

T.C.
BAHCEŞEHİR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DOKU MÜHENDİSLİĞİ VE REJENERATİF TIP ANA BİLİM DALI

H. ŞAHİN

KENEVİR YAĞI (*CANNABIS SATIVA*) İÇEREN POLİ (LAKTİK ASİT)
(PLA) ESASLI NANOLİFLERİN ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE
ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZAL ŞAHİN

BAU 2023

İSTANBUL 2023

T.C.
BAHCESEHİR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DOKU MÜHENDİSLİĞİ VE REJENERATİF TIP ANA BİLİM DALI

KENEVİR YAĞI (*CANNABIS SATIVA*) İÇEREN POLİ (LAKTİK ASİT)
(PLA) ESASLI NANOLİFLERİN ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE
ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
HAZAL ŞAHİN

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi BİRCAN DİNÇ

İSTANBUL 2023

T.C.
BAHÇEŞEHİR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

01/12/2023

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU

Program Adı:	Doku Mühendisliği ve Rejeneratif Tıp
Öğrencinin Adı Soyadı:	Hazal Şahin
Tezin Adı:	Kenevir Yağı (<i>Cannabis sativa</i>) İçeren Poli (Laktik Asit) (PLA) Esaslı Nanoliflerin Elektroçirime Yöntemiyle Üretimi ve Karakterizasyonu
Tez Savunma Tarihi:	01.12.2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları yerine getirmiş olduğu Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tarafından onaylanmıştır.

.....
Enstitü Müdürü

Bu Tez tarafımızca okunmuş, nitelik ve içerik açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak yeterli görülmüş ve kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmza
Tez Danışmanı:	Dr. Öğretim Üyesi Bircan Dinç	Bahçeşehir Üniversitesi / Tıp Fakültesi	
2. Üye (Kurum İçi):	Prof. Dr. Demet Akın	Bahçeşehir Üniversitesi / Tıp Fakültesi	
3. Üye (Kurum Dışı):	Doç. Dr. Erdinç Doğancı	Kocaeli Meslek Yüksekokulu / Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri	

Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.

Ad, Soyad. : Hazal Şahin

İmza :

ÖZ

KENEVİR YAĞI (*CANNABIS SATIVA*) İÇEREN POLİ (LAKTİK ASİT) (PLA) ESASLI NANOLİFLERİN ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

Hazal Şahin

Doku Mühendisliği ve Rejeneratif Tıp Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi BİRCAN DİNÇ

Aralık 2023, 62 sayfa

Ciltte anatomik yapının veya işlevin bozulması ile sonuçlanan yaranın iyileşmesi, yara boyutuna bağlı olarak enfeksiyon ve kan kaybı gibi komplikasyonları önleyebilmek için hayati olabilmektedir. Hasar alan dokunun yapısal ve işlevsel bütünlüğünü geri kazandırmak önemli bir süreçtir. Yara iyileşmesi için hem modern hem de alternatif tıpta kullanılan birçok ürün vardır. *Cannabis Sativa* (CS) bitkisi de bu amaçla kullanılan en eski bitkilerdendir. CS bitkisinin başta lifleri ve tohumları olmak üzere çeşitli amaçlarla sanayi, inşaat, tekstil, gıda ve tıp alanlarında kullanılmaktadır. Tedavi edici özellikleri ve farmakolojik etki mekanizmaları sebebiyle geçmişten günümüze kadar alternatif tıpta sıkça kullanılan kenevir bitkisinin, özellikle son yıllarda tıbbi amaçlı kullanımı ve üretimi artmaktadır.

Bu çalışmada, yaranın iyileşmesi için gerekli olan nemli ortamı sağlayan, yara bölgesi için antioksidan ve antienflamatuar özelliklere sahip olan kenevir tohumu yağının yara iyileşmesi üzerindeki etkisi araştırılmaktadır. PLA tabanlı yara örtüleri, biyolojik olarak parçalanabilirlikleri, etkinlikleri, kullanım kolaylıkları ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle umut verici bir seçenektir. Bu bilgiler doğrultusunda elektroegirme tekniği ile CS yağı esaslı insan vücudu ile uyumlu ve biyobozunur bir polimer olan poli(laktik asit) (PLA) ve CS yağı esaslı biyokompozitler

üretelmiştir. Üretelen blyokompozit yara örtülerinin karakterizasyonları yapılmış, daha sonra HUVEC hücrelerinde (İnsan Göbek Damarı Endotel Hücreleri) oluşturulan yara modeline etkisi ve antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Hem DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre) eğrilerinde hem de FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) spektrumuna ait bantlarda, karakteristik değerler elde edilmiştir. SEM görüntüleri ile, yara örtüsündeki CS dağılımını ve fiber yapıları doğrulanmıştır.

Anahtar Kelimeler : Biyopolimer, Kenevir yağı, Nanolif, Yara İyileşmesi, Elektroegirme.



ABSTRACT

Fabrication and Characterization of a Biodegradable *Cannabis Sativa* Oil-Based Poly(lactic acid) (PLA) Wound Dressing and Investigation of its Antibacterial and Wound Healing Properties

Hazal Sahin

Master's Program in Tissue Engineering and Regenerative Medicine

Supervisor: Dr. Bircan Dinc

DECEMBER 2023, 62 pages

The healing of wounds resulting from the disruption of the anatomical structure or function of the skin is crucial for preventing complications such as infection and blood loss, which can be directly related to the size of the wound. Restoring the structural and functional integrity of damaged tissue is a vital process. In both modern and alternative medicine, numerous products are employed for wound healing. *Cannabis Sativa* (CS), one of the oldest plants used for this purpose, has versatile applications in industries such as agriculture, construction, textiles, food, and medicine, primarily utilizing its fibers and seeds. Due to its therapeutic properties and pharmacological mechanisms, the use and production of CS, especially for medical purposes, have seen a significant rise in recent years.

In this study, the impact of hemp seed oil, providing the necessary moist environment for wound healing and possessing antioxidant and anti-inflammatory properties for the wound area, is investigated. PLA-based wound dressings are a promising option due to their biodegradability, efficacy, ease of use, and antimicrobial properties. In line with this information, biocomposites based on poly(lactic acid) (PLA) and CS oil, which are biodegradable polymers compatible with the human body, were produced

using the electrospinning technique. The produced biocomposite wound dressings were characterized, and then their effect on the wound model created in HUVEC cells (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) and their antibacterial properties were examined. According to wound dressing characterization, PLA and hemp oil content was confirmed. Characteristic values were obtained in both the DSC (Differential scanning calorimetry) curves and the bands of the FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) spectrum. With SEM images, the CS distribution and fiber structures in the wound dressing were confirmed.

Key Words: Biopolymers, *Cannabis Sativa*, Nanofiber, Wound Healing, Electrospinning.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalıŐmasının planlanmasında ve yürütülmesinde, bilgi ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan sayın danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Bircan DİNÇ'e, engin bilgi ve tecrübeleriyle tezimin yürütülmesinde emeğini esirgemeyen ve laboratuvar imkanlarını kullanmama izin veren Kocaeli Meslek Yüksekokulu / Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri bölümünden sayın hocam Doç. Dr. Erdiñ DOĞANCI'ya,

Tez çalıŐmam boyunca bana yol gösteren, her konuda yardımcı olan, tecrübelerini ve desteklerini esirgemeyen hocalarım Tahsin ERTAŐ ve Recep ÜSTÜNSOY'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her koşulda yanımda olan, beni hep destekleyen canım babam, annem ve kardeşime tüm kalbimle teşekkür ederim.

Aralık-2023

Hazal ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xv
Bölüm 1: Giriş.....	1
1.1 Teorik Çerçeve	1
1.2 Problem Durumu	14
1.3 Çalışmanın Amacı	15
1.4 Hipotezler / Araştırma Soruları	15
1.5 Çalışmanın Önemi	16
Bölüm 2: Literatür Özeti	17
Bölüm 3: Yöntem	24
3.1 Biyokompozit Çözeltilerin Hazırlanması ve Biyokompozit Yara Örtüsünün Üretimi.....	24
3.1.1 Biyokompozit Çözeltileri Hazırlanması.....	24
3.1.2 Elektroeğirme Yöntemiyle Biyokompozit Üretimi.....	25
3.2 Biyokompozit Yara Örtüsünün Karakterizasyonu.....	27
3.2.1 Yapısal Karakterizasyon.....	27
3.2.1.1 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Analizi.....	27
3.2.2 Morfolojik Karakterizasyon	27
3.2.2.1 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi.....	27
3.2.3 Morfolojik Karakterizasyon.....	27
3.2.2.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)Analizi	27
3.2.4 Mekanik Karakterizasyon.....	28

3.2.4.1. Sıvı Emilim Testi.....	28
3.2.4.2. Çekme Germe Testi.....	28
3.2.5 Biyolojik Karakterizasyon.....	29
3.2.5.1 Antibakteriyel Analiz.....	29
3.3 Hücre Kültürü Çalışmaları.....	31
3.3.1 Yara İyileşme Deneyi.....	32
Bölüm 4: Bulgular	
4.1 Biyokompozit Yara Örtüsünün Karakterizasyonu.....	34
4.1.1 Yapısal Karakterizasyon.....	34
4.1.1.1. FTIR Analizi.....	34
4.1.2 Morfolojik Karakterizasyon.....	35
4.1.2.1. SEM Analizi.....	35
4.1.3 Termal Karakterizasyon.....	37
4.1.3.1. DSC Analizi.....	37
4.1.4 Mekanik Karakterizasyon.....	38
4.1.4.1. Sıvı Emilim Testi	38
4.1.4.2. Polimer Çekme Germe Testi.....	39
4.1.5 Biyolojik Karakterizasyon.....	41
4.1.5.1. Antibakteriyel Etki Analizi.....	41
4.2 Hücre Kültürü Çalışmaları.....	43
4.2.1 Yara İyileşme Deneyleri.....	44
Bölüm 5: Sonuç, Tartışma ve Öneriler.....	58
KAYNAKÇA	63

TABLULAR LİSTESİ

TABLULAR

Tablo 1 Kenevir Yağı Katkılı Nanolif Üretimi İçin Gerekli Çözelti Hazırlama Parametreleri.....	24
Tablo 2 Kenevir Yağı Katkılı Nanolif Üretimi İçin Gerekli Elektroğirme Parametreleri.....	25
Tablo 3 <i>E. coli</i> ve <i>B. subtilis</i> Bakterileri ile Yapılan Antibakteriyel Test için iCELLigence Plate'e Ekleme Sırası.....	31
Tablo 4. HUVEC Hücresi ile Yapılan Hücre Kültürü Çalışmaları için iCELLigence Plate'e Ekleme Sırası.....	32
Tablo 5 Elektroğirme Yöntemiyle Üretilen Biyokompozitlerin 1000x, 10000x ve 20000x büyütmedeki SEM görüntüleri	36
Tablo 6 Yara Örtüsü Amacıyla Üretilen Biyokompozitlerin Kuru ve Yaş Ağırlıkları.....	38
Tablo 7 Yara Örtülerinin <i>E. coli</i> Bakterilerine Karşı Antibakteriyel Etkileri.....	41
Tablo 8 Celloger Nano Cihazındaki 0. ve 4. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri.....	45
Tablo 9 Celloger Nano Cihazındaki 8. ve 12. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri.....	46
Tablo 10 Celloger Nano Cihazındaki 16. ve 20. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri.....	47
Tablo 11 Celloger Nano Cihazındaki 24. ve 28. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri.....	48
Tablo 12 Celloger Nano Cihazındaki Kontrol Grubunun 32. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri.....	48
Tablo 13 Yara İyileşme Deneyinde 0. ve 7. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x).....	49
Tablo 14 Yara İyileşme Deneyinde 16. ve 24. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x).....	50
Tablo 15 Yara İyileşme Deneyinde 31. ve 40. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x).....	51

Tablo 16 Yara İyileşme Deneyinde 48. ve 64. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x).....	52
Tablo 17 Yara İyileşme Deneyinde 72. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x).....	53
Tablo 18 Yara İyileşme Deneyinde 24. ve 31. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (10x).....	54
Tablo 19 Yara İyileşme Deneyinde 40. ve 48. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (10x).....	55
Tablo 20 Yara İyileşme Deneyinde 64. ve 72. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri(10x).....	56



ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER

Şekil 1 Deri Tabakaları ve Yapısı.....	1
Şekil 2 Yara İyileşme Aşamaları.....	6
Şekil 3 Polimer Bazlı Yara Örtüleri.....	11
Şekil 4 Yaygın Olarak Kullanılan Yara Örtüleri.....	12
Şekil 5 Biyokompozit Üretiminde Kullanılan Elektroçizme Cihazı (Profelsan Prov-100, Türkiye).....	25
Şekil 6 Elektroçizme Yöntemiyle Biyokompozit Üretimi Aşamaları.....	26
Şekil 7 Elektroçizme Yönteminde Enjektör Pompasının Püskürtme Anı.....	26
Şekil 8 Elektroçizme Yöntemi ile Üretilen Biyokompozit Mat.....	26
Şekil 9 Üretilen Biyokompozitlerin Termal Karakterizasyonunda Kullanılan DSC Cihazı.....	28
Şekil 10 Üretilen Biyokompozit Yara Örtülerinin Antibakteriyel Etki Araştırmalarında Kullanılan iCELLigence Cihazı.....	30
Şekil 11 <i>E.coli</i> Bakterilerinde Yapılan Antibakteriyel Test İçin Yükleme Yapılan iCELLigence Plate.....	30
Şekil 12 <i>B. subtilis</i> Bakterilerinde Yapılan Antibakteriyel Test İçin Yükleme Yapılan iCELLigence Plate.....	30
Şekil 13 HUVEC Hücrelerinin Büyüme Aşamaları.....	31
Şekil 14 Hücre Kültürü Çalışmalarında HUVEC Hücreleri ile Yükleme Yapılan iCELLigence Plate.....	32
Şekil 15 Yara İyileşme Deneyi İçin 6 Kuyulu Plate'e Biyokompozit Numularının Eklenmesi.....	33
Şekil 16 PLA, CS Yağı ve PLA+CS Yağı Esaslı Üretilen Biyokompozitlerin FTIR Spektrumları.....	34
Şekil 17 PLA, CS ve Biyokompozitlerinin Termogramları.....	37
Şekil 18 PLA ve PLA-CS Numunelerinin Young Modül Değişimi.....	39
Şekil 19 PLA ve PLA-CS Yağı Numunelerinin % Kopmada Uzama Değişimi.....	40
Şekil 20 PLA ve PLA-CS Yağı Numunelerinin Akma Dayanımı Değişimi.....	40
Şekil 21 A) <i>E. coli</i> Bakterilerinin Petride Görünümü, b) PLA +%8 CS Yağı İçeren Nanolifin <i>E. coli</i> Bakteri İnhibisyon Bölgesi.....	41

Şekil 22 PLA ve PLA+ CS Yağı İçeren Biyokompozitlerin <i>E. coli</i> K12 Çoğalmasına Bağlı Hücre İndeksi Değerleri(24 h).....	42
Şekil 23 PLA ve PLA+ CS Yağı İçeren Biyokompozitlerin <i>Bacillus</i> Çoğalmasına Bağlı Hücre İndeksi Değerleri(24 h).....	43
Şekil 24 PLA ve PLA+ CS Yağı İçeren Biyokompozitlerin HUVEC Hücre Çoğalmasına Bağlı Hücre İndeksi Değerleri(72 h).....	44



KISALTMALAR LİSTESİ

AC	Aseton
AD	Atopik Dermatit
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
CB1R	Kannabinoid Reseptör 1
CB2R	Kannabinoid Reseptör 2
CBD	Cannabidiol
CS	<i>Cannabis sativa</i>
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMF	Dimetil formamid
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre)
<i>E. coli.</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECM:	Ekstrasellüler matriks
FBS.	Fetal Bovine Serum
FDA	Food and Drug Administration
FGF	Fibroblast Growth Factor (Fibroblast büyüme faktörü)
FTIR	Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (Fourier Dönüşümlü Kırmızı ötesi Spektroskopisi)
HCl	Hidroklorik asit
HGF-1	Human Gingival Fibroblast (İnsan Diş Eti Fibroblastı)
HUVEC	Primary Human Umbilical Vein Endothelial Cells (İnsan Göbek Damarı Endotel Hücreleri)
IFN- γ	İnterferon gama
IL-1- β	İnterlökin-1-beta
LB	Luria-Bertani
PCL	Poli(ϵ -kaprolakton)
PCL	Polikaprolakton
PDGF	Platelet Derived Growth Factor (Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü)
PEO	Poli(etilen oksit)
PGA	Poli(glikolik asit)
PLA	Poli(laktik asit)

PVA	Poli(vinil alkol)
SEM	Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskopu)
SSD	Gümüş Sülfadiazin
TGF- β 1	Transforming Growth Factor- β 1 (Transforme Edici Büyüme Faktörü-Beta 1)
THC	Tetrahidrokanabinol
TNF- α	Tümör Nekroz Faktörü- α
Tris	Hidroksimetil Aminometan
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)

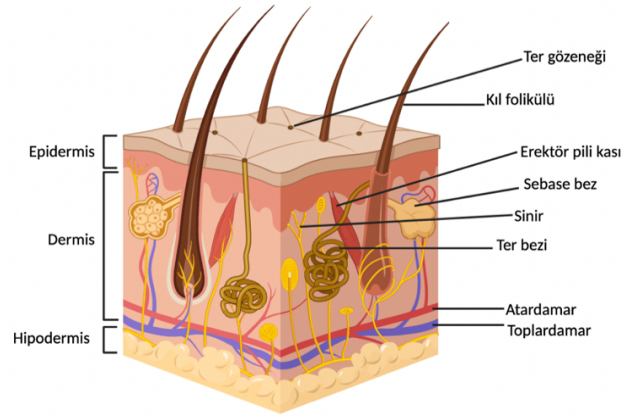


Bölüm 1

Giriş

1.1 Teorik Çerçeve

1.1.1 Deri ve tabakaları. Deri, çeşitli özelleşmiş hücre ve yapılardan oluşan, savunma bariyeri görevi gören karmaşık bir yapıdır. Belirli yolakların aktivasyonu ile cildin kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştiren çeşitli ekstrinsik ve intrinsik fiziksel uyarılara yanıt vermektedir. Temel olarak fiziksel darbeler ve enfeksiyona karşı koruma, sıvı kaybı dengesi, sıcaklık regülasyonu gibi işlevlere sahip olan deri başlıca epidermis, dermis ve hipodermis tabakalarından oluşmaktadır. Bazı araştırmacılar tarafından, hipodermisin aslında dermisin bir parçası olduğu ve derinin epidermis ve dermisten oluştuğu düşünülmektedir (Şekil 1.) (Sangiovanni ve ark., 2019; Tabassum & Hamdani, 2014).



Şekil 1. Deri tabakaları ve yapısı. (BioRender.com ile oluşturuldu.)

Avasküler bir yapıda olan epidermis, ter bezleri, kıl folikülleri ve bunlarla ilişkili yağ bezlerinde dahil olduğu uzantılar üreterek derinin korunmasına yardımcı olmaktadır. Farklı epidermal bölmeler, ölü veya hasarlı hücrelerin yerini almak için sürekli hücresel dönüşüme uğrar (Blanpain, 2010). Epidermis, esas olarak, derideki dış saldırılara ve hasarlara direnen ve epidermisin yapısal ve bariyer işlevini sürdürmek için iş birliği yapan keratinositlerden oluşmaktadır. Ayrıca, deri enflamatuar ve immünolojik tepkilerin başlatılması ve sürdürülmesindeki rolleri de iyi bilinmektedir. Dermis, ekstrasellüler matriks (ECM), kan damarları, yara iyileşmesinde önemli yere sahip, ayrıca keratinosit ve diğer deri hücreleri ile

etkileşime giren fibroblastlar dahil diğer hücreleri kapsamaktadır. Keratinosit fonksiyonu, çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler tarafından düzenlenir (Geerligs, 2010; Sangiovanni ve ark., 2019).

1.1.2 Yara. Vücut için dış ortama karşı koruyucu bir bariyer olan deri, sürekli olarak olası yaralanmalara maruz kalır. Deride fiziksel veya termal faktörlerin neden olduğu herhangi bir kusur, hasar veya altta yatan tıbbi ya da fizyolojik bir durumun varlığı sonucu oluşan hasar, yara olarak adlandırılır. Yara, anatomik yapının ve işlevin bozulması ile sonuçlanır (Agrawal ve ark., 2014). Uygun yara bakımı, optimal yara iyileşme sonuçlarını desteklemek için önemlidir. Yarayı temiz, nemli tutmayı ve daha fazla hasardan korumak gerekmektedir. Gözetimsiz bırakılan, eksik veya yanlış bakımı yapılan yaralar enfeksiyonlara, gecikmiş iyileşmeye ve hatta kronik yaralara yol açabilir (Perumal ve ark., 2017).

1.1.3 Yara iyileşmesi ve aşamaları. Rejenerasyon ve doku onarım süreçleri, hasarlı dokuyu eski haline getirmek ve dokuların yapısal ve işlevsel bütünlüğünü yeniden sağlamak için meydana gelen bir dizi moleküler ve hücresele olaylardan oluşmaktadır. Süreç, yaralanmalardan kaynaklanabilecek enfeksiyonları, kan kaybını ve diğer komplikasyonları önlemeye yardımcı olduğu için hayati bir önem taşımaktadır (Karppinen ve ark., 2019). Yetişkin memelilerde yara iyileşmesi genellikle deri uzantıları olmayan skar dokusu ile sonuçlanmaktadır. Oluşan skar dokusu cildin enfeksiyon ve dehidrasyon önlemedeki temel işlevinin gereksinimlerini karşılayabilmesine rağmen, bu süreç bazen olumsuz da olabilir. Yanık veya yaralanma sonucunda meydana gelen yara izi, derinin normal ve bozulmamış halinden farklı görüneceği için yara izinin boyutuna bağlı olarak kişiyi psikolojik olarak da etkileyebilir ve yaşam kalitesini düşürebilmektedir. Oluşan skar, cilt fonksiyonunun tamamen iyileşmesini engelleyebileceği için cildin orijinal ve bozulmamış haline geri getirebilme durumu oldukça önemlidir (Takeo ve ark., 2015).

Yara iyileşmesi, enflamasyon, proliferasyon ve yeniden oluşma/olgunlaşma olarak üç fazdan oluşan dinamik bir süreç olmasına rağmen, hücreler ve mediyatörler arasındaki karmaşık bir dizi reaksiyon ve etkileşimdir (*Şekil 2.*) (Agrawal ve ark., 2014). Birçok intrinsik ve ekstrinsik faktör, yara iyileşmesini etkilemektedir (George Broughton ve ark., 2006).

1.1.3.1 Enflamasyon aşaması. Enflamatuar faz, hemostaz ve inflamasyon ile karakterizedir. Yara oluşumu sırasında açığa çıkan kolajen, pıhtılaşma sürecini aktive ederek enflamatuar fazı başlatır (George Broughton ve ark., 2006; ÖZTAŞ, 2021). Yaralanmadan hemen sonra ortaya çıkan inflamatuvar faz, sitokinlerin, büyüme faktörlerinin ve iyileşme sürecini başlatan diğer araçların salınmasıyla karakterize edilir. Bu aşamada, kan akışında bir artış ve yara bölgesinde bağışıklık hücrelerinin birikmesi söz konusudur (Rodrigues ve ark., 2019). Vasküler bir inflamatuvar yanıt ile kan damarları kasılır ve sızan kan pıhtılaşmaya başlar. Pıhtılaşma, trombositlerin bir fibrin ağı içerisinde toplanmasıyla oluşmaktadır (Eming ve ark., 2007). Fibrin ağı, homeostazı yeniden sağlama ve mikroorganizmalara karşı bir bariyer oluşturmanın yanı sıra hücre göçü için gerekli geçici matrisi düzenleyerek koruyucu bir bariyer olarak cildin bütünlüğünü koruyup derinin işlevini geri kazandırır. Böylece, fibroblast proliferasyonun da uyarılması sağlanmaktadır (Shaw & Martin, 2009).

Enflamasyon aşamasında, 24 saat içerisinde oluşup iki güne kadar uzayabilen hücre yanıtı, yara bölgesine olan lökosit göçü ile karakterizedir. Enflamasyon, lezyon tarafından salınan ve doku yıkımına sebep olan lokalize ve koruyucu bir doku tepkisidir. Yara iyileşmesinde, enflamatuar hücreler önemli bir role sahiptir ve lizozomal enzimlerin ve reaktif oksijen türlerinin salınmasına katkıda bulunmaktadır (Gonzalez ve ark., 2016). Birçok proinflamatuvar sitokin ve lezyon bölgesinde reaktif oksijen türleri, katyonik peptidler ve proteazlar gibi yüksek oranda aktif antimikrobiyal maddeleri ifade eden nötrofiller, dokunun temizlenmesinde ve istilacı ajanların ölümünde rol oynayan, birincil aktive edilmiş hücrelerdir. Trombositlerin bir araya gelerek toplanması ve bakteriyel degradasyon ürünlerinin aktivasyonuna karşı enflamatuar bir yanıt olarak nötrofiller bir araya gelmektedir (Reinke & Sorg, 2012). Lezyondan birkaç saat sonra, lezyon bölgesinde IL-1- β (interlökin-1-beta) ,TNF- α (tümör nekroz faktörü-alfa) ve IFN- γ (interferon gama) gibi proinflamatuvar sitokinler tarafından aktive edilen ve kan kılcal duvarlarında bulunan endotel hücrelerden nötrofiller göç etmektedir. Lezyondan 48 saat sonra, komşu kan damarlarındaki monositlerin göçü artarak yeni gen ekspresyon profillerinin oluşmasıyla makrofajlara farklılaşır. Lezyonlu bölgede yeni doku oluşumunun tetiklenip yayılması için gerekli olan PDGF (Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü) ve VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü) gibi büyüme faktörlerini serbest bırakan makrofajlar, sitokinlerin ve pro-anjiyogenik, enflamatuar ve fibrojenik faktörlerin ve serbest radikallerin üretimi

ve salınmasını gerçekleştirmenin yanı sıra kas debris fagositozunun işlevlerini de yerine getirmektedir. Ayrıca makrofajlar, kemotaktik faktörler salgılayarak diğer enflamatuar hücreleri yara bölgesine çekmekte ve mikro kan damarlarının geçirgenliğini etkileyen güçlü vazodilatörler olarak işlev gören prostaglandinler üretmektedirler. Bu faktörler endotel hücrelerinin de aktivasyonuna neden olur (Gonzalez ve ark., 2016).

1.1.3.2 Proliferasyon aşaması. Proliferasyon aşaması, yeni kan damarlarının, granülasyon dokusunun oluşumu ve hücre dışı matris bileşenlerinin birikmesidir. Bu aşamada, yeni doku oluşumu ve yaranın yapısal bütünlüğü sağlanmaktadır. Keratinositleri aktive etmek için canlı bir epitelyal bariyer oluşturularak, kasılma ve fibroplazi ile lezyonlu doku alanı azaltılmaktadır. Bu süreç, lezyonun mikro ortamında ilk 48 saat içinde başlar ve lezyonun başlamasından sonraki 14. güne kadar devam edebilmektedir (Gonzalez ve ark., 2016). Yara iyileşmesinin en temel adımları epitelizeasyon, anjiyogenez, granülasyon doku oluşumu ve kolajen birikimidir. Anjiyogenez, endotel hücre proliferasyonunu, bazal membranın yırtılmasını ve yeniden düzenlenmesini, tübüler yapıların yer değiştirmesini ve birleşmesini ve perivasküler hücrelerin toplanmasını içeren koordineli bir süreçtir. Endotelyal hücre migrasyonu ve kapiller oluşumu, TNF- α tarafından uyarılan anjiyogenez için belirgindir.

Bazal membran hasar görmemiş ise, normal modelde epitel hücreler yukarı doğru hareket etmektedir. Epitelyal progenitör hücreler, yara bölgesinin altında bulunan deri uzantılarında bozulmadan kalır ve epidermis katmanları 2-3 gün içerisinde eski haline dönmektedir. Bazal membran hasar görmüş ise, cilt kenarlarında bulunan epitel hücreler çoğalmaya başlayarak koruyucu bir bariyer oluşturmak için çıkıntılar gönderir. Çıkıntılarda oluşturulan bu bariyer, sıvı kayıpları ve daha fazla bakteri istilasına karşı koruma amaçlı oluşturulmaktadır (Li ve ark., 2007). Kollateral damarların üretimi ile ortaya çıkan vasküler pleksus, büyük ve küçük kan damarlarında farklılaşacak şekilde yeniden modellenir. Daha sonra endotelyum, hem yardımcı hem de düz kas hücreleri ile doldurulmaktadır. Yeni oluşan mikro damar yapısı ile sıvı, oksijen, besin maddeleri ve bağışıklığı yeterli hücrelerin stromaya taşınması sağlanır (Carmeliet & Jain, 2000). Endotelyal ve lenfosit hücreleri de bu sürece aktif olarak

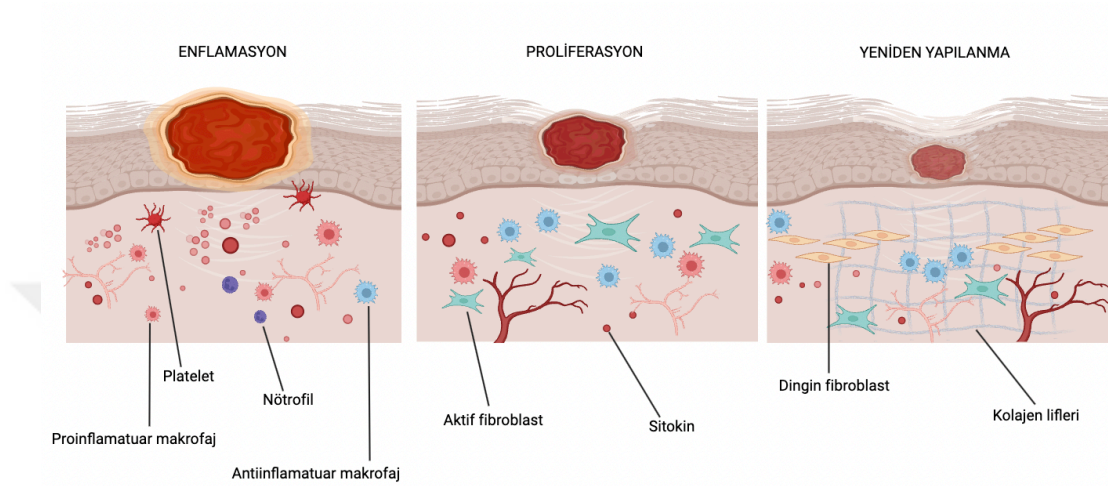
katılmaktadırlar. Lezyon oluşumundan yaklaşık 4 gün sonra granülasyon dokusu oluşmaya başlamaktadır.

Granülasyon fazı ve doku birikimi için kılcal damarlar tarafından sağlanan besin maddeleri gerekmektedir. Bu besin maddelerinin sağlanmaması, kronik olarak iyileşmeyen bir yaraya sebep olmaktadır (George Broughton ve ark., 2006). Bir doku lezyonu meydana geldiğinde onarım süreci, lezyon çevresindeki keratinositlerin enflamatuar yanıtının hücre aktivitesi ve ayrıca migrasyon, proliferasyon ve yerel hücre farklılaşmasını etkileyen çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından modüle edilmektedir. (Mason ve ark., 2002). Olgun bir bağ dokusu skarının ana bileşeni kolajendir. Kolajen üretimini gerçekleştiren fibroblastlar, bu proteini sentezlemek için yara sınırının dermisinden toplanır. Epidermis ve dermis arasında zarar görmemiş bir bazal membranın oluşumu, bütünlüğünün ve işlevinin yeniden sağlanması için gereklidir.

Onarımın bu aşamasında, granülasyon dokusunda fibroblastlar tarafından sentezlenen tip III kollajen baskındır. Yaranın kasılma süreci, miyofibroblastlar olarak bilinen alfa düz kas aktini açısından zengin olan fibroblastlar tarafından gerçekleştirilen bu aşamada başlamaktadır. Yara kenarlarında biriken bu tür hücreler, büzülme faaliyetlerini yürüterek lezyonun kenarlarını merkeze doğru daraltmaktadır (Calin ve ark., 2010; Medrado ve ark., 2010).

Anjiyogenez, endotel hücrelerinin migrasyonu ve mitojenik stimülasyonu ile yara yatağının hücre dışı matrisinde meydana gelmektedir. Yaranın kenarlarının iyi bir şekilde irrigasyonu, yara iyileşmesi için gereklidir. Irrigasyon, stromaya yeterli besin ve oksijenin sağlanmasının yanı sıra immün hücrelerin de sağlanmasına izin verir. Aynı zamanda, epitel hücreleri spesifik sitokinlerin etkisiyle çoğalır ve yarayı kapatmak için yaranın kenarlarından göç etmektedir. Bir yaranın keratinositler tarafından yeniden epitelizasyonu, proliferatif aşama ile lezyonun yakınındaki hücrelerin migrasyonu ile gerçekleştirilmektedir. Keratinositlerin göçü, lezyonun kalan derisinin ekstremitelerine doğru gerçekleşir. Kıl foliküllerinin epidermal hücreleri, pıhtılaşmayı ve hasarlı stromayı hızla gidermektedir (Karppinen ve ark., 2019; Takeo ve ark., 2015). Lezyonun başlangıcından yaklaşık 10 saat sonra, keratinositlerin psödopod çıkıntılarının gelişimi ve gerilmesi, hücre dışı matris-hücre

ve hücre-hücre temaslarının kaybı, tonofilamentlerin geri çekilmesi ve sitoplazmalarının uçlarında aktin filamentlerinin oluşumu gerçekleşmektedir. Yara bölgesine olan göç durduğunda, keratinositler substrata yeniden bağlanır ve bazal membranı yeniden oluşturmaktadır. Daha sonra, çok katmanlı yeni epidermisi oluşturmak için farklılaşma süreci devam etmektedir (Li ve ark., 2007).



Şekil 2. Yara iyileşme aşamaları. (BioRender.com ile oluşturuldu.)

1.1.3.3 Yeniden yapılanma (Remodeling). Yara iyileşmesinin üçüncü ve son aşaması, lezyonun başlangıcından 2-3 hafta sonra başlayan, 1 yıl veya daha fazla sürebilen yeniden şekillenme aşamasıdır. Bu aşamada, hücre dışı matrisin yeniden düzenlenmesi, degradasyonu ve yeniden sentezlenmesi ile maksimum gerilim kuvvetine ulaşılmaktadır (PARSAK ve ark., 2007). Lezyonun iyileşmesinin bu son aşamasında, normal doku yapısı geri kazanılmaya çalışılır. Ayrıca, granülasyon dokusu yavaş yavaş yeniden şekillenerek daha az hücreli ve vasküler olan ve kolajen liflerinin artmasını sağlayan skar dokusu oluşur (Eming ve ark., 2007).

Lezyonun yüzeyi tek tabakalı keratinositler ile kaplanır kaplanmaz, epidermal migrasyon durur ve yaranın kenarlarından iç kısımlara kadar altta bazal lamina olmak üzere yeni bir epidermis tabakası oluşmaktadır. Yaranın kapanmasıyla tip III kolajen degradasyona uğrar ve tip I kolajen sentezi artmaktadır. Kolajen liflerinin kalınlaşması ile dokunun gerilim kuvveti artmaktadır. Kontraksiyonun bir kısmı bu aşamada gelişir. Yara yaklaşık 6 hafta sonra başlangıçtaki gücünün % 95 ini kazanmaktadır. Kolajen sentezinin düzenlenmesi, TGF- β 1 ve FGF gibi çok çeşitli büyüme faktörleri tarafından

kontrol edilir. Yeniden şekillenme sırasında, göç ve apoptoz gibi nedenlerle kan damarları, fibroblastlar ve enflamatuar hücrelerin çoğu yara bölgesinden kaybolur. Bu durum hücre sayısı azalmış skar oluşumuna yol açmaktadır. Daha sonra, granülasyon dokusunun fibroblastları fenotiplerini değiştirerek geçici olarak düz kas aktini gibi davranır. Miyofibroblastlar, düz kas hücrelerinden kasılma özellikleri kazanarak yara kenarlarına yerleşip kasılmayı gerçekleştirir (Calin ve ark., 2010; O'Kane, 2002). Bu şekildeki referans hücreler, aktinden oluşmuş büzülebilen mikrofilament bantları sunmaktadır. Böylece, iletişim bağlantı noktaları aracılığı ile sitoplazmik aktin filamentler, integrin reseptörleri tarafından fibronektin fibrillerine ve hücre dışı matrisin matrisin kolajen I ve III'üne bağlanır (Shaw & Martin, 2009).

Hücre dışı matrisin yapısal bileşenleri, doku onarımının bu aşamasında önemli bir rol oynamaktadır. Kolajen, fibronektin, fibrin gibi proteinler tarafından temsil edilen bu tür yapısal bileşenler, yara bölgesi için spesifik hücre aktivitelerini serbest bırakır. Örneğin fibronektin, yapışmayı ve hücre göçünü sağlamaktadır. Adeziv glikoprotein olan vitronektin, fibroblastlar tarafından üretilen kolajenin aracılık ettiği dokunun kasılmasına katkıda bulunabilmektedir (Badylak, 2002; Midwood ve ark., 2004).

1.1.4 Yara çeşitleri ve yara iyileşmesini etkileyen faktörler. Yaralar genellikle cerrahi yaralar gibi doku kaybı olmayan yaralar ve doku kaybı olan yaralar olarak ayrılır. Yanık yaraları, travmaya bağlı olarak oluşan yaralar, diyabetik ülserler ve deri nakli donör bölgeleri ve dermal sıyrıklar gibi iatrojenik yaralar doku kaybı olan yaralardır (Agrawal ve ark., 2014).

Yara iyileşme sürecinin doğasına bağlı olarak yaralar, akut yaralar ve kronik yaralar olarak sınıflandırılabilir. Akut yaralar genellikle belirli bir süre (8-12 hafta) içerisinde tamamen iyileşen doku yaralanmalarıdır. Bu yaralar mekanik yaralanmalar, cilt ile pürüzlü yüzeyler arasında sürtünme temasından dolayı oluşan veya ateşli silah atışları sonucu oluşan sıyrıklar gibi dış fiziksel etkenler ve ameliyat sırasında oluşan yaralanmalardır. Radyasyon ve aşındırıcı kimyasallara maruz kalma sonucu oluşan yanıklar ve kimyasal yaralanmalar da akut yaralardır (Whitney, 2005). İyileşme süre sınırlaması olmayan, sık sık tekrarlayan ve yavaş iyileşen doku yaralanmaları ise kronik yaralar olarak sınıflandırılır. Kronik yaralardaki yavaş iyileşmenin sebebi, diyabet, sıklıkla maruz kalınan enfeksiyonlar, kısıtlı primer tedavi faktörleri gibi altta yatan farklı fizyolojik durumlardır. Yara bölgesinin çevresindeki sağlıklı deri

dokusunun maserasyonuna sebep olan ve yara iyileşmesine engel olan kronik yaralarda genellikle aşırı miktarda eksüda üretimi olmaktadır. Fazla miktarda üretilen eksüda, yara bölgesindeki lenfositlerin hareketliliğini azaltır ve yara iyileşmesinin gecikmesine sebep olmaktadır (Bryant & Nix, 2015).

Sitokinler, kan, büyüme faktörleri ve ekstraselüler matris arasındaki etkileşimler yara iyileşmesi ile sonuçlanmaktadır. Sitokinler, dehidrasyonu engellemek, bazal membran bileşenlerinin üretimini uyarmak iltihaplanmayı desteklemek ve granülasyon doku oluşumunun artırılmasını sağlamak gibi yollarla yaranın iyileşmesini sağlamaktadır. Yaranın iyileşmesi sürecindeki bu yollar lokal ve sistemik faktörlerden etkilenmektedir. Ağrı, enfeksiyon, radyasyon, hipotermi ve doku oksijen gerilimini içeren lokal faktörler yara özelliklerini doğrudan etkilerken, genel sağlık ve hastalık durumunu belirten sistemik faktörler kişinin iyileşme yeteneğini etkilemektedir. Ayrıca, yaş, yetersiz beslenme, vitamin ve mineral eksikliği gibi durumlar da yaranın iyileşmesini etkileyip süreyi uzatabilmektedir (Dhivya ve ark., 2015). Yara bölgesindeki nem dengesi de yara iyileşmesi için gerekli bir diğer durumdur. Nem, yara bölgesinin kenarlarından yeni hücrelerin göçünü sağlayarak yaranın daha hızlı iyileşip hasarlı bölgenin daha hızlı kapanmasını sağlamaktadır (Hajikhani ve ark., 2021).

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve sistemik olarak kategorize edilebilmektedir. Lokal faktörler, yaranın özelliklerini doğrudan etkileyen faktörler iken, sistemik faktörler kişinin iyileşme yeteneğini etkileyen genel sağlık veya hastalık durumudur. Bu faktörlerin çoğu birbiriyle ilişkilidir (Guo & DiPietro, 2010). Yara iyileşme aşamasında gerçekleşen tüm süreçlerde, intrinsik ve ekstrinsik faktörler bu olayları düzenleyebilmekte ve iyileşme sürecini etkileyebilmektedir. Yaş, beslenme, diyabet gibi kronik hastalıklar ve kortikosteroidler gibi ilaçlar da dahil olmak üzere çeşitli faktörler yara iyileşme sürecini etkileyebilir. Yaşlı bireyler ve kronik hastalığı olan kişilerde, zayıflamış bağışıklık sistemleri ve etkilenen bölgeye azalan kan akışı nedeniyle yara iyileşmesinde gecikmeler yaşanabilmektedir. Ayrıca, vücut doku onarımını desteklemek için yeterli miktarda protein, vitamin ve mineral gerektiğinden, yeterli beslenme de uygun yara iyileşmesi için çok önemlidir. Kortikosteroidler gibi bazı ilaçlar da, bağışıklık sistemini baskılayarak ve vücudun

enfeksiyonlarla savaşma yeteneğini azaltarak yara iyileşme mekanizmalarını bozabilir ve iyileşmeyi geciktirebilmektedir (Bucknall, 1989; George Broughton ve ark., 2006).

1.1.6 Yara iyileşmesinde kullanılan bitkiler. Kan, vücuda beslenme, oksijen ve atıkların giderilmesini sağlayan, vücut içerisinde sürekli dolaşım halinde olan yaşamsal bir sıvıdır. Vücuttaki doğal hemostatik sistem, hafif ve orta şiddetteki kanamaları yönetebilecek bir mekanizmaya sahiptir. Ancak aşırı veya kontrolsüz kanama durumunda yaşamı tehdit edebilecek durumlar meydana gelebileceğinden dolayı kanama kontrolü hayati bir öneme sahiptir (Ebrahimi ve ark., 2020). Bu nedenle, antik çağlardan beri, kanamayı durdurma ve yara iyileşmesini desteklemek amacıyla ve çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkiler kullanılmaktadır. Günümüzde de kullanılan ilaçların büyük bir çoğunluğu bitkisel kökenlidir.

Geleneksel tıpta yara ve yanıkların tedavisinde bitki ve bitkisel ürünlerden sıkça faydalandığı gibi, bitkisel ürünlere olan ilgi de gün geçtikçe artmaktadır. Bitkilerin yanık ve yara iyileşmesinde antibakteriyel, antioksidan, proliferasyon ve fibroblast uyarıcı etkileri olduğu bilinmektedir. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitki türlerinin özel üretim alanları oluşturularak yağları çıkarılmakta veya kurutulmaktadır. Geçmişten günümüze *Nigella Sativa L.* (örek otu), *Plantago lanceolata* (sinir otu), aloe vera, *Calendula officinalis* (aynısefa bitkisi), Ginseng, *Achillea millefolium* (civanperçemi), *Hypericum perforatum* (sarı kantaron), *Momordica charantia* (kudret narı) ve *Inula viscosa* (andız otu) gibi birçok bitki yara ve yanıkların tedavisinde kullanılmış ve kullanılmaya devam etmektedir (Kapucuk & Hikmet, 2021).

1.1.6.1 *Cannabis sativa.* *Cannabis sativa* (kenevir bitkisi), *Cannabaceae* familyasına ait tek yıllık otsu ve iekli bir bitkidir. Genellikle yapraklarla çevrili olan dişi çiçekler, reçine salgılayan trikomlar açısından zengindir. Erkek iekler ise genellikle seyrek kümeler halindedir. 3-6 mm boyunda ve 2-4 mm genişliğinde olan kenevir tohumları, cinsine bağlı olarak gri, siyah, yeşilimsi kahverengi renklerdedir ve ince kabukludur. Kenevir bitkisinin temel üretim yerleri yaprak, iek, brakte ve gövdelerinde bulunan epidermal salgı tüyleridir (Gupta & Talukder, 2021). İnsanlık tarihindeki en eski bitkilerden olan kenevir, yara tedavisinde sıkça kullanılmaktadır. Kenevirin antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktivitelerinden dolayı özellikle son

yıllarda tıbbi amaçlı kullanımını ve üretimini giderek artmaktadır (KOCA ÇALIŞKAN, 2020).

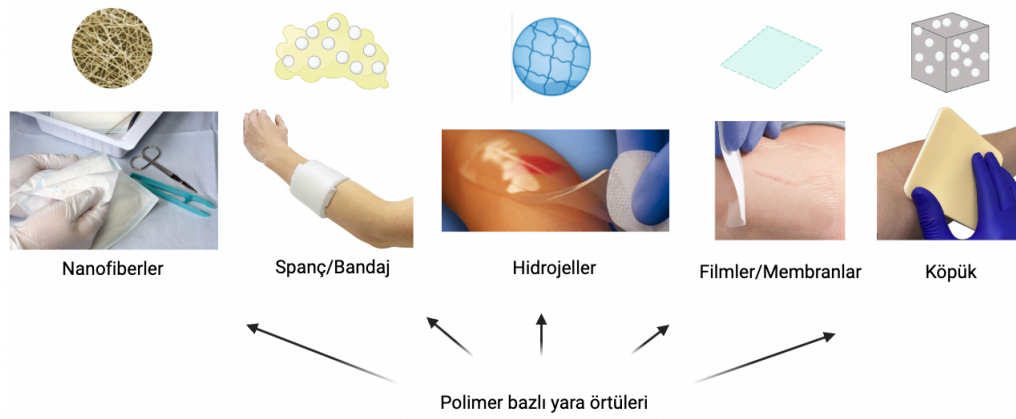
Memeli dokusunda, G proteinine bağlı kannabinoid reseptör 1 (CB1R) ve kannabinoid reseptörü 2 (CB2R) belirlenmiştir. Deride bulunan bu reseptörler çeşitli işlevlere hizmet etmektedir (Matsuda ve ark., 1990). Kannabinoidler, bu reseptörler aracılığıyla keratinositlerin, melanositlerin, adneksiyal yapıların ve fibroblastların büyümesini, çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozunu etkilemektedir. Ayrıca, kanabinoid reseptörleri kutanöz sinir liflerinde ve bağışıklık hücrelerinde de bulunmaktadır (Armstrong ve ark., 2015; Nikan ve ark., 2016). Kanabinoidlerin cilt homeostazı üzerindeki etkisi, dermatoloji alanındaki terapötik potansiyellerini desteklemektedir (Oláh ve ark., 2014). Fareler ile yapılan *in vivo* araştırmalarda, C2BR agonistleri ve antagonistlerinin, M1 ve M2 makrofaj infiltrasyonunu düzenleyerek fare derisindeki kesik yaralarda enflamasyonu etkilediği sonucuna varılmıştır. (Du ve ark., 2018). Ayrıca, CB2R aktivasyonu nötrofil infiltrasyonunu azaltmakta ve keratinosit göçünü, fibroblast birikimini ve fibroblasttan miyofibroblasta dönüşümünü sağlamaktadır (Wang ve ark., 2016). Yapılan araştırmalar sonucu edinilen bulgularda, kanabinoidlerin yara bölgesinin yeniden epitelizasyonunu ve skar oluşumunu hızlandırabileceği önerisini desteklemektedir (Bilkei-Gorzo ve ark., 2012).

1.1.7 Yara örtüleri. Biyouyumlu ve biyobozunur polimer doku iskeleleri, dokuların rejenerasyonu ve transplantasyonu için geleneksel tedavi seçeneklerine alternatif olarak sunulmaktadır.

Yaraya doğru yöntemin uygulanması, doğru malzeme kullanılması ve uygun yara örtüsünün yeterli sürede yaraya uygulanması önemli parametrelerdir. Yara örtüsü, yara bölgesini sıvı ve protein kaybından koruyarak, bakteriler tarafından oluşabilecek enfeksiyon ve sonrasında oluşabilecek doku hasarını önleyerek derinin normal işlevlerini yerine getirmektedir (Dong & Guo, 2021).

Yara örtüsü, yaranın türü ve ciddiyetinin yanı sıra tedavinin istenilen sonucuna bağlı olarak sprey, hidrojel, köpük, hidrokolloid ve film/membran gibi formlarla, üretildikleri materyallere ve içerdikleri etken maddelere göre çeşitlilik göstermektedir (Dong & Guo, 2021). Özellikle son 20 yıldır çok sayıda araştırma grubu, yara örtüsü olarak uygulanabilen, doku rejenerasyonunu aktive edebilen, yara kontraksiyonunu inhibe edebilecek ve yara bölgesini çeşitli dış etkenlere karşı koruyabilecek

materyaller elde edebilmek için bilimsel çalışmalar yürütmektedir (Dhandayuthapani ve ark., 2011; Ulubayram ve ark., 2001).



Şekil 3. Polimer bazlı yara örtüleri. (BioRender.com ile oluşturuldu.)

Köpük şeklindeki yara örtüleri, sıvıyı emip hapsedikleri ve yara için nemli bir ortam sağladıkları için orta ve yoğun eksüdalı yaralar için tercih edilmektedir. Film/membran yara örtüleri, tipik olarak kabarcıklı yapılar gibi minimal eksüdalı yüzeysel yara ve yanıklar için kullanılır ve yaranın hava almasına izin verirken su ve bakterilere karşı bariyer görevi sağlar (Bi ve ark., 2020). Uygun maliyetli olan ve oksijen değişimine olanak sağlayan hidrojeller, orta eksüdalı kuru ve derin yaralar için tercih edilmektedir. Anjiyogenezi artıran yüksek maliyetli olabilen hidrokolloidler, bakteriyel ve fiziksel bir bariyer oluşturarak akut cerrahi yaralar ve basınç ve venöz ülserler gibi durumlarda tercih edilebilmektedir (Bhatia & Bhatia, 2016). Birden fazla yara örtüsü tipini birleştirerek yara bakımına daha özelleştirilmiş bir yaklaşım sağlayabilmek amacıyla kompozit yara örtüleride kullanılabilir (Bi ve ark., 2020).



Şekil 4. Yaygın olarak kullanılan yara örtüleri. (BioRender.com ile oluşturuldu.)

Yara iyileşmesinde, yara bölgesini saran, nemli bir ortam sağlayarak hızlı iyileşmeyi sağlayan yara örtüleri, proliferasyon ve migrasyon için önemli bir faktör olmasının yanı sıra, fibroblast ve keratinosit hücrelerinin kolajen sentezini artırmakta ve skar dokusu oluşumunu azaltmaktadır. İdeal yara örtüsünün, kolay uygulanabilir, toksik olmayan, biyouyumlu, antibakteriyel, nemli bir ortam sağlayan, yara bölgesine kolay tutunabilir ve uygun maliyetli olması gerekmektedir (Watret & White, 2001).

1.1.7.1 Yara örtülerinde kullanılan polimerler. Yara iyileşmesi sürecini desteklemek ve komplikasyonları önlemek amacıyla çeşitli medikal uygulamalarda kullanılan yara örtüleri için polimer seçimi, biyobozunurluk, biyolojik uyumluluk, mekanik dayanıklılık, şekil alabilirlik ve antimikrobiyal özellikler gibi faktörlere göre yapılmaktadır. Bu özellikler, polimerin uygulama alanına ve hedeflenen tedavi amacına göre de tercih edilmektedir.

Yara örtülerinde kullanılan polimerler arasında poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA), poli(ϵ -kaprolakton) (PCL), poli(vinil alkol) (PVA), poli(ürethan) ve poli(etilen oksit) (PEO) gibi çeşitli polimerler bulunur. Her biri farklı özelliklere sahip bu polimerler, amaca ve uygulama alanına göre tercih edilmektedir. Biyobozunur ve biyouyumlu bir polimer olan PLA, çeşitli şekil ve boyutlarda üretilen ve yüksek termal dayanıklılığı, şekil alabilirliği ve geniş bir uygulama yelpazesi nedeniyle yara

örtüsü üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle elektroegirme yönteminde üretimi tercih edilen PLA nanolifleri, yüksek yüzey alanı sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırabilmektedir (Fattahi ve ark., 2020). PGA, hızlı biyobozunabilirliği nedeniyle kısa vadeli kullanımlar için uygun iken, PCL ise biyobozunma süreci daha yavaş olduğu için daha uzun vadeli uygulamalarda tercih edilmektedir. Her ikisi de yara örtüleri için esneklik ve dayanıklılık sağlayabilmektedir (Fahimirad ve ark., 2021; Fang ve ark., 2019). Su emme kapasitesi yüksek olan ve genellikle hidrojel formunda kullanılan PVA, nemli ortam sağladığı için yara örtülerinde tercih edilmektedir (Jin, 2022). Poliüretan ise, mekanik özellikleri ve elastik olması sebebiyle tercih edilmekte ve yara iyileşmesini destekleyebilmektedir. Esnekliği sayesinde vücut hareketlerine de uyum sağlamaktadır. (Morales-González ve ark., 2022). Su ile çözünebilir bir polimer olan PEO, yara örtülerinde su emme özellikleri nedeniyle genellikle hidrojel formundaki uygulamalarda tercih edilmektedir (Haryanto ve ark., 2014).

1.1.7.2 PLA yara örtüleri. Poli(laktik asit) (PLA), mısır, şeker kamışı, buğday gibi nişasta açısından zengin bitkisel ve yenilenebilir kaynaklardan üretilen, biyolojik olarak parçalanabilen ve biyoyumlu bir polimerdir (Gupta ve ark., 2007; Langer & Tirrell, 2004). Biyoyumluluğu ve biyobozunurluğu nedeniyle ilaç verme, gen transferi, doku mühendisliği ve rejeneratif tıp uygulamaları için sıkça tercih edilen bir biyopolimerdir. PLA, özellikleri sebebiyle, yara iyileşmesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Langer & Tirrell, 2004; Luten ve ark., 2008; Perumal ve ark., 2017).

PLA, doku rejenerasyonunu desteklemekte ve yara bölgelerinde iltihaplanmayı azaltmaktadır. Bu yüzden, yara iyileştirme uygulamaları için ideal bir malzeme olarak sıkça kullanılmaktadır. Filmler, lifler, süngerler ve nanopartiküller şeklinde kullanılabilen PLA, bu farklı biçimleri sayesinde farklı yara türleri için uygun hale gelebilen kendilerine has benzersiz özelliklere sahiptir. Örneğin, PLA filmler yüzeysel yaralar için kullanılırken, PLA nanoparçacıkları derin yaralar için tercih edilmektedir (Santoro ve ark., 2016).

PLA yara örtüleri, yanıklar, sıyrıklar, cerrahi kesiler ve diyabetik ayak ülserleri gibi kronik yaralar dahil olmak üzere çeşitli yaraların tedavisinde etkili olmaktadır. Ayrıca, iyileşme sürecini hızlandıran nemli yara iyileşme ortamları için kullanıma uygunlardır (Sharma ve ark., 2014; Toncheva ve ark., 2014). PLA'nın yara iyileştirme özelliklerine

ek olarak, kolayca ilaç yüklenebildiği ve kontrollü bir oranda salınabildiği için etkili bir ilaç verme sistemi olarak da kullanılabilir. Genel olarak PLA, biyouyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve doku rejenerasyonunu destekleme kabiliyeti nedeniyle yara iyileştirme uygulamaları için umut verici bir malzemedir (DeStefano ve ark., 2020). Ayrıca, yaranın onarımı aşamasında, yaraya gereken desteği vermek ve bir arada tutmak amacıyla yapılan cerrahi dikişlerdeki PLA kullanımını FDA tarafından onaylanmıştır (İbrahim & Koçak, 2012).

PLA yara örtülerinin temel avantajlarından biri olan biyolojik olarak parçalanabilir olmaları sayesinde, ayrışması yıllar alabilen geleneksel yara örtülerinin aksine, birkaç ay içinde zararsız bileşiklere dönüşmektedirler. Bu özelliği sayesinde, yara bakımı için çevre dostu bir seçenektir (Xu ve ark., 2022). PLA yara örtülerinin kolay uygulanması ve çıkarılmasının yanı sıra kavisli ve düzensiz yüzeyler dahil olmak üzere, farklı yara tiplerine ve vücut hatlarına da iyi uyum sağlamaktadır. Ayrıca, PLA yara örtüleri, enfeksiyonları önleyebilen ve iyileşmeyi hızlandırabilen antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Yara yatağına yapışmadıkları için yara örtüsü değişiklikleriyle ilişkili ağrı ve rahatsızlığı hafifletmeye de yardımcı olabilirler (Fang ve ark., 2019).

1.2 Problem Durumu

Ciltte anatomik yapının veya işlevin bozulması ile sonuçlanan yaranın, boyutuna bağlı olarak enfeksiyon ve kan kaybı gibi komplikasyonlarda, tedavisi ve bakımı hayati olabilmektedir. Ayrıca, yaranın geç iyileşmesi, kronik yaralara ve yara izi kalmasına sebep olabilmekte ve kişinin günlük yaşantısında problem olabilmektedir. Bu sebeple, hasar alan dokunun yapısal ve işlevsel bütünlüğünü geri kazandırmak önemli bir süreçtir. Bu amaçla, bu tez kapsamında yapılacak araştırma, biyokompozitler ve antimikrobiyal yara iyileştirme uygulamalarının geliştirilmesine yöneliktir. Çalışma, bu biyokompozitlerin bakteriyel çoğalma (*E. coli*, *Bacillus*) ve HUVEC hücre çoğalması üzerindeki etkisini araştırmaya yönelik planlanmıştır. Bulgular, değişen CS yağı konsantrasyonlarına sahip yara pansumanları oluşturmaya yönelik potansiyel çözümler önermektedir. Genel olarak araştırma, etkili yara bakımı uygulamaları için yenilikçi biyomateryallerin tasarımına katkıda bulunmayı amaçlamaktadır. Çalışma, yara iyileşmesini destekleyen biyouyumlu ve antiinflamatuvar yara pansumanları oluşturmaya yönelik potansiyel çözümler önermektedir.

1.3 Çalışmanın Amacı

PLA, doku mühendisliği ve ilaç dağıtımı alanında yaygın olarak kullanılan, biyolojik olarak parçalanabilen ve biyoyumlu bir polimerdir. PLA, hücre tutunmasını ve çoğalmasını destekleme kabiliyetinin yanı sıra vücutta toksik olmayan ürünlere dönüşme kabiliyeti nedeniyle yara iyileştirme uygulamalarında kullanılmıştır. Bitkisel iyileştiriciler veya iyileştirici özelliklere sahip bitki bazlı bileşikler de yara iyileştirme uygulamalarında kullanılmıştır. Bu bileşikler, iyileşme sürecine yardımcı olmak için anti-enflamatuar, antimikrobiyal ve antioksidan özellikler sağlayabilir. PLA ve bitkisel iyileştiricilerin kombinasyonu, yara iyileşmesini artırma potansiyeli açısından incelenmiştir. Literatürdeki araştırmalar da, iltihap önleyici ve yara iyileştirici, hatta analjezik özelliklere sahip olduğu gösterilen bitki yağları ya da bitki ekstratlarının PLA ile birlikte oluşturulan polimerlerin oldukça etkili sonuçlar ortaya çıkarabileceğini göstermektedir. *Cannabis Sativa* yağı, kenevir bitkisinin tohumlarından elde edilen doğal bir yağdır. Omega-3 ve omega-6 gibi esansiyel yağ asitleri bakımından zengindir ve cilt sağlığına faydalı antioksidanlar ve anti-enflamatuar bileşikler içerir. En ideal konsantrasyonda, kademeli olarak kenevir yağı salınımı yapan ve yarayı destekleyen bir biyokompozit yara örtüsü üretilerek, ticarileştirilmesi amaçlanmaktadır.

1.4 Hipotezler/Araştırma Soruları

PLA, yenilenebilir, bitki bazlı kaynaklardan bakteriyel fermantasyon ile üretilen, toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen, hidrofobik, sentetik bir polimerdir. Uygun mekanik özelliklere sahiptir ve parçalanma yan ürünleri güvenli ve toksik olmayan karbondioksit ve sudur. FDA (Food and Drug Administration)'ya göre, osteo-onarım parçalarının üretimi için popüler bir malzemedir. FDA onayı almış polimer bir yapıdır. Kenevir tohumu yağı, anti-enflamatuar, antibakteriyel, cildi destekleyen ve yeni cilt dokusunun oluşumunu destekleyen özellikleri sayesinde yara iyileşmesinde kullanılabilir. Cilde güç ve destek sağlayan, yaranın kenarlarını bir araya getirerek yeni doku oluşumunu destekleyen yapısal bir protein olan kolajenin de üretimini uyararak cilt rejenerasyonunu ve yara iyileşmesini desteklemektedir. Ayrıca, yara iyileşmesinin kritik bir süreci olan iltihaplanma durumu, kenevirin anti-enflamatuar özellikleri sayesinde ortadan kaldırılmaktadır. Enflamatuar yanıt, hasarlı dokuyu ve yabancı dış etkenleri yara bölgesinden uzaklaştırmak için gereklidir. Ancak aşırı enflamasyon iyileşme sürecini geciktirebilmektedir. Kenevir tohumu yağı,

iltihaplanma ve iyileşme arasında sağlıklı bir denge sağlayarak, iltihaplanma tepkisini düzenlemeye yardımcı olabilir.

1.5 Çalışmanın Önemi

Poli(laktik asit) veya PLA, yenilenebilir bitki kaynaklarından elde edilen ve bakteriyel fermantasyon ile üretilen bir sentetik polimerdir. Bu polimer toksik olmayıp, biyolojik olarak parçalanabilir, hidrofobiktir ve uygun mekanik özelliklere sahiptir. FDA onaylı olan PLA, osteo-onarım parçalarının üretiminde yaygın olarak kullanılan güvenli bir malzemedir. Kenevir tohumu yağı, anti-enflamatuar, antibakteriyel ve cildi destekleyen özelliklere sahiptir, bu nedenle yara iyileşmesi süreçlerinde kullanılabilir. Aynı zamanda, cildin güçlenmesine ve desteklenmesine yardımcı olan kolajen üretimini teşvik eder, böylece yeni doku oluşumunu destekler. Kenevirin anti-enflamatuar özellikleri, yara iyileşmesinde kritik bir rol oynayan iltihaplanma durumunu azaltmaya yardımcı olur. İltihaplanma, hasarlı dokuyu temizlemek için önemlidir, ancak aşırı enflamasyon iyileşme sürecini geciktirebilir. Kenevir tohumu yağı, iltihaplanma ve iyileşme arasında sağlıklı bir denge sağlayarak, iltihaplanma tepkisini düzenlemeye yardımcı olacaktır.

Bölüm 2

Literatür Özeti

Yara iyileşmesi, insan sağlığı açısından önemli bir konudur ve uygun tedavi yöntemleri arayışı devam etmektedir. Son yıllarda, yara iyileşmesi için doğal ürünlere karşı olan ilgi giderek artmaktadır. Doğal ve bitkisel kaynaklı ürünlerin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan bilimsel çalışmalar merak uyandırmaktadır. Araştırmacılar yeni tedavi seçenekleri ararken, kenevir yağı yara iyileşmesini teşvik eden potansiyel doğal bir çare olarak ortaya çıkmıştır. Yara iyileşmesi, hücresel ve moleküler olaylar dizisiyle gerçekleşen karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, hücre proliferasyonu, kan damarı oluşumu, bağ dokusu rejenerasyonu, enflamasyon ve enfeksiyonun kontrol altına alınması gibi birçok faktörü içermektedir. Yara iyileşmesi, cilt hasarının önlenmesi ve enfeksiyon riskinin azaltılması için hayati öneme sahiptir. Çok sayıda seçenek arasında kenevir tohumu yağı, potansiyel terapötik özellikleri nedeniyle son yıllarda araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Kenevir yağı, ciltteki enflamasyonu azaltma, mikrobiyal enfeksiyonları kontrol altına alma ve dokuların yenilenmesine yardımcı olma özellikleri nedeniyle yara iyileşmesi için potansiyel bir doğal çözüm olarak ortaya çıkmaktadır (Hartsel ve ark., 2016).

Cannabis sativa bitkisinden elde edilen kenevir yağı, iyileşmeyi ve yenilenmeyi desteklediği düşünülen yağ asitleri, vitaminler ve mineraller açısından zengindir. Kenevir tohumu yağını, yalnızca eser miktarda psikoaktif bileşen olan THC içerdiğinden, CBD yağı veya esrar gibi diğer kenevir türevlerinden ayırmak önemlidir. Kenevir tohumu yağı, omega-6 ve omega-3 yağ asitleri, amino asitler, antioksidanlar, E ve A gibi vitaminler ve zengin bir dizi minerale sahip yüksek besin değerli bir yağdır. Bu besleyici bileşenlerin, yara iyileşmesi sürecine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Yara iyileşmesi sürecinde enflamasyonun kontrol altına alınması önemlidir. Kenevir yağı, içerdiği omega-3 yağ asitleri sayesinde anti-enflamatuar etkilere sahiptir. Bu etkiler, enflamasyonu azaltarak yara iyileşme sürecini hızlandırabilir. Yaranın uygun nem düzeyinin sağlanması ve cilt bariyerinin güçlendirilmesi, yara iyileşmesi için önemli faktörlerdir. Kenevir yağı, sahip olduğu yoğun nemlendirici özelliği ile cildin nem düzeyini arttırarak yara iyileşmesini destekleyebilmektedir. Ayrıca, içerdiği omega-3 ve omega-6 yağ asitleri, cildin doğal

bariyer fonksiyonunu geri kazanmaya yardımcı olarak yara iyileşmesini hızlandırmaktadır. Yaralarda enfeksiyon riski, iyileşme sürecini olumsuz etkileyebilir. Kenevir yağı, antimikrobiyal ve antienfektif özelliklere sahiptir ve bakteri ve mantar gibi patojenlere karşı etkili olduğu düşünülmektedir. Bu özellikleri sayesinde enfeksiyon riskini azaltarak yara iyileşmesini destekleyebilmektedir. Bunların yanı sıra yara iyileşmesi ağırlı bir süreç olabilir. Analjezik özellikleri ile kenevir yağı, ağrı giderici olarak da kullanılabilir (Zeiger ve ark., 2019).

İnsanlar, doğal olarak üretilen endokannabinoidleri ve bunların taşınması, sentezi ve parçalanmasında yer alan proteinleri içeren çeşitli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde yer alan bir endokannabinoid sisteme zaten sahiptir. Endokannabinoid sistemin modülasyonu, vasküler, zihinsel ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere birçok hastalık için umut vericidir. Kannabinoidlerin anti-enflamatuar etkilerinin yanı sıra, endokannabinoid sistemin cilt üzerindeki etkisi ve deri homeostazını korumadaki rolünün keşfi ile, enflamatuar hastalıkların tedavisinde kullanımlarına olan ilgi giderek artmaktadır (Zeiger ve ark., 2019).

İncelenen literatür, kenevir yağının yara iyileşmesindeki potansiyel etkinliğine katkıda bulunan çeşitli özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Bu özellikler, yara kapanmasını teşvik etmeyi, iltihabı azaltmayı, cilt bariyer fonksiyonunu güçlendirmeyi, antimikrobiyal etkiler sergilemeyi ve antioksidan aktivite sağlamayı içerir. Kenevir yağının yara iyileşmesine etkileri, hayvanlar üzerinde yapılan birçok çalışma ile araştırılmıştır. Antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktiviteleri gösterilmiş olup, akne rosacea, seboreik dermatit, egzama, dermatit, sedef hastalığı ve Liken planus gibi hastalıkların belirtilerini azalttığı (Abel, 1980; Tabassum & Hamdani, 2014), farelere uygulanan kenevir yağının, nemi artırdığı, ince bölgeleri güçlendirerek cilt kalınlığını artırdığı, dermal kolajen liflerini ve elastikiyeti artırdığı (Li ve ark., 2012) , atopik hastalarda kaşıntıyı azalttığı (Callaway ve ark., 2005), Stratum corneum'un hasarlı bölgelerini onardığı, keratinositler ve korneositler gibi epidermal hücreleri desteklediği (Keck & Schwabe, 2009), kutanöz köpek fibroblastı ve keratinosit kültürlerinde yapılan çalışmalar sonucunda ise bazal membranı güçlendirdiği ve keratinosit tabakasını artırdığı (Cerrato ve ark., 2013) bildirilmiştir. Yapılan çalışmaların birçoğu kenevir yağının topikal uygulamasının, yara iyileşmesini hızlandırdığını ve cildin rejenerasyonunu teşvik ettiğini göstermiştir. Literatürdeki

kenevir yağı ile yapılan yara iyileşmesi çalışmaları, doğal tedavi yöntemlerinin etkinliği konusunda önemli bulgular sunmaktadır. Devam eden araştırmalar ve klinik deneyler, kenevir yağının yara bakımında en uygun uygulama yöntemlerini ve dozajını belirlemede yardımcı olmaktadır. Literatür, kannabinoidlerin cilt kanseri, akne, sedef hastalığı, kaşıntı, dermatit, skleroderma, dermatomiyozit, kutanöz lupus eritematöz, epidermolizis bülloza, ağrı ve yara iyileşmesindeki rolüne ilişkin umut verici sonuçlar bildirmektedir.

Kenevir yağının temel bileşenlerinden biri olan linoleik asit, cildin bariyer işlevini sürdürmek için gerekli olan bir omega-6 yağ asitidir. Kenevir yağı içerisinde yaklaşık %54.3 linoleik asit vardır (Oomah ve ark., 2002). Linoleik asit, cilt üzerindeki etkilerinden dolayı güzellik ürünleri endüstrisinde giderek daha popüler hale gelmektedir. Araştırmalar, cilde topikal olarak uygulandığında linoleik asidin anti-enflamatuar, akne azaltıcı, cildi aydınlatıcı ve nem tutucu özelliklerine değinmektedir (Ando ve ark., 1998; Darmstadt ve ark., 2002). Ayrıca, linoleik asidin topikal uygulamasının yeni cilt hücrelerinin büyümesini teşvik ederek ve iltihaplanmayı azaltarak yaraları iyileştirebileceği bildirilmiştir (Lin ve ark., 2017). Linoleik asidin diğer esansiyel yağ asitleri ile kombinasyon halinde uygulanması, yaşlı hastalarda bası yaralarının iyileşmesini de hızlandırabilmektedir (Vaiserman ve ark., 2017). Bu bulgular, yüksek düzeyde linoleik asit içeren kenevir tohumu yağının çeşitli yara türleri için etkili bir tedavi olabileceğini düşündürmektedir. Linoleik aside ek olarak, kenevir yağı yara iyileştirme özelliklerine sahip biyoaktif bileşikler de içerir. Kenevir tohumu yağının, cildi hasardan koruyabilen ve yeni cilt hücrelerinin büyümesini destekleyen yüksek düzeyde antioksidanlar içerdiği bildirilmiştir (Leizer ve ark., 2000).

Derinin bütünlüğü, keratinositlerin hücre dışı matrise ve birbirlerine olan spesifik bağlantılarına bağlıdır. Bu bütünlüğü korumak üzere programlanmış keratinositler, hasara ilk tepki veren hücrelerdir. Keratinositler, derinin en dış tabakası olan epidermiste bulunan birincil hücre türüdür. Epidermisi oluşturan en baskın hücre tipi olan keratinositler, cilt onarımı için gereklidir (McGrath ve ark., 2004). Yaralanma, keratinosit adezyonu ve hücre iskeleti içeriğindeki değişikliklerle paralel olan keratinosit göçünü ve proliferasyonunu tetikleyen keratinositlerin aktivasyonunu desteklemektedir. Keratinositler, epidermal bariyeri eski haline getirmek için göç edip

çoğalarak ve farklılaşarak yeniden epitelizasyon sürecini yönetmekte ve fibroblastlarla birlikte yaraların daralarak kapanma sürecine katılmaktadır (Isaac ve ark., 2011; Souren ve ark., 1989). Kanabinoidler, keratinosit proliferasyonu üzerindeki potansiyel inhibitör etkileri nedeniyle de umut verici olabilir.

Memeli dokusunda deride bulunan (Armstrong ve ark., 2015; Nikan ve ark., 2016) ve G proteinine bağlı kanabinoid reseptörü 1 (CB1R) ve kannabinoid reseptörü 2 (CB2R) aracılığıyla kanabinoidler, keratinositlerin, melanositlerin, adneksiyal yapıların ve fibroblastların büyümesini, çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozunu etkilemektedir (Oláh ve ark., 2014; Soliman ve ark., 2016). Ayrıca, kanabinoid reseptörleri kutanöz sinir liflerinde ve bağışıklık hücrelerinde bulunmaktadır. Dolayısıyla, kanabinoidlerin cilt homeostazı üzerindeki etkisi, dermatolojideki terapötik potansiyellerini desteklemektedir. Epidermiste, CB1R'lerin ve CB2R'lerin aktivasyonu, DNA metilasyonunu artırabilir ve keratinosit proliferasyonunu inhibe edebilmektedir (Kupczyk ve ark., 2009). CB1R/CB2R sisteminden bağımsız olarak endokannabinoidler, keratinosit proliferasyonunu da inhibe edebilmektedir (Wilkinson & Williamson, 2007). CB2R aktivasyonu ayrıca nötrofil infiltrasyonunu azaltmakta ve keratinosit göçünü, fibroblast birikimini ve fibroblasttan miyofibroblasta dönüşümünü desteklemektedir (Wang ve ark., 2016). Bu bulgular, kanabinoidlerin yaranın yeniden epitelizasyonunu ve skar oluşumunu hızlandırabileceği önerisini desteklemektedir. Öte yandan, fare modellerinde CB1R'lerin silinmesinin, daha az cilt yenilenmesi ve erken yaşlanma ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Bilkei-Gorzo ve ark., 2012).

Farelerde üçüncü derece yanıkların tedavisi için yapılan bir çalışmada, yara iyileşmesinde her biri farklı roller oynayan susam (*Sesamum indicum L.*), Atlantik fıstığı (*Pistacia atlantica Desf.*), kenevir (*Cannabis sativa L.*) ve Anadolu cevizi (*Juglans regia L.*) olmak üzere dört farklı bitki yağının kombinasyonu kullanılmıştır. 21 gün boyunca bir grup fareye günde iki kere bu yağ kombinasyonu ve diğer gruptaki farelere ise gümüş sülfadiazin topikal olarak uygulanmıştır. Gümüş sülfadiazin (SSD), yara veya yanıklı bölgede enfeksiyonlara yol açan bakterilere etki göstermektedir. Susam, antioksidan özelliklere sahip olan, yağların bozulmasını önleyebilen ve fenolik madde olan sesamin ve sesamolin içerir. Ayrıca, susam yağı *Staphylococcus* ve *Streptococcus ssp.* gibi yaygın cilt patojenlerine karşı antibakteriyel

aktivitelere sahiptir ve antiviral ve antiinflamatuvar etki göstermektedir. Antioksidanların kullanımı, yara bölgesinden serbest radikallerin temizlenmesini sağlayarak yara iyileşmesini desteklemektedir. Ana yağ asitleri oleik ve linoleik asitler olan yabani fıstık, geleneksel tıpta şişlik, iltihaplanma ve ülserleri tedavi etmek için kullanılmaktadır. Toplam fenol içeriği nedeniyle antioksidan özellikler gösteren Atlantik fıstık yağı, içeriğindeki ana pigment olan feofitin ile de güçlü antiinflamatuvar aktivite göstermektedir (Mehrabani ve ark., 2016). Uzun zamandır kozmetikte yaygın olarak kullanılan ceviz yağı, cilt üzerindeki nemlendirici ve serbest radikalleri yok etme özellikleri nedeniyle nemlendirici cilt kremlerinde, kırışık önleyici tedavilerde ve topaklanma önleyici ürünlerde bileşen olarak kullanılmaktadır. Ceviz yağının kozmetik ürünlerdeki faydalarının, linoleik asit ve linolenik asit dahil olmak üzere esansiyel yağ asitlerinin varlığından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Bu asitler derinin en önemli işlevlerinden biri olan transepidermal su kaybının düzenlenmesinde merkezi rol oynamaktadırlar (Demaison & Moreau, 2002; Karleskind & Wolff, 1996; Mao-Qiang ve ark., 1993). Yanık yaraları için geleneksel bir tedavi olan SSD'ye kıyasla, yeni oluşturulan formülün önemli ölçüde daha büyük bir yara iyileştirme etkisi olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, yeni formülün uygulandığı gruptaki epitelizasyon süresinin, diğer gruplara göre önemli ölçüde daha hızlı olduğu gözlenmiştir. Histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular da yeni formülün etkinliğini doğrulamıştır. SSD, yanık yaralarının iyileşmesinde negatif kontrol grubuna göre daha az etkili olmuştur. Bu çelişkili durumu, SSD'nin yanık yaralarının iyileşmesi üzerinde zararlı etkisi olduğunu bildiren çalışmalar da desteklemektedir (Lee ve ark., 2005).

Cannabis sativa ekstresi ve cannabidiol'ün (CBD) insan diş eti fibroblast (HGF-1) hücrelerindeki yara iyileştirme aktivitelerini değerlendiren bir çalışma, hem kenevir özü hem de CBD'nin, TNF- α ve IL-1- β dahil olmak üzere inflamatuvar sitokinleri önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. Ayrıca, kenevir özü ve CBD ile kısa süreli ağız çalkalamanın da diş eti fibroblast modelinde yara iyileşmesini desteklediği bildirilmiştir. Bulgular, kenevir özü ve CBD'nin iltihaplanmayı önlemede ve ağız yaralarını iyileştirmede etkili olduğunu göstermektedir (Kongkadee ve ark., 2022).

Kenevir özlü krem ile yapılan başka bir çalışmada, gönüllü kişilerin ön kol derilerinde 48 saat boyunca kenevir özlü krem ile yapılan yama testi sonunda, ciltteki eritem seviyesinin belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir (Ali & Akhtar, 2015).

Kenevir yağı içeren doğal kitosan bazlı filmler ile yara örtüsü hazırlanan bir çalışmada, artan yağ konsantrasyonu filmlerin mekanik parametrelerini, şişme kapasitesini ve hidrofilik özelliklerini iyileştirdiği gibi, elde edilen biyomalzemelerin *A. fischeri*'ye karşı iyi bir antimikrobiyal aktivite ve ilaç salımı gösterdiği ve hücre kültürü çalışmaları ile biyouyumlu oldukları görülmüştür. Bu nedenle, kenevir yağı içeren kitosan bazlı filmlerin, yara tedavisi ve pansuman için uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Chelminiak-Dudkiewicz ve ark., 2022).

Atopik dermatit (AD) cilt yama uygulamaları için kontrollü kenevir yağı salınımı ve uygun mekanik özelliklere sahip polikaprolakton (PCL) ile fiber membranların tasarlandığı bir çalışmada ise, kenevir yağının antiinflamatuvar ve antibakteriyel özellikleri dolayısıyla gözenekleri tıkamadan cilt nemini arttırdığı belirtilmiştir. Mekanik özellikleri ve yüksek geçirgenliği sebebiyle tercih edilen PCL yamaları 6 saat içinde %55'e kadar kenevir yağı salımı göstermiş ve cilt nemini de %25'e kadar artırmıştır. Elektrospun PCL yamaları ile uygulanan kenevir yağının, AD cilt tedavisi için kullanılma potansiyelinin yüksek olduğu sonucuna varılmıştır (Metwally ve ark., 2020).

2020 yılında Journal of Dermatological Treatment dergisinde yayınlanan bir çalışmada, topikal kenevir yağı uygulamasının insanlarda atopik dermatit ve yara iyileşmesi üzerindeki etkileri araştırılmış ve kenevir yağının cilt nemini sağladığı, kaşıntıyı azalttığı ve cildin bariyer işlevini geliştirdiği sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlar, kenevir yağının yara iyileşmesini destekleme ve ilişkili semptomları hafifletme potansiyelini göstermektedir (Callaway ve ark., 2005).

2017'de ABD Ulusal Bilim, Mühendislik ve Tıp Akademilerinin Sağlık ve Tıp Bölümü, kenevirin kronik ağrıyı, özellikle de nöropatik ağrıyı iyileştirebileceği iddiasını doğrulayan yeterli kanıt olduğu sonucuna varmıştır (National Academies of Sciences & Medicine, 2017).

Sonuç olarak literatürdeki araştırmalar, antiinflamatuvar, antimikrobiyal etkileriyle enfeksiyon riskini azaltabilen, hidrasyon sağlayarak nemlendirici etkisiyle cildin doğal bariyerini iyileştirebilen, içerdiği biyoaktif bileşikler sayesinde cildi hasardan koruyarak ve cilt hucresinin buyumesini teşvik ederek iyileşme surecini hızlandırabilen kenevir yağının, yara iyileşmesi için kullanılabilir potansiyel bir doğal çözüm yolu olduğunu göstermektedir. Atopik dermatit, yanık, sedef hastalığı ve kontakt dermatit gibi hastalıkların tedavisinde de umut verici sonuçlar elde edilmiş ve çeşitli yara türlerine sahip hastalar için önemli faydalar sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

Bölüm 3

Yöntem

3.1. Biyokompozit Çözeltilerin Hazırlanması ve Biyokompozit Yara Örtüsünün Üretimi

3.1.1 Biyokompozit çözeltileri hazırlanması. Farklı konsantrasyonlarda (w/v) PLA polimer/kenevir yağı çözeltileri çözücü sisteminde biyokompozit üretimi için hazırlanmıştır. Elektroegirme işlemi için uygun çözücü sistemleri araştırılmıştır. PLA (PLI005, erime akış indeksi: 190°C/2,16 kg'da 10–30 g/10 dakika, NaturePlast), dimetilformamid (DMF, Merck, %99,8) ve aseton (AC, J.T.Baker, ≥%99,5) satın alınmış ve daha fazla saflaştırılmadan kullanılmıştır. PLA ve ağırlıkça %3, %5 ve %8 kenevir yağı katkılı PLA DMF-AC karışımı hacimce 1:1 oranında kullanılmıştır. Ön denemeler sonucunda elde edilen sonuçlar doğrultusunda sırasıyla polimer ve polimer/kenevir yağı solüsyonlarının hazırlanması işlemi aşağıdaki gibidir; Ağırlıkça 10 gram PLA granülleri, 90 mL'lik karışım halindeki Dimetil formamid-Aseton (DMF-AC) çözücü sistemine ilave edilmiştir. Isıtıcı manyetik karıştırıcı yardımıyla istenilen sıcaklık ve karışım hızına göre PLA polimer çözeltileri hazırlanmıştır. PLA solüsyonuna ağırlıkça %3, %5, ve %8 oranında ticari olarak temin edilen kenevir yağı (Fortiko) eklenerek biyokompozit üretimine hazırlık sağlanmıştır. Biyokompozit üretimi için gerekli solüsyonların hazırlanışı Tablo 1'de yer almaktadır.

Tablo 1.

Kenevir Yağı Katkılı Nanolif Üretimi İçin Gerekli Çözelti Hazırlama Parametreleri

Polimer-Katkı maddesi	Çözücü (v/v)	Karışım sıcaklığı (°C)	Karıştırma süresi (dakika)
PLA	DMF-AC (1:1)	60	60
PLA-%3 CS yağı	DMF-AC (1:1)	60	60
PLA-%5 CS yağı	DMF-AC (1:1)	65	75
PLA-%8 CS yağı	DMF-AC (1:1)	70	90

3.1.2 Elektroğirme yöntemiyle biyokompozit üretimi. Elektroğirme yönteminde, sıvı polimerin elektrik akımına maruz bırakılması sonucunda kollektör üzerinde toplanan nanolif formunda yüzeyler üretilmektedir. Profelsan marka (Prov-100, Türkiye) elektroğirme cihazı kullanılarak nanolif eldesi, oda sıcaklığında toplayıcı yağlı kağıt üzerine biriktirilerek gerçekleştirilmiştir. Biyokompozit üretiminde kullanılan elektroğirme cihazı *Şekil 5*'te verilmiştir. Sabit duran 25x20 cm ölçülerindeki plaka şeklindeki kollektör, yağlı kağıt ile kaplanmıştır. Üretim sürecinde oluşan solüsyonlar 10 ml plastik şırıngaya çekilerek plaka şeklindeki kollektöre toplanarak nanolifler elde edilmiştir. Biyokompozit üretimi için gerekli elektroğirme parametreleri Tablo 2'de gösterilmektedir. Elektroğirme enjektör pompasının püskürtme anı ve üretilen biyokompozit mat, sırasıyla *Şekil 7* ve *8*'de verilmiştir.



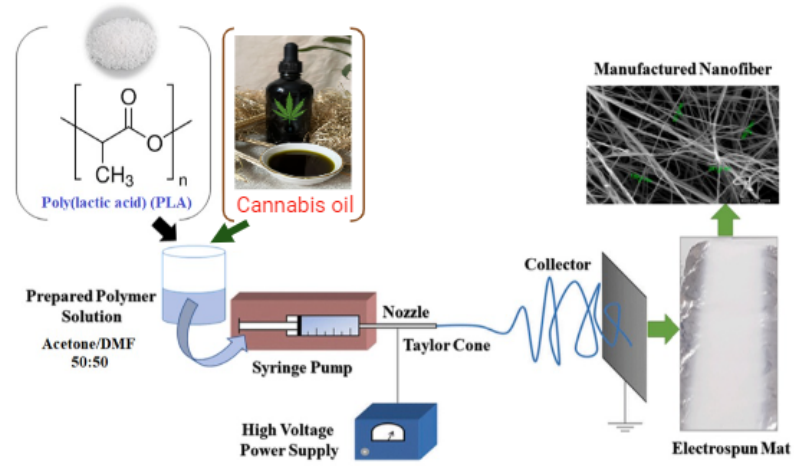
Şekil 5. Biyokompozit üretiminde kullanılan elektroğirme cihazı (Profelsan Prov-100, Türkiye).

Tablo 2.

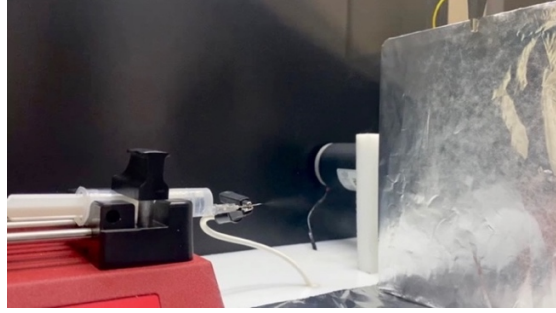
Kenevir Yağı Katkılı Nanolif Üretimi İçin Gerekli Elektroğirme Parametreleri

Polimer-Katkı maddesi	İğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe (cm)	Debi (ml/saat)	Voltaj (kV)
PLA	17	1.3	17
PLA-%3 CS yağı	17	1.3	17
PLA-%5 CS yağı	17	1.3	17
PLA-%8 CS yağı	17	1.3	17

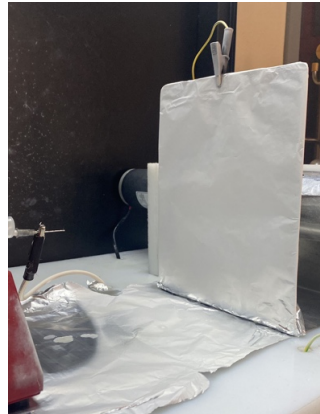
Elektroğirme yöntemiyle biyokompozit üretimi aşamaları *Şekil 6*'da verilmektedir.



Şekil 6. Elektroğirme yöntemiyle biyokompozit üretim aşamaları.



Şekil 7. Elektroğirme yönteminde enjektör pompasının püskürtme anı.



Şekil 8. Elektroğirme yöntemi ile üretilen biyokompozit mat.

3.2. Biyokompozit Yara Örtüsünün Karakterizasyonu

3.2.1 Yapısal karakterizasyon.

3.2.1.1. *Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi.*

Bahçeşehir Üniversitesi bünyesinde bulunan FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) kullanılmıştır. FTIR analizleri bir materyali oluşturan bağları belirleyip, moleküler oluşum hakkında bilgi almak için kullanılan önemli bir spektrofotometrik analiz yöntemidir. Shimadzu, IRAffinity-1S, ATR FTIR cihazı kullanılmıştır. Bu cihazda üretilen biyokompozit numunelerinin ölçümü, 400 ile 4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında üçer defa alınarak ortalamaları alınmış ve absorbans değerlerine göre oluşan bağlanmaların analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.2 Morfolojik karakterizasyon.

3.2.2.1. *Taramalı elektron mikroskopu (SEM) analizi.*

Yara örtüsü olarak kullanım amacıyla üretilen biyokompozit numunelerinin Taramalı elektron mikroskopu görüntüleri, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı'ndan (MERLAB) hizmet alınarak elde edilmiştir.

3.2.3 Termal karakterizasyon.

3.2.3.1. *Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi.*

Bahçeşehir Üniversitesi bünyesinde bulunan Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ölçüm sistemleri kullanılarak analizler yapılmıştır (*Şekil 9.*). Elektroegirme yöntemi ile PLA, PLA+%3 CS yağı, PLA+%5 CS yağı ve PLA+%8 CS yağı kullanılarak üretilen biyokompozitlerin her birinden hassas terazi ile 5 mg tartılıp alüminyum pan içerisine koyularak DSC cihazına yerleştirilmiştir. DSC analizi için gerekli olan cihaz Bahçeşehir Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan Shimadzu DSC 60+ kullanılmıştır. Yapılacak analiz nitrojen ortamında (50 mL/dak) alüminyum panlar kullanılarak yapılmıştır. Isıtma oranı dakikada 10 °C artış olarak ayarlanmış ve 600 °C 'ye kadar karakterizasyonu yapılmıştır.



Şekil 9. Üretilen biyokompozitlerin termal karakterizasyonunda kullanılan DSC cihazı.

3.2.4 Mekanik karakterizasyon.

3.2.4.1. Sıvı emilim testi. PLA, PLA+%3 CS yağı, PLA+%5 CS yağı, PLA+%8 CS yağı kullanılarak üretilen yara örtüsü numunelerinin su emilim testi, su tutma kapasitelerini ölçmek amacıyla her bir örnek için gerçekleştirildi. 37 °C'de, 0.1 M Tris-HCl tampon çözeltisi, Tris hidroksimetil aminometanın distile suda çözülmesi ve HCl ile pH 7.4'e tamponlanmasıyla üretilmiştir. Numunelerin tek tek kuru ağırlıkları 5 mg olacak şekilde hassas terazi ile tartım yapılmıştır. Numuneler, Tris-HCl tampon çözeltisi ile polistiren şişelere yerleştirilerek 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. 24 saat sonunda malzemeler kurutma kâğıdının üzerine alınarak fazla sıvı uzaklaştırılmış ve yağ ağırlıklarının belirlenmesi için tartılmıştır. CS yağı içeren PLA esaslı nanolif numunelerinin Tris-HCl tampon çözeltisindeki su tutma kapasitesini belirlemek için % kütle artışı denklemi (Hestiawan, 2020) kullanılarak hesaplama yapılmıştır.

$$M_t (\%) = [(W_w - W_d) / W_d] \times 100$$

M_t : Kütle artışı, W_w : Yağ ağırlık, W_d : Kuru ağırlık şeklinde olacaktır.

3.2.4.2. Çekme germe testi. Çekme deneyi, malzemelerin çekme mukavemetleri ile kopma uzama değerlerini elde etmek için yapılmaktadır. Cihazda 1 adet hareketli çene ve diğeri sabit çene olmak üzere iki çene, kuvveti ve hızı ölçen yük hücresi (load cell) ve yük hücresinden gelen verileri işleyip grafikleri oluşturan bir bilgisayar bulunmaktadır. İlk olarak 1.5 cm x 5 cm olacak şekilde kesilen numune, iki

çenenin arasına tam ortalayacak şekilde yerleştirilir. Daha sonra çenelerde bulunan ve birbiri ile ters yönde sıkma yapan somunlarla malzeme zarar görmeyecek şekilde sıkılır. İşlem tamamlandıktan sonra bilgisayardan çekme hızı 10 mm/dk olacak şekilde ayarlanır. Cihaz malzeme bağlandıktan sonra program ile sıfır noktasına kalibre edilir. Program çalıştırılır. Çene malzemeyi çektikçe bilgisayar ekranında grafiğe anlık olarak değerler işlenir.

3.2.5. Biyolojik karakterizasyon.

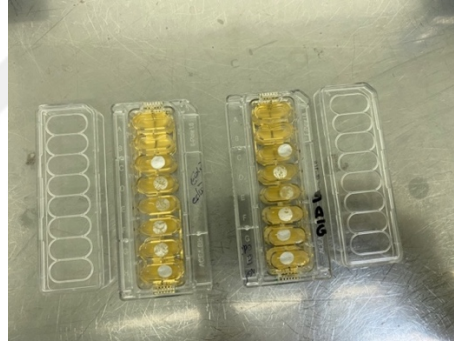
3.2.5.1 Antibakteriyel analiz. Antibakteriyel etki deneylerinde *E. coli-K12* MG1655 ve *Bacillus subtilis* kullanılmıştır. -80 °C'de saklanan *E. coli*, 37 °C'deki 5 ml LB sıvı besiyerinde 250 rpm'de 24 saat bekletilerek çoğaltılmıştır. Çoğaltma aşaması tek koloni ekimi ile gerçekleştirilmiş ve tek kolonilerin eldesi, çizgi ekim yöntemi ile katı LB agar üzerine ekilen *E. coli*'den öze yardımı ile toplanılarak sağlanmıştır. Çoğaltma sırasında kullanılan sıvı LB hacmi ise 10 mL'dir. 1 adet kontrol ve farklı konsantrasyonlardaki 4 adet yara örtüsü numunesi için toplam 5 adet 15'lik falkon içerisine 10 ml sıvı LB agar eklenmiştir. Aynı, falkon içerisine petrilere ekilmiş olan *E. coli*'den tek koloni alınarak 37°C'de etüv içerisinde 24 saat bekletilmiştir. 24 saat sonra, falkon +4°C dolaba geçirilmiştir. Falkonların içerisindeki LB + bakteri karışımından 1 ml alınarak, 1 adet kontrol ve farklı konsantrasyonlardaki 4 adet yara örtüsü numunesi için toplam 5 adet petriye ekim yapılmıştır. Petrilerin içerisine 6 mm çapında daire şeklinde kesilen PLA, PLA+%3 CS yağı, PLA+%5 CS yağı ve PLA+%8 CS yağı içeren dört farklı biyokompozit numunesi bırakılmış ve 37 °C etüve kaldırılmıştır. 24 saat sonra invert mikroskopta görüntüler alınmıştır.

Antibakteriyel deneyler, *E. coli* ve *B. subtilis* bakterileri için iCELLigence kullanılarak da tekrar yapılmıştır. Kullanılan iCELLigence cihazı *Şekil 10*'da gösterilmiştir. OD değeri, McFarland yöntemi ile 0.6'ya ayarlanarak -80 °C'de saklanan *E. coli*'den 10 µl ve LB'den 10 µl alarak falkon içerisine koyulmuş ve 24 saat karıştırıcıda bekletilmiştir. 24 saat sonra iCELLigence kuyularına bakteri ekimi yapılmıştır. iCELLigence platedeki kuyulara 700 µl LB+bakteri karışımından eklenmiştir. Tablo 3'te verilen bilgilere göre, 6 mm çapında daire şeklinde kesilen farklı konsantrasyondaki biyokompozit numuneleri kuyulara bırakılmıştır. Plate cihaza yerleştirilerek 37°C' etüv içerisinde deney başlatılmıştır. 24 saat sonra, besi yeri

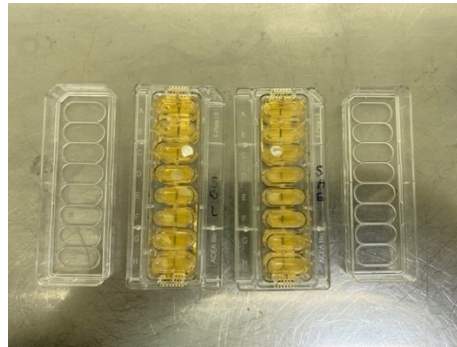
değişikliği yaparak taze LB verilmiştir. 72. saatte deney tamamlanmış ve veriler elde edilmiştir. Aynı prosedür *B. subtilis* bakterisi için de tekrarlanmıştır.



Şekil 10. Üretilen biyokompozit yara örtülerinin antibakteriyel etki araştırmalarında kullanılan iCELLigence cihazı.



Şekil 11. *E. coli* bakterilerinde yapılan antibakteriyel test için yükleme yapılan iCELLigence plate.



Şekil 12. *B. subtilis* bakterilerinde yapılan antibakteriyel test için yükleme yapılan iCELLigence plate.

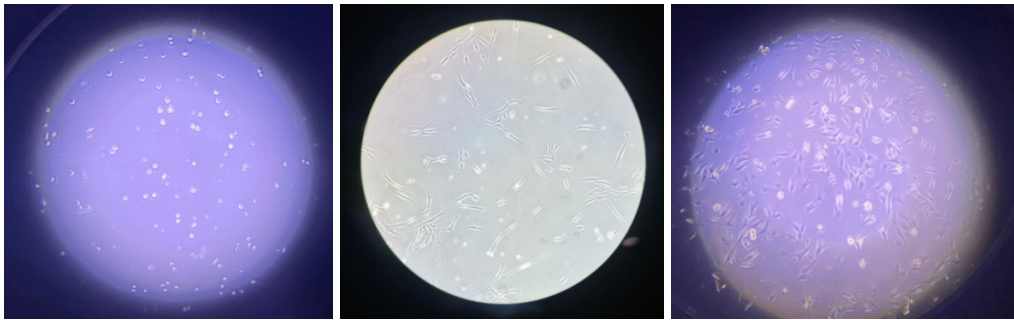
Tablo 3.

E. coli ve *B. subtilis* Bakterileri ile Yapılan Antibakteriyel Test için iCELLigence Plate'e Ekleme Sırası

1. Kuyu	Kontrol x2
2. Kuyu	PLA x2
3. Kuyu	PLA+%3 CS yağı x2
4. Kuyu	PLA+%3 CS yağı x2
5. Kuyu	PLA+%5 CS yağı x2
6. Kuyu	PLA+%5 CS yağı x2
7. Kuyu	PLA+%8 CS yağı x2
8. Kuyu	PLA+%8 CS yağı x2

3.3 Hücre Kültürü Çalışmaları

Hücre kültürü çalışmalarında HUVEC kullanılmıştır. HUVEC hücreleri için, kültürde %1 Penisilin/Streptomisin ve %10 FBS içeren DMEM High Glucose besi yeri kullanılmış ve hücreler standart kültür koşullarında (37 0°C'de % 5 CO₂ ortamında) çoğaltılmıştır. Hücrelerin büyüme aşamaları Şekil 13'te verilmiştir.



Şekil 13. HUVEC hücrelerinin büyüme aşamaları.

Hücre kültürü çalışmalarında, antibakteriyel analiz kısmında uygulanan aynı prosedür HUVEC hücresi için de yapılmıştır. iCELLigence platedeki kuyulara 104 hücre içeren 700 µl yükleme yapılmıştır. Plate kuyularına Tablo 4'te verilen bilgilere göre, 6 mm çapında kesilen farklı konsantrasyonlarda CS yağı içeren biyokompozit

numuneleri bırakılmıştır. 24 saat sonra besi yeri değişikliği yapılarak taze LB verilmiştir. 72. saatte deney tamamlanarak veriler elde edilmiştir.



Şekil 14. Hücre kültürü çalışmalarında HUVEC hücreleri ile yükleme yapılan iCELLigence plate.

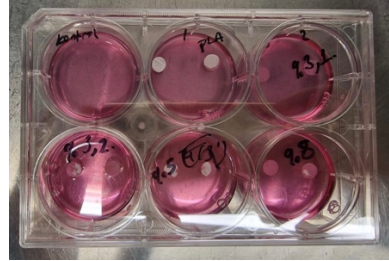
Tablo 4.

HUVEC Hücresi ile Yapılan Hücre Kültürü Çalışmaları için iCELLigence Plate'e Ekleme Sırası

1. Kuyu	Kontrol x2
2. Kuyu	PLA x2
3. Kuyu	PLA+%3 CS yağı x2
4. Kuyu	PLA+%3 CS yağı x2
5.Kuyu	PLA+%5 CS yağı x2
6. Kuyu	PLA+%5 CS yağı x2
7. Kuyu	PLA+%8 CS yağı x2
8. Kuyu	PLA+%8 CS yağı x2

3.3.1 Yara iyileşme deneyi. Elektroçirime yöntemiyle üretilen CS yağı içeren PLA esaslı biyokompozit yara örtüsü numuneleri için hücre kültürü ortamında yara iyileşme testi yapılmıştır. HUVEC hücreleri, 10^6 hücre/kuyu olacak şekilde 6 kuyulu plate'e ekilmiştir. 24 saat sonra konfluent hale geldiklerinde 200 μ l'lik pipet ucu yardımıyla kuyular çizilerek *in vitro* olarak yara modeli oluşturulmuştur. Şekil 15'te görüldüğü üzere, farklı konsantrasyonlarda üretilen yara örtülerinden 6 mm çapında

daire şeklinde kesilip hazırlanan numuneler kuyulara eklenerek ve hücreler 37°C, %5 CO₂ içeren nemli ortamda inkübe edilmiştir. 7 saatte bir olacak şekilde invert mikroskop kullanılarak hücre çoğalması olup olmadığı incelenmiş ve yara kapanması görüntüleri alınmıştır.



Şekil 15. Yara iyileşme deneyi için 6 kuyulu plate'e biyokompozit numularının eklenmesi.

Ayrıca, *in vitro* olarak oluşturulan yara modelinin iyileşmesini incelemek amacıyla aynı prosedür Celloger Nano cihazı kullanarak da yapılmıştır. HUVEC hücreleri flaskta çoğaltılmış ve konfluent hale geldiklerinde yine yara modeli oluşturmak için 200 µl'lik pipet ucu yardımı ile çizik atılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda üretilen biyokompozitlerden 6 mm çapında daire şeklinde kesilip hazırlanan numune, yara modeli oluşturulan flask içerisine bırakılmıştır. Oluşturulan yara modelinin iyileşme süreci Celloger Nano cihazı ile gözlemlenmiştir. 2 gün boyunca her 5 dakikada bir görüntü alacak şekilde Celloger Nano cihazının ayarlamaları yapılarak, flask cihaza yerleştirilmiştir. Bu prosedür, PLA, PLA+%3 CS yağı, PLA+%5 CS yağı ve PLA+%8 CS yağı içeren dört farklı yara örtüsü numunesi için de ayrı ayrı tekrarlanmıştır.

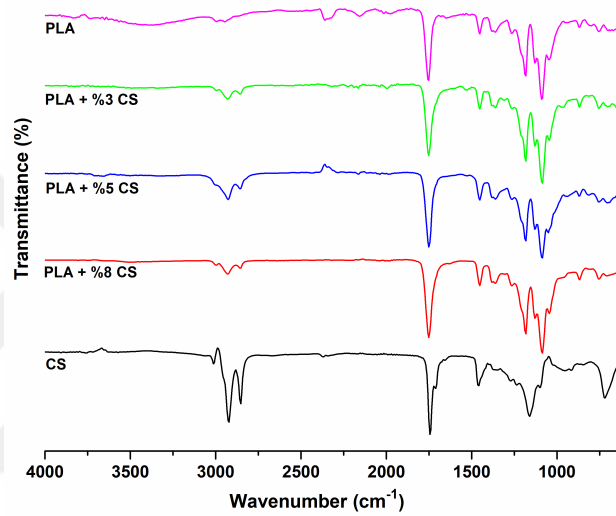
Bölüm 4

Bulgular

4.1. Biyokompozit Yara Örtüsünün Karakterizasyonu

4.1.1 Yapısal karakterizasyon.

4.1.1.1. FTIR analizi. Üretilen PLA ve farklı oranlarda CS yağı içeren biyokompozitlerin fonksiyonel gruplarını belirlemek amacıyla yapılan FTIR analizi sonucunda elde edilen FTIR grafiği Şekil 16'daki gibidir.



Şekil 16. PLA, CS yağı ve PLA+CS yağı esaslı üretilen biyokompozitlerin FTIR spektrumları.

Biyokompozitlerin FTIR analizleri, PLA ve CS yağının karakteristik tepelerini göstermektedir. 2996 cm⁻¹'deki bant, olefinik CH-çift bağının gerilme titreşimlerinin bir sonucudur. 2930 cm⁻¹ ve 2853 cm⁻¹ metilen grubunun gerilme titreşimlerini temsil etmektedir. Esterlerin soğurma bantları 1752 cm⁻¹ civarındadır. 1454 cm⁻¹'deki bantlar, metil gruplarının -CH₃ asimetrik bükülmesini temsil etmektedir. 1383 ve 1362 cm⁻¹'deki tepeler, alifatik grupların sırasıyla -CH asimetrik ve simetrik bükülmelerine karşılık gelmektedir. 1266 cm⁻¹'de gözlemlenen tepe, karbonil gruplarının -C=O bükülmesini temsil etmektedir. 1187, 1132 ve 1085 cm⁻¹'deki tepeler, eter bağlantılarının -C-O-C asimetrik esnemesine karşılık gelmektedir. 1046 cm⁻¹'deki tepe, C-CH₃ (metil) gruplarının gerilmesini temsil etmektedir. 758 cm⁻¹'deki bantlar,

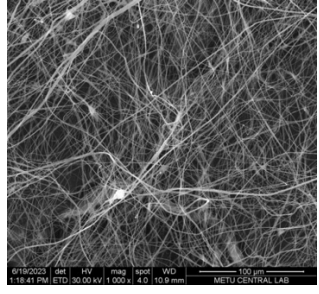
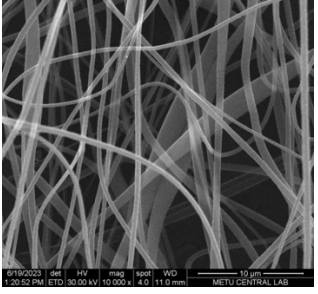
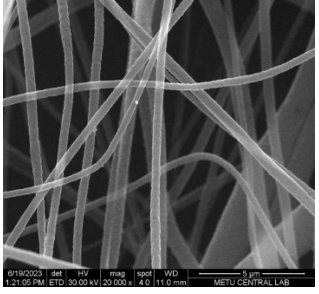
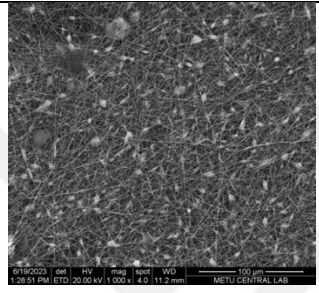
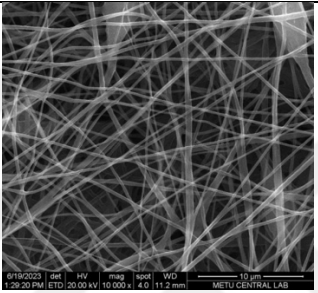
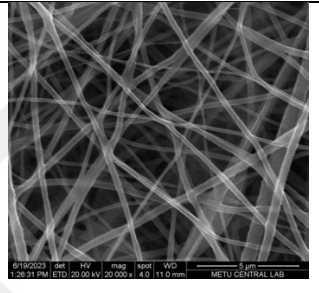
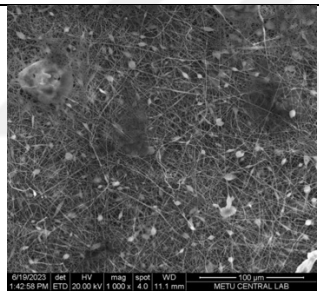
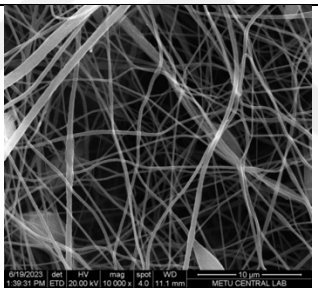
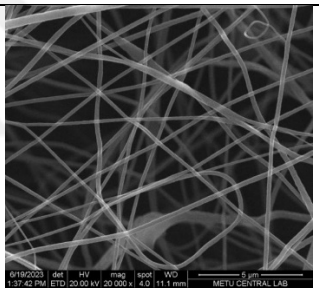
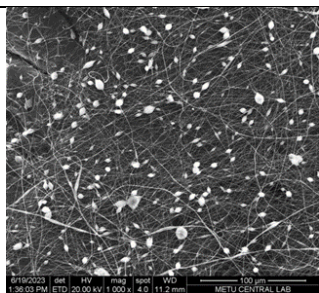
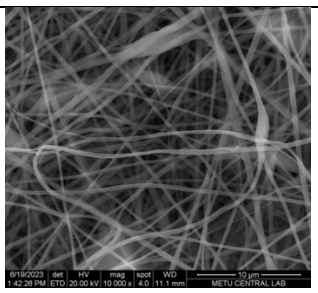
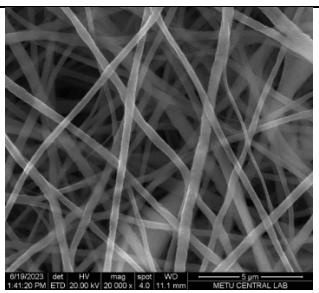
CH₂ (metilen) salınım titreşimleri ile düzlem dışı CH titreşimlerinin üst üste binmesinden kaynaklanmaktadır. PLA ve CS yağı içeren PLA'nın 700-3000 cm⁻¹ aralığındaki parmak izi bölgeleri CS yağı ve PLA'nın karakteristik tepelerini göstermektedir (*Şekil 16*) (Mofokeng ve ark., 2012; Siudem ve ark., 2019).

4.1.2 Morfolojik karakterizasyon.

4.1.2.1. SEM analizi. Taramalı elektron mikroskobu ile belirli bir vakum altındaki numuneler morfolojik olarak incelenmiştir. Numunelerin ağ görünüşleri, liflerin homojen olup olmadıkları, damlacık oluşumları ve ortalama lif çapları SEM görüntüleriyle analiz edilmiştir. Farklı oranlarda kenevir yağı içeren numunelerin lif yapıları ve artan kenevir yağı oranları da SEM görüntülerinde gözlemlenmiştir. Tablo 5'te verilen biyokompozitlerin SEM görüntüleri, homojen dağılımdaki nanolifli yapıları göstermektedir.

Tablo 5.

Elektroçirme Yöntemiyle Üretilen Biyokompozitlerin 1000x, 10000x ve 20000x büyütmedeki SEM görüntüleri

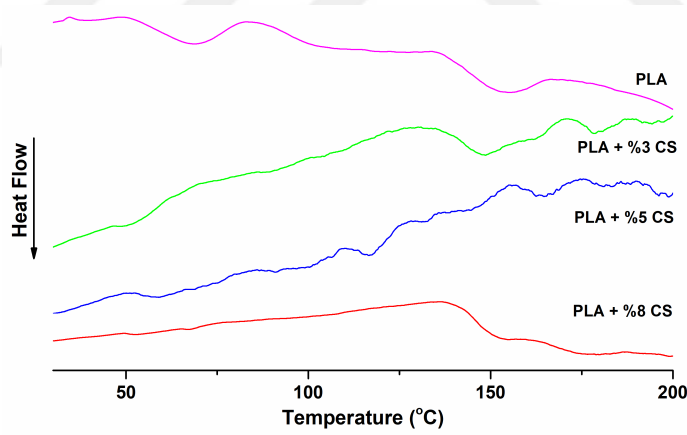
	1000x	10000x	20000x
PLA			
PLA + %3 CS			
PLA + %5 CS			
PLA + %8 CS			

PLA ve farklı oranlarda CS içeren biyokompozitlerin yüzey ve kesit morfolojileri ve fiber çaplarını incelemek amacıyla alınan taramalı elektron mikroskobu görüntüleri Tablo 5'te verilmiştir. Elde edilen SEM görüntüleri incelendiğinde, lif oluşumunun homojen olduğu ve CS oranı arttıkça damlacık oluşumunun da arttığı gözlemlenmektedir. Fiber çapları ayrıca Image J programı kullanılarak hesaplanmıştır.

SEM görüntülerine göre, PLA ve PLA+CS yağı yüklü nanolif çapları karşılaştırılmıştır. CS yağı yüklü biyokompozitlerde nanolif çapında belirgin azalma fark edilmiştir. % 3 CS yağı içeren biyokompozit çapında %51'lik azalma izlenmiştir. Benzer azalma diğer oranlarda CS yağı içeren biyokompozitlerde de vardır. Ancak artan CS yağı oranı çaplarda oransal bir azalmaya sebep olmamıştır. PLA nanofiberlerin ortalama çapları 464 ± 11 nm, PLA + %3 CS yağı içeren fiberlerin çapı 229 ± 5 nm, PLA + %5 ve PLA + %8 CS yağı içeren fiberlerin ortalama çapları 234 ± 6 nm ve 232 ± 8 nm olarak ölçülmüştür.

4.1.3 Termal karakterizasyon.

4.1.3.1. DSC analizi. DSC, bir polimerin termal davranışı ve özellikleri hakkında kapsamlı bilgi sağlama yeteneği nedeniyle polimer karakterizasyonunda tercih edilir. DSC, cam geçiş sıcaklığı (T_g), erime sıcaklığı (T_m), kristallik, ısı kapasitesi ve termal kararlılık dahil olmak üzere çeşitli termal polimer özelliklerinin ölçümü ve analizini sağlamaktadır. Bu özellikler, bir polimerin davranışını ve performansını anlamak için önemlidir.



Şekil 17. PLA, CS ve biyokompozitlerinin termogramları.

PLA ve farklı oranlarda CS yağı kullanılarak yara örtüsü amacıyla üretilen nanolif numuneleri için yapılan DSC analizi bulgularına bakıldığında, 150 °C 'den sonra küçük bir tepe ve 304°C'den sonra bir eğri ortaya çıkardığı izlenmiştir. Robinson ve Jonnalagadda (2000) tarafından yapılan çalışmada, PLA membrandan elde edilen termogramda. 154°C'de ve 304 °C'de iki farklı endotermik geçiş izlenmiştir. (Jonnalagadda & Robinson, 2000).Şekil 17'de, sırasıyla PLA ve CS yağı yüklü

nanoliflerin ilk ısıtma işlemi için DSC eğrileri ve erime noktaları görülmektedir. PLA'nın, DMF-AC (1:1) karışımı içinde çözülmesi ve ardından solventin bir elektrik alanı içinde buharlaştırılması, biyokompozitin bir miktar daha yüksek derecede eğri üretmesine sebep olmaktadır. CS yüklü nanolif numunelerinin T_m değerleri, CS yağı içermeyen nanoliflerden biraz daha düşüktür.

4.1.4 Mekanik karakterizasyon.

4.1.4.1. Sıvı emilim testi.

Yara örtüleri üzerindeki fazla sıvı uzaklaştırıldıktan sonra numunelerin yaş ağırlıkları belirlenmiş ve daha sonra sıvı emme kapasiteleri hesaplanmıştır. Üretilen biyokompozitlerin sıvı emme kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan analiz sonucuna göre elde edilen veriler Tablo 6'daki gibidir.

Tablo 6.

Yara Örtüsü Amacıyla Üretilen Biyokompozitlerin Kuru ve Yaş Ağırlıkları

Biyokompozit Numuneleri	Kuru Ağırlık	Yaş Ağırlık
PLA	5.0 mg	6.4 mg
PLA+%3 CS yağı	5.0 mg	6.2 mg
PLA+%5 CS yağı	5.0 mg	5.8 mg
PLA+%8 CS yağı	5.0 mg	5.1 mg

Tablo 6'daki verilere göre % kütle artışı denklemi (Hestiawan, 2020) kullanılarak hesaplama yapılmıştır.

$$M_i (\%) = [(W_w - W_d) / W_d] \times 100$$

M_i : Kütle artışı, W_w : Yaş ağırlık, W_d : Kuru ağırlık şeklinde olacaktır.

$$M_{PLA} (\%) = [(6.4 - 5.0) / 5.0] \times 100$$

$$M_{PLA} = \%28$$

$$M_{PLA+\%3CS} (\%) = [(6.2 - 5.0) / 5.0] \times 100$$

$$M_{PLA+\%3CS} = \%24$$

$$M_{\text{PLA}+\%5\text{CS}} (\%) = [(5.8 - 5.0) / 5.0] \times 100$$

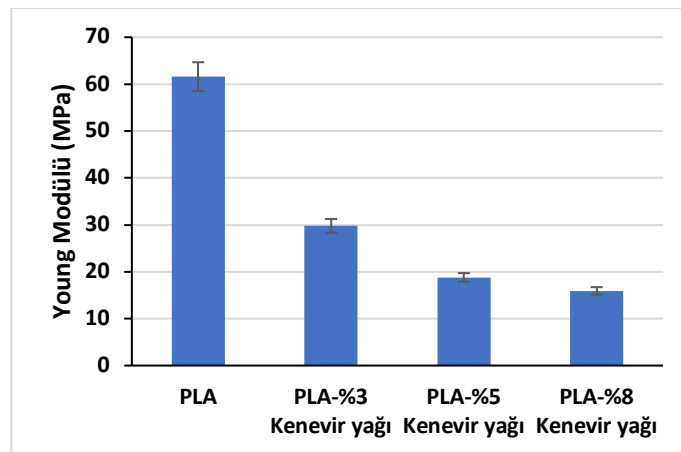
$$M_{\text{PLA}+\%5\text{CS}} = \%16$$

$$M_{\text{PLA}+\%8\text{CS}} (\%) = [(5.1 - 5.0) / 5.0] \times 100$$

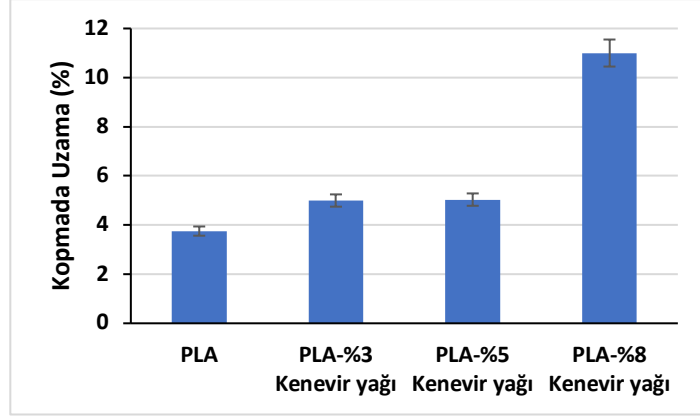
$$M_{\text{PLA}+\%8\text{CS}} = \%2$$

Elde edilen verilere göre yağ oranı arttığında sıvı emme kapasitesinin de azaldığı sonucuna varılmıştır. Yaranın iyileşmesi için gerekli olan nemli ortamın sağlanması gerekmektedir. Elde edilen sonuçlar, yara örtüsü amacıyla tasarlanan biyokompozitlerde de kenevir yağı oranı arttıkça sıvı emme kapasitesinin azaldığı ve dolayısıyla yara iyileşmesi için gerekli nemli ortamın sağlanacağını göstermektedir.

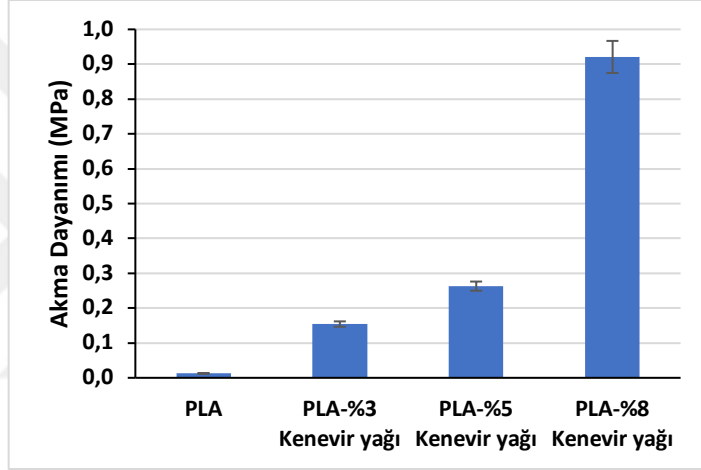
4.1.4.2. Polimer çekme germe testi. PLA ve PLA-CS yağı numunelerine ait çekme test sonuçları Şekil 18, Şekil 19 ve Şekil 20 ile verilmiştir. PLA, yüksek modül ve düşük kopma uzamasına sahip, kırılmalı bir polimerdir (Farah ve ark., 2016; Li & Huneault, 2007). Şekil 18’de, en yüksek modül değerinin PLA’ya ait olduğu görülmektedir. Kenevir yağı ilavesi ile modül değerlerinde belirgin bir düşüş elde edilmiştir. CS yağı konsantrasyonunun artırılması ile ise modülün orantılı olarak düştüğü görülmektedir.



Şekil 18. PLA ve PLA-CS yağı numunelerinin Young modül değişimi.



Şekil 19. PLA ve PLA-CS yağlı numunelerinin % kopmada uzama değişimi.



Şekil 20. PLA ve PLA-CS yağlı numunelerinin akma dayanımı değişimi.

Şekil 19’da görüldüğü gibi, artan CS yağlı konsantrasyonuna bağlı olarak kopmada uzama değerlerinde artış elde edilmiştir. CS yağlı konsantrasyonun artırılması, plastikleştirici etkisi göstererek PLA’nın esnekliğini artırmaktadır (Li & Huneault, 2007). %8 oranında CS yağlı ilave edilen numunede, diğer konsantrasyonlara göre kopmada uzama değerlerinde belirgin bir artış olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, PLA’nın akma dayanımının kenevir yağlı ilavesi ile arttığı ve en yüksek artışın %8 oranında CS yağlı ilavesinde olduğu Şekil 20’de görülmektedir.

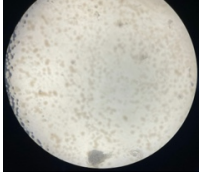
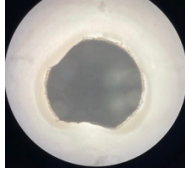
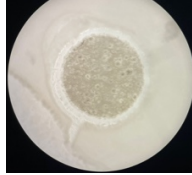
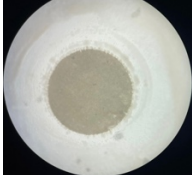
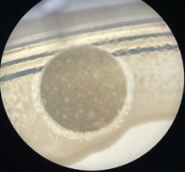
4.1.5 Biyolojik karakterizasyon.

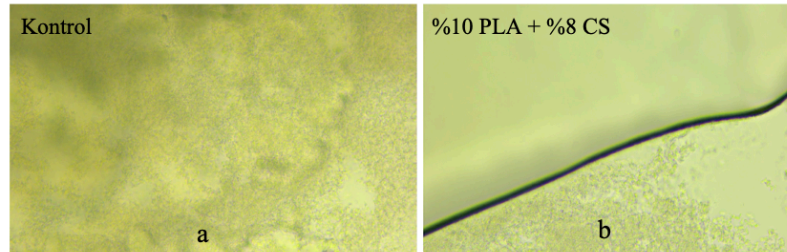
4.1.5.1. Antibakteriyel etki analizi. PLA, PLA + %3 CS, PLA + %5 CS ve PLA+ %8 CS yağı oranlı üretilen biyokompozitlerin antibakteriyel etkinliğe sahip olup olmadığı farklı yöntemler kullanılarak test edilmiştir. Antibakteriyel etki araştırmaları için gram pozitif için *Bacillus subtilis* ve gram negatif için *Escherichia coli* olmak üzere iki farklı bakteri türü kullanılmıştır.

İlk olarak *E. coli* ekilen petrilerin içerisine 6 mm çapında daire şeklinde kesilen PLA, PLA+%3 CS yağı, PLA+%5 CS yağı ve PLA+%8 CS yağı içeren dört farklı biyokompozit yara örtüsü bırakılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda numune etrafında zon oluşumuna bakılarak antibakteriyel etkinlik incelenmiştir. Tablo 7’de ve Şekil 21’de görüldüğü gibi yağ oranı arttıkça zon oluşumunun daha belirgin olduğu gözlemlenmektedir. Tüm numunelerin *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel etkinliği olduğu gözlemlenmekte olup, yağ oranı arttıkça antiseptik özelliğın de arttığı görülmektedir.

Tablo 7.

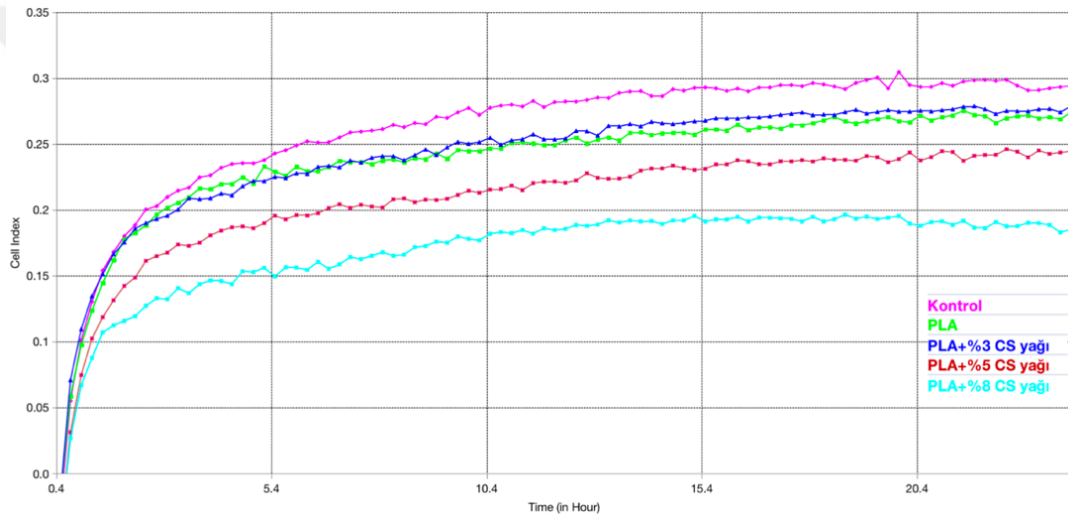
Yara Örtülerinin E. coli Bakterilerine Karşı Antibakteriyel Etkileri

Kontrol	PLA	PLA + %3 CS	PLA + %5 CS	PLA+ %8 CS
				



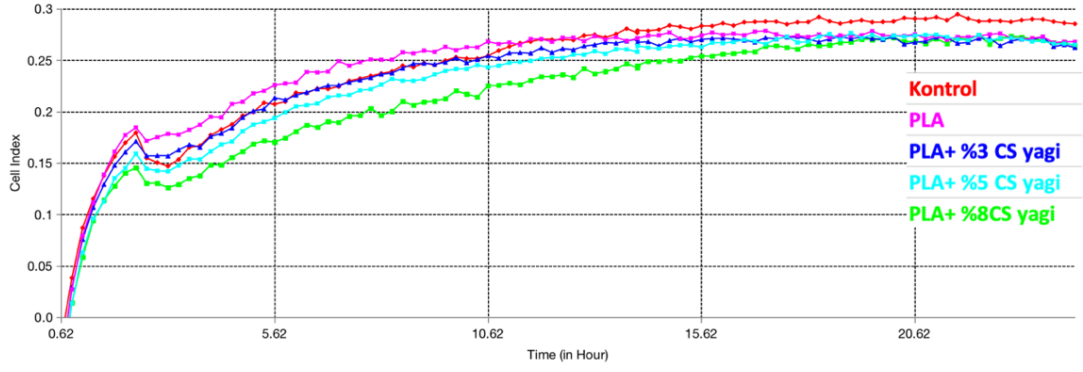
Şekil 21. a) *E. coli* bakterilerinin petride görünümü, b) PLA + %8 CS yağı içeren nanolifin *E. coli* bakteri inhibisyon bölgesi.

xCELLigence cihazı, invaziv olmayan elektriksel empedans kullanarak hücre proliferasyonunu, morfoloji değişimini ve bağlanma durumunu gerçek zamanlı bir şekilde ölçmeye olanak sağlamaktadır. Cihaz standart hücre kültürü inkübatörüne yerleştirilir ve inkübatörün dışında bulunan analiz ve kontrol üniteleri ile bir kablo aracılığıyla ara yüz oluşturur. Böylelikle, cihazın gerçek zamanlı kontrolüne ve izlenmesine olanak tanır ve gerçek zamanlı veri görüntüleme ve analiz işlevlerini içermektedir. Her kuyucuğun altında altın biyosensörler bulunan mikrotitre plakaları (E-plate) kullanılmaktadır. Bu biyosensörler aracılığı ile hücre-substrat bağlanma durumu kesintisiz bir şekilde izlenebilir.



Şekil 22. PLA ve PLA+ CS yağı içeren biyokompozitlerin *E. coli* K12 çoğalmasına bağlı hücre indeksi değerleri(24 h).

Şekil 22'den elde edilen sonuçlara göre, sadece *E. coli* ekilen ve PLA, PLA+ CS yağı içeren biyokompozit içeren kuyular karşılaştırıldığında, ortalama hücre indekslerinin 0.294 (kontrol), 0.267 (PLA), 0.274 (PLA + %3 CS yağı), 0.244 (PLA + %5 CS yağı), ve 0.184 (PLA + %8 CS yağı) şeklinde değiştiği belirlenmiştir. CS yağı içeriğindeki artışla birlikte bakteri proliferasyonundaki azalma %37 gibi dikkat çekici bir değerdir.

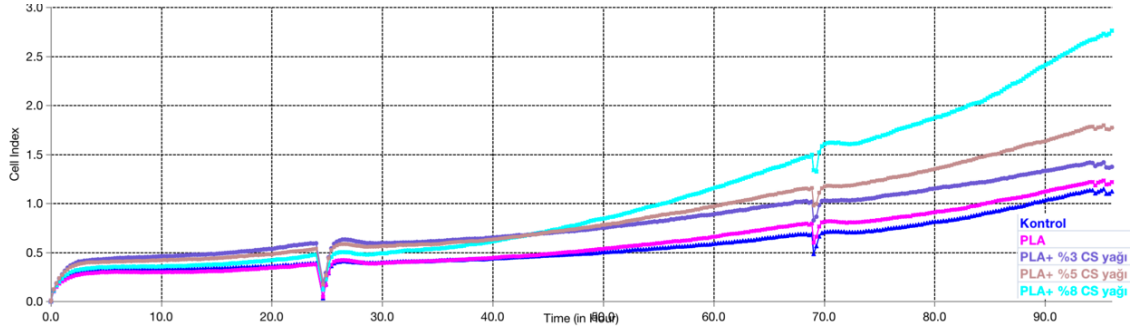


Şekil 23. PLA ve PLA+ CS yağı içeren biyokompozitlerin *Bacillus* çoğalmasına bağlı hücre indeksi değerleri(24 h).

Bacillus'da gerçekleştirilen deneylerde de bakteri ekimi ile birlikte plakelere biyokompozitler de eklenmiştir, bakteri çoğalması 24 saat boyunca 37 °C'de izlenmiştir. Elde edilen hücre indeksi değerlerinde (Şekil 23), sadece bakteri ekilen kuyularda cell indeksi ortalaması 0.285 iken, PLA eklenen kuyuda 0.268, sırasıyla %3, %5 ve %8'lik biyokompozit içeren kuyularda bu değerler, 0.262, 0.265, 0.263 olarak belirlendi. Biyokompozitler, CS yağının oransal artışına göre antibakteriyel etki ortaya çıkarmıştır.

4.2 Hücre Kültürü Çalışmaları

HUVEC hücrelerinde, xCELLigence cihazı ile elde edilen verilere göre, hücre proliferasyonu incelendiğinde, CS yağı içeriği fazla olan yara örtülerinin hücre proliferasyonunu artırdığı görülmüştür (Şekil 24). Endotel hücre çoğalmasına olan etkilerini incelemek için, numuneler eklendikten sonra 72 saat boyunca hücre indeksi değerleri takip edilmiştir. Sadece hücre çoğalmasının izlendiği kontrol grubunda, 72. saat sonunda hücre indeksi değerleri 1.12 olarak kaydedilirken, PLA ve sırasıyla %3, %5 ve %8 CS yağı içeren biyokompozitler için bu değerler sırasıyla 1.21, 1.37, 1.77 ve 2.76 olarak belirlenmiştir. CS yağındaki artış, hücre proliferasyonuna katkı sağlamıştır.

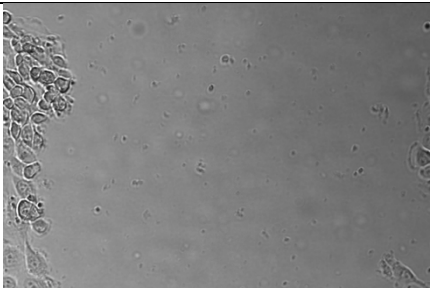
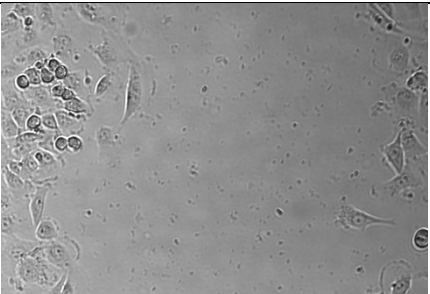
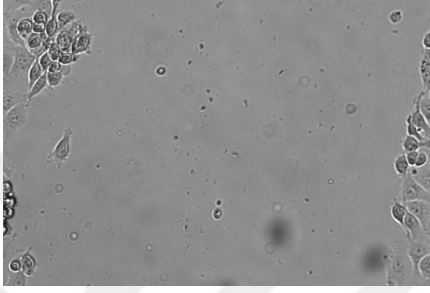
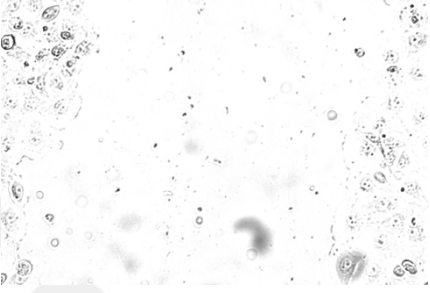
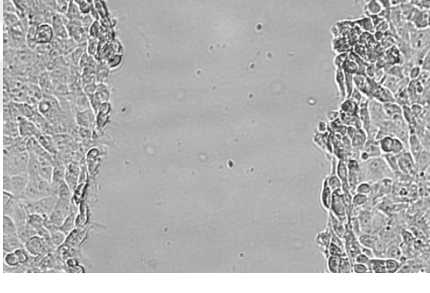
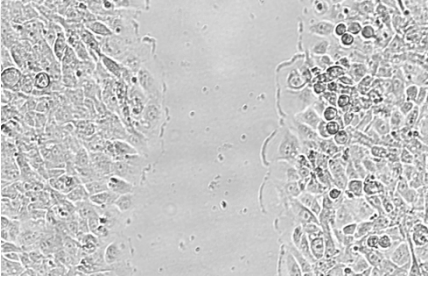
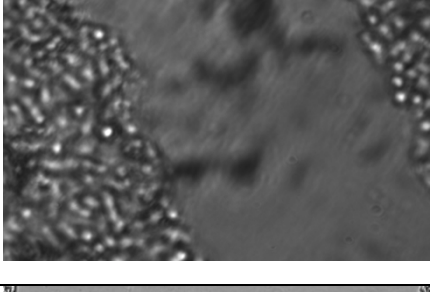
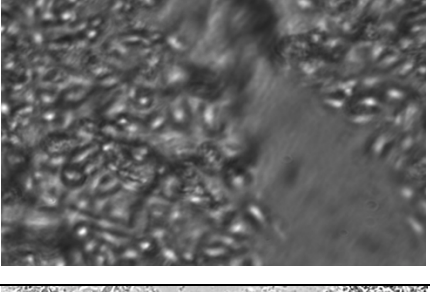
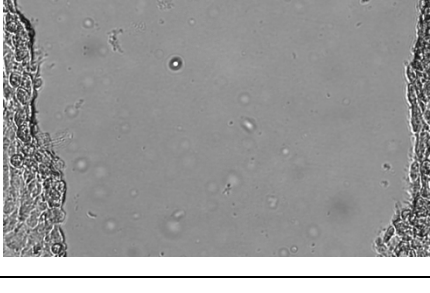
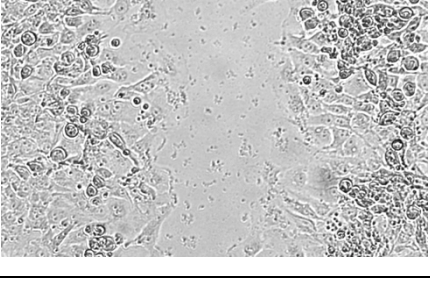


Şekil 24. PLA ve PLA+ CS yağı içeren biyokompozitlerin HUVEC hücre çoğalmasına bağlı hücre indeksi değerleri(72 h).

4.2.1 Yara iyileşme deneyleri. Celloger Nano, hücrelerin durumunun gerçek zamanlı olarak kontrol edilmesine olanak tanıyan, masaüstü dijital bir mikroskoptur. İstenilen süre aralıklarında ve belirlenen süre boyunca otomatik olarak görüntü alınmasını sağlamaktadır. Yara modeli oluşturulan HUVEC hücreleri ile yapılan yara iyileşme deneyleri, Celloger Nano cihazı ile her 5 dakikada bir otomatik görüntü alınarak gerçekleştirilmesinin yanı sıra (Tablo 8-12) , ışık mikroskobundan belirli saat aralıklarında 72 saat boyunca manuel olarak görüntü olarak da yapılmıştır (Tablo 13-16) (Tablo 17-19).

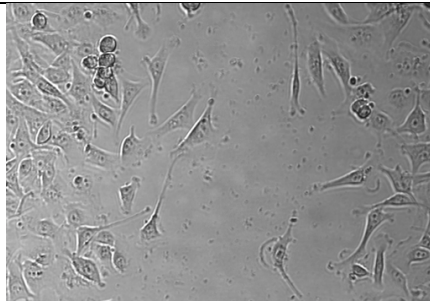
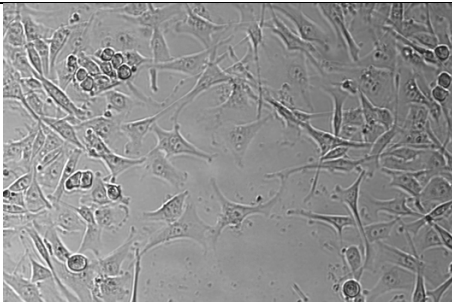
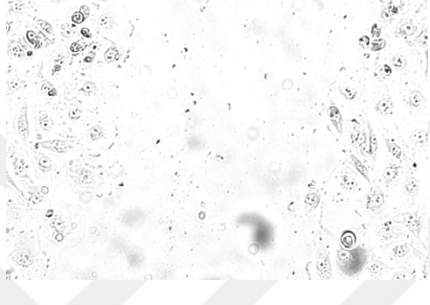
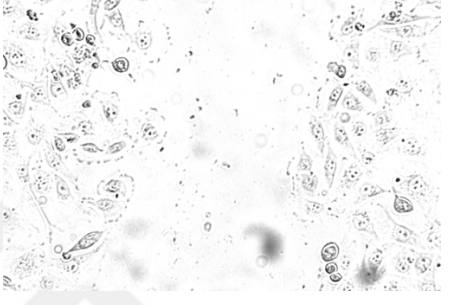
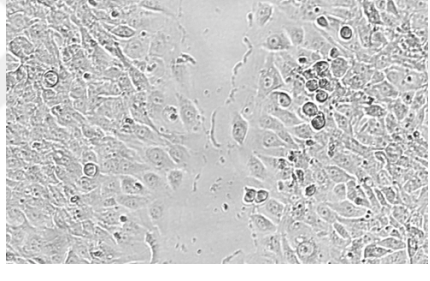
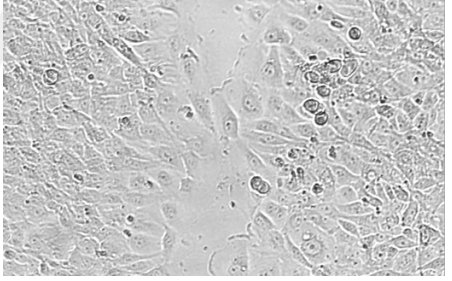
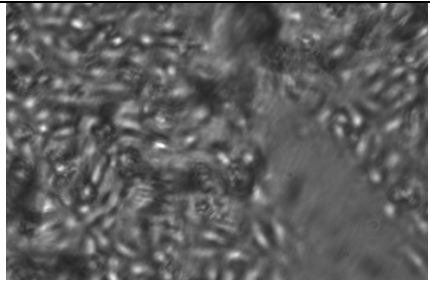
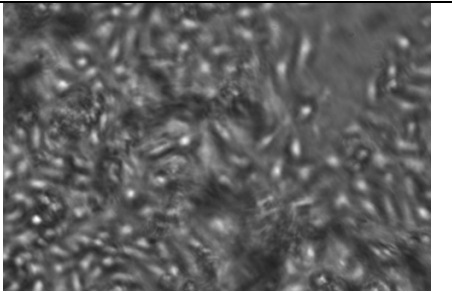
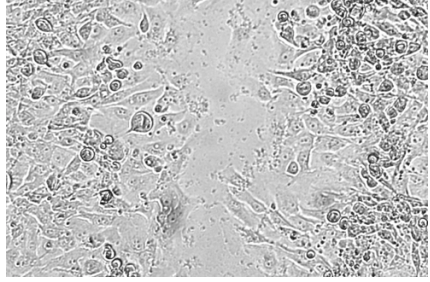
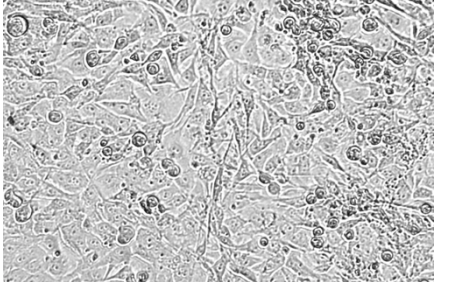
Tablo 8.

Celloger Nano Cihazındaki 0. ve 4. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri

	0.saat	4.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

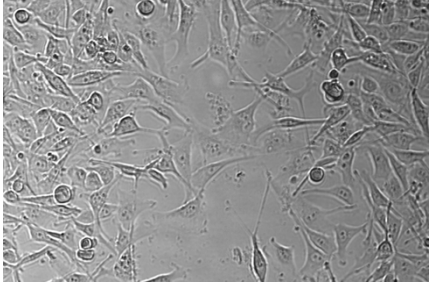
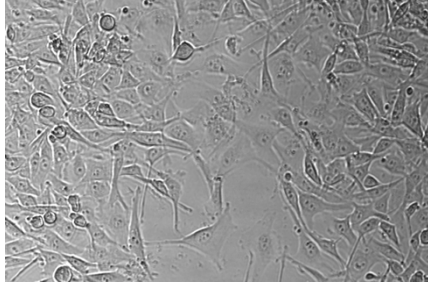
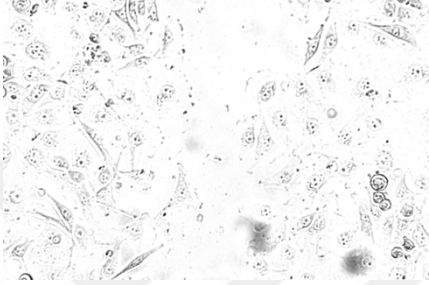
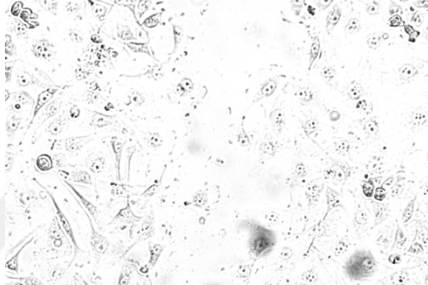
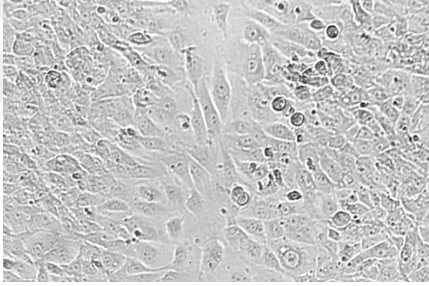
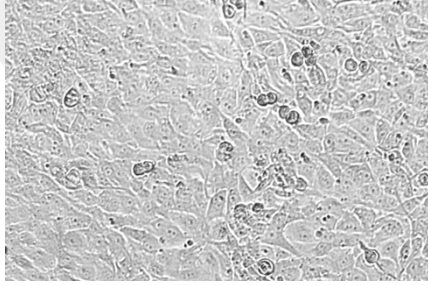
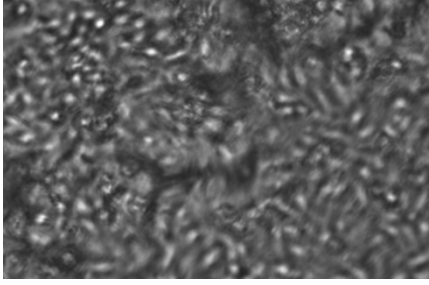

Tablo 9.

Celloger Nano Cihazındaki 8. ve 12. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri

	8.saat	12.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

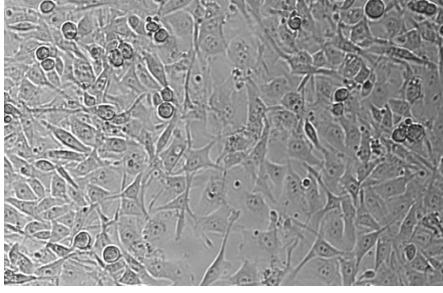
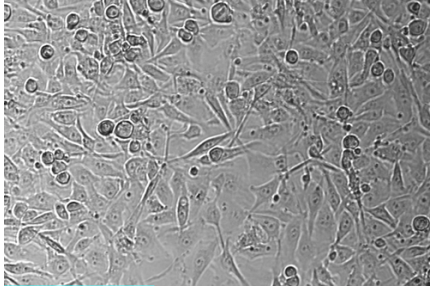
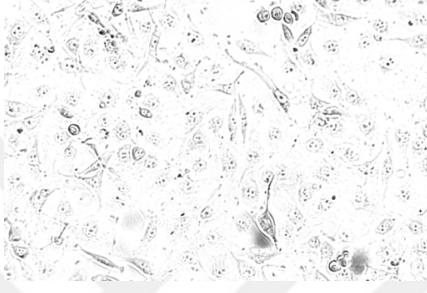
Tablo 10.

Celloger Nano Cihazındaki 16. ve 20. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri

	16.saat	20.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		

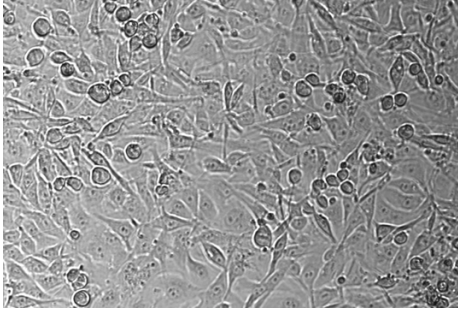
Tablo 11.

Celloger Nano Cihazındaki 24. ve 28. Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri

	24.saat	28.saat
Kontrol		
PLA		

Tablo 12.

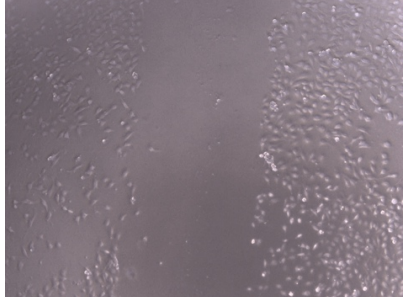
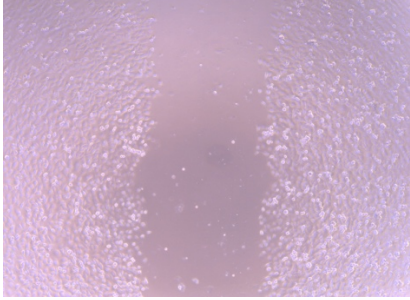
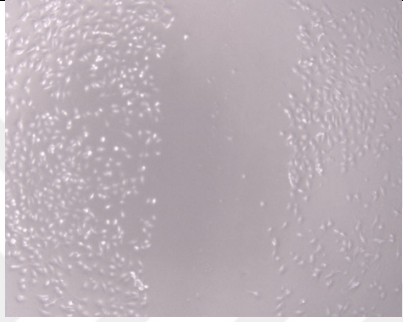
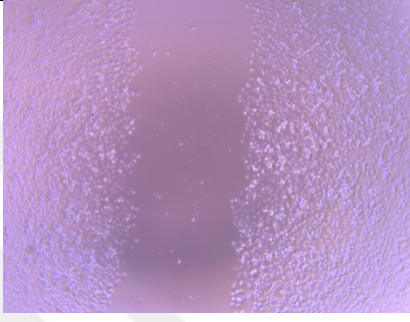

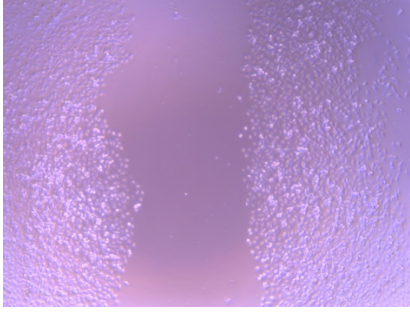
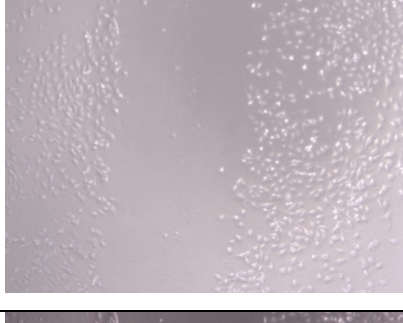
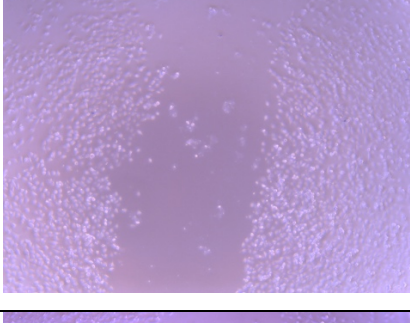
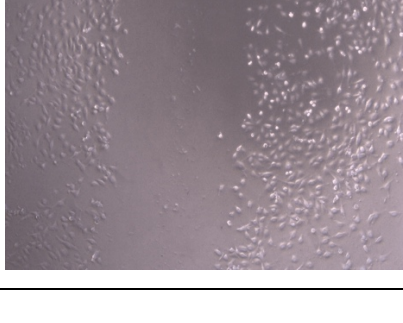
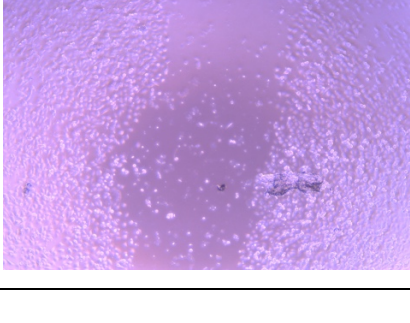
Celloger Nano Cihazındaki Kontrol Grubunun 32.Saatte Alınan Yara İyileşme Görüntüleri

	32.saat
Kontrol	

Celloger Nano cihazı ile elde edilen görüntüler değerlendirildiğinde, biyokompozit içermeyen kontrol grubunda oluşturulan yaranın 32. saatte kapandığı görülmektedir. Yara modeli oluşturulan HUVEC hücrelerine PLA, PLA+%3 CS, PLA+%5 CS, PLA+%8 CS yağı içeren biyokompozitler eklenildiğinde ise yaranın sırasıyla 24.saatte, 20. saatte, 16. saatte ve 12. saatte kapandığı gözlenmiştir.

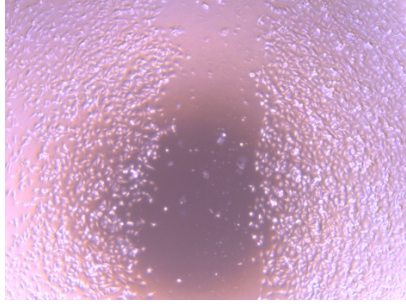
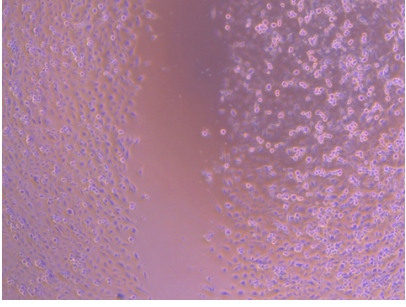
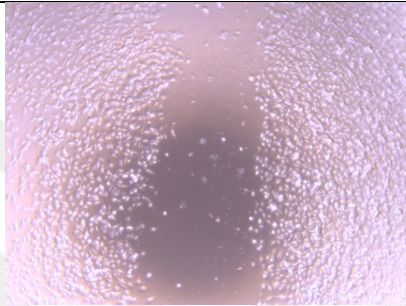
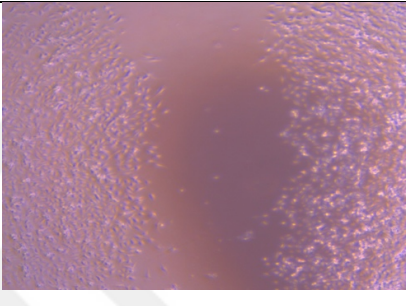
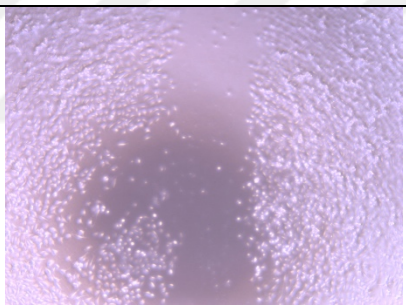
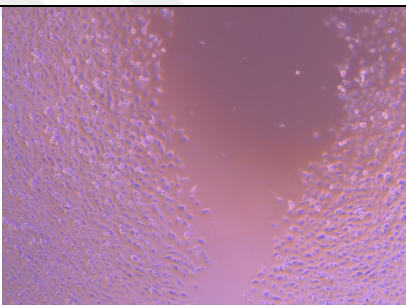
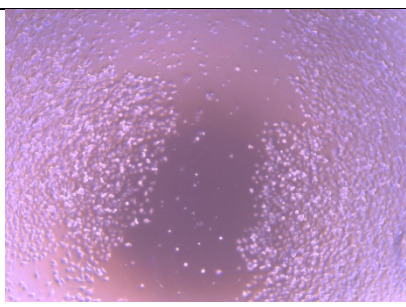
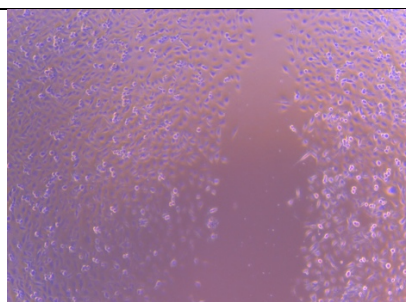
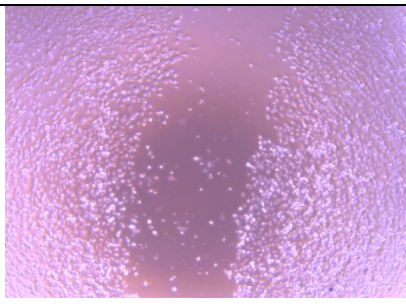
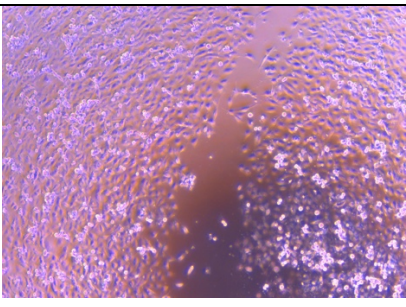
Tablo 13.

Yara İyileşme Deneyinde 0. ve 7. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x)

	0.saat	7.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

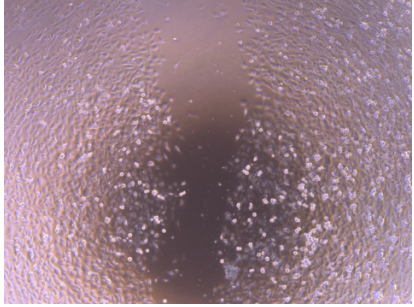
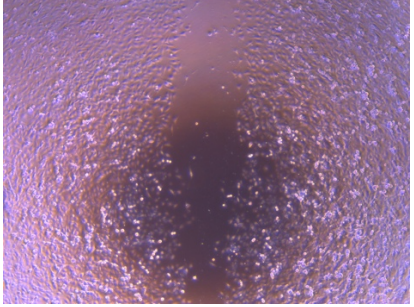
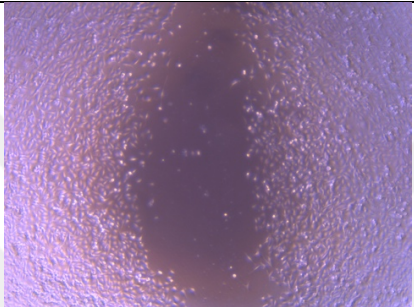
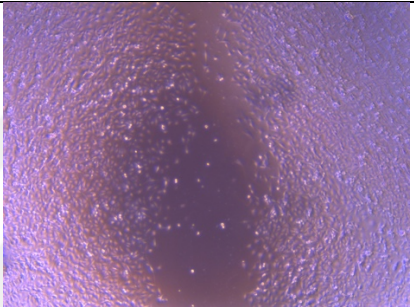
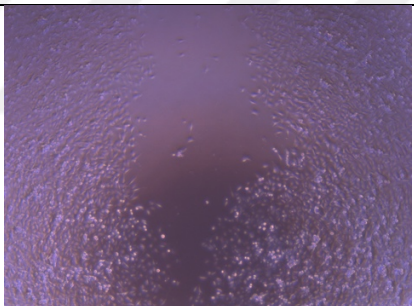
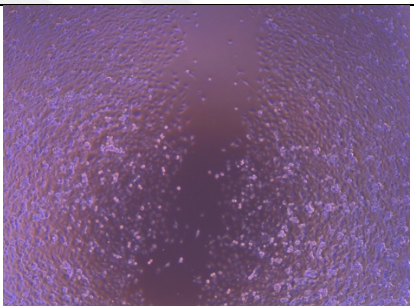
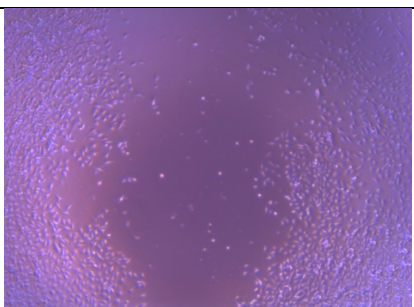
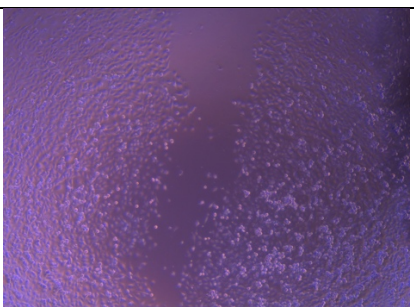
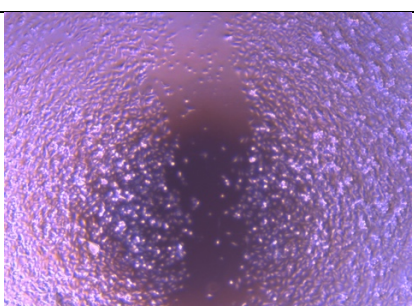
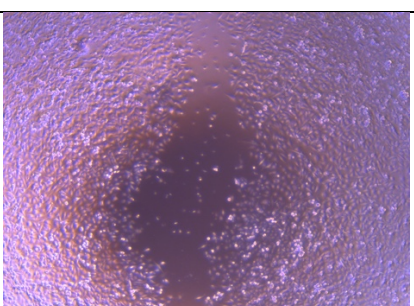
Tablo 14.

Yara İyileşme Deneyinde 16. ve 24. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x)

	16.saat	24.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

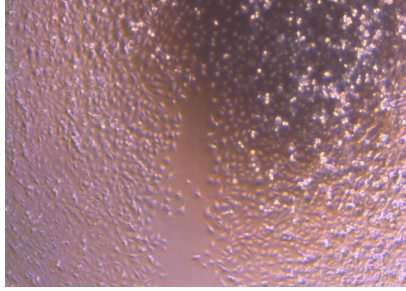
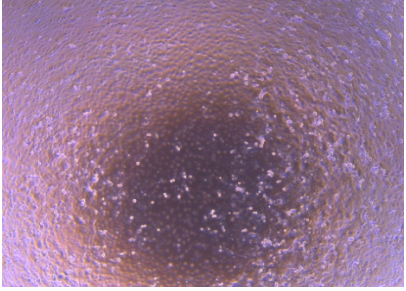
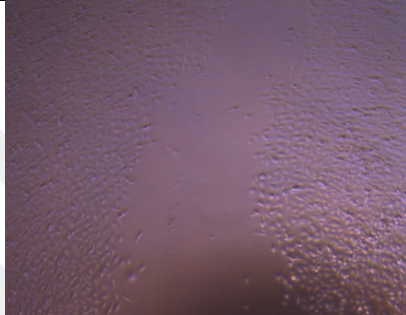
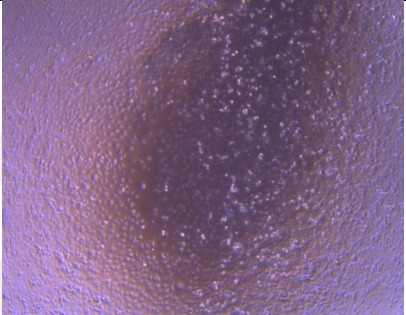
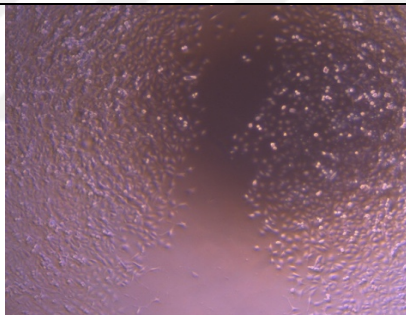
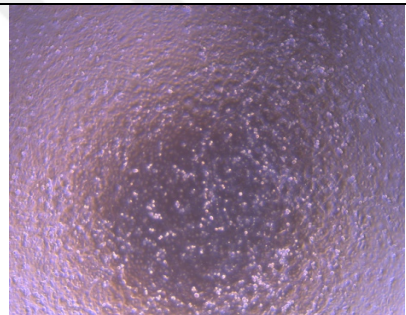
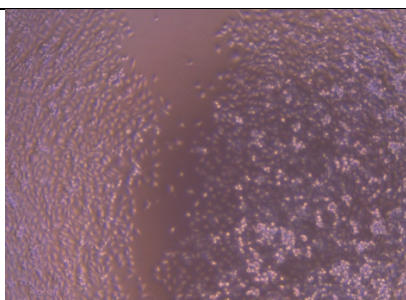
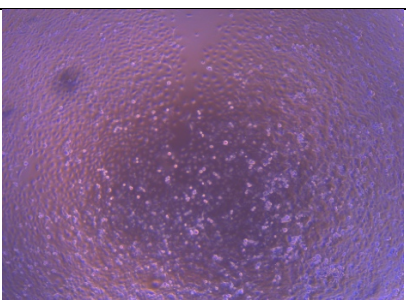
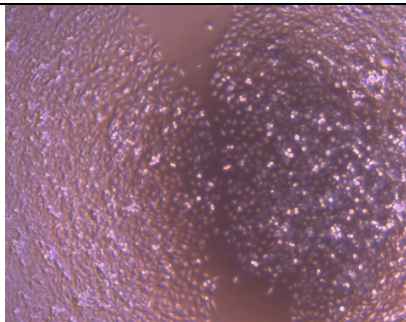
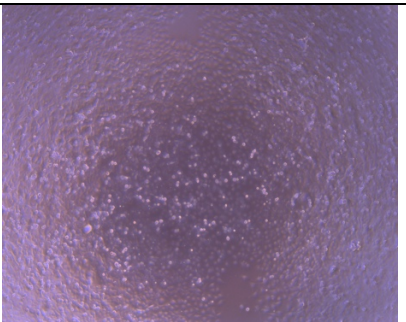
Tablo 15.

Yara İyileşme Deneyinde 31. ve 40. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x)

	31.saat	40.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

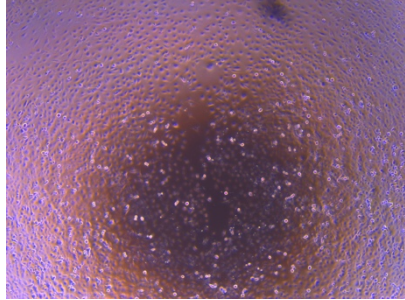
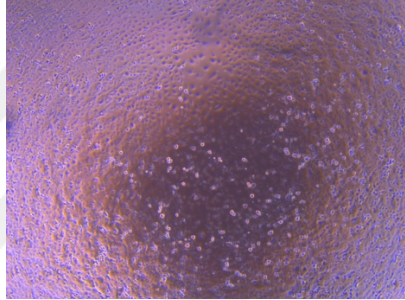
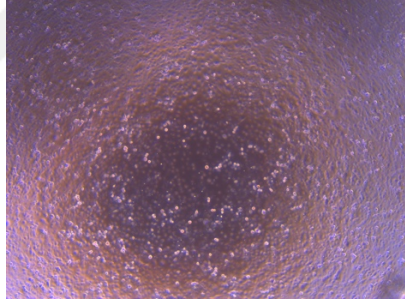
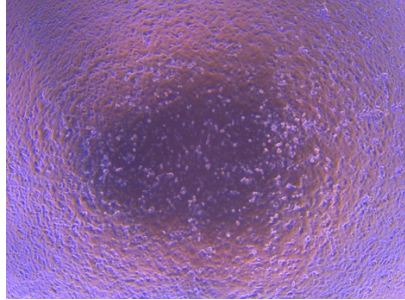
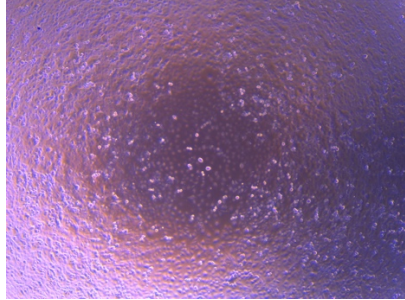
Tablo 16.

Yara İyileşme Deneyinde 48. ve 64. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x)

	48.saat	64.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

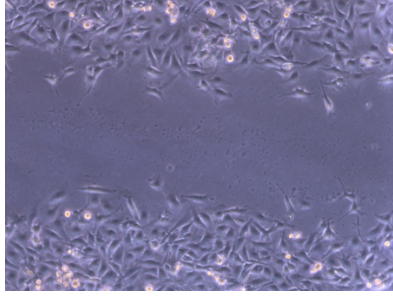
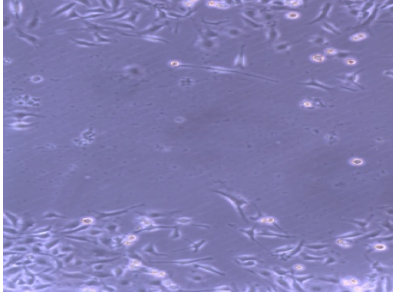
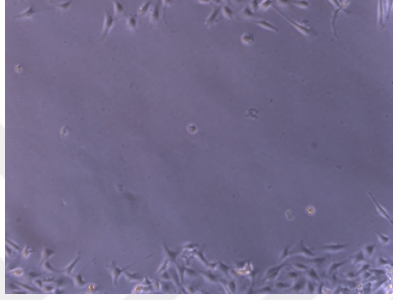
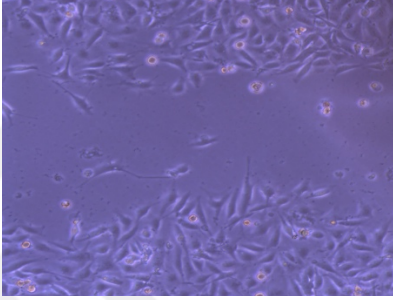
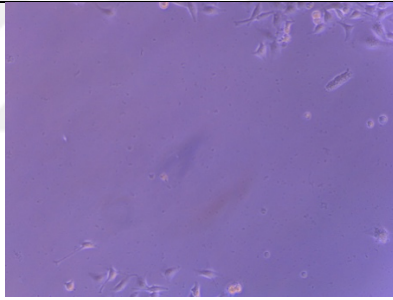
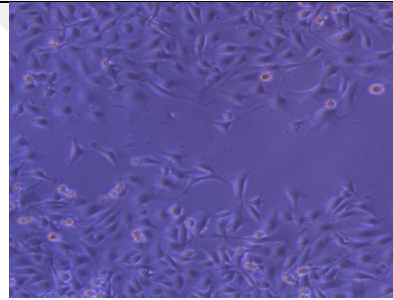
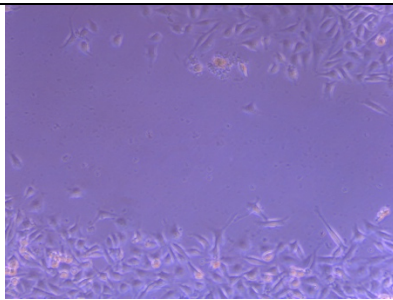
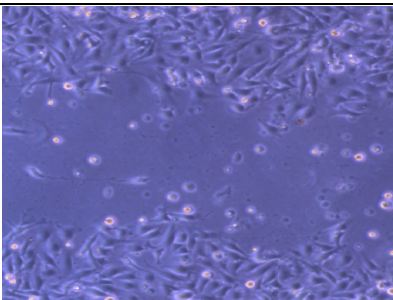
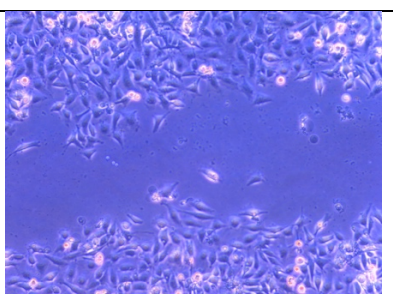
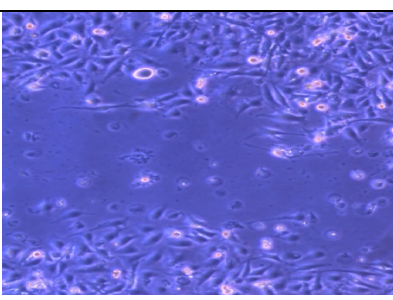
Tablo 17.

Yara İyileşme Deneyinde 72. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (4x)

	72.saat
Kontrol	
PLA	
PLA + %3 CS yağı	
PLA + %5 CS yağı	
PLA + %8 CS yağı	

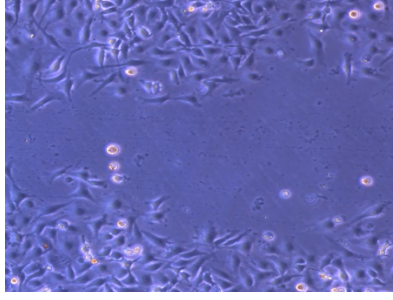
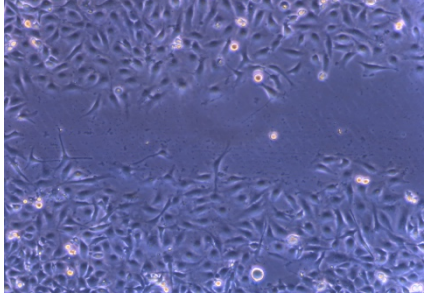
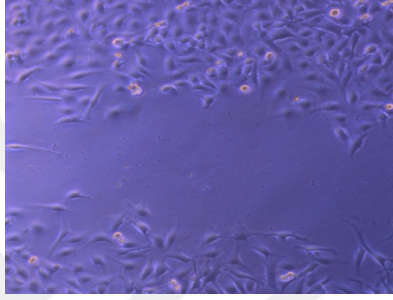
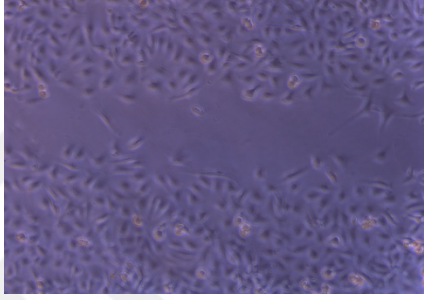
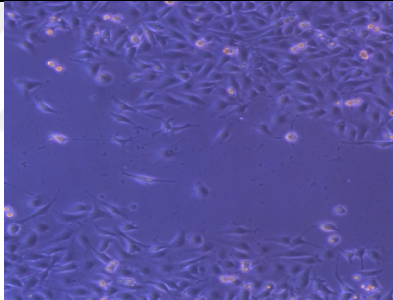
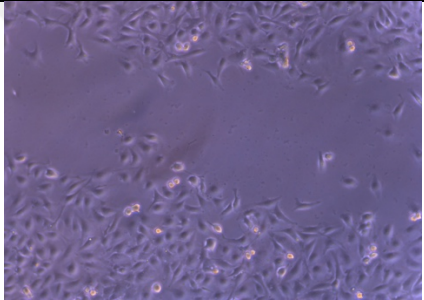
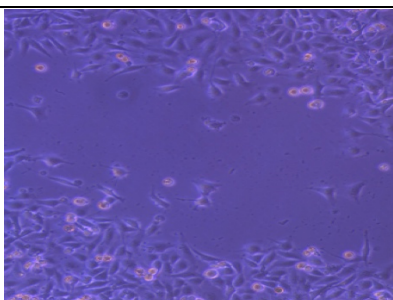
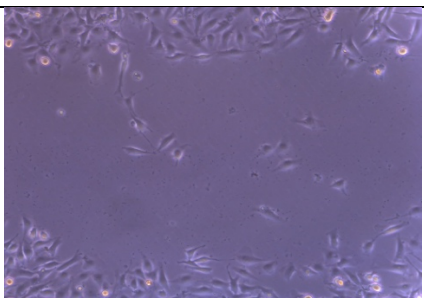
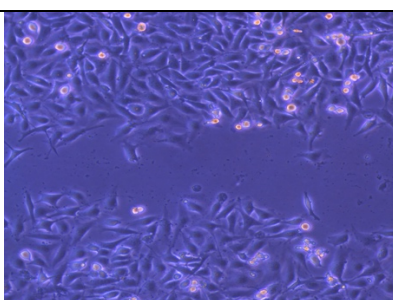
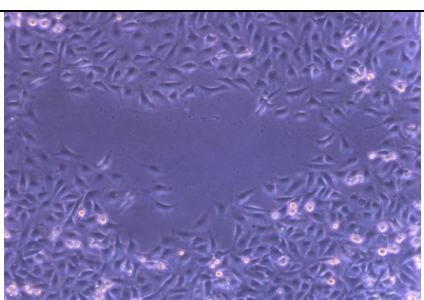
Tablo 18.

Yara İyileşme Deneyinde 24. ve 31. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (10x)

	24.saat	31.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

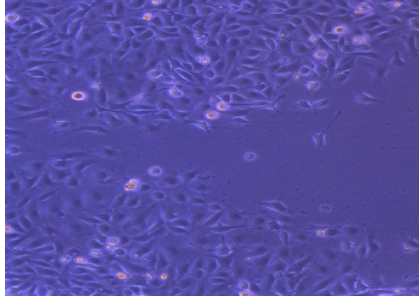
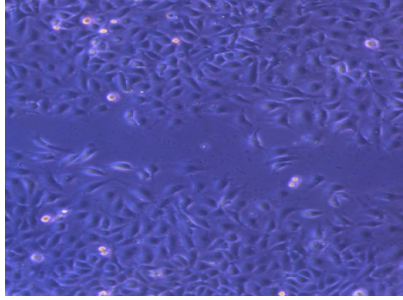
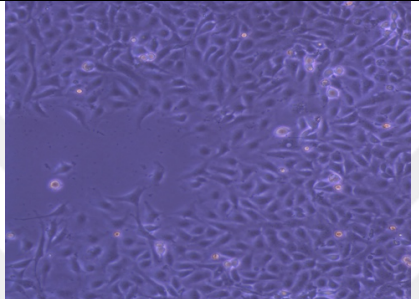
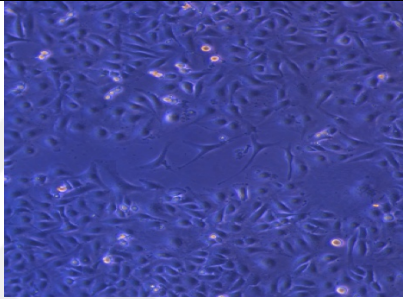
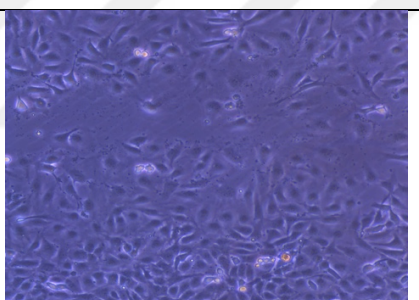
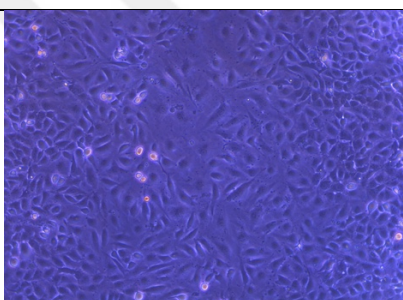
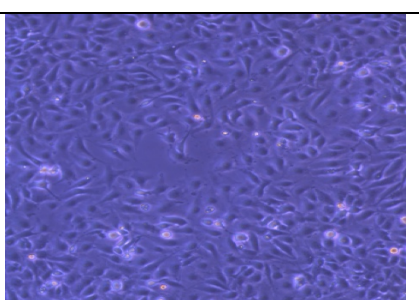
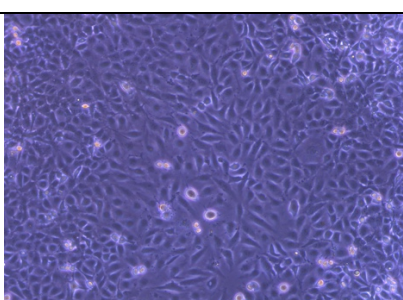
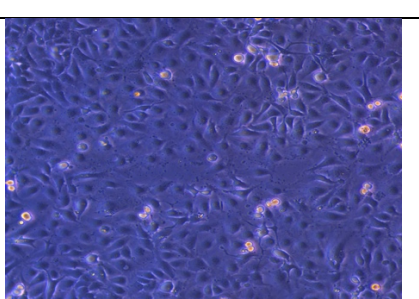
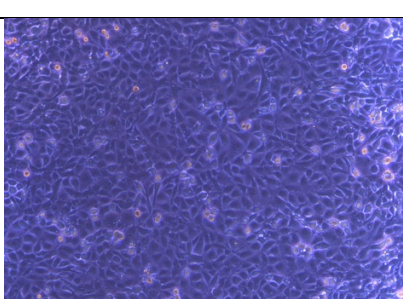
Tablo 19.

Yara İyileşme Deneyinde 40. Ve 48. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (10x)

	40.saat	48.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

Tablo 20.

Yara İyileşme Deneyinde 64. ve 72. Saatteki Manuel Olarak Alınan Mikroskop Görüntüleri (10x)

	64.saat	72.saat
Kontrol		
PLA		
PLA + %3 CS yağı		
PLA + %5 CS yağı		
PLA + %8 CS yağı		

6 kuyulu plate'de belirli aralıklarla manuel görüntü alarak yapılan yara iyileşmesi deneyinden elde edilen görüntüler Tablo 13-17 aralığında gösterilen 4x büyütmede alınan görüntüler ve Tablo 18-20 aralığında gösterilen 10x büyütmede alınan görüntüler gibidir. Daha belirgin olan 10x büyütmeden alınan görüntüler incelendiğinde, PLA+%8 CS yağı içeren biyokompozitin kullanıldığı yara modelinde 72. saatte yara tamamen kapanmışken, kontrol ve sadece PLA içeren gruplardaki yara bölgesinin hala çok belirgin olduğu görülmektedir.



Bölüm 5

Sonuç, Tartışma ve Öneriler

Bu çalışmada, DMF-AC (1:1) çözücü sistemi kullanılarak, ağırlıkça %3, %5 ve % 8 CS yağı ve PLA katkılı biyokompozitler elektroğirme yöntemi ile üretilmiştir. Elektroğirme yöntemi, ucuz ve kullanımı kolay bir yöntem olmasının yanı sıra farklı çaplarda fiber yapıya sahip membran elde edilmesinde kullanılan etkili bir yöntemdir. Bu çalışmada, yara örtü malzemesi olarak kullanılmak üzere uygun parametreler belirlenerek elektroğirme yöntemiyle, kenevir yağı içeren PLA esaslı nanoliflerin üretimi ve karakterizasyonu yapılmıştır. Sonrasında bu biyokompozitlerin antibakteriyel testleri ve hücre çoğalmasına etkileri incelenmiştir.

Literatür incelendiğinde, mevcut araştırmalar, kenevir yağı ve PLA içeren yara örtüsü materyallerinin potansiyel yara iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Araştırmalar, biyoyumlu ve biyobozunur bir polimer olan PLA'nın kullanımının, yara örtüsünün mekanik dayanıklılığını artırırken, CS yağının ise, antienflamatuar ve antibakteriyel özellikleri ile yara bölgesinde enfeksiyon riskini azaltabildiği ve iltihabı kontrol altında tutabildiği gibi yara yüzeyinin nem dengesini de koruyarak iyileşme sürecini etkileyebildiğini, ayrıca içeriğinde bulunan omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin cilt yenilenmesine destek olduğunu bildirmiştir. Böylelikle, CS yağı ve PLA kombinasyonunun, yara iyileşmesini hızlandırdığı ve doku yenilenmesini desteklediği sonucuna varılmıştır (Baral ve ark., 2020).

Bu çalışmada, DMF-AC (1:1) çözücü sistemi kullanılarak, ağırlıkça %3, %5 ve %8 CS yağı ve PLA katkılı biyokompozitler elektroğirme yöntemi ile üretilmiştir. Elektroğirme yöntemi, ucuz ve kullanımı kolay bir yöntem olmasının yanı sıra farklı çaplarda fiber yapıya sahip membran elde edilmesinde kullanılan etkili bir yöntemdir. Elektroğirme yöntemiyle elde edilen malzemeler, gözenek yapısını ayarlayabilme, sıvı ve gaz geçirgenliği, yara bölgesini nemli tutabilme ve yüksek biyomimetik özelliklere sahiptir (Bombin ve ark., 2020). Üretimi gerçekleştirilen PLA, PLA+%3 CS yağı, PLA+%5 CS yağı ve PLA+%8 CS yağı içeren biyokompozitlerin, yapısal, morfolojik, termal, mekanik ve biyolojik karakterizasyonları yapılmış, ardından hücre kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak spektrometrik karakterizasyon gerçekleştirilmiştir. Yapısal

karakterizasyon amacıyla yapılan FTIR analizi sonucunda, PLA, CS yağı, PLA ve CS yağı içeren biyokompozitler incelenmiştir. Elde edilen PLA spektrumunun bantları ayrıntılı olarak sonuçlar kısmında açıklanmıştır. 3000 cm^{-1} 'e yakın olan bölgede ve 1750-754 cm^{-1} arasındaki bölgede izlenen tepeler (*Şekil 16*), literatürdeki PLA spektrumları ile uyumludur (Mofokeng ve ark., 2012). CS yağına özgü, 2900 cm^{-1} bölgesinde ve 1700-720 cm^{-1} aralığında karakteristik tepeler izlenmektedir (Chelminiak-Dudkiewicz ve ark., 2022). CS yağının artan oranına göre, biyokompozitin artan geçirgenlik değerleri de sonuçlarda izlenmiştir. Beer-Lambert yasasına göre, artan geçirgenlik değerleri, artan CS yağı oranını ifade etmektedir (Galignani ve ark., 2014).

Spektroskopik inceleme sonrasında, biyokompozitlerin mikroskopik analizleri gerçekleştirilmiştir. Tablo 5'te verilen SEM görüntüleri incelendiğinde, lif oluşumunun homojen olduğu gözlemlenmiştir. Yara örtüsü amacıyla kullanılmak üzere üretilen biyokompozitlerde CS yağı oranı arttıkça damlacık oluşumunun da arttığı gözlemlenmiştir. Image J programı ile SEM görüntülerinden yarıçap ölçümleri yapıldığında, PLA nanofiberlerin ortalama çapları 464 ± 11 nm, %3 CS yağı içeren fiberlerin çapı 229 ± 5 nm, %5 ve %8 CS yağı içeren fiberlerin ortalama çapları 234 ± 6 nm ve 232 ± 8 nm olarak ölçülmüştür. CS yağı eklenen biyokompozitlerde, fiber çapında %51 azalma izlenmiştir. Bu azalma %3 CS yağı içeren biyokompozitte gerçekleşmiştir. CS yağı oranı artışı, biyokompozit çapında artışa sebep olmamıştır. Bu durum daha önce PLA'ya nano çamur eklenerek elde edilen biyokompozitlerde de izlenmiştir. Artan oran PLA fiberlerin çapında azalmaya sebep olmuştur (Lopresti ve ark., 2021).

Biyokompozitlerin termal karakterizasyonu da gerçekleştirilmiştir. *Şekil 17*'de, sırasıyla PLA ve CS yağı yüklü nanoliflerin ilk ısıtma işlemi için DSC eğrileri ve erime noktaları görülmektedir. 150 °C 'den sonra küçük bir tepe ve 304°C'den sonra bir eğri ortaya çıkardığı izlenmiştir. Robinson ve Jonnalagadda (2000) tarafından yapılan çalışmada, PLA membrandan elde edilen termogramda, 154°C'de ve 304 °C'de iki farklı endotermik geçiş izlenmiştir (Jonnalagadda & Robinson, 2000). PLA'nın, DMF-AC (1:1) karışımı içinde çözülmesi ve ardından solventin bir elektrik alanı içinde buharlaştırılması, biyokompozitin bir miktar daha yüksek derecede eğri üretmesine sebep olabilir. CS yüklü nanolif numunelerinin T_m değerleri, CS yağı içermeyen nanoliflerden biraz daha düşüktür. Biyokompozitlere CS yağı eklenmesi, T_g değerini

PLA'dan uzaklaştırıp, CS yağının termogramına yaklaştırmıştır. Bu sonuçlar, PLA ve CS yağı arasındaki moleküller arası etkileşime atfedilebilir. Böylelikle CS yağının, PLA için bir tür plastikleştirici görevi gördüğü sonucuna da varılabilir (Bhasney ve ark., 2017).

Elde edilen biyokompozitlerin mekanik karakterizasyonları, sıvı emilim testi ve çekme-germe testi uygulanarak gerçekleştirilmiştir. *Şekil 18*'de görüldüğü gibi, PLA en yüksek modül değerine sahip iken, CS yağı ilavesi ile modül değerlerinde belirgin bir düşüş gerçekleşmiştir. Düşük kopma uzamasına sahip olan PLA'ya CS yağı eklenmesiyle, PLA'nın kırılabilirliği değiştirilmiş ve plastikleştirici bir etki göstererek esneklik kazanması sağlanmıştır. Yağ oranı en yüksek olan PLA+%8 CS yağı içeren numunede ise en yüksek kopmada uzama yani esneklik olduğu görülmektedir (*Şekil 19*). PLA'nın akma dayanımının CS yağı ilavesi ile arttığı ve en yüksek artışın en yüksek yağ oranı içeren PLA+%8 CS yağı içeren numunede olduğu *Şekil 20*'de görülmektedir. Sıvı emilim testinde Tablo 6'da gösterilen verilere göre yapılan hesaplamalara göre, CS yağ oranı arttıkça sıvı emme kapasitesinin azaldığı sonucuna varılmıştır. %8'lik CS yağı içeriğine sahip biyokompozitte %2'lik sıvı emilimi ortaya çıkarırken, sadece PLA içeren biyokompozitte bu oran %28'dir. %3 CS yağı içeren biyokompozitte %24 ve %5 CS yağı içeren biyokompozitte ise bu oran %16'dır. Düşük sıvı emme kapasitesi, yara iyileşmesi için gerekli olan nemli ortamı sağlayacağı için literatür ile uyumlu olduğu sonucuna varılmış ve dolayısıyla uygun bir yara örtü malzemesi olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Daha önce yapılan benzer bir çalışmada, palm yağı eklenen PLA fiber biyokompozit yapıların, nötral pH ortamında benzer davrandığı, artan yağ oranının su emme kapasitesini azalttığı belirtilmiştir (Hapizi & Mohamed, 2021).

Biyolojik karakterizasyon amacıyla yapılan antibakteriyel analiz sonucunda, CS yağ oranı arttıkça zon oluşumunun daha belirgin olduğu, böylelikle antiseptik özelliğin de arttığı sonucuna varılmıştır. Hücre indeksi değerleri, CS yağı içeren biyokompozitlerin eklenmesiyle bakteri çoğalmasının azaldığını göstermektedir. Azalma CS yağı içeriğindeki artışla orantılıdır. Örneğin CS yağ içeriği %8'e yükseldiğinde ortalama hücre indeksi 0,294 iken, kenevir yağı içermeyen kontrol grubunda 0,184'e düşmüştür. Bu, biyokompozitlerin, özellikle daha yüksek CS yağı konsantrasyonlarına sahip olanların, *E. coli* bakteriyel çoğalması üzerinde engelleyici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Benzer etkiler PLA ve antibakteriyel etkileri bilinen kitosan ya da

esansiyel yağlarla ilgili çalışmalarda da görülmüştür (Goh ve ark., 2016; Noori ve ark., 2021). Buradaki değerler bu çalışmalardan daha etkili antibakteriyel özellik ortaya çıkarmıştır. PLA ve CS yağı içeren biyokompozitlerin eklenmesiyle hücre indeks değerleri, benzer şekilde *Bacillus* bakterilerinde de incelenmiştir. Burada da bakteri proliferasyonu düşüş göstermektedir, ancak antibakteriyel etkisi *E. coli* örneğindeki kadar belirgin değildir.

Üretilen biyokompozitlerin karakterizasyonları yapıldıktan sonra, yara modeli oluşturulan HUVEC hücreleri ile hücre kültürü çalışmaları yapılmıştır. HUVEC hücreleri, yara iyileşmesinde çok önemli bir rol oynar. Yara iyileşme sürecinde, HUVEC hücreleri, özellikle yeni kan damarlarının oluşumu olan anjiyogenez aşamasında iyileşen dokuya gerekli kan akışını sağladığı için kritik bir öneme sahiptir. Kan damarları yara bölgesine hücreler için gerekli olan oksijen, besin maddeleri ve bağışıklık hücrelerinin iletimini yaparak doku onarımını ve yenilenmesini kolaylaştırmaktadır. Yara iyileşmesi sırasında inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde de rol oynayan HUVEC hücreleri, ayrıca doku onarımında temel süreçler olan hücre çoğalması ve göçünün desteklenmesinde rol oynamaktadır. Bu hücreler kılcal yapıların oluşumuna katkıda bulunarak endotel hücrelerin yara bölgesine göçünü teşvik eder. Bunların yanı sıra, gelişen kan damarlarına ve çevredeki dokuya yapısal destek sağlayan kolajen ve fibronektin gibi hücre dışı matris bileşenlerinin üretiminde de HUVEC hücreleri önemli bir yere sahiptir (Johnson & Wilgus, 2014; Medina-Leyte ve ark., 2020). HUVEC hücre kültürlerinde sonuçlar, CS yağı içeren biyokompozitlerin eklenmesiyle hücre çoğalması üzerinde olumlu bir etki göstermektedir. Hücre indeksi değerleri daha yüksek CS yağı içeriğiyle artmaktadır; bu da daha yüksek CS yağı konsantrasyonuna sahip yara pansumanlarının endotel hücre proliferasyonunu desteklediğini göstermektedir. Bu, yara iyileşmesindeki potansiyel uygulamalar için olumlu bir sonuç olarak değerlendirilir. Yapılan hücre kültürü çalışmaları değerlendirildiğinde, literatür bilgileriyle de uyumlu olarak, CS yağ oranı arttıkça yara bölgesinin daha hızlı kapandığı sonucuna varılmıştır. Hem belirli saat aralıklarında manuel olarak alınan görüntüler, hem de Celloger Nano cihazı ile daha kısa süre aralıklarında otomatik olarak alınan görüntüler incelendiğinde, PLA + %8 CS yağı içeren numunelerin diğerlerine oranla çok daha hızlı yara iyileştirme etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Celloger Nano cihazıyla gerçek zamanlı olarak otomatik alınan görüntüler değerlendirildiğinde, kontrol grubunda oluşturulan yara 32. saatte

kapanırken, en yüksek CS yağ oranına sahip olan PLA + %8 CS yağı içerikli biyokompozit kullanıldığında ise yara bölgesinin 12. saatte kapandığı görülmektedir. Bu sonuçlar literatürle de uyumlu olarak kenevir yağının yara iyileşme üzerindeki olumlu etkilerini doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, yapılan karakterizasyon ve hücre kültürü çalışmaları değerlendirildiğinde, elde edilen sonuçların literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Kenevir yağ oranının artmasının hücre proliferasyonunu artırdığı, dolayısıyla iyileşmeyi hızlandırdığı ve enfeksiyon riskini azalttığı, PLA ve kenevir yağı kombinasyonunun ise yara iyileştirici potansiyelleri olduğu sonucuna varılmıştır.



KAYNAKLAR

- Abel, E. (1980). Marijuana the first twelve thousand years Plenum Press. *New York, New York, USA*.
- Agrawal, P., Soni, S., Mittal, G., & Bhatnagar, A. (2014). Role of polymeric biomaterials as wound healing agents. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 13(3), 180-190.
- Ali, A., & Akhtar, N. (2015). The safety and efficacy of 3% Cannabis seeds extract cream for reduction of human cheek skin sebum and erythema content. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(4).
- Ando, H., Ryu, A., Hashimoto, A., Oka, M., & Ichihashi, M. (1998). Linoleic acid and α -linolenic acid lightens ultraviolet-induced hyperpigmentation of the skin. *Archives of dermatological research*, 290, 375-381.
- Armstrong, J. L., Hill, D. S., McKee, C. S., Hernandez-Tiedra, S., Lorente, M., Lopez-Valero, I., Anagnostou, M. E., Babatunde, F., Corazzari, M., & Redfern, C. P. (2015). Exploiting cannabinoid-induced cytotoxic autophagy to drive melanoma cell death. *Journal of Investigative Dermatology*, 135(6), 1629-1637.
- Badylak, S. F. (2002). The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. *Seminars in Cell & Developmental Biology*,
- Baral, P., Bagul, V., & Gajbhiye, S. (2020). Hemp seed oil for skin care (non-drug Cannabis sativa L.): A review. *World Journal Of Pharmaceutical Research*, 9(8), 2534-2556.
- Bhasney, S. M., Patwa, R., Kumar, A., & Katiyar, V. (2017). Plasticizing effect of coconut oil on morphological, mechanical, thermal, rheological, barrier, and optical properties of poly (lactic acid): A promising candidate for food packaging. *Journal of Applied Polymer Science*, 134(41), 45390.
- Bhatia, S., & Bhatia, S. (2016). Natural polymers vs synthetic polymer. *Natural Polymer Drug Delivery Systems: Nanoparticles, Plants, and Algae*, 95-118.
- Bi, H., Feng, T., Li, B., & Han, Y. (2020). In vitro and in vivo comparison study of electrospun PLA and PLA/PVA/SA fiber membranes for wound healing. *Polymers*, 12(4), 839.
- Bilkei-Gorzo, A., Drews, E., Albayram, Ö., Piyanova, A., Gaffal, E., Tuetting, T., Michel, K., Mauer, D., Maier, W., & Zimmer, A. (2012). Early onset of aging-like changes is restricted to cognitive abilities and skin structure in Cnr1^{-/-} mice. *Neurobiology of Aging*, 33(1), 200. e211-200. e222.
- Blanpain, C. (2010). Skin regeneration and repair. *Nature*, 464(7289), 686-687.
- Bombin, A. D. J., Dunne, N. J., & McCarthy, H. O. (2020). Electrospinning of natural polymers for the production of nanofibres for wound healing applications. *Materials Science and Engineering: C*, 114, 110994.
- Bryant, R., & Nix, D. (2015). *Acute and chronic wounds: current management concepts*. Elsevier Health Sciences.
- Bucknall, T. (1989). Factors affecting wound-healing. *Problems in General Surgery*, 6(2), 194-219.
- Calin, M. A., Coman, T., & Calin, M. R. (2010). The effect of low level laser therapy on surgical wound healing. *Romanian Reports in Physics*, 62(3), 617-627.
- Callaway, J., Schwab, U., Harvima, I., Halonen, P., Mykkänen, O., Hyvönen, P., & Järvinen, T. (2005). Efficacy of dietary hempseed oil in patients with atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Treatment*, 16(2), 87-94.

- Carmeliet, P., & Jain, R. K. (2000). Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*, *407*(6801), 249-257.
- Cerrato, S., Ramió-Lluch, L., Fondevila, D., Rodes, D., Brazis, P., & Puigdemont, A. (2013). Effects of essential oils and polyunsaturated fatty acids on canine skin equivalents: skin lipid assessment and morphological evaluation. *Journal of veterinary medicine*, *2013*.
- Chelminiak-Dudkiewicz, D., Smolarkiewicz-Wyczachowski, A., Mylkie, K., Wujak, M., Mlynarczyk, D. T., Nowak, P., Bocian, S., Goslinski, T., & Ziegler-Borowska, M. (2022). Chitosan-based films with cannabis oil as a base material for wound dressing application. *Scientific Reports*, *12*(1), 18658.
- Darmstadt, G. L., Mao-Qiang, M., Chi, E., Saha, S., Ziboh, V., Black, R., Santosham, M., & Elias, P. (2002). Impact of topical oils on the skin barrier: possible implications for neonatal health in developing countries. *Acta Paediatrica*, *91*(5), 546-554.
- Demaison, L., & Moreau, D. (2002). Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease-related mortality: a possible mechanism of action. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, *59*, 463-477.
- DeStefano, V., Khan, S., & Tabada, A. (2020). Applications of PLA in modern medicine. *Engineered Regeneration*, *1*, 76-87.
- Dhandayuthapani, B., Yoshida, Y., Maekawa, T., & Kumar, D. S. (2011). Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review. *International journal of polymer science*, *2011*.
- Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. (2015). Wound dressings—a review. *Biomedicine*, *5*(4), 22.
- Dong, R., & Guo, B. (2021). Smart wound dressings for wound healing. *Nano Today*, *41*, 101290.
- Du, Y., Ren, P., Wang, Q., Jiang, S.-K., Zhang, M., Li, J.-Y., Wang, L.-L., & Guan, D.-W. (2018). Cannabinoid 2 receptor attenuates inflammation during skin wound healing by inhibiting M1 macrophages rather than activating M2 macrophages. *Journal of Inflammation*, *15*(1), 1-12.
- Ebrahimi, F., Torbati, M., Mahmoudi, J., & Valizadeh, H. (2020). Medicinal plants as potential hemostatic agents. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, *23*, 10-23.
- Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007). Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, *127*(3), 514-525.
- Fahimirad, S., Abtahi, H., Satei, P., Ghaznavi-Rad, E., Moslehi, M., & Ganji, A. (2021). Wound healing performance of PCL/chitosan based electrospun nanofiber electrospayed with curcumin loaded chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, *259*, 117640.
- Fang, Y., Zhu, X., Wang, N., Zhang, X., Yang, D., Nie, J., & Ma, G. (2019). Biodegradable core-shell electrospun nanofibers based on PLA and γ -PGA for wound healing. *European Polymer Journal*, *116*, 30-37.
- Farah, S., Anderson, D. G., & Langer, R. (2016). Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications—A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *107*, 367-392.
- Gallignani, M., Rondón, R. A., Ovalles, J. F., & Brunetto, M. R. (2014). Transmission FTIR derivative spectroscopy for estimation of furosemide in raw material and tablet dosage form. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, *4*(5), 376-383.
- Geerligts, M. (2010). Skin layer mechanics. *Eindhoven: TU Eindhoven*.

- George Broughton, I., Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(7S), 12S-34S.
- Goh, Y.-f., Akram, M., Alshemary, A., & Hussain, R. (2016). Antibacterial polylactic acid/chitosan nanofibers decorated with bioactive glass. *Applied Surface Science*, 387, 1-7.
- Gonzalez, A. C. d. O., Costa, T. F., Andrade, Z. d. A., & Medrado, A. R. A. P. (2016). Wound healing-A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 91, 614-620.
- Guo, S. a., & DiPietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219-229.
- Gupta, A. K., & Talukder, M. (2021). Cannabinoids for skin diseases and hair regrowth. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 20(9).
- Gupta, B., Revagade, N., & Hilborn, J. (2007). Poly (lactic acid) fiber: An overview. *Progress in Polymer Science*, 32(4), 455-482.
- Hajikhani, M., Emam-Djomeh, Z., & Askari, G. (2021). Fabrication and characterization of mucoadhesive bioplastic patch via coaxial polylactic acid (PLA) based electrospun nanofibers with antimicrobial and wound healing application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 172, 143-153.
- Hapizi, N., & Mohamed, R. (2021). Water absorption and soil burial degradation of Poly (lactic) acid (PLA)/Oil palm fibres (OPF) composite. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering,
- Hartsel, J. A., Eades, J., Hickory, B., & Makriyannis, A. (2016). Cannabis sativa and Hemp. In *Nutraceuticals* (pp. 735-754). Elsevier.
- Haryanto, Kim, S., Kim, J. H., Kim, J. O., Ku, S., Cho, H., Han, D. H., & Huh, P. (2014). Fabrication of poly (ethylene oxide) hydrogels for wound dressing application using E-beam. *Macromolecular Research*, 22, 131-138.
- Hestiawan, H. (2020). The water absorption, mechanical and thermal properties of chemically treated woven fan palm reinforced polyester composites. *Journal of Materials Research and Technology*, 9(3), 4410-4420.
- İbrahim, Ü., & Koçak, E. D. (2012). Poli (laktik asit)'in kullanım alanları ve nano lif üretimdeki uygulamaları. *İstanbul Ticaret Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11(22), 79-88.
- Isaac, C., Paggiaro, A. O., Aldunate, J. L. C. B., Herson, M. R., Altran, S. C., Mônica Beatriz, M., & Ferreira, M. C. (2011). Role of keratinocytes in wound contraction: an impact assessment using a model of collagen matrix populated with fibroblasts. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*, 26, 402-406.
- Jin, S. G. (2022). Production and application of biomaterials based on polyvinyl alcohol (PVA) as wound dressing. *Chemistry—An Asian Journal*, 17(21), e202200595.
- Johnson, K. E., & Wilgus, T. A. (2014). Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the regulation of cutaneous wound repair. *Advances in Wound Care*, 3(10), 647-661.
- Jonnalagadda, S., & Robinson, D. H. (2000). A bioresorbable, polylactide reservoir for diffusional and osmotically controlled drug delivery. *AAPS PharmSciTech*, 1(4), 29.
- Kapucuk, F. S., & Hikmet, D. (2021). Some Aromatic Plants Used in Wound Treatment in Complementary Medicine and Their Usage Methods. *Experimental and Applied Medical Science*, 2(4), 257-264.

- Karleskind, A., & Wolff, J.-P. (1996). Oils and fats manual. A comprehensive treatise: properties, production, applications.
- Karppinen, S.-M., Heljasvaara, R., Gullberg, D., Tasanen, K., & Pihlajaniemi, T. (2019). Toward understanding scarless skin wound healing and pathological scarring. *F1000Research*, 8.
- Keck, C. M., & Schwabe, K. (2009). Silver-nanolipid complex for application to atopic dermatitis skin: rheological characterization, in vivo efficiency and theory of action. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 5(4), 428-436.
- KOCA ÇALIŞKAN, U. (2020). Hemp And Its Use In Health (Kenevir Ve Sağlık Alanında Kullanımı). *J. Fac. Pharm. Ankara/Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 44(1).
- Kongkadee, K., Wisuitiprot, W., Ingkaninan, K., & Waranuch, N. (2022). Anti-inflammation and gingival wound healing activities of Cannabis sativa L. subsp. sativa (hemp) extract and cannabidiol: An in vitro study. *Archives of Oral Biology*, 140, 105464.
- Kupczyk, P., Reich, A., & Szepietowski, J. C. (2009). Cannabinoid system in the skin—a possible target for future therapies in dermatology. *Experimental Dermatology*, 18(8), 669-679.
- Langer, R., & Tirrell, D. A. (2004). Designing materials for biology and medicine. *Nature*, 428(6982), 487-492.
- Lee, A.-R. C., Leem, H., Lee, J., & Park, K. C. (2005). Reversal of silver sulfadiazine-impaired wound healing by epidermal growth factor. *Biomaterials*, 26(22), 4670-4676.
- Leizer, C., Ribnicky, D., Poulev, A., Dushenkov, S., & Raskin, I. (2000). The composition of hemp seed oil and its potential as an important source of nutrition. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods*, 2(4), 35-53.
- Li, H., & Huneault, M. A. (2007). Effect of nucleation and plasticization on the crystallization of poly (lactic acid). *Polymer*, 48(23), 6855-6866.
- Li, H., Ma, Y., Miao, J., Zhang, J., Ren, H., & Li, G. (2012). The Influence of the Hemp Seed Oil on the Related Parameters of the Skin in Aging Mice [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 9.
- Li, J., Chen, J., & Kirsner, R. (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*, 25(1), 9-18.
- Lin, T.-K., Zhong, L., & Santiago, J. L. (2017). Anti-inflammatory and skin barrier repair effects of topical application of some plant oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 70.
- Lopresti, F., Pavia, F. C., Ceraulo, M., Capuana, E., Brucato, V., Ghersi, G., Botta, L., & La Carrubba, V. (2021). Physical and biological properties of electrospun poly (d, l-lactide)/nanoclay and poly (d, l-lactide)/nanosilica nanofibrous scaffold for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 109(11), 2120-2136.
- Luten, J., van Nostrum, C. F., De Smedt, S. C., & Hennink, W. E. (2008). Biodegradable polymers as non-viral carriers for plasmid DNA delivery. *Journal of Controlled Release*, 126(2), 97-110.
- Mao-Qiang, M., Elias, P. M., & Feingold, K. R. (1993). Fatty acids are required for epidermal permeability barrier function. *The Journal of clinical investigation*, 92(2), 791-798.
- Mason, D. E., Mitchell, K. E., Li, Y., Finley, M. R., & Freeman, L. C. (2002). Molecular basis of voltage-dependent potassium currents in porcine granulosa cells. *Molecular Pharmacology*, 61(1), 201-213.

- Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C., & Bonner, T. I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, *346*(6284), 561-564.
- McGrath, J., Eady, R., & Pope, F. (2004). Anatomy and organization of human skin. *Rook's textbook of dermatology*, *1*, 3.2-3.80.
- Medina-Leyte, D. J., Domínguez-Pérez, M., Mercado, I., Villarreal-Molina, M. T., & Jacobo-Albavera, L. (2020). Use of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) as a model to study cardiovascular disease: A review. *Applied Sciences*, *10*(3), 938.
- Medrado, A., Costa, T., Prado, T., Reis, S., & Andrade, Z. (2010). Phenotype characterization of pericytes during tissue repair following low-level laser therapy. *Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine*, *26*(4), 192-197.
- Mehrabani, M., Seyyedkazemi, S. M., Nematollahi, M. H., Jafari, E., Mehrabani, M., Mehdipour, M., Sheikhshoae, Z., & Mandegary, A. (2016). Accelerated burn wound closure in mice with a new formula based on traditional medicine. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, *18*(11).
- Metwally, S., Ura, D. P., Krysiak, Z. J., Kaniuk, Ł., Szewczyk, P. K., & Stachewicz, U. (2020). Electrospun PCL patches with controlled fiber morphology and mechanical performance for skin moisturization via long-term release of hemp oil for atopic dermatitis. *Membranes*, *11*(1), 26.
- Midwood, K. S., Williams, L. V., & Schwarzbauer, J. E. (2004). Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *The international journal of biochemistry & cell biology*, *36*(6), 1031-1037.
- Mofokeng, J. P., Luyt, A., Tábi, T., & Kovács, J. (2012). Comparison of injection moulded, natural fibre-reinforced composites with PP and PLA as matrices. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, *25*(8), 927-948.
- Morales-González, M., Díaz, L. E., Dominguez-Paz, C., & Valero, M. F. (2022). Insights into the design of polyurethane dressings suitable for the stages of skin wound-healing: A systematic review. *Polymers*, *14*(15), 2990.
- National Academies of Sciences, E., & Medicine. (2017). The health effects of cannabis and cannabinoids: the current state of evidence and recommendations for research.
- Nikan, M., Nabavi, S. M., & Manayi, A. (2016). Ligands for cannabinoid receptors, promising anticancer agents. *Life Sciences*, *146*, 124-130.
- Noori, N., Khanjari, A., Rezaeigolestani, M., Karabagias, I. K., & Mokhtari, S. (2021). Development of antibacterial biocomposites based on poly (lactic acid) with spice essential oil (*Pimpinella anisum*) for food applications. *Polymers*, *13*(21), 3791.
- O'Kane, S. (2002). Wound remodelling and scarring. *Journal of Wound Care*, *11*(8), 296-299.
- Oláh, A., Tóth, B. I., Borbíró, I., Sugawara, K., Szöllösi, A. G., Czifra, G., Pál, B., Ambrus, L., Klopper, J., & Camera, E. (2014). Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. *The Journal of clinical investigation*, *124*(9), 3713-3724.
- Oomah, B. D., Busson, M., Godfrey, D. V., & Drover, J. C. (2002). Characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil. *Food Chemistry*, *76*(1), 33-43.
- ÖZTAŞ, P. (2021). YARA İYİLEŞMESİ, BAKIMI VE TEDAVİSİ. *Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, *54*(2), 341-351.

- PARSAK, C. K., SAKMAN, G., & ÇELİK, Ü. (2007). Yara iyileşmesi, yara bakımı ve komplikasyonları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 16(2), 145-159.
- Perumal, G., Pappuru, S., Chakraborty, D., Nandkumar, A. M., Chand, D. K., & Doble, M. (2017). Synthesis and characterization of curcumin loaded PLA—Hyperbranched polyglycerol electrospun blend for wound dressing applications. *Materials Science and Engineering: C*, 76, 1196-1204.
- Reinke, J., & Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration. *European Surgical Research*, 49(1), 35-43.
- Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., & Gurtner, G. C. (2019). Wound healing: a cellular perspective. *Physiological Reviews*, 99(1), 665-706.
- Sangiovanni, E., Fumagalli, M., Pacchetti, B., Piazza, S., Magnavacca, A., Khalilpour, S., Melzi, G., Martinelli, G., & Dell'Agli, M. (2019). Cannabis sativa L. extract and cannabidiol inhibit in vitro mediators of skin inflammation and wound injury. *Phytotherapy Research*, 33(8), 2083-2093.
- Santoro, M., Shah, S. R., Walker, J. L., & Mikos, A. G. (2016). Poly (lactic acid) nanofibrous scaffolds for tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 107, 206-212.
- Sharma, K., Bullock, A., Ralston, D., & MacNeil, S. (2014). Development of a one-step approach for the reconstruction of full thickness skin defects using minced split thickness skin grafts and biodegradable synthetic scaffolds as a dermal substitute. *Burns*, 40(5), 957-965.
- Shaw, T. J., & Martin, P. (2009). Wound repair at a glance. *Journal of Cell Science*, 122(18), 3209-3213.
- Siudem, P., Wawer, I., & Paradowska, K. (2019). Rapid evaluation of edible hemp oil quality using NMR and FT-IR spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, 1177, 204-208.
- Soliman, E., Henderson, K. L., Danell, A. S., & Van Dross, R. (2016). Arachidonoyl-ethanolamide activates endoplasmic reticulum stress-apoptosis in tumorigenic keratinocytes: role of cyclooxygenase-2 and novel J-series prostamides. *Molecular Carcinogenesis*, 55(2), 117-130.
- Souren, J. E., Ponec, M., & van Wijk, R. (1989). Contraction of collagen by human fibroblasts and keratinocytes. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*, 25(11), 1039-1045.
- Tabassum, N., & Hamdani, M. (2014). Plants used to treat skin diseases. *Pharmacognosy Reviews*, 8(15), 52.
- Takeo, M., Lee, W., & Ito, M. (2015). Wound healing and skin regeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(1).
- Toncheva, A., Spasova, M., Paneva, D., Manolova, N., & Rashkov, I. (2014). Polylactide (PLA)-based electrospun fibrous materials containing ionic drugs as wound dressing materials: a review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 63(13), 657-671.
- Ulubayram, K., Cakar, A. N., Korkusuz, P., Ertan, C., & Hasirci, N. (2001). EGF containing gelatin-based wound dressings. *Biomaterials*, 22(11), 1345-1356.
- Vaiserman, A. M., Koliada, A. K., & Marotta, F. (2017). Gut microbiota: A player in aging and a target for anti-aging intervention. *Ageing research reviews*, 35, 36-45.
- Wang, L.-L., Zhao, R., Li, J.-Y., Li, S.-S., Liu, M., Wang, M., Zhang, M.-Z., Dong, W.-W., Jiang, S.-K., & Zhang, M. (2016). Pharmacological activation of cannabinoid 2 receptor attenuates inflammation, fibrogenesis, and promotes re-

- epithelialization during skin wound healing. *European Journal of Pharmacology*, 786, 128-136.
- Watret, L., & White, R. (2001). Surgical wound management: the role of dressings. *Nursing Standard (through 2013)*, 15(44), 59.
- Whitney, J. D. (2005). Overview: acute and chronic wounds. *Nursing Clinics*, 40(2), 191-205.
- Wilkinson, J. D., & Williamson, E. M. (2007). Cannabinoids inhibit human keratinocyte proliferation through a non-CB1/CB2 mechanism and have a potential therapeutic value in the treatment of psoriasis. *Journal of Dermatological Science*, 45(2), 87-92.
- Xu, F., Wang, H., Zhang, J., Jiang, L., Zhang, W., & Hu, Y. (2022). A facile design of EGF conjugated PLA/gelatin electrospun nanofibers for nursing care of in vivo wound healing applications. *Journal of Industrial Textiles*, 51(1_suppl), 420S-440S.
- Zeiger, J. S., Silvers, W. S., Fleegler, E. M., & Zeiger, R. S. (2019). Age related differences in cannabis use and subjective effects in a large population-based survey of adult athletes. *Journal of cannabis research*, 1, 1-8.