

**DOKU REJENERASYONUNDA KULLANILMAK ÜZERE
ETKEN MADDE YÜKLÜ NANOFİBRİLER YAPILARIN
HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ACTIVE
AGENT LOADED NANOFIBRILLAR STRUCTURES FOR
TISSUE REGENERATION**

GÖZDE MUTLU

DOÇ.DR. EYLEM GÜVEN

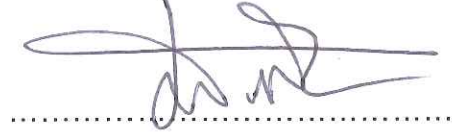
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak Hazırlanmıştır.

2014

GÖZDE MUTLU' nun hazırladığı “**Doku Rejenerasyonunda Kullanılmak Üzere Nanofibriler Yapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **NANOTEKNOLOJİ VE NANOTIP ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

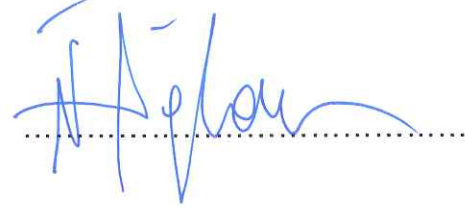
Prof. Dr. Süleyman Ali Tuncel
Başkan



Doç. Dr. Eylem Güven
Danışman



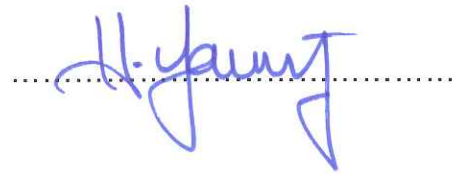
Prof. Dr. Necdet Sağlam
Üye



Prof. Dr. Kezban Ulubayram
Üye



Prof. Dr. Handan Yavuz
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. FATMA SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Sergili Anneannem ve Aileme,

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

25/06/2014

GÖZDE MUTLU

ÖZET

DOKU REJENERASYONUNDA KULLANILMAK ÜZERE ETKEN MADDE YÜKLÜ NANOFİBRİLER YAPILARIN HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Gözde MUTLU

Yüksek Lisans, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Eylem Güven

Haziran 2014, 110 sayfa

Son yıllarda doku mühendisliğinde nanoteknolojik yaklaşımların kullanılması ile ivme kazanan gelişmeler, özellikle biyomedikal alanda kendini göstermiştir. Birçok nanoteknolojik üretim yöntemiyle doğal ve sentetik polimerler ile bunların karışımlardan hazırlanan nanofibriler yapılar doku iskeleleri, ilaç taşıyıcı sistemler ve yara-yanık örtü malzemeleri olarak günümüzde kullanılmaktadır. Bu polimerlerden biri olan poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) (PHBV); biyobozunur, biyouyumlu, kompleks saflaştırma prosesleri gerektirmeyen, toksik olmayan ve yarı kristalin özellik gösteren bir polyesterdir. Bu özelliklerine ek olarak mekanik dayanıklılığı ve kolaylıkla elektrostatik eğrilebilirliği sayesinde, günümüzde doku mühendisliği uygulamalarında önemli bir yere sahiptir. Bu tez çalışmasında yara-yanık örtü malzemesi olarak kullanılmak üzere, farklı konsantrasyonlara sahip çözeltilerden (%10, %13 ve %15 (w/v)) PHBV nanofibriler yapılar elektrostatik eğirme yöntemiyle sentezlenmiştir. Boncuksuz ve düzgün

morfolojide nanofiberler elde etmek için polimer konsantrasyonu, çözücü türü, çözelti akış hızı, uygulanan voltaj, çalışma mesafesi vb. elektrostatik eğirme parametrelerinin optimizasyonu sağlanmıştır. En düzgün ve homojen morfolojiye sahip nanofibriler yapılar, ağırlıkça %10 PHBV (%10 (w/v) PHBV) konsantrasyonunda elde edilmiştir. Aynı zamanda bu nanofibriler yapılar antimikrobiyal, antienflamatuar, yara iyileştirici vb. özellikleri ile bilinen ve *Curcuma longa L.* bitkisinin rizomlarından izole edilen Kurkumin (Cur) yüklenmiştir. Sonuç olarak farklı konsantrasyonlarda (%0.1, %0.3 ve %0.5 (w/v)) kurkumin PHBV çözeltilerine eklenerek elektrostatik eğirme yöntemi ile kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar başarıyla üretilmiştir. Saf PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların karakterizasyonu taramalı elektron mikroskopu (SEM), Fourier transform infrared spektroskopisi, X-Işınları difraksiyonu (XRD) ve Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) aracılığıyla yapılmıştır. SEM analizi, kurkumin yüklü PHBV nanofiberlerin çaplarının 50-838nm arasında değişiklik gösterdiğini açığa çıkarmıştır. Bu nanofibriler yapıların mekanik özelliklerinin belirlenmesinde mekanik test cihazından yararlanılmıştır. Sitotoksitesite değerlendirmesi MTT testi ile yapılmıştır. İndirekt sitotoksitesite sonuçları; PHBV ve Kurkumin yüklü PHBV nanofiber ekstraktlarının, L929 fare fibroblast hücre hattına toksik olmadığını ortaya çıkarmıştır. L929 fare fibroblast hücrelerinin yapışma ve proliferasyon sonuçları, en iyi adezyonun saf PHBV (%10 (w/v)) ve %0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV (%10 (w/v)) nanofibriler yapılarda olduğunu göstermiştir. Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılardan kurkuminin *in vitro* salım karakteristiğinin incelenmesinde tam daldırma yönteminden yararlanılmıştır. Lizozim içeren PBS çözeltilerinde bekletilen bu nanofibriler yapıların, 14 gün süreyle günlük kütleli azalmalarından yola çıkılarak degradasyon profilleri oluşturulmuştur. Ayrıca yara-yanık örtü materyalinin taşınması gereken özelliklerden biri olan iyi hidrasyon kapasitesinin belirlenmesi amacıyla, bu nanofibriler yapıların şişme çalışmaları yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucu, hazırlanan %0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofiberlerin yara-yanık örtü materyali olarak doku rejenerasyonunda iyi bir potansiyele sahip olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: PHBV, Kurkumin, Elektrostatik Eğirme, Nanofiber, Yara-Yanık Örtü Malzemesi

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF ACTIVE AGENT LOADED NANOFIBRILLAR STRUCTURES FOR TISSUE REGENERATION

Gözde MUTLU

Master of Science, Department of

Nanotechnology and Nanomedicine

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Eylem Güven

June 2014, 110 pages

In recent years accelerating advances with utilization of nanotechnological approaches in tissue engineering come into prominence particularly in biomedical field. Nowadays nanofibrillar structures prepared by many nanotechnological fabrication methods from natural, synthetic polymers and their blends are used as tissue scaffolds, drug delivery systems and wound-burd dressing materials. One of these polymers poly(3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid) (PHBV) is a biodegradable, biocompatible, nontoxic and semicrystalline polyester without requiring complex purification processes. In addition to these properties, PHBV plays an important role in tissue enginereering applications with its characteristics such as mechanical strength and easy electro-spinnability. In this study PHBV nanofibrillar structures were fabricated from different concentrations of PHBV solutions (10%, 13% and 15% (w/v)) by electrospinning method for using as a wound-burn dressing material. In order to obtain bead-free nanofibers with smooth

morphology, some electrospinning parameters such as polymer concentration, solvent type, solution flow rate, applied voltage and working distance, etc. were optimized. 10% (w/v) PHBV concentration was determined as the optimum solution concentration to obtain the nanofibrillar structures with the most smooth and homogeneous morfologies. At the same time, curcumin (Cur), which is known with antimicrobial, anti-inflammatory, wound healing properties, etc. and isolated from the rhizoms of *Curcuma longa L.* plant, was loaded in different concentrations (0.1%, 0.3% and %0.5% (w/v)) to the PHBV. As a result, curcumin loaded PHBV nanofibrillar structures were succesfully obtained via electrospinning by using different concentrations of curcumin and PHBV. The characterization of pure PHBV and curcumin loaded PHBV nanofibrillar structures were carried out by using Scanning Electron Microscope (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-ray Diffraction (XRD) and Differential Scanning Calorimeter. The SEM analyses revealed that the fiber diameter of these nanofibrillar structures varied in the range of 50-838 nm. Mechanical testing machine was used to determine the mechanical properties of these nanofibrillar structures. Cytotoxicity evaluation was investigated using MTT test. Indirect cytotoxicity results showed that pure PHBV and curcumin loaded PHBV nanofiber extracts are not toxic to L929 mouse fibroblast cell line. The adhesion and proliferation results of L929 mouse fibroblast cells indicated that the best and effective adhesion were observed for PHBV (10% (w/v)) and curcumin (0.5% (w/v)) loaded PHBV nanofibrillar structures. The total immersion method was used in the examination of *in vitro* curcumin release characteristic from curcumin loaded PHBV nanofibrillar structures. The degradation profiles of these nanofibrillar structures, which were kept in PBS solutions containing lysozyme, were obtained based on the daily mass reductions during 14 days. In addition, swelling studies for these nanofibrillar structures were carried out in order to determine the good hydration capacity required for wound/burn dressing materials. Curcumin (0.5% (w/v)) loaded PHBV nanofibrillar structures is expected to have great potential as a wound-burn dressing material in tissue engineering.

Keywords: PHBV, Curcumin, Elektrospinning, Nanofiber, Wound-Burn Dressing Material

TEŞEKKÜR

Bu uzun süreçte tez danışmanım olarak tez konusunun bulunmasında, tez protokülünün oluşturulup devamındaki her aşamanın yönlendirilmesinde, BAB projesi ile mali destek sağlanmasında ve tezin yazılmasında sonsuz desteğini gördüğüm sayın Doç. Dr. Eylem GÜVEN' e,

Bu çalışmanın en başarılı bir şekilde ve mümkün olan en kısa sürede tamamlanabilmesi için sonsuz destek veren, bu amaçla laboratuvarının tüm imkânlarını sunan, engin bilgisi ve tecrübesiyle yapılan bir bilimsel çalışmanın önemini kavratan, oldukça yoğun ve zorlu çalışma koşullarına rağmen ihtiyaç duyduğum her an bana zaman ayıran sayın Prof. Dr. Kezban ULUBAYRAM' a,

Hoşgörüsü, güler yüzlülüğü ile bu çalışmanın ortaya çıkmasındaki her aşamada sonsuz emeği geçen, büyük bir özveriyle çalışarak zamanını ve yardımlarını asla esirgemeyen, bu süreç boyunca fazlasıyla sabır ve anlayış gösteren, bilgi ve tecrübelerine ilaveten sistematik çalışmasıyla da bana yol gösteren sevgili Arş. Gör. Semih Çalamak' a,

Tezin karakterizasyon çalışmalarında yardımcı olan ve her türlü imkanı sağlayan sayın Prof. Dr. Murat Şen' e ve Feyza Hanım' a,

Beni her gün güzel dilekleriyle uğurlayan biricik Anneannem' e; bu yaşa kadar hayatımın her anında maddi ve manevi olarak yanımda olan, kişilikleri ve düşünceleriyle bana her zaman örnek olan çok sevgili annem Nebahat ve babam Muharrem Mutlu' ya; yaşadığı her türlü sıkıntıya ve kaybettiklerine rağmen pes etmeyen, bana her zaman güvenip beni asla yalnız bırakmayan, bu hayatta sahip olduğum en güzel varlığım Özge Mutlu' ya ve eşi Özgür Gönüldaş' a; varlıklarıyla hayatımı güzelleştiren sevgili kuzenlerim Burcu, Burak ve Nevzat Olum' a

551 numaralı Hızlı Destek Projesi ile bu çalışmaya katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi' ne sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER.....	ix
ŞEKİLLER.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Deri.....	4
2.1.1. Deri Anatomisi	4
2.1.1.1. Epidermis	5
2.1.1.2. Dermis	6
2.1.1.3. Hipodermis	8
2.1.2. Deri Fizyolojisi	8
2.2. Yara.....	9
2.2.1. Yara Terminolojisi.....	9
2.2.2. Yara Çeşitleri.....	10
2.3. Yanık	11
2.3.1. Birinci Derece Yanıklar	11
2.3.2. İkinci Derece Yanıklar.....	12
2.3.3. Üçüncü Derece Yanıklar.....	12
2.3.4. Dördüncü Derece Yanıklar	12
2.4. Yara İyileşmesi	12
2.4.1. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	12
2.4.2. Yara İyileşme Türleri.....	14
2.4.2.1. Primer İyileşme.....	14
2.4.2.2. Sekonder İyileşme	14
2.4.2.3. Tersiyer İyileşme	15
2.4.3. Yara İyileşme Fazları.....	16
2.4.3.1. Homeostasi	16

2.4.3.2. İnflamasyon	16
2.4.3.3. Proliferasyon	17
2.4.3.4. Maturasyon.....	18
2.5. Yara-Yanık Örtüleri.....	18
2.5.1. Geleneksel Yara-Yanık Örtüleri.....	22
2.5.2. Yeni Jenerasyon Yara-Yanık Örtüleri	23
2.6. Nanofiberler	24
2.6.1. Nanofiberlerin Nanoteknolojideki Yeri ve Önemi	24
2.6.2. Nanofiber Üretim Teknikleri	25
2.6.2.1. Elektrostatik Eğirme Yöntemi ve Tarihiçesi	25
2.6.2.2. Diğer Üretim Teknikleri	29
2.7. Nanofiberlerin Uygulama Alanları	30
2.7.1. Nanofiberlerin Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları	30
2.7.1.1. Doku İskeleleri Olarak Nanofiberler.....	31
2.7.1.2. İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Nanofiberler	33
2.7.1.3. Yara-Yanık Örtü Malzemesi Olarak Nanofiberler	34
2.7.2. Nanofiberlerin Diğer Uygulama Alanları	37
2.8. Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) (PHBV)...	37
2.9. Kurkumin	41
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	45
3.1. Materyal.....	45
3.2. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Üretimi	46
3.2.1.PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Sentezinde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması.....	46
3.2.2.PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Elektrostatik Eğirme Yöntemi ile Sentezlenmesi	47
3.3. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Karakterizasyon Çalışmaları	47
3.3.1. Morfolojik Analiz	47
3.3.2. Mekanik Test.....	48
3.3.3. ATR-Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (ATR-FTIR)	48
3.3.4. X-Işınları Difraksiyonu (XRD)	48

3.3.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)	48
3.3.6. <i>In Vitro</i> Kurkumin Salım Çalışmaları.....	48
3.3.7. Su Tutma Kapasitesi	49
3.3.8. <i>In Vitro</i> Biyodegradasyon Çalışmaları	49
3.4.PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Hücre Kültürü Çalışmaları	50
3.4.1. <i>In Vitro</i> Sitotoksosite Testi (MTT)	50
3.4.2. Hücre Tutunması ve Proliferasyonu	51
3.4.2.1. Hücrelerin Hazırlanması	51
3.4.2.2. Nanofiber-Hücre Etkileşiminin İncelenmesi	51
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	53
4.1.PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Elektrostatik Eğirme Parametreleri.....	53
4.2.PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Karakterizasyon Çalışmaları	55
4.2.1. Morfolojik Analiz	55
4.2.2. Mekanik Test.....	61
4.2.3. ATR-Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (ATR-FTIR)	63
4.2.4. X-Işınları Difraktometresi (XRD)	66
4.2.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)	67
4.2.6. <i>In Vitro</i> Kurkumin Salım Çalışmaları.....	68
4.2.7. Su Tutma Kapasitesi	71
4.2.8. <i>In Vitro</i> Biyodegradasyon Çalışmaları	72
4.3. PHBV ve Kurkumin Yüklü Nanofibriler Yapıların Hücre Kültürü Çalışmaları .	73
4.3.1. <i>In Vitro</i> Sitotoksosite Testi (MTT)	74
4.3.2. Hücre Tutunması ve Proliferasyonu	75
KAYNAKLAR.....	79
ÖZGEÇMİŞ	91

ÇİZELGELER

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Yara yaşına göre yaralar	10
Çizelge 2.2. Oluşum mekanizmalarına göre yaralar	11
Çizelge 2.3. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler.....	13
Çizelge 2.4. Elektrostatik eğirme ve elektrostatik eğirmede kullanılan çözelti parametreleri	28
Çizelge 2.5. n değerlerine ve fonksiyonel gruplara göre bazı polihidroksialkanoatlar	38
Çizelge 2.6. Hidroksivalerat içeriğine göre PHA kopolimerlerinin fiziksel özellikleri	40
Çizelge 3.1. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların sentezinde kullanılan farklı polimer çözeltilerine ait parametreler	46
Çizelge 4.1. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların elektrostatik eğirme parametreleri	52
Çizelge 4.2. Elektrostatik eğirme yöntemi ile üretilen PHBV ve farklı konsantrasyonlarda kurkumin içeren PHBV nanofiberlerin çap analizi.....	56
Çizelge 4.3. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılara ait fiber kompozisyonu, Elastik modülüs değerleri ve kopma kuvvetleri	62

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Derinin kesiti	4
Şekil 2.2. Epidermis ve katmanları	5
Şekil 2.3. Dermis ve tabakaları	7
Şekil 2.4. Primer yara iyileşmesi.....	14
Şekil 2.5. Sekonder yara iyileşmesi.....	15
Şekil 2.6. Tersiyer yara iyileşmesi	15
Şekil 2.7. Yara iyileşme fazları	17
Şekil 2.8. Elektrostatik eğirme düzeneği.....	27
Şekil 2.9. PHA'ların genel moleküler yapısı.....	37
Şekil 2.10. Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) kopolimerinin yapısı.....	39
Şekil 2.11. Kurkuminoidlerin yapısı	42
Şekil 2.12. (A) <i>Curcuma longa L.</i> bitkisi, (B) Turmerik.....	43
Şekil 4.1. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofiberlerin SEM görüntüleri: (a) PHBV, (b) %0.1 (w/v) Cur yüklü PHBV, (c) %0.3 (w/v) Cur yüklü PHBV, (d) %0.5 (w/v) Cur yüklü PHBV nanofiber. Görüntüler 20000x magnifikasyonda alınmıştır.....	58
Şekil 4.2. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofiberlerin SEM görüntüleri: (a) PHBV, (b) %0.1 (w/v) Cur yüklü PHBV, (c)%0.3 (w/v) Cur yüklü PHBV, (d) %0.5 (w/v) Cur yüklü PHBV nanofiber. Görüntüler 40000x magnifikasyonda alınmıştır.....	59
Şekil 4.3. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofiberlere ait kesit görüntüleri: (a)PHBV (b) %0.1 (w/v) yüklü Cur (c) %0.3 (w/v) yüklü Cur (d) %0.5 (w/v) yüklü PHBV nanofiber.....	60
Şekil 4.4. PHBV ve farklı konsantrasyonlarda kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların çekme-uzama (stress-strain) eğrilerinin karşılaştırılması	62
Şekil 4.5. PHBV nanofibriler yapıların FTIR analizi.	64
Şekil 4.6. Kurkuminin FTIR analizi.....	64
Şekil 4.7. 0.5 (w/v) Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların FTIR analizi	65

Şekil 4.8. PHBV nanofibriler yapılar, kurkumine ve %0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ait FTIR analizi.....	65
Şekil 4.9. PHBV ve farklı konsantrasyonlarda (% 0.1, %0.3, %0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların XRD paternleri	66
Şekil 4.10. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ait DSC termogramları	68
Şekil 4.11. Kurkumine ait kalibrasyon grafiği.....	69
Şekil 4.12. Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılardan kurkuminin salım profili (ppm).....	70
Şekil 4.13. Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılardan kurkuminin <i>in vitro</i> salım profili.....	70
Şekil 4.14. PHBV ve farklı konsantrasyonlarda (% 0.1, % 0.3 ve %0.5 (w/v)) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların % şişme dereceleri.	72
Şekil 4.15. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların PBS-lizozim çözeltisi içerisindeki <i>in vitro</i> degradasyonu.....	73
Şekil 4.16. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin % hücre canlılığı	74
Şekil 4.17. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin SEM görüntüleri: (a) PHBV, (b) % 0.1 (w/v) Cur yüklü PHBV, (c) ve (d)%0.5 (w/v) Cur yüklü PHBV. Görüntüler farklı magnifikasyonlarda alınmıştır.....	76
Şekil 4.18. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılara ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonu. Hücreler 7 gün süreyle % 0.1, % 0.3 ve % 0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir. Proliferasyon derecesi, MTT testi ile ölçülmüştür.	76
Şekil 4.19. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılara ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonu. Hücreler 14 gün süreyle % 0.1, % 0.3 ve % 0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir. Proliferasyon derecesi, MTT testi ile ölçülmüştür.	77

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

T_m	Erime noktası
T_g	Camsı geçiş sıcaklığı
pH	Çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini gösteren ölçü birimi
μM	Mikromolar
L	Litre
W_d	PBS çözeltisine daldırma öncesi nanofibriler yapıların ağırlığı
W_i	PBS çözeltisine daldırma sonrası nanofibriler yapıların ağırlığı
WL	Kütle kaybı
W_f	Nanofibriler yapıların degradasyon sonrası kuru ağırlığı
W_w	Nanofiber yapıların başlangıç kuru ağırlığı
w	Ağırlık
v	Hacim
nm	Nanometre
E_{mod}	Elastik modülü
F_{break}	Kopma kuvveti
n	Tekrar sayısı
θ	Teta açısı
X	Nanofibriler yapıların kristalinite derecesi
ΔH_m	DSC termogramlarından hesaplanan erime entalpisi
ΔH_m°	Tam kristalin polimerin erime entalpisi

Kısaltmalar

ECM	Ekstraselüler matriks
PHBV	Poli (3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat)
Cur	Kurkumin
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
FTIR	Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
XRD	X-Işınları Difraksiyonu
MTT	Thiazolyl blue tetrazolium bromide
ES	Elektrostatik Eğirme
PV-ES	Pozitif Voltaj Elektrostatik Eğirme
NV-ES	Pseudo-negatif Voltaj Elektrostatik Eğirme
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
STM	Taramalı Tünelleme Mikroskobu
PLLA	Poli (L-laktik asit)
PLGA	Poli(laktik-co-glikolik asit)
HFIP	Hekzafloroizopropanol
CipHCl	Ciprofloksacin HCl
PVA	Polivinil alkol
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
ZnO	Çinko oksit
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
H ₂ O	Su
CO ₂	Karbondioksit
O ₂	Oksijen
PVP	Polivinil prolidon
PEC	Poli(ε-kaprolakton)

CMC	Karboksimetil kitosan
PU	Poliüretan
PHA	Polihidroksialkanoat
P(3HB)	Poli (3-hidroksibütirat)
P(3HV)	Poli (3-hidroksivalerat)
MPa	Megapascal
GPa	Gigapascal
DMF	<i>N,N</i> - Dimetilformamid
PBS	Fosfat tampon tuzu
FBS	Fetal siğır serumu
ASTM	Amerika Test ve Materyal Kuruluğu
TCPS	Doku Kültür-Polistiren
HMDS	Hekzametildisilokzan

1. GİRİŞ

Vücudumuzun en büyük organı olarak bilinen deri, organizmanın canlılığını sürdürebilmesi için gerekli birçok fonksiyonu yerine getirmektedir. Çeşitli içsel ve dışsal faktörler ile bu faktörlerin kombinasyonları sonucu deri bütünlüğünde meydana gelen bozulma sonucu farklı tipte yaralar oluşmaktadır. Oluşan bu yaraları mümkün olan en kısa sürede ve en etkin şekilde kapatma eğiliminde olan organizma, yara iyileşmesi adı verilen dinamik ve kompleks bir süreci başlatır. Hemostasis, inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon evrelerinden oluşan bu iyileşme sürecinde çeşitli biyokimyasal ve sitolojik prosesler aracılığıyla, devitalize ve yitirilmiş hücresel yapılar ile doku tabakaları yeniden oluşturulmaktadır [1]. Bu süreçte, zaman zaman organizmanın tek başına yetersiz kaldığı durumlarda yara iyileşmesi ve tedavisi için farklı özelliklere sahip pek çok materyal kullanılmış, ancak istenilen sonuca tam olarak ulaşılamamıştır. Geçmiş yüzyıllarda yara ve yanık tedavisinde karşılaşılan güçlükler, son yıllarda doku mühendisliği ve nanoteknolojinin de içerisinde yer aldığı çeşitli bilim dallarının katkılarıyla büyük oranda azaltılmaktadır [2,3]. Özellikle yara iyileşme patofizyolojisinin aydınlatılması, sıra dışı özelliklere sahip yeni nesil biyo- ve sentetik polimerlerin keşfi ve bu polimerlerin nanoteknolojik üretim yöntemleriyle istenilen şekilde fabrikasyonu ile yara tedavisinde önemli gelişmeler kaydedilmiştir [2, 3].

Doku rejenerasyonu, çeşitli içsel ve dışsal faktörlerin yol açtığı doku kaybı sonrası, dokunun yeniden oluşturulabilmesi amacıyla aynı türde ve miktarda hücrelerin bir araya gelmesi olarak ifade edilmektedir. Günümüzde birçok bilim dalının ortak çalışmaları sonucu multidisipliner bir dal olarak karşımıza çıkan doku mühendisliği, fonksiyonlarını yitiren doku ve organların doğal koşullarda sahip olduğu nanoölçekli yapısını laboratuvar koşullarında hücreler ve kolajenöz bir iskele yardımıyla taklit ederek doku rejenerasyonuna olanak sağlamaktadır [4, 5, 6].

Nanoteknolojinin önemli bir branşı olarak ortaya çıkan nanofiberler, diğer bir ifadeyle nanofibrler; çeşitli üretim yöntemleriyle elde edilen, yüksek yüzey alanı/hacim oranı, fleksibilite, yüksek gözeneklilik de dâhil olmak üzere birçok eşsiz fonksiyonlara sahip, nanoölçekli iplikli yapılardır [7]. Bu özelliklerine ek olarak, nanofiberlerin gösterdikleri üstün mekanik performans, küçük gözenek boyutları ile doğal ekstraselüler matrikse benzemeleri, doku mühendisliği başta olmak üzere pek çok alanda nanofiberlere olan ilgiyi önemli ölçüde artırmaktadır.

Nanofiber üretim yöntemlerinden biri olarak bilinen elektrostatik eğirme ile polimerlerden nanoölçekli ve gözenekli fiberler tek basamakta sentezlenebilmektedir [7].

Nanoteknolojinin, doku mühendisliğine kazandırdığı en önemli avantajlardan biri, doku jenerasyonuna hizmet etmek üzere istenilen materyalden, arzu edilen şekilde ve boyutta tasarlanabilen multifonksiyonel nanofibröz iskelelerdir [5, 6]. Tasarlanan bu yapılar ekstraselüler matriksin (ECM) hücrelere sağladığı fiziksel destek, hücre-hücre interaksiyonlarının organizasyonu, hücre yapışması, çoğalması, göçü, farklılaşması, fiziksel, kimyasal ve mekanik değişikliklere cevap verebilme vb. özellikleri taşımakla birlikte; bu yapılarda nanofiberlerin sahip olduğu yüksek yüzey/hacim oranı, yüksek gözeneklilik, küçük gözenek boyutları vb. özellikler korunmaktadır [2,3]. Sonuç olarak doku bütünlüğü ile vaskülarizasyonuna izin verilen yapılar sentezlenebilmektedir. Özellikle son yıllarda, nanofibröz iskeleler genellikle biyobozunur doğal ve sentetik polimerler ile bunların blendlerinden üretilmektedir [8].

Poli(3-hidroksivalerat-co-3-hidroksivalerat); biyobozunur, biyoyumlu, kompleks saflaştırma prosesleri gerektirmeyen, toksik olmayan ve yarı kristalin özellik gösteren bir polihidroksialkanoattır [9]. Bu özelliklerinin yanı sıra mekanik dayanıklılığı ve kolaylıkla elektrostatik eğrilebilirliği sayesinde doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmaktadır. Yeni nesil yara-yanık örtü materyallerinde hücre tutunmasını, hücre proliferasyonunu ve hücre çoğalmasını destekleyen özellikleriyle bilinen ve *Curcuma longa L.* bitkisinden izole edilen turmeriğin aktif bir bileşeni olan kurkumin, antienflamatuar, antioksidan, antimikrobiyal özellikleri ile yara iyileştirme çalışmalarında etken madde olarak oldukça önemli bir yere sahiptir [10].

Bu çalışmada, yara-yanık örtü malzemesi olarak kullanılmak üzere elektrostatik eğirme yöntemi ile kurkumin (Cur) yüklü PHBV nanofibriler yapılar sentezlenmiştir. Nanofiber yapıların detaylı analizleri SEM, FTIR, XRD, DSC ve mekanik test ölçümleri yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Kurkuminin nanofibriler yapılardan *in vitro* salım profillerini incelemek amacıyla spektrofotometrik yöntemden yararlanılmıştır. Ayrıca kurkumin yüklü PHBV nanofiberlerin *in vitro* biyodegradasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu nanofiberlerin L929 fare fibroblast hücrelerine karşı sitotoksitesi MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Hücre yapışması ve proliferasyonu

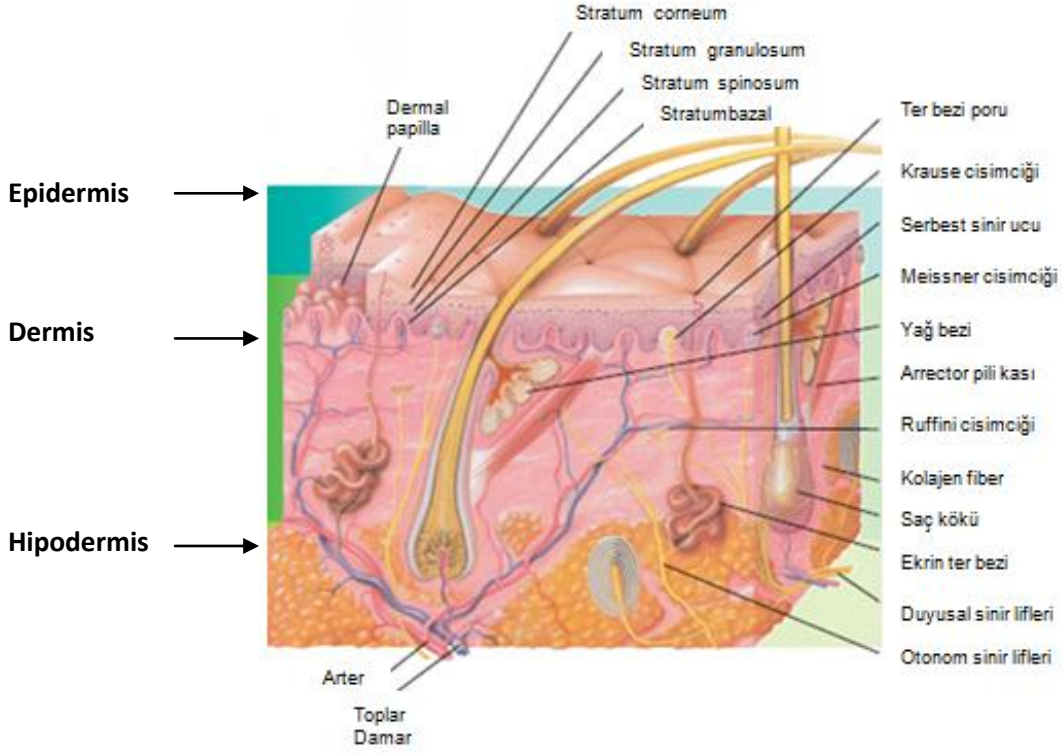
tain edilmiş ve su tutma kapasitesi incelenmiştir. Hazırlanan kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların, doku mühendisliğinde yeni nesil yara-yanık örtü materyali olarak önemli bir potansiyele sahip olması beklenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri

2.1.1. Deri Anatomisi

Omurgalıların vücutlarını kaplayan en dış katman olan deri, diğer bir ifadeyle integümental sistem, memelilerde hem ağırlık hem de hacim açısından vücuttaki en büyük organ olarak bilinir. Multifonksiyonel bir organ olarak görev yapan ve 20 dördül ayaktan daha geniş bir yüzey alanına sahip olan bu sistem, yetişkin bir insanın vücut ağırlığının yaklaşık olarak %16'sına karşılık gelir [1].



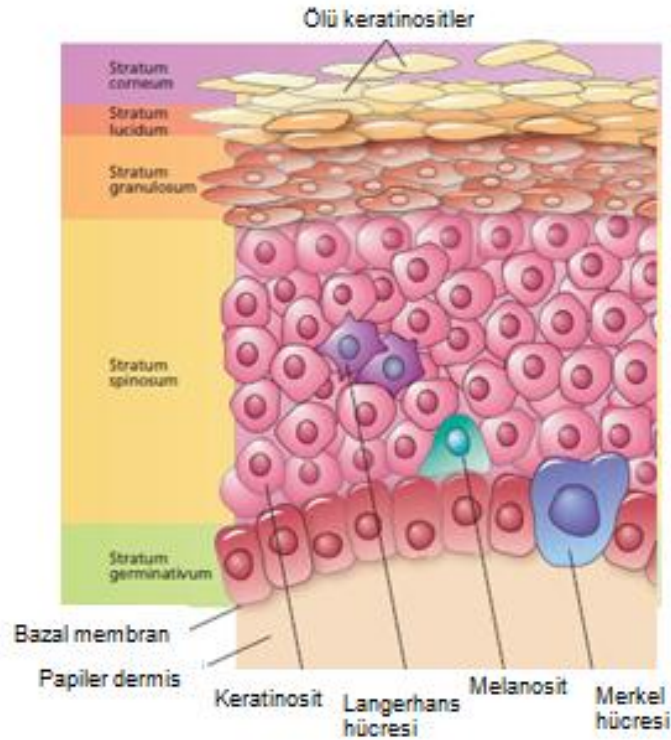
Şekil 2.1. Derinin kesiti

Deri, histolojik açıdan üç kısımdan oluşur. Bu kısımlar vücudun en dış katmanından iç katmanına doğru sırasıyla; epidermis, dermis ve hipodermis (derialtı doku) adlandırılır. (Şekil 2.1).

2.1.1.1. Epidermis

Vücutun en dış katmanı olarak bilinen, 5 ayrı alt katmandan oluşan ve vücudu tamamen örten bir tabaka olan epidermis, keratinleşen çok katlı yassı epitel doku olarak da ifade edilir. Derinin bu katmanı, embriyolojik açıdan ektoderm kökenli olup, yapısında 4 farklı hücre tipi içerir [11]. Bu hücreler, keratinositler, melanositler, langerhans hücreleri ve merkel hücreleridir. 5 farklı alt tabakadan oluşan bu katmanın, temel epitelium hücresi keratinositlerdir [12, 13].

Epiderminin katmanları en dıştan en içe doğru sırasıyla; stratum corneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum ve stratum germinativum olarak isimlendirilir [12, 13].



Şekil 2.2. Epidermis ve katmanları

Stratum corneum, epiderminin en dış katmanıdır ve boynuzsu tabaka olarak adlandırılır [13]. Dış dünya ile temas halinde bulunan bu tabaka, epiderminin en kalın tabakası olup; çekirdeksiz (nükleusa sahip olmayan) ve yassı korneositlerden (canlılığını kaybetmiş hücrelerden) meydana gelir [13, 14]. Sürtünme, çarpma, yaşlanma vb. fiziksel ve mekanik etkenlerle sürekli dökülme özelliği gösteren bu

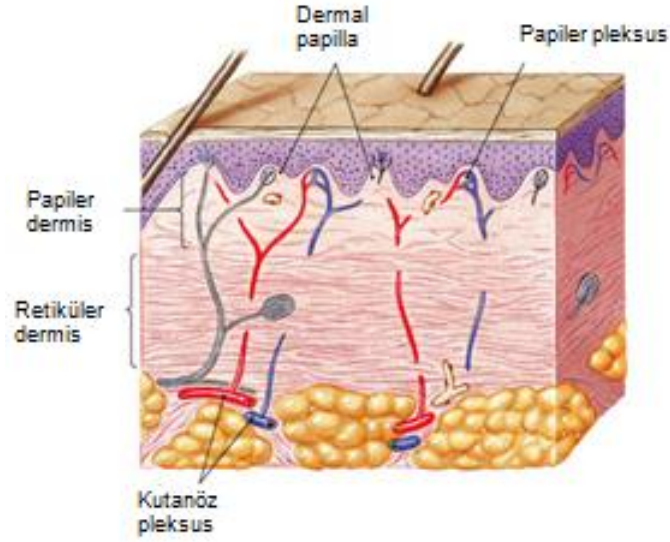
tabaka, korneositlerin yaklaşık 15-20 katman oluşturacak şekilde üst üste dizilmesiyle oluşur [12, 13, 14].

Stratum corneumun altında yer alan stratum lucidum, el ayası ve ayak tabanı gibi derinin kalınlığının arttığı bölgelerde ışık mikroskopuyla kolaylıkla görülürken; göz kapağı gibi derinin çok ince olduğu bölgelerde neredeyse yok denilebilecek kadar açıktır. Sitoplazmalarında eleidin proteini bulunan ve saydamsı görüntüye sahip bu tabakanın hücreleri, iğ şeklinde yassılaştırmış eozinofilik hücrelerdir [12, 13]. Stratum granulosum, keratinleşmenin ilk görüldüğü tabaka olup; 1-5 sıra halinde dizilmiş yassı hücrelerden oluşur. Bu hücreler çekirdeklerini kaybetmiş olmakla birlikte sitoplazmalarında keratohyalin granülleri içerir ve keratin oluşumuna katkı sağlar. Stratum granulosum ile stratum germinativum arasında bulunan stratum spinosum, 5 ile 10 sıra halinde dizilmiş poligonal hücre topluluğundan oluşur. Komşu hücreler birbirlerine desmozom adı verilen sitoplazmik dikensi çıkıntılarla bağlanırlar [12, 14]. Bu tabakanın en önemli iki hücre tipi, keratinositler ve langerhans hücreleridir. Ayrıca yine bu tabakada odland cisimciği ve filagrin içeren keratohyalin granüllerine de rastlanır. Malpighi tabakası olarak da bilinen bu tabakada, keratinizasyonun bir aşaması olan tonofilament sentezi yapılır. Bu tabakanın en önemli görevleri arasında immunolojik defans, derideki nem kaybını önlemede görevli lipidlerin üretimi ve korunması yer alır [1, 12]. Epidermin en alt tabakası olan stratum germinativum (stratum bazal) doğurucu tabaka olarak da bilinir. Genellikle tek sıra halinde dizilmiş silindirik hücrelerden meydana gelir. Bu tabakada epidermin stem hücreleri kabul edilen keratinositler, melanositler ve merkel hücreleri bulunur [12]. Ayrıca langerhans hücrelerine de rastlanabilir. Keratinositler, yalnızca bu tabakada mitoz bölünmeye uğrayarak, yeni hücreler oluşturma yeteneğine sahiptir. Oluşan bu hücreler, derinin her bir tabakasına göç esnasında farklılaşma gösterir. Yine bu tabakada yer alan melanositler, deri renginden sorumlu melanin pigmentinin sentezinde; merkel hücreleri (oval reseptör hücreleri) ise nöroendokrin ve duyuşal fonksiyonlarda görev alırlar [1, 14].

2.1.1.2. Dermis

Epidermis ile hipodermis arasında bulunan, deriye sağlamlık ve elastikiyet kazandıran tabakadır. Aynı zamanda derinin besin ihtiyacının karşılanması ve atıkların uzaklaştırılmasında da görevlidir. Farklı tipte hücreler içeren bu tabakada,

kan ve lenf damarları, duyu ve motor sinirleri ile yağ bezleri, ter bezleri, kıl folikülleri vb. pek çok deri eki bulunur. Dermis embriyolojik açıdan mezoderm kökenli olup, papiler ve retiküler dermis olmak üzere iki alt katmandan oluşur [11-15].



Şekil 2.3. Dermis ve tabakaları

Gevşek bağ dokudan oluşan papiler dermis, çok sayıda kapiller uzantı ve deri yüzeyine dik olan elastik fibriller içerir [12]. Fibroblast ve makrofaj gibi bağ doku hücreleri açısından zengindir. Aynı zamanda epidermisi dermise bağlayan kollajen yapıları fibriller de bu tabakada yer alır. Papiller tabaka, dermal papilla adı verilen parmak benzeri uzantılarla epidermise uzanır [12]. Çok sayıda sinir lifleri ve kan damarı içeren dermal papilla ise epidermisenin beslenmesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca acı, sıcaklık, dokunma vb. duyu organlarının algılanmasında da önemli görevler üstlenir [1, 12]. Papiler tabakanın altında yer alan retiküler dermis, düzensiz fakat yoğun bağ dokudan oluşur [1, 12]. Papiler tabakanın aksine; bu tabakada yer alan kollajen demetleri ile elastik fibriller daha kalındır ve genellikle deri yüzeyine paralel olarak uzanır. Bu fibriller, deriye dayanıklılık ve elastikiyet kazandırır. Deri hücrelerine destek olan kan damarları ile basınç, ağrı, acı vb. hisleri algılayan sinir uçları bakımından da oldukça zengin bir tabakadır. Ayrıca kıl folikülleri, ter bezleri ve yağ bezleri bu tabakada yer alır [1, 11, 12, 13].

Dermiste bulunan hücreler üç grupta ele alınır. Bunlar; fibroblast, histiosit ve mast hücrelerini içeren retikülohistiyositik, polimorfonükleer lökositler ve eozinofiller

içeren myeloid ile lenfosit içeren lenfoid gruplarıdır [12]. Fibroblastlar, bağ dokunun en yaygın hücre tipidir. Ekstraselüler matriksin (ECM) yapısında bulunan temel madde (ground substance) ile derinin kuru ağırlığının yaklaşık %70'ini oluşturan kollajen ve elastin sentezinden sorumlu olan bu hücreler yara iyileşmesinde kritik rol oynar. Fibroblastlar tarafından salgılanan ground substance, jelatinöz bir madde olup; hyaluronik asit, kondroitin sülfat, heparan sülfat, dermatan sülfat ve diğer mukopolisakkaritlerden meydana gelir. Çok yüksek su tutma kapasitesine sahip olan bu yapı içerisinde, kollajen, elastik, retiküler fibriller ile dermisen diğer hücresel elemanları dağılmış halde bulunur [1, 11, 12]. Dermiste bulunan diğer bir hücre tipi, makrofaj sınıfına dâhil olan ve fagositik aktivite gösteren histiyositlerdir [12]. Bu hücreler, zamanla epiteloid hücrelerine dönüşme eğilimi gösterir. Yine bu tabakada bulunan mast hücreleri, özellikle heparin ve histamin açısından zengin bazofilik granüller içerir. Aynı zamanda bu hücreler, bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde, organizmanın patojenlere karşı savunmasında ve yara iyileşmesinde rol oynayan pek çok sitokinin de kaynağı olarak bilinir [1,12].

2.1.1.3. Hipodermis

Hipodermis, adipoz doku (yağ doku) ile bağ dokusundan meydana gelen derinin en iç tabakasıdır. Hipodermisin kalınlığı vücutta bulunduğu bölgeye göre farklılık gösterir. Bu tabaka temel kan damarları, lenf damarları ve sinirler içerir [12]. Enerji rezervinde, iskelet sistemine karşı meydana gelen şokların absorbe edilmesinde ve derinin derialtı dokular üzerinde kolaylıkla hareket etmesinde rol oynar [1, 15]. Isı yalıtımı sayesinde organizmayı korur. Zamanla adiposit lobülleri arasındaki bağlantıların zamanla yok olmasıyla, vücutta sarkmalar oluşur ve cilt yoğunluğu kaybolur [12, 15].

2.1.2. Deri Fizyolojisi

Deri, organizmanın canlılığını sürdürebilmesi için pek çok hayati fonksiyona sahip (ya da bu fonksiyonların yerine getirilmesine yardımcı) vücuttaki en önemli organlardan biridir. Ancak çeşitli faktörlerin etkisiyle deri bütünlüğünün bozulması, bu fonksiyonların yerine getirilmesini büyük oranda (geçici ya da kalıcı olarak) etkiler. Derinin vücuttaki bütün işlevleri henüz tam olarak aydınlatılamamakla beraber, bu işlevler 6 grupta toplanabilir [1, 12]:

a) Koruma: Vücuttaki su, elektrolit, protein ve diğer maddelerin kaybını önler. Mikroorganizmalar ve kimyasal maddeler başta olmak üzere vücuda yabancı olan

pek çok maddeye ve çevresel etmenlere (ısı, ışık vb.) karşı fiziksel bariyer görevi üstlenerek, vücudu enfeksiyonlara karşı korur. Aynı zamanda deri altı dokusu ile organizmanın diğer yapılarının mekanik yaralanmalara karşı korunmasında görevli alır [1].

b) Duyusal Algı: Dokunma duyusu organı olan deri, içerdiği sinir uçları yardımıyla ağrı, acı, basınç, sıcak, soğuk vb. algılama sistemiyle vücudu potansiyel tehlikelere karşı uyarır [1, 12].

c) Termoregülasyon: İçsel vücut sıcaklığını çevresel koşullara göre düzenler. Vücut sıcaklığını; dermiste bulunan sinirler, kan damarları ve erkin bezleri yardımıyla ayarlar. Organizma soğuğa maruz kaldığında kan damarlarını daraltarak ısıyı muhafaza ederken, sıcaklık artışında derideki küçük arterleri genişleterek terleme yardımıyla vücut ısısını ayarlar [1, 12].

d) Boşaltım: Elektrolit ve hidrasyon dengelerini ayarlamak, iz miktarlarda da olsa fazla suyun ve diğer vücut atıklarının vücut dışına atılmasını sağlar. Aynı zamanda dehidrasyonu önleyerek aşırı su kaybına engel olur. Termoregülasyonun sürdürülebilmesine de katkı sağlar [1, 12].

e) Metabolizma: Kemik ve dişlerin mineralizasyonunda ve vitamin D sentezinde görev alır [1, 12].

f) Absorpsiyon: Bazı ilaçların ve kimyasalların doğrudan veya dolaylı olarak kan dolaşımına absorpsiyonuna olanak sağlar [1, 12].

2.2. Yara

2.2.1. Yara Terminolojisi

Yara; mekanik, termal, elektriksel, kimyasal, biyolojik, tıbbi ve fizyolojik rahatsızlıklar sonucu deri ve doku bütünlüğünün kaybolmasıdır [8, 9]. Diğer bir ifadeyle, farklı özellik gösteren ve farklı derecelere sahip iç ve/veya dış kuvvetlerin etkisiyle deri bütünlüğünde meydana gelen bozulma olarak da tanımlanabilir [1]. Uygulanan bu kuvvetlerin meydana getirdiği enerjinin miktarı, vücutta oluşan hasarın türünü ve derecesini belirlemektedir [1]. Hasarın türü ve kapsamı ile sirkülasyon, beslenme, hidrasyon vb. içsel faktörler, hastalarda yaranın iyileşme derecesine etki etmektedir. Yaralar boyut, şekil, renk, tedavi yöntemi, oluşum mekanizması vb. pek çok açıdan farklılık gösterir [1, 16, 17].

2.2.2. Yara Çeşitleri

Yaralar; deri bütünlüğüne, fizyolojik durumlarına ve oluşum mekanizmalarına göre sınıflandırılır [3, 18, 19]. Deri bütünlüğüne göre yaralar, açık ve kapalı olarak iki gruba ayrılır. Açık yaralarda deri bütünlüğünün bozulması sonucu üst deri tabakasında doku kaybı meydana gelir [18, 19]. Kapalı yaralarda ise hasar deri altı dokularda oluşur [18]. Yanıklar, kesik ve ezik yaraları, batıcı yaralar, ısırık ve sokmalar açık yaralara; kontüzyon, sıyrık, hematom ve burkulmalar ise kapalı yaralara örnek verilebilir [19, 20, 21]. Fizyolojik durumlarına göre yaralar; yaranın yaşına, derinliğine, rengine ve kirlilik durumlarına göre 4 grupta kategorize edilir [1, 18]. Yaralar, yaşına (oluş zamanı) göre akut ve kronik olmak üzere iki alt grupta incelenmektedir [1]. Akut yaralar, bir travma veya cerrahi işlem sonrası meydana gelen ve genelde herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmaksızın normal süreç içerisinde iyileşen yaralardır. Kronik yaralar ise, belli bir zaman dilimi içerisinde iyileşmeyen ve genellikle tekrar eden yaralardır [22, 23].

Çizelge 2.1. Yara yaşına göre yaralar [1].

Akut Yaralar	Kronik Yaralar
Aniden meydana gelir.	Aniden meydana gelmez.
Yara, yeni ya da nispeten yenidir.	Zaman içerisinde tekrarlanır.
Normal iyileşme süreci söz konusudur.	İyileşme yavaşlamış ya da durmuştur.
Tipik olarak primer iyileşme gözlenir.	Sekonder iyileşme gözlenir.
Örnek: Cerrahi ve travmatik yaralar	Örnek: Vasküler ve diyabetik ülserler

Yaralar, sembolik renk kodları altında beş grupta toplanır. Genellikle nekrotik yaralar siyah, kabuklu yaralar sarı, granüle yaralar kırmızı, epitelleşen yaralar pembe ve iltihaplı yaralar yeşil renkle ifade edilir [3]. Kirlilik durumları göz önüne alındığında yaralar; temiz, temiz-kontamine, kontamine ve kirli yaralar olmak üzere 4 grupta incelenir [19]. Oluşum mekanizmalarına göre yaralar; mekanik travma ile oluşanlar, fiziksel travma ile oluşanlar, kimyasal madde ile oluşanlar ve biyolojik kökenli yaralar dört farklı gruba ayrılır [20].

Çizelge 2.2. Oluşum mekanizmalarına göre yaralar [20, 21].

Mekanik Travma ile Oluşan Yaralar	<ul style="list-style-type: none">• Künt travmatik yaralar Abrazyon/Sıyrık, Bere/Kontüzyon, Lazerasyon/Yırtık, Kemik kırıkları• Kesici alet yaraları• Kesici-delici alet yaraları• Kesici-ezici alet yaraları• Delici alet yaraları• Ateşli silah yaraları
Fiziksel Travma ile Oluşan Yaralar	<ul style="list-style-type: none">• Termal kaynaklı yaralar• Işın kaynaklı yaralar• Elektrik akımı ile oluşan yaralar• Barotravma yaraları
Kimyasal Travma ile Oluşan Yaralar	<ul style="list-style-type: none">• Asit ve baz yaraları• Diğer kimyasal madde kaynaklı yaralar
Biyolojik Kökenli Yaralar	<ul style="list-style-type: none">• Yılan, krep, böcek vb. sokmaları• Hayvan ısırıkları

2.3. Yanık

Yanık; ısı, ışık, kimyasal maddeler, radyasyon etkisi vb. faktörler ile vücut dokularında oluşan hasarlar olarak tanımlanır [15]. Yanıklar derinliklerine, kapladıkları alanın genişliğine ve yanığa neden etmenlere göre farklı şekillerde sınıflandırılır. Ancak günümüzde en yaygın olarak kullanılan sınıflandırma, yanığın deri katmanlarındaki hasar dikkate alınarak yapılan derinlik sınıflandırmasıdır. Derinliklerine göre yanıklar; birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü derece yanıklar olarak 4 ayrı grupta incelenir [15].

2.3.1. Birinci derece yanıklar

Hiperemi şeklinde kendini gösteren bu yanık türünde hasar, hafif ve yüzeyseldir. Mevcut hasarın epidermisle sınırlı olduğu bu yanık türünde, derinin bariyer fonksiyonlarını yerine getirmede bir miktar kayıp vardır. Ancak bu yanıklar, 5-10 gün içerisinde epidermisin yeniden oluşumuyla genellikle kendiliğinden iyileşir ve

yara izi bırakmaz. Tedavi yöntemi olarak soğuk uygulama, topikal koruyucu, ilaç kullanımı vb. söz konusu olabilir [24].

2.3.2. İkinci derece yanıklar

İkinci derece yanıklarda, hasar derinin en üst tabakası olan epidermis ile dermisin bir kısmında görülür. Bu hasar, bazen dermisin yalnızca yüzeysel kısmıyla sınırlıyken, bazen de retiküler dermise kadar inebilir. Bu yanıklarda belirtiler farklı olmakla birlikte; genellikle yanık bölgesinde kızarıklık, kabarcık oluşumu ve renk değişimi (kırmızı, zaman zaman beyaz renk) gözlenir. Aynı zamanda şişlikler ve ağrı da görülür. Alt katmanlar genellikle bu hasardan etkilenmez. Bu yanıklarda iyileşmeler, kıl folikülü ve ter bezlerindeki keratinositlerin re-epitelizasyonu ile gerçekleşir. İyileşme süreci genellikle 10-35 gün arasında değişiklik göstermekle birlikte, cerrahi müdahale gerektirebilir [24].

2.3.3. Üçüncü derece yanıklar

Derinin tüm tabakalarının canlılığını yitirdiği yanıklardır. Yanık bölgesinde renk değişimi gözlenmekle birlikte, ağrı mevcut değildir. Deri oldukça serttir ve elastikiyetini yitirmiştir. Bu yanıklarda stratum germinativum, kıl folikülü ve ter bezlerindeki keratinositler canlılığını kaybettiğinden re-epitelizasyon genellikle mümkün olmaz. Yara izi oluşumu kaçınılmazdır ve cerrahi müdahale gerektirir [25].

2.3.4. Dördüncü derece yanıklar

Derinin tüm tabakaları ile fasya, kas ve kemik gibi deri altı dokularını da kapsayan ve hayati risk taşıyan yanıklardır. Karakteristik olarak deride renk değişimiyle (genellikle kahverengi ya da siyah) birlikte kuruluk, sertleşme ve his kaybı görülür. Tedavi yöntemi olarak öncelikle canlılığını yitirmiş tüm dokular debride edilir. Ardından doku rekonstrüksiyonu gerçekleştirilir [25].

2.4. Yara İyileşmesi

2.4.1. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Yara iyileşme süreci dinamik ve kompleks bir proses olup, her yara için farklılık gösterir. Bazen bu süreç çeşitli faktörlerin etkisiyle uzayabilir ve yaraların tedavisi gecikebilir [26]. Bazı durumlarda ise; yara iyileşmesi hiç gözlenmeyebilir. Yara iyileşmesine etki eden bu faktörler, ana hatlarıyla sistemik ve lokal faktörler olmak üzere ikiye ayrılır [19, 27]. Çizelge 2.3'te yara iyileşmesini etkileyen faktörler ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 2.3. Yara iyileşmesini etkileyen faktörler [19, 27].

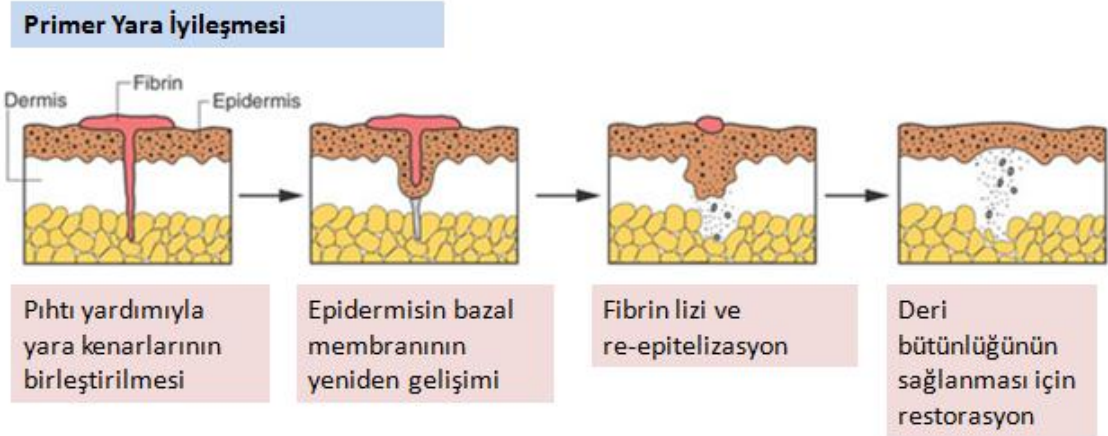
Yara İyileşmesini Etkileyen Sistemik Faktörler	Yara İyileşmesini Etkileyen Lokal Faktörler
<ul style="list-style-type: none"> Metabolik Faktörler <p>Vitamin, mineral, enzim vb. yetersizliği ya da fazlalığı</p>	<ul style="list-style-type: none"> Yetersiz Kanlanma <p>Yetersiz kan akımı sonrası enfeksiyon ya da nekroz</p>
<ul style="list-style-type: none"> Beslenme <p>Yetersiz, dengesiz ya da aşırı beslenme</p>	<ul style="list-style-type: none"> Hasarlı Doku Türü <p>Doku türüne bağlı olarak erken ve geç iyileşme</p>
<ul style="list-style-type: none"> İlaçlar <p>Kortizon, kemoterapötik, antimetabolit vb. ilaçlar</p>	<ul style="list-style-type: none"> Travma <p>Yara üzerinde meydana gelen travma sonucu geç iyileşme</p>
<ul style="list-style-type: none"> Enfeksiyon <p>Bakteriyel, viral enfeksiyonlar, parazitler, mantarlar vb.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Çevresel Faktörler <p>Isı artışı-azalması, radyasyon vb. etmenler</p>
<ul style="list-style-type: none"> Hormonal Denge <p>Kortizon, insülin vb. salgılar</p>	<ul style="list-style-type: none"> Yabancı Cisim <p>Gereksiz dikişler, çelik, cam, kemik parçaları vb.</p>
<ul style="list-style-type: none"> Kronik Hastalıklar <p>Diyabet, karaciğer yetmezliği vb. hastalıklar</p>	<ul style="list-style-type: none"> Aşırı Granülasyon Dokusu Oluşumu <p>Artan granülasyon dokusuyla birlikte yeniden epitelizasyonun engellenmesi</p>
<ul style="list-style-type: none"> Yaş, Cins, Irk, Vücut Tipi <p>Yaşın ilerlemesiyle birlikte yara iyileşmesinde gecikme</p>	<ul style="list-style-type: none"> Keloid Oluşumu <p>Aşırı kollagen birikmesi sonucu oluşan tümöral yaralar</p>
<ul style="list-style-type: none"> Diğer Faktörler <p>Uygun olmayan yara örtüleri ve sargılar, dolaşım bozuklukları vb.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Diğer Faktörler <p>Uygun olmayan cerrahi teknikler, vasküler bozukluklar, doku iskemisi vb.</p>

2.4.2. Yara İyileşme Türleri

Yaralar, genel olarak primer iyileşme, sekonder iyileşme ve tersiyer iyileşme ile üç şekilde iyileşebilir veya kapanabilir.

2.4.2.1. Primer İyileşme

Primer iyileşme (birincil iyileşme); birinci derece güneş yanıkları, cerrahi yaralar, yüzeysel travmatik yaralar gibi genellikle doku kaybına rastlanmayan yaralarda görülen hızlı kapanmadır. Bu iyileşmelerde granülasyon dokusu (yara formasyonu) oluşumu minimal düzeyde olup, genellikle enfeksiyonlara rastlanmaz. Bu iyileşme türünde öncelikle, birbirine uzak olmayan yara kenarlarında ve yara yüzeyinde pıhtılaştıran kanla birlikte bir kabuk oluşumu gözlenir. Polimorflar ve makrofajların yardımıyla ölü doku ve diğer yapılar ortamdaki uzaklaştırılırken, ilk iki gün boyunca kabuğun altında yoğun olarak epitelizasyon gerçekleşir. Genellikle 3.-5.günler arasında kapiller tomurcuklanma ve fibroblastlar görülür. Birinci haftanın sonunda fibroblastların sentezlediği kollajen yardımıyla yara kenarları birbirine tutunmaya başlar. Enfeksiyon riskinin az olması ve doku kaybının olmaması sayesinde bu yaralar genellikle birkaç hafta içerisinde iyileşir [1, 3, 27, 28].

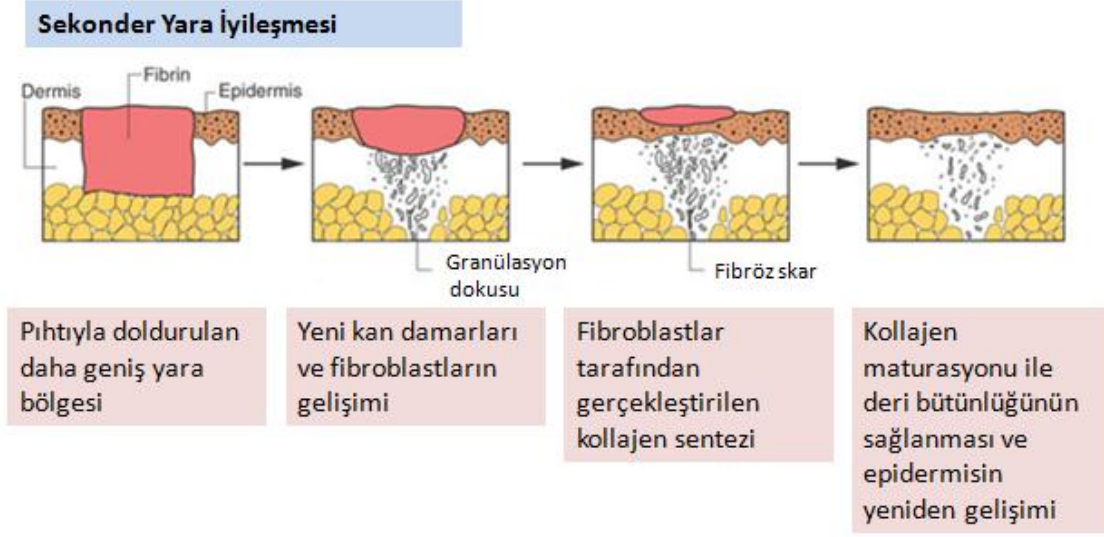


Şekil 2.4. Primer yara iyileşmesi

2.4.2.2. Sekonder İyileşme

İltihabi ülserasyon, infarktüs, yanık, apse oluşumu, derin cerrahi yaralar ile travmatik yaralanmalar çok sayıda hücre ve doku kaybına neden olur. Çeşitli nedenlerle oluşan bu yaraların iyileşmesi, enfeksiyon ve komplikasyonlara açık olmalarının da etkisiyle primer iyileşmeye göre daha komplike ve daha uzun süreli bir onarım gerektirir. Onarımı sağlamak için parankima hücrelerinin rejenerasyonu

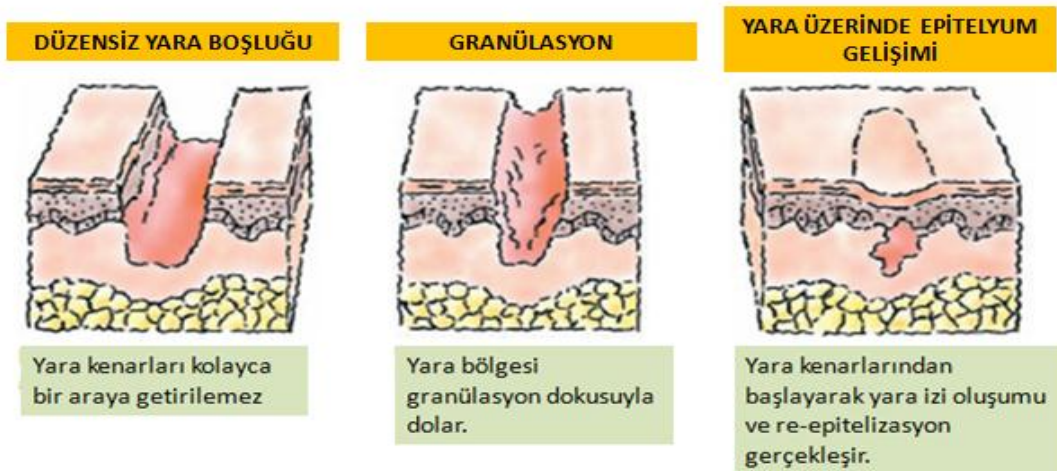
yeterli olmadığından; yara, yara kenarlarından başlayarak ilerleyen granülasyon dokusu ile doldurulur. Bu tip iyileşmeler sekonder iyileşme adını alır [1, 3, 27, 28].



Şekil 2.5. Sekonder yara iyileşmesi

2.4.2.3. Tersiyer İyileşme

Genellikle cerrahi işlem sonrası oluşan ödem, enfeksiyon gibi durumların giderilebilmesi için yara bir süreliğine açık olarak bırakılır. Sekonder iyileşmeye bırakılan yara için yukarıda ifade edilen riskler ortadan kalktığı zaman yara ya suture edilerek ya da çeşitli yara kapama yöntemleriyle kapatılır. Bu tür iyileşmeler tersiyer iyileşme veya gecikmiş primer iyileşme adını almaktadır [1, 3, 27, 28].



Şekil 2.6. Tersiyer yara iyileşmesi

2.4.3. Yara İyileşme Fazları

Organizmanın doğal tepkisi, vücutta oluşan yaraları mümkün olan en kısa sürede kapatmak ve yapı bütünlüğünün devamlılığını sağlamaktır. Bu süreç yara iyileşmesi olarak adlandırılır. Deriyi veya mukozayı oluşturan yapıların bütünlüğü çeşitli etmenlerle (fiziksel, kimyasal, mekanik travmalar vb.) bozulduğunda, diğer bir ifadeyle yaranın olduğu an itibariyle, organizma yara iyileşme sürecini başlatır. Yara iyileşme süreci, birbirine izleyen ve kısmen birbiri içerisine girmiş fazlardan oluşan dinamik ve kompleks bir prosestir. Bu fazlar, homeostasi, inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon olmak 4 farklı grupta incelenir. Ancak zaman zaman homeostasinin, enflamasyon evresine dâhil edildiği de görülür. Yarayı oluşturan etmenler ile yaranın özellikleri (yaranın türü, etiyojisi, lokalizasyonu, doku kaybı miktarı, kontaminasyon durumu vb.) yara iyileşme sürecine etki eder [1, 3, 27, 28, 29].

2.4.3.1. Homeostasi

Yaralanmanın gerçekleştiği ilk birkaç dakika içerisinde başlayan homeostasi fazının amacı kanamanın durdurulmasıdır. Bu amaçla trombositlerin agregasyonu ile sitokinler, kemokinler ve bazı hormonların salımı bu fazda gerçekleşir. Yaralanmadan sonra kan damarlarının bütünlüğü bozularak bölgesel kanama meydana gelir. Yaralı dokudaki bu kan kaybı, trombosit agregasyonunun aktivasyonu sonucu trombositlerden epinefrin, norepinefrin, serotonin, prostaglandin, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, trombosit aktivasyon faktörü vb. çeşitli vazoaktif araçların salınımı için pıhtılaşma mekanizması harekete geçirilir. Fibrinojenin fibrin haline geçmesiyle yara üzerinde pıhtı oluşturulur, yara kenarları birbirine yaklaştırılır ve kuruma sonrası yaranın dış ortamla ilişkisi kesilir [30, 31].

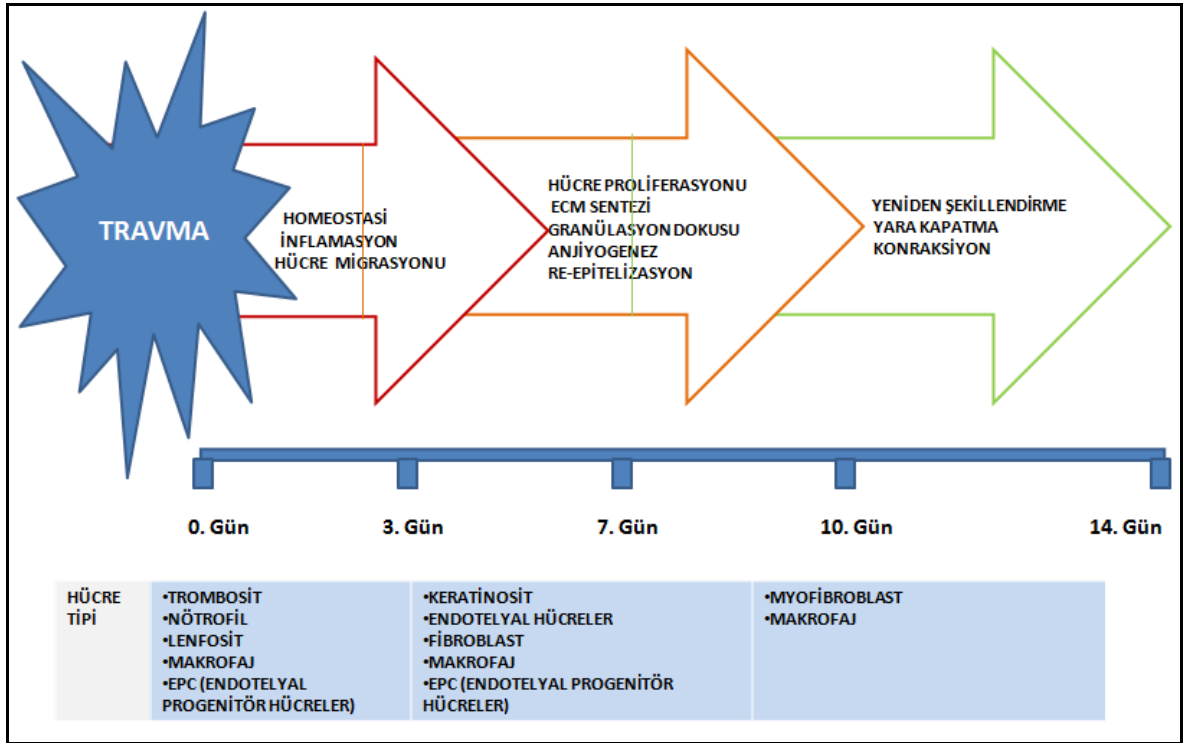
2.4.3.2. İnflamasyon

Yara iyileşmesinin bir diğer basamağı olan inflamasyon evresi (alevlendirme), homeostasinin sağlanması ile başlar. Homeostasi evresini; immun sistem komponentlerinin göçü, mekanik, bakteriyel ve kimyasal etkilere karşı vasküler ve hücresel yanıt takip eder. Lezyon alanına ilk olarak lökosit ve nötrofillerin, ardından lenfosit ve makrofajların göçüyle proteazlar, vazoaktif peptidler, büyüme ve kemotaktik faktörler salınır. Vasküler girişkenliğin artmasıyla yüksek molekül ağırlığına sahip fibrinojen, albumin vb. maddeler hücre dışı boşluğa yayılır. Yara bölgesinde ısı artışı ve ödem gözlenir. Nötrofil ve makrofajlar yardımıyla nekrotik

doku ve bakteriler ortamdaki uzaklaştırılır. İnflamasyon evresi, homeostasi ile birlikte yaklaşık 72 saat içerisinde sonlanır [1, 29, 30, 31].

2.4.3.3. Proliferasyon

İnflamasyon evresinin sonuna doğru başlayan proliferasyon (tomurcuklanma veya tanelenme), ortalama 15-21 günlük bir süreyi kapsar. Fibroblast proliferasyonu ve anjiyogenez olmak üzere iki periyottan oluşur. Bu evrenin temel hücrelerini, fibroblastlar ve endotel hücreleri oluşturur. Bu hücrelerin dışında lökositler, histositler, fibrositler, plazma hücreleri, mast hücreleri, anjiyoblastlar, miyofibroblastlar da bu evrede çeşitli görevler üstlenirler [1, 29, 30, 31].



Şekil 2.7. Yara iyileşme fazları

Fibroblastlar, makrofajlar tarafından salgılanan TGF- β ile yara alanına göç ederek, granülasyon dokusu ve kollajen liflerini üretir. Granülasyon dokusu yara yatağını doldururken; kollajen lifler yara kenarlarını yapıştırma görevini üstlenerek, yaraya dayanıklılık kazandırır. Ayrıca yine bu dönemde endotel hücrelerinden yeni kan damarları oluşur (anjiyogenez) [1, 29, 30, 31].

2.4.3.4. Maturasyon

Yara iyileşme periyodunun en son basamağı olan maturasyon (onarım), yaralanmadan sonraki ikinci ile üçüncü hafta arasında başlar ve ortalama bir yıl devam eder. Bu onarım evresinde, mitotik aktivitenin düşmesi ile yara alanındaki hücre yoğunluğunun ve vaskülarizasyonun azaldığı, anjiyogenez ile fibroblasinin sonlandığı gözlenir. Yaralanmanın ilk haftasında yoğun bir şekilde sentezlenen kollajen, bu evrede yerini stabil örgü şeklindeki kollajene bırakır. Yara izi oluşmaya başlar. Maturasyon evresinde kollajen sentezi devam etmekle birlikte, yıkımı da gerçekleştiği için, net kollajen miktarında değişiklik gözlenmez. Kollajen liflerin dizilimine bağlı olarak yaranın direnç kuvveti artarak, doku yaralanmadan önceki fonksiyonlarını büyük oranda yerine getirmeye başlar [1, 29, 30, 31].

2.5. Yara-Yanık Örtüleri

Yara-yanık örtüleri; çeşitli medikal ve cerrahi uygulamalarda kullanılan, yaralı bölgenin mikrop ve enfeksiyonlardan korunmasını sağlayan, yara iyileşme sürecine yardımcı olan ve vücut içerisine implante edilmeyen tekstil ürünleridir [3]. Bu örtülerin temel amacı, yaranın hızlı bir şekilde iyileşmesi için optimum koşulları ve mümkün olan en iyi estetik onarımı sağlamaktır [29]. Bu amaçla geçmişte bal hamurları, bitkisel lifler ve hayvansal yağlarla başlayan yara iyileştirme (yara kapatılması ve tedavisi) çalışmalarına günümüzde yeni jenerasyon yara-yanık örtüleriyle devam edilmektedir [32].

Antik Mısır'da tıp alanında yaşanan gelişmelerle birlikte, döneme ait papirüslerde bir dizi hastalıklar ile bu hastalıkların semptomları, teşhisi ve tedavisine yönelik uygulamalara rastlanmaktadır. Antik Mısır uzmanları Edward Smith'in ve Ebers'in isimleriyle anılan bu papirüslerde, yara tedavisinin bilinen ilk uygulamalarına da yer verilmiştir [33]. Septik yara ve yanıklarda hint yağı kullanılırken, şişliklerin yok edilmesinde amonyak eriğinden yararlanılmıştır [29]. 1880 yılında Joseph Sampson Gamgee tarafından geliştirilen, emici gazlı bezin iki tabakası arasına pamuğun yerleştirilmesiyle elde edilen Gamgee dokusu cerrahi uygulamalarda örtü malzemesi olarak kullanılmaya başlanmıştır [34]. 1903 yılında Lumière kardeşler tarafından 'Tulle Gras'(yağlı tül bez) adı verilen parafin, balsam ve zeytinyağı içeren bandajın geliştirilmesiyle de, yanık ve ülser sonucu oluşan deri yaraları tedavi edilmeye çalışılmıştır [35]. Zaman içerisinde teknolojik gelişmelere paralel olarak geliştirilen pek çok konvansiyonel yara örtülerinin yara iyileşmesi ve

tedavisinde önemli roller üstlendiği bilinmektedir. Ancak bu örtüler efektif bir yara iyileşmesinin sağlanabilmesi için zaman zaman yetersiz kalmaktadır. Bu durum yeni nesil tasarım ve üretim yöntemleriyle hazırlanan yara-yanık örtülerini gündeme getirmiştir.

Günümüzde iyi bir yara-yanık örtüsünün taşıması gereken birtakım özellikler vardır [3]. Bu özellikler aşağıda maddeler halinde verilmiştir [3, 32]:

a) Biyouyumluluk ve biyobozunurluk

Vücutta uygun proseslerle metabolize olmalı ve yara üzerinde istenmeyen tepkilere yol açmamalıdır. Toksik veya alerjik olmamalıdır. Yara iyileşmesi süresince yapısı bozulmamalı ve kimyasal olarak inert olmalıdır. Doku hücrelerinin bağlanıp, çoğalabilmesini ve ECM'nin oluşabilmesini sağlayan yapısal özellikler göstermelidir. Ayrıca, uygun parçalanma hızına ve ev sahibi dokunun özellikleri ile uyumlu mekanik özelliklere sahip olmalıdır.

b) Mikrobiyal kontrol ve Fiziksel Bariyer

Özellikle iltihaplı yaralarda mikroplar, bakteriler, uygun tekniklerle kontrol altına alınmalıdır. Yara örtüsü, dış ortamdan gelen her türlü mikrobiyal ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı bariyer görevini üstlenmeli ve su buharı geçirgenliğine (sıvı birikmesini önlemek ve yaralı bölgenin nefes almasını sağlamak için) olanak sağlamalıdır.

c) Sıvı kontrolü

Yara örtüsü, bakteriyel penetrasyon riskini azaltmak ve bandajdan sıvı sızmasını önlemek için (yüksek sıvı emme kapasitesi ile) eksudanın absorpsiyonunu ve epitelyum tabakasının yeniden formasyonu için gerekli nemli ortamı sağlamalıdır.

e) Ölü dokuların temizlenmesi (Debridman)

Uygun nem, sıcaklık, pH ve diğer koşulları sağlayarak yaradaki yabancı maddelerin, hasarlı ve ölü dokuların tamamen uzaklaştırılmasına katkıda bulunmalıdır. Mevcut safsızlıklar yapıdan tamamen uzaklaştırılmalıdır.

f) Kanama etkisi

Kan kaybının fazla olduğu bazı cerrahi ve travmatik yaralarda, kan pıhtılaşmasını kolaylaştırarak kanamanın kısa sürede durdurulmasına yardımcı olmalıdır.

g) Düşük yapışkanlık

Yara örtüsü materyali, yara yüzeyine yapışma ve çıkarılma esnasında doku tahribatına yol açmamalıdır.

h) Koku giderilmesi

Yara oluşumundan tedaviye kadar uzanan süreçte, yaralı bölgede oluşan kokular kontrol altına alınmalıdır.

i) Isı Yalıtımı

Isı kaybını önlemelidir.

j) Maliyet ve Kolay Ulaşılabilirlik

Yara örtüsü olarak kullanılacak malzeme, ekonomik ve temini kolay olmalıdır.

k) Pansuman-Zaman

En az sayıda örtü değişimine olanak verecek şekilde tasarlanmalıdır.

l) Stabilite

Hastanın günlük aktiviteleri sırasında stabil kalmalıdır.

m) Elastikiyet

Kuru halde bile hemostatik ve elastik özelliğini koruyabilmeli, uzun süre saklanabilmelidir.

l) Yara izinin giderilmesi

Yara-yanık örtüleri, yara izi oluşumunu azaltacak ya da tamamen giderilecek şekilde tasarlanmalıdır.

n) Gaz geçirgenliği

Yara-yanık örtüleri, özellikle H₂O, O₂ ve CO₂ gazlarını geçirgen özelliğe sahip olmalıdır.

Yara-yanık örtülerinde geçmişten günümüze kadar doğal insan derisi de dahil olmak üzere pek çok malzeme kullanılmıştır [29]. Ancak tam anlamıyla istenilen bir yara iyileşmesi çoğu kez sağlanamamıştır. Bu durum genellikle kullanılan malzemenin yara iyileşmesinde arzu edilen özelliklerden yoksun olması ile yara tipinin ve tedavisinin dikkate alınmamasından ileri gelmektedir. Dolayısıyla yara-yanık örtülerinde kullanılacak malzeme seçimine (malzemenin fiziksel, kimyasal ve mekanik özellikleri) ve tasarımına özen gösterilmelidir. Son yıllarda çeşitli üretim teknikleri kullanılarak (özellikle elektrostatik eğirme yöntemi) malzemelere istenilen

özellikler kazandırılmakta ve böylece çok fonksiyonlu yara-yanık örtüleri hazırlanmaktadır. Günümüzde yara-yanık örtü malzemesi olarak en çok kullanılan malzemeler, doğal polimerler, sentetik polimerler ve bunların karışımları ile bu polimerlere yüklenen ilaç ve biyoaktif moleküllerdir [3, 8, 32, 36].

Doğal Polimerler: Birçok doğal polimer biyouyumluluğu, biyobozunurluğu, toksisite göstermemesi, elektrostatik eğrilebilirliği ve ECM'ye benzerliği nedeniyle rejeneratif tıp alanında özellikle yaralı dokunun onarılmasında ve deri rejenerasyonunda önemli roller üstlenmektedir. Yara-yanık örtü malzemesi üretiminde kullanılan bu doğal polimerler 5 ayrı grupta incelenebilir [8].

- **Polisakkaritler:** Polisakkaritlerden, elektrostatik eğirme yöntemi ile özellikle yara ve yanıkların tedavisinde kullanılan nanofibriler yapılar elde edilmektedir. Homoglikanlardan selüloz, kitin, kitosan, dekstran, alfa ve beta glukoz; heteroglikanlardan aljinat, agar, agaroz, karajenan, pektin, gam ve glikozaminoglikanlar (hyaluronik asit, heparin, kondroidin sülfat vb.) yara-yanık örtülerinin üretiminde sıkça kullanılan polisakkaritlerdir [8].
- **Glikolipidler:** Yanık başta olmak üzere pek çok deri yaralarında efektif özellik gösteren glikolipidler, fiber ya da lipozom formunda yara iyileşmesi için gerekli re-epitelizasyon, neovaskülarizasyon vb. pek çok olaya katılırlar.
- **Proteoglikanlar:** Bir ya da daha fazla kovalent bağlı glikozaminoglikan zincirleri içeren çekirdek proteinleri olan proteoglikanlar, hayvansal dokularda ECM'nin yapısındaki önemli makromoleküllerdendir. Özellikle neoproteoglikan yapılarından nanofiber üretimi de dahil olmak üzere *in vivo* ve *in vitro* doku mühendisliği uygulamalarında yararlanılmaktadır [8].
- **Proteinler ve peptitler:** Doğal polimerlerin en önemli grubunu oluşturan ve pek çoğu insan vücudunda da bulunan proteinler, nanofiber formunda gösterdikleri biyouyumluluk, biyobozunurluk, fleksibilite vb. eşsiz özellikleri sayesinde doku mühendisliği alanında en çok kullanılan grubu oluşturmaktadır. Kolajen, jelatin, fibrin, keratin, ipek fibroin, bovine serum albumin, eggshell membrane, gastric pentadecapeptide, BPC 157 ve büyüme faktörleri bu gruba dâhildir [8].
- **Bakteriyel polyesterler:** Azot, fosfor, oksijen vb. temel besinlerin sınırlı, karbon kaynaklarının ise fazla olduğu şeker ve(ya) yağ bazlı besi

ortamlarında çeşitli mikroorganizmalar (*Alcaligenes eutrophus*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas oleovorans* vb. bakteriler ve diğerleri) ve genetiği değiştirilmiş bitkiler tarafından fermantasyon ile sentezlenirler. Bu grubun en önemli üyesi polihidroksialkanoatlardır. Birçok bakteriyel polyesterin gösterdiği biyouyumlu, biyobozunur, non-toksik vb. özellikler sayesinde son yıllarda yara-yanık örtü malzemesi olarak yoğun bir şekilde kullanılmaktadır [8, 37].

Sentetik Polimerler: Yara-yanık örtülerinde özellikle son yıllarda sentetik polimerlerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Genellikle elektrostatik eğirme yöntemi kullanılarak hazırlanan yeni jenerasyon yara-yanık örtüleri (özellikle nanofiberler) yara iyileşme sürecinde büyük bir potansiyele sahiptir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan sentetik polimerlerden bazıları poli-L-laktik asit (PLLA), poli(laktik-co-glikolik asit) (PLGA), polietilen glikol, polivinil alkol, poli(ϵ -kaprolakton) (PEC), polivinil prolidon (PVP), poliüretan (PU) ve karboksimetil kitosandır (CMC) [8].

2.5.1. Geleneksel Yara-Yanık Örtüleri

Geleneksel yara-yanık örtüleri, genellikle doğal, sentetik ya da yarı sentetik materyallerden üretilen ve yara bölgesini dış etkilerden koruyarak, yara sıvısının absorblanmasında görevli olan materyallerdir. Bu örtülerin sınıflandırılması yapılırken malzeme kompozisyonu, örtü tekniği, yara tipi gibi birçok parametre göz önünde bulundurulur [29].

Geleneksel yara örtülerinin temel görevleri yarayı kuru ve sıcak tutmak, yara bölgesini fiziksel olarak korumak ve yara eksudalarının absorpsiyonu sağlamaktır. Gelişen teknolojilerin yardımıyla zaman içerisinde geleneksel yara-yanık örtülerinin birtakım özellikleri iyileştirilmiştir. Genellikle iç kısımları selüloz dolgu maddesi veya pamuk liflerinden oluşurken, dış tabakalarında poliamid ve viskin lifleri içerir. Sargı bezleri, dokunmamış keçeler, absorblayıcı tamponlar vb. geleneksel yara örtülerine poliamid temas tabakası, polipropilen ile kaplı viskon lifleri gibi materyallerin eklenmesiyle; bu yapılara düşük yapışma, yaradan kolaylıkla uzaklaştırma vb. özellikler kazandırılmıştır [29].

Yüksek absorpsiyon kapasitesi ve kısmi hava geçirgenliği, termal yalıtım vb. avantajlarına rağmen, bu örtülerin en büyük sorunu, yara için gerekli nemli yüzeyden yoksun olmalarıdır. Bu durum, yaraların kurumalarına neden olarak epitelizasyonu geciktirmektedir. Ayrıca bakteriyel kontaminasyonlara karşı

koruyucu özellik göstermediklerinden (günümüzde üretilen antibakteriyel özellikli yara örtüleri hariç) yara enfeksiyonları için uygun ortam hazırlarlar. Buna ek olarak gazlı bez vb. lifli yapılarda lif bütünlüğünün bozulmasıyla birlikte, bazı mikroorganizmalar yara içerisine kolaylıkla girebilmektedir [29]. Bu durum yeni jenerasyon yara örtülerinin üretimini ve kullanımını gündeme getirmiştir.

2.5.2. Yeni Jenerasyon Yara-Yanık Örtüleri

Winter'ın 'Yara iyileşmesinde nemin iyileştirici etkisi' isimli çalışması, geleneksel yara-yanık örtülerinden, modern yara-yanık örtülerine geçmede önemli bir rol oynamıştır [38]. Doku mühendisliği, nanoteknoloji vb. pek çok bilim dalının ortak çalışmaları sonucu üretilen yüksek teknoloji bu yara örtülerinde sınıflandırma, genellikle içeriklerindeki materyal göz önünde bulunarak yapılır.

Hidrokolloid örtüler: Günümüzde en fazla kullanılan örtülerdir. Genellikle elastik-adeziv bir makriks içerisinde homojen olarak çözülmüş hidrofil polimer taneciklerinden meydana gelir. Bu örtüler, çoğunlukla hafif yanık, travmatik sakatlanmalar sonucu oluşan yaralarda kullanılır. Ağrıyı dindirme ve dış kontaminantlara karşı bariyer görevi görür [3, 29].

Aljinat örtüler: Aljinik asitin sodyum ve potasyum tuzlarından hazırlanan bu örtüler, iyon değişim özelliğine sahiptir. Yara salgısı ile temas halinde, aljinat liflerinde bulunan iyonlar ile vücut sıvısındaki iyonlar yer değiştirerek, yara yüzeyinde jel oluştururlar. Kullanımı oldukça kolaydır ve yapışkan değildir [3, 29].

Hidrojel örtüler: Genellikle polimerlerle çapraz bağ yapmış jelatin, polisakkarit, polivinil alkol ve polietilen oksit gibi materyallerden meydana gelen ve yüksek su tutma yeteneğine sahip olan örtülerdir. Şekilsiz jel, katı ince tabaka, film vb. şekillerde hazırlanabilir. Yüksek absorpsiyon kapasitesine sahip olan bu örtüler genellikle yara yüzeyine yapışmaz [3, 29].

Yarı-yapışkan film örtüler: Polietilen destekli naylon menşeli yapılar olarak uzun süredir kullanılmaktadır. Ancak, su tutma kapasitelerinin düşük olması, deride maserasyona yol açması, sık sık değiştirilme ihtiyacı bu örtülerin kullanımını kısıtlar [29].

Köpükler: Esnek olmasının yanı sıra yüksek absorpsiyon yeteneğine de sahip olan gözenekli materyallerdir. Poliüretan veya silikon bazlı olabilir. Genellikle yara

çevresinde nemli bir ortam oluşturur ve sıcaklık izolasyonu sağlar. Eksudalı veya iltihaplı yaralarda sıklıkla kullanılır [3, 29].

Biyolojik örtüler: Doğal dokulardan (canlı dokusu) köken alınarak hazırlanan örtülerdir. Domuz derisi ile heterograft, amniyotik membran kullanımı, kadavralardan alınan allograftlar da bu sınıfa dahildir. Düşük dayanıklılık-saklanabilirlik, hastalık taşıma potansiyeli, viral kontaminasyon riskleri vb. nedenler bu örtülerin kullanım alanını kısıtlar [29].

Doku mühendisliği ürünü deri greftleri: Doğal, sentetik ya da yarı sentetik polimerlerden hazırlanan ve kaybedilen dokunun yerine geçerek yara bölgesinin kapanmasında rol oynayan örtülerdir. Bu ürünlerin hazırlanmasında aselüler ve(ya) hücre içeren matrikslerden yararlanılır. Genellikle kronik yaralarda ve 3.derece yanıklarda kullanılır. Pahalı oluşları, enfeksiyon taşınımı riski ve antijenik özellik gösterme potansiyelleri, kullanım alanlarını kısıtlamaktadır [29].

Medikal örtüler: Aktif bileşenler, farmasötik ajanlar ve(ya) bunların salımını yapan sistemleri içeren yara örtüleridir. Genellikle antimikrobiyal ajan, antibiyotik, büyüme faktörleri, vitamin ve mineral destekli hazırlanır [29].

Polimerik ilaç taşıyıcı örtüler: İlaç taşıyan ve yara çevresine kontrollü ilaç salımı yapabilen polimerik yara örtüleridir. Polimerik biyomalzemelere (doğal, sentetik ya da karma) etken madde yüklenerek hazırlanır. Son yıllarda nanoteknolojik üretim yöntemleri ile doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere hazırlanan ilaç yüklü polimerik nanofiber malzemeler de bu sınıfa dahil olup, yara-yanık örtü malzemesi olarak kullanılmaktadır [29].

Yeni jenerasyon yara-yanık örtüsü olarak kullanılan polimer bazlı nanofiberler günümüzde spesifik yüzey alanları, yüksek gözenekli yapıları, küçük gözenek boyutları, hafif malzemeler olmalı vb. özelliklerinden dolayı yara iyileşmesi ve tedavisinde önemli roller oynamaktadır.

2.6. Nanofiberler

2.6.1. Nanofiberlerin Nanoteknolojideki Yeri ve Önemi

Bilim ve teknolojiyi birleştiren bir terim olarak karşımıza çıkan nanoteknoloji kavramı, malzemeler üzerinde 100 nanometreden daha küçük boyutlarda yapılan işleme, kontrol, düzenleme ve diğer birçok uygulamayı kapsar. Maddelerin özelliklerini belirleyen atomik dizilimlerinde yapılacak değişikliklerle, bu maddelerin

özelliklerini geliştirmeyi ve arzu edilen özelliklere sahip malzeme üretmeyi hedefler. Bu amaçla kullanılan “Top-down” ve “Bottom-up” yaklaşımlarını temel alarak malzemeler üzerinde yapılan çalışmalar, malzemelere hem yeni ve eşsiz özellikler kazandırır; hem de bu malzemelerin birçok alanda işlevselliğinin ve kullanılabilirliğinin artmasını sağlar. Fizik, kimya, biyoloji, mühendislik, tıp, malzeme bilimi gibi birçok bilimin ortak çalışmalarından faydalanan nanoteknoloji sayesinde gelişen nanoürünler; biyomedikal uygulamalar, kozmetik, elektronik, tekstil, havacılık ve uzay teknolojileri vb. birçok alanda kullanılır [39, 40, 41, 42].

Nanomalzemesler, 1-100 nm arası boyuta sahip materyaller olup; bu malzemelerin nano yapıları özellikleri, makro boyuttaki özelliklerinden oldukça farklıdır. Nanofiber, nanokompozit, nanotüp ve nanokristalin; bu malzeme türlerindedir. Kimyasal, fiziksel ve mekanik olarak üstün özelliklere sahip olmalarından dolayı nanomalzemesler, birçok alanda uygulama bulurlar. Nanomalzemeslerin en önemli özelliklerinden biri olan yüksek yüzey alanı/hacim oranları; bu malzemelerin kullanım alanlarını genişletir. Bataryalar, filtreler, sensörler, kapasitörler, termal spreylere kaplamalar, ilaç taşınımı ile diğer birçok alanda nanomalzemeslerden yararlanır. Günümüzde bu malzemelerin sıkça kullanıldığı alanlardan biri de doku mühendisliği ve biyomedikal uygulamalardır [2, 39, 41].

Nanolifler; nanomalzeme sınıfına dahil olan ve boyutları 100 nm'den (bazı kaynaklara göre 1000 nm) daha küçük fiberler olarak tanımlanır. Nanolifler, yüksek yüzey/hacim oranlarına, yüksek poroziteye ve küçük gözenek boyutlarına sahip olmalarının yanı sıra diğer birçok malzemeyle kıyaslandığında daha üstün bir mekanik performans gösterir [40, 41, 42].

2.6.2. Nanofiber Üretim Teknikleri

Nanofiberler günümüzde elektrostatik eğirme, kendiliğinden düzenlenme, çekme, kalıp sentezi, faz ayrımı vb. birçok yöntem kullanılarak üretilir. Diğer üretim yöntemleri ile karşılaştırıldığında elektrostatik eğirme yöntemi, farklı polimer çözeltilerinden ya da eriyiklerinden nanoölçekli fiberlerin üretilmesine imkan veren basit, çok yönlü ve en çok kullanılan tekniktir [41, 42].

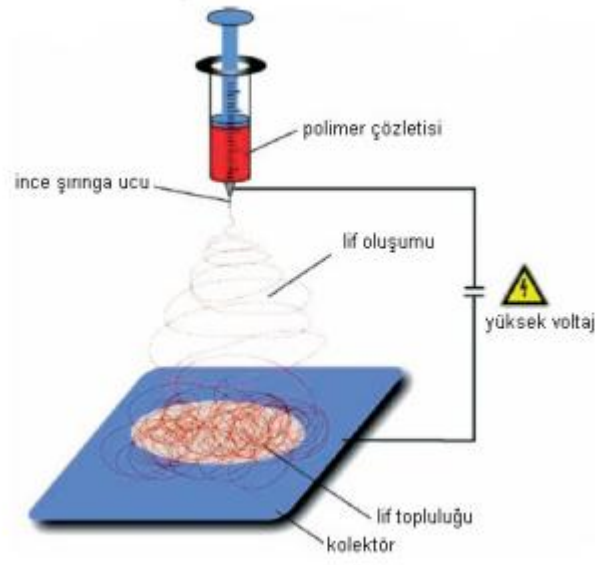
2.6.2.1. Elektrostatik Eğirme Yöntemi ve Tarihçesi

Elektrostatik eğirme yöntemi (ES), özellikle son yıllarda nanofiberlerin üretiminde sıkça kullanılan bir yöntem olarak bilinmesine karşın, sanılanın aksine yeni bir teknik değildir. Bu kavram, ilk olarak 17.yüzyılda William Gilbert tarafından

elektromanyetizmanın sıvılar üzerindeki etkisinin incelenmesi ile ortaya çıkmıştır. William Gilbert yaptığı çalışmasında, manyetik alan uyguladığı şırınga iğnesine yakın mesafede bulunan bir su damlasının bu manyetik alanın etkisiyle çekilerek koni biçimini aldığını gözlemlemiştir [43, 44, 45]. 1882 yılında Lord Rayleigh, elektriksel yüke sahip damlaların elektroüretim sırasında gösterdiği düzensizlikler üzerinde çalışmıştır. Bu çalışmaya göre, yüklü damlaya etki eden iki kuvvetten, elektrik alan kuvvetinin yüzey geriliminden kaynaklanan kuvveti yendiği anda damla kararsız hale gelerek ince jetlere ayrılmıştır [45, 46, 47]. Elektrostatik eğirme yöntemiyle nanofiber üretimine dair ilk patent 1934 yılında Anton Formhals tarafından alınmıştır [44]. Çeşitli sıvılardan elektriksel alan yardımıyla sentetik liflerin üretilmesine dayalı olarak geliştirilen bu sistemde, elektriksel alan yardımıyla selüloz asetattan hazırlanmış polimer çözeltisinden polimerik lifler elde edilmiştir [48]. Yine 1960'lı yıllarda Taylor tarafından geliştirilen teoride, elektrik alan kuvvetlerinin etkisiyle viskoz damladan fiber oluşmasının, sıvı yüzeyindeki kararsızlıktan ileri geldiği açıklanmıştır [41]. Bu teori, yüksek voltajlarda oluşan yarıküresel damlanın şeklinin, kritik noktaya ulaştığında bozularak jet oluşumundan önce koni şeklini almasına dayanır. Günümüzde elektrostatik eğirme yöntemi, elektrik alan kuvvetleri aracılığıyla polimerlerden nanoölçekli lifler ya da porlu nanofiber ağlar elde etmek amacıyla kullanılır [41]. Elektrostatik eğirme yöntemi multidisipliner bir yöntem olarak akışkanlar dinamiği, polimer kimyası, temel fizik, makine ve tekstil mühendisliği vb. pek çok bilim dalının ortak çalışmalarından yararlanır. Bu yöntem ile istenilen şekle, boyuta ve gözenekliliğe sahip nanolifler üretilebilir. Kolay ve pratik olmasının yanı sıra, bu yöntemin diğer önemli özelliği, polimerlerden elde edilen nanoölçekli fiberlerin tek basamakta sentezinin yapılmasıdır [2, 8, 46, 47].

Nanofiberlerin en fazla üretildiği teknik olan elektrostatik eğirme için gerekli deney düzeneği temel olarak üç ana kısımdan oluşur [2]:

- Yüksek voltaj güç kaynağı
- Kollektör (iletken plaka, döner silindir vb.)
- Besleme ünitesi (şırınga, metal iğne vb.)



Şekil 2.8. Elektrostatik eğirme düzeneği

Elektrostatik eğirme tekniğinde öncelikle polimerin belli ve uygun bir çözelti içerisinde çözünmesi sağlanmalıdır. Alternatif olarak polimerin ısı aracılığıyla eritilmesi de mümkündür. Bu işlem sonrasında hazırlanan polimer çözeltisi (ya da eriyik), şırınga ya da cam bir pipete yüklenir [49]. Şırınga pompası, polimer çözeltisinin şırıngadan uç kısma aktarılması için sürekli bir basınç sağlar. Şırınganın ucu ile kolektör arasındaki bağlantı bir elektrotla sağlanır [49]. Bu elektrotta 5 ile 50kV aralığında yüksek bir voltaj uygulanır. Şırınga ucundaki polimer damlası, uygulanan bu potansiyel fark nedeniyle küresel biçimden koni şekline (Taylor konisi) dönüşür ve karşı elektroda yönelir [2]. Bu işlem esnasında çözücünün buharlaşması (ya da eriyiğin katılaşması) ile katı lifler meydana gelmeye başlar [2, 41, 49]. Bu lifler, kolektör üzerinde toplanmadan önce elektriksel alan kuvvetleri tarafından yüksek oranda çekilerek, incelik. Bunu takiben liflerin kolektör üzerinde toplanmasıyla, 5nm ya da daha büyük boyuta sahip nanolifler elde edilir. Kullanılan kolektörün sabit (yüksek porozite yüzey alanı/hacim oranı) ya da hareketli (az gözenek ve düşük dayanıklılık) olmasına göre gelişigüzel düzenlenmiş ya da yönlendirilmiş (dikey ya da paralel yönlü) nanolif toplulukları oluşturulur [2, 49].

Elektrostatik eğirme yöntemi, pozitif voltaj elektrostatik eğirme (PV-ES) ve pseudo-negatif voltaj elektrostatik eğirme (NV-ES) olmak üzere iki gruba ayrılır. Pozitif voltaj elektrostatik eğirme yöntemi, pozitif yüklü iğne (needle) ve topraklanmış

kolektör sistemini temel alırken, pseudo-negatif voltaj elektrostatik eğirme yöntemi topraklanmış iğne ve negatif yüklü kolektör sistemine dayanır [49].

Elektrostatik eğirme yöntemi ile üretilen fiberlerin çoğu dairesel katı lifler halinde olmasına rağmen, zaman zaman tüp, şerit, halka ve boncuk yapılarına da rastlanabilir [2, 41]. Bu durum, fiberlerin oluşum ve yapısına etki eden faktörlerle açıklanabilir. Bu faktörler, çözültiden kaynaklanan parametreler ve elektrostatik eğirme parametreleri olarak iki grupta incelenebilir. Çözelti parametrelerine konsantrasyon, viskozite, iletkenlik ve çözücü buharlaşması; elektrostatik eğirme parametrelerine ise voltaj, akış hızı, şırınga iğnesi iç çapı, çalışma mesafesi (kolektör ile şırınga iğnesi arasındaki mesafe) örnek verilebilir [49]. Bunun dışında çözücü türü, sıcaklık vb. faktörler de elektrostatik eğirme sonrası oluşan fiber çapına ve morfolojisine etki eder [2, 49, 50, 51].

Çizelge 2.4. Elektrostatik eğirme ve elektrostatik eğirmede kullanılan çözelti parametreleri.

Elektrostatik Eğirme Parametreleri	
Polimer Konsantrasyonu	<ul style="list-style-type: none">• Fiber çapı ile doğru orantılıdır.• Çözeltinin buharlaşma veya katılaşma hızına etki eder
Çözücü Türü	<ul style="list-style-type: none">• Çözeltinin buharlaşma veya katılaşma hızına etki eder.• Boncuk oluşumunu etkiler.
Çalışma Mesafesi	<ul style="list-style-type: none">• Fiber çapı ile ters orantılıdır.• Boncuk yoğunluğu ile ters orantılıdır.
Akış Hızı	<ul style="list-style-type: none">• Fiber çapı ile doğru orantılıdır.• Yüzey yük yoğunluğu ile ters orantılı
Voltaj	<ul style="list-style-type: none">• Fiber çapı ile ters orantılı• Boncuk formasyonu üzerinde etkilidir.

	<ul style="list-style-type: none"> • Yüzey yük yoğunluğu ile ters orantılıdır. • Doğru akım ve alternatif akım, fiber uniformitesini etkiler.
Şırınga İğnesi İç Çapı	<ul style="list-style-type: none"> • Çözeltinin akış hızını etkiler • Fiber çapı ile ters orantılıdır.

2.6.2.2. Diğer Üretim Teknikleri

Günümüzde en yaygın nanofiber üretim tekniği, elektrostatik eğirme yöntemi olmakla birlikte; bu yapıların sentezinde daha birçok metot da kullanılır. Kendiliğinden düzenlenme, çekme (drawing), kalıp sentezi, faz ayrımı, ara yüz polimerizasyonu, nanolitografi, eriyik fibrilasyonu (melt fibrillation) kullanılan diğer yöntemlerdendir. Bunlara ilaveten solution spinning, film fibrillation, island in the sea, segmented pie vb. yöntemlerle de nanofiber üretimi mümkündür. Bu tekniklerden bazıları aşağıda verilmiştir [52].

Kendiliğinden düzenlenme: Hidrojen bağları, iyonik bağlar, hidrofobik kuvvetler vb. non-kovalent etkileşmelerde atom veya moleküllerin bir müdahale olmaksızın belli yapılar ya da desenler oluşturmak üzere kendiliğinden organizasyonudur [53]. Yöntem rejeneratif ve repetatif tıp alanında oldukça geniş uygulama alanı bulmasına rağmen, zaman alıcıdır ve komplekstir. Aynı zamanda düşük verimlilikle üretim gerçekleştiği için çok tercih edilen yöntemler arasında değildir.

Çekme: Yöntem, birkaç mm çapında bir mikropipetin düz bir yüzey üzerinde bulunan sıvıya daldırılması ve damlacıkla teması sonrası, mikromanipülatör yardımıyla belirli bir hızda damlacıktan uzaklaştırılması (çekilmesi) sonucu nanofiber üretilmesine dayanır [53]. Bu yöntemle uzun ve tek nanofiberler elde edilebilmektedir. Ancak üretilen nanofiberlerin çapları genellikle 100 nm'den büyüktür. Son yıllarda çekme işleminde mikropipetin kullanımının yanı sıra, nanolitografik yöntemle AFM ve STM uçları kullanılarak da uzun nanofiberlerin üretimi sağlanmaktadır.

Kalıp sentezi: Genellikle nanoölçekli silindirik gözeneklere sahip 5-50 mm kalınlığında bir metal oksit membran kullanılarak, istenilen malzemedeki çapları 1-100 nm arasında değişen nanofibriler yapıların üretimi mümkündür [53]. Bu

yöntemde öncelikle hazırlanan polimer çözeltisi, üzerinde bulunan suyun yarattığı basınçla membranın gözeneklerinden geçer ve katılaştırıcı bir sıvı yardımıyla bu yapılardan nanofiberler elde edilir. Elde edilen fiberlerin çapını membran içerisinde bulunan gözeneklerin çapı belirler.

Eriyik Fibrilasyonu: Yöntem; bir ya da daha fazla polimerin eritilmesi ve film ya da filamanlar gibi birkaç farklı konfigürasyona ekstrüde edilmesine dayanır. Eriyik üfleme, eriyik film fibrilasyonu ve eriyik fiber açılımı (melt fiber bursting) de bu metot içerisinde yer alır [53, 54, 55].

Faz Ayrımı: Genellikle fiziksel olarak farklı iki fazın termodinamik olarak ayrışmasına dayalı bir yöntemdir. Bu metotta ilk olarak polimer uygun bir çözeltide çözülerek, polimer çözeltisi hazırlanır [53]. Jelleşme sonucu çözücünün yapıdan uzaklaştırılmasıyla gözenekli nanofibriler yapılar elde edilir. Ancak yöntemin zaman alıcı, karmaşık olması ve fiber çapının kontrolünün zorluğu nedeniyle çok tercih edilmez [53, 54]. Kullanılan polimer ve çözücü türü, çözücü konsantrasyonu, faz ayırım sıcaklığı, soğutma-ısıtma basamakları bu yöntemde göz önünde bulundurulması gereken parametrelerdendir.

2.7. Nanofiberlerin Uygulama Alanları

2.7.1. Nanofiberlerin Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları

Doku Mühendisliği; hastalık, kaza gibi nedenlerle fonksiyonlarını yerine getiremeyen doku ve organların yerine laboratuvar koşullarında hücreler ve kolajenöz bir iskele yardımıyla işlevsel bir doku (özellikle bağ doku) ve organ üretmeyi hedefleyen bir bilim dalı olarak tanımlanmaktadır. İşlevselliğini kaybeden dokunun yerine belli koşullarda geliştirilen yeni dokunun yerleştirilmesi olarak da ifade edilen bu bilim dalı, temel olarak sağlık bilimleri ile mühendisliğin ortak çalışmalarına fizik, kimya, biyoloji vb. bilimlerin katkıları sonucu ortaya çıkmıştır [56]. Doku mühendisliğinin temeli, yitirilen dokuya özgü hücrelerle aynı işlevselliğe sahip hücrelerin ve uygun bir malzemeden yapılmış doku iskelesinin birleşmesiyle arzu edilen dokuyu oluşturmasına diğer bir ifadeyle doku rejenerasyonuna dayanır [6]. Doku rejenerasyonuna verilebilecek örneklerden biri, kuyruğu kopan kertenkelede yeni kuyruk oluşumudur. İnsan vücudunda da rejenerasyon olabilen dokular olduğu gibi, bu durum her doku için geçerli olmamaktadır. Doku mühendisliğinin temel bileşenleri hücreler, doku iskeleleri, biyosinyaller ve hücrelerin biyolojik çevrelerini taklit eden biyoreaktörlerdir [32].

2.7.1.1. Doku İskeleleri Olarak Nanofiberler

Doku mühendisliğinin temel bileşenlerinden biri olan doku iskeleleri, doku rejenerasyonunda en önemli görevi üstlenen yapılardır [32]. Bu iskeleler, genellikle doğal ve sentetik polimerlerden ya da bunların karışımlarından hazırlanır ve ekstraselüler matriksin (ECM) hücrelere sağladığı fiziksel destek, hücre-hücre interaksyonlarının organizasyonu, hücrelerin yapışması, çoğalması, göçü, farklılaşması, kimyasal ve fiziksel değişikliklere cevap verme vb. özelliklerini taklit edebilecek şekilde tasarlanır [2]. Böyle bir tasarım hücrelere fonksiyonel bir doku oluşturabilmeleri için gerekli desteği temin eder. Ancak bu tasarım yapılırken doku iskelesi materyalinin elde edilmesinde kullanılan malzemeler, özellikle de polimerin bazı özellikleri taşıması gerekir. Bu nedenle polimer, aşağıda belirtilen özelliklere sahip olmalıdır [2].

- Kimyasal olarak inert
- Mevcut safsızlıklar yapıdan uzaklaştırılmış
- Biyouyumlu (implante edildikleri dokuya istenmeyen tepkilere yol açmayan)
- Biyobozunabilir (vücutta uygun proseslerle metabolize olmalı)
- Uygun parçalanma hızına ve ev sahibi dokunun özellikleri ile uyumlu mekanik özelliklere sahip
- Hücrelerin bağlanıp, çoğalabilmesini ve ECM'nin oluşabilmesini sağlayıcı yapısal özellikler gösterebilir.

Doku iskeleleri, hasarlı bölgeye diğer dokuların girmesini önleyerek bir yandan boşluk tutucu olarak görev yaparken, diğer yandan dokuya geçici destek görevini üstlenerek hücrelere kendi ekstraselüler matrikslerini oluşturana kadar tutunma, büyüme, gelişme, çoğalma, göç ve farklılaşma için gerekli ortamı sağlar [2, 57]. Organ nakline alternatif olarak ortaya çıkan doku mühendisliği, istenilen özelliklere sahip doku iskelelerinin tasarımında nanoteknolojiden yararlanır. Nanofiber üretim tekniklerinin içerisinde özellikle elektrostatik eğirme yöntemi ile biyopolimerler, sentetik polimerler, aktif ajanlar, proteinler vb. kullanılarak ve işlem parametreleri değiştirilerek farklı uygulamalarda kullanılmak üzere ECM'yi kolayca taklit edebilen nano yapıları doku iskeleleri hazırlanabilir [2, 29, 32]. Çözelti konsantrasyonu, viskozitesi, iletkenliği, yüzey gerilimi ile uygulanan voltaj, kolektör tipi, ortam koşulları (sıcaklık, nem vb.), akış hızı gibi parametreler değiştirilerek çeşitli formlarda ve yönlendirmelerde nanofiber toplulukları üretilir. Laboratuvar koşullarında

nanofibriler yapılardan hazırlanan bu doku iskeleleri, doku rejenerasyonu için oldukça yüksek bir potansiyele sahiptir. Bunun nedeni de nanofiberlerin yüksek yüzey alanı/ hacim oranlarından, yüksek gözenekliliğinden ve küçük gözenek boyutlarından kaynaklanmaktadır [4, 58, 59, 60].

Elektrostatik eğirme yöntemi kullanılarak polimerlerden hazırlanan nanofibröz doku iskeleleri, günümüzde pek çok araştırmacının dikkatini çekmiştir. Hasarlı veya fonksiyonunu yitirmiş çeşitli dokuların (epitel doku, bağ doku, yağ doku, kan doku, kıkırdak doku, kemik doku, sinir doku) rejenerasyonu için farklı özelliklere sahip olarak tasarlanan bu iskeleler üzerinde çalışmalar özellikle son yıllarda ivme kazanmıştır [4, 56, 60]. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda verilmiştir.

Sinir doku mühendisliği: Yang ve arkadaşları sinir dokusu onarımında kullanılmak üzere rastgele yönlendirilmiş ve düzenli nanofiber toplulukları şeklinde elde ettikleri PLLA nano/mikro doku iskelelerini tasarlamıştır. Neonatal fare cerebellum C17.2 kök hücrelerini kullanarak kültür ortamında hücre uzaması ve farklılaşmasını incelemişlerdir. Uzamanın yönlü nanofiberlerde yönlendirme boyunca olduğunu ve hücre farklılaşmasının iskelenin rastgele düzenlenmesi ve yönlendirilmesi ile herhangi bir fark göstermediğini belirtmişlerdir. Ancak nanofiberlerdeki hücre farklılaşma hızının mikrofiberlere göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir [61].

Kemik doku mühendisliği: Tuzlakoğlu ve arkadaşları elektrostatik eğirme yöntemi ile mikro- ve nanofiberler kombinasyonlu üç boyutlu (3D) iskeleleri hazırlamışlardır. Hücre taşıyıcı olarak bu tip iskelelerin, nanofiber içermeyen taşıyıcılara göre insan osteosarcoma SaOS-2 hücre hattı ile fare kemik iliği stromal hücrelerinde hücre tutunmasını ve organizasyonunu daha çok artırdığını belirtmişlerdir [62].

Deri Doku Mühendisliği: Patel ve arkadaşları rastgele yönlendirilmiş, dikey ve paralel yönlü nanofiber topluluklarından elde ettikleri iskelelerin deri fibroblast (normal insan dermal fibroblast) kültüründeki sonuçlarını değerlendirmişlerdir. İmmünofloresans boyama tekniği ile yara bölgesine göç eden fibroblast sayısı incelenmiştir. Dikey yönlü nanolif topluluklarından oluşan iskelelerde, fibroblast sayısının maksimum değere ulaştığını bildirmişlerdir [63].

Kas Doku Mühendisliği: Riboldi ve arkadaşları biyobozunur DegraPol® kullanarak elektrostatik eğrilmiş nanofiber iskeleler geliştirmişlerdir. Degradol® içeren ve içermeyen lamlar üzerinde hücre canlılığı, adezyonu ve farklılaşması farklı hücre hatlarında (Murin myoblast hücre hattı (C2C12), fare myoblast hücre hattı ve primer insan satellit hücreleri) kullanılarak incelenmiş ve Degradol® içeren iskelelerin mekanik özelliklerinde iyileşmeyle birlikte hücre adezyonunun, proliferasyonunun gerçekleştiği gözlenmiştir [64].

Kıkırdak Doku Mühendisliği: Li ve arkadaşları elektrostatik eğirme yöntemi ile hazırladıkları nanofiber iskelelerin hücre etkileşim ve proliferasyonunu değerlendirmek amacıyla insan kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücreleri ve fare fibroblast hücrelerini kullanmışlardır. 10. günün sonunda nanofiber iskele üzerinde hücre sayısının 5 kat arttığını, ayrıca fibroblastların bu iskelelere tutunarak yayıldığını ve 3.günden itibaren hücrelerin iskelenin diğer tabakalarına göç ettiğini de belirtmişlerdir [65].

2.7.1.2. İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Nanofiberler

İlaç salım sistemleri, tedavi amacıyla kullanılacak ilacın kontrollü olarak vücuda salınmasını sağlayan sistemlerdir. Bu sistemler, yapılarına yüklenen ilacın biyodağılımını ve farmakokinetiğini (ilaçların vücut içerisindeki emilme, dağılma, biyotransformasyon, eliminasyon vb. prosesler) düzenlemek veya değiştirmek üzere tasarlanır. Bununla birlikte bu sistemler ilaç ile uyumlu, istenilen dozajlarda ilaç yüklenmesine izin veren ve tedavi sonunda vücuttan kolaylıkla uzaklaştırılan özellikte olmalıdır [2].

Konvansiyonel ilaç salım sistemleri vücutta belli bir etkinliğe sahip olmakla birlikte istenmeyen yan etkileri, düşük degradasyonları ve geçici etkinlikleri nedeniyle zaman zaman çok verimli olmayabilir [2]. Konvansiyonel ilaç salım sistemlerinde ilaç oral yol, damar yolu veya teneffüs ile vücuda alınır. Ancak bu sistemler ilaç taşınımında vücudu temel aldıkları için pasif konumda bulunur. Vücuda alınan birçok ilacın lokal etkisinden çok sistemik etkileri söz konusu olduğu için istenmeyen yan etkilerinin görülmesi bu sistemlerin kullanımlarını sınırlandırabilir. Ayrıca yine bu ilaçlar hidrolizasyon, enzimatik parçalanma, pH değişiklikleri vb. sebeplerle vücut içerisinde efektif bir konsantrasyona ulaşmayabilir veya hasarlı bölgede etkinliğini uzun süre korumayabilir [2]. Bu amaçla biyo- ve sentetik polimerlerden çeşitli üretim teknikleriyle geliştirilen polimerik ilaç taşıyıcı sistemler

üzerinde çalışmalar bir süredir yoğun olarak devam etmektedir. Özellikle elektrostatik eğirme yöntemi ile hazırlanan polimer bazlı nanoliflere istenilen özelliklere sahip ilacın ya da biyoaktif moleküllerin yüklenmesini sağlayan ilaç salım sistemlerinin gelişmesi ile birçok hastalığın tedavisi ve yaraların iyileştirilmesi planlanmaktadır. Jiang ve arkadaşları ile Liao ve arkadaşları elektrostatik eğirme yöntemi ile elde ettikleri koaksiyel rastgele düzenlenmiş nanofiberlerden sıgır serum albuminin kontrollü olarak salımını incelemiştir [66, 67]. Geliştirdikleri bu sistemin biyoaktifliğini kaybetmemiş proteinlerin salımı için kullanılabileceğini belirtmiştir. Piras ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada PAM14'e insan serum albumini ve diklofenak sodyum yüklenerek multifonksiyonel bir sistemin oluşturulabileceği görülmüştür [68]. Katti ve arkadaşları elektrostatik eğirme yöntemi ile ürettikleri antibiyotik yüklü PLGA nanofiberlerin yaraların tedavisinde kullanılabileceğini belirtmiştir [69].

2.7.1.3. Yara-Yanık Örtü Malzemesi Olarak Nanofiberler

Nanofiberler spesifik yüzey alanları, yüksek gözenekli yapıları, küçük gözenek boyutları, hafif malzemeler olmaları ve ekstraselüler maktriği gibi vücuttaki birçok yapıyı taklit edebilme özellikleri ile bilinir. Bu özellikleri sayesinde doku iskeleleri, ilaç taşıyıcı sistemler, yara-yanık örtü malzemeleri olarak biyomedikal alanlarda büyük bir potansiyele sahiptir [32]. Nanofiberlerin doğal olarak sahip oldukları bu özelliklerine, yara-yanık örtülerinin de taşınması gereken biyoyumluluk, biyobozunurluk, antibakteriyel, antiviral, yüksek emicilik, mekanik dayanıklılık vb. özelliklerin eklenmesi ile bu fiberlerin yeni jenerasyon yara-yanık örtü malzemesi olarak kullanılması mümkün olmuştur. Nanofiberlerin spesifik yüzey alanları bu yapıları kanamayı durdurucu özellik kazandırır, aynı zamanda nanoölçekli lifler oldukları için de doğal ekstraselüler matriksi taklit edebilir [2]. Ayrıca küçük gözenek çapları ve yüksek gözenekli yapıları sayesinde bakteriyel ve mikrobiyal enfeksiyona neden olabilecek her türlü maddenin geçişini engellemekle birlikte, gaz geçirgenliğine de olanak sağlar. Nanofiberlerin kendiliğinden sahip olmadığı özellikler ise kullanılacak polimerler, etken maddeler, biyoaktif moleküller vb. ile kazandırılabilir. Yara-yanık örtü malzemesi olarak kullanılmak üzere geliştirilen nanofiberlerin üretimi yapılırken genellikle biyobozunur, biyoyumlu vb. özellikler gösteren doğal ve sentetik polimerler kullanılır [8].

Juan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada elektrostatik eğirme yöntemi ile hazırlanan PHBV/*m*-keratin nanofibröz malzemelerin yara örtüsü olarak önemli bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir. Keratinin ekstraksiyonu ile modifikasyonu sonrası elde edilen *m*-keratin, hekzafloroizopropanol (HFIP) çözücüsü kullanılarak PHBV ile karıştırılmıştır. PHBV: Keratin'in kütle oranları 7:3 olarak belirlenmiştir. *In vitro* biyodegradasyon testi üretilen PHBV/*m*-keratin kompozit nanofiberlerin PHB depolimeraz ve tripsin içeren sulu çözeltiler içerisinde degrades olduğunu göstermiştir. Hücre tutunma ve proliferasyon çalışmaları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (PHBV nanofiber) 3T3 NIH hücrelerinin PHBV/*m*-Keratin kompozit nanofiberlere tutunduğunu ve fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu artırdığını ortaya koymuştur [70].

Unnithan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada yara örtüsü olarak kullanılmak üzere elektrostatik eğirme yöntemi ile ciprofloksacin HCl (CipHCl) yüklü poliüretan-dekstran (PU-Dex) nanofiber matlar elde edilmiştir. İlaç yüklü poliüretan-dekstran nanofiber iskelelerin antibakteriyel değerlendirilmesi Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterileri ile yapılmış ve bu nanofiber iskelelerin mükemmel bakterisidal özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Yine ilaç yüklü poliüretan-dekstran nanofiber iskeleler üzerinde kültüre olan 3T3-L1 fibroblastlarının hücre canlılığı, tutunması ve proliferasyonu incelenmiştir. Bu nanofiber iskelelerin fibroblast hücrelerine karşı herhangi bir toksisite göstermediği, aksine hücre büyümesini ve proliferasyonunu artırdığı belirtilmiştir [71].

Abdelgawad ve arkadaşları kitosan bazlı gümüş nanopartikülleri PVA çözeltisi ile karıştırdıktan sonra elektrostatik eğirme yöntemi ile gümüş nanofiber yüklü polivinil alkol/kitosan nanofiber iskeleleri yara-yanık örtüsü olarak kullanmıştır. Bu nanofiber iskelelerin çapraz bağlanmasında glutaraldehitten yararlanılmıştır. Bu nanofiber iskelelerin Gram negatif bakterilerine karşı yapılan antibakteriyel aktivitesi canlı hücre sayım metoduyla belirlenmiştir ve kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında bakteri kolonilerinin sayılarının belirgin bir şekilde azaldığı görülmüştür [72].

Zhao ve arkadaşları yara örtü malzemesi olarak geliştirdikleri kitosan-serisin kompozit nanofiberlerin çaplarının 240-380 nm arasında değiştiğini bildirmiştir. MTT test sonuçları bu kompozit nanofiberlerin L929 fibroblast hücrelerine karşı

sitotoksik etki göstermediğini, DMEM medyumunda 72 saatlik inkübasyon sonrası hücre proliferasyonunu artırdığını göstermiştir. Yine antibakteriyel çalışmalar bu kompozit nanofiberlerin gram pozitif ile gram negatif bakterilere karşı bakterisidal özellik gösterdiğini kanıtlamıştır [73].

Shalumon ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada antibakteriyel yara örtüsü olarak kullanılmak üzere farklı konsantrasyonlarda ZnO nanopartikülleri içeren sodyum aljinat/polivinil alkol kompozit nanofiberler üretilmiştir. Sitotoksikite çalışmaları üretilen kompozit nanofiberlerin içerdiği ZnO konsantrasyonuna bağlı olarak toksisite değerlerinin değiştiğini, yapıdaki ZnO miktarı arttıkça toksik özelliğin de arttığını göstermiştir. Aynı zamanda ZnO nanopartikül içeren sodyum aljinat/polivinil alkol kompozit nanofiberlerin antibakteriyel aktivitesi *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterileri ile incelenmiş ve sonuçlar bu kompozit nanofiberlerin bakterisidal özellik gösterdiğini kanıtlamıştır [74].

Schneider ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *Bombyx mori* ipek böceği kozasından ekstrakte edilen ipek fibroini, polietilen oksit ile karıştırılmış ve epidermal büyüme faktörü (EGF) içeren ve içermeyen çözeltilerden elektrostatik eğirme sonrası ipek nanofiber yapılar elde edilmiştir. SEM analizleri üretilen ipek nanofiberlerin rastgele düzenlendiğini ve ortalama fiber çaplarının yaklaşık 1 mikrometre (µm) olduğunu göstermiştir. İpek nanofiber yapılarıdaki epidermal büyüme faktörlerinin immunoreaktivitesi ELISA ile belirlenmiştir. İnsan deri-eşdeğeri yara iyileşme modeli üzerinde yapılan çalışmalar üretilen ipek nanofiberlerin yara kapanmasını yüksek oranda arttırdığını ortaya koymuştur [75].

Üstündağ ve arkadaşları yara örtüsü olarak kullanılmak üzere elektrostatik eğirme yöntemiyle sodyum aljinat/polivinil alkol nanofiber yüzeyleri elde etmiştir. Her iki polimer de suda çözünür özellik gösterdiğinden, bu nanofiber yüzeylerin çapraz bağlanması glüteraldehit/HCl/aseton karışımı ile gerçekleştirilmiştir. Çapraz bağlama işlemi öncesinde ve sonrasında nanofiber yüzeylerin su tutma kapasiteleri ölçülmüştür. Ayrıca yine bu nanofiberlerin suya dayanım testleri de yapılmıştır. Sonuçlar çapraz bağlı nanofiber yapıların suya dayanıklılığının arttığını göstermiştir. Çapraz bağlama işlemi öncesine ve sonrasına ait SEM analizleri incelendiğinde çapraz bağlama sonrasında nanofiber yüzeylerin nanofiberlerde herhangi bir morfolojik değişime ve çap değişimine yol açmadığı bildirilmiştir [76].

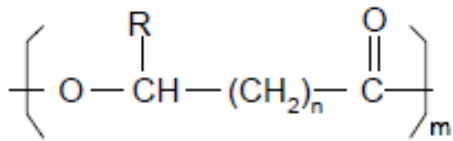
2.7.2. Nanofiberlerin Diğer Uygulama Alanları

Nanofiberler, yeni ve ilginç bir malzeme sınıfı olarak doku mühendisliği uygulamalarında bir süredir yerini almıştır. Nanofiberlerin doku iskeleleri, yara örtüleri, ilaç salım sistemleri olarak kullanımlarının dışında tıbbi implantlar, biyosensörler, moleküler filtrasyonlar, iletken polimer ve kompozitler, katalist yardımcıları, membranlar vb. birçok biyomedikal uygulamaları mevcuttur. Ayrıca nanofiberlerden enerji sektöründe (depolama), savunma sanayisinde (kimyasal ve biyolojik koruma), sağlık sektöründe ve daha pek çok alanda yararlanılmaktadır [2].

2.8. Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) (PHBV)

Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) (PHBV), biyobozunur polyester sınıfına dâhil olan polihidroksialkanoatların (PHA) alifatik alt grubunda yer alan doğal bir polimerdir. Çeşitli mikroorganizmalar besin ve oksijenin yetersiz, karbon kaynağının ise fazla olduğu koşullarda propiyonik asit varlığında bakteriyel fermentasyon ile polihidroksialkanoat ailesinden poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) sentezini gerçekleştirir [37].

Polihidroksialkanoatlar, azot, fosfor, oksijen vb. temel besinlerin sınırlı, karbon kaynaklarının ise fazla olduğu şeker ve(ya) yağ bazlı besi ortamlarında çeşitli mikroorganizmalar (*Alcaligenes eutrophus*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas oleovorans* vb. bakteriler ve diğerleri) ve genetiği değiştirilmiş bitkiler tarafından fermentasyon ile sentezlenirler. Sentezlenen polihidroksialkanoat türü, ortamda bulunan hammadde ile mikroorganizma tarafından belirlenir [37].



Şekil 2.9. PHA'ların genel moleküler yapısı

Çizelge 2.5. n değerlerine ve fonksiyonel gruplara göre bazı polihidroksialkanoatlar

n	R	PHA türü
1	Hidrojen	Poli(3-hidroksipropionat)
1	Metil	Poli(3-hidroksibütirat)
1	Etil	Poli(3-hidroksivalerat)
1	Propil	Poli(3-hidroksiheksanoat)
1	Pentil	Poli(3-hidroksipentanoat)
1	Nonil	Poli(3-hidroksidodekanat)
2	Hidrojen	Poli(4-hidroksibütirat)
3	Hidrojen	Poli(5-hidroksivalerat)

Bakterilerde hücre içi karbon ya da enerji depo materyali olarak görev yapan polihidroksialkanoatlar; doğrusal, kısa zincirli 3-hidroksi yağ asidi monomerleri ile tekrarlanan hidrofobik birimler içermektedir (Şekil 2.9). Farklı monomer kombinasyonlarına göre PHA özellikleri değişmekle birlikte, bazı karakteristik özelliklere sahiptir (Çizelge 2.5). Bu özelliklerden bazıları aşağıda verilmiştir [37].

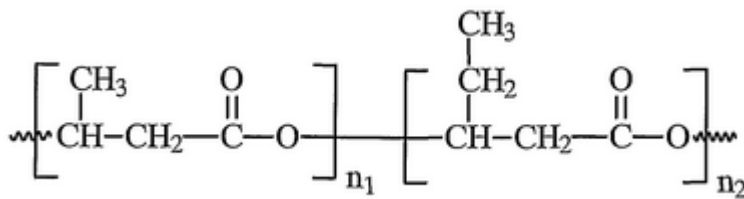
- Molekül ağırlıkları 2×10^5 ile 3×10^5 arasında değişmektedir.
- Termoplastik veya elastomerik materyallerdir.
- Erime noktaları 40°C - 180°C arasında değişmektedir.
- Biyoyumlu ve biyobozunurdur.
- Piezoelektrik, Non-toksik ve genellikle optik açıdan aktiftir.
- Yüksek UV-direnci gösterirleri su buharını geçirmezler.
- Bakterilerde karbon ve enerji deposu olarak görev alırlar.
- N, P, Mg, O_2 'nin az, C'nin fazla olduğu ortamda üretilir.
- Çok sayıda monomeri vardır. Düz ve dallanmış, doymuş ve doymamış yapıların yanı sıra alifatik ve aromatik yan grupları da mevcuttur.

1927 yılında Fransız bilim adamı Lemoigne tarafından keşfi yapılan ilk polihidroksialkanoat türü, poli-3-hidroksibütirattır (P(3HB)). Lemoigne, yaptığı bu çalışmada *Bacillus megaterium* bakterilerinden ekstrakte ettiği iki bileşenin her ikisinin de ampirik formülünün aynı olmasına rağmen, bunlardan birinin kristalin yapıda ve erime noktasının 120°C olduğunu, diğerinin ise amorf yapıda ve erime noktasının 157°C olduğunu belirtmiştir [77]. Daha sonra bu iki bileşenin de farklı

moleküler kütleye sahip polihidroksibütirat olduğunu kanıtlamıştır. PHA'ların keşfi 1920'li yıllara dayansa da, birçok PHA'nın keşfi özellikle son 25 yıl içerisinde yapılmıştır [78].

Polihidroksialkanoatların sahip olduğu pek çok avantaja rağmen, geleneksel termoplastiklerle kıyaslandığında pahalı olma, zor ulaşılabilirlik, kristalinite, zayıf proses yeteneği, düşük degradasyon nedeniyle dar bir sıcaklık aralığında çalışma zorunluluğu ile oda koşullarındaki kırılgan yapısı nedeniyle genellikle tek başlarına kullanılmaz. Bu nedenle polihidroksibütiratlar, polihidroksivaleratlarla belli oranlarda karıştırılarak kopolimerleri hazırlanır [79]. Termal stabilite ve mekanik özellikleri iyileştirilen bu kopolimerler özellikle biyomedikal alanlarda sıkça kullanılır. Polihidroksialkanoatların özelliklerinin geliştirilmesi için uygulanan bir diğer yöntem ise bu polyesterlerin farklı özelliklere sahip diğer polimerlerle blend yapılması veya yapılarına çeşitli farmasötik ajanlar ile katkı malzemeleri eklenmesidir [80].

Polihidroksialkanoatlar toprak, deniz, göl suları ve atık sulardaki mikroorganizmalar tarafından aerobik şartlarda karbondioksit ve suya kadar, anaerobik koşullar altında metana kadar tamamen parçalanabilmektedir [81]. Bu nedenlerle, PHB gibi biyolojik olarak tamamen parçalanabilen doğayla dost plastiklerin sentezi ve endüstriyel uygulamaları her geçen gün artmaktadır. Aynı zamanda bu polyesterler yüksek biyoyuyluluk, biyodegradasyon vb. özellikleri sayesinde son dönemlerde doku mühendisliği ve biyoplastik uygulamalarında çok fazla tercih edilmektedir.



Şekil 2.10. Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat kopolimerinin yapısı.

PHBV'nin de dâhil olduğu polihidroksialkanoatlar, birçok mikroorganizmada karbon ya da enerji depo materyali olarak biriktirilir. Biriktirilen bu polyesterlerin hücre içi konsantrasyonları oldukça yüksektir. Yeterli besin temin edildiğinde, polihidroksialkanoatlar intraselüler depolimeraz enzimleri ile parçalanır [82].

Poli(3-hidroksibütirat-co-hidroksivalerat), poli-3-hidroksibütirat (P(3HB)) ve poli-3-hidroksivaleratın (P(3HV)) kopolimeri olup, günümüzde üzerinde yoğun olarak çalışılan ve en fazla endüstriyel üretimi yapılan polihidroksialkanoat ailesi üyelerindedir. İlk olarak 1983 yılında İngiliz firması Imperial Chemical Industries (ICI) tarafından Biopol ® (günümüzde Mosanto, USA) ticari marka altında piyasaya sürülmüştür. Bunun dışında Nodax® (Procter&Gamble,USA and Kaneka corporation, Japan), Eamat® (Tianan,China) ve Biomer P® (Biomer, Germany) gibi farklı ticari markalar altında sunulan P(3HB) ve PHBV'ler mevcuttur [80, 83].

PHBV'nin degradasyonu 3-hidroksivalerat yüzdesine bağlı olarak değişiklik gösterir. Degradasyon kinetiği, kopolimer veya homopolimer yapısına, kristaliniteye ve proses koşullarına bağlıdır [86]. Karbon kaynağına bağlı olarak, yapısında %47'ye kadar 3-hidroksivalerat (3HV) birimi içerebilir. Kopolimerdeki 3-hidroksibütirat (3HB) biriminin, 3-hidroksivalerat (3HB) birimine oranı, polimerin özelliğini tanımlar. Yapıda bulunan 3-hidroksivalerat birimlerinin içeriğine bağlı olarak, kopolimerin fiziksel özellikleri (erime noktası, camsı geçiş sıcaklığı vb.) ve mekanik özellikleri (tensile strength, Young's modulus) modifiye edilebilir [84]. Yapıdaki 3-hidroksivalerat birimi içeriği arttıkça kopolimerin erime noktası, camsı geçiş sıcaklığı, kristalinitesi, gerilim kuvveti ile Young's Modulus'ü azalırken; 3-hidroksivalerat birimi içeriğinin azalması etki kuvvetinde (impact strength) artışa neden olur. Aynı zamanda düşük 3-hidroksivalerat içeriği polimerin kırılma ve sert olmasına yol açarken, yüksek 3-hidroksivalerat içeriği termoplastik davranışa neden olan polimerin dayanıklılığını ve fleksibilitesini artırır [85].

Çizelge 2. 6. Hidroksivalerat içeriğine göre PHA kopolimerlerinin fiziksel özellikleri

Hidroksivalerat İçeriği (%)	T _g (°C)	T _m (°C)	Tensile Strength (MPa)	Young's Modulus (GPa)	Notched Izod Impact (J/m)
0	10	179	40	3.5	50
3	8	170	38	2.9	60
9	6	162	37	1.9	95
14	4	150	35	1.5	120
20	-1	145	32	1.2	200
25	-6	137	30	0.7	400

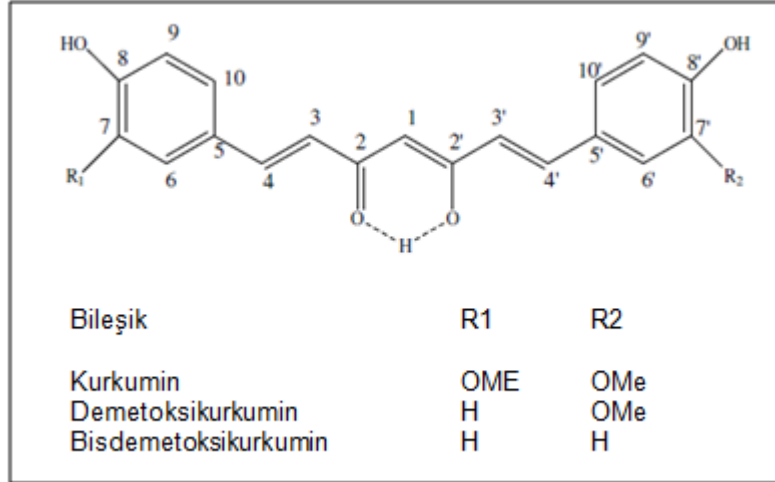
Optikçe aktif, termoplastik alifatik bir polyester olan PHBV, aynı zamanda biyouyumlu, biyobozunur, semi-kristalin, piezoelektrik, hidrofobik, non-toksik ve yüksek stereodüzenlilik gibi özelliklere sahip olmasıyla bilinir [79]. Aynı zamanda kullanımı kolaydır ve kompleks saflaştırma prosesleri gerektirmez [86]. Sahip olduğu bu eşsiz özellikleri ile sütür, doku iskelesi, yara-yanık örtü malzemeleri, prostetik cihazlar, ilaç taşıyıcı sistemler olarak doku mühendisliği ve biyomedikal alanlarda sıkça kullanılır. Ayrıca paketlenme, tıp ve gıda sektöründe de kullanımları mevcuttur [87].

Han ve arkadaşları biyolojik yara örtüsü olarak geliştirdikleri PHBV nanofiber matriksleri saç foliküler epitelyal hücreler ve dermal hücreler ile kokültüre ettiklerini bildirmiştir. Kokültüre edilmiş PHBV nanofiber matrikslerin yara kapanma ve re-epitelizasyonuna pozitif etki gösterdiği ve hücre tutunma ile büyümesi için uygun ortamı sağladığı belirtilmiştir. Ayrıca hazırlanan bu PHBV nanofiber matrikslerin yarayı nemli tuttuğu ve iyileşme süresince mekanik dayanıklılık sağladığı vurgulanmıştır [88].

Kuppan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada doku mühendisliğinde kullanılmak üzere geliştirilen R-Spondin-1 yüklü PHBV nanofiberlerin, 2 boyutlu PHBV filmlerle kıyaslandığında (fare modelinde) topografi, kimyasal ve mekanik uyarıcılara bağlı olarak kollajen üretimini, hücre proliferasyonu, gen ekspresyonunu ve yara kapanmasını artırdığı bildirilmiştir [89].

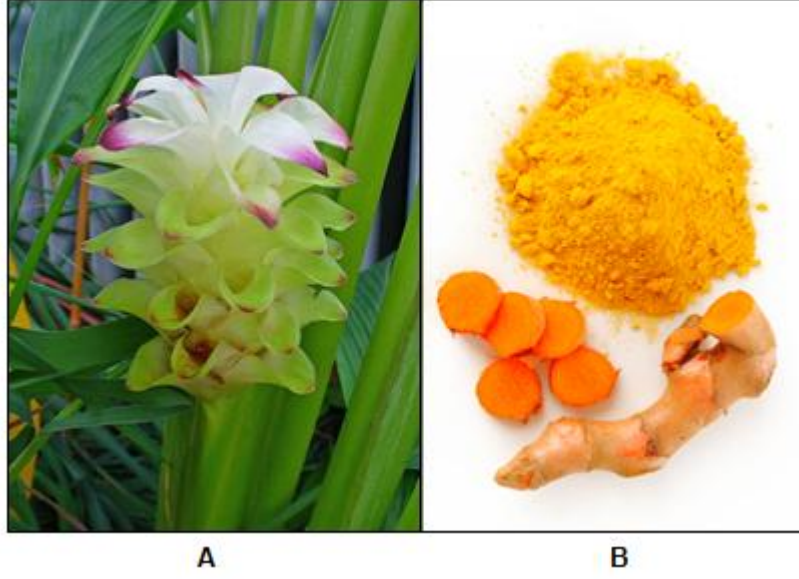
2.9. Kurkumin

Curcuma longa L. isimli tropik bitkinin rizomlarından izole edilen Turmerik'in aktif bir bileşeni olan kurkumin, özellikle Hindistan başta olmak üzere pek çok Asya ülkelerinde gıda sektöründe ve geleneksel tıp alanında yaygın olarak kullanılmasıyla bilinmektedir. Turmerik sarı renkli bir toz (baharat) olup, turmerik yumruları yapılarında yüksek oranda turmerin, esansiyel yağlar ve kurkuminoidler (kuru ağırlık olarak % 4-8 oranında) içerir [90, 91].



Şekil 2.11. Kurkuminoidlerin yapısı

Kurkuminoidler, doğada enol ve keto olmak üzere en az iki tautomerik formda bulunan ve Turmerik'in sarı rengi ile biyolojik aktivitesinden sorumlu olan lineer difenilheptanoid sınıfına ait polifenollerdir. Keto formuna göre daha kararlı olan enol formunun yapısında iki adet doymamış karbonil grubu, iki aromatik halka ve bu halkalara bağlı metoksi grupları bulunur [90]. Kurkuminoidlerin temel bileşenleri kurkumin (Kurkumin I veya diferuloylmethane), demetoksikurkumin (Kurkumin II), bisdemetoksikurkumin ve siklokurkumin (Kurkumin III) olmak üzere 3 adettir. Kurkuminin (1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion) kapalı formülü $C_{21}H_{20}O_6$, erime noktası $184^{\circ}C$ 'dir. Kloroform, aseton, dimetilformamid (DMF), DMSO vb. pek çok organik çözücüler ile alkali çözeltilerinde çözünen kurkuminin, sudaki çözünürlüğü oldukça düşüktür [91, 92].



Şekil 2.12. (A) *Curcuma longa* L. bitkisi, (B) Turmerik

Sahip olduğu biyolojik aktivitesinden ve yara iyileştirme özelliğinden dolayı kurkumin üzerinde çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral, antimikrobiyal, antikarsinojenik vb. birçok farmasötik özelliği sayesinde tıp ve sağlık bilimleri ile daha birçok alanda kullanılır [93, 94]. Antineoplastik, antiapoptotik, antianjiyogenik, sitotoksik, immün düzenleyici, antitrombotik, yara iyileştirici, antistresör, antilitojenik ve antidiyabetojenik vb. potansiyel terapötik özellikler gösterdiği birçok uygulaması mevcuttur. Ayrıca gıda sektöründe (boya, kaplama vb.) yaygın olarak kullanım bulmaktadır [95].

Kurkuminin sahip olduğu pek çok avantajın yanında, kullanımını kısıtlayan bazı dezavantajları da mevcuttur. Kurkumin, ışığa duyarlıdır. Bu duyarlılık, alüminyum iyonlarının ortama eklenmesiyle azaltılır. Belli bir konsantrasyonun üzerinde sitotoksik özellik gösterir. *In vivo* kararlığı ve biyoyararlanımı düşüktür. Yapılan çalışmalarda günlük 450-3600 mg oral uygulama sonrası periferik veya portal sirkülasyonda nanomolar düzeyde kurkumine rastlanmıştır [96].

Sidhu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kurkuminin yara iyileşmesine olan etkileri birçok hayvan deneyi ile incelenmiştir. Kurkumin ile muamele edilen normal ve genetik olarak diyabetik farelerde yara kapanmasının kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir. Aynı zamanda hücresel ve moleküler düzeylerde, kurkuminin neovaskülarizasyon ve re-epitalizasyonu geliştirdiği,

dönüştürücü büyüme faktörü- β 1 ve fibronektinin ekspresyonu ile üretimini artırdığı ve hücre ölümünü azalttığı bildirilmiştir [97].

Merrell ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada diyabetik yara örtüsü olarak kullanılmak üzere kurkumin yüklü poly(ϵ -caprolactone) matrisler elde edilmiştir. Diyabetik fare modeli üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalar kurkumin yüklü poly(ϵ -caprolactone) nanofiberlerin düşük konsantrasyonlarda epidermin re-epitelizasyonunu hızlandırdığını, yara yatağına myofibroblast, fibroblast ve makrofajların da dâhil olduğu çeşitli hücrelerin göçünü artırdığını ortaya koymuştur. Düşük konsantrasyonlarda kurkuminin neovaskülarizasyonu ve kollajen üretimini artırdığı, yüksek konsantrasyonlarda ($>25 \mu\text{M/L}$) ise kurkuminin sitotoksik etkilerinin gözlemlendiği belirtilmiştir [96].

Suwantong ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada yara örtüsü olarak hazırlanan kurkumin yüklü selüloz asetat fiber matrislerin *in vitro* biyolojik değerlendirilmesinde kurkuminin normal insan dermal fibroblastlara karşı sitotoksik etki göstermediği, aksine hücre tutunmasını ve proliferasyonunu artırarak yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir [98].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal

Tez kapsamında sunulan çalışmalarda kullanılan malzemeler ile bu malzemelerin temin edildikleri firmalar ve menşeleri aşağıda verilmiştir.

- Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) kopolimeri, poli(3-hidroksivalerat) içeriği: %5 wt (ağırlıkça), Sigma Aldrich, St.Louis/Missouri-Amerika Birleşik Devletleri
- Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivalerat) kopolimeri, poli(3-hidroksivalerat) içeriği: %8 mol ~%9 wt, Sigma Aldrich, St.Louis/Missouri-Amerika Birleşik Devletleri
- Kurkumin (1,7-Bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion), Merck Millipore, Darmstadt-Almanya
- Kloroform (\geq %99), Sigma Aldrich, St.Louis/Missouri-Amerika Birleşik Devletleri
- *N,N*-Dimetilformamid (\geq %99), Sigma Aldrich, St.Louis/Missouri-Amerika Birleşik Devletleri
- Lizozim (\geq %90 protein, tek zincir molekül ağırlığı: 14.3 kDa), Sigma Aldrich, St.Louis/Missouri-Amerika Birleşik Devletleri
- İzopropanol (\geq %99.7), Sigma Aldrich, St.Louis/Missouri-Amerika Birleşik Devletleri
- Hidroklorik asit (Konsantrasyon: 0.1M), Fluka, Amerika Birleşik Devletleri
- Dulbecco's modified Eagle's medium (%10 fetal bovine serum (FBS), %1 L-glutamin, %1 antibiyotik (Penicillin/Streptomycin), Biochrom, Berlin-Almanya
- Tripsin/EDTA, Biochrom, Berlin-Almanya
- L-glutamin, Biochrom, Berlin-Almanya
- Fetal sığır serumu (FBS), Biochrom, Berlin-Almanya
- Penisilin/Streptomisin, Biochrom, Berlin Almanya
- Fosfat tamponlu tuz (PBS), Sigma Aldrich, St.Louis-Amerika Birleşik Devletleri
- Hekzametildisiloksan (\geq %98), Sigma Aldrich, St.Louis-Amerika Birleşik Devletleri
- Gluteraldehit (Konsantrasyon: %50 H₂O içinde), Sigma Aldrich, St.Louis/Missouri--Amerika Birleşik Devletleri

- Thiazolyl blue tetrazolium bromide (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide, MTT), Sigma Aldrich, St.Louis/Missouri-Amerika Birleşik Devletleri
- L929 Fibroblast Hücresi, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Şap Enstitüsü Müdürlüğü, Türkiye

3.2. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Üretimi

3.2.1. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Sentezinde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması

Kurkumin içermeyen PHBV nanofiberlerin üretimi için öncelikle PHV içeriği ağırlıkça %5 ve %9 olan iki farklı PHBV polimeri sırasıyla kloroform, DMF ve kloroform/DMF (50:50 v/v) çözücüleri içinde manyetik karıştırıcı yardımıyla (70°C'de ve 1250 rpm karıştırma hızında, 30 dakika süre ile) çözülmüştür ve böylece 3 farklı konsantrasyonda (%10, %13 ve %15 w/v) PHBV çözeltileri hazırlanmıştır.

Etken madde yüklü PHBV nanofiberlerin üretimi için, kurkuminin farklı konsantrasyonları (%0.25, %0.1, %0.3, %0.5, %1 ve %3 w/v), yukarıda hazırlama prosedürü verilen polimer çözeltilerine (10%, 13%, 15% w/v) ilave edilmiştir. Kurkuminin çözelti içerisinde homojen dağılımını sağlamak amacıyla, hazırlanan çözeltiler manyetik karıştırıcı yardımıyla oda koşullarında farklı periyotlarda (2-24 saat) karıştırılmıştır. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların sentezinde kullanılan farklı polimer çözeltilerine ait tez kapsamında incelenen parametreler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların sentezinde kullanılan farklı polimer çözeltilerine ait parametreler.

Formülasyon	PHV (%)	PHBV (mg)	PHBV Konsantrasyonu (w/v)	Kurkumin (mg)	Kurkumin Konsantrasyonu (w/v)	Çözücü	Çözücü Miktarı (mL)	Karıştırma Süresi (sa)
1	5	100	%10	-	-	Kloroform	1	-
2	9	300	%10	-	-	Kloroform	3	-
3	9	130	%13	-	-	Kloroform	1	-
4	9	150	%15	-	-	Kloroform	1	-
5	9	150	%15	-	-	DMF	1	-
6	5	200	%10	5	%0.25	Kloroform	2	2

7	5	200	%10	10	%0.5	Kloroform	2	2
8	5	200	%10	20	%1	Kloroform	2	2
9	5	325	%13	75	%3	Kloroform	2.5	2
10	9	300	%15	15	%1	Kloroform/ DMF(60:40)	2	17
11	9	150	%15	1	%0.1	Kloroform	1	17
12	9	150	%15	3	%0.3	Kloroform	1	17
13	9	150	%15	5	%0.5	Kloroform	1	17
14	9	300	%10	1	0.1	Kloroform	3	17
15	9	300	%10	3	0.3	Kloroform	3	17
16	9	300	%10	5	0.5	Kloroform	3	17
17	9	240	%24	1	0.1	Kloroform	1	17
18	9	240	%24	3	0.3	Kloroform	1	17
19	9	240	%24	5	0.5	Kloroform	1	17

3.2.2. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Elektrostatik Eğirme Yöntemi ile Sentezlenmesi

Çizelge 3.1'de verilen konsantrasyonlarda hazırlanan kurkumin içeren ve içermeyen PHBV çözeltilerinin her biri ayrı ayrı şırıngalara yüklendikten sonra elektrostatik eğirme yöntemi yardımıyla PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar sentezlenmiştir.

3.3. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Karakterizasyon Çalışmaları

3.3.1. Morfolojik Analiz

Elektrostatik eğirme yöntemi ile hazırlanan PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların yüzey morfolojileri ve fiber çapları, taramalı elektron mikroskobu (FEI-SEM, Quanta 200) yardımıyla, 3kV'lik hızlandırma voltajında farklı magnifikasyonlarda analiz edilmiştir. Morfolojik analiz öncesi PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofiberler uygun boyutlarda kesilerek SEM örnek stublarına yerleştirilmiştir. Görüntüleme öncesi iletken bir tabaka oluşturmak amacıyla örnekler 1.5 dakika süreyle püskürtme yöntemi kullanılarak Au-Pd ile kaplanmıştır. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların ortalama fiber çapları Image J programı kullanılarak ölçülmüştür.

3.3.2. Mekanik Test

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların mekanik özellikleri (Elastik Modülüs, Gerilim Kuvveti, Maksimum Uzama) Zwick Z010 çekme test cihazıyla incelenmiştir. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofiberler, ASTM D683-Tip V standartlarına uygun olarak kesilmiştir. Kesilen örnekler uç kısımlarından çekme test cihazının tutma birimlerine monte edilmiş ve 10 kN'luk kuvvetle çalışılmıştır.

3.3.3. ATR-Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi (ATR-FTIR)

Hazırlanan nanofibriler yapıların kimyasal yapısı, ATR-FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir (FTIR, Spectrum 100, Perkin Elmer). İnfrared spektrumlar 4000-400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında ve 4cm^{-1} çözünürlükte alınmıştır.

3.3.4. X-Işınları Difraksiyonu (XRD)

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların X-Işınları difraksiyonu analizleri çok amaçlı X-Işınları difraktometresi (Pananalytical X'pert Pro MPD) yardımıyla Cu K α radyasyon ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$) kullanılarak yapılmıştır.

3.3.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

PHBV ve Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların termal karakterizasyonu diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC, Netzsch) yardımıyla yapılmıştır. Ortalama örnek ağırlığı 5 mg, sıcaklık aralığı 0-270°C, ısıtma oranı 10°C/dk ve N₂ akış hızı 30mL/dk olarak belirlenmiştir. ΔH_m° kristalin polimerin entalpi değeri, ΔH_m DSC termogramlarından elde edilen erime entalpisi olmak üzere örneklerin kristalinite derecesi (X) Eşitlik 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$X = \Delta H_m / \Delta H_m^\circ \quad [3.1]$$

3.3.6. *In Vitro* Kurkumin Salım Çalışmaları

Kurkuminin nanofibriler yapılardan salım profillerinin incelenmesi amacıyla kurkumin PBS tamponu içerisinde farklı derişimlerde çözülmüş ve UV-spektrofotometre kullanılarak 426 nm dalga boyunda bu çözeltilerin absorpsansları ölçülerek standart kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Bütün çalışmalar $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de ve pH 7.4 ± 0.2 'de gerçekleştirilmiştir. Kurkumin yüklü nanofibriler yapılardan *in vitro* etken madde salım profilinin tayini amacıyla örnekler 1x1 cm kesilerek deney tüplerine eklenmiştir. Nanofiber yapılar pH'sı 7.4 olan 10 mL'lik PBS tampon çözeltisi ile vücut sıcaklığında çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir. Sırasıyla 15, 30, 60, 120, 180 ve 300. dakikada salım ortamından 1.5 mL çözelti

alınarak eppendorf tüplerine eklenmiştir ve ardından her deney tüpüne 1.5 mL taze PBS eklenmiştir. UV-spektrofotometre kullanılarak 426 nm dalga boyunda örnekler için absorbanlar kaydedilmiş ve kalibrasyon grafiği kullanılarak *in vitro* ilaç salım profili oluşturulmuştur.

3.3.7. Su Tutma Kapasitesi

PHBV ve Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların su tutma kapasitesinin belirlenmesi için öncelikle nanofiberlerin kuru ağırlığı (W_d) tartılmıştır. Tartım işlemi takiben nanofiberler PBS çözeltisine (pH 7.4, 37°C) eklenmiştir. Belirli zaman aralıklarında (60, 120, 180, 240, 300, 360. dakika) nanofibriler yapılar PBS ortamından alınıp, fazla su filtre kağıdı yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra tekrar tartılmıştır. W_d PBS çözeltisine daldırma öncesi, W_w ise PBS çözeltisine daldırma sonrası nanofiber yapıların ağırlığı olmak üzere, nanofiber yapıların su tutma kapasitesi Eşitlik 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Su alımı} = (W_w - W_d) / W_d \times 100 \quad [3.2]$$

3.3.8. *In Vitro* Biyodegradasyon Çalışmaları

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar, 2x2 cm kesilmiştir. Kesim işlemi sonrası örnekler 24 saat süreyle 50°C'de vakumda kurutulmuştur. Daha sonra örnekler hassas terazide tartılarak, bu örneklerin başlangıç kuru ağırlıkları (W_i) yaklaşık 10 mg olarak ölçülmüştür. Her örnek 3 mg lizozim (10^4 unit/mL) ve 10 mL PBS içeren (pH 7.4, 0.1M) deney tüplerine daldırılmıştır ve 37°C'de inkübe edilmiştir. 24 saatlik periyotlarla inkübasyon sonrası degradasyon ortamından alınan örnekler distile su ile yıkanmıştır ve 1.5 saat süreyle etüvde kurutulduktan sonra, degradasyon sonrası kuru ağırlıkları (W_f) ölçülmüştür. Örneklerin, 14 gün boyunca yüzde kütle azalmalarından (%WL) yararlanılarak degradasyon profilleri oluşturulmuştur. Örneklerin kütle azalmaları, Eşitlik 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%WL = (W_i - W_f) / W_i \times 100 \quad [3.3]$$

Eşitlikte W_i , örneğin degradasyon öncesi kuru ağırlığını, W_f ise degradasyon sonrası kuru ağırlığını ifade etmektedir.

3.4. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Hücre Kültürü Çalışmaları

MTT testi hücre canlılığının belirlenmesinde kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir [99]. Bu yöntem, metabolik olarak aktif hücrelerin mitokondrilerinden sekrete olan dehidrogenaz enzimleri yardımıyla sarı renkli tetrazolium tuzunun(3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide), suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine indirgenmesine dayanmaktadır [100]. MTT analizi sonrası oluşan formazan kristallerinin yoğunluğu, ortamda bulunan canlı hücre sayısı ile orantılıdır [99, 100]. Bu nedenle *in vitro* sitotoksosite ve hücre proliferasyon çalışmalarında hücre canlılığının belirlenmesinde bu yöntemden yararlanılmıştır.

3.4.1. *In Vitro* Sitotoksosite Testi (MTT)

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların *in vitro* sitotoksosite çalışmaları ISO10993-5 standartlarına uygun olarak MTT testi ile yapılmıştır [100]. Çalışmalarda L929 fare fibroblast hücre hattı ile 24 ve 96 kuyucuklu doku-kültür polistiren plakaları (24 and 96 well tissue culture polystyrene plate (TCPS)) kullanılmıştır. Medikal alanda kullanılacak polimerik malzemelerin sitotoksisiteleri, çoğunlukla degradasyon ürünlerinin sitotoksisitelerinden ileri geldiği için, *in vitro* sitotoksosite değerlendirilmesinde, malzemelerin ekstraktları kullanılmıştır [101]. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar 1x1 cm ($n=6$) kesilerek örnekler hazırlanmıştır. Daha sonra örnekler 1 saat süreyle UV ışığına maruz bırakılarak sterilize edilmiştir. Malzemelerin ekstraktlarının elde edilmesi için, kesilen örnekler 24 kuyucuklu plakaya yerleştirildikten sonra kuyucuklara 6mL/1cm² DMEM vasatı (%10 FBS, %1 L-glutamin, %1 antibiyotik (Penisilin/Streptomisin)) eklenmiş ve 72 saat süreyle inkübatörde (Thermo Scientific HeraCell, Almanya) bekletilmiştir.

In vitro sitotoksosite çalışması için 1×10^4 /kuyucuk L929 fare fibroblast hücresi, 96 kuyucuklu plakaya ekildikten sonra, 37°C'de ve %5 CO₂ ile nemlendirilmiş atmosferde DMEM vasatı (%10 FBS, %1 L-glutamin ve % 1 antibiyotik (Penicillin/Streptomycin) ile desteklenmiş) ile 24 saat kültüre edilmiştir. Bu süre sonunda kuyucuklardan vasat alınarak, her kuyucuğa örneklerin 3 gün süreyle içinde bekletildikleri ekstraksiyon vasatı eklenmiştir. 24 saat inkübasyonu takiben kuyucuklardaki vasat uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa 100µL taze DMEM vasatı ile 50 µL MTT çözeltisi eklenmiştir. 96 kuyucuklu doku-kültür polistiren plaka karanlık

ortamda 4 saat süreyle inkübe edilmiştir (37°C, %5 CO₂). Bu süre sonunda plakadaki vasat atılarak, her kuyucuğa 100µL 0.1N HCl-izopropanol çözeltisi eklenmiştir. Ardından plaka 30 dakika süreyle karanlık bir ortamda bekletilmiş, takiben pipetaj yapılmış ve çözeltiler yeni bir 96 kuyucuklu plakaya aktarılmıştır. Son olarak ELISA Microplate Reader yardımıyla 570nm dalga boyunda absorbands değerleri ölçülerek, % hücre canlılığı belirlenmiştir.

3.4.2. Hücre Tutunması ve Proliferasyonu

3.4.2.1. Hücrelerin Hazırlanması

Hücre tutunması ve proliferasyon çalışmaları için standart hücre hattı olan L929 fare fibroblast hücreleri kullanılmıştır. Bu hücreler, %10 FBS, % 1 antibiyotik (Penicillin/Streptomycin) ve %1 L-glutamin destekli DMEM vasatı ile kültüre edilmiş ve 37°C'de %5 CO₂ içeren nemli atmosferde çoğaltılmıştır.

3.4.2.2. Nanofiber-Hücre Etkileşiminin İncelenmesi

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar 1x1 cm ($n=6$) kesilmiştir. Hücre ekimi öncesi, örnekler 20 dakika süreyle UV ışığına maruz bırakılarak sterilize edilmiştir. Örnekler 12 kuyucuklu doku kültür polisitren plaka içerisinde 3 defa PBS çözeltisiyle yıkanmıştır. PBS ile yıkama sonrası kuyucuklardaki her bir örneğe 1×10^5 L929 fare fibroblast hücresi (1×10^5 /kuyucuk) ekildikten sonra, bu kuyucuklara taze DMEM vasatı (%10 FBS, %1 L-glutamin ve % 1 antibiyotik (Penicillin/Streptomycin) ile desteklenmiş) eklenmiştir. Bu vasat her iki günde bir değiştirilerek 2 hafta boyunca bu işleme devam edilmiştir. Örnekler üzerinde kültür edilen hücrelerin proliferasyonu, 7. ve 14. günlerde MTT yöntemi ile değerlendirilmiştir. 7. ve 14. günlerde örnekler PBS çözeltisi ile yıkanarak, yapışmanın sağlanmadığı hücreler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Ardından örneklerin üzerine 100'er µL MTT çözeltisinden eklenmiştir. MTT çözeltisiyle 4 saatlik inkübasyon sonrası ortamdaki vasat uzaklaştırılarak, her bir ortama 1 mL izopropanol-HCl çözeltisi eklenmiştir. Bu işlemi takiben, ortamlardan 100'er µL vasat çekilerek, bu vasatlar 96 kuyucuklu plakaya alınmıştır ($n=6$). ELISA Microplate Reader kullanılarak 570 nm'de absorbands değerleri ölçülmüştür [102].

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların hücre tutunmaları, SEM ile değerlendirilmiştir. 7. ve 14. gün sonrası vasatlardan alınan örnekler PBS ile yıkandıktan sonra % 2.5 (v/v) gluteraldehit çözeltisinde yarım saat süreyle fikse edilmiştir. PBS ile tekrar yıkanan örnekler, sıralı alkol çözeltilerinde (% 25, 30, 50,

70, 90, 96, 100 etanol) 10'ar dakika bekletilerek, dehidrasyon sağlanmıştır. Daha sonra 6rneklerin y6zeyine 1'er damla Hekzametildisiloksan (HMDS) damlatılarak fiksasyon işlemi tamamlanmıştır. Numuneler SEM analizine kadar +4°C'de saklanmıştır. SEM analizi 6ncesi 6rnekler platinle kaplanmış ve g6r6nt6leme yapılmıştır.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

4.1. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Elektrostatik Eğirme Parametreleri

Elektrostatik eğirme yöntemi ile 19 farklı formülasyon ve değişen elektrostatik eğirme parametrelerine ait değerler (Çizelge 4.1) kullanılarak üretilen PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar taramalı elektron mikroskobu yardımıyla incelenmiştir. % 10, %13 ve %15 (w/v) PHBV ve %0.1, %0.25, %0.3, %0.5, %1 ve %3 (w/v) Kurkumin konsantrasyonlarında hazırlanan PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılardan en iyi morfolojiye sahip 9 örnek seçilerek, bu örneklerin SEM analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçları, en düşük ortalama fiber çapları ile en düzgün morfolojiye sahip nanofiberlerin üretiminin aşağıda belirtilen koşullarda gerçekleştiğini göstermiştir

- **PHBV çözelti konsantrasyonu :** %10 (w/v)
- **Kurkumin konsantrasyonu:** %0.1, %0.3, %0.5 (w/v)
- **Akış hızı:** 0.01mL/dk
- **Şırınga iğnesi iç çapı:** 0.4 mm
- **Voltaj:** 17kV
- **Çalışma mesafesi:** 20 cm
- **Çözücü:** Kloroform
- **Çözelti Karıştırma Süresi:** 24 saat

Çizelge 4.1. PHBV ve Kurkumin yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Elektrostatik Eğirme Parametreleri.

Formülasyon	PHBV Konsantrasyonu (w/v)	Kurkumin Konsantrasyonu (w/v)	Akış Hızı (mL/dk)	Voltaj (kV)	Çalışma Mesafesi (cm)	Fiber Morfolojisi
1	%10	-	0.05	10	17	Boncuksuz, düzgün fiber yapısı
2	%10	-	0.05	17	20	Boncuksuz, düzgün fiber yapısı
3	%13	-	0.05	10	15	Az boncuklu düzgün fiber yapısı

4	%15	-	0.05	13	20	Boncuksuz, düzgün fiber yapısı
5	%15	-	0.05	13	20	Boncuklu, düzgün olmayan fiber yapısı
6	%10	%0.25	0.05	10	20	Az boncuklu, düzgün olmayan fiber yapısı
7	%10	%0.5	0.05	22	20	Az boncuklu, kısmen düzgün fiber yapısı
8	%10	%1	0.05	10	15	Boncuklu, kısmen düzgün fiber yapısı
9	%13	%3	0.05	10	17	Boncuklu, düzgün olmayan fiber yapısı
10	%15	%1	0.05	22	23	Boncuklu, yüzeiden kalkmayan fiber yapısı
11	%15	%0.1	0.01	13	20	Boncuksuz düzgün ve ipliksi fiber yapısı
12	%15	%0.3	0.01	13	20	Boncuksuz düzgün ve ipliksi fiber yapısı
13	%15	%0.5	0.01	13	20	Boncuksuz düzgün ve ipliksi fiber yapısı
14	%10	0.1	0.01	17	20	Boncuksuz, düzgün fiber yapısı

15	%10	0.3	0.01	17	20	Boncuksuz, düzgün fiber yapısı
16	%10	0.5	0.01	17	20	Boncuksuz, düzgün fiber yapısı
17	%24	0.1	0.01	15	20	Boncuklu, düzgün olmayan fiber yapısı
18	%24	0.3	0.01	15	20	Boncuklu, düzgün olmayan fiber yapısı
19	%24	0.5	0.01	15	20	Boncuklu, düzgün olmayan fiber yapısı

Genel olarak Çizelge 4.1'de incelenen parametreler dikkate alındığında çözelti konsantrasyonu, akış hızı, şırınga iğnesi iç çapı ve uygulanan voltaj değerlerindeki azalma ile çalışma mesafesindeki artmanın, daha düşük çaplı ve boncuksuz fiberlerin üretilmesini sağladığı görülmüştür. Çözelti içerisinde artan polimer ile etken madde konsantrasyonu boncuklu nanofibriler yapılardaki boncukların sayısında artışa neden olmuştur. Bu sonuçlar, aynı zamanda literatürde belirtilen çözelti parametreleri ile elektrostatik eğirme parametrelerinin fiber çaplarına ve morfolojilerine olan etkileriyle örtüşmektedir [49, 87]. Bu nedenle karakterizasyon ve hücre kültürü çalışmalarına çözücü olarak kloroformun kullanıldığı, %10 (w/v) polimer konsantrasyonunda üretilen PHBV nanofibriler yapılar (Çizelge 4.1'de formülasyon 2'ye ait veriler) ile yine aynı polimer konsantrasyonunda hazırlanmış %0.1, %0.3 ve %0.5 (w/v) (Çizelge 4.1'de formülasyon 14, 15 ve 16'ya ait veriler) kurkumin içeren PHBV nanofibriler yapılar kullanılarak devam edilmiştir.

4.2. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Karakterizasyon Çalışmaları

4.2.1. Morfolojik Analiz

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların yüzey ve kesit morfolojileri ile fiber çapları taramalı elektron mikroskobu kullanılarak incelenmiştir. Fiber çapları ayrıca Image J programı kullanılarak hesaplanmış olup, minimum, maksimum ve

ortalama fiber çapları Çizelge 4.2’de, elde edilen SEM görüntüleri ise Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3’te verilmiştir. Elektrostatik eğirme parametreleri (akış hızı: 0.01mL/dk, şırınga iğnesi iç çapı: 0.4mm, uygulanan voltaj: 17kV, çalışma mesafesi: 20cm) ile polimer çözelti konsantrasyonu (%10 (w/v)) sabit tutularak, değişen kurkumin konsantrasyonuna (%0.1, %0.3 ve %0.5 (w/v)) bağlı olarak üretilen nanofiberlerin SEM görüntüleri 20000x ve 40000x magnifikasyonlarda alınmıştır. Yüzey ve kesit SEM görüntüleri yüksek gözenekliliğe sahip nanofibröz yapıların elde edildiğini ortaya koymaktadır. Elde edilen rastgele yönlendirilmiş nanofiberler düzgün, boncuksuz ve homojen dağılımlı olup, ortalama fiber çapının kurkumin içermeyen PHBV nanofiberlerde 519 nm ile en yüksek değere, %0.5 (w/v) kurkumin içeren PHBV nanofiberlerde ise 207 nm ile en düşük değere sahip olduğu görülmüştür.

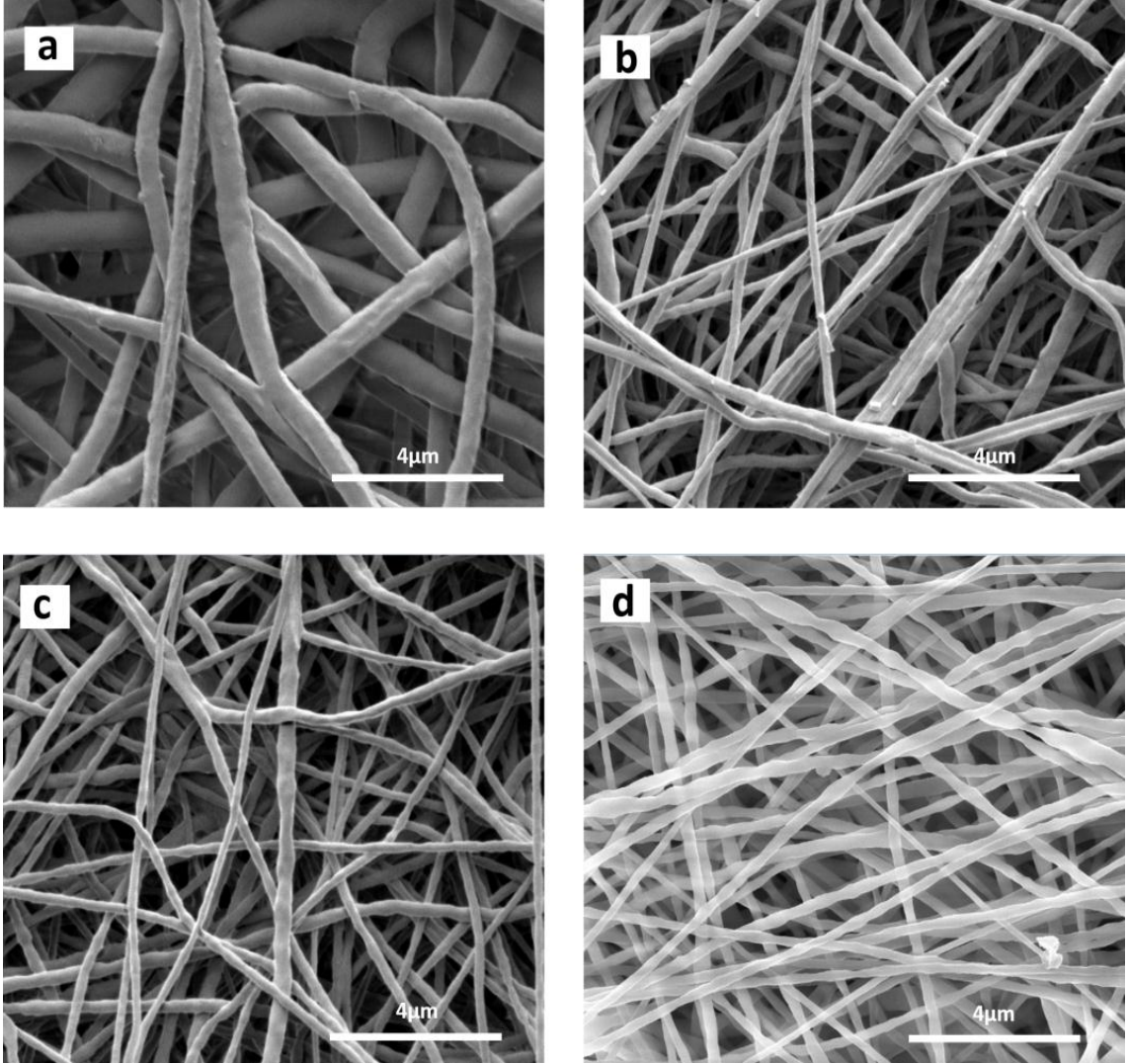
Çizelge 4.2. Elektrostatik eğirme yöntemi ile üretilen PHBV ve farklı konsantrasyonlarda kurkumin içeren PHBV nanofiberlerin çap analizi.

Nanofibriler Yapılar	Minumum Nanofiber Çapı (nm)	Ortalama Nanofiber Çapı (nm)	Maksimum Nanofiber Çapı (nm)
PHBV	255	519±15	838
PHBV/(0.1)Cur	174	304±94	598
PHBV/(0.3)Cur	50	215±48	315
PHBV/(0.5)Cur	151	207±56	259

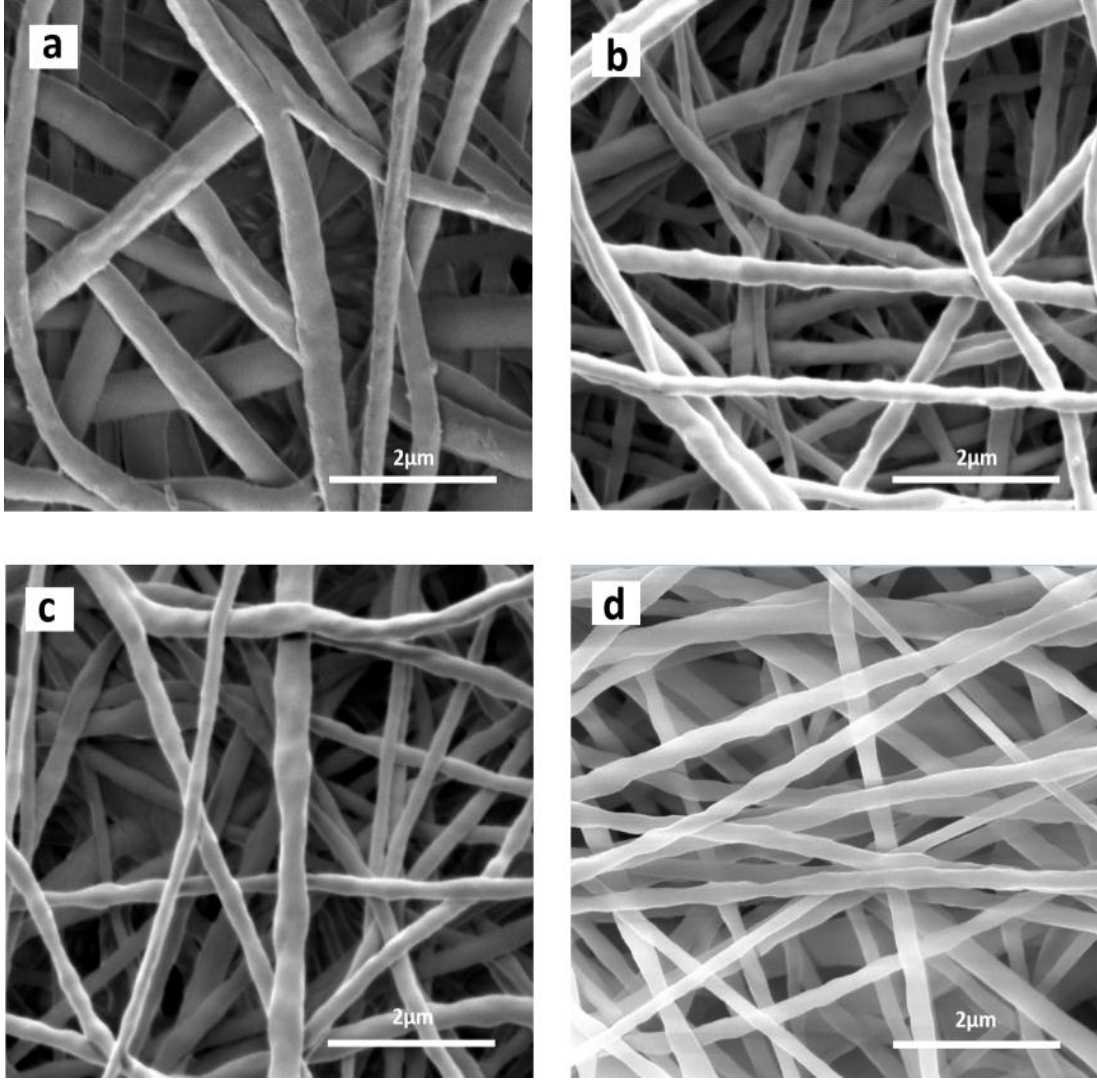
Kurkumin miktarındaki artış nanofiberlerin hem morfolojilerinde hem de fiber çaplarında önemli bir değişikliğe yol açmıştır. Kurkumin konsantrasyonundaki artış ile birlikte ortalama fiber çapında azalma ve fiber morfolojisinde bozulma gözlenmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.1, 4.2, 4.3). Özellikle kurkumin içermeyen PHBV nanofibriler yapılar ile kıyaslandığında %0.5 (w/v) kurkumin içeren PHBV nanofibriler yapılarda (Çizelge 4.2) ortalama nanofiber çapında oldukça belirgin bir düşüş yaşanmıştır. Böylelikle nanofibriler yapıların yüzey alanı/hacim oranı artmıştır.

Kurkumin miktarındaki artışa paralel olarak fiber çapında gözlenen azalma, kurkumin yüklü PHBV çözeltilerinin elektriksel iletkenliği ile yüklenen ilacın

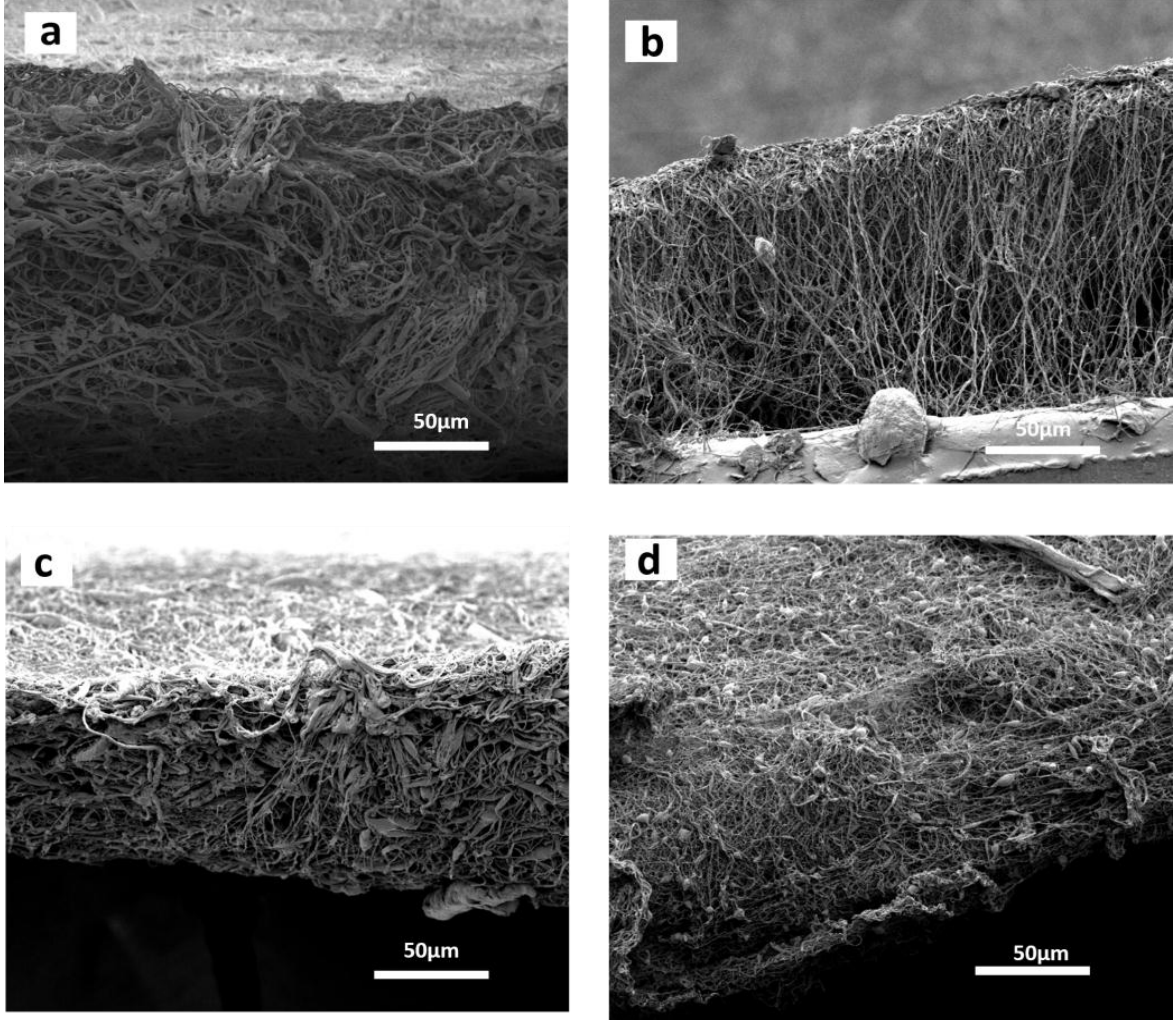
plastikleştirici özellik göstermesi ile açıklanabilir. Polimer zltilerinin sahip olduğu iletkenlik ve viskozite nanofibriler yapıların çap ve morfolojilerine etki eden iki önemli parametredir [15]. Suwantong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, polimer zltisi içerisindeki kurkumin miktarındaki artış ile birlikte polimer zltilerinin elektriksel iletkenliğinin de arttığı bildirilmiştir [98]. Elektriksel iletkenlikteki bu artışın da ortalama fiber çaplarının düşmesine neden olduğu belirtilmiştir. Yine Souza ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PHBV zltilerine yüklenen ilacın plastikleştirici (plasticizer) gibi davranarak PHBV nanofiberlerin fleksibilitesini artırdığı ifade edilmiştir. Plastikleştiriciler, polimer zincir ayırımına neden olarak moleküller arası etkileşimleri azaltarak, mobilitiyi artıran malzemelerdir. Aynı zamanda bu katkı malzemeleri polimer zincirinin fleksibilitesini, kırılma direncini ve dielektrik sabitini arttırırken; sertlik, viskozite, yoğunluk, deformasyon gerilimi vb. parametreleri de azaltmaktadır. Ek olarak polimerin kristalinitesi, biyolojik degradasyon direnci ve optik özelliklerine de etki etmektedir [103]. Dolayısıyla PHBV nanofiberlere eklenen kurkumin miktarının artışı, fiber çap ve morfolojisinde yapılan morfolojik analiz ve nanofiber çap analizine ait veriler, literatür çalışmalarıyla da desteklenmektedir.



Şekil 4.1. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofiberlerin SEM görüntüleri: (a) PHBV, (b) %0.1 (w/v) Cur yüklü PHBV, (c) %0.3 (w/v) Cur yüklü PHBV, (d) %0.5 (w/v) Cur yüklü PHBV nanofiber. Görüntüler 20000x magnifikasyonda alınmıştır.



Şekil 4.2. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofiberlerin SEM görüntüleri: (a) PHBV, (b) %0.1 (w/v) Cur yüklü PHBV, (c) %0.3 (w/v) Cur yüklü PHBV, (d) %0.5 (w/v) Cur yüklü PHBV nanofiber. Görüntüler 40000x magnifikasyonda alınmıştır.



Şekil 4.3. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılarına ait kesit görüntüleri: (a) PHBV, (b) %0.1 (w/v) Cur yüklü PHBV, (c) %0.3 (w/v) Cur yüklü PHBV, (d) %0.5 (w/v) yüklü PHBV nanofiber.

4.2.2. Mekanik Test

Polihidroksialkonatlar, biyopolimerler ailesinde bulunan, yüksek biyoyumluluk ve biyodegradasyon gibi özellikleri sayesinde son dönemlerde doku mühendisliği ve biyoplastik uygulamalarında oldukça fazla tercih edilen polimerlerdir. Bu ailenin içinde bulunan polihidroksibütiratların yaygın olarak kullanılmamalarının nedeni düşük termal stabiliteye sahip olmaları ile yüksek derecede kırılabilirlik göstermelerinden ileri gelmektedir. Bu nedenle polihidroksibütiratlar genellikle polihidroksivaleratlarla belirli oranlarda karıştırılarak kopolimerleri hazırlanmakta ve böylece düşük termal stabilite ve zayıf mekanik özellikleri artırılmaktadır [104].

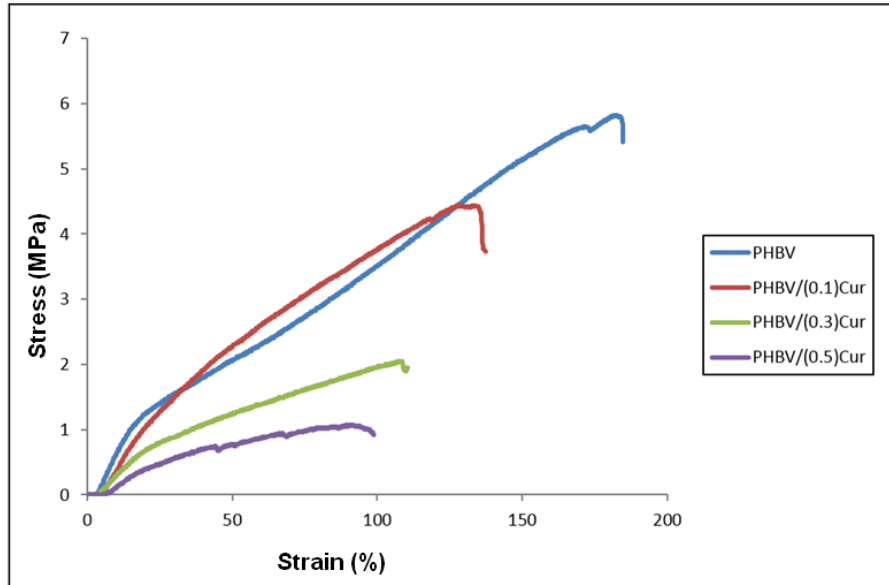
Dokunmamış (non-woven) fiber malzemelerin mekanik özellikleri birden çok parametreye bağlıdır. Bunlar polimerin yapısı ve özellikleri, nanofiber yoğunluğu, nanofiberlerin ortalama çapları, elektroçizme sırasında nanofiberler arasında oluşan hasarlar ve nanofiber vizkozitesi olarak sıralanabilir [105].

PHBV ve %0.1, %0.3, %0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıardan ASTM D683-tip V standartlarına uygun olarak kesilen örneklerin mekanik özellikleri çekme-uzama testi sonrası değerlendirilmiştir ($n=3$). Şekil 4.4'te örneklere uygulanan kuvvet (stress (MPa)) miktarındaki artışa bağlı olarak örneklerin % uzama (strain (%)) miktarları grafiğe geçirilmiş ve stress-strain eğrileri elde edilmiştir. Şekil 4.4 ve Çizelge 4.3'e ait veriler dikkate alındığında örneklere uygulanan kuvvet miktarına bağlı olarak en fazla % uzama, kopmadaki kuvvet ve kopmadaki uzama değerlerine PHBV nanofibriler yapılarda rastlanmıştır. PHBV nanofibriler yapılardaki kurkumin miktarının artışına bağlı olarak kopmadaki uzama ve kopmadaki kuvvet değerlerinde azalma görülmüştür. Diğer bir ifadeyle kurkumin yüklü ve yüklü olmayan PHBV nanofiberlerin mekanik özellikleri karşılaştırıldığında kurkuminin yapıya eklenmesiyle birlikte nanofiberlerin mekanik özelliklerinde azalma gözlenmiştir. SEM görüntülerinden de anlaşılacağı gibi yapıya eklenen etken madde konsantrasyonunun artışı fiberlerin çaplarını azaltırken yapılarında bozulmalara sebep olmuştur. Nanofiberlerin çaplarındaki azalma ile birlikte mekanik özelliklerin de azaldığı gözlenmiştir. Şekil 4.4'ten anlaşılacağı gibi kurkumin miktarındaki artışla birlikte nanofiberlerin kopması için gereken kuvvet azalırken, sertliklerinin de azaldığı görülmektedir. Elastik modülüs ve kopma kuvvetleri Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ait fiber kompozisyonu, Elastik modülüs değerleri ve kopma kuvvetleri.

Nanofibriler yapılar	Fiber Kompozisyonu	E_{mod} (MPa)	F_{break} (MPa)
PHBV	%10 PHBV	6.10	5.8
PHBV/(0.1)Cur	%10 PHBV	4.81	4.4
PHBV/(0.3)Cur	%10 PHBV	2,12	1.95
PHBV/(0.5)Cur	%10 PHBV	1,87	1.56

Bu durum PHBV nanofibriler yapılar eklenen farklı konsantrasyonlardaki kurkuminin bu nanofibriler yapıların mekanik özelliklerini etkilediğini göstermiştir. PHBV nanofibriler yapılarıdaki kurkumin miktarındaki artışa bağlı olarak % uzama, kopmadaki uzama ve kopmadaki kuvvet değerlerindeki azalmalar dikkate alındığında, kurkuminin PHBV kopolimerinin zincirleri arasına girerek ana zincirdeki molekül etkileşimlerini azalttığı düşünülmektedir.



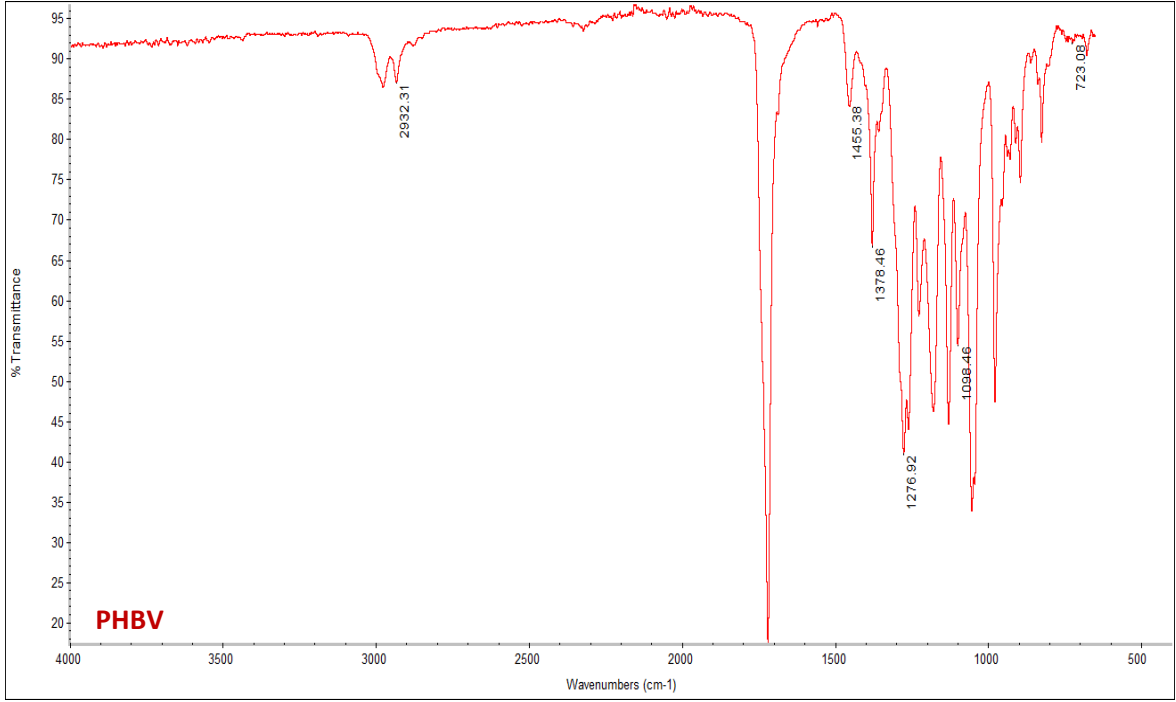
Şekil 4.4. PHBV ve farklı konsantrasyonlarda kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların çekme-uzama (stress-strain) eğrilerinin karşılaştırılması.

4.2.3. ATR-Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (ATR-FTIR)

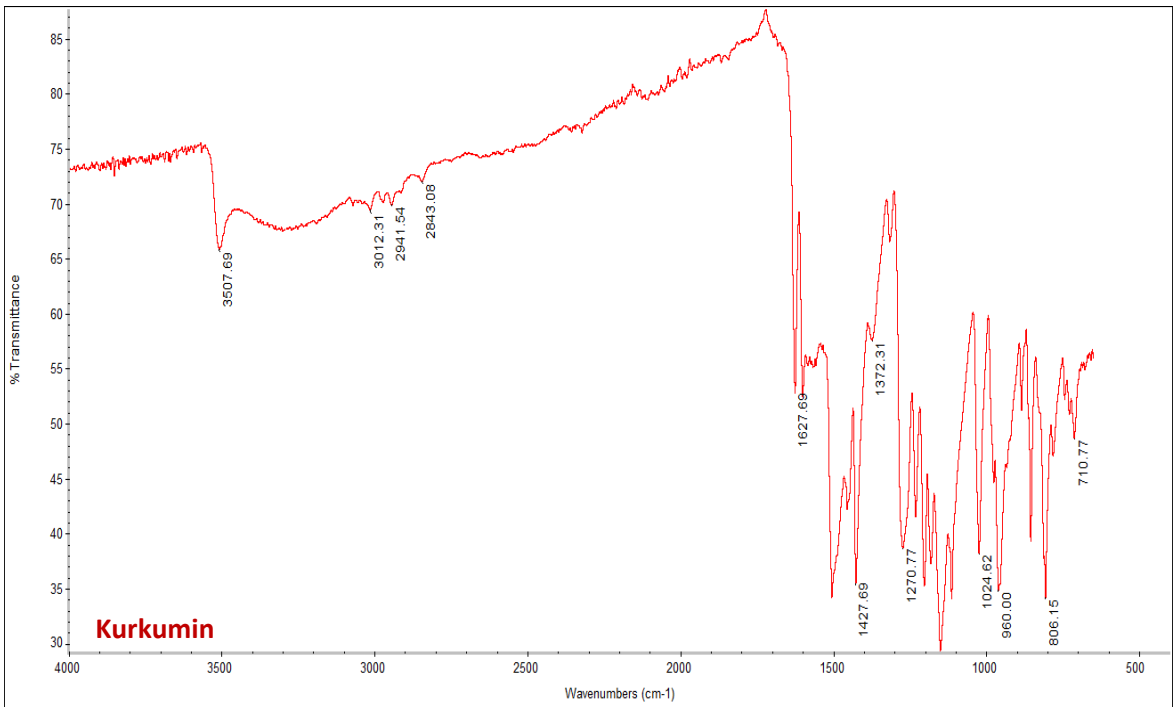
PHBV, kurkumin ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların kimyasal yapı analizlerinin değerlendirilmesinde ATR-FTIR spektrumlarından yararlanılmıştır. Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7 sırasıyla PHBV nanofibriler yapılara, kurkumine ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılara ait spektrumları göstermektedir. PHBV nanofibriler yapıların spektrumunda rastlanan $800-975\text{ cm}^{-1}$ karakteristik bant aralığı simetrik $-C-O-C-$ gruplarının varlığına, $1060-1150\text{ cm}^{-1}$ 'de rastlanan bant aralığı ise asimetric $-C-O-C-$ gruplarının varlığına işaret etmektedir. 1720 cm^{-1} 'de gözlenen kuvvetli pik satüre edilmiş ester ($C=O$) gruplarının absorpsiyonuna, $2800-3000\text{ cm}^{-1}$ gerilme bantları ise $-CH_3$ gruplarına karşılık gelmektedir (Şekil 4.5) [106].

Kurkumin spektrumunda $3508, 1626, 1508, 1428, 1271, 1023, 959, 806$ ve 711 cm^{-1} en önemli pikler olarak karşımıza çıkmaktadır (Şekil 4.6). $3200-3600\text{ cm}^{-1}$ bant aralığı ile 3508 cm^{-1} 'de gözlenen kuvvetli pik kurkuminin hidroksil ($-OH$) gruplarının varlığına işaret etmektedir [111]. $1620-1650\text{ cm}^{-1}$ bant aralığında $C=O$ ve $C=C$ gruplarına rastlanmaktadır. $1350-1512\text{ cm}^{-1}$ bant aralığı alkan gruplarının varlığını ($-CH_3$) göstermektedir. 1508 cm^{-1} 'de gözlenen kuvvetli pik simetrik aromatik halka ($C=C$) gerilimine dikkat çekmektedir. Ayrıca enol ($C-O$) pikine 1271 cm^{-1} 'de rastlanmaktadır. Eter ($C-O$) grubunun varlığı ise $1000-1260\text{ cm}^{-1}$ gerilme bantları ile karşımıza çıkmaktadır. Yaklaşık olarak 1162 cm^{-1} civarında karşılaşılan spektrum, kurkumin için $C-O$ gerilme bandı vibrasyonunu karakterize etmektedir. Bunların dışında benzoat trans-CH vibrasyonuna 959 cm^{-1} 'de rastlanırken, aromatik halkanın cis-CH vibrasyonu 711 cm^{-1} 'de görülmektedir [107].

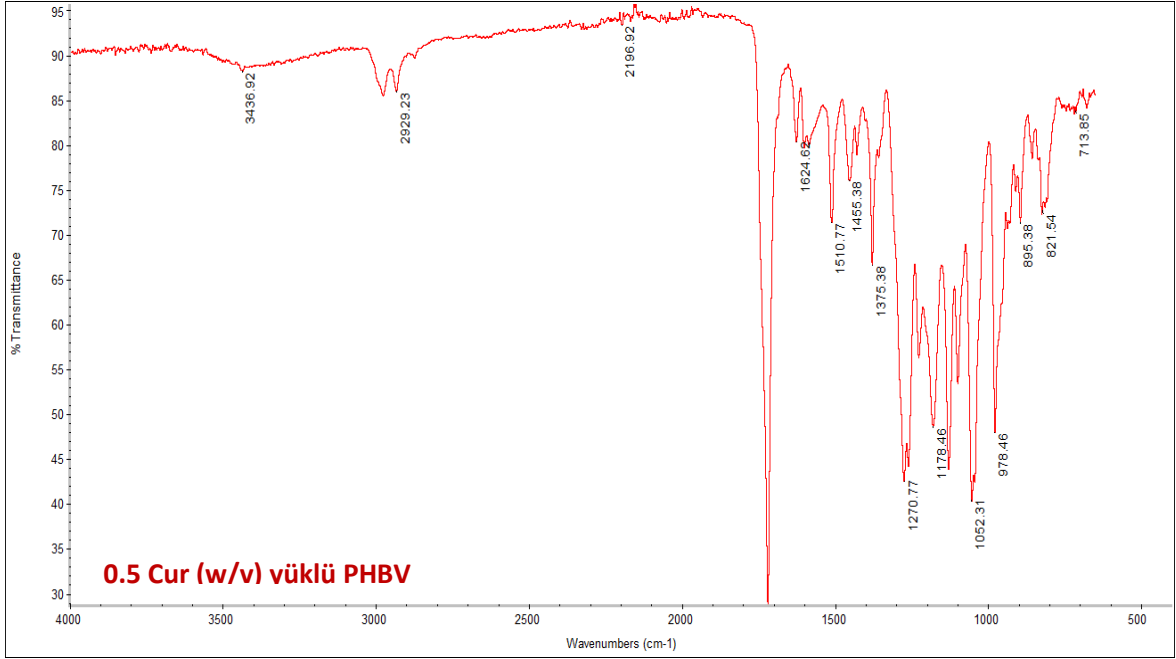
Kurkumin yüklü PHBV nanofiberlerin spektrumlarında (Şekil 4.7), Kurkumin'in karakteristik pikine 3437 cm^{-1} 'de rastlanmıştır. Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'dan elde edilen sonuçlar PHBV nanofiberlere etken maddenin başarılı bir şekilde yüklendiğini doğrulamaktadır.



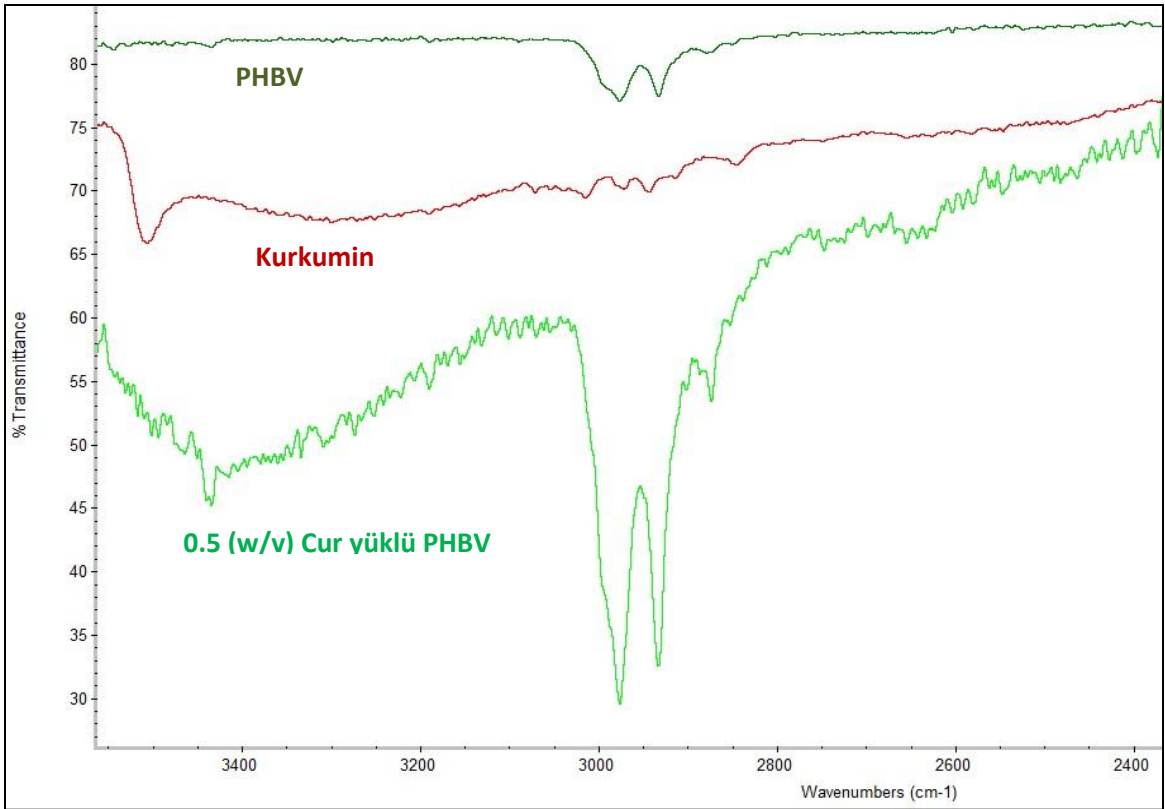
Şekil 4.5. PHBV nanofibriler yapıların FTIR analizi.



Şekil 4.6. Kurkuminin FTIR analizi.



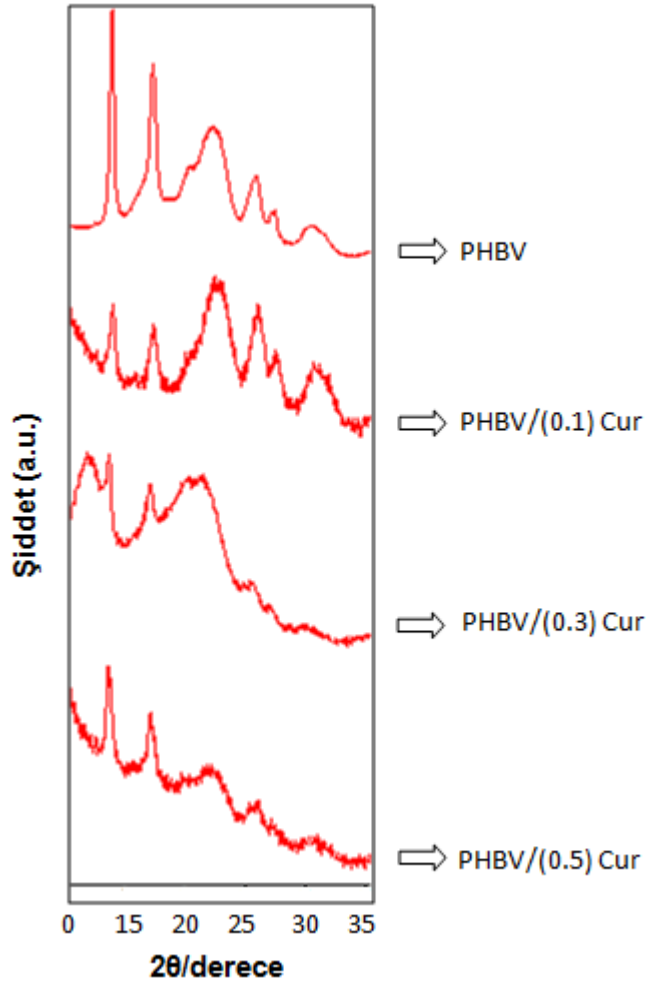
Şekil 4.7. %0.5 (w/v) Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların FTIR analizi.



Şekil 4.8. PHBV nanofibriler yapılar, kurkumine ve %0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ait FTIR analizi.

4.2.4. X-Işınları Difraktometresi (XRD)

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar arasındaki kristal yapı değişiminin aydınlatılabilmesi amacıyla, kristalografik analizler X-Işınları difraktometresi yardımıyla yapılmıştır. Literatür çalışmalarında, PHBV'nin yapısındaki HV (hidroksivalerat) içeriğine bağlı olarak PHBV'nin poli(3-hidroksibütirat) veya poli(3-hidroksivalerat) kristal örgüye kristallendiği bildirilmiştir [105, 108]. Buna göre PHBV, kopolimerdeki HV içeriği %50 mol'den düşük olduğunda PHB, %50 molen yüksek olduğunda PHV kristal örgüsü içerir [105, 108]. Bu çalışmada kullanılan PHBV kopolimerleri ağırlıkça %5 ve %9 HV içeriğine sahip olduğu için PHB kristal örgüsünde kristallenir ve PHB'nin kristal yapısına benzer ortorombik birim hücreler gösterir.

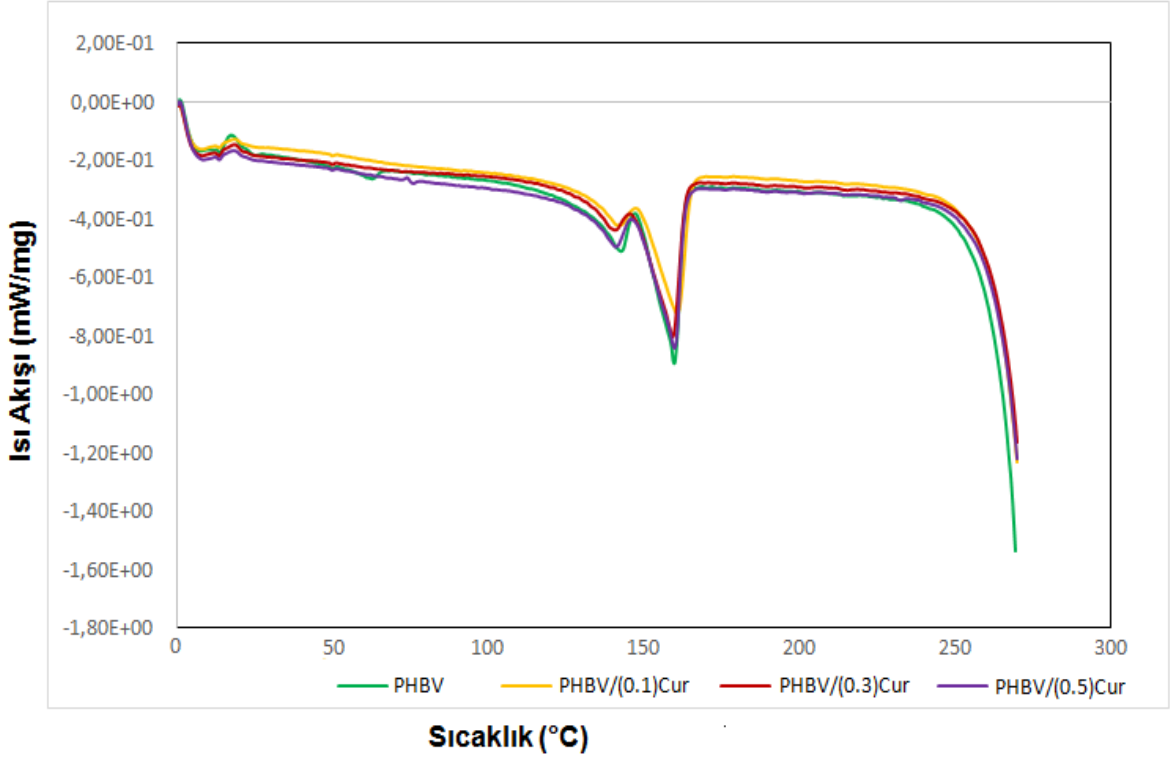


Şekil 4.9. PHBV ve farklı konsantrasyonlarda (% 0.1, %0.3, %0.5 (w/v)) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların XRD paternleri

Şekil 4.9'da PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların XRD paternleri verilmiştir. PHBV nanofiberler yaklaşık $2\theta=14^\circ$ ve $2\theta=18^\circ$ açılarında iki kuvvetli pik göstermiştir. Yaklaşık 14° , 17° , 21° , 22° , 26° , 27.5° ve 30.5° 'de gözlenen difraksiyon pikleri PHBV'nin heliks lamellar alfa konformasyonuna ve sırasıyla (020), (110), (101), (111), (121), (040) ve (002) kristalografik düzlemlerine atfolunabilir [105]. Literatürde kurkumine ait difraksiyon pikleri 8.43° , 11.76° , 14.14° , 16.91° , 17.87° , 20.80° , 23.10° , 24.21° , 25.24° , 26.98° ve 27.86° ($2\theta=10^\circ$ - 30° aralığı) olarak bildirilmiştir [109]. PHBV nanofiberlerle karşılaştırıldığında, kurkumin yüklü nanofiberlere ait patternlerde PHBV'nin karakteristik olan iki kuvvetli pikinin ($2\theta=14^\circ$ ve $2\theta=17^\circ$) şiddetlerinde belirgin bir azalma gözlenmiştir. Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılarda 0° - 9° dereceler arasında gözlenen pik şiddetlerinde azalma ile özellikle 0.3 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılarda 0° - 10° ve 15° - 26° arasında belirgin bir şekilde gözlenen geniş pik gerilimleri, PHBV nanofiberlere kurkuminin eklenmesinden sonra amorf kurkumin fazının karakteristik özelliğine işaret ettiği düşünülmektedir [109].

4.2.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

Kristalinite, biyobozunur polimerlerin fiziksel özelliklerine ve biyodegradasyon oranlarına etki eden en önemli parametrelerden biri olup, bu polimerlerin kristalinite derecesi hakkında bilgi verir. Bu çalışmada PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların termal karakterizasyonu DSC yardımıyla yapılmıştır ve kristalizasyon davranışları incelenmiştir. Şekil 4.10, PHBV, % 0.1, %0.3 ve %0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılara ilişkin DSC termogramlarını göstermektedir. PHBV nanofiberlere ait DSC termogramında yaklaşık 140°C ve 160°C 'de gözlenen pikler, endotermik erime piklerini belirtmektedir. PHBV ve % 0.1, % 0.3 ve % 0.5 (w/v) ilaç yüklü PHBV nanofiberlerin DSC termogramları benzer olup, PHBV'ye ait DSC termogramıyla karşılaştırıldığında ilaç yüklü PHBV nanofibriler yapılardaki kurkumin miktarına bağlı olarak kopolimerin erime noktasında (T_m) bir miktar değişiklik gözlenmiştir. Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılarda T_m ve ΔH_m değerlerinde (DSC termogramlarında eğri altında kalan alanlarda meydana gelen azalmalar ile) gözlenen değişiklere ek olarak XRD çalışmaları da dikkate alındığında PHBV'nin kristalinite derecesinde bir miktar değişiklik olduğu düşünülmektedir [109].



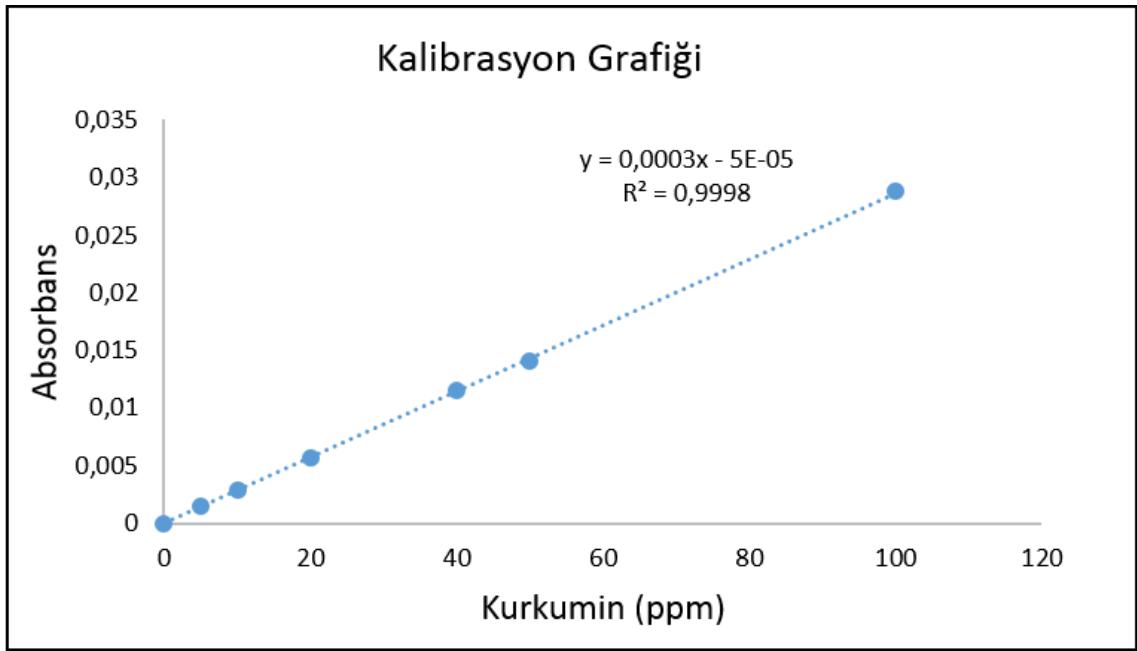
Şekil 4.10. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibril yapılarına ait DSC termogramları

Literatürde PHBV kopolimerine yüklenen ilacın plastikleştirici etki gösterdiği çalışmalar mevcuttur, aynı zamanda polimerlerin yüksek kristalinitesi nedeniyle polimere ait T_g değerinin belirlenemeyebildiği bildirilmiştir [110]. Ayrıca etken madde olarak kurkuminin bazı semi-kristalin polimerlerin kristalinitesini azalttığına ilişkin çalışmalar da mevcuttur [109].

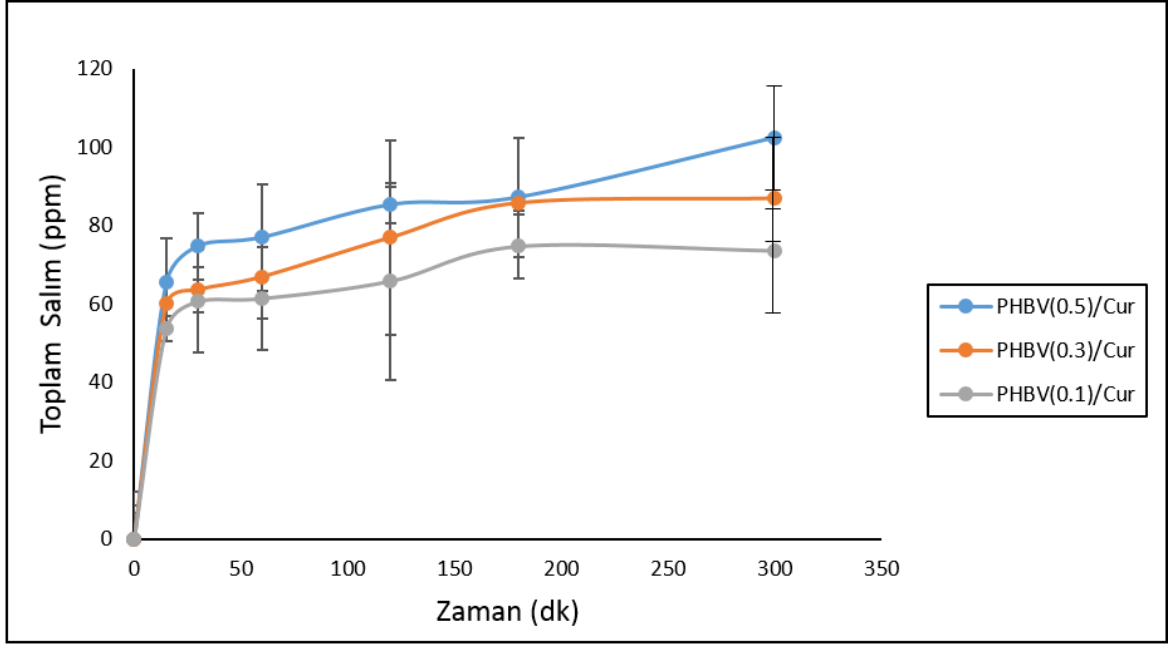
4.2.6. *In Vitro* Kurkumin Salım Çalışmaları

Polimer çözünmesi genellikle polimer tarafından suyun absorpsiyonu, buna bağlı olarak şişme ve sonrasında polimer zincirlerinin ayrılması ile başlayan ve polimerin yıkımına kadar uzanan prosesleri içerir. Absorpsiyon ve şişme proseslerinde genellikle polimere yüklenen ilaçların salımı için kanallar oluşturulur. Oluşturulan bu kanallar aracılığıyla salım profillerinde de gözlenen hızlı ilaç salım evresi (burst release profile) başlar. Polimer zincirlerinin birbirinden ayrılmasıyla başlayan diğer evrede ise, bu kanalların yıkımıyla birlikte ilacın daha yavaş ve kontrollü bir şekilde salımı gerçekleşir. Bu nedenle, ilaç salımı difüzyon ve polimerlerin yıkımının kombinasyonu ile kontrol edilir [111].

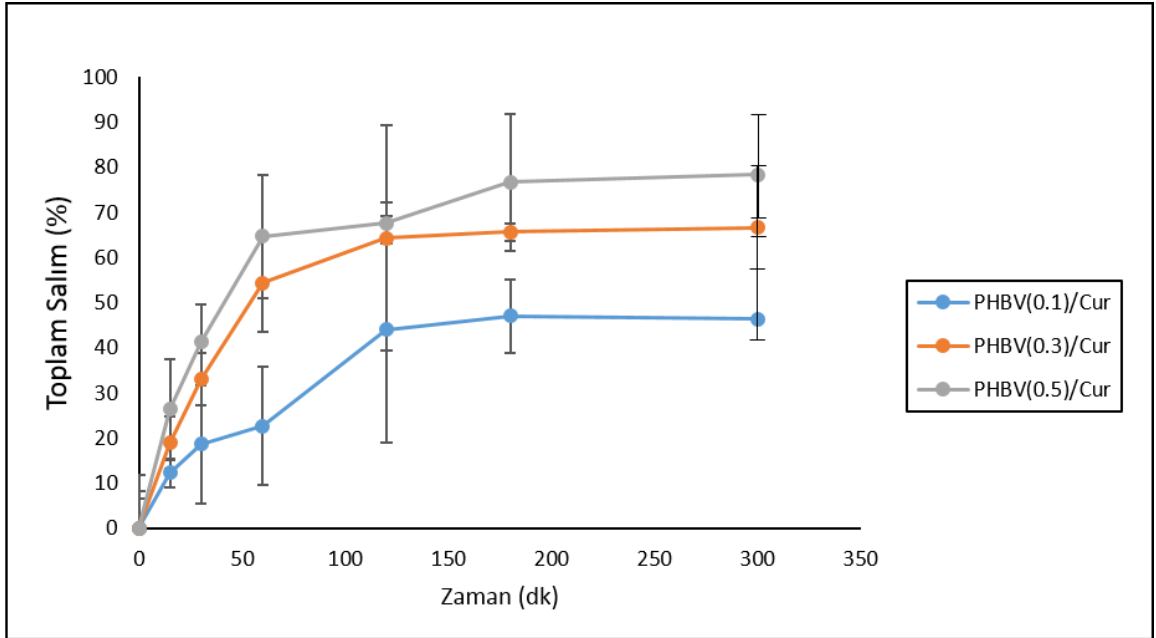
Sunulan çalışma kapsamında hazırlanan PHBV nanofibriler yapıları farklı oranlarda etken madde (%0.1, %0.3 ve %0.5 (w/v)) yüklenmiştir. Farklı formülasyonlardaki PHBV nanofibriler yapılardan kurkuminin salım profilleri UV-vis spektrofotometre kullanılarak tayin edilmiştir. Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılardan kurkuminin *in vitro* salım profillerinin tayininde Şekil 4.11’de verilen kalibrasyon grafiğinden yararlanılmıştır. Kurkuminin nanofibriler yapılardan kümülatif salımı (ppm ve %) zamanın fonksiyonu olarak elde edilmiştir (Şekil 4.12 ve Şekil 4.13).



Şekil 4.11. Kurkumin'e ait kalibrasyon grafiği



Şekil 4.12. Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılarından kurkuminin *in vitro* salım profili



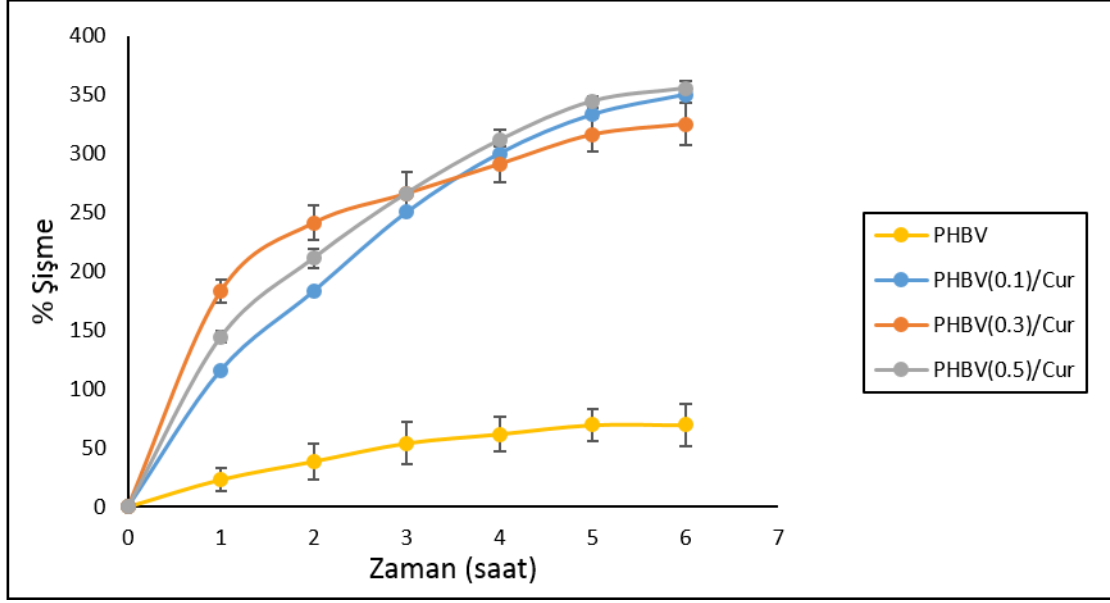
Şekil 4.13. Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılarından kurkuminin *in vitro* salım profili

Elde edilen *in vitro* salım profili kurkuminin PHBV nanofibriler yapılardan sürekli salımını doğrulamıştır (Şekil 4.12, Şekil 4.13). İlk 30 dakika içinde gerçekleşen hızlı kurkumin salımını (burst release) takiben daha yavaş ve kontrollü bir salım hızı gözlenmiştir. İlaç yüklü polimer bazlı bir matriksten bir ilacın *in vitro* salımı, genellikle başlangıçta hızlı bir şekilde (initial burst release) gerçekleşmektedir [112]. Bu salımı takiben daha kademeli bir salım periyodu izler. Nanofiberlerin yüzeyine tutunan veya yüzeye zayıf bağlar ile bağlı olan ilaç molekülleri daha yüksek difüzyon oranına sahiptir ve bu moleküller başlangıç periyodunda hızlı bir şekilde salınmaktadır. Daha yavaş (kontrollü) olan ilaç salım periyodunda ise yüzeyde olmayan ilaç moleküllerinin yüzeye ulaşabilmesi (bazı polimer birimlerinin degradasyonunu gerektirdiği için) daha uzun zaman almaktadır. Bu nedenle salım hızı ve oranı daha düşmektedir [113]. 15. dakikanın sonunda bütün nanofibriler yapılardan salınan kurkumin miktarının birbirine yakın olduğu gözlenmiş olmakla birlikte, 300. dakikanın sonunda kurkuminin bu nanofibriler yapılardan kümülatif salım yüzdelerinin %45 ile %80 arasında değiştiği ve en fazla salımın %80 salım yüzdesi ile %0.5 (w/v) kurkumin içeren PHBV nanofibriler yapılarda olduğu belirlenmiştir. Diğer bir ifadeyle kurkuminin başlangıç yükleme oranları arttıkça etken maddenin ortama salınan miktarında önemli oranda artış gözlenmiştir (Şekil 4.12, Şekil 4.13). Nanofibriler yapılardaki kurkumin içeriğindeki artış salım hızını arttırmıştır. Bu sonuç çeşitli faktörlerle açıklanabilir. Nanofiber yapıların içeriğindeki kurkumin miktarındaki artışla birlikte gözlenen nanofiber çapındaki düşüş (daha yüksek yüzey alanı/hacim oranı), daha yüksek su tutma kapasitesi ve daha hızlı biyodegradasyon kurkuminin nanofiber yapılardan daha hızlı salımına sebep olmuştur [89, 98, 100].

4.2.7. Su Tutma Kapasitesi

PHBV ve % 0.1, 0.3 ve 0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofiber yapıların su tutma kapasiteleri zamanın fonksiyonu olarak grafiğe geçirilmiş ve elde edilen grafik Şekil 4.14'te verilmiştir. İlaç yükleme ve başlangıç ilaç yükleme oranındaki artışla birlikte nanofiberlerin su tutma kapasitesinde önemli oranda artış gözlenmiştir. 6 saatlik zaman periyodunda incelenen % şişme oranları karşılaştırıldığında % 0.1, 0.3 ve 0.5 (w/v) kurkumin içeren PHBV nanofibriler yapıların su tutma kapasiteleri benzer sonuçlar göstermekle birlikte, PHBV nanofibriler yapılara nazaran şişme oranlarının ortalama %300 arttığı

görülmektedir (Şekil 4.14). İlaç yüklü nanofiber yapılarında kurkumin miktarına bağlı olarak su tutma kapasitesindeki bu artış, XRD analizlerinden elde edilen verilerle örtüşmektedir. Kristalinitede gözlenen azalmanın, ilaç yüklü nanofiber yapıların su tutma kapasitesini artırdığı düşünülmektedir.



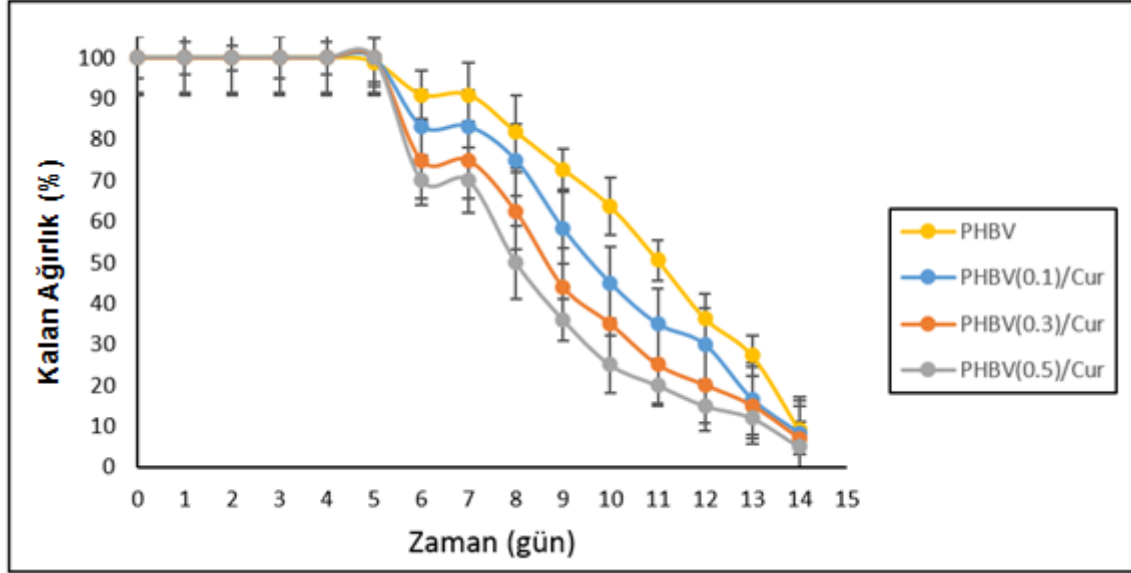
Şekil 4.14. PHBV ve farklı konsantrasyonlarda (% 0.1, % 0.3 ve %0.5 (w/v)) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların % şişme dereceleri.

4.2.8. *In Vitro* Biyodegradasyon Çalışmaları

PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların 37°C'de, 3 mg lizozim (10^4 unit/mL) ve 10 ml PBS içeren (pH 7.4, 0.1M) çözelti ortamında 14 gün boyunca degradasyonu takip edilmiş ve elde edilen yüzdece kalan ağırlık verileri Şekil 4.15'te sunulmuştur. 14 günlük degradasyon periyodunda incelenen tüm nanofibriler yapılarında devamlı ve önemli bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 4.günden itibaren yüzey defektleri, kıvrılma, fiber agregasyonu gibi belirgin morfolojik değişimler gözlenmeye başlanmış olup 14 günlük biyodegradasyon periyodu boyunca devam etmiştir.

14 günün sonunda PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların ağırlık kaybı benzer olmakla birlikte, 4. ve 10.günler arasındaki periyotta kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların biyodegradasyonu, PHBV nanofibriler yapılarıdakine nazaran daha hızlı bir şekilde gerçekleşmiştir. Aynı zamanda biyodegradasyon

sonuçları, kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılarıdaki kurkumin miktarındaki artışın belli bir noktaya kadar bu nanofibriler yapıların degradasyon hızını artırdığını ortaya koymaktadır [112].



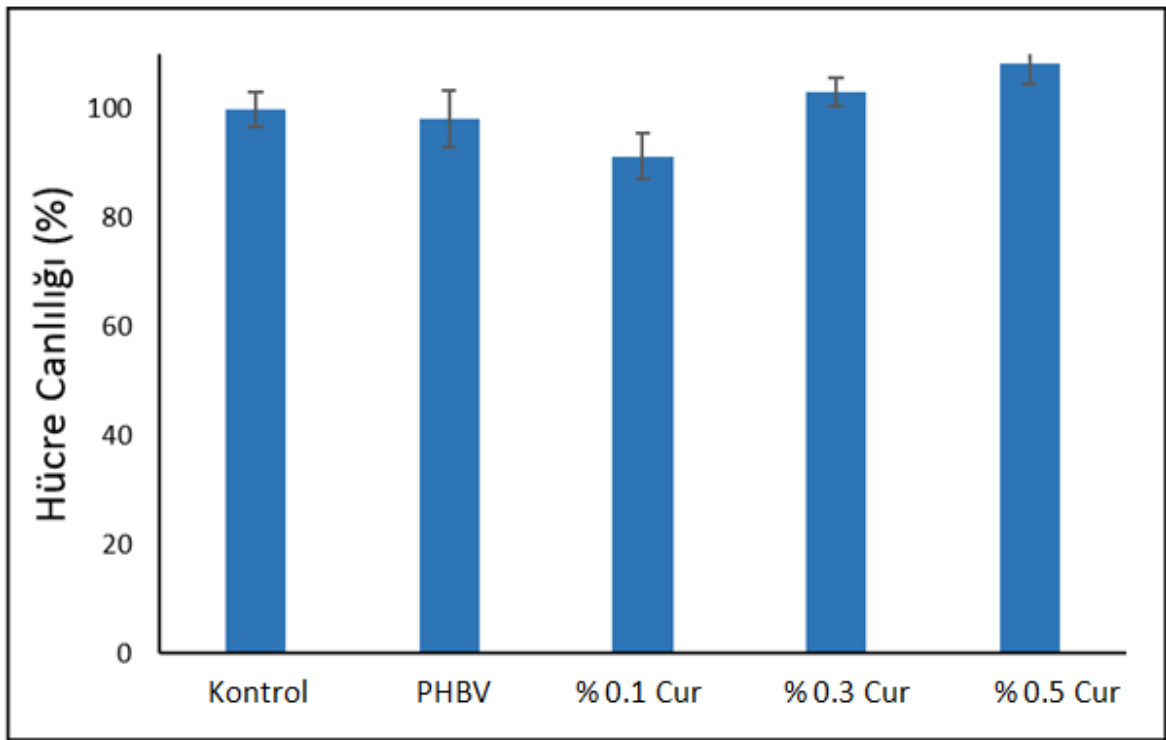
Şekil 4.15. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların PBS-lizozim çözeltisi içerisindeki *in vitro* degradasyonu

4.3. PHBV ve Kurkumin Yüklü PHBV Nanofibriler Yapıların Hücre Kültürü Çalışmaları

Tez çalışmasının son aşamasında hazırlanan nanofibriler yapıların hücreler ile etkileşimi incelenmiştir. Bu amaçla biyoyumluluk testleri ile hücre yapışma/proliferasyon çalışmaları yapılmıştır. *In vitro* sitotoksitesite testi (MTT) ile hücre tutunma ve proliferasyon çalışmalarında L929 fare fibroblast hücre hattı kullanılmıştır. MTT testi, hücre canlılığının belirlenmesinde kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. Bu yöntem, metabolik olarak aktif hücrelerin mitokondrilerinden sekrete olan dehidrogenaz enzimleri yardımıyla sarı renkli tetrazolium tuzunun (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromide), suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine indirgenmesine dayanmaktadır [100]. MTT analizi sonrası oluşan formazan kristallerinin yoğunluğu, ortamda bulunan canlı hücre sayısı ile orantılıdır. Bu nedenle, *in vitro* sitotoksitesite ve hücre proliferasyon çalışmalarında hücre canlılığının belirlenmesinde bu yöntemden yararlanılmıştır. Hücre proliferasyonu ayrıca SEM analizleri ile de incelenmiştir.

4.3.1. *In Vitro* Sitotoksosite Testi (MTT)

Tez çalışması kapsamında hazırlanan nanofiber yapıların biyoyumluluk testleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla L929 fare fibroblast hücrelerinin PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofiber yapıların ekstraksiyon vasatı ile 24 saatlik inkübasyon sonrası hücre canlılığı MTT testi ile incelenmiştir. L929 fare fibroblast hücrelerinin taze kültür vasatı (Kontrol: TCPS) ve PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların ekstraksiyon vasatı ile 24 saatlik inkübasyonunu takiben elde edilen yüzde hücre canlılığı Şekil 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4.16. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin % hücre canlılığı.

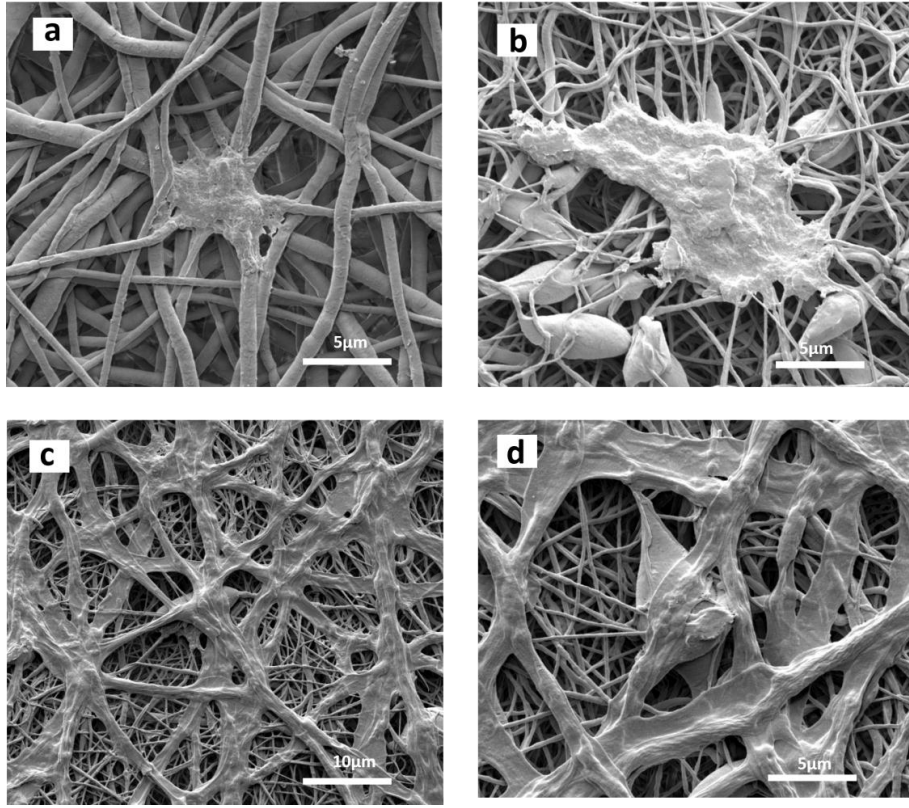
PHBV ve %0.1, %0.3 ve %0.5 kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların ekstratları ile kültüre edilmiş hücrelerin % canlılığı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında benzer sonuçlar göstermekle birlikte, bu sonuçlar hazırlanan nanofibriler yapıların L929 fare fibroblast hücre hattına toksik etki göstermediğini ortaya koymuştur. Kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmada hücre canlılığı PHBV ve %0.1 (w/v) Kurkumin içeren PHBV nanofibriler yapıların ekstraksiyon vasatında bir miktar azalmakla birlikte, %0.3 ve %0.5 (w/v) Kurkumin içeren PHBV ekstraksiyon vasatında hücre canlılığı artış göstererek kontrol grubundan da daha

yüksek seviyede çıkmıştır. Bu durum, belli konsantrasyonun üstünde çözelti ortamına salınan kurkuminin hücre çoğalmasını aktive ederek, % hücre canlılığını artırdığını göstermektedir. Kurkumin konsantrasyon-bağımlı antiinflamatuvar, antioksidan ve antikarsinojenik aktiviteleri içeren geniş bir farmakolojik etkinlik spektrumuna sahiptir. Kurkumin çeşitli hücrelerde doza-bağımlı olarak apoptozu indükleyebilir. Kurkuminin sitotoksik etkileri (%50'den az hücre sağkalımı), sadece yüksek konsantrasyonlarda (yaklaşık 25 µM/L Cur) gözlenmiştir [96]. Tez kapsamında hazırlanmış olan kurkumin yüklü nanofibriler yapıların içerdiği kurkumin konsantrasyonunun literatürde belirtilen sitotoksik konsantrasyonun altında olduğundan dolayı herhangi bir sitotoksik etki gözlenmemiştir.

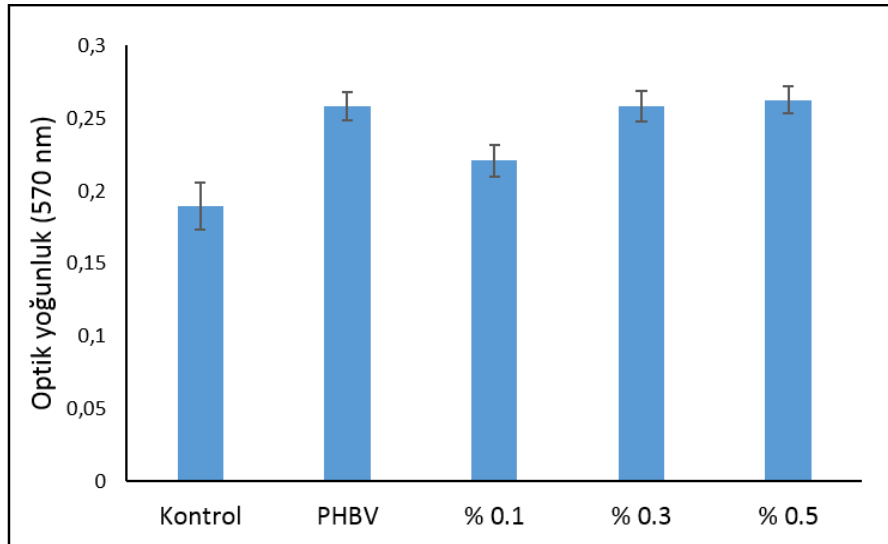
4.3.2. Hücre Tutunması ve Proliferasyonu

PHBV nanofibriler yapılar üzerindeki hücre tutunma/proliferasyonu biyokimyasal analizler ve SEM analizleri ile incelenmiştir. PHBV ve Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapıların L929 fare fibroblast hücreleri ile 14 günlük inkübasyonu sonunda bu yapılar üzerindeki hücre tutunma/proliferasyon SEM görüntüleri Şekil 4.17'de verilmiştir. SEM analizleri bu hücrelerin PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar üzerinde yüksek oranda tutunduğunu ve proliferasyon göstermektedir. Proliferasyon sonuçları hazırlanan bu nanofibriler yapılarda artan kurkumin konsantrasyonunun, L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu desteklediğini ortaya koymaktadır. Bu durum artan kurkumin konsantrasyonu ile fiber çapındaki azalma ile açıklanabilir [113, 114].

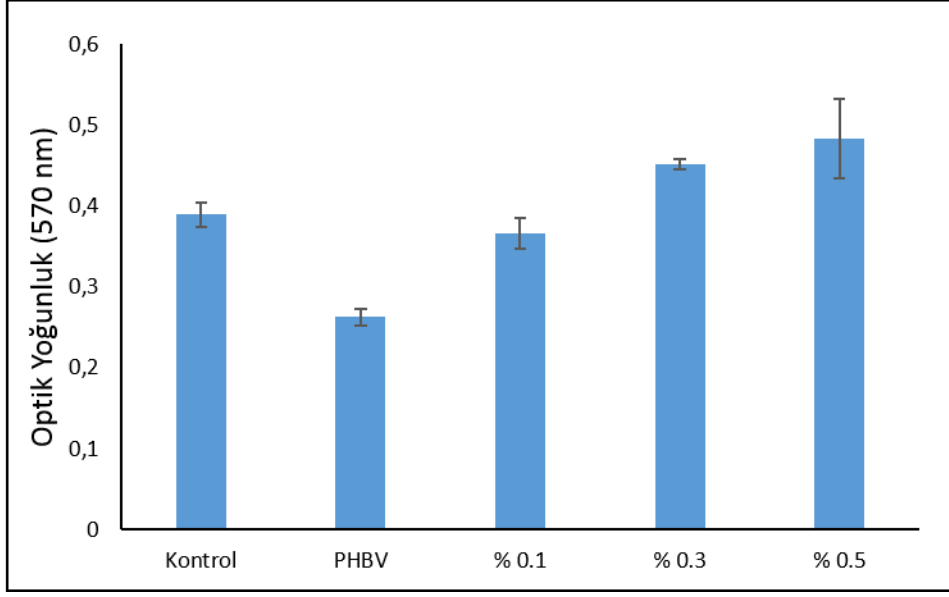
Aynı zamanda tüm nanofibriler yapılarda fiber morfolojilerinde önemli bir değişiklik gözlenmekle birlikte, en fazla değişikliğe % 0.5 (w/v) Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılarda rastlanmıştır. Kurkumin konsantrasyonunun artmasıyla nanofibriler yapılarda gözlenen pürüzlülüğün de artması, hücrelerin bu yapılara daha yüksek oranda tutunduğunu göstermektedir. 7 günlük inkübasyon sonrası nanofiber yapıların morfolojilerinde zaman zaman agregasyon şeklinde ortaya çıkan daha kalın tabakaların varlığı, hazırlanan bu nanofibriler yapılara hücrel penetrasyon ve enfiltrasyonun gerçekleştiğini doğrulamıştır.



Şekil 4.17. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük SEM görüntüleri: (a)PHBV, (b)% 0.1 (w/v) Cur yüklü PHBV, (c) ve (d)% 0.5 (w/v) Cur yüklü PHBV. Görüntüler farklı magnifikasyonlarda alınmıştır.



Şekil 4.18. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonu. Hücreler 7 gün süreyle %0.1, %0.3 ve %0.5 (w/v) Kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir. Proliferasyon derecesi, MTT testi ile ölçülmüştür.



Şekil 4.19. PHBV ve kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonu. Hücreler 14 gün süreyle %0.1, %0.3 ve %0.5 (w/v) kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir. Proliferasyon derecesi, MTT testi ile ölçülmüştür.

Hücre proliferasyonunun biyokimyasal testler ile ileri analizi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla MTT testi uygulanmıştır. Optik yoğunluk değerlerinin grafiğe geçirilmesiyle oluşturulan Şekil 4.18 ve Şekil 4.19 kurkumin yüklü PHBV nanofibriler yapılar üzerine ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu farklı zaman aralıklarında göstermektedir. 7 günlük inkübasyon sonrası, PHBV ve farklı konsantrasyonlarda (%0.1, %0.3 ve %0.5 (w/v)) kurkumin içeren nanofibriler yapılarda optik yoğunluk benzer olmakla birlikte, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında optik yoğunluğun belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir ($p < 0.05$). Bu durum, PHBV ve farklı konsantrasyonlarda kurkumin içeren PHBV nanofibriler yapıların L929 fare fibroblast hücrelerine karşı toksik bir etkisinin olmadığını, aksine bu nanofibriler yapıların hücre tutunması, büyümesi ve proliferasyonu desteklediğini ortaya koymaktadır [96, 98]. Kontrol grubuyla kıyaslandığında nanofibriler yapılar üzerinde hücre proliferasyonunun artmasının nedeni, nanofibriler yapıların artan yüzey alanı/hacim oranı ile sahip oldukları yüksek gözenekli yapı ile açıklanabilir. 14 günlük inkübasyon sonrası (Şekil 4.19), kontrol grubu (TCPS) ile kurkumin içermeyen ve kurkumin yüklü nanofibriler yapılar üzerinde kültüre olan fibroblast hücre yoğunluğunun 7.güne nazaran hem kontrol grubunda hem de bütün nanofibriler yapılarda önemli ölçüde arttığı

gözlenmektedir. Bu süre sonunda kurkumin içerenlere nazaran kurkumin içermeyen nanofibriler yapılarda optik yoğunlukta gözlenen daha az artış, PHBV'nin hidrofobisitesinin yanı sıra kurkumin içeren nanofibriler yapılara nazaran daha yüksek ortalama fiber çapları ile açıklanabilir. Hidrofobisite, biyomateryallerin biyolojik performansına (hücre tutunması, çoğalması, proliferasyon vb.) etki eden en önemli yüzey özelliklerinden biridir [115]. Her ne kadar hem PHBV hem de kurkumin hidrofobik özellik göstermesine rağmen kurkumin miktarındaki artışa bağlı olarak sağlanan daha yüksek yüzey alanı/hacim oranı ile hücrelere nanofibrilere yüzeylere tutunabilecekleri ve proliferere olabilecekleri ortamın yaratıldığı düşünülmektedir. Ayrıca diğer nanofibriler yapılarla kıyaslandığında, %0.1 kurkumin içeren PHBV nanofibriler yapılardaki optik yoğunluğun daha az artış göstermesinin nedeni olarak da, kurkuminin bu yapılardan *in vitro* salımının %0.3 ve %0.5 (w/v) kurkumin içeren PHBV nanofibriler yapılara kıyasla daha düşük olması gösterilebilir. Kurkumin salım çalışmaları, nanofibriler yapılarda artan kurkumin konsantrasyonuna bağlı olarak kurkuminin bu yapılardan salım hızının da arttığını göstermektedir. Dolayısıyla kurkumin yüklü bu nanofibriler yapıların hücre uyumluluğu kurkuminin bu yapılardan sürekli salımına dayandırılabilir.

KAYNAKLAR

- [1] Lippincott, W.&W., Wound Care Made Incredibly Visual 2nd Edition, Wolters Kluwer Health, ISBN 978-1-60913-620-8, 202, **2011**
- [2] Doğan, G., Başal, G., 2009, Elektrolif ekim Yöntemine Göre Elde Edilen Biyopolimer Nanoliflerin İlaç Salınım Sistemleri, Yara Örtüsü ve Doku İskelesi Olarak Kullanımları, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Volume 3, No. 2, 58-70, **2009**
- [3] Altay, P., Başal, G., Yara Örtüleri, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Cilt. 4 No.1, 109-121, **2010**
- [4] Akcacan, D., Duran D., Doku Mühendisliği Uygulamalarında Tekstil Materyal ve Teknolojilerinin Kullanımı, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Vol. 3, No.1, 77-86, **2009**
- [5] Goh, Y.F., Shakir, I., Hussain, R., Electrospun Fibers for Tissue Engineering, Drug Delivery and Wound Dressing, *Journal of Materials Science*, 48, 3027-3054, **2013**
- [6] Berthiaume, F., Maguire, T.J., Yarmush, M.L., Tissue Engineering and Regenerative Medicine: History, Progress and Challenges, *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 2, 403-430, **2011**
- [7] Gogotsi, Y., Nanotubes and Nanofibers, Taylor&Francis Group, 1.Edition, **2006**
- [8] Mogoşanu, G.D., Grumezescu, A.M., Natural and Synthetic Polymers for Wounds and Burns Dressing, *International Journal of Pharmaceutics*, 463, 127-136, **2014**
- [9] Meng, W., Xing, Z.C., Jung, K.H., Kim, S.Y., Yuan, J., Kang, I.K., Yoon, S.C., Shin, H.I., Synthesis of Gelatin-Containing PHBV Nanofiber Mats For Biomedical Application, *Journal of Materials Science: Mater Med*, DOI: 10.1007/s10856-007-3356-3, 2799-2807, **2008**

- [10] Phan, T.T., See, P., Lee, S.T., Chan, S.Y., Protective Effects of Curcumin Against Oxidative Damage on Skin Cells *in vitro*: Its Implication for Wound Healing, *The Journal of Trauma Injury, Infection and Critical Care*, Volume 51, Number 5, 927-931, **2001**
- [11] Hürdağ, C., Deri Histolojisi, <http://hurdag.org/med2/Fall/Konu09/Index.html> (Ağustos, **2013**)
- [12] Şenol, M., Derinin Yapısı, Görevleri ve Histopatolojisi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, <http://www.drmostafasenol.com/derininyapisi.html> (Eylül, **2013**)
- [13] Can, B., Deri ve Ekleri, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, <http://histemb.medicine.ankara.edu.tr/Deri%20ve%20Ekleri.pdf> (Eylül, **2013**)
- [14] Çakal, C., Phema Bazlı Yara/Yanık Örtü Materyalleri, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2004**
- [15] Karahaliloğlu, Z., Nanofibriler Yapıda Biyopolimerik Doku İskelelerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2009**
- [16] Anonim, Hipodermis, <http://www.vichy.com.tr/France/Vichy-Laboratuvarlar%C4%B1/Hipodermis-1cmp1354.aspx> (Şubat, **2014**)
- [17] Langenhove L.V., Smart Textiles from Medicine and Healthcare: Materials, Systems and Applications, 24-27, **2007**
- [18] Aygün, G., Yara Enfeksiyonları ve Tanılama, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, *Yara Bakımı ve Tedavisi Sempozyum Dizisi*, 67, 145-157, **2008**
- [19] Anonim, Cerrahi Hemşireliğe Giriş, Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara, **2012**, http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Cerrahiye%20Giri%C5%9F.pdf

- [20] Ekizoğlu, O., Arıcan, N., Yaralar, **2009**, http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/klinik_2009_22/05.pdf
- [21] Akçan, R., Çekin, N., Yaralar, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, http://lokman.cu.edu.tr/AdliTip/index_dosyalar/Page1851.htm (Ekim, **2014**)
- [22] Malya, F.Ü., Yara Bakımı ve Pansuman, <http://cerrahi.bezmialemhastanesi.com/sunumlar/Yara-Bakimi-ve-Pansuman-sunu.pdf> (Ocak, **2014**)
- [23] Anonim, Yara Bakımı, http://www.convatec.com.tr/s_yara_bak.html (Şubat, **2014**)
- [24] Çetinkale, O., Yara Yanık Tedavisi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi, **2008**
- [25] Öncül, O., Yanık Enfeksiyonları, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi, 67, 129-145, **2008**
- [26] Ergin, D.N., Farklı Giriş Materyallerinin Gingivada Oluşturduğu Doku Reaksiyonunun Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı, Ankara, **2009**
- [27] Kılınç, Z., Yara iyileşmesi, Bitirme Tezi, Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Patoloji Birimi, İzmir, **2003**
- [28] Aygen, E., Yara İyileşmesi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, <http://www.slideshare.net/mbolmez/yara-iyilesmesi>, (Aralık, **2013**)
- [29] Karaçulha, A., Yeni Nesil Biyomalzemeler: Yara Örtüleri, ECF 527 Mezuniyet Projesi, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara, **2010**
- [30] Anonim, Phases of Wound Healing, <http://emedicine.medscape.com/article/884594-overview>, (Şubat, **2014**)
- [31] Anonim, Stages of Healing, <http://www.curad.com/firstaid/stages.asp>, (Mart, **2014**)

- [32] Doğan, Z., Nanolif Yara Örtücü Yüzeylerin Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, **2012**
- [33] Anonim, Antik Mısır Medeniyetinde Tıp, http://abs.mehmetakif.edu.tr/upload/0149_610_dosya.pptx, (Kasım, **2013**)
- [34] Anonim, Gamgee Tissue, http://en.wikipedia.org/wiki/Gamgee_Tissue, (Şubat, **2014**)
- [35] Anonim, Tulle Gras, http://fr.wikipedia.org/wiki/Tulle_gras, (Nisan, **2014**)
- [36] Zahedi, P., Rezaeian, I., Siadat, S.O.R., Jafari, S.H., Supaphol, P., A Review on Wound Dressings with an Emphasis on Electrospun Nanofibrous Polymeric Bandages, *Polymers Advanced Technologies*, 21, 77-95, **2010**
- [37] Demirbilek, M., Sinir Doku Onarımı için Nanofiber Doku İskeleri, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**
- [38] Winter, G.D., Nature, Volume 193, 293-294, **1962**
- [39] Balaban, G., Nanoliflerin Elektrospinning Yöntemiyle Üretiminde Bazı Uygulamalar İçin Özel Tekniklerin ve Polimer Karışımlarının İncelenmesi, Çukurova Üniversitesi Tekstil Mühendisliği, <http://www.gso.org.tr/userfiles/file/7%20Nanoliflerin%20Elektrospining%20Y%C3%B6ntemiyle%20%C3%9Cretilmesinin%20Geli%C5%9Ftirilmesi%20Ve%20Baz%C4%B1%20Uygulamalar%20%C4%B0%C3%A7in%20%C3%96zel%20Tekniklerin%20Ve%20polimer%20Kar%C4%B1%C5%9F%C4%B1mlar%C4%B1n%20%C4%B0ncelemesi.pdf> (Şubat, **2012**)
- [40] Jayakumar, R., Nair, S., Biomedical Applications of Polymeric Nanofibers, *Advances in Polymer Science*, 246, **2012**
- [41] Denkbaş, E.B., Her Yönüyle Nano, Nanomalzemeler, Karakterizasyonları ve Uygulama Alanları, Nanofiberler, Nanobülten 13, *Aylık Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi*, Mayıs **2011**
- [42] Denkbaş, E.B., Nanobülten 11, *Aylık Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi*, Ağustos **2010**

- [43] Anonim, Electrospinning, <http://www.nicast.com/index.aspx?id=2910>, (Şubat, **2014**)
- [44] Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W.C., Lim, T.C., Ma, Z., An Introduction to Electrospinning and Nanofibers, *World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.*, **2005**
- [45] Anonim, Definition of Electrospinning, <http://www.novomaterials.com/category/about-144.html>, (Mart, **2014**)
- [46] Hohman, M.M., Shin, M., Rutledge, G., Brenner, M.P., Electrospinning and Electrically Forces Jets. I. Stability Theory, *Physics of Fluids*, Volume 13, 8, **2001**
- [47] Anonim, Electrospinning process, nanofiber and their application, <http://www.cottonbangladesh.com/January2009/ElectroSpinning.htm>, (Ocak, **2014**)
- [48] Kendall, R.J., Presley, S.M., Austin, G.P., Smith, P.N., Advances in Biological and Chemical Terrorism Countermeasures, CRC Press, Taylor&Francis Group, **2008**
- [49] Tong, H.W., Wang, M., Electrospinning of Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) Fibrous Tissue Engineering Scaffolds in Two Different Electric Fields, *Polymer Engineering and Science*, 1325-1338, **2011**
- [50] Goddard, W.A., Brenner, D.W., Lyshevski, S.E., Iafrate, G.J., Handbook of Nanoscience Engineering and Technology, CRC Press 2nd Edition, Section 4 Manipulation and Assembly, 21 Textile Nanotechnologies, **2007**
- [51] Zeng, J., Meso- and Nanoscaled Polymer Fibers and Tunes, Fabrication, Functionalization and Characterization, Doktora Tezi, Philipps Üniversitesi, Kimya Bölümü, 2003
- [52] Branham, K., Koenig, D. W., Serra, L., Stadelman, B.J., Methods of Applying Skin Wellness Agents to a Nonwoven Mat Through Electrospinning Nanofibers, Patent, **2008**
- [53] Denkbaş, E.B., Nanobülten 14, *Aylık Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi*, Eylül **2011**

- [54] Esfandarani, M.S., Johari, M.S., Producing porous nanofibers, *Nanocon*, **2010**
- [55] Anonim, Nanoteknoloji ve Tekstil Sektöründeki Uygulamaları (Nanotekstiller), http://www.mmo.org.tr/resimler/dosya_ekler/388bd976685064b_ek.pdf?dergi=535 (Ağustos, **2013**)
- [56] Goh, Y.F., Shakir, I., Hussain, R., Electrospun Fibers for Tissue Engineering, Drug Delivery and Wound Dressing, *Journal of Materials Science*, 48, 3027-3054, **2013**
- [57] Wan, A., Ying, J.Y., Nanomaterials for In Situ Cell Delivery and Tissue Regeneration, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62, 731-740, **2010**
- [58] Yoshimoto, H., Shin Y.M., Terai, H., Vacanti, J.P., A Biodegradable Nanofiber Scaffold by Electrospinning and Its Potential for Bone Tissue Engineering, *Biomaterials*, Volume 24, Issue 12, 2077-2082, **2003**
- [59] Zu, H., Bhavsarand Z.A., Nguyen, K.T., Nanoparticles-Incorporated for Tissue Engineering Application, *Nanotechnology in Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, CRC Press, 1-17, **2010**
- [60] Gümüşderelioğlu, M., Doku Mühendisliğinde Nanoteknoloji, *Bilim ve Teknik*, Tübitak, 1, 13, **2007**
- [61] Yang, F., Murugan, R., Wang, S., Ramakrishna, S., Electrospinning of Nano/Microscale Poly(L-lactic acid) Aligned Nanofibers and Their Potential in Neural Tissue Engineering, *Biomaterials*, 26, **2005**
- [62] Tuzlakoğlu, K., Bolgen, N., Salgado, A.J., Gomes, M.E., Nano- and Micro-fiber Combined Scaffolds: A New Architecture for Bone Tissue Engineering, *Biomaterials*, 24, **2005**
- [63] Patel, S., Kurpunski, K., Quigley, R., Gao, H., Hsiao, B.S., Poo, M.M., Li, S., Bioactive Nanofibers: Synergistic Effects of Nanotopography and Chemical Signaling on Cell Guidance, *Nanoletters*, Volume 7, No 7, 2122-2128, **2007**

- [64] Riboldi, S.A., Sampaolesi, M., Neuenschwander, P., Cossu, G., Mantero, S., Electrospun Degradable Polyesterurethane Membranes: Potential Scaffolds for Skeletal Muscle Tissue Engineering, *Biomaterials*, 26, **2005**
- [65] Li, W.J., Laurencin, C.T., Caterson, E.J., Tuan, R.S., Ko, F.K., Electrospun Nanofibrous Structure: A Novel Scaffold for Tissue Engineering, *Journal of Biomedical Materials Research A*, 60, **2002**
- [66] Jiang, H., Hu, Y., Li, Y., Zhao, P., Zhu, K., Chen, W., A Facile Technique to Prepare Biodegradable Coaxial Electrospun Nanofibers for Controlled Release of Bioactive Agents, *Journal of Controlled Release*, 108, 237-243, **2005**
- [67] Liao, I.C., Chew, S.Y., Leong, K.W., Aligned Core-Shell Nanofibers Delivering Bioactive Proteins, *Nanomedicine*, 1, 4, 465-471, **2006**
- [68] Piras, A.M., Chiellini, F., Chilellini, E., New Multicomponent Bioerodible Electrospun Nanofibers for Dual-Controlled Drug Release, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, Volume 23, 423-443, **2008**
- [69] Katti, D.S., Robinson, K.W., Ko, F.K., Laurencin, C.T., Bioresorbable Nanofiber Based Systems for Wound Healing and Drug Delivery: Optimization of Fabrication Parameters, *Journal of Biomedical Materials Research Part B, Applied Biomaterials*, 70, 2, 286-296, **2004**
- [70] Juan, J., Xing, Z.C., Park, S.W., Geng, J., Kang, I.K., Shen, J., Meng, W., Shim, K.J., Han, I.S., Kim, J.C., Fabrication of PHBV/Keratin Composite Nanofibrous Mats for Biomedical Applications, *Macromolecular Research*, Volume 17, 11, 850-855, **2009**
- [71] Unnithan, A.R., Gnanasekaran, G., Sathishkumar, Y., Lee, Y.S., Kim, C.S., Electrospun Antibacterial Polyurethane-Cellulose Acetate-Zein Composite Mats for Wound Dressing, *Carbohydrate Polymers*, Volume 102, 884-892, **2014**
- [72] Abdelgawad, A.M., Hudson, S.M., Rojas, O.J., Antimicrobial Wound Dressing Nanofiber Mats From Multicomponent (Chitosan/Silver-NPs/Poly(vinyl alcohol)) Systems, *Carbohydrate Polymers*, Volume 100, 166-178, **2014**

- [73] Zhao, R., Li, X., Sun, B., Zhang, Y., Zhang, D., Tang, Z., Chen, X., Wang, C., Electrospun Chitosan/Sericin Composite Nanofibers With Antibacterial Property as Potential Wound Dressings, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 68, 92-97, **2014**
- [74] Shalumon, K.T., Anulekha, K.H., Nair, S.V., Chennazhi, K.P., Jayakumar, R., Sodium Alginate/Poly(vinyl alcohol)/Nano ZnO Composite Nanofibers for Antibacterial Wound Dressings, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 49, 3, 247-254, **2011**
- [75] Schneider, A., Wang, X.Y., Kaplan, D.L., Garlick, J.A., Egles, C., Biofunctionalized Electrospun Silk Mats as a Topical Bioactive Dressing for Accelerated Wound Healing, *Acta Biomaterialia*, Volume 5, 7, 2570-2578, **2009**
- [76] Üstündağ, C.G., Karaca. E., Özbek, S., Çavuşoğlu, İ., In vivo Evaluation of Electrospun Poly(vinyl alcohol)/Sodium Alginate Nanofibrous Mat as Wound Dressing, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 290-298, **2010**
- [77] Modi, S.J., Assessing the Feasibility of Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly-(lactic acid) for Potential Food Packaging Applications, Yüksek Lisans Tezi, Ohio Devlet Üniversitesi, **2010**
- [78] Vroman, I., Tighzert, L., Biodegradable Polymers, *Materials*, 2, 307-344, **2009**
- [79] Modi, S., Koelling, K., Vodovotz, Y., Thermal and Rheological Properties of Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and Poly-(lactic acid) Blends, Ohio Devlet Üniversitesi, **2010**
- [80] Averous, L., Pollet, E., Biodegradable Polymers, Environmental Silicate Nano-Biocomposites, *Green Energy and Technology*, Springer Verlag, London, **2012**
- [81] Sultana, N., Wang, M., Water Uptake and Diffusion in PHBV Tissue Engineering Scaffolds and Non-porous Thin Films, *International Conference on Biomedical Engineering and Technology IPCBEE*, Vol. 11, Singapore, **2011**

- [82] Hu, S.G., Jou, C.H., Yang, M.C., Protein Adsorption, Fibroblast Activity and Antibacterial Properties of Poly(3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid) Grafted With Chitosan and Chitooligosaccharide After Immobilized With Hyaluronic Acid, *Biomaterials*, Elsevier Ltd., 2685-2693, **2003**
- [83] Wang, A., Gan, Y., Yu, H., Liu, Y., Zhang, M., Cheng, B., Wang, F., Wang, H., Yan, J., Improvement of the Cytocompatibility of Electrospun poly[(R)-3-hydroxybutyrate-co-(R)-hydroxyvalerate) Mats by Ecoflex, *Society for Biomaterials*, Wiley Periodicals, INC., DOI: 10.1002/jbm.a.34034, 1505-1511, **2012**
- [84] Han, S.O., Son, W.K., Cho, D., Youk, J.H.; Park, W.H., Preparation of Porous Ultra-fine Fibers via Selective Thermal Degradation of Electrospun Polyetherimide/Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Fibres, *Polymer Degradation and Stability*, 86, 257-262, **2004**
- [85] Anonim, Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), [http://en.wikipedia.org/wiki/Poly\(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)) (Ağustos, **2013**)
- [86] Chiellini, E., Solaro, R., Biodegradable Polymers and Plastics, Kluwer Academic/Plenum Publishers, **2003**
- [87] Tong, H.W., Wang, M., Effects of Processing Parameters on the Morphology and Size of Electrospun Micro- and Nano-fibers, *Key Engineering Material Vols.*, 334-335, 1233-1236, **2007**
- [88] Han, I., Shim, K.J., Kim, J.Y., Effect of Poly (3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) Nanofiber Matrices Cocultured with Hair Follicular Epithelial and Dermal Cells for Biological Wound Dressing, *Artificial Organs*, 31(11), 801-808, **2009**
- [89] Kuppan, P. , Vasanthan, K.S., Sundaramurthi, D., Development of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Fibers for Skin Tissue Regeneration: Effects of Topography, Mechanical, and Chemical Stimuli, *Biomacromolecules*, 12, 3156-3165, **2011**

- [90] Sidhu, G.S., Singh, A.K., Thaloor, D., Banaudha, K.K., Patnaik, G.K., Srimal, R.C., Maheshwari, R.K., Enhancement of Wound Healing by Curcumin in Animals, *Wound Repair and Regeneration*, Volume 6, No. 2, 167-177, India, **1998**
- [91] Anonim, Curcumin, <http://en.wikipedia.org/wiki/Curcumin> (Aralık, **2013**)
- [92] Mohanty, C., Das, M., Sahoo, S.K., Sustained Wound Healing Activity of Curcumin Loaded Oleic Acid Based Polymeric Bandage in a Rat Model, *Molecular Pharmaceutics*, **2012**
- [93] Spencer, N., Curcumin, <http://examine.com/supplements/Curcumin> (Aralık, **2013**)
- [94] Ak, T., Gülçin, İ., Antioxidant and Radical Scavenging Properties of Curcumin, *Chemico-Biological Interactions*, 174, 27-37, **2008**
- [95] Çıkrıkçı, S., Mozioglu, E., Yılmaz, H., Biological Activity of Curcuminoids Isolated from *Curcuma longa*, *Record of natural Products*, 2, 1, 19-24, **2008**
- [96] Merrell, J.G., McLaughlin S.W., Tie, L., Laurencin C.T., Curcumin Loaded Poly(ϵ -Caprolactone) Nanofibers: Diabetic Wound Dressing with Antioxidant and Anti-inflammatory Properties, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 1149-1156, **2009**
- [97] Sidhu, G.S., Mani, H., Gaddipati, J.P., Singh, A.K., Seth, P., Banaudha, K.K., Patnaik, G.K., Maheshwari, R.K., Curcumin Enhances Wound Healing in Streptozocin Induced Diabetic Rats and Genetically Diabetic Mice, *Wound Repair and Regeneration*, Volume 7, No. 5, 362-374, India, **1999**
- [98] Suwantong, O., Ruktanonchai, U., Supaphol, P., *In Vitro* Biological Evaluation of Electrospun Cellulose Acetate Fiber Mats Containing Asiaticoside or Curcumin, *Journal of Biomedical Materials Research A*, Volume 94A, Issue 4, Wiley Interscience, Thailand, 1216-1225, **2010**
- [99] Slywester, P.W., Optimization of the Tetrazolium Dye (MTT) Colorimetric Assay for Cellular Growth and Viability, *Drug Design and Discovery Methods in Molecular Biology*, Volume 716, 157-168, **2011**

- [100] Suwanton, O., Opanasopit, P., Ruktanonchai, U., Supaphol, P., Electrospun Cellulose Acetate Fiber Mats Containing Curcumin and Release Characteristic of the Herbal Substance, *Polymer*, 48, 7546-7557, **2007**
- [101] Lukyanova, L., Meshant, S.F., Vicendo, P., Perez, E., Lattes, I.R., Weinkamer, R., Preparation and Evaluation of Microporous Organogel Scaffolds for Cell Viability and Proliferation, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79, 105-112, **2010**
- [102] Buhat, S., Kumar, A., Cell Proliferation on Three-Dimensional Chitosan-Agarose-Gelatin Cryogel Scaffolds for Tissue Engineering Applications, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Volume 114, No. 6, 663-670, **2012**
- [103] Souza, M.A., Sakamoto, K.Y., Mattoso, L.H.C., Release of the Diclofenac Sodium by Nanofibers of Poly(3- hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Obtained from Electrospinning and Solution Blow Spinning, *Journal of Nanomaterials*, Hindawi Publishing Corporation, **2014**
- [104] Chen, G.X., Hao, G.J., Guo, T.Y., Song, M.D., Zhang, B.H., Structure and Mechanical Properties of Poly(3- hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV)/ Clay Nanocomposites, *Journal of Materials Science Letters*, 21, 1587-1589, **2002**
- [105] Bianco, A., Claderone, M., Cacciotti, I., Electrospun PHBV/PEO co-solution Blends: Microstructure, thermal and mechanical properties, *Materials Science and Engineering: C*, 33, 3, 1067-1077, **2013**
- [106] Mendes, J.B.O., Riekes, M.K., Oliveira, V.M., Michel, M.D., Stulzer, H.K., Khalil, N.M., Zawadski, Z.F., Mainardes, R.M., Farago, P.V., PHBV/PCL Microparticles for Controlled Release of Resveratrol: Physicochemical Characterization, Antioxidant Potential, and Effect on Hemolysis of Human Erythrocytes, *The Scientific World Journal*, **2012**
- [107] Mohan, P.R.K., Sreelakshmi, G., Muraleedharan, C.V., Joseph, R., Water Soluble Complexes of Curcumin With Cyclodextrins: Characterization by FT-Raman Spectroscopy, *Vibrational Spectroscopy*, **2012**

- [108] Kim, Y.J., Bae, H.K., Kwon, O.H., Choi, M.S., Three-dimensional Gastric Cancer Cell Culture Using Nanofiber Scaffold for Chemosensitivity Test, *International Journal of Biological Macromolecules*, 45, 65-71, **2009**
- [109] Thangaraju, E.T., Srinivasan, N.T., Kumar, R., Sehgal, P.K., Rajiv, S., Fabrication of Electrospun Poly L-lactide and Curcumin Loaded Poly L-lactide Nanofibers for Drug Delivery, *Fibers and Polymers*, Volume 13, No. 7, 823-830, **2012**
- [110] Catano, S.E.M., Trindade, K.N., Gomes, C.A.T., Schneider, A.L.S., Pezzin, A.P.T., Influence of Poly(Ethylene Glycol)-(PEG) on the Properties of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-PHBV, *Polimeros*, Vol. 23, No. 3, 320-325, **2013**
- [111] Fu, Y., Kao, W.J., Drug Release Kinetics and Transport mechanism of non-degradable and degradable polymeric delivery systems, *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7, 4, 429-444, **2010**
- [112] Braatheeswaran, D., Mathew, A., Aswathy, R.G., Nagaoka, Y., Venugopal, K., Yoshida, Y., Maekawa, T., Sakthikumar, D., Hybrid Fluorescent Curcumin Loaded Zein Electrospun Nanofibrous Scaffold for Medical Applications, *Biomedical Materials*, 7, DOI: 10.1088/1748-6041/7/4/045001, 13-39, **2012**
- [113] Sun, X.Z., Williams, G.R., Hou, X.X., Zhu, L.M., Electrospun Curcumin Loaded Fibers With Potential Biomedical Applications, *Carbohydrate Polymers*, 94, 147-153, **2013**
- [114] Dai, M., Zheng, X., Kong, X., Li, X., Chitosan-Alginate Sponge: Preparation and Application in Curcumin Delivery Wound Healing in Rat, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, DOI: 10.1115/2009/595126, **2009**
- [115] Ramalingam, M., Haidar, Z., Ramakrishna, S., *Integrated Biomaterials in Tissue Engineering*, Wiley, **2012**

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Gözde Mutlu
Doğum Yeri : Ankara
Medeni Hali : Bekâr
E-posta : gmutlu04@hacettepe.edu.tr
Adresi : Esnaf Sanatkârlar Sitesi 1.Grup 7/13 06370 Batıkent
Yenimahalle/Ankara

Eğitim

Lise : Nermin Mehmet Çekiç Anadolu Lisesi (1999-2004)
Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Kimya Öğretmenliği (Almanca),
(2004-2010)
Anadolu Üniversitesi, İşletme, Eskişehir (2007-2011)
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Nanotıp
Anabilim Dalı (2011-2014)

Yabancı Dil ve Düzeyi

Almanca - Çok iyi
İngilizce - İyi
Fransızca - Temel Düzey
İspanyolca - Temel Düzey

İş Deneyimi

-

Deneyim Alanları

Nanopartikül Sentezi
Nanofiber Sentezi
Geçirimli Elektron Mikroskobu
Taramalı Elektron Mikroskobu

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

“Doku Rejenerasyonunda Kullanılmak Üzere Nanofibriler Yapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu” Araştırmacı, Hacettepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Koordinasyon Birimi Projesi, 551, 2013, 18900,00 TL.

Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

NANOTR 9, 9th National Nanoscience and Nanotechnology Congress, 24-28 June 2013, Atatürk University, Erzurum, Turkey, *'Preparation and Characterization of Nanofibrillar Structures for Tissue Engineering'* **Gözde Mutlu**, Semih Çalamak, Eylem Güven.

NANOTR 10, 10th National Nanoscience and Nanotechnology Congress, 17-21 June 2014, Yeditepe University, İstanbul, Turkey, *'Electrospun Nanofibrous Wound Dressing Based on Curcumin Loaded PHBV Mats'* **Gözde Mutlu**, Semih Çalamak, Kezban Ulubayram, Eylem Güven