenen CAPE miktarının belirlenmesi için kullanılmıştır.

Şekil 6.1 ve Şekil 6.2’de bulunan kalibrasyon eğrilerine bakıldığında çözücü olarak alkol kullanıldığında absorbtivitenin daha yüksek olduğu görülmektedir. CAPE, hidrofobik bir molekül olduğundan alkolde yüksek çözünürlük göstermekte, böylece düşük konsantrasyonlarda göreceli olarak yüksek absorbans verebilmektedir [52].



Şekil 6.1 CAPE-Su Çözeltilerine Ait Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 6.2 CAPE-Etanol Çözeltilerine Ait Kalibrasyon Eğrisi

6.2 PLGA Nano Liflerin Üretilmesi

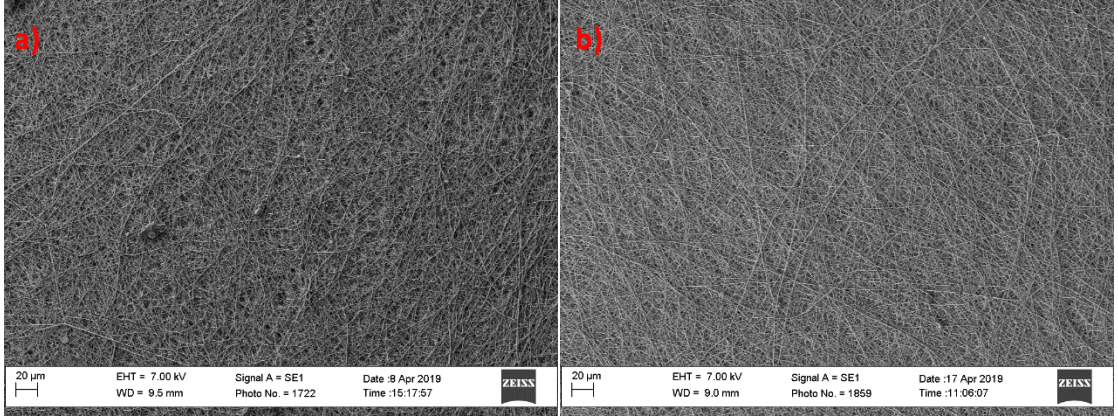
Yapılan çalışmada PLGA 1 ve PLGA 2 polimerleri kullanılarak elektro-eğirme işlemi gerçekleştirilmiştir. İki polimer için de çözücü olarak DMF:DCM (2:1) kullanılmıştır. İlgili literatürde PLGA'nın çözücüsü olarak farklı oranlarda DMF:DCM kullanılmıştır [84]. Yapılan elektro-eğirme işlemleri sırasında polimer jetinin (Taylor konisi) stabil olduğu gözlemlendiğinden kullanılan çözücü oranlarının yapılan işlem için uygun olduğu düşünülmektedir. Elektro-eğirme işleminden sonra üretilen malzeme çözücünün

tamamen uzaklaşması için vakum etüvde bir gece kurutulmuştur. Kurutma sonrasında ise +4 °C'te saklanmıştır.

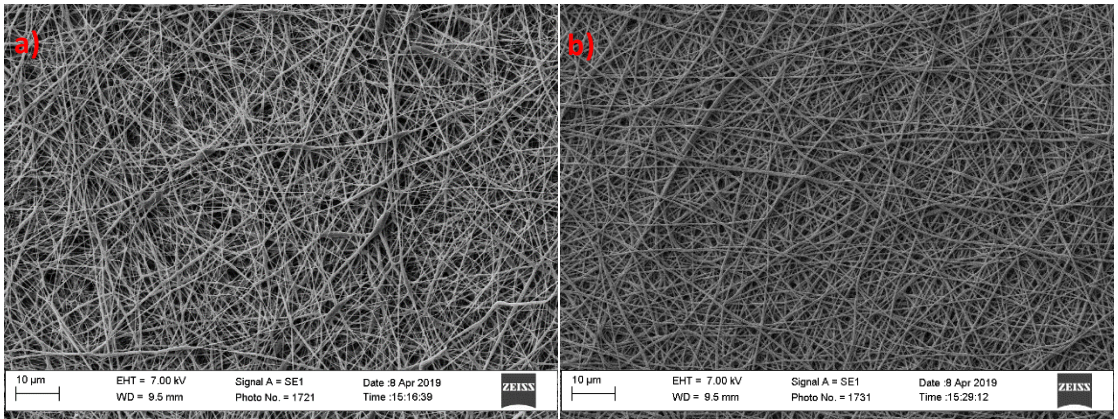
6.3 Üretilen Malzemenin Karakterizasyonu

6.3.1 SEM Analizi ile Fiber Morfolojisinin İncelenmesi

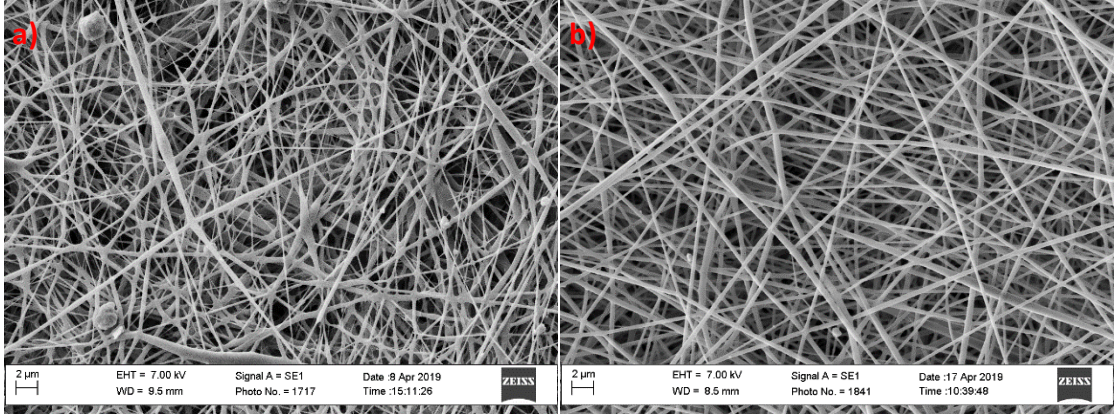
Yapılan tez çalışması kapsamında üretilmiş olan yara örtü malzemelerinin fiber dağılımı, fiber morfolojisi ve çaplarının belirlenmesi amacıyla SEM görüntüleri alınmıştır. PLGA 1 ve PLGA 2 kullanılarak üretilen nano lifli yapıların SEM analizlerinde 500x (Şekil 6.3), 2000x (Şekil 6.4), 5000x (Şekil 6.5) ve 10000x (Şekil 6.6) büyütme gerçekleştirelerek karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.



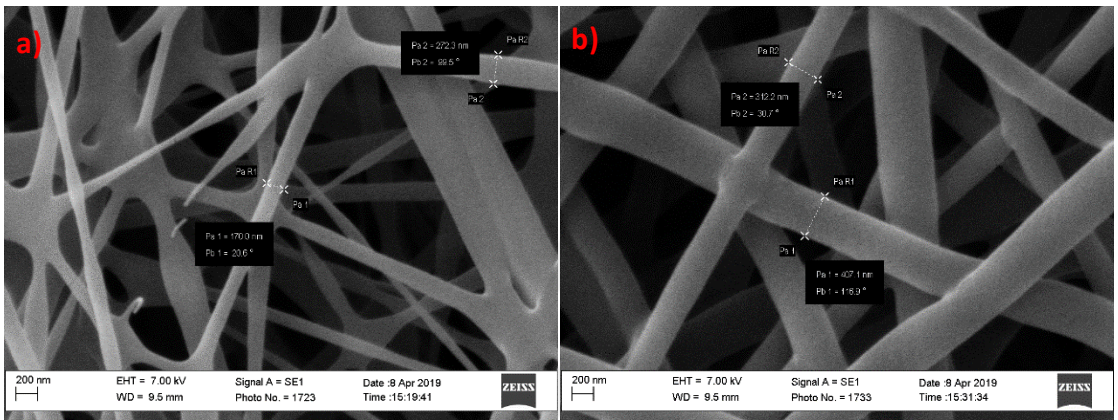
Şekil 6.3 a) PLGA 1 ve b) PLGA 2 ile üretilen fiberlerin 500x büyütmede SEM görüntüleri



Şekil 6.4 a) PLGA 1 ve b) PLGA 2 ile üretilen fiberlerin 2000x büyütmede SEM görüntüleri



Şekil 6.5 a) PLGA 1 ve b) PLGA 2 ile üretilen fiberlerin 5000x büyütmede SEM görüntüleri

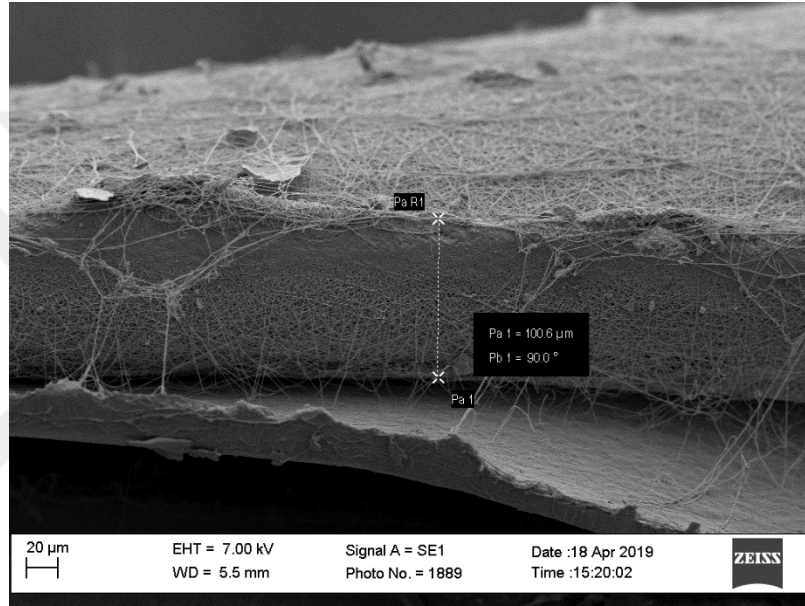


Şekil 6.6 a) PLGA 1 ve b) PLGA 2 ile üretilen fiberlerin 10000x büyütmede SEM görüntüleri ve fiber çapları

Verilen görüntülere göre PLGA 1’de boncuklu yapıların oluştuğu ve fiberlerin birbirine yapışmış olduğu görülmektedir. Fiberler bazı bölgelerde düzgün silindir şeklinde olmadığından ve kopmalar görüldüğünden fiber çaplarının stabil olmadığı anlaşılmaktadır. Rastlantısal olarak belirlenen bir bölgedeki fiber çaplarına bakıldığında çapların 170-270 nm arasında olduğu tespit edilmiştir. PLGA 2’ye ait SEM görüntüleri incelendiğinde liflerin düzgün silindir şeklinde ve birbirlerinden ayrık olduğu görülmektedir. Fiber çapları tüm bölgelerde birbirine yakın olmakla birlikte 310-410 nm olarak tespit edilmiştir. Literatürde yapılan benzer çalışmalarda PLGA ile üretilen nano liflerin çapları 300-900 nm arasında değişmektedir [57], [82], [85]. Bu çalışmada üretilen nano liflerin çapları literatürle uyumlu bulunmuştur. PLGA 1’e göre daha yüksek fiber çapı tespit edilmesine rağmen yönelimli, düzgün ve tamamen kuru lifler elde edilmiş olduğundan PLGA 2’nin yara örtü malzemesi olarak daha uygun olduğu düşünülmüş ve

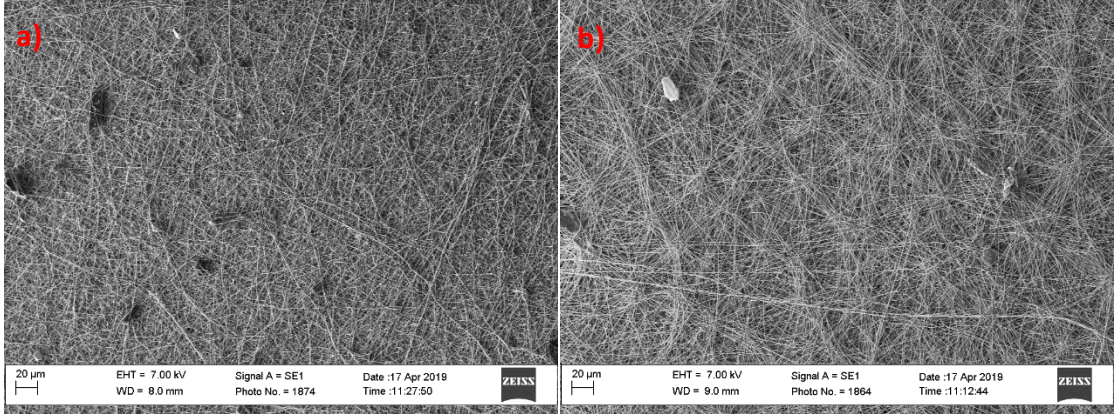
bu aşamadan sonraki çalışmalar PLGA 2 kullanılarak üretilen nano liflerle gerçekleştirilmiştir.

Yara örtü malzemelerinde üretilen malzemenin kalınlığı elektro-eğirme süresine ve kullanılan polimer çözeltisi miktarına göre değişmektedir. PLGA 2 ile üretilen nano kalınlıkta fiberlerden oluşan malzemenin kalınlığının belirlenmesi için malzemenin enine kesit alınarak hazırlanan örnek, numune tablasına dik olarak yerleştirilmiştir. Yapılan analiz sonucunda malzeme kalınlığı 100.6 μm olarak bulunmuş ve SEM görüntüsü Şekil 6.7’de verilmiştir.

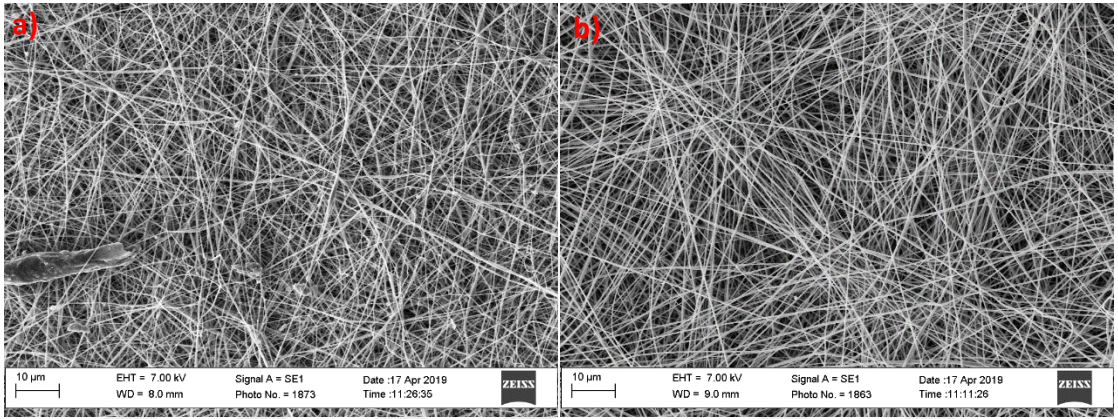


Şekil 6.7 PLGA 2 ile üretilen nano kalınlıkta fiberlerden oluşan malzemenin kalınlık ölçümüne ait SEM görüntüsü ve malzeme kalınlığı

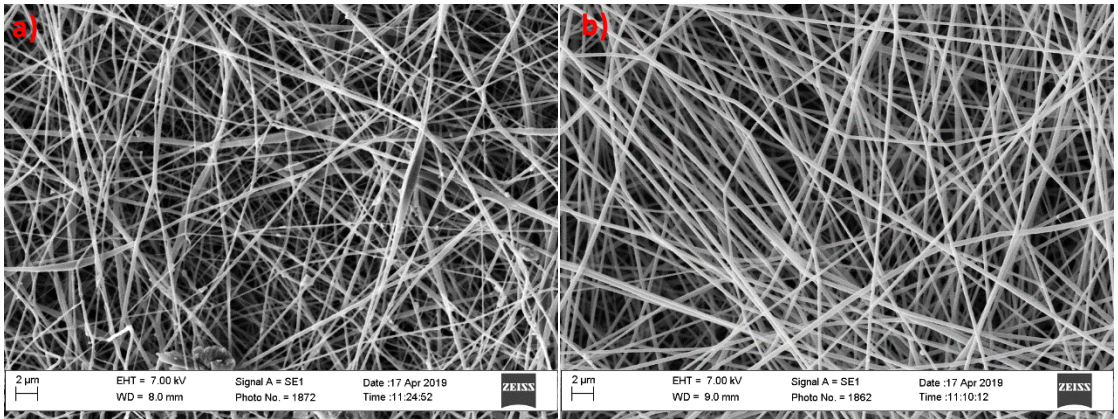
Bu çalışmada, PLGA 2 ile üretilen nano liflere damlatma ve püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenmiştir. CAPE yüklü PLGA 2 nano liflerin SEM görüntüleri 500x (Şekil 6.8), 2000x (Şekil 6.9), 5000x (Şekil 6.10) ve 10000x (Şekil 6.11) büyütmelerde alınarak CAPE yükleme yönteminin fiber morfolojisine etkisi incelenmiştir. Şekil 6.11a’da CAPE moleküllerinin bir araya gelerek oluşturduğu partiküller oklarla gösterilmiştir.



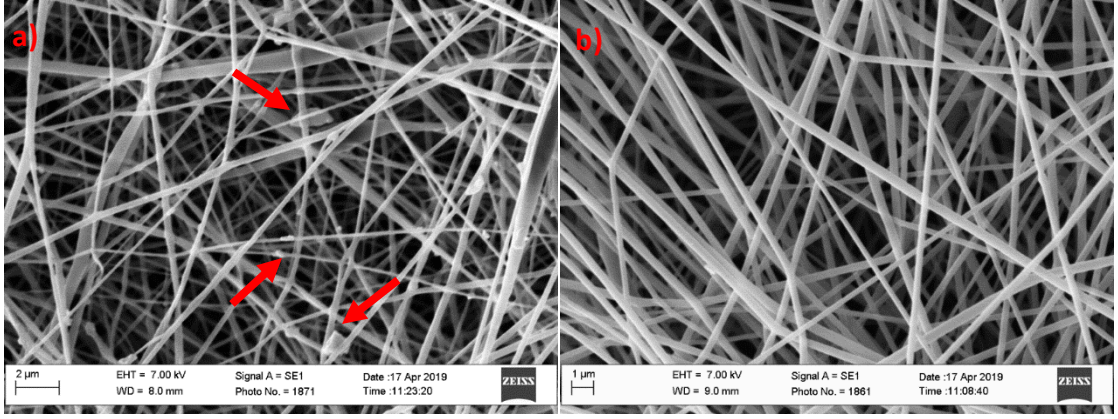
Şekil 6.8 a) Damlatma ve b) püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen fiberlerin 500x büyütmede SEM görüntüleri



Şekil 6.9 a) Damlatma ve b) püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen fiberlerin 2000x büyütmede SEM görüntüleri



Şekil 6.10 a) Damlatma ve b) püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen fiberlerin 5000x büyütmede SEM görüntüleri



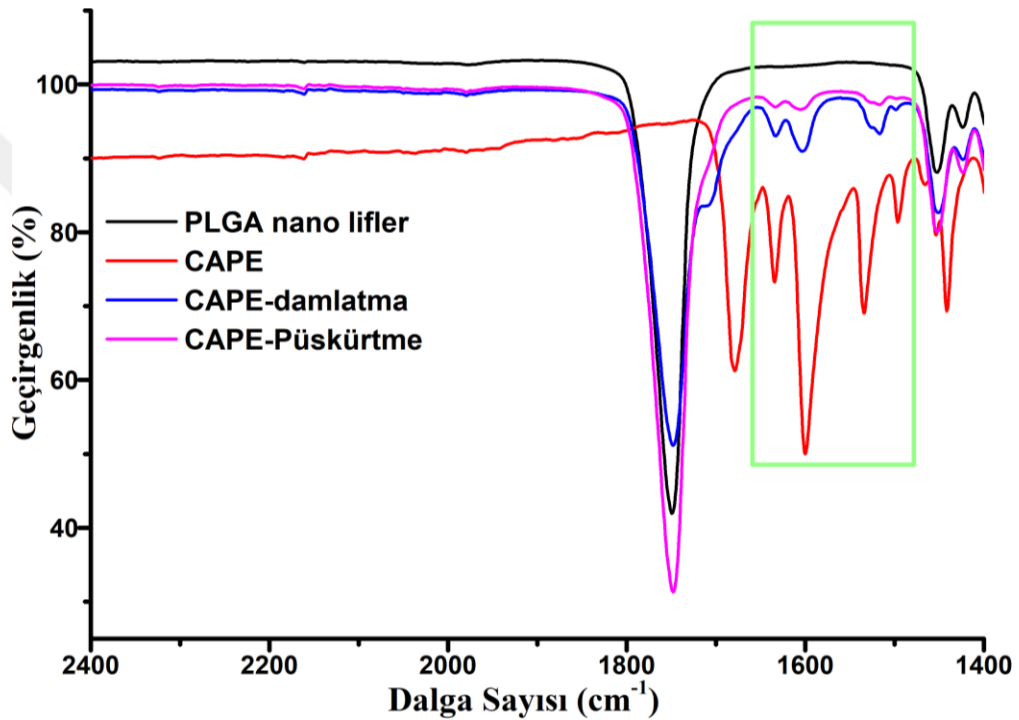
Şekil 6.11 a) Damlatma ve b) püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen fiberlerin 10000x büyütmede SEM görüntüleri

SEM görüntüleri incelendiğinde; püskürtme yönteminde liflerin belirli bölgelerde birbirine yaklaştığı ve yönelim gösterdiği görülmektedir. Püskürtme yönteminde havada dağılarak damlacıklar halinde nano liflere ulaşan CAPE çözeltisi temas ettiği bölgedeki lifleri birbirine yaklaştırarak yönelim göstermelerine sebep olmuştur. CAPE çözeltisinin lifler tarafından emilmesi sonucu temas ettiği bölgelerdeki liflerin çapında artış olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak heterojen özellikte bir lif görüntüsü oluşmuştur. Bunun sebebinin; nano liflerin CAPE çözeltisinin temas ettiği bölgelerde çözeltiyi absorplaması sonucu çaplarının büyümesi olduğu anlaşılmaktadır. Bu durumun, daha homojen yükleme yapılmasına imkan veren yöntemler kullanılarak elimine edilebileceği düşünülmektedir. Damlatma yönteminde liflere yüklenen CAPE moleküllerinin bir araya gelerek nano ve mikro boyutlarda parçacıklar haline gelmiş olduğu görülmektedir. Şekil 6.11a'da oklarla gösterilmiş olan nano ve mikro boyuttaki CAPE partikülleri liflerin arasına ve iç kısımlara dağılmıştır. İç kısımlardaki partiküllerin liflerden daha zor ayrılması beklenmektedir. Salım çalışmalarında damlatma yönteminde daha yavaş bir salım profilinin görülmüş olması SEM görüntülerini destekler niteliktedir.

6.3.2 ATR FTIR Spektroskopisi

Toz haldeki CAPE, PLGA nano lifler, damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano lifler ve püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano lifler karşılaştırmalı olarak FTIR spektrofotometresiyle analiz edilmiştir. Şekil 6.12'de tüm örneklerin FTIR spektrumları karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Şekil 6.12'de; 1632 cm^{-1} , 1596 cm^{-1} ve 1535 cm^{-1} bölgelerinde CAPE'ye ait IR titreşim bantları görülmektedir. Bu bölgelerde bulunan titreşim bantları CAPE'nin yapısındaki C=C bağlarına aittir [86]. Söz konusu bölgelerde PLGA, titreşim bantı göstermemiştir. C=C bağlarına ait bantların hem püskürtme hem de damlatma ile CAPE yüklenen PLGA nano liflerde görülmesi CAPE'nin başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir. Ancak bu bölgede damlatma yöntemindeki titreşim bantlarının şiddeti püskürtme yöntemine göre daha yüksek olmuştur. Bu sonuç, damlatma yönteminde taşınan CAPE miktarının püskürtme yöntemine göre yüksek olduğunu göstermektedir.



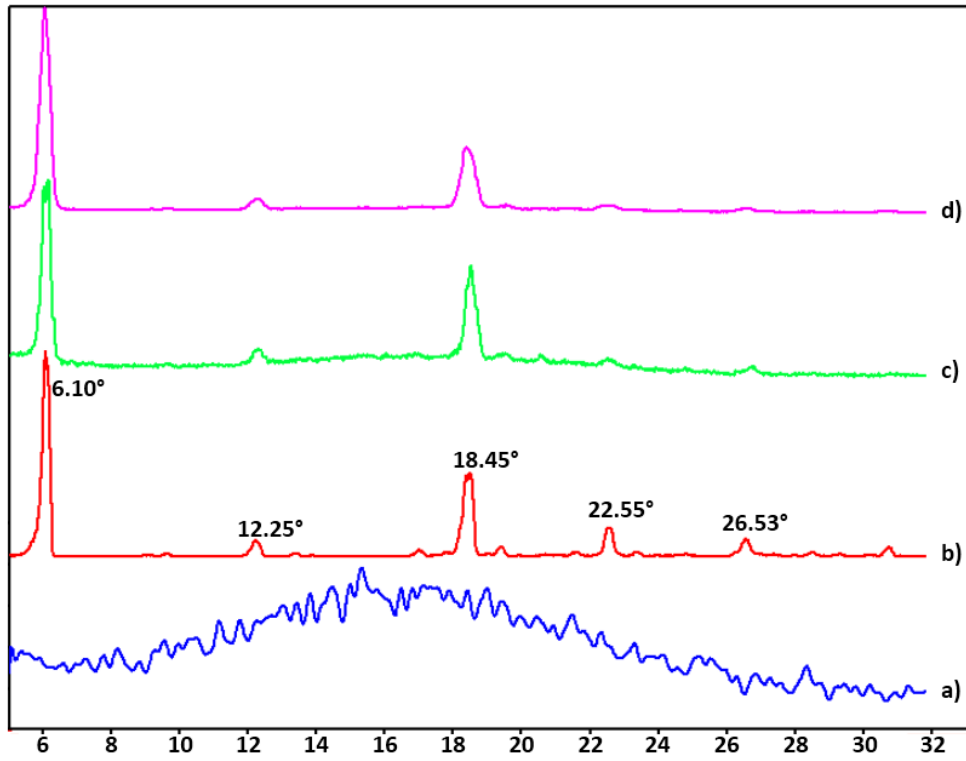
Şekil 6.12 PLGA, CAPE, Damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen malzeme ve Püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen malzemeye ait ATR FTIR spektrumları

6.3.3 XRD Analizi

Tez çalışması kapsamında yapılan XRD analizi 2θ açısında $5-32^\circ$ arası taranarak gerçekleştirilmiştir. Yapılan analiz sonucunda elde edilen X-ışını kırınım paternleri Şekil 6.13'te karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Şekil 6.13a'da görüldüğü gibi PLGA'ya ait XRD pikleri düşük şiddettedir ve sayıları oldukça fazladır. Bunun sebebi; PLGA'nın amorf bir malzeme olmasından dolayı atomlarının belirli bir geometrik dizilime sahip olmaması dolayısıyla da X-ışınlarını ölçülebilir bir kırınıma uğratamamasıdır. [82]. CAPE molekülü ise kristal yapıda olduğundan [87] atomları belirli bir geometrik dizilime sahiptir.

CAPE'nin kristal yapısındaki atomlarının X-ışınlarını kırınımına uğratmasıyla X-ışınlarında meydana gelen değişimler sonucu oluşan keskin pikler Şekil 6.13b'de görülmektedir.

CAPE yüklü PLGA nano liflere ait XRD paternleri incelendiğinde hem CAPE'ye ait olan 6.10° , 12.25° , 18.45° , 22.55° ve 26.53° bölgelerindeki pikler hem de PLGA polimerine ait amorf pik bölgeleri görülmektedir (Şekil 6.13c ve Şekil 6.13d). Bu sonuç nano liflere CAPE molekülünün başarı ile yüklendiğini ve nano liflerin gerek CAPE ve gerekse PLGA morfolojisine sahip olduğunu göstermektedir. Damlatma yöntemi ve püskürtme yöntemi ile CAPE yüklenen PLGA nano liflerin XRD pikleri karşılaştırıldığında ise damlatma yönteminde pik morfolojisinin daha keskin olduğu görülmektedir. Damlatma yönteminde etken madde yükleme verimi püskürtme yöntemine göre daha yüksek olduğundan nano liflerde daha fazla CAPE molekülü taşınması sonucunda, X-ışınlarını kırınımına uğratma şiddeti de daha yüksek olmuştur.



Şekil 6.13 a) PLGA nano lifler, b) CAPE, c) damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano lifler ve d) püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano liflere ait XRD paternleri

6.3.4 Yükleme Verimi

Yapılan çalışmada yükleme verimleri hesaplanırken her iki yöntemle CAPE yüklenen malzemelerden 4 cm^2 alanında birer adet parça kullanılmıştır. Kesilen parçalarda

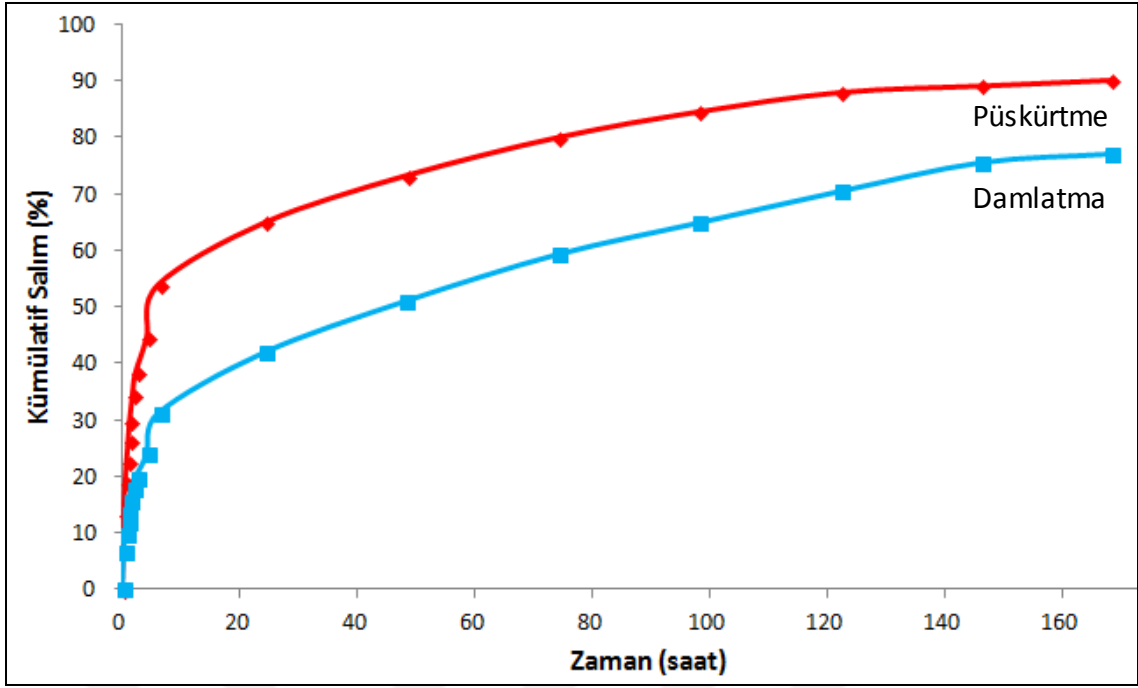
bulunan CAPE miktarı başlangıçta yüklenen CAPE miktarına oranlanarak yükleme verimi bulunmuştur. Damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen malzeme ile yapılan deney sonucunda 4 cm² alana 0.86 mg CAPE yüklendiği hesaplanmıştır. 4 cm² alana 1 mg CAPE düşecek şekilde yükleme yapıldığından yükleme verimi **%86** olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç; Chen ve arkadaşlarının yapmış olduğu PLGA nano liflere antikanser ajan emdirilmesi ile ilgili çalışmada elde edilen yükleme verimi ile benzerlik göstermektedir [82].

Püskürtme yönteminde ise yükleme verimi **%58** olarak hesaplanmıştır. Bu oran, Vashisth ve arkadaşlarının 2016 yılında yapmış oldukları çalışmadan elde edilen yükleme verimi ile uyumlu bulunmuştur [88]. Damlatma yönteminde püskürtmeye göre daha yüksek yükleme verimi elde edilmiştir. Damlatma yönteminde CAPE çözeltisi direkt olarak nano liflerin üzerine emdirilmektedir. Püskürtme yönteminde ise CAPE çözeltisi damlacıklar halinde nano liflerin yüzeyine ulaşmaktadır. Bu nedenle püskürtme yönteminde madde kaybının daha fazla olduğu düşünülmektedir.

6.3.5 CAPE Salımı

Damlatma ve püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen yara örtülerinin CAPE'yi salım profilleri PBS ortamında 7 gün (168 saat) boyunca incelenmiştir. Belirli zaman aralıklarında (0, 15, 30, 45. dakikalar ve 1, 24, 48, 72, 96, 120, 144 ve 168. saatler) örnek alınarak UV ölçümleri yapılmış ve kalibrasyon eğrisi yardımıyla örneklerin konsantrasyonu hesaplanmıştır. Şekil 6.14'te her iki yöntemle CAPE yüklenen yara örtülerinin zamana bağlı kümülatif salım yüzdesi grafikleri gösterilmiştir.

Salım deneyleri sonucunda damlatma ve püskürtme ile CAPE yüklenen malzemelerde bulunan CAPE miktarının 7 günde sırasıyla %77'si ve %90'ı PBS ortamına salınmıştır. Bu oranlar, Meng ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile [89] benzerlik göstermemektedir. Meng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PLGA nano liflere yüklenen etken maddenin 12 saat sonunda tamamının salındığı rapor edilmiştir. Söz konusu literatürde bu çalışma ile benzer moleküler ağırlığa sahip PLGA kullanılmasına karşın etken madde salımı daha hızlı gerçekleşmiştir. Literatür çalışmasında kullanılan etken maddenin (Fenbufen) hidrofilitésinin yüksek olmasından dolayı CAPE'ye göre daha hızlı salım gösterdiği düşünülmektedir.



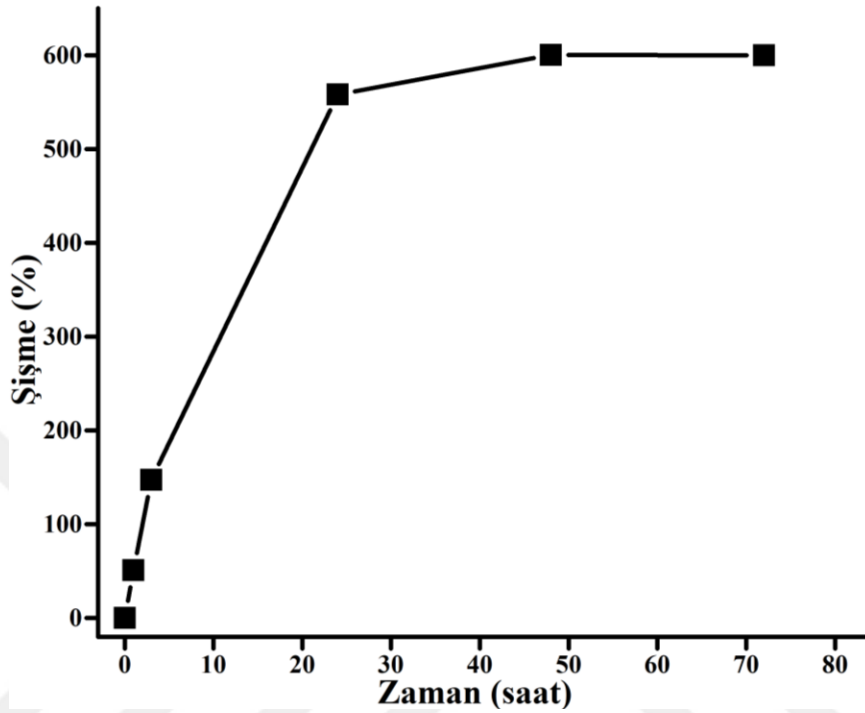
Şekil 6.14 Damlatma ve Püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen yara örtülerinin salım grafikleri

Yapılan tez çalışmasında görülmüştür ki damlatma yönteminde daha yavaş bir salım olmasına rağmen püskürtme yönteminde hızlı ve daha yüksek oranda salım gerçekleşmektedir. Püskürtme yönteminde verim damlatmaya göre oldukça düşük olmasına rağmen bu yöntemde salım daha hızlı olmuştur. Damlatma yönteminde mikro pipetle çözelti halinde malzemenin yüzeyine direkt bırakılan CAPE molekülünün sadece yüzeyde kalmayıp iç kısımlardaki fiberlere dağılmış olduğu düşünülmektedir. Aksine püskürtme yönteminde çözelti malzemenin yüzeyine havada dağılarak damlacıklar halinde ulaştığından iç kısımlara inmeden buharlaşmaya başlamış olduğu düşünülmektedir. SEM görüntüleri de bu durumu destekler niteliktedir (Şekil 6.11).

6.3.6 Şişme

Yüksek sıvı absorplama yeteneği, yara örtülerinde aranan en önemli özelliklerden biri olarak görülmektedir. Eksuda yani yara sıvısı, yarayı nemli tutarak iyileşme için uygun ortamı sağlayan bir sıvıdır [90]. Eksuda yüksek miktarda üretildiğinde ise yaranın gözlemlenmesi ve tedavisi açısından problem oluşturmaktadır [91]. Bu nedenle eksudayı emebilme özelliğine sahip yara örtülerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Yapılan tez çalışmasında üretilen nano liflerin sıvı absorplama kapasitesi ölçülmüştür. Bu amaçla; nano kalınlıkta PLGA liflerden oluşan malzeme PBS ortamında bekletilerek belirli zaman

aralıklarında ağırlık ölçümü yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda PLGA nano liflerin 72 saat sonunda %600 oranında şişme gösterdiği belirlenmiştir. 48 ve 72. saatlerde şişme yüzdesinin eşit olmasından dolayı malzemenin maksimum şişme seviyesine ulaştığı Şekil 6.15'teki grafikte görülmektedir.



Şekil 6.15 PLGA nano liflerin zamana bağlı şişme grafiği

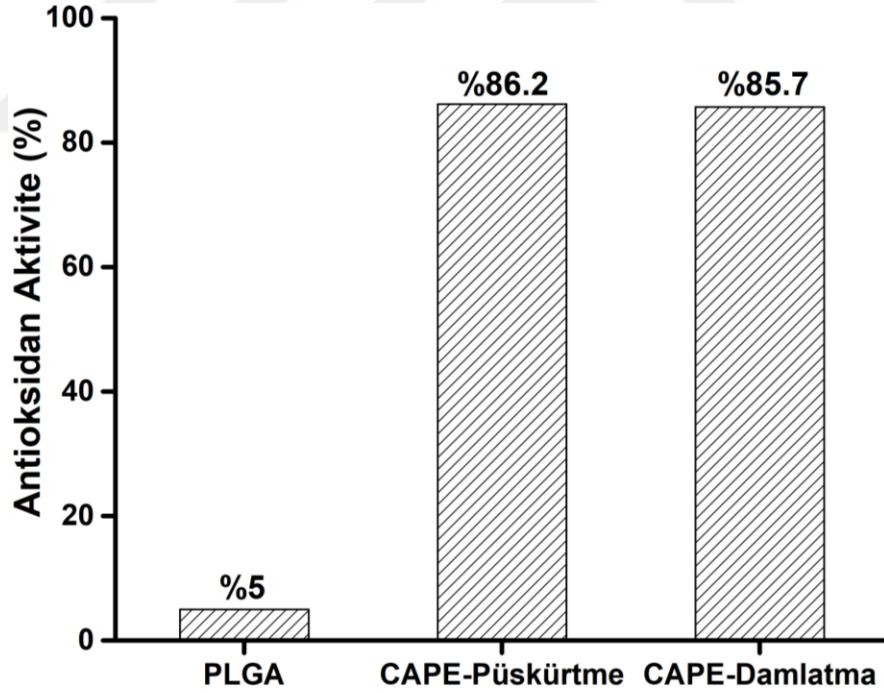
Bu konuda yapılan bir çalışmada yara örtüsü olarak tasarlanan hidrofilik bir malzemenin sıvı absorplama kapasitesinin %300-700 aralığında olduğu rapor edilmiştir [92]. Bu tez çalışmasında PLGA hidrofobik bir polimer olmasına rağmen elektro-eğirilmiş PLGA ile yapılan şişme testinde malzeme kendi ağırlığının 6 katı kadar sıvıyı absorbe edebilmiştir. Bu kapasiteye yapısında bulunan nano kalınlıkta lifler ve liflerin aralarındaki nano ve mikro boyutlardaki gözenekler sayesinde ulaştığı düşünülmektedir.

6.3.7 Antioksidan Etkinlik Belirleme Testi

Yara iyileşmesi sırasında gerçekleşen hücre faaliyetleri sonucunda fazla miktarda reaktif oksijen türevi oluşmaktadır. ROT zamanla artarak yara iyileşmesini geciktirmekte ve çevre dokularda hasara sebep olmaktadır [93]. Bu nedenle yara örtülerinde antioksidan özellikli ajanların kullanılması son derece önemlidir [83]. Yapılan antioksidan etkinlik belirleme testinde PLGA nano lifler ve CAPE yüklü yara örtü malzemelerinin karşılaştırmalı olarak reaktif oksijen türevlerini süpürme yüzdeleri incelenmiştir. Yapılan

çalışma sonucunda elde edilen antioksidan aktiviteler Şekil 6.16'daki grafikte verilmiştir. Antioksidan aktivite testinde PLGA nano lifler %5 oranında aktivite gösterdiği görülmektedir. Bu sonuç literatürle uyumlu olup, PLGA'nın yapısındaki fonksiyonel bağlar sebebiyle gerçekleştiği bilinmektedir [83]. Damlatma ve püskürtme yöntemleriyle CAPE yüklenen yara örtülerinde ise antioksidan özelliği literatürde bilinen CAPE molekülü [94], DPPH çözeltisine kontrollü bir şekilde salındığından aktivitesini koruyarak serbest radikalleri yüksek oranda süpürmüştür. Bu sonuçlar Ignatova ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmadaki [52] antioksidan aktivite sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

İki farklı yükleme yöntemi arasında yüksek bir yükleme verimi farkı olmasına rağmen püskürtme yöntemindeki antioksidan aktivite daha yüksek olarak bulunmuştur. Bunun sebebinin püskürtme yönteminde CAPE'nin damlatma yöntemine göre yüzeye daha yakın yer alması böylece DPPH çözeltisine daha hızlı geçiş yapması olduğu düşünülmektedir.



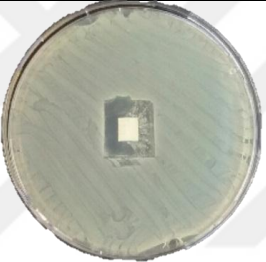
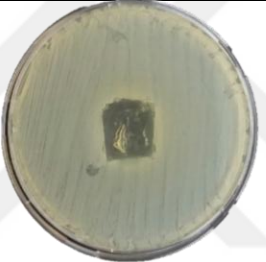
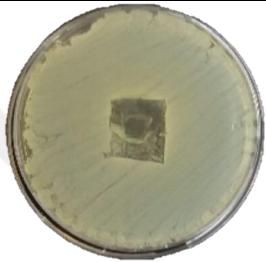
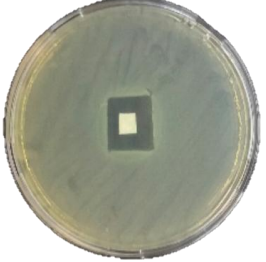
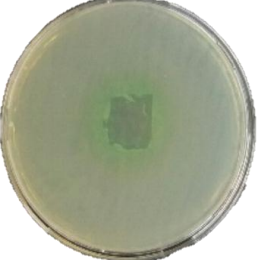
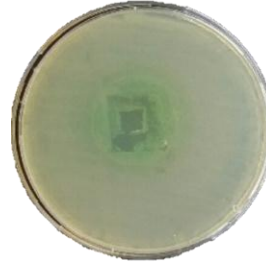
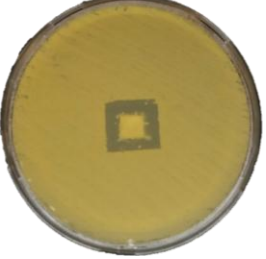

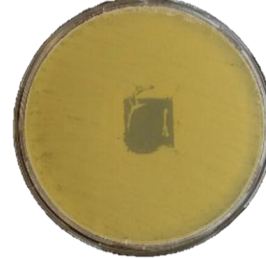
Şekil 6.16 Püskürtme ve damlatma yöntemleriyle CAPE yüklenen yara örtülerinin boş PLGA nano liflerle karşılaştırmalı olarak yüzde antioksidan aktivite grafiği

6.3.8 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Bu tez kapsamında üretilen CAPE yüklenmiş yara örtüsü malzemesinin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon ve zamana bağlı ölüm testi olmak üzere iki ayrı metot ve üç mikroorganizma ile değerlendirilmiştir.

Disk difüzyon testinde; deney test örneklerindeki antimikrobiyal ajan olan CAPE'nin agar ortamında difüzyon prensibi ile yayılarak mikroorganizma büyümesi üzerine olan inhibisyon etkisi değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 6.1'de verilmiştir.

Çizelge 6.1 Disk difüzyon metodu ile elde edilen sonuçlara ait petri görüntüleri

Örnek Mikroorganizma	PLGA nano lifler	Damlatma yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano lifler	Püskürtme yöntemiyle CAPE yüklenen PLGA nano lifler
<i>S. aureus</i>			
<i>P. aeruginosa</i>			
<i>C. albicans</i>			

Çizelge 6.1'deki petri resimlerinde görüldüğü gibi üretilen yara örtü malzemelerinin etrafında herhangi bir inhibisyon zonu oluşmamış ve kontrol olarak kullanılan PLGA nano lifler ile CAPE yüklü yara örtü malzemeleri arasında farklılık gözlenmemiştir. Bu sebeple antimikrobiyal aktivite tespit edilememiştir. Bunun en önemli sebebinin; yara örtü malzemesi olarak tasarlanan CAPE yüklü PLGA nano liflerin agar ortamına tam olarak

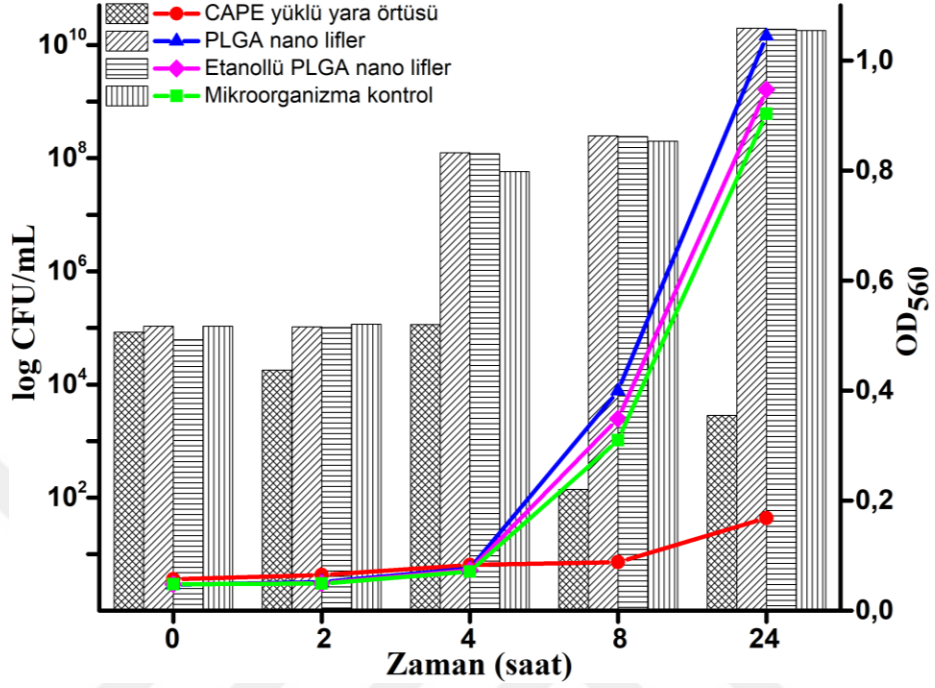
nüfuz edememesi ve buna bağlı olarak agar ortamına difüze olması beklenen antimikrobiyal ajan CAPE'nin uygun şekilde salınmaması olduğu düşünülmektedir. Ayrıca üretilen yara örtü malzemelerinin agar ortamında degrede olduğu ve yüzey üzerinde küçük partiküller oluşturduğu (yanlış pozitif sonuç değerlendirmesi) tespit edilmiştir. Bu durum, disk difüzyon yönteminin standartlara uygun olarak değerlendirilmesini engellemiştir. Xing ve arkadaşlarının benzer moleküler ağırlıktaki PLGA ile yaptıkları çalışmada [59] farklı sonuçlar elde edilmiştir. Söz konusu çalışmada Quercetin yüklü nano liflerin etrafında inhibisyon zonlarının oluştuğu gözlenmiştir.

Bu sonuçlardan dolayı antibakteriyel aktivite çalışmaları zamana bağlı ölüm metodu ile tekrar değerlendirilmiştir.

Zamana bağlı ölüm metodunda; deney test örneklerinin antimikrobiyal aktivitesi, belirli zaman aralıklarında spektrofotometrik ölçümlerle turbidimetrik ve standart petri sayım yöntemiyle de canlı koloni sayısı verileri elde edilmek suretiyle değerlendirilmiştir. Standart petri sayım yönteminde kullanılan petrilere ait görüntüler Çizelge 6.2, 6.3 ve 6.4'te verilmiştir. Standart petri sayım yöntemiyle elde edilen canlı mikroorganizma sayıları CFU/mL olarak hesaplanmıştır. Canlı hücre sayısı (CFU/mL) ve turbidite (OD_{560}) değerleri *S. aureus* (Şekil 6.17), *P. aeruginosa* (Şekil 6.18) ve *C. albicans* (Şekil 6.19) için ayrı ayrı olmak üzere grafiklerle ifade edilmiştir. Şekil 6.17, 6.18 ve 6.19'da çizgi grafikleri CFU/mL değerlerini, sütun grafikleri ise OD_{560} değerlerini göstermektedir. CAPE yüklü yara örtü malzemesinin mikroorganizmalar üzerinde göstermiş olduğu zamana bağlı büyüme inhibisyonu yüzdeleri hesaplanmış ve Şekil 6.20'deki grafikte mikroorganizma bazında karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

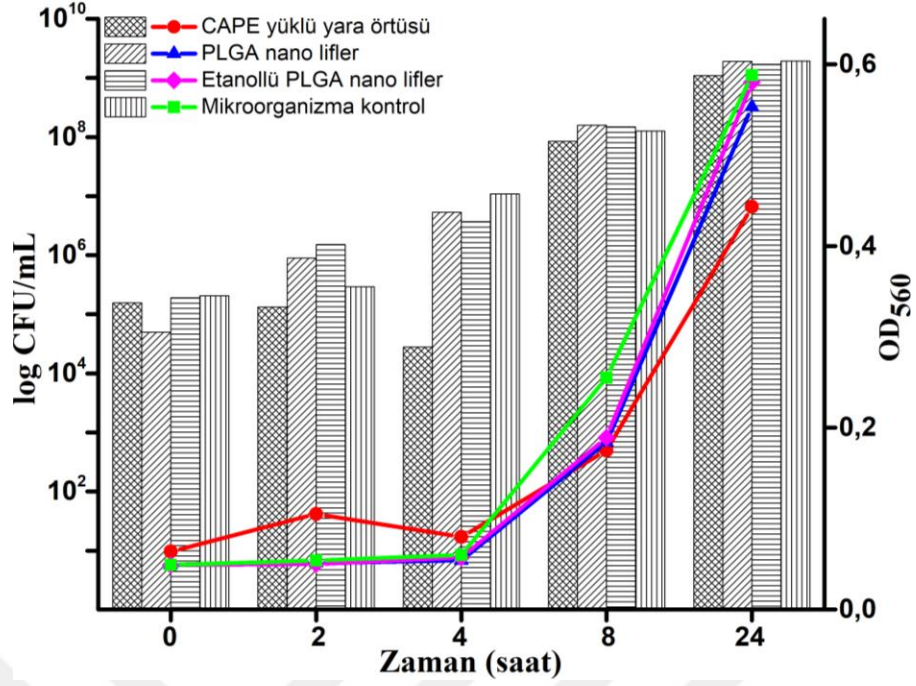
Gram (+) bir bakteri türü olan *S. aureus* ile gerçekleştirilen zamana bağlı ölüm metodu deneyinde 2. saatte CAPE yüklü yara örtüsü %84 oranında büyüme inhibisyonu gösterirken (Şekil 6.20). 4, 8 ve 24. saatlerde %100 oranında büyüme inhibisyonu etkisi göstermiştir. PVP ile yapılan bir çalışmada, Gram (+) bir bakteri türü olan *S. Pyogenes* türüne karşı 12. saatten sonra %100 inhibisyon etkisi gözlenmiştir [95]. Bu sonuçlar, hidrofilik ortamlarda çözünürlüğü düşük olan CAPE'nin [96], nano liflerden kontrollü olarak salımı sayesinde antimikrobiyal aktivitesini 24 saat boyunca devam ettirdiğini göstermektedir. CAPE molekülünün polimer çözeltisine katılmayıp elektro-eğirme sonrası nano liflere yüklenmesi sayesinde daha hızlı bir büyüme inhibisyonu etkisine

ulaşmıştır. Çizelge 6.2'deki petri resimlerinde CAPE yüklü yara örtüsünü içeren deney test örneklerinde bakteri koloni yoğunluğunun PLGA nano lifler ve mikroorganizma kontrole göre daha düşük olduğu görülmektedir.



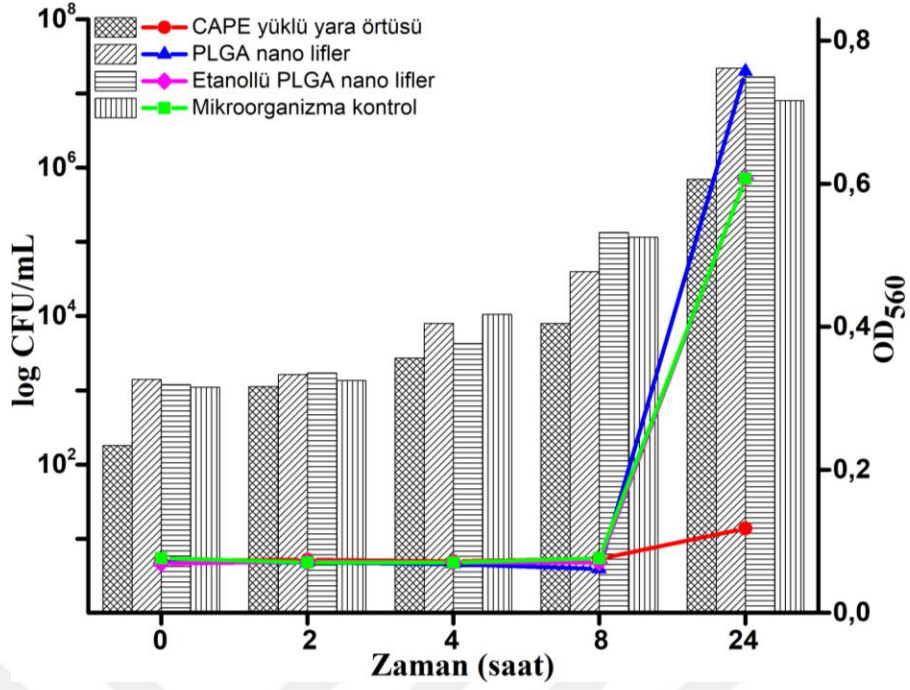
Şekil 6.17 *S. aureus* için zamana bağlı canlı hücre sayısı (CFU/mL) ve turbidite (OD₅₆₀) grafikleri

Gram (-) bir bakteri türü olan *P. aeruginosa* ile yapılan zamana bağlı ölüm çalışmasında CAPE yüklü yara örtü malzemesinin inhibisyonu 2. saatte %55 iken 4. saatte %100'e ulaşmıştır. Ancak sonrasında 8. saatte %34'e gerilediği gözlenmiştir (Şekil 6.20). Bu veriler göstermektedir ki; CAPE yüklü yara örtüsü *P. aeruginosa* türü üzerinde *S. aureus* üzerinde gösterdiği aktiviteye göre daha kısa süreli bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Bunun sebebinin, Gram (-) bir bakteri olan *P. aeruginosa*'nın hücre duvarındaki peptidoglikan yapısına ek olarak dış zar denilen duvar tabakasının varlığı olduğu ve nano liflerden kontrollü bir şekilde salınan CAPE miktarının 8. saatten sonra bakteri üzerinde inhibisyon etkisi gösterecek kadar yeterli seviyede olmadığı düşünülmektedir. Literatürde yer alan benzer çalışmalarda da etken madde yüklü nano lifler Gram (-) türler üzerinde Gram (+) türlere göre daha düşük inhibisyon etkisi göstermiştir [52], [97]. Çizelge 6.3'te verilen petri resimlerinde CAPE yüklü yara örtüsünün 4. saate kadar *P. aeruginosa* türünün büyümesini inhibe ettiği daha sonra aktivitesinin azaldığı görülmektedir.

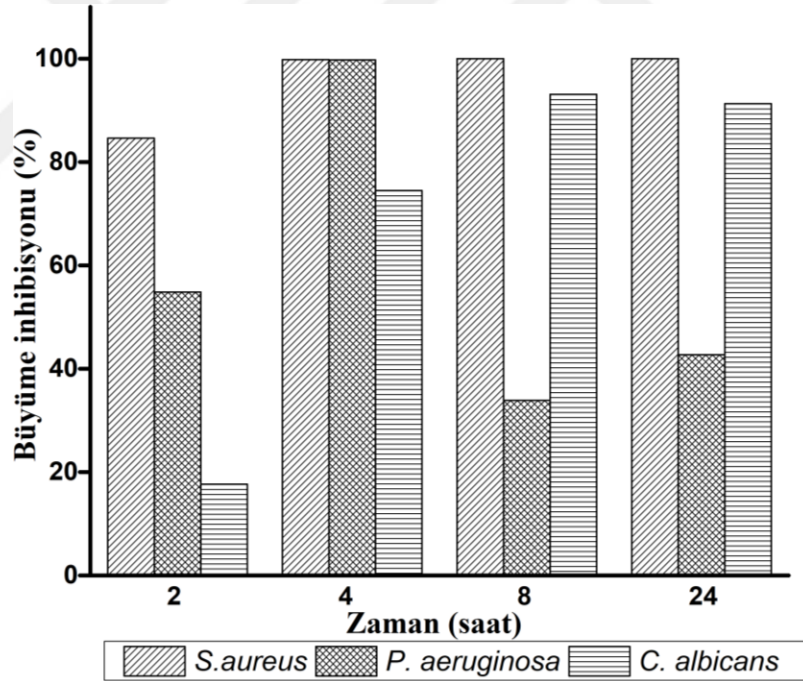


Şekil 6.18 *P. aeruginosa* için zamana bağlı canlı hücre sayısı (CFU/mL) ve turbidite (OD₅₆₀) grafikleri

Bir fungus türü olan *C. albicans* kullanılarak gerçekleştirilen zamana bağlı ölüm metodu çalışmasında; 2, 4 ve 8. saatlerde tüm deney test örneklerine ait turbidite değerlerinin 0.06-0.08 aralığında olduğu gözlenmiştir. 24. saatte ise CAPE yüklü yara örtüsünde turbidite değeri 0.118 olurken diğer örneklerde 0.6-0.8 aralığında olduğu görülmektedir (Şekil 6.19). Yapılan çalışmada CAPE yüklü yara örtüsünün *C. albicans* üzerinde göstermiş olduğu büyüme inhibisyonunun 2. saatte %18 olduğu ve daha sonra artış göstererek 4, 8 ve 24. saatlerde sırasıyla %74, 93 ve 91 olduğu gözlenmiştir. Quercetin yüklü PLGA nano liflerin *C. albicans* üzerindeki antibiyofilm etkisinin incelendiği bir çalışmada, 48. saatten sonra %80 inhibisyon etkisi gözlenmiştir. Bu sonuca göre tez çalışmasında kullanılan CAPE'nin *C. albicans* üzerinde Quercetin'e göre daha hızlı ve daha yüksek büyüme inhibisyonu etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan tez çalışmasında PLGA nano liflerden zamana bağlı olarak kontrollü bir şekilde salınan CAPE; *C. albicans* üzerinde zamana bağlı artan bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Şekil 6.20). Çizelge 6.4'te verilen petri resimleri bu sonuçları destekler niteliktedir.



Şekil 6.19 *C. albicans* için zamana bağlı canlı hücre sayısı (CFU/mL) ve turbidite (OD₅₆₀) grafikleri






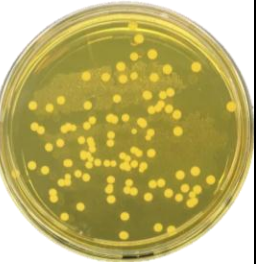









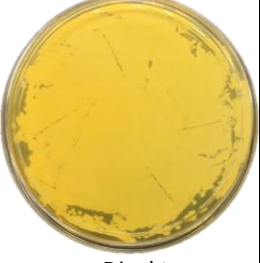
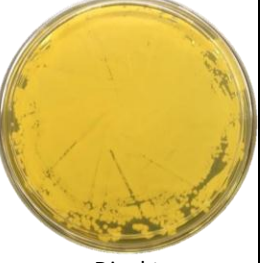
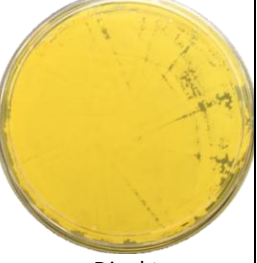

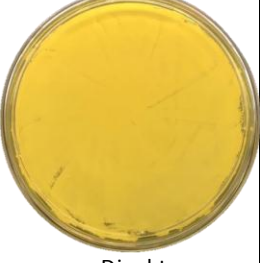
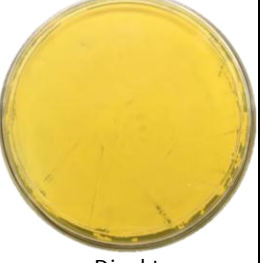
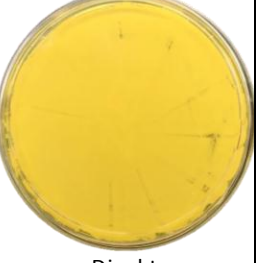
Şekil 6.20 CAPE yüklü yara örtü malzemesinin mikroorganizma bazında zamana bağlı büyüme inhibisyonu grafiği

Yapılan zamana bağlı ölüm metodu çalışmasında; CAPE'nin çözücüsü olarak kullanılan etanole bağlı yanlış pozitif sonuç görülmemesi açısından etanol emdirilmiş PLGA nano lifler kontrol amaçlı olarak deneylere dahil edilmiştir. Çalışma sonuçlarında; etanollü PLGA ve PLGA nano lifler arasında canlı hücre sayısı ve turbidite açısından belirgin bir



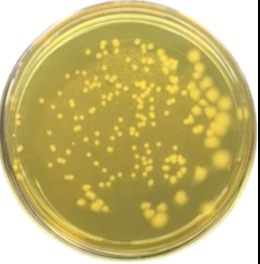
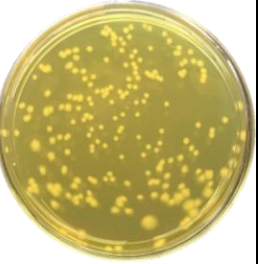






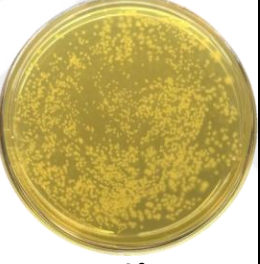
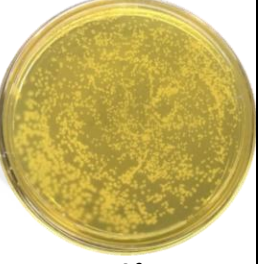



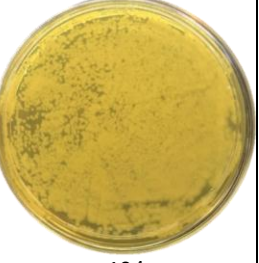
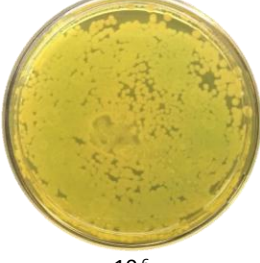
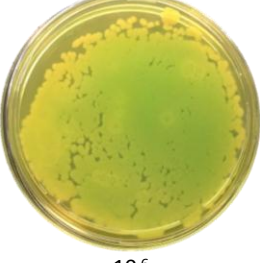
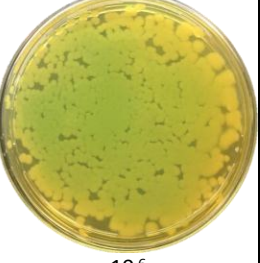
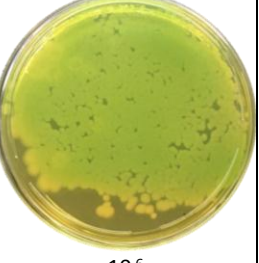
farklılık olmadığı gözlenmiştir. Buna bağlı olarak CAPE yüklü yara örtüsünde gözlenen antimikrobiyal aktivite oranlarının etanolden kaynaklı olmayıp nano liflerden salınan CAPE'ye ait olduğu anlaşılmaktadır.

Yapılan çalışmada bazı zaman aralıklarında (*S. aureus*'ta 4. saatte, *P. aeruginosa*'da 2. saatte, *C. albicans*'ta 8 ve 24. saatlerde) PLGA ve etanollü PLGA nano liflerde canlı hücre sayısının sadece mikroorganizma içeren kontrole göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun sebebinin; PLGA nano liflerin sıvı besi kültüründe laktik asit ve glikolik asite parçalanması sonucu bakteriler tarafından besin kaynağı olarak kullanması olduğu düşünülmektedir. Literatürde yer alan bir çalışmada PVP nano liflerin uygulandığı örnekte canlı hücre sayısının sadece mikroorganizma içeren kontrolden daha düşük olduğu tespit edilmiştir [98]. PVP, antibakteriyel bir polimer olduğundan mikroorganizmaların büyümesini inhibe etmekte dolayısıyla besin maddesi olarak kullanılamamaktadır [99].

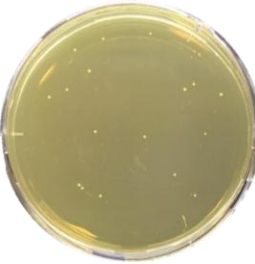

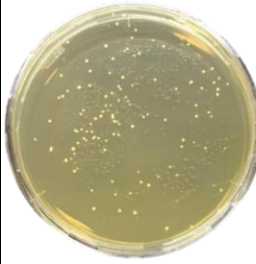
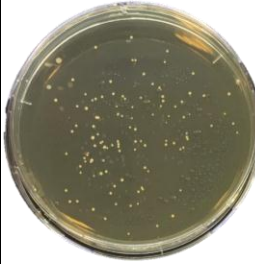



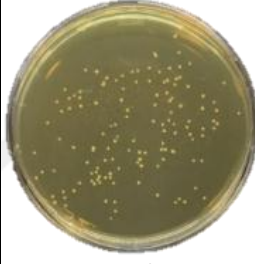
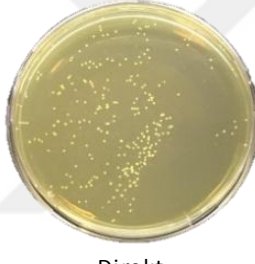


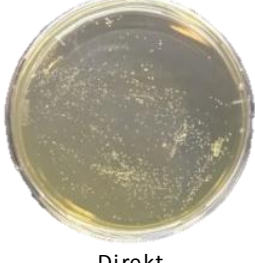

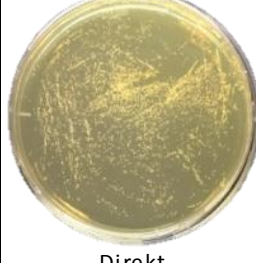

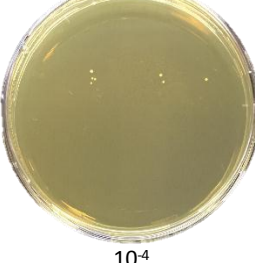
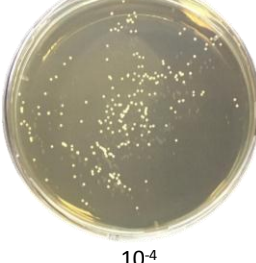
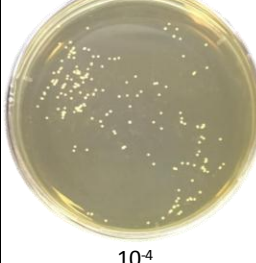
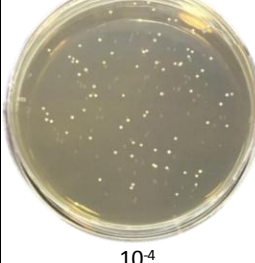
Çizelge 6.2 *S. aureus* ile yapılan zamana bağlı ölüm metodunda standart petri sayımında kullanılan petrilere ait görüntüler ve seyreltme faktörleri

Zaman (saat)	CAPE Yüklü Yara Örtüsü	PLGA Nano Lifler	Etanollü PLGA Nano Lifler	Mikroorganizma Kontrol
0	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²
2	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²
4	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²
8	 Direkt	 Direkt	 Direkt	 Direkt
24	 Direkt	 Direkt	 Direkt	 Direkt

Çizelge 6.3 *P. aeruginosa* ile yapılan zamana bağlı ölüm metodunda standart petri sayımında kullanılan petrilere ait görüntüler ve seyreltme faktörleri

Zaman (saat)	CAPE Yüklü Yara Örtüsü	PLGA Nano Lifler	Etanollü PLGA Nano Lifler	Mikroorganizma Kontrol
0	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²
2	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²
4	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²	 10 ⁻²
8	 10 ⁻⁴	 10 ⁻⁴	 10 ⁻⁴	 10 ⁻⁴
24	 10 ⁻⁶	 10 ⁻⁶	 10 ⁻⁶	 10 ⁻⁶

Çizelge 6.4 *C. albicans* ile yapılan zamana bağlı ölüm metodunda standart petri sayımında kullanılan petrilere ait görüntüler ve seyreltme faktörleri

Zaman (saat)	CAPE Yüklü Yara Örtüsü	PLGA Nano Lifler	Etanollü PLGA Nano Lifler	Mikroorganizma Kontrol
0	 Direkt	 Direkt	 Direkt	 Direkt
2	 Direkt	 Direkt	 Direkt	 Direkt
4	 Direkt	 Direkt	 Direkt	 Direkt
8	 Direkt	 Direkt	 Direkt	 Direkt
24	 10^{-4}	 10^{-4}	 10^{-4}	 10^{-4}

6.4 Yorumlar

Yapılan tez çalışmasında elektro-eğirme yöntemiyle PLGA nano lifler başarılı bir şekilde üretilmiştir. Yara örtülerinde hücrelerin çoğalması için uygun ortam oluştururken aynı zamanda dış ortama karşı bariyer görevi gören malzemeler tercih edilmektedir. PLGA nano liflerin morfolojik analizleri SEM görüntüleri ile değerlendirilmiştir. Nano lif çapları 310-410 nm olarak ölçülmüştür. Nano liflerin düzgün silindirik yapıda olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra, üretilen nano liflere CAPE molekülü yüklenmiştir. Yapılan FTIR spektroskopisi, XRD ve SEM analizlerinde CAPE molekülünün nano liflere başarılı bir şekilde yüklenmiş olduğu tespit edilmiştir.

PLGA nano liflerden oluşan malzemenin şişme yeteneği değerlendirilerek %600 oranında sıvı absorpladığı bulunmuştur. Bu oranın eksudası yüksek yaralarda fazla sıvının yara ortamından uzaklaştırılması açısından avantaj sağlayacağı düşünülmektedir. Yara örtüsü değişimine bağlı travmaların en aza indirilmesi ve hasta konforunun üst düzeyde tutulması için kontrollü ilaç salımı yapan yara örtülerinin kullanımı oldukça önemlidir [30]. Bu nedenle CAPE yüklü PLGA nano liflerle etken malde salım çalışması yapılmıştır. PLGA nano liflere yüklenen CAPE'nin 7 gün boyunca kontrollü olarak salımının gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Reaktif oksijen türevleri (ROT), kronik yaralarda mikroorganizmaların ve ölü hücrelerin temizlenmesinden sorumlu olan fagositik hücrelerin aktivitesi sonucu artış göstermektedir. ROT, normal seviyedeysen mikroorganizmaların yara ortamından uzaklaştırılmasına yardımcı olmaktadır. Ancak yüksek seviyede ROT, yara iyileşmesini yavaşlatmakta ve çevre dokularda hasara sebep olmaktadır [83]. DPPH yöntemiyle yapılan antioksidan aktivite çalışmasında CAPE yüklü yara örtülerinin ROT süpürme oranı %86 olarak bulunmuştur. Elde edilen antioksidan aktivite yüzdesinin yara iyileşmesini hızlandırma açısından avantajlı olduğu düşünülmektedir.

Disk difüzyon testi çalışmasında CAPE yüklü yara örtü malzemeleri oldukça yüksek bir hızla bozunarak neredeyse tamamen degrades olmuştur. Bozunma hızının yavaş olması gereken yaralarda bu malzemenin tıbbi açıdan kullanımının uygun olmadığı kanaatine ulaşılmıştır. Buna karşın CAPE'nin biyoyumluluğu da göz önünde bulundurularak yüksek biyobozunurluk gerektiren deri altı cerrahi yaralarda kullanılmasının daha uygun olacağı düşünülmektedir.

Zamana bağlı ölüm metodu çalışmasında ise elde edilen mikrobiyal inhibisyon verileri üretilen CAPE yüklü yara örtü malzemelerinin özellikle yüksek biyobozunurluk gerektiren deri altı cerrahi yaralarda kullanımının enfeksiyon riskinin azaltılması açısından uygun olacağı kanaatine ulaşılmıştır. Ancak Gram (-) mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda uzun süreli koruyuculuğunun olmadığı görüldüğünden enfeksiyon etkeninin CAPE yüklü yara örtü malzemesi kullanımı öncesi test edilmesi gerektiği de göz önünde bulundurulmalıdır.

İlerleyen çalışmalarda üretilen yara örtülerinin canlı hücrelerle etkileşimlerinin incelenmesi için biyoyumluluk ve yara iyileşmesi belirteçlerinde biri olan hücre göçüne etkisi (cell migration assay) alışmalarının yapılması planlanmaktadır. Böylece *in vitro* deneyleri tamamlanacak olan CAPE yüklü PLGA yara örtüsünün *in vivo* alışmaları için gereken aktivite sonuçları elde edilmiş olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Altay, P. ve Başal, G., (2010). "Yara örtüleri", Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 4: 109-121.
- [2] Şimşek, K. Yapıcı, A.K. Çermik, H. Durmuş, M. Özler, M. Ay, H. Uysal, B. ve Öter, Ş., (2014). "Uzamış Yara İyileşmesinde Yara Örtü Materyallerinin Hiperbarik Oksijen ile Olan Kombinasyonlarının Etkileri", Gulhane Medical Journal, 56.
- [3] Martin, P., (1997). "Wound healing--aiming for perfect skin regeneration", Science, 276: 75-81.
- [4] Gonzalez, A.C.d.O. Costa, T.F. Andrade, Z.d.A. ve Medrado, A.R.A.P., (2016). "Wound healing-A literature review", Anais brasileiros de dermatologia, 91: 614-620.
- [5] Augustine, R. Kalarikkal, N. ve Thomas, S., (2016). "Electrospun PCL membranes incorporated with biosynthesized silver nanoparticles as antibacterial wound dressings", Applied Nanoscience, 6: 337-344.
- [6] Simões, D. Miguel, S.P. Ribeiro, M.P. Coutinho, P. Mendonça, A.G. ve Correia, I.J., (2018). "Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review", European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics, 127: 130-141.
- [7] Çakal, Z., (2004). Phema Bazlı Yanık/Yara Örtü Materyalleri, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik. Hacettepe Üniversitesi.
- [8] Chen, S. Liu, B. Carlson, M.A. Gombart, A.F. Reilly, D.A. ve Xie, J., (2017). "Recent advances in electrospun nanofibers for wound healing", Nanomedicine, 12: 1335-1352.
- [9] Trends, F.v., (2014). "Wound Dressings Market (Traditional Wound Dressings - Wound Closure Products, Basic Wound Care, Anti-Infective Dressings; and Advanced Wound Dressings - Films, Foams, Hydrofiber, Hydrocolloids, Hydrogels, Collagen, Alginates) - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends and Forecast, 2014 - 2020", <https://www.transparencymarketresearch.com/wound-dressing-market.html>.
Son erişim tarihi: 10.04.2019

- [10] Yu, M., Rui-Hua Dong, Xu Yan, Gui-Feng Yu, Ming-Hao You, Xin Ning ve Yun-Ze Long, (2017). "Recent advances in needleless electrospinning of ultrathin fibers: from academia to industrial production", *Macromolecular Materials and Engineering*.
- [11] Pal, P. Srivas, P.K. Dadhich, P. Das, B. Maulik, D. ve Dhara, S., (2017). "Nano-/microfibrous cotton-wool-like 3D scaffold with core–shell architecture by emulsion electrospinning for skin tissue regeneration", *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 3: 3563-3575.
- [12] Sunar, B.S.v.C.H., (2017). "Elektroeğrilmış Nanoliflerin İlaç Taşıyıcı Sistem Olarak Ve Doku Mühendisliğinde Kullanımı", *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21: 425-435.
- [13] Hoffman, M., (2017). "Picture of the skin", <https://www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/picture-of-the-skin#2>. Son erişim tarihi: 12.04.2019
- [14] Monika Gniadecka, O.F.N., Daniel Højgaard Christensen, Hans Christian Wulf, (1998). "Structure of Water, Proteins, and Lipids in Intact Human Skin, Hair, and Nail", *THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY*: 393-398.
- [15] Epstein, F.H. Singer, A.J. ve Clark, R., (1999). "Cutaneous wound healing", *N Engl J Med*, 341: 738-746.
- [16] Randall D. Wolcott, K.F.C., Scott Dowd, ve Steven L. Percival, (2010). *Types of Wounds and Infections*, ed. *Microbiology of Wounds*. 219-232.
- [17] Alexiadou, K. ve Doupis, J., (2012). "Management of diabetic foot ulcers", *Diabetes Therapy*, 3: 4.
- [18] Wake, W.T., (2010). "Pressure ulcers: What clinicians need to know", *The Permanente Journal*, 14: 56.
- [19] Caprini, J. Partsch, H. ve Simman, R., (2012). "Venous Ulcers", *Journal of the American College of Clinical Wound Specialists*, 4: 54-60.
- [20] Grey, J.E. Harding, K.G. ve Enoch, S., (2006). "Venous and arterial leg ulcers", *Bmj*, 332: 347-350.
- [21] Wasiak, J. Cleland, H. Campbell, F. ve Spinks, A., (2013). "Dressings for superficial and partial thickness burns", *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- [22] Yastı, A.Ç. Şenel, E. Saydam, M. Özok, G. Çoruh, A. ve Yorgancı, K., (2015). "Guideline and treatment algorithm for burn injuries", *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 21: 79-89.
- [23] Han, G. ve Ceilley, R., (2017). "Chronic wound healing: a review of current management and treatments", *Advances in therapy*, 34: 599-610.
- [24] Knight, R. Spoor, L.M. Costa, M.L. ve Dutton, S.J., (2019). "Wound Healing In Surgery for Trauma (WHIST): statistical analysis plan for a randomised controlled trial comparing standard wound management with negative pressure wound therapy", *Trials*, 20: 186.

- [25] Bryant, R. ve Nix, D., (2015). Acute and chronic wounds: current management concepts: Elsevier Health Sciences.
- [26] Enoch, S., & Leaper, D. J., (2008). "Basic science of wound healing. ", Surgery (Oxford), 26: 31-37.
- [27] Gurtner, G.C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T., (2008). "Wound repair and regeneration", Nature, 453: 314-321.
- [28] Trung T. Nguyen, S.M.a.M.C., (2016). Roles of Matrix Metalloproteinases in Cutaneous Wound Healing, ed. Wound Healing - New insights into Ancient Challenges. InTech, 38-71.
- [29] Dekoninck, S., & Blanpain, C., (2019). "Stem cell dynamics, migration and plasticity during wound healing", Nature cell biology, 21: 18-24.
- [30] Gürsoy, A., (2007). "Yara Örtüsü Seçimi", Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi, 4: 6-9.
- [31] Krishnan K, A., & Thomas, S., (2019). "Recent advances on herb-derived constituents-incorporated wound-dressing materials: A review", Polymers for Advanced Technologies, 30: 823-838.
- [32] Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. , ((2015)). "Wound dressings—a review", BioMedicine, 5.
- [33] Braunwarth, H., Brill, F.H.H., (2014). " Antimicrobial efficacy of modern wound dressings: Oligodynamic bactericidal versus hydrophobic adsorption effect", Wound Medicine, 5: 16-20.
- [34] Sk-orkowska-Telichowska, K., Czemplik, M., Kulma, A., Szopa, J., (2013). "The local treatment and available dressings designed for chronic wounds", J Am Acad Dermatol, 68: 117-126.
- [35] Çizmecci, O., (2008). "Yara Bakımı ve Tedavi Ürünlerine Genel Bakış", Üniversitesi Tıp Fakültesi Yara Bakımı ve Tedavisi Sempozyum Dizisi, 67: 231-236.
- [36] Thomson, T. (2006). "Foam Composite", U.S. Patent No. 7,048,966. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- [37] Gethin, G., & Cowman, S., (2008). "Bacteriological changes in sloughy venous leg ulcers treated with manuka honey or hydrogel: an RCT", Journal of wound care, 17: 241-247.
- [38] Valle, M.F., Maruthur, N. M., Wilson, L. M., Malas, M., Qazi, U., Haberl, E., ... & Lazarus, G., (2014). "Comparative effectiveness of advanced wound dressings for patients with chronic venous leg ulcers: a systematic review", Wound Repair and Regeneration, 22: 193-204.
- [39] Moody, A., (2006). "Use of a hydrogel dressing for management of a painful leg ulcer", British journal of community nursing, 11: 12-17.
- [40] Türsen, Ü., (2013). "Ülser Tedavisinde Yara Örtüleri", Türk Dermatoloji Dergisi, 7: 61-71.

- [41] Mogosanu, G.D., Grumezescu, A.M., (2014). "Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing", *International Journal of Pharmaceutics*, 463: 127-136.
- [42] Thomas, A., Harding, K. G., & Moore, K., (2000). "Alginates from wound dressings activate human macrophages to secrete tumour necrosis factor- α ", *Biomaterials*, 21: 1797-1802.
- [43] Boateng, J.S., Matthews, K. H., Stevens, H. N., & Eccleston, G. M., (2008). "Wound healing dressings and drug delivery systems: a review", *Journal of pharmaceutical sciences*, 97: 2892-2923.
- [44] Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M., (2008). "Growth factors and cytokines in wound healing", *Wound Repair and Regeneration*, 16: 585-601.
- [45] Fujiwara, T., Hosokawa, K., Kubo, T., (2013). "Comparative Study of Antibacterial Effects and Bacterial Retentivity of Wound Dressings", *Open Access Journal*, 13: 31-41.
- [46] Çetinkale, O., (2008). "Yanık Yarası Tedavisi", *Cerrahpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Yara Bakımı ve Tedavisi Sempozyum Dizisi*, 67: 107-117.
- [47] Arasoglu, T., Derman, S., & Mansuroglu, B., (2015). "Comparative evaluation of antibacterial activity of caffeic acid phenethyl ester and PLGA nanoparticle formulation by different methods", *Nanotechnology*, 27.
- [48] Derman, S., (2015). "Caffeic acid phenethyl ester loaded PLGA nanoparticles: effect of various process parameters on reaction yield, encapsulation efficiency, and particle size", *Journal of Nanomaterials*, 16: 318.
- [49] Ferreira, P., Coelho, J. F. J., Dos Santos, K. S. C. R., Ferreira, E. I., & Gil, M. H., (2006). "Thermal Characterization of Chitosan-Grafted Membranes to Be Used as Wound Dressings", *Journal of carbohydrate chemistry*, 25: 233-251.
- [50] Song, H.S., Park, T. W., Sohn, U. D., Shin, Y. K., Choi, B. C., Kim, C. J., & Sim, S. S., (2008). "The effect of caffeic acid on wound healing in skin-incised mice", *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 12: 343-347.
- [51] Lee, H.S., Lee, S. Y., Park, S. H., Lee, J. H., Ahn, S. K., Choi, Y. M., , (2013). "Antimicrobial medical sutures with caffeic acid phenethyl ester and their in vitro/in vivo biological assessment", *MedChemComm*, 4: 777-782.
- [52] Ignatova, M., Manolova, N., Rashkov, I., & Markova, N. , (2018). "Antibacterial and antioxidant electrospun materials from poly (3-hydroxybutyrate) and polyvinylpyrrolidone containing caffeic acid phenethyl ester—"in" and "on" strategies for enhanced solubility", *International Journal of Pharmaceutics*, 545: 342-356.
- [53] Doğan, G., & Başal, G., (2009). "Elektrolif çekim yöntemine göre elde edilen biyopolimer nanoliflerin ilaç salınım sistemleri yara örtüsü ve doku iskelesi olarak kullanımları", *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3: 58-70.

- [54] Zhang, L., Wang, Z., Xiao, Y., Liu, P., Wang, S., Zhao, Y., ... & Shi, X. , (2018). "Electrospun PEGylated PLGA nanofibers for drug encapsulation and release", *Materials Science and Engineering: C*, 91: 255-262.
- [55] Chereddy, K.K., Vandermeulen, G., & Pr eat, V., (2016). "PLGA based drug delivery systems: Promising carriers for wound healing activity", *Wound Repair and Regeneration*, 24: 223-236.
- [56] Shenderova, A., Burke, T. G., & Schwendeman, S. P., (1999). "The acidic microclimate in poly (lactide-co-glycolide) microspheres stabilizes camptothecins", *Pharmaceutical research*, 16: 241-248.
- [57] Liu, S.J., Kau, Y. C., Chou, C. Y., Chen, J. K., Wu, R. C., & Yeh, W. L., (2010). "Electrospun PLGA/collagen nanofibrous membrane as early-stage wound dressing", *Journal of Membrane Science*, 355: 53-59.
- [58] Said, S.S., Aloufy, A. K., El-Halfawy, O. M., Boraie, N. A., & El-Khordagui, L. K., (2011). "Antimicrobial PLGA ultrafine fibers: Interaction with wound bacteria", *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 79: 108-118.
- [59] Xing, Z.C., Meng, W., Yuan, J., Moon, S., Jeong, Y., & Kang, I. K., (2012). "In vitro assessment of antibacterial activity and cytocompatibility of quercetin-containing PLGA nanofibrous scaffolds for tissue engineering", *Journal of Nanomaterials*, 1.
- [60] Li, D., & Xia, Y. (2004). . 16(14), 1151-1170., (2004). "Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?", *Advanced materials*, 16: 1151-1170.
- [61] Anton, F. (1934). "Process and apparatus for preparing artificial threads", U.S. Patent No. 1,975,504. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- [62] Ambekar, R.S. ve Kandasubramanian, B., (2019). "Advancements in Nanofibers for Wound Dressing: A Review", *European Polymer Journal*.
- [63] Huang, Z.-M. Zhang, Y.-Z. Kotaki, M. ve Ramakrishna, S., (2003). "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites", *Composites science and technology*, 63: 2223-2253.
- [64] Gupta, P., & Wilkes, G. L., (2003). "Some investigations on the fiber formation by utilizing a side-by-side bicomponent electrospinning approach", *Polymer*, 44: 6353-6359.
- [65] Jiang, H. Hu, Y. Li, Y. Zhao, P. Zhu, K. ve Chen, W., (2005). "A facile technique to prepare biodegradable coaxial electrospun nanofibers for controlled release of bioactive agents", *Journal of controlled release*, 108: 237-243.
- [66] Tripatanasuwan, S., Zhong, Z., & Reneker, D. H., (2007). "Effect of evaporation and solidification of the charged jet in electrospinning of poly (ethylene oxide) aqueous solution", *Polymer*, 48: 5742-5746.
- [67] Royal Society of Chemistry, (2009). "Ultraviolet - Visible Spectroscopy (UV)", http://www.rsc.org/learn-chemistry/content/filerepository/CMP/00/001/304/UV-Vis_Student%20resource%20pack_ENGLISH.pdf. Son erişim tarihi: 11.04.2019

- [68] Reusch, W., (2013). "Visible and Ultraviolet Spectroscopy", <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/uv-vis/spectrum.htm>. Son erişim tarihi: 14.04.2019.
- [69] Skoog, D.A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2017). . . (2017). An Introduction to Ultraviolet-Visible Molecular Absorption Spectrometry, ed. Principles of instrumental analysis. Cengage learning, 304-331.
- [70] Soderberg, T., (2017). "Ultraviolet and visible spectroscopy ", [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_with_a_Biological_Emphasis_\(Soderberg\)/Chapter_04%3A_Structure_Determination_I/4.4%3A_Ultraviolet_and_visible_spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_with_a_Biological_Emphasis_(Soderberg)/Chapter_04%3A_Structure_Determination_I/4.4%3A_Ultraviolet_and_visible_spectroscopy). Son erişim tarihi: 14.04.2019.
- [71] Skoog, D.A., Holler, F. J., & Crouch, S. R., (2017). An Introduction to Infrared Spectrometry, ed. Principles of instrumental analysis. Cengage learning, 389-436.
- [72] Toyran, N., (2008). "Fourier Transform İnfrared Mikrospektroskopi Tekniği", *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 28: 704-714.
- [73] Ludwig, W. Herbig, M. Buffiere, J.-Y. Reischig, P. King, A. ve Proudhon, H., (2010). "Characterization of polycrystalline materials by X-ray diffraction contrast tomography".
- [74] Seeck, O.H. ve Murphy, B., (2015). X-ray Diffraction: Modern Experimental Techniques: Pan Stanford.
- [75] Thermo, (1999). "INTRODUCTION TO POWDER/POLYCRYSTALLINE DIFFRACTION", <https://old.vscht.cz/clab/RTG/dokumenty/thermo/xrd/Introduction%20to%20powder%20diffraction.pdf>. Son erişim tarihi: 18.04.2019.
- [76] Waseda, Y. Matsubara, E. ve Shinoda, K., (2011). X-ray diffraction crystallography: introduction, examples and solved problems: Springer Science & Business Media.
- [77] Skoog, D.A., Holler, F. J., & Crouch, S. R., (2017). X-ray spectrometry, ed. Principles of instrumental analysis. Cengage learning, 274-297.
- [78] Weillie Zhou, R.P.A., Zhong Lin Wang, and David Joy, (2006). Fundamentals of Scanning Electron Microscopy. Techniques and Applications. Springer.
- [79] Hafner, B., (2007). "Scanning electron microscopy primer.", *Characterization Facility*: 1-29.
- [80] Nanoimages, (2019). "SEM Technology Overview – Scanning Electron Microscopy ", <https://www.nanoimages.com/sem-technology-overview/>. Son erişim tarihi: 14.04.2019.
- [81] Kaech, A., (2002). "An introduction to electron microscopy instrumentation, imaging and preparation", *Cent. Microsc. Image Anal*: 1-26.
- [82] Chen, M. Feng, W. Lin, S. He, C. Gao, Y. ve Wang, H., (2014). "Antitumor efficacy of a PLGA composite nanofiber embedded with doxorubicin@ MSNs and hydroxycamptothecin@ HANPs", *RSC Advances*, 4: 53344-53351.

- [83] Ajmal, G., Bonde, G. V., Thokala, S., Mittal, P., Khan, G., Singh, J., ... & Mishra, B., (2019). "Ciprofloxacin HCl and quercetin functionalized electrospun nanofiber membrane: fabrication and its evaluation in full thickness wound healing", *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47: 228-240.
- [84] Norouzi, M. Abdali, Z. Liu, S. ve Miller, D.W., (2018). "Salinomycin-loaded Nanofibers for Glioblastoma Therapy", *Scientific reports*, 8: 9377.
- [85] Gilchrist, S.E. Lange, D. Letchford, K. Bach, H. Fazli, L. ve Burt, H.M., (2013). "Fusidic acid and rifampicin co-loaded PLGA nanofibers for the prevention of orthopedic implant associated infections", *Journal of controlled release*, 170: 64-73.
- [86] Sigma&Aldrich, (2019). "IR Spectrum Table & Chart", <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/ir-spectrum-table.printerview.html>. Son erişim tarihi: 14.04.2019.
- [87] Sameer Ketkar, S.K.P., N. Rajesh Goud, Kakasaheb Mahadik, Ashwini Nangia, and Anant Paradkar, (2016). "Tracing the Architecture of Caffeic Acid Phenethyl Ester Cocrystals: Studies on Crystal Structure, Solubility, and Bioavailability Implications", *Crystal Growth and Design*, 16: 5710–5716.
- [88] Vashisth, P. Singh, R.P. ve Pruthi, V., (2016). "A controlled release system for quercetin from biodegradable poly (lactide-co-glycolide)–polycaprolactone nanofibers and its in vitro antitumor activity", *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 31: 260-272.
- [89] Meng, Z. Xu, X. Zheng, W. Zhou, H. Li, L. Zheng, Y. ve Lou, X., (2011). "Preparation and characterization of electrospun PLGA/gelatin nanofibers as a potential drug delivery system", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84: 97-102.
- [90] Cutting, K.F., (2003). "Wound exudate: composition and functions", *British journal of community nursing*, 8: S4-S9.
- [91] Aji, Z. Othman, I. ve Rosiak, J., (2005). "Production of hydrogel wound dressings using gamma radiation", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 229: 375-380.
- [92] Kavosi, G. Dadfar, S.M.M. ve Purfard, A.M., (2013). "Mechanical, physical, antioxidant, and antimicrobial properties of gelatin films incorporated with thymol for potential use as nano wound dressing", *Journal of Food Science*, 78: E244-E250.
- [93] Panchatcharam, M. Miriyala, S. Gayathri, V.S. ve Suguna, L., (2006). "Curcumin improves wound healing by modulating collagen and decreasing reactive oxygen species", *Molecular and cellular biochemistry*, 290: 87-96.
- [94] dos Santos, J.S., & Monte-Alto-Costa, A. , (2013). "Caffeic acid phenethyl ester improves burn healing in rats through anti-inflammatory and antioxidant effects", *Journal of Burn Care & Research*, 34: 682-688.
- [95] Sebe, I. Szabó, B. Nagy, Z.K. Szabó, D. Zsidai, L. Kocsis, B. ve Zelkó, R., (2013). "Polymer structure and antimicrobial activity of polyvinylpyrrolidone-based

iodine nanofibers prepared with high-speed rotary spinning technique", *International Journal of Pharmaceutics*, 458: 99-103.

- [96] Kınıs, V. Ozbay, M. Akdag, M. Alabalık, U. Gul, A. Yılmaz, B. Ozkan, H. ve Topcu, I., (2014). "Effects of caffeic acid phenethyl ester on wound healing of nasal mucosa in the rat: an experimental study", *American journal of otolaryngology*, 35: 482-486.
- [97] Hwang, S.H. Song, J. Jung, Y. Kweon, O.Y. Song, H. ve Jang, J., (2011). "Electrospun ZnO/TiO₂ composite nanofibers as a bactericidal agent", *Chemical communications*, 47: 9164-9166.
- [98] Tonglairoum, P. Ngawhirunpat, T. Rojanarata, T. Kaomongkolgit, R. ve Opanasopit, P., (2014). "Fast-acting clotrimazole composited PVP/HP β CD nanofibers for oral candidiasis application", *Pharmaceutical research*, 31: 1893-1906.
- [99] Ignatova, M. Markova, N. Manolova, N. ve Rashkov, I., (2008). "Antibacterial and antimycotic activity of a cross-linked electrospun poly (vinyl pyrrolidone)–iodine complex and a poly (ethylene oxide)/poly (vinyl pyrrolidone)–iodine complex", *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 19: 373-386.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Seçil KAYA
Doğum Tarihi ve Yeri : 24.04.1993, Kastamonu
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : kayasecil@outlook.com.tr

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2019
Lisans	Biyomühendislik	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2015
Lise	Fen Bilimleri	Göl Anadolu Öğretmen Lisesi	2011

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2017-2018	YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü	Kısmi Zamanlı Asistan

YAYINLARI

Bildiri

1. Kaya S., Akmayan İ., Eğri Ö., Arasoğlu T., Derman S., (2019), "Biyoaktif Yara Örtü Malzemesi Üretimi ve Karakterizasyonu", IV. Ulusal Yaşam Bilimleri Kongresi (Özet Bildiri), 22-23 Şubat 2019, Kayseri.
2. Kaya S., Akmayan İ., Arasoğlu T., Eğri Ö., Derman S., (2019), "Antioxidant and antimicrobial activity of CAPE-loaded PLGA nanofibers", 2nd Internatioanal Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 28-29 June 2019, Ankara.
3. Bozkurt Y., Kaya S., Derman S., (2018), "Juglon Kaplı Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi", 6. Ulusal Biyomühendislik Öğrenci Kongresi (Özet Bildiri), 5-6 Nisan 2018, İstanbul.
4. Eğri Ö., Erdemir N., Coşkun A., Kaya S., Eğri S., (2015), "Production and Antibacterial Effect of Perlite Loaded Electrospun PCL Films", 4th Nanomedicine World Congress (Abstract), 2015 (Yayın No: 3413325).

Proje

1. Derman S. ve Kaya S., "Biyoaktif Yara Örtü Malzemesi Üretimi ve Karakterizasyonu", (2019), Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje No: FYL-2019-3566).

Burs

1. Kaya S., "Biyoaktif Yara Örtü Malzemesi Üretimi ve Karakterizasyonu", (2019), TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı, 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı, (Başvuru No: 1649B021800118).