

**ÜRETRAL ONARIMDA KULLANILMAK ÜZERE
NANOBIYOMALZEMELERİN HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

**PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF
NANOBIOMATERIALS FOR URETHRAL REPAIR**

GAMZE MERCAN

PROF. 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.

2024

Ciğer Parem Annem **“LEYLA MERCAN”**a son nefesime kadar sonsuz özlemlerle,

(20.09.2023 - ∞)

&

Annemin Ciğer Paresi Canımın İçi Anneannem **“Gülizar ERDOST”**a sonsuz özlemlerle,

(29.05.2010 - ∞)

ÖZET

ÜRETRAL ONARIMDA KULLANILMAK ÜZERE NANOBİYOMALZEMELERİN HAZIRLANMASI

Gamze MERCAN

Yüksek Lisans, Nanoteknoloji ve Nanotıp Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Eylem GÜVEN

Haziran 2024, 151 sayfa

Üretra yaralanmaları; tedavisindeki zorluklar ve cerrahi müdahale sonrasında oluşan komplikasyonların yüksek oranda görülmesi nedeni ile üroloji alanında halen önemli sorunlardan birini teşkil etmektedir. Bu yaralanmalar, karmaşık bir yapıya sahip olmakla birlikte endoskopi ile tedavi edilmesi zordur. Üretra yaralanmaları, büyük çoğunlukla düşmelerde veya pelvis kırıklarına neden olan yaralanmalar sonucunda görülmektedir. Bu durumlar, üretranın ön veya arka kısmını etkileyebilmekte ve ciddi komplikasyonlara yol açabilmektedir. Üretra darlıkları, enfeksiyon veya yaralanma gibi sebeplerle ortaya çıkabilir ve tedavi edilmezse ciddi sorunlara neden olabilmektedir. Nanoteknoloji, üretra yaralanmalarının ve darlıklarının tedavisinde umut vaat eden bir alan olarak öne çıkmaktadır. Bu çalışmada üretral onarımda kullanılmak üzere nanobiyomalzemelerin hazırlanması ve karakterize edilmesi amaçlanmıştır. Bu tez çalışmasında, üretral onarımda kullanılmak üzere, Papaverin (PPV) hidroklorür yüklü Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/Jelatin (PHBV/Jel) nanofiber membranların elektrostatik eğirme yöntemiyle sentezlenmesi, karakterizasyonu ve özelliklerinin incelenmesi amaçlanmaktadır. PHBV, biyobozunur, biyoyumlu, toksik olmayan ve yarı kristalin özelliklere sahip olup, yüksek mekanik dayanıklılığı ve kolayca elektrostatik eğrilebilirliği ile doku mühendisliği uygulamaları için elverişli bir biyopolimerdir. Jelatin

(Jel) ise düşük maliyet, yüksek biyouyumluluk, biyobozunurluk, sitotoksik olmaması, antijen özellik göstermemesi, yüksek su tutma kapasitesi, doğal hücre dışı matriks (ECM) ile yapısal ve işlevsel benzerliği, hücre tutunması, farklılaşması ve çoğalmasını destekleyici özelliklere sahip bir biyopolimer olmasından dolayı doku mühendisliği uygulamalarında sıklıkla tercih edilen bir diğer doğal polimerdir. Ancak elektrostatik olarak eğrilmiş jelatin nanofiberlerin hızlı bozulma ve zayıf mekanik dayanım özellikleri biyomedikal alanda kullanımlarını sınırlamaktadır. Jel'in diğer doğal veya sentetik polimerler ile karışım ile mekanik, fizikokimyasal ve biyolojik özellik açısından üstün doku iskeleleri üretilebilmektedir. PPV hidroklorür, düz kas hücrelerini gevşeterek kan damarlarını genişleten bir vazodilatördür. Bu özellikleri sayesinde, PPV hidroklorür ilavesiyle nanofiber membranların doku rejenerasyonunda ve üretral onarımda etkinliğinin artırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda yapılan karakterizasyon çalışmaları kapsamında, PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların viskozite ölçümleri, morfolojik analizleri, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC), termal gravimetrik analiz (TGA), mekanik testler, *in vitro* papaverin hidroklorür salım çalışmaları, temas açısı (ıslanabilirlik) testleri ve *in vitro* biyodegradasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Viskozite ölçümleri, çözelti viskozitesinin saf jelatin katkısıyla ve PPV hidroklorür yükleme oranının artışıyla azaldığını göstermektedir. Jel katkısı, PHBV çözeltisinin direncini kırarak viskoziteyi azaltmıştır. Morfolojik analizler, FEGSEM görüntüleri ve Image J yazılımıyla yapılan ölçümler, farklı konsantrasyonlara sahip çözelti oranlarının membran morfolojisini ve fiber çaplarını etkilediğini ortaya koymaktadır. Jel katkısı kopma kuvveti ve uzama değerlerini azaltmıştır. Jel polimerinin yumuşatıcı etkisi ile düşme meydana gelmiştir. PPV hidroklorür yüklenmesi sonucunda PPV hidroklorür maddesi liflerin arasına girerek mukavemet artışı sağlamıştır. Çekme yönünde polimer lifleri arasında gerilmelere maruz kaldığından çekme mukavemet artışı sağlanırken, PPV hidroklorür katkı artışı uzama değerlerini azaltmıştır. PPV hidroklorür katkı artışı ile gevrek bir membran formu elde edilmektedir. FTIR analizleri, PHBV nanofiber yapısına jel ve PPV hidroklorür katılımını doğrulamıştır. DSC termal analizleri, PPV hidroklorür ilavesiyle membranların termal davranışının değiştiğini ortaya koymaktadır. Jel katkısı, PHBV'nin erime noktası ve entalpi değerlerini etkilemiştir. TGA analizleri, PPV hidroklorür yüklenmesi ile membranların bozunma sürelerinin hızlandığını göstermektedir. PPV hidroklorür yüklenmesi ile PHBV/Jel membran yapıları hızlı bozunmaya başlamıştır. PPV hidroklorür artışı ile daha hızlı bozunma reaksiyonu

meydana gelmiştir. Jel katkısı yumuşatıcı özellik sağlayarak ısıya karşı termal koruma sağlamıştır. PPV hidroklorür artışı ile membran yapısı daha gevrek hale gelmiş ve ısıyla termal bozunma hızlanmıştır. Mekanik testler, PPV hidroklorür ilavesiyle membran uzama değerlerinin düştüğünü ve kopma kuvvetinin arttığını göstermektedir. Jel katkısı, PHBV'nin kopma kuvvetini azaltmış ancak uzama değerlerini iyileştirmiştir. Elastik modül değeri yüksek olduğu zaman membranın dayanıklı olduğu, düşük olduğu durumda ise membranın kırılabilir olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Elde edilen *in vitro* salım profili, %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membrandan kontrollü-geciktirilmiş salımı doğrulamıştır. İlk 30 dakika içinde gerçekleşen hızlı PPV hidroklorür salımını (burst release) takiben daha yavaş ve kontrollü bir salım hızı gözlemlenmiştir. *In vitro* biyodegradasyon çalışmaları, PPV hidroklorür ilavesinin biyolojik parçalanmayı hızlandırdığını göstermektedir. Jel katkısı üretilen PHBV nanofiber membranların, biyolojik bozunma sürecinde hasarlar, kıvrılma, parçalanma ve fiber agregasyonu gibi belirgin morfolojik değişimler yaşanmasına neden olmuştur. Hücre kültür çalışmaları kapsamında, hücreler ile etkileşimi incelenmiştir. *In vitro* sitotoksikite testleri (MTT) ve hücre tutunması ve proliferasyonu analiz edilmiştir. Jel eklenmesi, hücre tutunmasını ve canlılığını önemli ölçüde artırmıştır. PPV hidroklorür ilavesi, nanofiber membran morfolojisinde bozulmalara ve lif aglomerasyonuna neden olarak hücre tutunma ve proliferasyonunu olumsuz etkilemiştir. *In vitro* sitotoksikite testlerinde, PPV hidroklorür konsantrasyonunun artmasıyla hücre canlılığının azaldığı ve toksik etkilerin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Hücre tutunması ve proliferasyonu analizleri sonucunda, PHBV/Jel nanofiber membranlarda en iyi hücre tutunma ve çoğalma sağlanırken, PPV hidroklorür yüklü membranlar arasında en iyi hücre tutunma ve çoğalmanın %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranda olduğu belirlenmiştir. Viskozite, morfolojik, termal ve biyolojik analizler sonucunda, PPV hidroklorür ilavesinin belirli özellikleri iyileştirdiği ancak hücre canlılığını olumsuz etkilediği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, bu tez çalışmasında hazırlanan farklı konsantrasyonlarda (%0.25, %0.50 ve %1 (w/v)) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar başarıyla sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Bu nedenle, üretral onarımda umut vadeden yenilikçi ve etkili bir doku rejenerasyon malzemesi olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Üretra, Nanofiber Membran, Elektroeğirme, PHBV, Jelatin, Papaverin Hidroklorür

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF NANOBIMATERIALS FOR URETHRAL REPAIR

Gamze MERCAN

Master of Science, Department of Nanotechnology and Nanomedicine

Supervisor: Prof. Dr. Eylem GÜVEN

June 2024, 151 pages

Urethral injuries; it still constitutes one of the important problems in the field of urology due to the difficulties in its treatment and the high rate of complications occurring after surgical intervention. These injuries have a complex structure and are difficult to treat with endoscopy. Urethral injuries are mostly seen in falls or as a result of injuries that cause pelvic fractures. These conditions can affect the front or back part of the urethra and lead to serious complications. Urethral strictures may occur due to reasons such as infection or injury and can cause serious problems if left untreated. Nanotechnology stands out as a promising field in the treatment of urethra injuries and strictures. This study aimed to prepare and characterize nanobiomaterials for use in urethral repair. In this thesis study, it is aimed to synthesize, characterize and examine the properties of Papaverine (PPV) hydrochloride loaded Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/Gelatin (PHBV/Gel) nanofiber membranes by electrostatic spinning method for use in urethral repair. PHBV has biodegradable, biocompatible, non-toxic and semi-crystalline properties and is a suitable biopolymer for tissue engineering applications with its high mechanical strength and easy electrostatic spinnability. Gelatin (Gel) is a biopolymer with low cost, high biocompatibility, biodegradability, non-cytotoxicity, non-antigen properties, high water retention capacity, structural and

functional similarity with the natural extracellular matrix (ECM), and supporting properties of cell adhesion, differentiation and proliferation. Therefore, it is another natural polymer that is frequently preferred in tissue engineering applications. However, rapid degradation and poor mechanical strength properties of electrostatically spun gelatin nanofibers limit their use in the biomedical field. By mixing gel with other natural or synthetic polymers, superior tissue scaffolds can be produced in terms of mechanical, physicochemical and biological properties. PPV hydrochloride is a vasodilator that dilates blood vessels by relaxing smooth muscle cells. Thanks to these properties, it is aimed to increase the effectiveness of nanofiber membranes in tissue regeneration and urethral repair by adding PPV hydrochloride. Within the scope of the characterization studies carried out for this purpose, viscosity measurements, morphological analysis, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), differential scanning calorimetry (DSC), thermal gravimetric analysis (TGA) of PHBV, PHBV/Gel and PPV hydrochloride loaded PHBV/Gel nanofiber membranes, Mechanical tests, in vitro papaverine hydrochloride release studies, contact angle (wettability) tests and in vitro biodegradation studies were carried out. Viscosity measurements show that the solution viscosity decreases with the addition of pure gelatin and with the increase of PPV hydrochloride loading rate. The gel additive reduced the viscosity by breaking the resistance of the PHBV solution. Morphological analysis, FEGSEM images and measurements with Image J software reveal that solution ratios with different concentrations affect membrane morphology and fiber diameters. Gel additive reduced the breaking force and elongation values. Falling occurred due to the softening effect of the gel polymer. As a result of PPV hydrochloride loading, PPV hydrochloride substance entered the fibers and increased the strength. While the tensile strength increased due to the tension between the polymer fibers in the tensile direction, the increase in PPV hydrochloride additive reduced the elongation values. A brittle membrane form is obtained with increasing PPV hydrochloride additive. FTIR analyzes confirmed the incorporation of gel and PPV hydrochloride into the PHBV nanofiber structure. DSC thermal analyzes reveal that the thermal behavior of the membranes changes with the addition of PPV hydrochloride. Gel additive affected the melting point and enthalpy values of PHBV. TGA analyzes show that the degradation times of membranes are accelerated with PPV hydrochloride loading. With PPV hydrochloride loading, PHBV/Gel membrane structures began to rapidly degrade. A faster degradation reaction occurred with increasing PPV hydrochloride. The gel additive provided thermal protection against heat by providing softening properties. With the

-

increase in PPV hydrochloride, the membrane structure became more brittle and thermal decomposition with heat accelerated. Mechanical tests show that membrane elongation values decrease and breaking force increases with the addition of PPV hydrochloride. Gel additive reduced the breaking force of PHBV but improved the elongation values. It was concluded that when the elastic modulus value is high, the membrane is durable, and when it is low, the membrane is brittle. The obtained in vitro release profile confirmed the controlled-delayed release from the 10% PHBV/5% Gel nanofiber membrane loaded with 0.25% (w/v) PPV hydrochloride. Following the rapid burst release of PPV hydrochloride within the first 30 minutes, a slower and controlled release rate was observed. In vitro biodegradation studies show that the addition of PPV hydrochloride accelerates biodegradation. PHBV nanofiber membranes produced with gel additives caused obvious morphological changes such as damage, curling, disintegration and fiber aggregation during the biodegradation process. Within the scope of cell culture studies, its interaction with cells was examined. In vitro cytotoxicity tests (MTT) and cell adhesion and proliferation were analyzed. Addition of gel significantly increased cell adhesion and viability. The addition of PPV hydrochloride negatively affected cell adhesion and proliferation by causing deterioration in nanofiber membrane morphology and fiber agglomeration. In in vitro cytotoxicity tests, it was observed that cell viability decreased and toxic effects occurred as PPV hydrochloride concentration increased. As a result of cell adhesion and proliferation analyses, the best cell adhesion and proliferation was achieved in PHBV/Gel nanofiber membranes, while the best cell adhesion and proliferation was achieved in the 0.25% (w/v) PPV hydrochloride loaded 10% PHBV/5% Gel nanofiber membrane among the PPV hydrochloride loaded membranes. It was determined that . As a result of viscosity, morphological, thermal and biological analyses, it was observed that the addition of PPV hydrochloride improved certain properties but negatively affected cell viability. As a result, PHBV/Gel nanofiber membranes loaded with PPV hydrochloride at different concentrations (0.25%, 0.50% and 1% (w/v)) prepared in this thesis study were successfully synthesized and characterized. Therefore, it is thought that it can be used as a promising, innovative and effective tissue regeneration material in urethral repair.

Key Words: Urethra, Nanofiber Membrane, Electrospinning, PHBV, Gelatin, Papaverine Hydrochloride

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarımın başından itibaren çalışma prensibi ve bilime bakış açısı ile bana değer katan, bana öğrettikleri ve gösterdiği sabır sayesinde kendime güvenmemi sağlayan ve bilime olan sevgimi artıran çok sevgili danışman hocam Prof. Dr. Eylem GÜVEN'e,

2012 yılında lisans eğitim sürecinde nanoteknoloji ve nanotıp alanıyla tanışmamı sağlayan ve bu alanda ilerleyip bu günlere gelmemde büyük emeği olan çok sevgili Hocam Prof. Dr. Necdet SAĞLAM'a,

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde desteğini ve katkısını esirgemeyen Prof. Dr. Eşref Oğuz GÜVEN'e,

Tez çalışmasının laboratuvar sürecinde destek vererek teze yaptığı katkılardan dolayı, bildiklerini sabırla bana öğreten, tüm laboratuvar imkanlarını hiç çekinmeden kullanımına sunarak tez çalışmalarına destek olan bana yol gösteren, işini sonsuz saygı ve sevgi ile yapan değerli hocam Öğr. Gör. Erdi BULUŞ'a desteklerinden ötürü çok teşekkür ederim.

Birçok zorlukla karşılaştığım tez sürecimde inancı ve desteğiyle motivasyon olan M. Serdar ASİL'e ve sevgili yol arkadaşlarım canım ablam Ebru AĞAÇKESEN ve iküzüm Eray BAYAR'a, yardımını asla esirgemeyen kardeşi gibi görüp sarıp sarmalayan Zümrüt VAROL SELÇUK ve sevgili ailesine,

Eğitim hayatım boyunca varlığı ile bana güç veren ve her türlü koşulsuz desteği ile beni bugünlere getiren emeklerini asla ödeyemeyeceğim maddi ve manevi hiçbir desteğini esirgemeyen ablalarım Betül MERCAN, Çiğdem MERCAN ve ağabeyim Zafer MERCAN'a,

Beni her zaman düşünen, maddi manevi her türlü desteğini esirgemeyen hakkını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim rahmetli sevgili anneannem Gülizar ERDOST'a, kızı olmaktan gurur duyduğum rahmetli sevgili babam Mehmet MERCAN'a, benimle her zaman gurur duyan iyi yerlerde olmamı isteyen rahmetli canım ağabeyim Muzaffer MERCAN'a,

Ve sen Canım Annem... Eğitim hayatım boyunca varlığı ile bana güç veren ve her türlü koşulsuz desteği ile beni bugünlere getiren emeklerini asla ödeyemeyeceğim 30 Ağustos 2023 çarşamba günü tükendiğimi hissettiğimde devam etmemi söyleyen tez savunma sürecime girdiğim dönemde kaybettiğim canımın canı annem "Leyla MERCAN"a sonsuz

-

teşekkür ederim. Bu tez senin bana olan inancınla buraya kadar geldi... Senin adınla sana ithafen yaşasın sonsuz olsun, Annem...

Bu araştırma yalnızca benim değil yukarıda ismi geçen kişilerin desteğiyle buraya kadar gelebilmiştir. İyi ki varsınız.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Üretra Histolojisi ve Fizyolojisi	6
2.2. Üretral Yaralanmalar	8
2.3. Doku Rejenerasyonu	10
2.3.1. Doku Rejenerasyonunu Etkileyen Faktörler	11
2.3.2. Doku Rejenerasyonu Türleri	12
2.4. Nanofiberler ve Avantajları.....	13
2.4.1.Nanofiberlerin Üretim Yöntemleri.....	14
2.5. Elektroğirme Yöntemi ve Doku Rejenerasyonu Uygulamaları İçin Avantajları	16
2.5.1. Elektroğirme Parametrelerinin Biyolojik Uygulamalar Üzerindeki Etkisi .	18
2.6. Çok Fonksiyonlu Doku İskeleleri	22
2.6.1. Etken Madde Yüklü Elektroğrılmış Doku İskeleleri.....	22
2.6.2. Antibakteriyel Özelliğe Sahip Elektroğrılmış Doku İskeleleri	23
2.6.3. Biyoaktif Moleküllerle Yüklü Elektroğrılmış Doku İskeleleri	24
2.6.3.1. Selüloz-Elektroğirme Nanofiberlerin Doku Rejenerasyon Uygulamalarında Kullanımı	24
2.6.3.2. Kitosan Elektroğirme Liflerin Doku Rejenerasyon Uygulamalarında Kullanımı.....	26
2.6.4. Polihidroksialkanoat (PHA) Elektroğirme Liflerin Doku Rejenerasyon Uygulamalarında Kullanımı.....	28

2.6.5. Polilaktik Asit (PLA) Tabanlı Elektroğirme Liflerin Doku Rejenerasyon Uygulamalarında Kullanımı	33
2.6.6. Elektroğirme Yöntemiyle Üretilen İlaç Yüklü Nanofiberler	37
2.7. Üretral Onarımda Kullanılan Nanofiberler Üzerine Yapılmış Araştırmalar	41
2.8. Poly (3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate) (PHBV)	44
2.9. 1,1,1,3,3,3-Heksafloroizopropanol (HFIP)	48
2.10. Papaverin (PPV) Hidroklorür	49
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	52
3.1. Materyal ve Metot.....	52
3.1.1. Kimyasal Malzemeler	52
3.2. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapıların Üretimi	53
3.2.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması.....	53
3.2.2. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membranların Elektroğirme Yöntemiyle Üretilmesi.....	56
3.3. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapıların Karakterizasyon Çalışmaları.....	58
3.3.1. Viskozite Ölçümü	58
3.3.2. Morfolojik Test.....	59
3.3.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	61
3.3.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)	62
3.3.5. Termal Gravimetrik Analiz (TGA).....	62
3.3.6. Mekanik Test	63
3.3.7. <i>In Vitro</i> Papaverin Hidroklorür Salım Çalışmaları.....	65
3.3.8. Temas Açısı (Islanabilirlik) Testi	65
3.3.9. <i>In Vitro</i> Biyodegradasyon Çalışmaları	64
3.4. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapıların Hücre Kültürü Çalışmaları.....	66
3.4.1. <i>In Vitro</i> Sitotoksikite Testi (MTT)	67
3.4.2. Hücre Tutunması ve Proliferasyonu	68
3.4.2.1. Hücrelerin Hazırlanması	68
3.4.2.2. Nanofiber-Hücre Etkileşiminin İncelenmesi	68

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	70
4.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapılarının Elektrostatik Eğirme Parametreleri	70
4.2. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapılarının Karakterizasyon Çalışmaları	71
4.2.1. Viskozite Ölçümü.....	72
4.2.2. Morfolojik Analiz.....	74
4.2.2.1. Nanofiber Membran Boy-Boy Dağılımı	81
4.2.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR).....	88
4.2.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC).....	91
4.2.5. Termal Gravimetrik Analiz (TGA)	96
4.2.6. Mekanik Test.....	99
4.2.7. <i>In Vitro</i> Papaverin Hidroklorür Salım Çalışmaları	102
4.2.8. Temas Açısı (Islanabilirlik) Testi.....	105
4.2.9. <i>In Vitro</i> Biyodegradasyon Çalışmaları.....	107
4.3. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapılarının Hücre Kültür Çalışmaları	109
4.3.1. <i>In Vitro</i> Sitotoksosite Testi (MTT)	109
4.3.2. Hücre Tutunması ve Proliferasyonu.....	111
5. YORUM	119
6. KAYNAKLAR.....	125
EKLER	151
EK 1 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu	151
ÖZGEÇMİŞ	152

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Üretra anatomik bölümleri; a. Kadın, b. Erkek	7
Şekil 2.2. Elektroğirme parametrelerinin değiştirilmesiyle elde edilen farklı morfolojik nanofiber yapıları.....	20
Şekil 2.3. Elektroğirme yoluyla elde edilen farklı nanofiber yığınları düzenlemeleri..	21
Şekil 2.4. PHA'ların genel kimyasal yapısı	47
Şekil 2.5. PHBV'nin kimyasal yapısı	48
Şekil 2.6. 1,1,1,3,3,3-Heksafloroizopropanol (HFIP)'ın kimyasal yapısı	49
Şekil 2.7. Papaverinin hidroklorür kimyasal yapısı	50
Şekil 3.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran üretim aşamaları.....	57
Şekil 3.2. LAMY RHEOLOGY RM100 Plus viskozimetre cihazı	59
Şekil 3.3. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların altın-paladyum ile kaplamaya hazırlanması.....	60
Şekil 3.4. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların altın-paladyum ile kaplanması.....	60
Şekil 3.5. Quanta marka FEI FEG450 model FEGSEM cihaz görüntüsü ve kaplanmış PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların görüntüsü	61
Şekil 3.6. FTIR yapısal analiz cihaz görüntüsü	61
Şekil 3.7. DSC termal analiz cihaz görüntüsü	62
Şekil 3.8. TGA analiz cihaz görüntüsü	63
Şekil 3.9. Newtonluk çekme test cihazı ve PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların mekanik test işlemine hazırlandığı kesme cihazı	64
Şekil 3.10. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların çekme test cihazının çeneleri arasına bağlanma görüntüsü.....	64
Şekil 3.11. Temas açısı (ıslanabilirlik) test cihazı ve yazılım görüntüsü	66
Şekil 4.1. %5 PHBV membran 50000X çap ölçümlü ve baloncuk tipinde partikül gösterimli FEGSEM görüntüsü	75
Şekil 4.2. %8 PHBV membran 50000X çap ölçümlü ve baloncuk tipinde partikül gösterimli FEGSEM görüntüsü	76

Şekil 4.3. %10 PHBV membran 12000X çap ölçümlü ve boncuk fiber FEGSEM görüntüsü.....	76
Şekil 4.4. %13 PHBV membran 12000X çap ölçümlü FEGSEM görüntüsü	77
Şekil 4.5. %15 PHBV membran 12000X çap ölçümlü FEGSEM görüntüsü	77
Şekil 4.6. %10 PHBV/%5 Jel membran 12000X çap ölçümlü ve boncuk fiber FEGSEM görüntüsü.....	78
Şekil 4.7. %10 PHBV/%10 Jel membran 12000X çap ölçümlü, kırık fiber ve parçacıklı yapı FEGSEM görüntüsü	78
Şekil 4.8. %10 PHBV/%15 Jel membran 12000X çap ölçümlü, kırık fiber ve parçacıklı yapı FEGSEM görüntüsü	79
Şekil 4.9. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran 12000X çap ölçümlü, yönlenmiş fiber FEGSEM görüntüsü.....	79
Şekil 4.10. %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran 12000X çap ölçümlü, kırık ve kalın fiber FEGSEM görüntüsü.....	80
Şekil 4.11. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran 12000X çap ölçümlü, kırık ve kalın fiber FEGSEM görüntüsü	80
Şekil 4.12. %5 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.....	82
Şekil 4.13. %8 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.....	82
Şekil 4.14. %10 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.....	83
Şekil 4.15. %13 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.....	83
Şekil 4.16. %15 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.....	84
Şekil 4.17. %10 PHBV/%5 Jel membran histogram ortalama çap değerleri	84
Şekil 4.18. %10 PHBV/%10 Jel membran histogram ortalama çap değerleri.....	85
Şekil 4.19. %10 PHBV/%15 Jel membran histogram ortalama çap değerleri	85
Şekil 4.20. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran histogram ortalama çap değerleri	86
Şekil 4.21. %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran histogram ortalama çap değerleri	86
Şekil 4.22. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran histogram ortalama çap değerleri	87
Şekil 4.23. %10 PHBV nanofiber membran FTIR spektrumu	88
Şekil 4.24. Saf jel FTIR spektrumu	89
Şekil 4.25. PPV hidroklorür FTIR spektrumu.....	90
Şekil 4.26. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel FTIR spektrumu	90

Şekil 4.27. %10 PHBV nanofiber membran DSC termogram grafiği	92
Şekil 4.28. Jel DSC termogram grafiği.....	92
Şekil 4.29. %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran DSC termogram grafiği.	93
Şekil 4.30. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran DSC termogram grafiği	93
Şekil 4.31. %10 PHBV nanofiber membran TGA termogramları.....	96
Şekil 4.32. Saf jel TGA termogramları.....	97
Şekil 4.33. %10 PHBV/%5 Jel TGA termogramları	97
Şekil 4.34. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran TGA termogramları	98
Şekil 4.35. Elektroçirime tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların çekme-uzama grafiği.....	102
Şekil 4.36. PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapılarından PPV hidroklorür in vitro salım profili.....	103
Şekil 4.37. PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların kümülatif % ilaç salım grafiği	103
Şekil 4.38. PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran su temas açısı görüntüleri (a. %10 PHBV, b. %10 PHBV/%5 Jel, c. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel ve ç.,d. %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar)	105
Şekil 4.39. PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran su temas açısı görüntüleri (%10 PHBV, %10 PHBV/%5 Jel, %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel ve %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar).....	107
Şekil 4.40. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlara PBS-lizozim çözeltisi içerisindeki in vitro degradasyonu	108
Şekil 4.41. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 24 saatlik inkübasyon sonucu % hücre canlılığı.....	110
Şekil 4.42. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapılarına ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonu (Hücreler 7 gün	

süreyle %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar ve TCPS substratlarıyla (kontrol) kültüre edilmiştir)	111
Şekil 4.43. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapılarına ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonu (Hücreler 14 gün süreyle %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir)	112
Şekil 4.44. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların 24. saat canlı (boyanmamışlar) ve ölü hücreler (kırmızı) gösterimi	114
Şekil 4.45. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların 24. saat hücre canlılığı görüntüsü (Yeşil boyanmışlar canlı hücreleri temsil etmekte)	115
Şekil 4.46. %10 PHBV nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü ve tutunan hücrelerin gösterimi (Görüntü 12000X de alınmıştır).....	116
Şekil 4.47. %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü ve tutunan hücrelerin gösterimi. (Görüntü 12000X de alınmıştır).....	116
Şekil 4.48. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü ve tutunan hücrelerin gösterimi (Görüntü 12000X de alınmıştır).....	117
Şekil 4.49. %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü ve tutunan hücrelerin gösterimi (Görüntü 12000X de alınmıştır).....	117
Şekil 4.50. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü (Görüntü 12000X de alınmıştır).....	118

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Farklı elektroğirme tekniklerine göre biyopolimer doku iskelelerinin belirli fonksiyonları ve yara tipleri hedefleri.....	39
Çizelge 2.2. Üretral onarımda kullanılan nanofiberler üzerine yapılmış araştırmalar....	44
Çizelge 3.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların üretimi öncesi kullanılan farklı polimer çözeltilerine ait parametreler (çözücü hacmi: 100 ml, karıştırma hızı: 500 rpm, karıştırma sıcaklığı: 70°C, çalışma mesafesi: 15 cm)	55
Çizelge 4.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların üretimi öncesi polimer çözeltilerinin viskozite ölçüm değerleri	71
Çizelge 4.2. Elektroğirme tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklenen PHBV/jel nanofiber membranların çap analizi.	72
Çizelge 4.3. PHBV, Jel, PPV hidroklorür, PHBV/Jel ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların DSC termogramı değerleri	74
Çizelge 4.4. Elektroğirme tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların çekme mukavemet, uzama ve membran kalınlığı değerleri	94
Çizelge 4.5. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlara yapılan su temas açısı ölçüm sonuç değerleri.....	99
Çizelge 4.6. Nanofiber membranlar kümülatif yüzde (%) ilaç salımı değerleri.....	104
Çizelge 4.7. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlara yapılan su temas açısı ölçüm sonuç değerleri.....	106

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μm	Mikrometre
nm	Nanometre
ml	mililitre
N_2	Azot gazı
Te	Erime Noktası
ΔH	Entalpi Değişimi
Θ	Temas Açısı
cP	centipoise
MPa	megapascal

Kısaltmalar

1D-HPLC	Bir-boyutlu Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
ASTM E4	Amerikan Malzeme ve Test Standartları Enstitüsü'nün Çekme Testi Standardı
A549	Adenokarsinom Alveoler Kanser Hücre Hattı
Ag	Gümüş
AgNPs	Gümüş Nanoparçacıkları (Silver Nanoparticles)
bFGF	Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
BMSCs	Bone Marrow Stem Cells (Kemik İliği Kök Hücreleri)
CA	Selüloz Asetat (Cellulose Acetate)
CTGF	Bağ Doku Büyüme Faktörü (Connective Tissue Growth Factor)
CUR	Curcumin (Kurkumin)
DCH	Doksisiklin (Doxycycline)

-	
DTAC	Dodecil Trimetil Amonyum Klorür
DU145	Androjen Bağımsız Prostatik Karsinoma
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetri
ECM	Ekstraselüler Matriks (Extracellular Matrix)
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)
FEGSEM	Field Emission Gun Scanning Electron Microscopy Alan Emisyon Tabancalı Taramalı Elektron Mikroskobu
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GO	Graphene Oxide (Grafen Oksit)
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol
IUPAC	Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
KİTS	Kontrollü İlaç Taşıma Sistemleri
LD50	Ölümcül Doz 50 (Lethal Dose 50)
LNCaP	Lenf Nodu Prostat Kanseri (Lymph Node Prostate Cancer)
MDA-MB-231	Triple-Negatif Meme Kanseri Hücre Hattı
MH	Manuka Balı (Manuka Honey)
PB	Phosphate Buffered Saline (Fosfat Tamponlu Salin)
PC-3	Prostat Kanseri
PCL	Polikaprolakton (Polycaprolactone)
PDE	Fosfodiesteraz (Phosphodiesterase)
PDLA	Poly (d-lactide) (Poli (d-laktid))
PDLLA	Rasemik poli(dl-laktid) (Racemic poly(dl-lactide))
PEG	Polyethylene Glycol (Polietilen Glikol)
PES	Polyethylene Succinate
PHA	Polihidroksialkanoat (Polyhydroxyalkanoate)
-	

PHBV	Polihidroksibutirat-valerat (Polyhydroxybutyrate-valerate)
PHMB	Poliheksametilen Biguanid (Polyhexamethylene Biguanide)
PHOHHx	Poly(3-hydroxyoctanoate-co-3-hydroxyhexanoate)
PIECs	Porcine Iliac Endothelial Cells (Domuz İliyak Endotel Hücreleri)
PLA	Polilaktik Asit (Polylactic Acid)
PLGA	Poli (laktik-ko-glikolik asit) (Poly(lactic-co-glycolic acid))
PLLA	Poli (L-laktit) (Poly (L-lactide))
POC	Poli (1,8-oktandioll-co-sitrik asit) Poly (1,8-octanediol-co-citric acid)
PPV Hidroklorür	Papaverin Hidroklorür
PVA	Poli (Vinil Alkol) (Poly (Vinyl Alcohol))
PVA	Polyvinyl Alcohol (Polivinil Alkol)
PVP	Polyvinylpyrrolidone (Polivinilpirolidon)
rhEGF	Rekombinant İnsan Epidermal Büyüme Faktörü
SA	Sodium Alginate (Sodyum Aljinat)
TFE	Tetrafluoroethylene (Tetrafluoroetan)
TGA	Termal Gravimetrik Analiz
TİTS	Transdermal İlaç Taşıma Sistemleri
TUR	Transüretral Rezeksiyon

1. GİRİŞ

Üretra, idrarın mesaneden vücut dışına atılmasını sağlayan iki tarafı açık tüp şeklindeki kanaldır. Her iki cinsiyette de üretranın boşaltım işlevi vardır. Erkeklerde meninin geçmesini sağlayarak üremeye ilgili görevi olmakla birlikte ayrıca idrarın mesane içerisine kanal aracılığıyla geri geçmemesini sağlamakta ve bakterilerin girişini sınırlamaktır [1]. Üretra; posterior üretra, membranöz üretra, bulböz üretra, penil veya pandülöz üretra olmak üzere dört anatomik parçadan oluşmaktadır. Araştırmanın odak noktası olan üretra yaralanmaları, büyük çoğunlukla düşmelerde veya pelvis kırıklarına neden olan yaralanmalar sonucunda görülmektedir. Üretra yaralanmaları; ön ve arka üretra yaralanmaları olarak değerlendirilmektedir. Ön yaralanmalar, ön üretrada yaralanma sonucu meydana gelmekte ve iki üretra ucu tamamen ayrılrsa bile farklı yönlere doğru sapma veya ayrışma göstermemektedir. Arka yaralanmalarda ise yaralanma çekilme ve ayrışma biçiminde gelişmektedir. İki uç kopar ve aynı zamanda çekilmeye bağlı olarak sapma göstermektedir. İyileşme, iki uç arasında fibrozis ile sonuçlanmaktadır. Üretra darlıkları iki ana nedenden meydana gelmektedir. Bunlar: enfeksiyona bağlı gelişen üretra darlıkları ve yaralanma sonucu üretra darlıklarıdır. Uzun süre üretral sonda taşımak zorunda kalan hastalarda üretra darlığına neden olmaktadır. Yaralanma sonucu üretra darlıkları, yüksekten düşme v.s. gibi eksternal travmalar sonucu oluşan üretra yaralanmalarıdır. Komplikasyon olarak üretra darlığı (ÜD) gelişmektedir. ÜD, yoğun kollajen ve fibroblastların oluşturduğu fibrotik bir dokudur. Bu fibrotik doku hafif darlıklarda yalnız üretra mukozasında sınırlıdır. Ağır darlıklarda ise üretra mukozasını aşarak dokuyu (sponjiofibrosis) da içine almaktadır [2]. ÜD, tedavi edilmezse akut üriner retansiyon, prostatit, epididimoorşit, hidronefroz, periüretral apse, enfeksiyon, üretra veya mesane taşı, fistül, sepsis ve böbrek yetmezliğine sebep olabilir. Çalışmalar tedavi edilmemiş ÜD hastalarında komplikasyon oranlarının çok yüksek olduğunu göstermektedir. ÜD insidansının % 0,2-1,2 gibi yüksek rakamlarda olduğu ve özellikle de 55 yaş üzeri erkeklerde bu hastalığın sıklığının çok belirgin olarak arttığı tespit edilmiştir [3]. Ayrıca ÜD patogeneğinde genellikle üretral spongioz dokudaki ekstraselüler matrikste hücresel değişiklikler olmaktadır. Burada normal konnektif doku, fibroblastlarla dşşeli yoğun liflerle yer değiştirdiği bilinmektedir [4].

Literatürde doku rejenerasyonu için kullanılan farklı nanoyapılar bulunmaktadır. Bunlar; anodik oksidasyon yöntemi ile elde edilen nanotüpler, koloidal litografi ile üretilen nanokolloidler, nanosütunlar, kalıplama, elektron ışını litografisi ve nanobaskılama

yöntemleri ile elde edilen nanoçukurlar, nanooluklar, elektroğirme yöntemiyle üretilen nanofiberler, faz ayrımı ile elde edilen nanodotlar ve reaktif iyon aşındırma ile elde edilen nanopürüzler olarak sıralanabilir [5]. Nanoteknolojinin önemli bir branşı olarak ortaya çıkan nanofiberler, diğer bir ifadeyle nanofiberler; çeşitli üretim yöntemleriyle elde edilen, yüksek yüzey alanı/hacim oranı, fleksibilite, yüksek gözeneklilik de dâhil olmak üzere birçok eşsiz fonsiyonlara sahip, nanoölçekli iplikli yapılardır [6]. 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 elektroğirme ile polimerlerden nanoölçekli ve gözenekli fiberler tek basamakta sentezlenebilmektedir [6].

Elektroğirme yöntemi ile üretilen nanofiberlerin geniş yüzey alanı, yüzey modifikasyonu, ayarlanabilir gözeneklilik, geniş malzeme seçimi ve mekanik özellikler gibi pek çok özelliği bulunmaktadır. Bu özelliklerin bir sonucu olarak, nanofiberler doku mühendisliğinde özellikle de yara tedavisinde büyük potansiyele sahip olduğundan sıklıkla kullanılmaktadır. Nanofiberler, geniş bir yüzey alanı, nano boyut ve yüksek gözeneklilik (%60-90) gibi avantajlara sahiptir ve fazla sıvıyı etkili bir şekilde emebilir ve yara yüzeyindeki nemi dengelemeye ve yara yüzeyini nemli tutmaya yardımcı olarak doku rejenerasyonuna yardımcı olabilir [7]. Elektroğirme yöntemi ile üretilen nanofiberlerin özgün yapısı, ilaç yükleme hızını artırabilir ve ilacın yara bölgesinde sürekli olarak salınmasını sağlayabilir, böylece ilaçların doku rejenerasyonu destekleme etkisini geliştirebilir [8]. Nanofiberler ayrıca benzer bir doğal dış matris yapısı oluşturabilir ve hücre yapışması ve çoğalması için bir alan sağlayabilir [9]. Ayrıca büyüme faktörleri için uyarıcı etken sağlaması ile dermis ile epidermisin rejenerasyonunu sağlayabilir. Nanofiberler ayrıca biyolojik olarak aktif moleküller arasındaki etkileşimi artırabilen, besinlerin vücutta taşınmasını kolaylaştırabilen ve hücre büyümesini ve anjiyogenezi sağlayabilen gözenekli bir yapıya sahiptir [10].

İdeal bir doku iskelesi, yarayı dış faktörlere karşı izole etmeli, yara yüzeyinden eksüda emmeli, yaralı bölgeyi bakteriyel enfeksiyondan korumalı, anti-inflamatuar işlev görmeli ve doku rejenerasyonunu sağlamak ve iyileşme sürecini hızlandırmak için hücre proliferasyonunu indüklemelidir. Yara bölgesinde uygun nemli bir ortam sağlamalı ve dokuyu daha fazla hasardan korumalıdır. Sıkıştırılmayan yara tipleri söz konusu olduğunda, yara sıkışmasını önlemek için pansumanın elastik olması gereken başka bir

önemli gereksinimdir. Ek olarak, yara pansuman malzemesi yumuşak, biyouyumlu, toksik olmayan ve alerjenik olmamalıdır [19,26-28]. Etkili iyileşme süreci, çok işlevli yara pansumanlarının uygulanmasıyla iyileştirilecektir. Yara tipi ve özellikleri, iyileşme zamanı ve pansuman malzemesinin kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri, işlevsel bir doku iskelesi tasarlanırken dikkate alınmalıdır [5,7].

Son zamanlarda, elektroğirme yöntemi aracılığıyla biyopolimer bazlı nanofiber yapıların üretimine büyük ilgi gösterilmiştir. Elektroğirme teknolojisi, benzersiz özelliklere sahip ultra ince lifler üretmek için yaygın olarak kullanılan, düşük maliyetli ve ayarlanabilir bir yöntemdir. Ham madde seçimindeki esneklik ve nihai özellikleri ayarlama olanağı sayesinde, elektroğirme tekniği, doku mühendisliği iskeleleri, yara pansumanları ve ilaç taşıma sistemleri gibi biyomedikal malzemeler için yaygın olarak kullanılmaktadır [7,8]. Nano ölçekli çapta liflerden oluşan elektroğirilmiş yapılar, ekstraselüler matriksin (ECM) fibriller bölümüne benzerlikleri nedeniyle ideal yara pansumanları ve doku yerine koymalar olarak önerilmektedir [11,26,29,30]. Büyük özgül yüzey alanı ve küçük gözenek boyutuna sahip yüksek gözeneklilik sayesinde, bu malzemeler iyileşme sürecini iyileştirmek için etkin bir performans sergilemektedir. Uygun mekanik özelliklere sahip nanofiber iskeleler, hücre proliferasyonu için uygun yapı sağlayabilmektedir. Ayrıca, terapötik ve farmasötik ajanların dahil edilmesi, farklı yara tiplerini etkin bir şekilde hedeflemek için elektroğirilmiş pansumanları işlevselleştirmekte kullanılmaktadır [12,27,31-34]. Yeni polimerlerin ve üretim yöntemlerinin ortaya çıkışı, mükemmel yapısal ve mekanik özelliklerle birlikte ayarlanabilir işlevler sunan ileri yara pansumanları sunmaktadır. Biyopolimerik malzemeler, farklı yara tiplerinin iyileşmesinde işlevsel doku yerine koymalar, doku rejenerasyonu yamaları ve pansumanlar olarak yaygın olarak önerilmektedir. Doğal biyopolimerlerin geniş bir yelpazesi (örneğin, selüloz, kitosan, jelatin (jel), hyaluronik asit ve kollajen), yerel doku matriksini taklit etmek ve yaraların iyileşmesi için nanofiberlerin elektroğirilmesinde kullanılmıştır. Polilaktidler (PLA'lar) ve polihidroksialkanoatlar (PHA'lar), doku iyileştirme uygulamaları için yaygın olarak kullanılan sentetik biyopolimerlerdir. Bu materyallerin mekanik, bozunma ve/veya morfolojik özellikleri, doğal ve sentetik biyopolimerlerin koaksiyel, çok-nozullu veya karışım elektroğirilmesi ile ayarlanabilmektedir [35]. Tasarlanan bu yapılar ekstraselüler matriksin (ECM) hücrelere sağladığı fiziksel destek, hücrehücre 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].

PHBV (Poly(3-hydroxybutyrate-co- 3-hydroxyvalerate)), biyobozunur, biyoyumlu, toksik olmayan ve yarı kristalin özelliklere sahip bir polimer olup, yüksek mekanik dayanıklılığı ve kolayca elektrostatik eğrilebilirliği ile doku mühendisliği uygulamalarında idealdir [34]. Jelatin (jel) ise düşük maliyet, yüksek biyoyumluluk, biyobozunurluk, sitotoksik olmaması, antijen özellik göstermemesi, yüksek su tutma kapasitesi, doğal hücre dışı matriks (ECM) ile yapısal ve işlevsel benzerliği, hücre tutunması, farklılaşması ve çoğalmasını destekleyici özelliklere sahip bir biyopolimer olmasından dolayı doku mühendisliği uygulamalarında sıklıkla tercih edilen bir diğer doğal polimerdir. Ancak elektrostatik olarak eğrilmiş jelatin nanofiberlerin hızlı bozulma ve zayıf mekanik dayanım özellikleri biyomedikal alanda kullanımlarını sınırlamaktadır. Jelatinin diğer doğal veya sentetik polimerler ile karışım ile mekanik, fizikokimyasal ve biyolojik özellik açısından üstün doku iskeleleri üretilebilmektedir [36-37]. PPV hidroklorür, düz kas hücrelerini gevşeterek kan damarlarını genişleten bir vazodilatördür. Bu özellikleri sayesinde, PPV hidroklorür ilavesiyle nanofiber membranların doku rejenerasyonunda ve üretral onarımda etkinliğinin artırılması amaçlanmıştır [38].

Bu tez çalışmasında, üretral onarımda olarak kullanılmak üzere, papaverin (PPV) hidroklorür yüklü Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate (PHBV) /Jelatin (Jel) nanofiber membranların elektrostatik eğirme yöntemiyle sentezlenmesi, karakterizasyonu ve özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda yapılan karakterizasyon çalışmaları kapsamında, PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların viskozite ölçümleri, morfolojik analizleri, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTİR), diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC), termal gravimetrik analiz (TGA), mekanik testler, in vitro papaverin hidroklorür salım çalışmaları, temas açısı (ıslanabilirlik) testleri ve in vitro biyodegradasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, bu tez çalışmasında hazırlanan farklı konsantrasyonlarda (%0.25, %0.50 ve %1 (w/v)) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar başarıyla sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Tez çalışması

-
kapsamında sentezlenmiş ve karakterize edilmiş nanofiber membranların üretral onarımda kullanımının umut vadeden yenilikçi ve etkili bir doku rejenerasyon malzemesi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

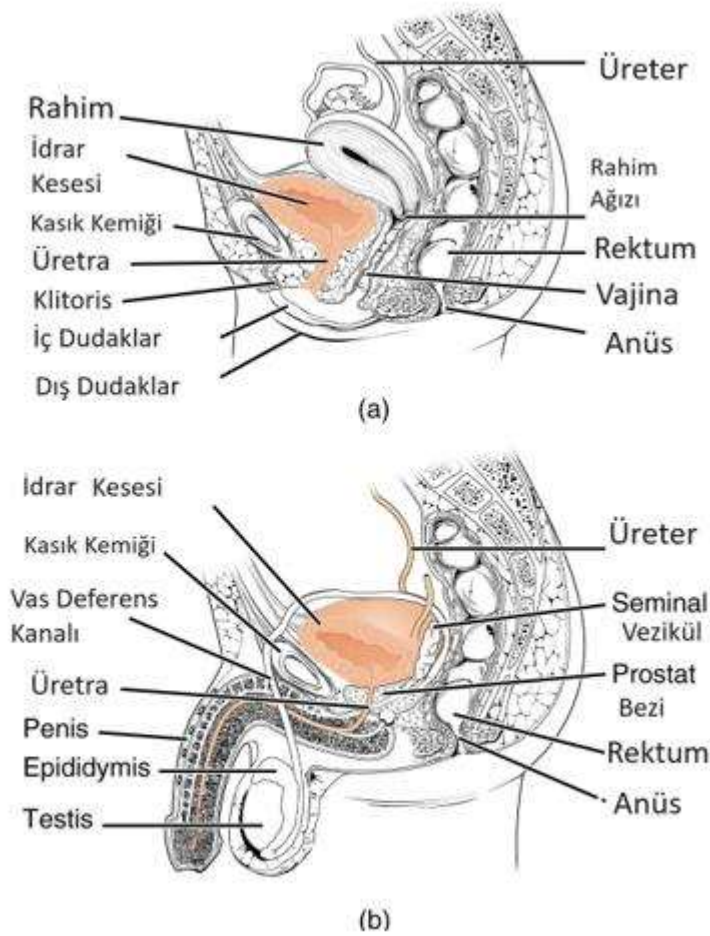
2.1. Üretra Histolojisi ve Fizyolojisi

Histolojik yapısı erkek ve kadınlarda farklı olup, erkeklerde temelde dört kısımdan oluşur. Ortalama erkek uretrası yaklaşık 20 cm uzunluğundadır. Preprostatik uretra, mesane boynundan prostat girişine kadar 0,5-1,5 cm uzanır ve duvarı çok katlı değişici epitel ile döşelidir. Prostatik uretra ise mesane boynundan başlayarak prostat boyunca yaklaşık 3-4 cm uzanır ve hilal şeklinde seyredir. Bu bölümün duvarı da çok katlı değişici epitelle döşelidir ve prostatın kanalları bu kısma açılır [2]. Membranöz uretra, prostatın apeksinden bulbus penise kadar uzanan kısa bir segmenttir ve duvarı yalancı çok katlı prizmatik veya çok katlı prizmatik epitelle döşelidir. Eksternal sfinkter, derin perinenin iskelet kasları ile sarılarak burada istemli olarak oluşur. Anterior uretra, penis boyunca yaklaşık 15 cm uzanır ve penis tabanından geçerken yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir; distal kısımda ise çok katlı yassı epitel olarak çıkar [4].

Penil uretra, her iki korpus kavernozumun ventral komşuluğundaki endotel hücreleri ile döşeli korpus spongiyozum içinde yer alır. Korpus kavernozum ve korpus spongiyozum birçok kavernöz boşluk içerir. Bu boşluklar arasında elastik liflerden zengin ince bağ dokusu ve düz kas lifleri bulunur [1-2]. Üretranın görevi, idrar ve meni geçişine izin vererek dışarı atılmasını sağlamaktır. Üretra yüzeyini kaplayan epitel dokusu, idrar, ejakülat ve dış ortam maruziyetine karşı uretrayı korur [1]. Üretra düz ve çizgili kaslardan oluşur. Üretral duvardaki düz kas lifleri, detrusordan daha ince ve belirgin katlarla dizilidir. Longitudinal düz kaslar daha baskın olup, daha ince iç katman tabakası içerir ve uretranın sabitlenmesinde sorumlu olduğu düşünülür. Sirküler kaslar ise lümeni kapatmada veya mesane boynunun işeme sırasında gevşemesinde yardımcı olur. Üretranın lamina propria tabakasında birkaç hücrenin oluşturduğu dağınık küçük lifler bulunur. Çizgili kas, erkekte mesane boynu ve prostatın ön yüzünden membranöz uretra boyunca uzanır. Üretral basınçta, üretral düz ve çizgili kasların, lamina proprianın göreceli rolleri olduğu gözlemlenmektedir [1-4].

Erkek uretrasının büyük kısmı damardan zengin korpus spongiosum ve glans penis içerisinde bulunur ve temelde posterior ve anterior uretra olarak sınıflandırılır. Posterior uretra, mesane boynunun distalinden başlayıp perineal membrana kadar devam eder. Anterior uretra ise perineal membrandan başlayarak eksternal üretral meatusa kadar uzanır [4]. Posterior uretra, prostatik uretra ve membranöz uretra olarak ayrılırken,

anterior üretra, bulbar üretra, penil üretra, fossa navicularis, glandular üretra ve üretral meatus olarak sınıflandırılır. Üretranın anatomik bölümleri Şekil 2.1’de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Üretra anatomik bölümleri; a. Kadın, b. Erkek [4].

Prostatik üretra; üretranın mesane boynu ile membranöz üretra arasında yer alan yaklaşık 3 cm uzunluğundaki bölümüdür. Preprostatik üretra etrafı düz kas hücreleri ile çevrilidir ve internal sfinkteri oluşturur [11]. İstemsiz kontinanstı sorumludur ve sempatik aktivite ile kontrol edilir. Prostatik üretra genişleme özelliği en yüksek olan ve en geniş üretra bölümüdür. Puboprostatik ligamentler ile pubis kemiğine bağlanarak sabitlenmiştir, bu nedenle hareket etmez [12].

Membranöz üretra; ürogenital diyaframın içinde yaklaşık 2 cm uzunluğunda en kısa olan bölümdür. Üretranın meatustan sonra en dar olan bu kısmının etrafı çizgili kaslar ile çevrilidir ve istemli kontinanstı rol alır. Anatomik çalışmalar, bu çizgili kas liflerinin arka

tarafında birleşmediklerini ve üretranın ön tarafında daha yoğun bir şekilde uzandıklarını göstermektedir [13]. Membranöz üretra, pelvik travmalara karşı daha savunmasızdır ve genellikle pubik kemiğe yakınlığı nedeniyle travma sonucu oluşan üretra yaralanmalarının en riskli bölgesidir [14].

Anterior üretra kısmında bulbar üretra ve penil üretra bulunmaktadır. Bulbar üretra; ürogenital diyaframdan başlayan, penoskrotal bileşke kadar yaklaşık 3-4 cm uzunluğunda olan bölümdür. Korpus spongiosum ile çepeçevre sarılmıştır. Spongios doku, bulbospongios kası tarafından çevrelenir. Bu kas, miksiyon sonrası üretrada kalan idrarı atmada ve ejakülasyonun daha etkili olmasında rol oynar. Bulbar üretra rekonstrüksiyon cerrahisi geçiren hastalarda bu kas genellikle zarar görür. Dolayısıyla, bu hastalarda terminal damlama ve ejakülasyon gücünün azalması gibi sorunlar ortaya çıkabilir [15]. Bulbar üretra, posteriorunda pubik kemik ile komşuluğu bulunması nedeniyle ata biner tarzda düşmelerde yaralanma riski yüksektir [16].

Penil üretra; peniste, fossa navicularis ile suspansör ligament arasında, korpus spongiosum ile çevrili seyreden en uzun üretra bölümüdür. Dorsalinde korpus kavernozumlar yer alır. Korpus kavernozumlar, glans penis içine uzanmaz ve fossa navicularis adı verilen bölge tamamen spongiyoz doku ile çevrelenir [17]. Üretranın en dar yeri eksternal meatustur.

2.2. Üretral Yaralanmalar

Üretra travmaları, genellikle yüksekten ata biner tarzda düşmeler veya kemik pelvis kırıklarına neden olan travmalar sonrasında ortaya çıkar. Bu tür yaralanmaların büyük çoğunluğu erkeklerde görülürken, kadınlarda nadiren üretra travması yaşanır. İlginç bir şekilde, kız çocuklarında üretra travması kadınlara kıyasla daha sık görülür. Şiddetli pelvis travmaları sonucu oluşan üretra yaralanmaları, sıklıkla vajina ve dış genital organ yaralanmaları ile birlikte görülür. Üretra, farklı lokalizasyonlarda travmaya maruz kalabilir ve anatomik olarak dört parçaya ayrılır: 1- Posterior üretra, 2- Membranöz üretra, 3- Bulböz üretra, 4- Penil veya pandülöz üretra. Üretra travmalarının patogenezi ve tedavisi, travmanın yerleşim yerine göre değişiklik gösterdiği için ön ve arka üretra travmaları olarak sınıflandırılır [18-20].

Ürogenital diyaframın proksimalinde oluşan travmalar arka üretra travması, distalinde oluşan travmalar ise ön üretra travması olarak adlandırılır [21-23]. Son zamanlarda, üretra

-

travmalarını daha detaylı sınıflamak gerektiği ortaya çıkmıştır. Ön üretra travmaları doğrudan travma olarak değerlendirilirken, arka üretra travmaları gerilme-ayrışma (distraction) yaralanmaları olarak sınıflandırılmaktadır [24]. Ön üretra travmalarında yaralanma, üretranın iki ucunun ayrılmasına neden olabilir, ancak bu uçlar farklı yönlere sapma veya ayrışma göstermez. İyileşme sürecinde ise nedbe dokusu oluşumu meydana gelir. Arka yaralanmalarda ise durum biraz daha farklıdır; yaralanma çekilme ve ayrışma şeklinde gelişir ve iki uç koparak çekilmeye bağlı olarak sapma gösterir. Bu tür yaralanmalara gerilme-ayrışma travması denir ve iyileşme süreci iki uç arasında fibrozis ile sonuçlanır [25].

Ön üretra travmaları, genellikle perineye hedeflenen darbeler sonucunda oluşur. Yüksekten düşme gibi olaylarda, künt bir cismin simfizis pubisin alt kenarı ile ön üretra arasında kompresyon yapması sonucu ön üretra travmaya maruz kalabilir. Bazen spor karşılaşmaları veya saldırı durumlarında perineye gelen tekme, ön üretranın yırtılmasına veya kopmasına neden olabilir. Ön üretranın penetran yaralanmaları, kasıtlı olarak intihar veya intikam amacıyla penis kesilmelerine eşlik eder. Ayrıca, enstrümental üretral manipulasyonlar (örneğin, TUR prostat veya tümör) ve sistoskopi gibi girişimlerde de anterior üretra travmaya uğrayabilir. Yanlışlıkla Foley kateter balonunun üretrada şişirilmesi de travmaya neden olabilir. Sünnet hatası sonucu üretra yaralanmaları da mümkündür. Yerleştirilmiş bir penil protez erezyon yaparak üretrayı travmatize edebilir. Son olarak, cinsel ilişki sırasında dikkatsizlik sonucu penil kırık ile beraber anterior üretra yaralanması olasıdır. Distal üretral yaralanma, penil kırık ile başvuran hastaların yaklaşık %10-20'sinde bulunabilir. Bu hastalar tipik olarak cinsel ilişki sırasında bir ses duyduklarını, sonrasında şiddetli ağrı, hızlı detümesans, peniste şişme ve ekimoz tarif ederler.

Arka üretra yaralanmaları ise en sık kemik pelvis kırıklarına neden olan travmalar sonrasında meydana gelir. Pelvik kırık hastalarının %90'ından fazlasında bu tür yaralanmalar görülürken, pelvik kırığı olan erkek hastaların %3-25'inde posterior üretra da etkilenir [27]. Modern toplumlarda bu tür travmaların %90'ı trafik kazalarından kaynaklanırken, %10'u yüksekten düşme, endüstriyel kazalar ve spor karşılaşmalarında görülen tekme veya çarpışmalardan oluşur. Kemik pelvis kırıklarına neden olan travmalarda, kırık sonucu puboprostatik ligamentlere bağlı olan prostat bir tarafa deplase olurken, ürogenital diyaframa bağlı olan membranöz üretra diğer tarafa deplase olur. Posterior üretra travması, bu karşıt deplasmanlar sonucu meydana gelir. Enstrümental

-

girişimler sırasında da üretra travmaya maruz kalabilir. Sistoskop veya rezektoskop mesaneye geçirilirken üretra yırtılabilir, bu da daha sonra yanlış yol oluşmasına neden olabilir. Pelvik travmaya bağlı mesane rüptürü ile başvuran hastaların yaklaşık %10-20'sinde üretral yaralanma da bulunur [28-30].

2.3. Doku Rejenerasyonu

Deri, insan vücudu için kritik öneme sahip ve çok işlevli bir organ olup çevresel faktörlere karşı doğal bir bariyer görevi görmektedir. Bu nedenle, deride meydana gelen hasarlar önemli sağlık sorunlarına yol açabilmekte ve acil ve etkili tedavi gerektirmektedir [1-3]. Son yıllarda, deri yüzeyinde oluşan hasarların bakımı, dünya genelinde ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Çünkü, deride meydana gelen hasarların yetersiz veya hatalı tedavisi ölümcül sonuçlar doğurabilir. Bu nedenle, doku rejenerasyonu sürecini destekleyecek yeni biyomateryaller ve etkili terapötik yaklaşımların geliştirilmesine yönelik yoğun araştırmalar yapılmaktadır [4-6]. Hasarlı dokunun iyileştirilmesi süreci, hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve doku yeniden modellenmesi gibi aşamaları içermektedir [5,7].

Doku rejenerasyonunun temel bir unsuru, koruyucu bir bariyerin yeniden oluşturulmasıdır. Hasarın şiddetine ve ciddiyetine bağlı olarak, hasarlı bölgeyi etkin bir şekilde koruyan ve doku rejenerasyonunu hızlandıran uygun bir biyomateryalin klinik kullanımı hayati önem taşımaktadır [4,8]. Antik çağlardan beri, hasarlı dokunun bakım süreci, dehidratasyonu ve enfeksiyonları önlemek amacıyla hasarlı bölgenin bir biyomateryal ile kaplanmasını içermiştir [9]. Son on yılda, doku rejenerasyonu tedavileri, geleneksel tedavi yöntemlerinden (merhemler ve gazlı bez kaplamaları gibi) modern biyomateryallere ve doku mühendisliği ile üretilen alternatiflere doğru önemli bir evrim geçirmiştir. Ekonomik ve kolayca temin edilebilen geleneksel biyomateryaller, örneğin gazlı bez ve bandajlar, hasarlı dokuyu dış etkenlerden koruyabilir; ancak bu materyaller yerel olarak kuru bir ortam oluşturarak enfeksiyon gibi komplikasyonlara neden olabilir [2,10].

Son yıllarda, hasarlı dokuyu dehidratasyondan ve enfeksiyondan koruyarak iyileşme sürecini kolaylaştıracak modern biyomateryallerin tasarımında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir [3,11,12]. Bu bağlamda, hidrojeller [13-15], hidrokolloidler [16-18], süngerler [19-22], aljinatlar [23-25] ve şeffaf filmler [11] gibi biyomateryaller

-
geliştirilmiş ve bazıları ticari olarak piyasaya sürülmüştür. Bu materyaller, hidrofobisite, geçirgenlik ve adsorpsiyon kapasitesi gibi özellikleri açısından farklılık göstermektedir.

2.3.1. Doku Rejenerasyonunu Etkileyen Faktörler

Doku rejenerasyonu, hücrelerin hasarlı dokuyu yeniden oluşturarak onardığı bir süreçtir [2]. Bu süreç, hemostaz, inflamasyon, hücresel göç ve proliferasyon, ekstraselüler matriksin yeniden şekillendirilmesi gibi dört ardışık ve kısmen örtüşen evreden oluşur [40-42].

Hasarlı doku bakımının tarihi, bal, süt, çamur, bitkiler ve hayvan yağları gibi doğal ürünlerin kullanıldığı antik Sümer ve Mısır terapilerine kadar uzanır. Günümüzde ise iyileşme yaklaşımları büyük ölçüde değişmiştir. Doku rejenerasyonu ürünleri, yıllar içinde topikal merhemlerden pamuk ve yün gazlı bezler gibi geleneksel pansumanlara evrilmiştir. Bu ürünlerin çoğu, akut yaralar için bazı faydalar sağlasa da, kronik ve komplike yaraların iyileşmesinde yetersiz kalmıştır. Bu nedenle gazlı bez ve pamuk pansumanlar, kısmen yeni nesil biyomateryallerle değiştirilmiştir.

Son zamanlardaki ana yaklaşım, yapısal ve işlevsel doku rejenerasyonunu hızlandırmanın yanı sıra mevcut enfeksiyonları önleme veya ortadan kaldırmaya dayanmaktadır [20,43]. Modern biyomateryaller, yalnızca mekanik koruma sağlamakla kalmaz, aynı zamanda biyolojik olarak aktif bileşenler içererek doku iyileşme süreçlerini destekler. Bu biyomateryallerin geliştirilmesi ve klinik kullanımı, doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanındaki ilerlemelerle paralel olarak büyük bir ivme kazanmıştır.

Örneğin, hidrojeller, yüksek su içeriği ve biyouyumluluğu sayesinde, yara yatağını nemli tutarak iyileşmeyi hızlandırır [13-15]. Hidrokolloidler ise yara üzerine uygulandığında, vücut sıvıları ile reaksiyona girerek jel benzeri bir madde oluşturur ve yara iyileşmesini destekler [16-18]. Süngerler, yüksek porozite ve mekanik stabilite özellikleri ile hücresel infiltrasyonu ve doku yeniden şekillenmesini kolaylaştırır [19-22]. Aljinatlar, deniz yosunlarından elde edilen doğal polisakkaritlerdir ve biyolojik olarak parçalanabilir olmaları sayesinde yaralarda etkili bir koruma sağlar [23-25]. Şeffaf filmler, yara yatağının gözlemlenmesine olanak tanırken, aynı zamanda mikrobiyal kontaminasyonu önler ve nemli bir iyileşme ortamı sunar [11].

-

Bu biyomateryallerin her biri, kendine özgü hidrofobisite, geçirgenlik ve adsorpsiyon kapasitesi gibi özelliklere sahip olup, belirli yara türleri ve iyileşme süreçleri için optimize edilmiştir. Bu gelişmeler, doku rejenerasyonu ve yara bakımında daha etkili ve güvenli tedavi yöntemlerinin önünü açmıştır. Dolayısıyla, modern biyomateryallerin kullanımı, hasarlı dokuların onarımında ve enfeksiyon riskinin azaltılmasında önemli bir rol oynamaktadır.

2.3.2. Doku Rejenerasyonu Türleri

Hasarlı dokuların iyileşmesini hızlandırmayı amaçlayan birçok araştırma çalışması, hasarlı doku tedavilerinin iyileşme sürecindeki önemli faydalarını ve etkili rolünü doğrulamıştır. Etkili doku bakımı, her özel durum için uygun tedavi yöntemlerinin seçimine büyük ölçüde bağlıdır [2,44]. Uygun bir doku iskelesi, iyi biyoyumluluk ve mekanik esneklik göstermeli, nemli bir ortamı koruyabilmeli, geçirgenlik ve eksüda emilimi sunmalı, bakteriyel enfeksiyonlara ve dış travmalara karşı etkili koruma sağlamalı ve yapışma olmadan kolayca çıkarılabilme özelliklerine sahip olmalıdır [43,45].

Doku rejenerasyonu yaklaşımlarına göre tedavi yöntemleri pasif, interaktif, ileri düzey ve biyoaktif olarak sınıflandırılmaktadır. Pasif tedavi yöntemleri, gazlı bez, emici pedler ve bandajlar gibi materyallerle yara bölgesini bakteriyel nüfuz ve mekanik travmadan korumak amacıyla kullanılır [41]. Ancak, bu tedavi yöntemleri yaradaki nem miktarını kontrol etme yeteneğine sahip değildirler ve küçük yaralar için faydalıdır. Esneklikleri sayesinde interaktif tedavi yöntemleri, vücudun zor ulaşılan bölgelerindeki hasarlı dokular için uygundur. Hidrojel tedaviler, poliüretanlar ve şeffaf silikon film veya köpük bazlı interaktif tedaviler bu gruba örnek olarak verilebilir [44].

Aljinatlar, hidrofiberler ve hidrokolloidlerden yapılmış ileri düzey tedaviler, yara ortamının nemini kontrol ederek iyileşme sürecini kolaylaştıran bir diğer doku iskelesi türüdür. Bu tedaviler, yaranın nem dengesini koruyarak iyileşme sürecini hızlandırır ve enfeksiyon riskini azaltır. Son araştırmalar, tedavi yöntemlerinin işlevselliğini artırarak (örneğin, deri greftleri veya yerine koymalar, ilaç yüklü ve antimikrobiyal tedaviler gibi) biyoaktif tedaviler tasarlamıştır. Bu yeni nesil doku rejenerasyonu ürünleri, doku iyileşmesini artırır ve tedavi kullanım süresini uzatır [2,3,46]. Ayrıca, bu çok işlevli yara

-
tedavi yöntemleri, terapötik ajanların kontrollü teslimatı yoluyla doku rejenerasyonunu hızlandırmak için önemlidir [43,45].

Günümüzde mevcut olan pek çok doku iskelesine rağmen, tedavi yöntemlerinin performansını ve verimliliğini artırmaya yönelik temel bir ihtiyaç halen devam etmektedir. İleri yara tedavileri araştırmalarında, elektroğirilmiş lifler şu anda çok işlevli yara tedavi yöntemleri olarak büyük ilgi görmektedir. Elektroğirilmiş lifler, yüksek yüzey alanı, porozite ve biyomimetik özellikleri ile dikkat çeker. Bu lifler, yara bölgesine kontrollü ve sürekli ilaç salınımı sağlayarak iyileşme sürecini hızlandırır ve enfeksiyon riskini azaltır.

Sonuç olarak, doku rejenerasyonu ve yara bakımında biyomateryallerin rolü büyük önem taşımaktadır. Modern biyomateryaller, sadece mekanik koruma sağlamakla kalmaz, aynı zamanda biyolojik olarak aktif bileşenler içerecek iyileşme süreçlerini destekler. Bu gelişmeler, hasarlı dokuların onarımında daha etkili ve güvenli tedavi yöntemlerinin kullanılmasına olanak tanımaktadır. Araştırmalar ve teknolojik ilerlemeler, gelecekte daha da etkili ve yenilikçi tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

2.4. Nanofiberler ve Avantajları

Nanofiberler, çapları 3-5000 nm arasında değişen, yüksek yüzey alanı/hacim oranına ve poroziteye sahip olan yapılardır ve son dönemde doku iskelesi materyali ve kontrollü ilaç salım sistemi olarak yaygın şekilde araştırılmaktadır. Doku iskelesi olarak kullanılan nanofiberlerin gözenek boyutu genellikle 500 nm-1 µm arasında değişir. Nanofiberler oldukça esnek bir yapıya sahiptir ve aynı anda birden fazla etken madde yüklenebilir [46-47].

Nanofiberler, topikal/transdermal ilaç salımı ve doku mühendisliği alanlarında son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu yapıların birçok avantajı vardır; hem hidrofilik hem de lipofilik etken maddelerin kontrollü salımı için kullanılabilirler ve etken madde salım hızı, nanofiberin morfolojisi, porozitesi ve bileşimi ile değiştirilebilir. Nanofiberlerin diğer avantajları arasında yüksek yüzey alanı/hacim oranı ve poroziteye sahip olmaları, derinin ekstraselüler matriks yapısına benzer bir yapıda olmaları ve üretim yöntemlerinin birçok nano yapılı ilaç taşıyıcı sistemle kıyaslandığında daha az maliyetli ve daha basit olması yer almaktadır [48,49].

-

Elektroegirme yöntemiyle hazırlanan nanofiberler, deri doku mühendisliği alanında doku iskelesi, yara ve yanık tedavisinde örtü materyali olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda antimikrobiyal ve antifungal etken maddeler, analjezikler, proteinler, kozmetik etken maddeler, gen ve Alzheimer ilacı taşıyan topikal/transdermal ilaç salım sistemleri olarak nanofiberlerin kullanımı artmıştır [48,50-51].

Biyouyumlu doğal polimerler (kollajen, jel, aljinat, kitosan vb.) veya sentetik polimerler (poliglikolit, polikaprolakton, polivinil alkol vb.) ya da bunların karışımlarından hazırlanan nanofiberlerin morfolojileri, polimer çözeltisinin ve elektroegirme işleminin parametrelerine bağlı olarak değiştirilebilmektedir. Eşksenli elektroegirme yöntemi ile hazırlanan nanofiberlerden etken madde salımı daha uzun sürede gerçekleşmektedir [25,26].

Nanofiberlerin doku mühendisliği ve kontrollü ilaç salım sistemleri olarak kullanımı, biyomedikal alandaki yenilikçi yaklaşımların bir parçası olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Bu yapılar, yüksek biyouyumlulukları ve çok yönlü kullanım olanakları ile doku rejenerasyonu ve ilaç salımında gelecekte daha geniş bir uygulama alanı bulacaktır. Bu nedenle, nanofiberlerin üretim süreçlerinin optimize edilmesi ve farklı uygulama alanlarında etkinliğinin artırılması, devam eden araştırmaların ana hedeflerinden biri olmaya devam etmektedir.

2.4.1. Nanofiberlerin Üretim Yöntemleri

Çekme yöntemiyle nanofiber üretiminde, polimer çözeltisi uygun bir çözücüde çözüldürülerek hazırlanır ve bir yüzey üzerine damla olarak oluşturulur. Keskin uçlu bir mil bu damla ile temas ettirilir. Mil damlacıktan hızla çekilirken, çözücü yüksek yüzey alanı/hacim oranı nedeniyle hızla buharlaşır ve geriye katılmış lif kalır. Bu işlem oldukça basittir, ancak seri üretim için uygun değildir [52-53].

Yüzeylearası polimerizasyon yöntemi, birbiriyle karışmayan iki çözeltinin arayüzeyinde yüksek konsantrasyonda monomerlerin ve anyonların bulunmasıyla monomer-anyon agregatlarının oluşumunu sağlar. Bu bölgeler, polimerizasyon ile nanofiber oluşumunda nükleasyon bölgelerini teşkil eder. Kullanılan ekipmanlar basit olmasına rağmen, nanofiber morfolojisi kontrol edilemez [54].

Eriyik üfleme yöntemi, erimiş haldeki polimerin bir açıklıktan fişkırtılarak yüksek hızdaki sıcak havaya maruz bırakılmasıyla gerçekleştirilir. Hava sıcaklığı, liflerin erime sıcaklığına göre ayarlanır ve ardından soğuk hava uygulanır. Polimer katılarak toplayıcıda birikir. Bu yöntem basit ve ekonomiktir, ancak kullanımının eriyebilen polimerlerle sınırlı olması, eriyiklerin yüksek viskozitesi ve termal degradasyona uğraması gibi dezavantajları vardır [55].

Faz ayrımı yöntemi, polimerin uygun bir çözücüde çözündürülmesi ve ardından jelasyon sıcaklığına kadar soğutularak jel haline getirilmesiyle uygulanır. Çözücü değişimi için distile su içinde bekletilir, ardından filtre kağıdından süzülür ve dondurarak kurutma işlemi ile lifler elde edilir. Yöntem basit olup özel bir ekipmana ihtiyaç duyulmaz, ancak yalnızca birkaç polimerle uygulanabilir ve lif oluşumunu etkileyen birçok faktör vardır [56].

Kendiliğinden birleşme yöntemi, amfifilik özellikteki moleküllerin çözeltide tepkimeye girerek kendiliğinden lif oluşturmasını sağlar. Bu yöntemde üretim moleküler seviyede gerçekleşir ve çok küçük çaplı lifler elde edilir. Kolay uygulanabilir olmasına rağmen her malzemeye uygulanamaz ve düşük verimlidir. Ayrıca, oluşan liflerin morfolojileri ve oryantasyonları kontrol edilemez [57].

Şablon sentez yöntemi, üzerinde nano ölçekli silindirik gözenekler bulunan bir membranın şablon olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilir. Alüminyum oksit en çok kullanılan membranlardandır. Polimer çözeltisi su basıncı ile gözenekli membrandan geçirilir ve katılaştırıcı çözelti ile kimyasal ya da elektrokimyasal olarak etkileşime girer. Karmaşık bir yöntem olmasına rağmen, düz yapıda ve oldukça homojen lifler elde edilir. Nanofiberlerin çapları kullanılan şablonun gözenek çapına bağlıdır ve malzeme çeşitliliği genişdir [58-59].

Şablon eriyik ekstrüzyonu yöntemi, eriyik haldeki polimerin bir ekstrüder vidası yardımıyla bir kalıba ya da ekstrüzyon cihazının ucunda yer alan eğirme aparatına doğru itilmesiyle uygulanır. Soğutma sonrasında polimer katılarak lifleri oluşturur. Genellikle alüminyum oksit şablon kullanılır. Karmaşık bir yöntem olmasına rağmen, düz yapıda ve oldukça homojen lifler elde edilir ve liflerin çapları şablona göre değiştirilebilir [59-60].

Mekanik eğirme yöntemi, yoğun polimer çözeltisi ya da eriyik haldeki polimerlerin santrifüj kuvveti kullanılarak nanofiber haline getirilmesini sağlar. Yöntem, yüksek voltaj kullanılmaması, üretimin ucuz olması ve yüksek verimliliği gibi avantajlara sahiptir.

Ancak, eriyik haldeki polimerler termal degradasyona uğrayabilir ve bu yöntemle elde edilen liflerin çapı 1 µm'den daha büyük olabilir [58-59].

Elektroegirme yöntemi, uygulanması kolay, maliyeti düşük ve çeşitli çaplarda, amaca uygun oryantasyonda ve geniş hacimlerde nanofiber üretimine olanak sağladığı için nanofiber üretim yöntemleri arasında en çok tercih edilen yöntemdir [60]. Elektroegirme yönteminin ilk uygulamaları, 16. yüzyılda William Gilbert'ın elektriksel alanın sıvı dinamiğini etkilediğini keşfetmesi ile başlamış ve 1897'de Rayleigh tarafından gerçekleştirilmiştir. 1900'lü yılların başlarında Zeleny tarafından detaylı olarak incelenmiş ve 1934 yılında Formhals tarafından patentlenmiştir [61-62].

Elektroegirme yönteminde kullanılan dört temel bileşen vardır: (1) polimer çözeltisinin akış hızını kontrol eden "şırınga pompası", (2) polimer çözeltisinin lif haline dönüşmesini sağlayan "yüksek voltaj kaynağı", (3) polimer çözeltisini elektriksel alana iten "şırınga iğnesi", ve (4) üzerinde oluşan nanofiberlerin biriktiği sabit ya da dönen metal plaka veya silindir şeklindeki "toplayıcı" [62].

Elektroegirme yönteminde, uygun bir çözücüde çözündürülen polimer ya da polimer karışımı bir şırıngaya alınır. Şırınganın ucundaki metal iğneye yüksek voltaj kaynağının pozitif (+) elektrodu bağlanırken, belli bir mesafedeki alüminyum plakaya negatif (-) elektrodu bağlanır. Şırınganın ucundaki iğneye uygulanan artan elektrik alan (1kV-30kV) polimer çözeltisinin iğne ucunda "Taylor konisi" olarak bilinen konik bir yapı oluşturmaya neden olur. Polimer çözeltisine uygulanan elektrik alan belirli bir eşik değerini aştıktan sonra (1kV-5kV) polimer jeti Taylor konisinden ayrılır. Yüksek gerilim ile kutuplanan polimer molekülleri, hareket eksenini doğrultusunda kaotik bir yörünge izleyerek toplayıcı alüminyum plaka üzerinde rastgele bir ağ yapısı oluşturur [63-64].

2.5. Elektroegirme Yöntemi ve Doku Rejenerasyonu Uygulamaları İçin Avantajları

Nanofiber yapılar, ayırt edici özellikleri nedeniyle geleneksel pansumanlara kıyasla daha etkili bir doku rejenerasyonu sağlamaktadır. Nanofiber üretim yöntemleri arasında elektroegirme, geniş bir malzeme yelpazesi kullanılarak kontrol edilebilir özellikler, bileşimler, şekiller ve morfolojiler ile lif yapıları üretebilen çok yönlü ve doğrudan uygulanabilir bir prosedür olarak öne çıkar [2]. Elektroegirme tekniği kullanılarak nanofiberlerin oluşturulması, viskoelastik çözelti veya eriyiğin elektrostatik kuvvetler altında tek eksenli olarak gerilmesiyle gerçekleşir. Mükemmel karakteristik özellikleri

sayesinde, elektroğrılmış lifler, doku iskelesi, ilaç taşıyıcıları ve doku mühendisliği iskeleleri gibi gelişmiş biyomedikal malzemeler tasarlamak için büyük bir potansiyele sahiptir [47].

Elektroğirme süreci, doğal Ekstraselüler Matriks (ECM) yapısına benzer, nano ölçekte çapta liflerden oluşan bağlantılı ağlar üreterek, hücrelerin normal işlevlerini, örneğin hücre bağlanması ve çoğalmasını destekler [48]. Biyolojik olarak ilham alınan özellikler, büyük yüzey alanı ile hacim oranı ve küçük gözenek boyutuna sahip elektroğrılmış lif ağlarının gözenekliliği, hemostatik bir ajan kullanılmadan hasarlı doku yerindeki hemostazı iyileştirir. Belirtilen fiziksel özellikler nedeniyle, nanofiberler sekresyonları optimal şekilde emebilir ve hücre solunumu ile çoğalması için nemli bir ortam sağlar. Bu yapıların gözenekli doğası, minik gözenekleri sayesinde bakteriyel enfeksiyon riskini azaltır, yüksek geçirgenlik sağlar ve hasarlı dokuyu dehidrasyondan korur. İlaçlar ve büyüme faktörleri, nanopartiküller, antimikrobialer ve anti-enflamatuar ajanlar gibi diğer biyoaktif molekülleri nanofiberlere dahil etme yeteneği, elektroğirme işleminin bir diğer önemli avantajıdır [49].

Elektroğrılmış doku iskeleleri, uygulama sırasında uyum ve esneklik sağlarken yerleştirildikten sonra konfor sunar. Biyobozunur polimerler kullanılarak elektroğirme yoluyla üretilen iskeleler, daha az değiştirilme ihtiyacı nedeniyle artırılmış hasta uyumu ve konfor sağlayabilir. Biyobozunur elektroğrılmış doku iskeleleri, kan ve dokularla yüksek uyumlulukları sayesinde iyileşmeyi hızlandırır ve hücre büyüme hızını artırır. İskelelerin bozunma hızı, doku rejenerasyon hızı ile uyumlu olarak ayarlanabilir [1, 40, 46, 50, 51].

Bu avantajlar, elektroğrılmış nanofiberleri, doku rejenerasyonunu iyileştiren umut verici malzemeler olarak sunar. Elektroğirme yöntemi, liflerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin, ilgili değişkenlerin ayarlanması yoluyla modüle edilmesini sağlar. Bu üstün yönler, yerel doku ortamını taklit edebilen ve hasarlı dokunun iyileşmesini artıran gelişmiş doku iskeleleri tasarlamada dikkate alınması gereken ana faktörlerdir [3, 12, 28, 50].

Nanofiberlerin bu avantajları, onları hasarlı dokunun iyileşmesi ve doku rejenerasyonunu geliştiren umut verici malzemeler olarak öne çıkarmaktadır. Elektroğirme yöntemi, ilgili değişkenlerin ayarlanması yoluyla liflerin fiziksel ve mekanik özelliklerinin modülasyonunu sağlar. Bu mekanik ve fiziksel özellikler, doku ortamını taklit edebilen

-

ve hasarlı dokunun iyileşmesini hızlandıran gelişmiş doku iskelelerinin üretimindeki ana faktörlerdir [3, 12, 28, 50].

2.5.1. Elektroğirme Parametrelerinin Biyolojik Uygulamalar Üzerindeki Etkisi

Elektroğirilmiş nanofiberler, kimyasal (örneğin, bileşim, bozunma) ve fiziksel (örneğin, çap, mukavemet, gözeneklilik vb.) özellikleri ile hasarlı dokuya ve biyolojik ortama etki edebilir ve bu ortamla etkileşime girebilir. Bu özellikler, içlerine katılmış biyoaktif moleküllerle birlikte, onlardan üretilen pansumanların verimliliğini ve performansını doğrudan etkiler [52]. Ayrıca, pansumanların mimarisi ve yapısı da hasarlı doku iyileşme sürecini önemli ölçüde etkiler [5].

Elektroğirme işlemine etki eden farklı parametreler ve değişkenler, mikro/nanofiberlerin son özelliklerini belirler. Bu faktörler, genellikle çözeltinin içsel özellikleri (örneğin, polimer konsantrasyonu, viskozite, çözücü sistemi ve iletkenlik), işlem koşulları (örneğin, voltaj, mesafe, akış hızı ve nozul özellikleri) ve çevresel koşullar (örneğin, sıcaklık ve nem) olmak üzere üç kategoriye ayrılır. Bu parametrelerin tümü, elektroğirilmiş lif ağının çapını, morfolojisini, hidrofobitesini, termal ve mekanik özelliklerini ayarlayarak doku iskelesi ve doku mühendisliği iskeleleri olarak son kullanım uygulamalarını belirler [3, 33, 50]. Bu nedenle, arzu edilen fiziksel ve biyolojik performansa sahip yapıları elde etmek için çalışma parametrelerinin doğru kontrolü ve farklı elektroğirme değişkenlerinin optimizasyonu gereklidir.

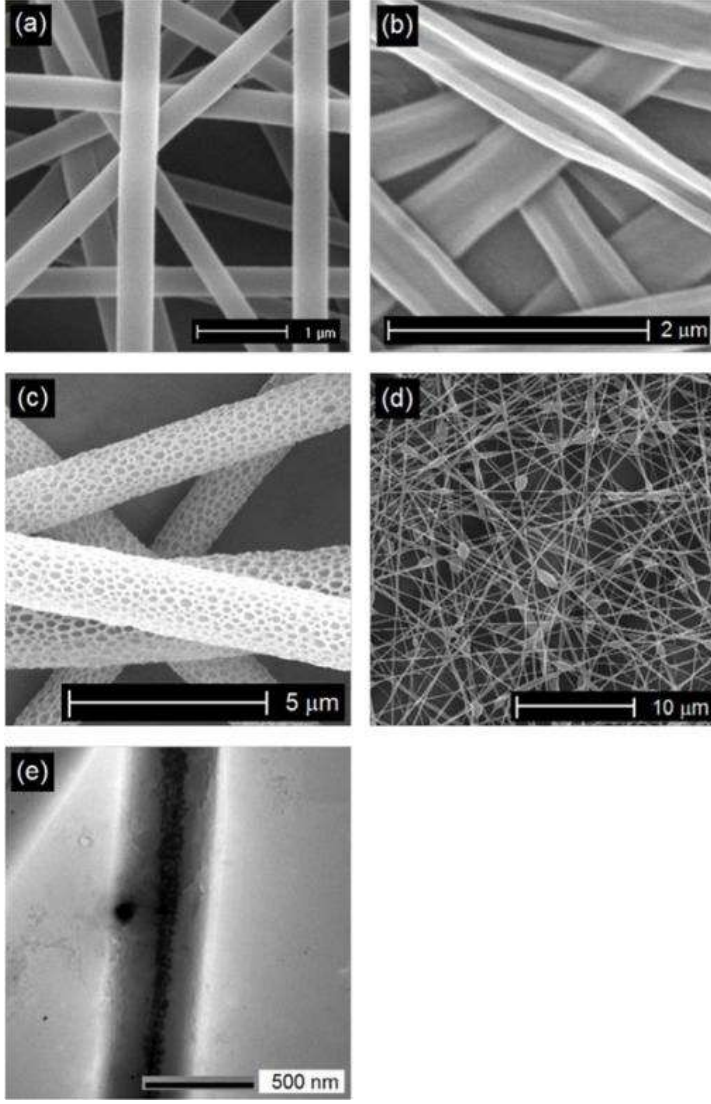
Elektroğirme parametrelerinin değiştirilmesiyle, silindirik veya kurdele şeklinde, gözenekli, boncuklu, boş ve çekirdek-kabuklu farklı morfolojik yapılar ve rastgele, yönlendirilmiş, hizalanmış demet, iplik gibi lif yatırımlarının düzenlemeleri elde edilebilir.

Genel olarak, yapılan araştırmalarda düz yüzeylere sahip silindirik şekilli liflerden oluşan uniform yapılar üretmek için optimize edilmiş elektroğirme koşullarını bulmaya odaklanmıştır (Şekil 2.2a). Ancak, düz kurdele morfolojisine sahip elektroğirilmiş liflerden ilaç salımının, yüksek yüzey alanı/hacim oranı nedeniyle daha kısa yoldan difüzyon yoluyla gerçekleşebileceği bildirilmiştir (Şekil 2.2b). Düz kurdele şekline kıyasla, silindirik lifler daha sürdürülebilir salım davranışı sağlamıştır [53, 54]. Lif yapılarının hidrofobitesi, esas olarak yüzey topolojisi tarafından belirlenir ve ilaç salımı, hücre yapışması ve çoğalması gibi biyolojik arayüzdeki performansları için önemlidir.

-

Düz kurdele benzeri morfolojinin, lif-su arayüzünde hava hacmini sınırladığı ve böylece yüzey hidrofobitesini etkilediği gösterilmiştir [54, 55]. Ayrıca, düz kurdele benzeri şekillerle karşılaştırıldığında, silindirik morfolojiler, membran yüzeyinde hücre büyümesini kolaylaştırmıştır [54, 55].

Doku iskelelerinin, etkinliği, esas olarak yüzey topografyalarına bağlıdır; lif morfolojisi düz katı bir yapıdan gözenekli bir yapıya değiştiğinde (Şekil 2.2c), özel yüzey alanı, ağ gözenekliliği ve işlevsel çeşitlilik gibi çeşitli özellikler iyileşebilir [56]. Artan ağ gözenekliliği, hücre penetrasyonu için yeterli alan sağlayabilir ve böylece mühendislik iskeleleri olarak potansiyellerini artırabilir. Küçük gözenek boyutuna sahip elektroğrılmış liflerin gözenekli morfolojisi, hemostazı artırabilir ve hasarlı doku bakteriyel geçirgenlikten etkili bir şekilde koruyabilir [56]. Küçük gözeneklere ve artan yüzey alanı/hacim oranına sahip olanlar, lif yapılarındaki yüklenmiş biyomoleküllerin salım davranışını da etkileyebilir [57–59]. Boncuksuz lifler genellikle elektroğrılmış nanofiberlerin uniformitesini artırmak için tercih edilirken, boncuk-dizili nanofiberler (Şekil 2.2d), boncuk çapı, şekil ve yüzey morfolojisine uygun kontrol ile, biyomoleküllerin verimli bir şekilde kapsüllenmesini ve doku mühendisliği ve doku iskelesi uygulamaları için uygun kontrollü salımı sağlamıştır. İn vitro salım çalışmaları, boncuk-dizili morfolojinin, uniform liflere kıyasla daha sürdürülebilir bir salım profili sağladığını ve başlangıçta daha az patlama salımı olduğunu göstermiştir [60–62]. Koaksiyel elektroğirme, çekirdek-kabuk üretmek için ilginç ve verimli bir teknoloji olarak birçok biyomedikal araştırmaya öncülük etmiştir (Şekil 2.2.e). Bu teknolojinin yaygın bir kullanımı, biyomolekülleri çekirdek kısmında kapsüllenmesidir. Bu durumda, kılıf, biyolojik ajanı agresif bir ortamdan korur ve patlama salımını en aza indirerek sürekli bir şekilde salımını sağlar. Üstün mekanik özellikler ve çekirdek malzemesini etkilemeden yüzeyin işlevselleştirilmesi olanağı diğer avantajlardır [6, 59, 63, 64].

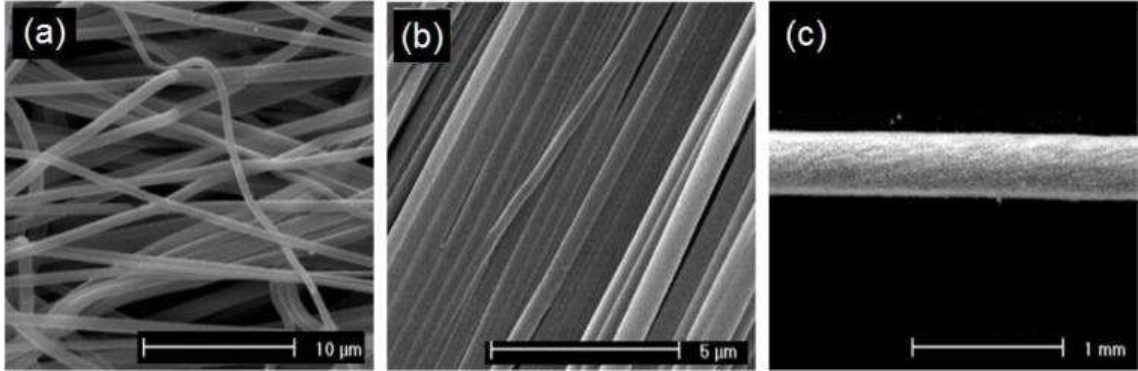


Şekil 2.2. Elektroğirme parametrelerinin değiştirilmesiyle elde edilen farklı morfolojik nanofiber yapıları. a. pürüzsüz yüzeyle silindirik şekil, b. düz kurdele benzeri, c. gözenekli (yazarlar tarafından yayımlanmamış orijinal resim), d. boncuk-dizili morfoloji ve e. çekirdek-kabuk yapısı [63].

* Bu morfolojilerin tümü, polilaktit elektroğirme yoluyla elde edilmiştir.

Morfolojik özelliklerin yanı sıra, doku iskelerinin mimarisi ve bu yapılar içindeki liflerin düzenlenmesi de hücrelerin yapışmasını, çoğalmasını ve nüfuz etmesini, ayrıca yapıdan biyoaktif moleküllerin salım davranışını büyük ölçüde etkilemektedir. Farklı toplama cihazları kullanarak veya elektroğirme süreci sırasında elektrik alanını manipüle ederek, lif yığınları rastgele (Şekil 3.a) veya tek eksenli yönlendirilmiş (Şekil 3.b) olarak elde edilebilir. Rastgele yönlendirilmiş liflerden oluşan elektroğirilmiş iskeleler, hücrelerin

iskele üzerinde rastgele bir şekilde yapışmasına ve çoğalmasına imkan tanır. Bununla birlikte, belirli bir yönde yatırılan liflerle hizalanmış yapılar üzerinde hücreler, liflerin yönlendirildiği yolda yapışır ve büyür. Hizalanmış lif yatırımları, ağ gözenekliliğini değiştirerek hapsolmuş biyomoleküllerin salımını da kontrol edebilir [3,11,33].



*Tüm bu yapılar PLA (polilaktik asit) elektroğirme yoluyla elde edilmiştir.

Şekil 2.3. Elektroğirme yoluyla elde edilen farklı nanofiber yığınları düzenlemeleri. a. rastgele, b. yönlendirilmiş ve c. iplik [63].

Yukarıda belirtilen özelliklere ek olarak, doku iskelelerinin ve iskelelerin mekanik özellikleri önemlidir ve yapıdaki liflerin düzenlenmesini önemli ölçüde düzenleyebilir. Örtünün kopma kuvveti, tedavi sırasında örtünün ele alınmasına ve değiştirilmesine dayanacak kadar yeterli olmalıdır. Biyomedikal mühendislikte, elektroğirme sırasında rastgele yönlendirilmiş lif ağlarının toplanmasına yönelik temel araştırmalar yapılmıştır. Hizalanmış nanofiber demetleri, lifler arasında daha fazla yan etkileşim ve sürtünme ile sıkıştırma durumunda oldukça gelişmiş mekanik özelliklere sahiptir. Bu etkileşimler, nanofiberlerin bükülerek iplik haline getirilmesiyle daha da artırılabilir (Şekil 3.c). Hizalanmış lif demetleri veya bükülmüş iplikler, dokuma doku iskeleleri doku rejenerasyonu için iskeleler ve cerrahi dikişler dahil çeşitli hasarlı doku iyileştirme uygulamalarında kullanılmak üzere yeni nesil tıbbi tekstiller tasarlamak için olanaklar geliştirmiştir [4,58,65,66].

2.6. Çok Fonksiyonlu Doku İskeleleri

Son yıllarda, etkili hasarlı doku iyileşmesi için gereken tüm koşulları sağlayabilen çok fonksiyonlu örtülerin geliştirilmesi yönünde araştırmalar yapılmıştır [67]. Bu çok fonksiyonlu kompozit iskeleler, çeşitli doğal veya sentetik polimerlerin karıştırılması ve ilaçlar, nanopartiküller ve biyoaktif ajanların elektroğirme süreci ile dahil edilmesiyle üretilir. Daha yakın zamanlarda, akıllı malzemelerin elektroğirme yoluyla üretilmesiyle yeni nesil çok fonksiyonlu iskeleler elde edilmiştir [2,5]. Akıllı malzemeler, dış etkenler olan pH, ısı, ışık ve elektrik alanı gibi uyaranlarla fizikokimyasal özelliklerinin değiştirilmesine imkan tanır. Bu tür malzemeler, geleneksel malzemelere göre sundukları çeşitli avantajlar nedeniyle hasarlı doku iyileştirme uygulamaları için oldukça ilgi çekicidir [2,11].

2.6.1. Etken Madde Yüklü Elektroğrılmış Doku İskeleleri

Çok işlevli doku iskelesi genellikle, hasarlı doku bölgesindeki iyileşmeyi hızlandırmak ve enfeksiyon gibi istenmeyen etkileri önlemek amacıyla, terapötik ajanların kontrollü ve talep üzerine salınımını gerektirir. Bu bağlamda, elektroğirme, ilaçların ve diğer biyomoleküllerin dahil edilmesi için çeşitli stratejiler sunarak ilaç dağıtım sistemleri hazırlama konusunda büyük bir fırsat sunar. Elektroğrılmış lifler, ilaçları hedef noktalara ulaştırırken, ilaçların toksik yan etkilerini azaltabilir. Elektroğrılmış ilaç taşıyıcılar, salınım hızını ve mekanizmasını kontrol ederek ilaç tedavisinin etkinliğini artırır [58,68–70]. Özellikle, uyarana duyarlı ilaç dağıtım sistemleri, akıllı doku iskelesi oluşturmak için umut vaat eden malzemelerdir. Bu malzemeler, pH [71–74], sıcaklık [71,75,76], ışık ışınımı [11,75], elektrik alanı [77] ve oksijen [11,78] gibi uyaranlara yanıt olarak ilaç salınımını ayarlama yeteneği ile hasarlı doku iyileşmesi için önemli bir potansiyele sahiptir.

Fiziksel adsorpsiyon, elektroğrılmış liflerin ilaç içeren bir çözelti banyosuna daldırılmasıyla gerçekleşir. Bu strateji, çözelti içindeki ajanların lif yüzeyine adsorbe olma eğiliminde olmaları nedeniyle biyoaktif moleküllerin yüklendiği en basit yöntemdir. Ancak, kontrol edilemeyen salım hızı nedeniyle uygulaması sınırlıdır [32,43,68,81]. Karışım elektroğirmesi de biyomolekülleri elektroğirme için kullanılan polimer çözeltisiyle karıştırarak etken madde yüklü nanofiberler üretmek için basit bir süreçtir. Fiziksel adsorpsiyona kıyasla, bu yöntem aktif ajanların liflerin içine dahil edilmesini sağlar ve böylece liflerin yüzeyine yakın başlangıçta yüksek miktarda ilaç salımı ile daha

sürdürülebilir bir ilaç salım profili sunar [46,58]. Biyomoleküller, koaksiyel elektroğirme yoluyla liflerin içinde tamamen hapsolabilir. Çekirdek-kabuk liflerinden ajanların salımı sürdürülebilir ve karışım elektroğirmesine kıyasla patlama salımı önemli ölçüde daha düşüktür. Aslında, bu yöntem uygulandığında, çekirdek katmanda yüklenen biyomoleküller koruyucu bir kılıf tarafından iyi bir şekilde korunur [63,82,83]. Su bazlı ajanları kapsüllemek için bir başka yaklaşım da karışım veya koaksiyel emülsiyon elektroğirmedir [9,32,43]. Koaksiyel ve emülsiyon elektroğirme, iyi kontrol edilen bir salım oranı sağlar ve başlangıçtaki patlama salımını önler. Yüzey immobilizasyonu (genellikle kovalent immobilizasyon), biyomoleküllerin kimyasal bir bağ ile liflerin yüzeyine bağlanmasını sağlar. Bu yöntemle, lif membranlarının yüzey özellikleri değiştirilebilir [68,84,85].

2.6.2. Antibakteriyel Özelliğe Sahip Elektroğirilmiş Doku İskeleleri

Hasarlı doku enfeksiyonları tüm dünyayı ilgilendiren küresel bir sorun olup, hasarlı doku iyileştirme uygulamaları için antibakteriyel ürünler tasarlamak önemli bir araştırma alanıdır [2,63]. Hasarlı dokulardaki enfeksiyonların neden olduğu zararlı etkileri önlemek için hem bakteriyel nüfuzunu hem de mikrobiyal kolonizasyonu engelleyebilen ve aynı zamanda doku rejenerasyonunu destekleyen bir doku iskelesi kullanılması gereklidir [9,50]. Antibakteriyel aktiviteye sahip geliştirilmiş elektroğirilmiş iskeleler, hasarlı doku enfeksiyonlarını önleyebilir. Antibakteriyel nanofiberler, elektroğirme sırasında antibakteriyel ajanların dahil edilmesiyle yaygın olarak üretilmektedir. Antibiyotikler, metalik nanopartiküller ve doğal ekstrakt ürünleri gibi çeşitli antimikrobiyal ajanlar, elektroğirilmiş nanofiberlere dahil edilerek antibakteriyel özelliklerinin geliştirilmesi sağlanmıştır. Gümüş nanopartikülleri (AgNP'ler) gibi metalik nanomalzemeler, hasarlı doku enfeksiyonlarının tedavisinde etkili ajanlar olarak bilinir. Yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip nanoskala partiküller, elektroğirilmiş doku iskelelerinin antibakteriyel aktivitesinde önemli bir iyileşme sağlar [3,63,86,87]. Son stratejiler, fiziksel, kimyasal veya morfolojik ipuçları nedeniyle bakteriyel kolonizasyon ve biyofilm oluşumunu engelleyen, özgün antibakteriyel aktiviteye sahip polimerler kullanmaya dayanır [88]. Biyo-bazlı ve biyopolimerler, bu amaç için büyük fırsatlar sunabilir.

2.6.3. Biyoaktif Moleküllerle Yüklü Elektroğrılmış Doku İskeleleri

Elektroğrılmış liflere büyüme faktörleri, vitaminler ve anti-enflamatuar moleküller gibi biyolojik moleküllerin dahil edilmesi, hasarlı doku iyileşmesini ve doku rejenerasyonunu geliştirmek için çok fonksiyonlu örtüler tasarlamak adına umut vaat eden bir yaklaşımdır [32,89].

Biyopolimerler, doğal kaynaklardan (polisakkaritler olarak selüloz ve ligno-selüloz; proteinler olarak hayvan veya bitki kökenli), mikroorganizmalar aracılığıyla üretilenler (polihidroksi alkonatlar olarak PHB ve PHBV; bakteriyel selüloz) ve biyo-türevli monomerlerden sentezlenenler (polilaktitler olarak PLA ve PLGA) olmak üzere sınıflandırılmıştır:

2.6.3.1. Selüloz-Elektroğirme Nanofiberlerin Doku Rejenerasyon Uygulamalarında Kullanımı

Selüloz doğal, biyobozunur, çevre dostu bir biyopolimerdir ve dokuların onarımı ve rekonstrüksiyonunda iskeleler, doku iskelesi, yapay doku/doku, kontrollü ilaç salımı, kan temizliği ve hücre kültürü materyalleri de dahil olmak üzere çeşitli biyomedikal uygulamalarda önemli bir rol oynar [96–98]. Selülozun nem tutma özelliği, yeterli büyüme faktörlerinin iyileşen dokulara sağlanabilmesi nedeniyle nemli hasarlı dokuların daha hızlı tedavi edilmesi için ana nedenlerden biridir. Selülozun gözenekli yapısı ayrıca, deri ekstraselüler matriksi taklit ederek doku rejenerasyonuna yardımcı olur [99]. İyi mekanik özellikler, yüksek geçirgenlik, düşük toksisite ve uygun şekillendirilebilirlik, biyolojik bandajlama uygulamaları için selülozun diğer avantajlarıdır. Nanoteknoloji, biyoteknoloji, üç boyutlu (3B) baskı ve biyo-baskı gibi farklı teknolojiler kullanılarak, selüloz özellikleri biyomühendislik gereksinimlerini karşılamak üzere kolayca ayarlanabilir. Örneğin, mikroorganizmalardan elde edilen bakteriyel selüloz gibi çeşitli tiplerdeki nanometre boyutlu selülozlar, umut vadeden fonksiyonel materyalleri temsil eder [100,101]. Bakteriyel selüloz tabanlı iskeleler, doku lezyonları için yara bandajı gibi ön klinik ve klinik denemelerde incelenmiştir [102]. Yüzünde ikinci derece yanıklar olan bir hastanın doku iyileşmesini hızlandırmak için, Nanocell® adlı bir bakteriyel selüloz bazlı iskele uygulanmış ve diğer bandajlar kullanılmadan yara yerlerine başarıyla yapışmıştır [103]. Yüzdeki hasarlı bölgelerdeki doku rejenerasyonu gerçekleşerek iki hafta içinde tamamen yeniden epitelizasyon göstermiştir. Bu durum tedavi sırasında

tahriş veya alerjik reaksiyon gözlenmemiştir, bu da hasarlı dokunun iyileştirilmesi için bakteriyel selüloz biyomalzemelerin uygunluğunu göstermektedir. Buna göre, ağaçtan elde edilen selüloz nanofibrili (SNF), doku yaralarının biyolojik biyomalzeme uygulamalarında kullanıldığında hasarlı dokunun rejenarasyonunda hasarlı bölgeye iyi bağlanarak mükemmel sonuçlar göstermiştir. Ayrıca hasarlı dokuda iyileştikten sonra doku yüzeyinden de kolayca ayrılmıştır [100]. Elektroğirme, selüloz nanofiberleri veya farklı polimer/selüloz karışımlarını veya nanoparçacıklarla karışımlarını üretmek için kullanılabilen gelişmekte olan bir tekniktir, özellikle antimikrobiyal özelliklerin iyileştirilmesi açısından önemlidir [104]. Nanofiber olmayan dokuma liflerinin yüksek yüzey alanları ve son derece bağlantılı gözenekli yapıları, yüksek miktarda eksudat emme kapasitesine ve yeterli gaz değişimine sahip olduğundan, doku rejenerasyonu uygulamaları için doğal olarak uygundur [105,106]. Ayrıca, selüloz iskeleleri anti-enflamatuar ve antimikrobiyal ajanlar gibi farklı biyoaktif bileşenleri taşıyabilir [107]. Ancak, yalnızca birkaç çalışma selülozun elektroğirme konusuna odaklanmış ve selüloz nanofiberlerinin belirli özelliklere sahip olması için çözelti ve elektroğirme parametrelerinin kontrol edilmesi gerekmektedir. Selülozun güçlü intramoleküler hidrojen bağları nedeniyle çeşitli çözücülerde düşük çözünürlüğü, dikkate alınması gereken en önemli özelliklerden biridir [108]. Selülozu doğrudan çözebilen bazı çözücü sistemlerin düşük buharlaşma özelliği vardır, bu da elektroğirme prosedüründe istenmeyen bir durumdur [109]. Selüloz türevlerinin ortak elektroğirme çözücülerinde daha iyi çözünürlüğe sahip olması nedeniyle, selüloz materyallerinin elektroğirilmesine ilişkin araştırmaların yaklaşık %70'i, selüloz asetat (SA) gibi selüloz türevlerini kullanır [109]. Liu ve ark. yara bandajlama uygulamaları için polyester ürean (PEU) ve SA kullanarak bir dizi membran üretmek için karışım-elektroğirme kullandılar [110]. SA'nın varlığı sayesinde membranın hidrofiliği ve hava geçirgenliği arttı ve doku rejenerasyonu hızlandı. Kontrollü difüzyonla uzun süreli antimikrobiyal etki gözlemlendi. Selüloz karışımlarından veya türevlerinden diğer biyopolimerlerle elektroğirilmiş nanofiber kompozitleri de üretilmiştir. İyonik bir çözücü olarak 1-etil-3-metilimidazolyumasetat [EmIm] [Ac] kullanan Park ve ark. [111], tatmin edici antibakteriyel özelliklere sahip türevsiz elektroğirilmiş kitosan-selüloz kompozit örgü geliştirdiler, bu da doku ülserlerinin bir bandaj olarak tedavisi veya diğer emicilere veya gazlara dahil edilmesi için kullanılabilir. Miao ve ark. elektroğirmeyi kullanarak selüloz, selüloz-polimetilmetakrilat (PMMA) ve selüloz-kitosan lifleri ürettiriler [38]. Lifler, *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite göstererek insan keratinositleri (HaCaT hücreleri)

üzerinde düşük toksisite göstermiştir. Farklı CA/jel oranlarına sahip elektroğirilmiş CA/jel iskeleleri, Vatankhah ve ark. tarafından üretildi ve yaralı dokuların bakımı için ve doku rejenerasyonu için en iyi CA/jel oranları sırasıyla (CA/jel 75:25) ve (CA/jel 25:75) olarak belirlendi [105]. Roy ve ark. paclitaksel içeren poli(2-hidroksi etil metakrilat)/bambu (pHEMA-bambu) selüloz elektroğirme liflerinin anti-kanser yapı olarak doku kanserlerini kaplama ve doku rejenerasyonu potansiyelini kanıtladılar [112]. Ullah ve ark. potansiyel yara bakımı uygulamaları için farklı miktarlarda Manuka balı içeren nanofiber CA örgülerini başarıyla ürettirler [37]. Bu dokusuz örgünün yüksek gözenekliliği, yara nefes alabilirliğine yardımcı oldu ve balın varlığı ürünün hidrofilitliğini artırdı. Ayrıca, in vitro sonuçları genellikle bu lif yapılarının yara yüzeyinde bakteri büyümesini önleme ve doku rejenerasyonunu hızlandırma etki eden faktörlerdendir. Antimikrobiyal nanoparçacıklar içeren selüloz nanofiberlerin üretimi, yara yönetimi için ilginç bir alternatif olabilir. Anitha ve ark. CA lifli membran içinde ZnO nanoparçacıklarının varlığının antimikrobiyal özelliklerini artırdığını gösterdi [113]. ZnO yüklü CA lif örgüleri, Escherichia coli, Citrobacter freundii ve Staphylococcus aureus'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdi. Song ve ark. selüloz, karboksimetillenmiş selüloz (CMC) ve şerit şekilli CA elektroğirme lifleri ürettirler ve yüzeylerini farklı pH'larda Ag nanoparçacıklarıyla fonksiyonelleştirdiler [114]. Aynı pH koşullarında, gümüş nanoparçacıkları liflerin yüzeyini şu sıraya göre kaplamıştır: CMC > selüloz > CA. Son olarak, nanoparçacıkların varlığı CMC liflerinin antibakteriyel özelliklerini ve doku rejenerasyonu uygulaması için CMC liflerinin kapasitesini artırmıştır.

2.6.3.2. Kitosan Elektroğirme Liflerin Doku Rejenerasyon Uygulamalarında Kullanımı

Kitin ve kitosan; kitinin deasetil edilmiş formu olan polisakkaritler, antimikrobiyal, biyobenzer ve hemostatik özelliklerinden dolayı doku rejenerasyonu uygulamaları için kullanılabilirler [67,115]. Zincirinde birçok amino grubunun bulunması nedeniyle, kitosan zayıf bir polibaz olarak davranır ve bu nedenle antibakteriyel aktivite gösterir [88]. Kitosanın pro-enflamatuar özelliklerinin, doku rejenerasyonu prosedüründe temel bir rol oynadığı iddia edilmiştir. Kitosan, makrofaj aktivasyonu aracılığıyla doku rejenerasyonu sürecini hızlandırabilir. Ayrıca, kitosan, doku rejenerasyonu sürecinin başlangıcında polimorfonükleer nötrofillerin (PMN'ler) göçünü indükleyerek granülasyon doku oluşumunu geliştirebilir. Jayakumar ve ark. kitosanın doku granüler

tabakasının rejenerasyonu ve yeniden epitelizasyonu üzerindeki potansiyelini göstermişlerdir [116]. Dahası, kitosan negatif yüklü kan hücreleriyle etkileşime geçebilir ve yaranın etkili bir şekilde yapışmasıyla kanamayı durdurur [88]. Min ve ark. yara bandajlama uygulamaları için kitin ve kitosan nanofiber matrislerini elektroğirme kullanarak üretmişlerdir, döner çözücü olarak 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP) kullanılmıştır.

Ancak, saf elektroğrilmış kitosanın uygulanabilirliği, yetersiz mekanik özelliklerinden dolayı sınırlıdır [96]. Karışım-elektroğirme bu kısıtlamayı aşmak için kullanılabilir [117]. Örneğin, elektroğrilmış kitosan lif örgülerinde takviye olarak kitin nanokristallerinin %50 ağırlıkça uygulanması, çekme dayanımını, modülü ve çekilen örgülerin nem stabilitesini artırmış ve su aracılı çapraz bağlanma süreçlerini kolaylaştırmıştır. Kararlı ve boncuk oluşmayan rastgele örgüler, yaklaşık 30 dakika çevirildikten sonra kitosan/polietilen oksit (PEO) ve kitosan/PEO/ChNC bileşiklerinde elde edilmiştir. Üretilen lifler, 7 gün sonra adipos kökenli kök hücrelere sitotoleranslı olmuş ve doku iskelesi uygulaması için kullanılabilir durumdadır [118]. Benzer şekilde, elektroğrilmış kitosan/serisin [120] ve kitosan/ipek fibroin [121] kompozitleri, iyi antibakteriyel özellikler sergilemiş ve doku iskelesi için potansiyel uygulamalara sahiptir. Başka bir çalışmada, Ardila ve ark. kitosan ve bakteriyel nanoselüloz içeren elektroğrilmış örgüler üretmişlerdir. Bu, çözeltilerin iki ayrı şırıngayla eşzamanlı olarak çevrilmesi ve çekirdek-kabuk yapıları oluşturmak için koaksiyal elektroğirme dahil olmak üzere iki farklı yaklaşım kullanılarak gerçekleştirilmiştir [122]. Koaksiyal elektroğirme, kitosan ve bakteriyel nanoselüloz içeren nanofiberlerin oluşumuna yol açmış ve kontrolle karşılaştırıldığında dikkate değer antimikrobiyal özelliklere sahip nanofiberlerin oluşmasına neden olmuştur. Bu nedenle, bu malzeme doku rejenerasyonu pansumanı için umut verici bir malzemedir. Datta ve ark. iyi mekanik dayanıma, ayarlanabilir ıslanabilirliğe, istenilen biyobenzerliğe ve uygun bozunma hızına sahip oleoyl kitosan (OC)/jel nanofiber iskeleleri geliştirmiştir [123]. Bu nanofiberlerin yardımıyla yara kasılması ve deri doku rejenerasyonu, artmış kollajen birikimi ve re-epitelizasyon açısından önemli ölçüde iyileştirilmiştir. OC'nin uzun oleoyl kuyruğunun varlığı, bu nanofiberleri yanık yaraları için kullanışlı hale getirmekte, ilaç salınım matrisi olarak işlev görmekte ve iyileşme sırasında bakteriyel enfeksiyonu önlemektedir. Antibiyotikler, nanoparçacıklar ve/veya bal ve bitki özleri gibi doğal ürünler gibi farklı ajanlar, antibakteriyel özellikleri daha da artırmak, patojenlerin yaraya girmesini önlemek

-

ve işgalci mikroorganizmaları öldürmek için kitosan elektroğrılmış liflerine dahil edilmiştir. Örneğin, Yousefi ve ark. antibakteriyel ve doku rejenerasyonu etkinliğini artırmak için Henna yaprağı ekstresini kitosan nanofiber örgülere eklemiştir [119]. Düzenli ve boncuk oluşmayan 64-87 nm çapında nanofiberler, dikkate değer antibakteriyel aktiviteye sahiptir ve bunlar biyobozunur, biyobazlı ve antibakteriyel doku rejenerasyonu pansumanları olarak değerlendirilebilir.

2.6.4. Polihidroksialkanoat (PHA) Elektroğirme Liflerin Doku Rejenerasyon Uygulamalarında Kullanımı

Polihidroksialkanoatlar (PHA), lineer termoplastik biyopolimerlerin bir ailesidir. Dengesiz büyüme koşullarında birçok mikroorganizma tarafından sentezlenirler ve alternatif bir besin (karbon) rezervi olarak kullanılırlar [125,126]. Son otuz yıl boyunca, bu yeni biyopolimer sınıfının fizikokimyasal özelliklerini araştıran birçok çalışma, PHA'ların biyobenzerlikleri, mekanik stabiliteleri, dayanıklılıkları ve fizyolojik koşullarda toksik olmayan bozunma ürünleriyle biyobozunabilirlikleri nedeniyle tıbbi uygulamalarda bir biyomalzeme olarak kullanımında sayısız avantajı ortaya çıkarmıştır [127–129]. Ayrıca, bazı PHA bozunma ürünlerinin farmasötik uygulamaları da incelenmiş ve bunların mikrobiyal büyümeyi inhibe edici bir etki uyandırabileceği bulunmuştur [128–131]. Bugüne kadar, 100'den fazla PHA monomer birimi tanımlanmış ve hiçbir çalışmanın herhangi bir PHA'nın veya biyobozunma ürünlerinin kanserojenliğine neden olmadığını rapor etmediği belirlenmiştir [125,128,129]. PHA'ların özellikleri, monomer içeriklerine bağlı olarak önemli ölçüde değişir ve dolayısıyla bileşimlerinin kontrol edilmesiyle özelleştirilebilirler [126,132]. Ayrıca, PHA'lar yüzey modifiye edilebilir, diğer polimerlerle karıştırılabilir ve nanoparçacıklar (NP'ler), nanokristaller (NK'ler), ilaçlar ve biyomoleküller gibi inorganik malzemelerle bileşik haline getirilebilir, böylece istenen uygulamaya bağlı olarak biyobenzerliklerini, antimikrobiyal aktivitelerini, mekanik ve termal özelliklerini ve bozunma hızlarını artırabilirler [125,128,132].

PHA'ların elektroğirilmesi de geniş kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır [133–135]. Bu teknik, farklı organik ve inorganik malzemelerle doğrudan karıştırılarak hedeflenen özelliklere ulaşmak için elektroğirme çözeltisine katılarak basit, ölçeklenebilir ultra ince lif yapılarının üretimini sağlamıştır [133,136].

-

Elektroğirilmiş dokusuz membranların doku rejenerasyonu uygulamalarında birçok avantajı vardır, bunlar genellikle yapısal gözeneklilikleri, ıslanabilirlikleri ve doğal ECM'ye benzerlikleri ile ilişkilendirilir ve bu özellikler hücrel migrasyonu, bağlanmayı ve çoğalmayı etki ettiğini göstermektedir [125,137,138].

Son on yılda, elektroğirilmiş PHA yapılarının doku rejenerasyonunda doku iskelesi olarak potansiyel uygulamalarına yönelik yoğun ilgi artmıştır. Farklı morfoloji ve hizalama ile elektroğirilmiş lif örgüleri üretmek için birçok PHA kullanılmıştır [125,137–140], ancak son yıllarda, çoğu çalışma PHA esaslı karışımların ve kompozitlerin uygulanmasıyla veya iyileştirilmiş fizikokimyasal ve biyoaktif özelliklere sahip elektroğirilmiş lif yapılarının işlevsel hale getirilmesiyle ilgilenmiştir [137,139,141–143]. Örneğin, Shishatskaya ve arkadaşları, doku rejenerasyonu uygulamaları için elektroğirilmiş lifler üretmek için PHA'lar arasında en iyi seçeneklerden biri olarak kabul edilen poli(3-hidroksibutirat-ko-4-hidroksibutirat) [P(3HB-ko-4HB)] kullandılar, çünkü düşük kristallige ve yüksek elastisiteye sahiptir [137]. Liflerin içindeki fibroblast varlığının hiperemi ve irinli eksudat miktarı üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermişler ve kompozit liflerin doku rejenerasyonu uygulaması için daha iyi bir aday olduğunu düşünmüşlerdir. Hücre yüklü P(3HB-ko-4HB) membranların altındaki yaralar, hücresiz membranların altındaki yaralara göre 1.4 kat daha hızlı iyileşme göstermiş ve eschar (kontrol) altındaki doku rejenerasyonu göre 3.5 kat daha hızlı iyileşmiştir. Tam iyileşme, hücre yüklü membran grubunda 14 gün sonra sağlanmış, bu süreçte, saf P(3HB-ko-4HB) örgülerinde yaklaşık %90 ve kontrol gruplarında yaklaşık %70 alan azalması gözlenmiştir. Keratin yüklü poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) (PHBV) elektroğirilmiş lif yapılarının doku iskelesi uygulamaları da incelenmiştir [142]. Bu lif örgüleri, NIH 3T3 hücreleri üzerinde hücre canlılığı ve bir yara kapanışı takibi üzerinde test edilmiş, athymic çıplak farelerde beş zaman noktasında (0, 2, 4, 7 ve 9 gün) gerçekleştirilmiş ve karşılaştırma için gazlı beze negatif kontrol ve saf PHBV ultra ince elektroğirilmiş matlar kullanılmıştır. Üçü farklı ağırlık oranı bileşiminde altı günlük kültür boyunca fare fibroblastlarının canlılığı ve çoğalmasında etkili substratlar olduğu gösterilmiştir. Kollajenin eklenmesi, iskeletin ıslanabilirliğini ve termal stabilitesini arttırmış, kristalliğin derecesini azaltmış ve hidrolitik bozunma duyarlılığını arttırmıştır. Elde edilen örgülerin morfolojik, mekanik ve bozunma özellikleri, doku iskelesi uygulamaları için uygundur ve tümü, PHB/collagen ağırlık oranlarını ayarlayarak belirli bir ölçüde ayarlanabilir. İlginç bir şekilde, %50/50

ağırlık oranında örneğin en yüksek ıslanabilirlik ve bozunma hızını sergilediği görülmüş, aynı zamanda saf PHB örneklerine kıyasla elastik modülü korumuştur. Genel olarak, ön çalışma, elektroğirilmiş PHB yapılarının farklı fizikokimyasal özelliklerinin belirli bir miktar kollajenle karıştırılarak doğrudan elektroğirme çözeltisinde ayarlanabileceğini ve tüm farklı oranlarda iyi hücre canlılığı ve çoğalma sağlanabileceğini ortaya koymuştur.

Azimi ve arkadaşları, kitin-lignin/glycyrrhizin asidi (CLA) komplekslerinin elektrosprey ile yüzey dekore edilmiş karışık poli(3-hidroksibutirat)/poli(3-hidroksioktanoat-ko-3-hidroksidekanoat) [P(3HB)/P(3HO-ko-3HD)] lif örgülerini üretmek için elektroğirme yöntemini kullandılar (Şekil 9b) [146]. CLA kompleksleri, *in vitro* bir deri modelinde etkin bir etkileşim gösterdikleri için deri temas altındaki substratları fonksiyonelleştirmek için kullanışlı biyo-bazlı mikro bileşiklerdir [147]. Bu biyo-bazlı ve biyobozunur fonksiyonel dokusuz kumaşlar, doku rejenerasyonu uygulamalarında umut vadeden güçlü anti-inflamatuar aktivite göstermiştir. Kandhasamy ve arkadaşları, kollajen ile kaplanmış bir PHB/jel/ostolamid (OSA) elektroğirme karışımına dayalı etkili bir doku rejenerasyonu tedavisi için bir kompozit iskelet geliştirdiler. Elde edilen iskelet, stabil mekanik özellikler, stabil enzimatik bozunma ve sürekli OSA salınımına bağlı olarak *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı etkili antimikrobiyal aktivite gösterdi [145]. *In vitro* ve *in vivo* analizler, NIH 3T3 fibroblast proliferasyon çalışmaları ile belirlenen mükemmel sitotolerabiliteyi ve Wistar sıçanlarında açık yara modeli kullanılarak doğrulanan iyi doku rejenerasyonu etkinliğini göstermiştir. Aslında, 15 gün sonra, PHB/jel/OSA/kollajen iskelet kullanılarak tam yara kapanması sağlanmışken, PHB/jel/OSA iskeleti, saf kollajen iskeleti ve pamuklu gazlı kontrol pozitifinin sırasıyla yaklaşık %75, %65 ve %45 oranlarında yara boyutu azalması gözlemlenmiştir.

Son çalışmalar, birçok katkının (örneğin, ilaçlar, NP'ler, NC'ler, esansiyel yağlar, biyomoleküller) nanofiberlere dahil edilebileceğini göstermiş ve nanofiber yapısı ayarlanabilir sürekli ilaç salınımını mümkün kılmaktadır. Bu da iyileşme sürecini hızlandırıcı bir etmendir. Son yıllarda artan antibiyotik direnci, yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine büyük bir ilgi getirmiştir. Bazı NC'lerin ve metal/metal oksit NP'lerin antimikrobiyal aktivitesi, onları elektroğirilmiş matrislere dağıtmak için yetenekleri ile birlikte geniş çapta çalışılmış ve incelenmiştir [148,150–153]. Bu bağlamda, son çalışmalar bu nanokompozitlerin doku iskelesi uygulamasına odaklanmıştır. Örneğin, Abdalkarim ve arkadaşları, antibakteriyel yara pansumanları için farklı konsantrasyonlarda (3-15 ağırlık%) çinko oksit nanohibritli selüloz nanokristal-

ZnO (CNC-ZnO) içeren PHBV elektroğirilmiş liflerinin potansiyelini rapor etmişlerdir [154]. Sonuçlar, CNCs-ZnO'nun liflerin içindeki varlığının lif çapında ve kristalliğinde azalmaya, gözeneklilikte artışa, termal kararlılıkta ve mekanik sertlikte artışa neden olduğunu ve özellikle %5 ağırlıkça CNC-ZnO için saf olanlara kıyasla gerilme dayanımında %150 ve Young modülünde %112,5 artışa neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca, CNC-ZnO/yüklü PHBV liflerinde, taze kan modelinde (PHBV örgüler için 4 g/g ve %5 ağırlıkça CNC-ZnO içeren membran için 8,4 g/g) arttırılmış emilim kapasitesi, daha iyi bariyer özellikleri ve mükemmel antimikrobiyal aktivite gözlemlenmiştir. Doğal biyoaktif maddelerin PHA nano/mikro-liflerine dahil edilmesi de araştırılmıştır. Örneğin, Mutlu ve arkadaşları, kurkuminin bir antioksidan, anti-enflamatuar ve antitümör ajan olarak PHBV nanofiberlerine inkorpore edilmesini sağlamışlardır [39]. Bu matrisler, L929 fare fibroblast hücre hattına karşı toksik değildir. Liflerin içinde kurkumin partiküllerinin varlığı şişme kapasitesini, hücre tutunma ve çoğalma yeteneğini artırırken, plastileştirici etkisi nedeniyle matriksin mekanik özelliklerini azaltmış ancak doku rejenerasyonu sürecinde yeterli mekanik dayanıklılık sağlamıştır. Diyabetik yaralar genellikle yetersiz hücre çoğalması ve anjiyogenez ile ilişkilendirilen kronikleşebilir, bunun yanında, reaktif oksijen türlerinin (ROS) iyileşme sürecini geciktirdiği ve kronisite durumunu kötüleştirdiği gösterilmiştir; bu nedenle, bunlar antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılamazlar. Diğer yandan, antioksidan tedavilerinin kronik diyabetik yaraların iyileşmesini ROS üretimini inhibe ederek iyileştirdiği gösterilmiştir [156,157]. Cer oksit nanopartikülleri (nCeO₂) etkili bir antioksidan aktivite gösterir, bu nedenle diyabetik yara pansumanlarında uygulanmaları anjiyogenez ve iyileşmeyi sağlamak için umut vadeden bir yaklaşım olabilir. Augustine ve arkadaşları, diyabetik doku rejenerasyonu sağlamak için nCeO₂ içeren bir elektroğirilmiş PHBV membran geliştirdiler [158]. Saf PHBV membranın gerilme dayanımını önemli bir uzama kaybı olmadan artırabilen optimum %1 w/w nCeO₂ yükü rapor etmişlerdir. Özellikle %1 w/w nCeO₂ yükü için mükemmel *in vitro* sitotolerabilite ve hücre yapışma özellikleri değerlendirilmiş ve tüm nanokompozitlerin saf PHBV örgülere kıyasla hücre göçünü ve anjiyogenezini artırdığı gözlemlenmiştir. Son olarak, nCeO₂ içeren membranların erkek Sprague-Dawley sıçanlarında tam kalınlıkta eksizyon yara modelinde diyabetik doku rejenerasyonu sürecini geliştirmedeki etkinliği gösterilmiştir [158].

Elektroğirilmiş PHBV liflerin hidrojellerde dahil edilebilme olasılığı, böylece ilaçların kontrollü salınımı için uygun bir lif tabanlı kompozit malzeme oluşturulabilir [159].

-

Cristallini ve arkadaşları, bu yöntemi, dexamethasone'un serbest bırakılmasına izin veren bir yüzey kaplaması oluşturmak için önerdiler, böylece implant edilmiş cihazların fibrotik kapsülleşmesini modüle edebilirler.

Son olarak, (tamamen biyobazlı olmasa da) bazı PHA'ların hidrofobik doğası ve özel biyotik enzimatik bozunma mekanizmasının akıllıca kullanımını rapor etmek isteriz. Özellikle, Liu S. ve arkadaşları, bakteri varlığı tarafından tetiklenen bir antibiyotik patlamalı salınım sağlayabilen çekirdek-kabuk lifler üretmek için PHBV/poli(etilen sukkinat) (PES)/poli(3-hidroksioktanoat-ko-3-hidroksiheksanoat) (PHOHHx) oranında (ağırlıkça) 3:2:1 lik bir karışım kullandılar. Geniş spektrumlu güçlü biyosidlerin kullanımını, enfeksiyonları önleyerek veya tedavi ederek doku rejenerasyonu sürecinde aktif bir rol oynayabilir, ancak öte yandan, kullanımını antibiyotiklere karşı bakteriyel direncin gelişmesine ve patojenlere ve konak hücrelerine seçmeksizin saldırmasına neden olabilir, bu da doku rejenerasyonu sürecini daha da geciktirir. Bu nedenlerden dolayı, çekirdek-kabuk ultra ince lifler geliştirilmiştir, bu da koaksiyel elektroğirme kullanılarak, bahsedilen karışımın kabuk olarak uygulanması ve bir çekirdek olarak polivinilpirolidon (PVP) ve bir model biyosit olarak dodecil trimetil amonyum klorür (DTAC) içeren bir çekirdek. İn vitro sonuçlar, bu kompozit yapının PHAs/PES tabanlı kabuğunun cansız çözeltilerdeki bozunmasını etkili bir şekilde engellediğini ve biyositin yavaş salınım oranlarını gösterdi. Zıt bir trend, model bakteri *Pseudomonas aeruginosa*'nın varlığında gözlemlenmiştir. İn vitro salınım verileri, bakteri tetikli ilaç teslimi özelliğini göstermiştir PHAs/PES tabanlı çekirdek-kabuk nanofiber membranlar [160].

2.6.5. Polilaktik Asit (PLA) Tabanlı Elektroğirme Liflerin Doku Rejenerasyon Uygulamalarında Kullanımı

PLA, yenilenebilir kaynaklardan yapılmış sentetik bir biyopolimerdir. PLA, mısır nişastası, pirinç ve şeker kamışı gibi doğal hammadelerden türetilebilir ve laktik asit'in yüzük açma polimerizasyonu veya kondenzasyon polimerizasyonu ile yapılabilir. Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından çeşitli uygulamalarda onaylanmıştır. Laktik asit (2-hidroksipropiyonik asit, $CH_3-CHOHCOOH$) PLA'nın bileşen monomeridir. Poli (l-laktid) (PLLA), Poli (d-laktid) (PDLA), rasemik poli(dl-laktid) (PDLLA) PLA'nın üç izomerik formudur [51,69,161].

PLA, biyouyumluluğa, biyobozunabilirliğe ve biyolojik olarak emilime sahip değerli termomekanik özelliklere sahip alifatik termoplastik bir polyesterdir. Bu özellikler, insan vücudu için toksisitesi olmamasıyla birlikte, onu biyomühendislikte kullanım için uygun bir aday haline getirir [6,26,31,162]. Bazı uygulamalarda, PLA stereokompleksi, artan dikkat çekmektedir. PLA stereokompleksi, PLLA ve PDLA gibi enantiyomerik PLA polimerlerin moleküler zincirlerinin yan yana düzenlenmesiyle oluşan güçlü etkileşimle elde edilebilir. Stereokompleksin oluşumu, PLA tabanlı malzemelere artırılmış mekanik fonksiyon, termal kararlılık ve hidroliz direnci sağlar [163,164].

PLA'ya dayalı elektroğirilmiş nanofiberler, doku mühendisliği iskeletleri, yara pansumanları ve ilaç taşıyıcıları olarak biyomedikal uygulamalar için geniş çapta ele alınmıştır [7,165].

PLA'nın elektro-çekim işlemi geniş kapsamda tartışılmıştır; birçok araştırma çabası, elektro-çekimle üretilen PLA liflerinin nihai özelliklerini etkileyen parametrelerin sistemli araştırılmasına ve optimize edilmesine odaklanmıştır ve dolayısıyla bunların olası kullanımını etkiler. PLA çözeltilerinin özelliklerine, işlem parametrelerine ve ortam koşullarına bağlı olarak, elektro-çekimle üretilen PLA liflerinin çapı ve morfolojisi farklılık gösterecektir. Örneğin, Maleki ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmalarda PLLA liflerinin elektro-çekimine çözücü sisteminin etkisi incelenmiştir [57,66]. Sonuçlar, çözücünün dielektrik sabiti ve buhar basıncının fiber morfolojisi, çapı ve kristalinliği üzerinde önemli ölçüde etkili olduğunu göstermiştir ve dolayısıyla fibrous yapıların mekanik özelliklerini etkilemektedir. Kloroform ve diklorometan gibi düşük kaynama noktasına sahip yüksek buhar basıncına sahip çözücülerle PLLA çözeltilerinin elektro-çekimi, gözenekli yüzeylere sahip lifler oluşturmuştur. Diğer yandan, HFIP ve TFE gibi düşük buhar basıncına sahip çözücülerle PLLA çözeltilerinin elektro-çekimi, düzgün yüzeyli liflerin oluşmasına yol açmıştır (Şekil 2a) [51,57,66]. Düşük buhar basıncına sahip çözücüler, kristallerin fiber oluşumu sırasında büyümesi için yeterli zaman sağlamış ve yüksek kristalinlikle sonuçlanmıştır. Kloroformdan elde edilen düşük iletkenlikteki çözeltiler, elektrostatik alandaki yüklü jetin daha az gerilmesine neden olmuş ve liflerin çaplarının daha büyük olmasına yol açmıştır [57,66]. Maleki ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında, elektro-çekimle üretilen PLLA yapılarının mekanik özellikleri üzerinde çözücü tipinin etkisini incelemek için çift nozullu bir elektro-çekim kurulumu kullanılmıştır.

-

TFE gibi düşük buhar basıncına sahip çözücülerden üretilen elektro-çekim ipliklerinin, PLLA-diklorometan veya kloroform çözeltilerinden elektro-çekimle üretilen ipliklerden daha yüksek mukavemet ve modül gösterdiği gözlemlenmiştir [66]. Elektro-çekimle üretilen PLA çözeltilerinin konsantrasyonu ve viskozitesi gibi PLA tabanlı çözeltiler de elektro-çekimle üretilen PLA liflerinin nihai özelliklerini etkileyen diğer faktörlerdir ve birçok araştırmacı tarafından ele alınmıştır. Çözelti konsantrasyonunun artmasıyla birlikte, artan ortalama lif çapta düzenli liflerin üretildiği gösterilmiştir [57,65].

Elektro-çekimle üretilen PLA tabanlı yapıların doku rejenerasyonu uygulamaları için, birçok yakın zamanda yayımlanmış araştırma çalışmasında incelenmiştir. Bu çabaların çoğu, çok işlevli özelliklere sahip doku rejenerasyonu ürünlerin tasarlanması için biyoaktif PLA tabanlı elektro-çekimle üretilmiş membranların geliştirilmesine yöneliktir. Bu bağlamda, elektro-çekimle üretilen PLA lifleri ilaç taşıyıcıları olarak kullanılmıştır.

Alves ve arkadaşları son zamanlarda PLA elektro-çekimle üretilmiş membranların sürdürülmüş salım için umut verici ilaç taşıyıcı sistemler olduğunu doğrulamışlardır [69]. Anti-inflamatuar ajanlar olan deksametazon asetat (DEX) ve betametazonu PLA elektro-çekimle üretilmiş liflere yüklemek için hem fiziksel adsorpsiyon hem de karışım elektro-çekimi tekniklerini kullanmışlar ve salım verimliliklerini karşılaştırmışlardır. Her iki ilacın elektro-çekimle üretilmiş PLA liflerinin özellikleri üzerindeki etkisi, morfolojik ve mekanik özellikler gibi incelenmiştir. Çözelti elektro-çekimle PLA çözeltilisine ilacın fiziksel adsorpsiyonu ile hazırlanan örnekler, belirgin bir hızlı salım göstermiştir.

Pankongadisak ve arkadaşları, anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip kurkumin kontrollü salımını sağlamak için elektro-çekimle üretilmiş kurkumin içeren PLLA liflerini hasarlı doku pansuman malzemeleri olarak geliştirmiştir [166]. PLA/CUR/PEG nanofiberlerinin PBS içinde inkübasyonu, konsantrasyonun artması ve PEG'nin moleküler ağırlığının azalmasıyla ağırlık kaybı değerlerinde bir artışa neden olduğunu gösterdi. Hazırlanan elektro-çekimle üretilmiş CUR yüklü PLA/PEG membranlar, hücre büyümesi için istenilen koşulları sağlamış ve ortamın hidrofiliği-hidrofobisini dengeleyerek ilacın salımını hızlandırmıştır.

Hasarlı doku pansumanları olarak PLA nanofiber membranların elastikiyetini ve hidrofiliğini artırmak için, Zou ve arkadaşlarının bir çalışmasında, PLA/Poly (1,8-oktandioll-co-sitrik asit) (POC) nanofiberler karışım elektro-çekim yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Ayrıca aspirin yükleme ve salım davranışı da incelenmiştir. Bu yazarların

-
görüşüne göre, geliştirilen elastik, hidrofilik ve biyobozunur PLA tabanlı nanofiber membran, PLA pansumanlarının birkaç dezavantajını düzeltebilir. Bu dezavantajlar; sınırlı gerilme deformasyonu, kontrolsüz bozunma hızı ve düşük hidrofilikliktir [167].

Biyolojik özelliklerine sahip olması nedeniyle PLA, biyomedikal uygulamalar için elektro-çekimli kompozitlerin ana bileşeni olarak sıkça kullanılır. Bi ve arkadaşlarının bir araştırma çalışmasında, PLA ve PLA/PVA/SA (sodyum alginat) membranlar elektro-çekim yoluyla doku rejenerasyonu uygulamaları için üretilmiştir. Elde edilen sonuçlar, bu membranların yeni tip hasarlı doku pansumanları olarak kullanılabilceğini öne sürmüştür. *In vitro* deneyler, PLA ve PLA/PVA/SA elektro-çekimli membranlarının fare fibroblastlarının (L929 hücre hattı) büyümesine iyi destek sağlayabildiğini göstermiştir. Fibroblastlar, PLA/PVA/SA üzerinde PLA membranlara göre nispeten daha iyi yapışma ve çoğalma göstermiştir. *In vivo* deneyler de PLA ve PLA/PVA/SA elektro-çekimli membranların ticari olarak bulunan gazlara kıyasla doku rejenerasyonun önemli ölçüde artırdığını doğrulamıştır [26].

Ilomuanya ve arkadaşları, antibakteriyel aktiviteye sahip PLA ve kollajen-PLA elektro-çekimli lifli iskeleler tasarlamışlardır [12]. Gümüş sülfadiazin (Ag+S) ve *Aspalathus linearis* (AL) fermante ekstraktı kullanarak antibakteriyel özellikleri ve hücre biyobenzirliliği artırmışlardır. Hücrelere zarar vermezler ve hücre yapışması ve çoğalması için uygun zeminler sağlarlar. Cui ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında, geniş spektrumlu bir antibiyotik olan doksisisiklin (DCH), model bir ilaç olarak seçilmiş ve DCH yüklü PLA nanofiberleri karışım elektro-çekim süreciyle üretilmiştir [42]. Sitotoksikite ve antibakteriyel testlerin sonuçları, DCH yüklü PLA nanofiberlerin fare fibroblastlarına (L929) karşı olumlu sitotolerans gösterdiğini ve iyi antibakteriyel aktivite sergilediğini göstermiştir, bu da onun kronik doku rejenerasyonu için doku iskelesi olarak potansiyelini öne sürmektedir.

Klasik antibiyotik yüklü hasarlı doku pansumanlarının dezavantajlarını önlemek amacıyla, Zhang ve arkadaşları araştırma çalışmalarında, etkili antibakteriyel yeteneğe sahip, doku rejenerasyonunu sağlayan gümüş (I) metal-organik çerçeveler-PLA antibiyotik içermeyen doku iskelesi üzerine fibrous kompozit geliştirmek için elektro-çekim sürecini kullanmışlardır. *In vivo* deneyler, elektro-çekim yoluyla üretilen fibrous kompozitin enfekte hasarlı dokuların iyileşme hızını önemli ölçüde hızlandırabildiğini göstermiştir [10].

Fang ve arkadaşları, doku mühendisliği iskeleleri olarak doku rejenerasyonu için PLA ve γ -PGA temelli çekirdek-kabuk nanofiberler geliştirmek için koaksiyel elektro-çekim yöntemini kullanmışlardır. *In vitro* hücre kültürü çalışması ve PLA/ γ -PGA çekirdek-kabuk nanofiber membran üzerinde yapılan *in vivo* hayvan deneyi, iyi biyobenzirlilikle birlikte doku rejenerasyonu yeteneğine sahip olduklarını göstermiştir [6].

Yang ve arkadaşlarının bir çalışmasında, poli (gliserol sebakat) (PGS)/PLLA fibrous iskele, bir PGS çekirdeği ve bir PLLA kabuğu ile koaksiyel elektro-çekim kullanılarak üretilmiştir. Kabuk yüzeyinin gözenekli morfolojisi, derideki hasarlı dokunun iyileştirilmesinde mükemmel bir yetenek göstermiştir. Saf PLLA iskele ile karşılaştırıldığında, çekirdek-kabuk yapısı daha iyi hücre çoğalmasını, daha düşük bir iltihabi yanıtı göstermiştir [51]. Yang ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında, koaksiyel elektro-çekim tekniği, doku iskelesi uygulamaları için çekirdek-kabuk yapıya sahip PLLA/kitosan nanofiberli iskelelerin üretilmesi için kullanılmıştır. Bu çalışmada, grafen oksit (GO) nanolevha, doku rejenerasyonu için sinerjik bir mikroçevre sağlamak için çekirdek PLLA-kabuk kitosan nanofiberlerine kaplanmıştır. GO nanolevhaları ile kaplama, elektro-çekimle üretilen membranın hidrofiliğini önemli ölçüde artırmıştır. GO kaplı kitosan/PLLA nanofiberli iskeleler arzu edilen antibakteriyel aktiviteye sahiptir. Ayrıca, domuz iliyak endotel hücrelerinin (PIECs) büyümesine etki etmektedir. GO kaplı kitosan/PLLA nanofiberli iskeleler, sıçanlarda doku rejenerasyonu için uygun bir şekilde iyileşme göstermiştir [168]. Augustine ve arkadaşlarının bir araştırma çalışmasında, çekirdek-kabuk liflerden oluşan doku rejenerasyonu membranları koaksiyel elektro-çekimle üretilmiştir. Bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF), PVA çekirdeğine yerleştirilmiş ve ince bir PLA tabakası ile kaplanmıştır. Geliştirilen CTGF yüklü çekirdek (PVA)-kabuk (PLA) membranlar, diyabetik doku rejenerasyonu uygulamaları için sürdürülmüş salınımı artırmıştır [165].

Majchrowicz ve arkadaşları tarafından son zamanlarda yapılan bir çalışmada, scaffold mimarisinin iyileşme verimliliği üzerindeki etkisi incelenmiştir [169]. Bu çalışmada, alig ve rastgele yönlendirilmiş fiber birikimlerinin iki düzeni olan, blend elektro-çekimle üretilen bir PLA matris ve kalsiyum fosfat organik olarak modifiye cam (CaP ormoglass) nanopartikülleri ile nanofiberli bir kompozit yapılmıştır. CaP ormoglass nanopartiküllerinin elektro-çekimli kompozitlere eklenmesi, kemik rejenerasyonunu iyileştirerek bozunma sürecini artırmıştır. Rastgele fiber yönlendirilmesinin, *in vitro* bozunma sırasında CaP bileşiklerinin salınmasında üstün olduğu görünmektedir. Buna

karşılık, alig mimari için, sadece PBS içinde 21 gün boyunca batırma sonrasında küçük miktarlarda CaP birikintileri gözlemlenmiştir. Son zamanlarda, sıçan kemik iliği kök hücreleri (BMSC'ler) eklemek için 3D gözenekli PLA nanofiberli iskeleler üretmek için sıvı koagülasyon banyo toplayıcısında ıslak elektro eğirme tekniği uygulanmıştır. Islak elektro-çekim nanofiberlerin kuru elektro-çekim tekniği ile karşılaştırıldığında yüksek porozite ve yüzey alanı gibi belirgin avantajları vardır. *In vitro* ve *j* deneylerin sonuçları, 3D elektro-eğirme fibrous PLA'nın hasarlı doku onarımı için uygun bir pansuman olabileceğini göstermektedir [40].

2.6.6. Elektroegirme Yöntemiyle Üretilen İlaç Yüklü Nanofiberler

Kontrollü ilaç taşıma sistemleri (KİTS'ler), biyomedikal ve farmasötik bilimlerin gelişen alanlarından birini temsil etmektedir [170]. Biyobozunur polimerlerde, ilaç salım sistemi, yüzeyden daha hızlı bir ilaç desorpsiyonunu ve hacimden daha yavaş bir ilaç difüzyonunu içerir. Bu süreç, polimerin bozunması sırasında hızlanır. Bu fenomenlerin hızı aynı zamanda yüzey hacim oranına ve ilaç ile polimerin kimyasal yapısına bağlıdır. Elektroegirme lifleri gibi bazı özel avantajlar, etkileyici ilaç yükleme ve kapsülleme, salım hızının kolayca modülasyonu ve basit işlenebilirliği gibi, KİTS'lerin kontrol edilmiş ilaç salımını sağlamaya yardımcı olur. Elektroegirme nanofiberleri, transdermal ilaç taşıma sistemlerinde (TİTS'ler) kullanılabilir; bu sistemlerde, oral olarak transfer edilemeyen hedeflenen ajanlar ve hassas ilaçlar, deri aracılığıyla vücuda iletilir. Gerçekten de aloesin, curcumin, timol vb. gibi farklı bitkisel farmasötik bileşikler, TİTS'leri genişletmek ve/veya aktif doku iskeleleri sağlamak için elektroegirme nanofiberlerine dahil edilebilir. KİTS sistemlerinin geliştirilmesi için salım mekanizmasının anlaşılması esastır. Başlıca salım mekanizmaları, polimerin hacmindeki su dolu gözenekler aracılığıyla difüzyon, bozunma/aşınma ve osmotik pompadır [171].

Tek nozullu elektroegirme, ilaçların çözünebilir/bozulabilir polimerik matris içinde dağıtıldığı/çözündüğü için genellikle çözünme temelli KİTS'ler olarak işlev görür. Bozunma, polimerin ortalama moleküler ağırlığının azalması nedeniyle genel olarak hacimli alanda meydana gelirken, erozyon, polimerin toplam kütesinde azalma olduğunda yüzeyde meydana gelir [172]. Öte yandan, bir rezervuar KİTS'ler genellikle koaksiyel elektroegirme ile üretilebilir; bu durumda, ilaç molekülleri iç çözelti çekirdeğinde kapsülendir, dış kabuk bariyeri ile çevrilir ve salım profilleri genellikle

-

kabuk membranı aracılığıyla difüzyon tarafından yönetilir ve bu, hızlı ilaç difüzyonunu geciktirmeye yardımcı olur. Kabuk kalınlığı ve çekirdek çapı, ilaç salımı gecikmesinin derecesinde önemli bir rol oynar.

Önceki yaklaşımlar, ilaç moleküllerinin nanofiber hacim fazı içinde kapsülleme esasına dayanırken, yüzey modifiyeli elektroçirime lifleri aynı zamanda daha karmaşık ilaç taşıma platformlarının oluşturulmasının yeni bir olasılığını da sunmuştur. Gerçekten de biyolojik yüzeylere karşı üstün yapışkanlık, nanofiberlerin topikal ilaç taşıma cihazları için uygun bir aday olmasını sağlamaktadır. Yüksek yüzey alan/hacim oranına sahip nanofiber yapılarının yüzeyindeki ilaç moleküllerinin fiziksel immobilizasyonu, diğer herhangi bir cihaza göre birim kütle başına daha yüksek ilaç yükleme miktarına yol açar. Bazı belirli uygulamalarda bakteriyel enfeksiyonun önlenmesi gerektiğinde, nanofiber yüzeyinden ilaçların anında salınımı, belirli farmasötik ajanların kolay doz kontrolünü sağlayabilir. Dahası, yüksek ilaç yükleme kapasitesine ek olarak, nanofiber yüzeyinde bulunan etken madde yüklü nanopartiküller gibi belirli yapılar, nanofiberin kendi başına elde edemeyeceği benzersiz ilaç salım profilleri sağlayabilir [175].

Farklı biyopolimerlerin, aktif bileşenleri içeren veya içermeyen, kullanımını özetleyen Çizelge 2.1., belirli bir fonksiyona ve yara tiplerine göre hedeflenen biyopolimerlerin, aktif bileşenleri içeren veya içermeyen, kullanımını özetler; bunlar kronik/akut, lokalize/genişletilmiş, enfekte/enflamasyonlu, yanık, diyabet, ülserler ve travma tiplerini içerir. Doku iskelesi fonksiyonunda en çok aranan özelliklerin, karmaşık yara tiplerinde etkili doku rejenerasyonuna izin vermek için antimikrobiyal ve anti-enflamatuar özelliklere dayandığı gözlemlenebilir. Geleneksel doku iskelesi kullanılırken, en sık rapor edilen yan etkinin dermatit olduğu, özellikle bacak ülserli hastalarda olduğu bildirilmiştir [176]. Allerjik temas dermatiti, tahmin edilmesi zor bireysel bir ev sahibi tepkisidir. Ancak, biyomalzemelerin dikkatli bir seçimi, *in vitro* ve prelinik araştırmaların bağışıklık yanıtını incelemesi, daha iyi biyouyumlu doku iskelesi geliştirmede yardımcı olabilir.

Çizelge 2.1. Farklı elektroçirime tekniklerine göre hazırlanmış nanofiber doku iskelesi yapıları.

Polimer	Terapötik İçerikler	Fonksiyon ve Tedavi Hedefi	Kaynak
---------	---------------------	----------------------------	--------

Selüloz asetat (CA)/Manuka balı (MH)	-	Enfeksiyon için antibakteriyel aktivite	[37]
CA/poliester üretan	Poliheksametilen biguanid (PHMB)	Antimikrobiyal aktivite	[110]
Kitosan/bakteriyel nano selüloz	-	Antimikrobiyal özellikler	[122]
Kitosan/ipek fibroin	-	Antibakteriyel özellikler	[121]
Kitosan/sericin	-	Biyolojik uyumluluk ve antibakteriyel	[120]
Kitosan/Poli (L- laktit) (PLLA)	Grafen oksit	Kronik enfekte yaralar için antimikrobiyal aktiviteler	[50]
Kitosan/keratin/pol ikaprolakton (PCL)	Aloe vera ekstresi	Akut ve yanık yaralar için anti-enflamatuar, antibakteriyel, antiviral ve antioksidan özellikler	[35]
Kitosan/Poli (vinil alkol) (PVA)	Nanobiocam (nBG)	Kronik yaralar için biyolojik uyumluluk, antibakteriyel aktivite ve rejenerasyonu sağlayıcı etki	[5]
Jel/Oleoil kitosan	-	Büyük doku defektleri veya kronik yaralar	[123]
Polihidroksialkano at (PHA)	Dodesiltrimetilam onyum klorür	Kronik yaralar için antimikrobiyal etkiler	[160]
PHBV	Grafen kaplı gümüş nanoparçacıklar (GAg)	Kronik yaralar için antimikrobiyal aktivite	[141]

PHBV	Seriyum oksit nanoparçacıkları (nCeO ₂)	Diyabetik yaralar için antioksidan ve anjiyogenik özellikler	[8]
PHBV	Kurkumin	Yanık yaraları, diyabetik ayak ülserleri, venöz bacak ülserleri ve basınç ülserleri gibi kronik yaralar için antioksidan, anti-enflamatuar ve antitümör özellikler	[39]
PHBV/selüloz	ZnO nanokristalleri	Akut ve enfekte yaralar için antibakteriyel aktivite	-
Polilaktitler (PLA)	Gümüş nanoparçacıkları (AgNPs)	Yanık yaraları ve kronik yaralar için antimikrobiyal aktivite	[42]
PLA	Kurkumin, Enrofloksasin	Antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite	[70], [87]
PLA	Doksisiklin (DCH)	Antibakteriyel aktivite, Kronik yaralar	[154]
PLA	Gümüş (I) metal-organik çerçeve Ag ₂ [HBTC][im]	Antibakteriyel özellik	[10]
PLLA	Kurkumin	Anti-enflamatuar antioksidan etkiler	[166]
PLA/hiperdallanmış poligliserol (HPG)	Kurkumin	Akut ve kronik yaralar için antioksidan, anti-enflamatuar ve anti-infektif özellikler	[31]
PLA/PVA	Bağ doku büyüme faktörü (CTGF)	Diyabetik yaralar	[165]

Poli(laktik-ko- glikolik asit) (PLGA)/jel	Rekombinant insan epidermal büyüme faktörü (rhEGF)	Antibakteriyel aktivite ve rhEGF sağlanması	[90]
PLGA/polidopami n	Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), ponericin G1	Deri doku rejenerasyonu için antimikrobiyal ve hücre çoğalmasını sağlayıcı özellikler	[89]

2.7. Üretral Onarımda Kullanılan Nanofiberler Üzerine Yapılmış Araştırmalar

Jiao ve diğerleri [80] tarafından yapılan araştırmada üretral yaralanmada epitel hücrelerin optimal rejenerasyonu için fibrinojen-poli(l-laktid-ko-kaprolakton) ve Fibrinojen-PLCL polimer malzemeli nanofiber kullanılmıştır. Yapılan araştırmada tavşan üretral replasman modeli kullanılarak, fibrinojen-PLCL dokusundaki üretral yaralanmayı canlı denekler üzerinde *in vivo* olarak onarma yeteneğini değerlendirilmiş olup Fibrinojen-PCL grubundaki tavşanlarda ameliyat sonrası üretral dokudaki epitel hücrelerinde önemli bir iyileşme göstermiştir. Araştırma sonuçlarına göre fibrinojen-PLCL nanofiber malzemenin üretral yaralanmalarda doku rekonstrüksiyonu için uygun bir seçenek olduğunu gösterdiği belirtilmiştir.

Wang ve diğerleri [81] tarafından yapılan araştırmada elektroçirme tekniği kullanılarak fibrinojen ile işlevselleştirilmiş, PLCL'den yapılmış tüp biçimli nanofiber yapı iskelelerinin başarılı bir şekilde üretilmiştir. Sonuç olarak hem hidrofilik hem de biyoyumlu olan Fib-PLCL nanofiber doku yapısı, üretranın doku yapısıyla karşılaştırınca mekanik özellikte olması üretra yaralanmalarındaki doku hücrelerinin bağlanmasına ve çoğalmasına da yardımcı olmuştur. Araştırma sonuçlarına göre, fibrinojen ile işlevselleştirilmiş PLCL nanofiber yapı iskelelerinin hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak epitelyal ve düz kas hücrelerinin rejenerasyonu üzerinde sinerjistik bir etki sergilediğini ve bunların yüksek düzeyde sağlamlık gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen bulgulara göre, üretral yaralanmanın tedavisinde üretral rekonstrüksiyon amacıyla hücreselleştirilmiş fibrinojen-PLCL nanofiber doku iskelesinin kullanımının daha uygun bir yaklaşım olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca, nanofiber membran yumuşak doku özelliği

-

göstermesinden dolayı üretral yararın boyutlarına uygun olacak şekilde özelleştirilebildiği de belirtilmiştir. Nanofiber malzemenin esnekliği, yarayı dış etkenlerden koruyan ve yabancı mikroorganizmaların sızmasını önleyen fiziksel bir bariyer görevi görmesini sağladığı da belirtilmiştir.

Wang ve diğerleri [82] tarafından yapılan araştırmada üretral rejenerasyonda anjiyogenezi ve epitelizasyonuna etki etme potansiyelini araştırmak için üretraya benzer özelliklere sahip bir yapı iskelesi olarak bakteriyel selüloz nanofiber malzemesi ile mesane aselüler matrisi kullanılmıştır. Araştırmada üretilen gözenekli nanofiber malzeme; hücrel ve vasküler iç büyüme için olumlu özellikler sergilerken, doğal vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiyogenezin sağlanmasını kolaylaştırmıştır. Biyomimetik doku yapısı, endotel hücrelerinin büyümesinin çoğalmasını, VEGF salgılanmasını ve *in vitro* olarak uyarımı ile önemli pro-anjiyojenik özellikler gösterdiği belirlenmiştir. Ek olarak, bakteriyel selüloz ve mesane aselüler matrisinden oluşan doku yapı iskelesindeki artan kan damarı oluşumu süreci, bir üretral yaralanmada kullanılan tavşan modelinde epitel dokusunun gelişmesinde ve üretral iyileşmenin desteklenmesinde rol oynamıştır. Araştırmanın sonuçları bakteriyel selüloz ve mesane aselüler matrisinden oluşan doku yapı iskelesinin üretral defektleri onarmak amacıyla uygun bir malzeme olduğunu belirtmiştir.

Liu ve diğerleri [83] tarafından yapılan araştırmada üretral rekonstrüksiyon için epitel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin fenotipik ekspresyonunu düzenlemede poli(L-laktik asit) (PLLA)'nın jel işlevli, tübüler nano lifli yapı iskelelerinin etkinliğini incelenmiştir. Elektrospınleme ile üretilen PLLA/ jel tübüler nano lifli yapılar gelişmiş hidrofilitik özellik sergileyerek Yeni Zelanda tavşanı üzerinde denenmiştir. Tavşandaki epitel hücrelerde keratin (AE1/AE3) ve düz kas hücrelerinde aktin (α -SMA) hücre üretiminde ekspresyonu sağlayarak birbirine yapışmasını, uzmasını ve çoğalmasını önemli ölçüde desteklediği saptanmıştır. Ayrıca üretral rejenerasyonu etkili bir şekilde destekleyebilen biyomimetik yapı iskelelerinin tasarımında nanomorfolojinin ve biyokimyasal ipuçlarının sinerjistik etkilerini gösterdiği belirtilmiştir.

Yang ve diğerleri [84] tarafından yapılan araştırmada üretral yaralanmalarda çift modifiye bakteriyel selüloz/soya fasulyesi protein izolatu (DMBC/SPI) kullanılmıştır. Araştırma kapsamında seçici oksidasyon yoluyla bakteriyel selülozun (BC) fiziksel ve kimyasal modifikasyonunu içererek çift modifiye bakteriyel selüloz (DMBC) üretilen nanomalzeme, üretral doku yaralanmalarında biyoyumluluk, biyobozunurluk ve hücre

odaklı büyüme gibi olumlu özellikler göstermiştir. Yapılan araştırmada tavşan üretral replasman modeli kullanılarak tavşandaki üretra onarımında DMBC/SPI malzemesinin üretranın iyileşme sürecini etki etmesinde avantajlı olduğunu ve aynı zamanda düşük oranda bir inflamatuvar reaksiyona gösterdiği belirlenmiştir. DMBC/SPI kompozit malzemesi, üretranın onarımında olumlu bir sonuç sergilediği için klinik ortamlarda üretral rekonstrüksiyon için önemli olduğu belirtilmiştir.

Wang ve diğerleri [85] tarafından yapılan araştırmada dinamik sıvı elektroğirme metodolojisi kullanılarak nanofiber malzemesi üretilmiştir. Araştırmada stres üriner inkontinansın tedavisi için bir doku mühendisliği askısı olarak plasental kök hücrelerden (PSC'ler) farklılaştırılmış miyoblastlarla hücre iskelesi yapısının kullanılmasının uygulanabilirliğini değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Miyoblastlar, 5-azasitidin ve at serumu kullanılarak PSC'lerden üretilmiştir. Dinamik bir sıvı elektroğirme sistemi kullanılarak miyoblast yapısı için yeni bir nanofiber doku iskelesi üretilmiştir. Araştırmada sırasıyla taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve MTS tahlili ((3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum)) tahlili kullanılarak nanofiber yapı iskelesinde hücre morfolojisi ve proliferasyonunun bir karşılaştırmasını gerçekleştirilmiştir. Nanofiber yapı iskelesi, hücre çoğalmasında önemli bir gelişme göstermiştir. Miyoblast-nanoiplik içeren yapılar, kas dokusununkine benzeyen özellikler sergilemiştir. Nanofiber miyoblastları, daha yoğun bir konsantrasyonla, yüksek düzeyde tip 1 ve 3 kollajen ve elastin göstermiştir. Sonuç olarak, pluripotent kök hücrelerin (PSC'ler) miyoblastlara farklılaşma potansiyeline sahip oldukları ve miyojenik belirteçler ve hücre dışı matris (ECM) ekspresyonunda artış sergiledikleri gözlemlenmiştir. İn vitro araştırmaların sonuçları, nanofiber yapı iskelesinin kullanımının hücresel proliferasyonu, kas dokusu büyümesini ve hücre dışı matrisi (ECM) arttırdığı belirlenmiştir.

Çizelge 2.2. Üretral onarımda kullanılan nanofiberler üzerine yapılmış araştırmalar.

Polimer	Etken Maddeler	Kosolvent/Yardımcı Çözücü	Özellikler	Kaynak
PLCL	-	1,1,1,2,2,2-hexafluoro-2-	Hücre proliferasyonu	[80]

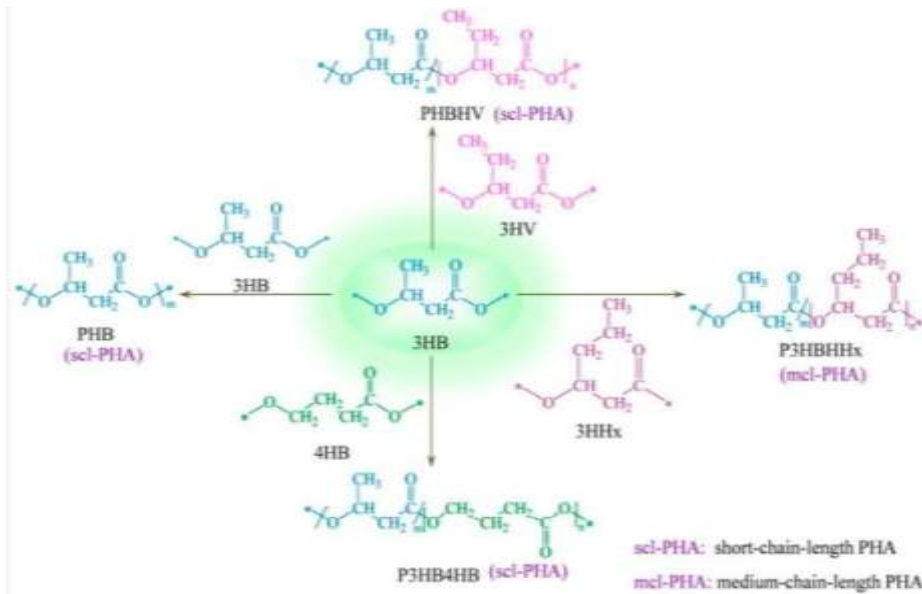
			propanol (HFIP)		
Kollajen P(LLA-CL)	I/ -		ADSCexos	Antibakteriyal	[81]
Bakteriyel Selüloz/Mesane Aselüler Matrisi	Endotelyal büyüme faktörü (VEGF)		Distile su	Hücre profilasyonu	[82]
Poli(l-laktik asit) (PLLA)/Jel	fetal sığır serumu (FBS, 10099141), penisilin- streptomisin (10378016), %0,25 tripsin-%0,02 etilendiamint etraasetik asit (EDTA)		hekzafloroizop ropanol (HFIP, 920-66-1) ve trifloroetanol (TFE, 132248) -58-9)	Hücre profilasyonu	[83]
Bakteriyel Selüloz/Soya Fasulyesi Protein İzolatı (DMBC/SPI)	Fibroblast büyüme faktörü		Sodyum hidroksit (NaOH, AR, %96) ve sodyum periyodat (NaIO ₄ , CP, %98)	Antiinflamatu ar/ Hücre profilasyonu	[84]
Poli(l-laktit-ko- kaprolakton) (P(LLA-CL))	Kollajen Tip 1		2,2,2- trifluoroetanol	Hücre profilasyonu	[85]

		4,	4'-		
		Metilenbis			
Poli (etilen glikol) (PEG)	poli-ε-kaprolakton (PCL)	(sikloheksil izosiyanat kalay oktanoat toluen-p-sülfonik asit		Hücre profilerasyonu	[86]
Kollajen	Hyaluronik Asit	1,2-dikloroetan Su		Hücre profilerasyonu/ Anjiyogenez	[87]
PCL/İpek Fibroin/Kollajen	Hekzafloroizopropanol (HFIP)	Na ₂ CO ₃ CaCl ₂ /H ₂ O/C ₂ H ₅ OH		Hücre profilerasyonu	[88]
Peptit Amfilleri	Anti-inflamatuar peptitleri (AIF-PA)	Etanol		Antienflamatuar/ Hücre profilerasyonu/ Anjiyogenez	[89]
Mg/poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)	İnsan adipoz kök hücreleri	1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP)		Antienflamatuar/ Hücre profilerasyonu	[90]
PLGA (polilaktik asit: glikolik asit)	Laponit	hekzafloroizopropanol		Hücre profilerasyonu	[91]
Polikaprolakton-İpek Fibroin	Lithium Bromide	hekzafloroizopropanol		Hücre profilerasyonu	[92]

2.8. Poly(3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate) (PHBV)

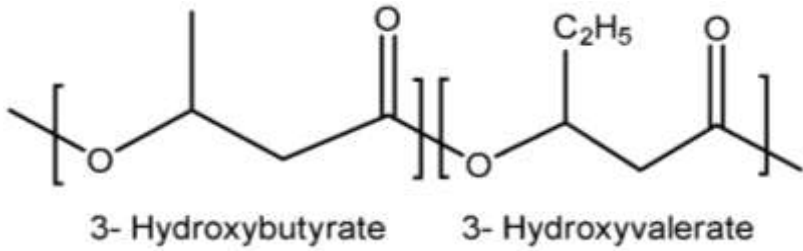
Polyhidroksialkanoatlar (PHA'lar), geniş bir yelpazede bulunan bakteriyel mikroorganizmalar tarafından üretilen doğal poliesterlerdir [83]. Bu mikroorganizmalar,

enerji depolama bileşenleri olarak hücre içerisinde PHA'ları biriktirebilirler. PHA'lar, polipropilen (PP) ve polietilen (PE) gibi konvansiyonel plastiklerle benzer fizikokimyasal özelliklere sahiptir [84]. Ancak, biyobozunurluk açısından, PHA'lar çeşitli çevresel şartlarda tanımlanan biyobozunma standartlarının hemen hemen hepsini karşılayan %100 biyobozunur malzemeler olarak kabul edilirler (Şekil 2.4). Polilaktik asit (PLA) gibi diğer yaygın biyobozunur biyoplastiklerin aksine, PHA'ların tam biyobozunumu için belirli sıcaklık koşulları veya pH seviyeleri gibi özel koşullar gerektirmemektedir. Ayrıca, PHA'lar yalnızca katı atık alanlarında değil, aynı zamanda deniz ve tatlı su gibi zorlu çevresel koşullarda da etkin bir şekilde bozunabilen nadir biyopolimerler arasındadır [83].



Şekil 2.4. PHA'ların genel kimyasal yapısı.

PHA'lar, çevresel avantajlarının yanı sıra, insanlar için biyoyumluluk ve toksik olmayan özellikleriyle de bilinirler [86]. Bu özellikler, onları doku mühendisliği uygulamaları için özellikle uygun kılar. Özellikle, PHA'lar üzerine yapılan araştırmaların önemli bir bölümü biyomedikal alanda, kemik rejenerasyonu gibi rejeneratif mühendislik uygulamalarına odaklanmıştır [87-90]. Bu çalışmalar, PHA'ların hem çevresel sürdürülebilirlik hem de sağlık teknolojileri alanlarında önemli katkılar sağlama potansiyelini vurgular. Şu ana kadar, PHA ailesi içinde 150'den fazla farklı monomer tespit edilmiştir [88]. Bu monomerler, karbon yan zincirlerinin uzunluğuna bağlı olarak kısa zincir uzunlukları (4 ile 5 karbon) ve orta zincir uzunlukları (6 ile 12 karbon) olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 2.5).



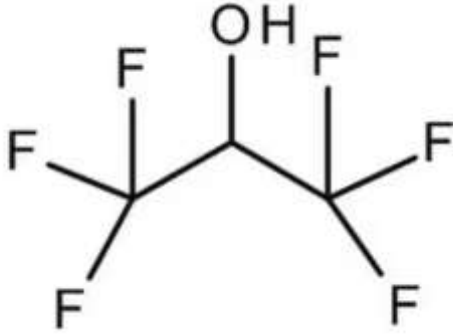
Şekil 2.5. PHBV'nin kimyasal yapısı.

Bazı çalışmalar, 14 karbon biriminden fazla içeren uzun zincirli PHA'ların varlığını göstermiş, ancak bu PHA'lar üzerine yapılan araştırmalar henüz sınırlıdır. Basit PHA'ların yanı sıra, iki farklı monomer içeren kopolimerler de tanımlanmıştır. Örnekler arasında poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) (PHBV), poli(3-hidroksibutirat-ko-4-hidroksibutirat) (P3HB4HB) ve poli(3-hidroksibutirat-ko-hidroksihekzanoat) (PHBHHx) bulunmaktadır [84]. Bu kopolimerler, komonomer bileşimlerinin değiştirilmesiyle elde edilen çeşitli mekanik ve termal özellikler sunmaktadır.

2.9. 1,1,1,3,3,3-Heksafloroizopropanol (HFIP)

Son yıllarda, özellikle benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle dikkat çeken 1,1,1,3,3,3-Heksafloroizopropanol (HFIP), birçok kimyasal süreçte tercih edilen bir çözücü haline gelmiştir. HFIP, C-H bağı aktivasyonu, Lewis asitleriyle katalizlenen reaksiyonlar, elektrofilik aromatik yer değiştirme (SEAr) [9,21], sentetik polimer üretimi [11-12], proteomik çalışmalar [13] ve elektrokimyasal sentez [14,15] gibi çeşitli reaksiyonları desteklemekte geniş bir kullanım alanına sahiptir [16].

HFIP'in özel özellikleri, özellikle asiditesine ve mikro yapılar oluşturarak agregasyon etkisine katkıda bulunur; bu mikro yapılar, küçük açılı X-ışını saçılımı yöntemi ile gözlemlenmiştir [17,18,19]. Ayrıca, her bir birim etkileşim için yaklaşık 1-5 kcal/mol arasında değişen CH- π hidrojen bağları, biyolojik makromoleküllerde önemli etkileşimler olarak kabul edilmektedir [20,21]. Dolayısıyla, HFIP'in organik dönüşümler ve biyolojik çalışmalarda çözücü olarak kullanılması, HFIP (OH ve/veya CH bağları) ile hidrokarbonlar arasındaki etkileşimleri daha iyi anlamak açısından önem arz etmektedir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. 1,1,1,3,3,3-Heksafloroizopropanol (HFIP)'in kimyasal yapısı.

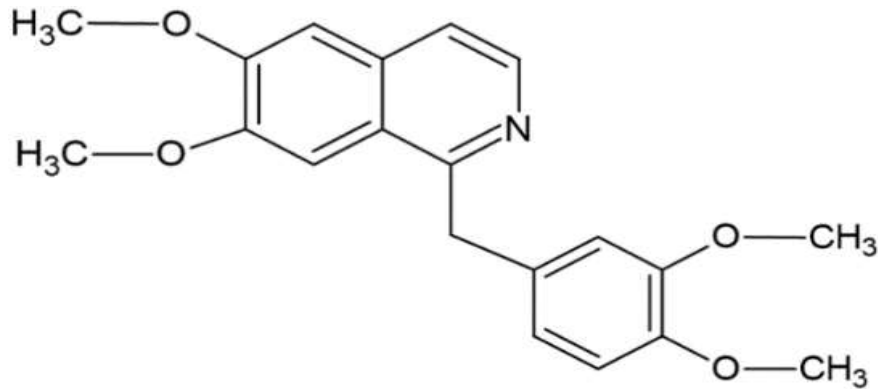
Literatürde, HFIP ve arenler arasındaki CH- π etkileşiminde dipol-kadranpol etkileşiminin rolü üzerine çalışmalar yapılmıştır [23]. HFIP'in O-H bağı, iki güçlü elektron çeken CF₃ grubunun varlığı nedeniyle, izopropanolden (IP, pK_a = 17.1) [25] çok daha asidik bir yapıya sahiptir (pK_a = 9.3) [24]; bu özellik HFIP'i güçlü bir hidrojen bağı donörü yapar. HFIP'deki C-H bağı ise, karbonun iki CF₃ grubu ve bir hidroksil grubu ile doğrudan bağlantılı olması sebebiyle, elektron çeken grupların indüktif etkisi ve oksijen

atomlarının yüksek elektronegativitesi ile klasik olmayan bir hidrojen bağ donörü olarak işlev görür. HFIP ve su arasındaki güçlü hidrojen bağları ile HFIP'in vakumda dönme davranışı üzerine yapılan çalışmalar, mikrodalga spektroskopisi ve teorik yöntemlerle incelenmiştir [26,27]. Ayrıca, HFIP ve halojenler arasındaki yük-dipol etkileşimleri fotoelektron spektroskopisi ve hesaplamalı yöntemlerle araştırılmıştır [28].

2.10. Papaverin (PPV) Hidroklorür

Benzilizokinolin alkaloidleri, alkaloit kimyasında önemli bir yere sahiptir. Çünkü bunlar, birçok diğer doğal olarak oluşan izokinolinlerin canlı organizmalarda oluşumu için öncü maddeler olarak görev yaparlar. Bunlar, ya 1,2,3,4-tetrahidro yapılı olabilirler, örneğin coclaurine ve N-nororientalin gibi, ya da tamamen aromatik, örneğin PPV hidroklorür, palaudin ve eskolamin gibi. Benzilizokinolin alkaloidlerinde A halkasında iki veya üç oksijenli ikame grupları bulunabilirken, C halkasında yalnızca bir veya iki ikame grubu bulunur [177-179].

PPV hidroklorür, IUPAC nomenklaturüne göre *1-[(3,4-dimetoksi fenil) metil]-6,7-dimetoksi izokinolin* olarak bilinir ve *P. somniferum* bitkisinde bulunan başlıca benzilizokinolin alkaloidlerinden biridir. Doğal olarak, morfin, kodein ve narkotinin sentezi sırasında yan ürün olarak oluşur. PPV hidroklorür *kütle/yük oranı (m/z)* değeri *340,15417* olarak belirlenmiştir [178]. Hafifçe suda çözünen bir nötr katıdır. PPV hidroklorür molekülünde dört metoksil grubu bulunur. Molekül, bir trimetil metil grubuna sahip olmasa da hala bir üçüncül baz olarak işlev görür. PPV hidroklorür, dört hidrojen atomu eklenerek birincil bir amine indirgenebilir ve heterosiklik halka bir benzen halkasına kaynaklandığı için bir piridin türevidir (Şekil 2.4) [180].



Şekil 2.7. PPV hidroklorür kimyasal yapısı.

Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından beyin damar spazmları ve koroner dolaşım tedavisinde öncelikle kullanılmak üzere bir vazodilatör olarak onaylanan PPV hidroklorür'ün etki mekanizmaları ve etkilediği yollar henüz tam olarak anlaşılammıştır [181-182]. PPV hidroklorür'ün oral yolla alındığında biyoyararlanımı yaklaşık %30'dur ve insanlarda farmakokinetik yarı ömrü 1.5 ile 2.5 saat arasındadır [183]. PPV hidroklorür'ün vazodilatör ve kas gevşetici olarak etkileri doza bağlıdır ve hedef dokulara bağlı olarak farklı optimum dozlar mevcuttur; koroner kan akışı araştırmalarında kullanılan 4 mg/mL, 8 mg/mL ve 12 mg/mL dozları koroner kan akışında artış göstermiş, beyin iskemisi olan hastalarda kullanılan 100 mg/100 mL ile 300 mg/100 mL dozları kullanılmıştır [184,185-187]. Optimum koşullar altında PPV hidroklorür'ün etkinliği, işe yaradığı derece, yaklaşık %50 olarak bulunmuş ve sıçanlarda ölümcül doz (LD50) 750 mg/kg olarak tespit edilmiştir [178]. Not edilen olası yan etkiler arasında, yaklaşık %33 hastada 60 mg/mL veya daha yüksek dozlarda priapizm meydana gelmiştir [186-189]. Ayrıca, PPV hidroklorür'ün verilen hastaların yaklaşık %57'sinde penil fibrozis gelişme riski bulunmaktadır [190-191].

Günümüzde PPV hidroklorür'ün tümörjenik hücre hatları üzerindeki etki mekanizmaları hakkında az sayıda literatür mevcuttur. Mevcut çalışmaların çoğu, PPV hidroklorür'ün hücre canlılığı, hücre döngüsü ve hücre ölümü üzerindeki etkilerini göstermektedir; bu nedenle, PPV hidroklorür'ün tümörjenik hücrelerde kullandığı etki mekanizması belirsiz kalmaktadır [178,180-186]. PPV hidroklorür tedavisi sonucu ortaya çıkan morfolojik değişiklikler prostat kanseri üzerinde incelenmiş ve sonuçlar, lenf nodu prostat kanseri (LNCaP) hücrelerinde morfolojik değişiklikler gözlemlenirken, prostat kanseri (PC-3) ve androjen bağımsız prostatik karsinoma (DU145) hücrelerinde az veya hiç morfolojik değişiklik olmadığını göstermiştir [190]. Ayrıca, morfolojik değişiklikleri karşılaştırmak için iki diğer bilinen fosfodiesteraz (PDE) inhibitörü (teofilin ve 3-izobütil-1-metilksantin) kullanılmış ve sonuçlar, PPV hidroklorür'e maruz kalan LNCaP hücrelerinde diğer PDE inhibitörlerine göre daha belirgin morfolojik değişiklikler gösterdiğini belirtmiştir. İlave olarak, PPV hidroklorür'e maruz kaldıktan sonra 6 gün sonra PPV hidroklorür'ün çıkarılması, maruz kalma sırasında gözlemlenen morfolojik değişikliklere az veya hiç değişiklik olmadığını, bu değişikliklerin kalıcı olduğunu öne sürmüştür [191]. LNCaP hücreleri üzerinde yapılan proliferasyon çalışmaları, PPV

-

hidroklorür'ün 6 gün süresince LNCaP hücrelerinin proliferasyonunu tedavi edilmemiş LNCaP hücrelerine göre önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir [189]. Morfoloji üzerindeki etkileri araştıran ek çalışmalar, DU145 hücreleri, triple-negatif meme kanseri hücre hattı (MDA-MB-231) ve bir adenokarsinom alveoler kanser hücre hattı (A549) üzerinde yapılmıştır [190]. Sonuçlar, 48 ve 72 saat sonra PPV hidroklorür'e maruz kalan MDA-MB-231, DU145 ve A549 hücrelerinde zamana ve doza bağlı olarak artan karakteristik olmayan morfoloji ve hücre enkazı gözlemlendiğini göstermiştir. Ayrıca, MDA-MB-231 hücreleri, DU145 ve A549 hücrelerine göre PPV hidroklorür'e maruz kaldığında daha fazla karakteristik olmayan morfoloji artışı göstermiştir [190]. Bu çalışmalar, PPV hidroklorür'e maruz kalmanın zamana ve doza bağlı olarak morfoloji üzerinde etkili olduğunu ve gözlemlenen etkilerin hücre hattına özgü olduğunu göstermektedir [178,189].

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal Malzemeler

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

Polimerler ve Aktif Maddeler

- **Poly(3-hydroxybutyric acid-co-3-hydroxyvaleric acid)** (Doğal kökenli, PHV 8 mol %): Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Birleşik Devletleri
- **Jelatin (Toz), Tip B**: Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Birleşik Devletleri
- **Papaverin Hidroklorür** (Moleküler ağırlık: 375.85): Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Birleşik Devletleri

Polimer Çözücüler

- **N,N-Dimethyl Formamide** (Aldrich puriss. p.a., ACS reagent, reag. Ph. Eur., $\geq 99.8\%$ GC): Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Birleşik Devletleri
- **Chloroform** ($\geq 99\%$): Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Birleşik Devletleri
- **1,1,1,3,3,3-Heksafloro-2-propanol (HFIP)** ($\geq 99\%$ CP, moleküler ağırlık: 170.05): Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, Amerika Birleşik Devletleri

Elektroegirme Yöntemiyle Nanofiber Membran Üretiminde Döner Kollektör Toplayıcı Yüzeyine Sarılı Altık Malzeme:

- Yağlı kağıt

Morfolojik Analizlerde Kullanılan Malzemeler:

- **Altın-paladyum kaplama cihazında kullanılan alüminyum stab ve çift taraflı karbon iletken bant**: Anatek Analitik ve Araştırma Cihazları İth. İht. Mümes. San. ve Tic. Ltd. Şti.

Termal Analizlerde Kullanılan Malzemeler:

- **DSC Termal Analizi İçin Numune Krimplede Alüminyum Pan ve Kapağı:** TETRA Teknolojik Sistemler A.Ş.
- **TGA Termal Analizi İçin Alüminyum Oksit (Al₂O₃) Seramik Pan:** TETRA Teknolojik Sistemler A.Ş.

***In Vitro* Papaverin Hidroklorür Salm Çalışmaları İçin Kullanılan Malzemeler:**

- **Fosfat Tamponlu Salin (PBS) Solüsyonu (1x, pH: 7.4):** Gündüz Kimya-Gündüz Chemical Kimyasal Çözümler San. Tic. Ltd Şti.

Temas Açısı Testi İçin Kullanılan Malzemeler:

- Distile su

***In Vitro* Biyodegradasyon Çalışmaları İçin Kullanılan Malzemeler:**

- **≥95% Saflıkta ve 14,4 kDa Moleküler Ağırlığında Lizozim:** Sigma/Aldrich-Türkiye

***In Vitro* Sitotoksosite, Hücre Tutunması ve Proliferasyonu Testleri İçin Kullanılan Malzemeler:**

- **L929 Fare Fibroblast Hücreleri**
- **%10 FBS ve %1 Pen/Strep İçeren L-DMEM Besiyeri**
- **WST-1 (Su Çözünür Bir Tetrazolyum Tuzu) Solüsyonu**
- **96 Kuyucuklu Plaka**
- **Hücre Kültürü Polistiren Plakalar (TCPS)**

3.2. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapıların Üretimi

3.2.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Üretiminde Kullanılan Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması

En uygun PHBV polimer çözeltisini nanofiber membran üretiminde kullanmak amacıyla %5, %8, %10, %13 ve %15 (w/v) oranlarına sahip farklı oranlardaki çözeltiler hazırlanmıştır. Elektroegirme çalışmalarında; çözelti viskozitesi, molekül ağırlığı, çözücü

seçimi, elektroğirme çalışma değerleri (besleme hızı, çalışma mesafesi, voltaj, kollektör dönme hızı) önem arz etmektedir. Bu etkenlere dikkat edilerek ince lif yapılanması elde edilebilmektedir [192-194]. Bununla birlikte döner kollektörün hızlandırılması da fiberlerin yönlendirilmesini sağlamaktadır. Fiber yönlendirilmesi sayesinde istenilen yönde mukavemet artışı, hücre büyümesi gerçekleşecek ve yöne bağımlı özellikler ortaya çıkacaktır [195-198].

Jel kullanımı oranı arttıkça lif yapısını bozarak püskürtme sonucu nozul ucu tıkanmaları ve polimer liflerinde aglomerasyona (topaklanmaya) neden olmaktadır [199]. Membran üretiminde Jel eklenmediği durumlarda polimer lifleri kalınlaşırken, çalışmada bu husus dikkate alınarak %10 PHBV içerisine %5 Jel katılmıştır. %10 PHBV içerisine %10, %15 Jel katılarak nanofiber membran üretimleri denenmiş, morfolojik FEGSEM görüntüleri alınarak nanofiber membran yapısı incelenmiştir.

PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran üretiminde etken madde oranları %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) olarak seçilmiş ve polimer tabanlı çözeltiler elde edilmiştir. Ancak lif yapılaşmasını bozmamak ve uygun nanofiber membranların elde edilmesi için %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür, %10 PHBV/%5 Jel çözelti sistemine yüklenmiştir. Hastaların şikayeti ile saptanan etiyoloji (neden bilimi) göz önüne alınarak, uygulanan PPV hidroklorür başlangıç enjeksiyon dozu 20-40 mg olarak belirlenmiştir [193,194]. Çalışma kapsamında enjeksiyon dozuna karşılık gelen %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür oranlarının yüklenmesine karar verilmiştir. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üretiminde kullanılan farklı polimer çözeltilerine ait tez kapsamında incelenen parametreler Çizelge 3.1'de verilmiştir. Çalışmada karıştırma hızı ve süresi tüm çözeltilerde eşit tutulmuş olup, sadece karıştırma sıcaklığı üzerinde değişim gerçekleştirilmiştir. Bunun nedeni katkı maddelerinin çözelti içerisinde iyi bir şekilde dağılmasını sağlamaktır. Polimer ve etken maddelerin çözücü sisteminde tamamen dağılıp çözülmesi için yeterli ısıtma süresi önemlidir [191-194]. Elektroğirme tekniğiyle membran üretimi öncesi çözelti hazırlama parametreleri kapsamında çözücü hacmi: 100 ml, karıştırma hızı: 500 rpm, karıştırma sıcaklığı: 70°C olarak belirlenerek ısıtıcılı manyetik karıştırıcı yardımıyla polimer çözeltileri elde edilmiştir.

Çalışma kapsamında sıcaklık değerindeki değişikliklerin parametreler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Kullanılan polimer ve katkı maddelerinin homojen bir şekilde çözünmesi, nozul ucunda tıkanma oluşmaması açısından önemlidir. PHBV polimeri çözeltisi kapsamında kloroform çözücüsü lif oluşumunu azaltarak, gözenek oranını arttırmaktadır. DMF çözücüsü katılımı ile lif oluşumu artarken, gözenek oranı azalmıştır. Daha sıkı bir lif yapılaşması meydana gelmiştir. Ancak DMF oranı arttıkça membran yapı morfolojisinde lif yüzeylerinde topaklaşma (aglomerasyon) ve lif yapışmaları artmaktadır. Bununla birlikte HFIP çözücüsünün tek başına kullanımı ile nanofiber membran gözenek oranı artarken, lif yapılaşması azalarak baloncuk oluşumu artmıştır. Üretral doku yaralanmalarına yönelik üretilecek doku iskelesini iyileştirme performansı açısından %25 HFIP-%25 DMF-%50 Kloroform çözücü sistemi tüm çalışma boyunca nanofiber membran üretiminde kullanılmıştır. Nanofiber membran üretimi öncesi polimer çözeltisi hazırlama parametre değerleri ve bununla birlikte çözücü sistemi nanofiber yapılanması, dağılımı, boyutları, gözenek oranı üretral onarımda etkili önemli faktörlerdendir [195-198].

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların üretimi öncesi kullanılan farklı polimer çözeltilerine ait parametreler (çözücü hacmi: 100 ml, karıştırma hızı: 500 rpm, karıştırma sıcaklığı: 70°C) Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların üretimi öncesi kullanılan farklı polimer çözeltilerine ait parametreler (çözücü hacmi: 100 ml, karıştırma hızı: 500 rpm, karıştırma sıcaklığı: 70°C).

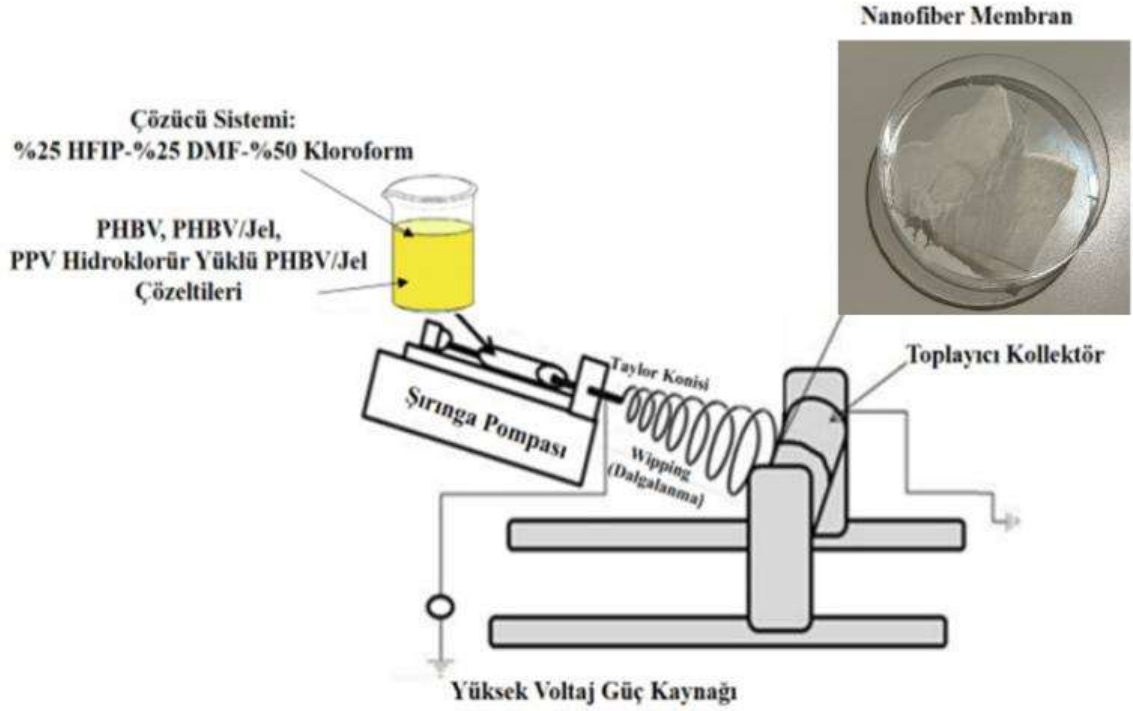
Numune Adı (w/v)	Çözücü Sistemi	Karıştırma (dakika)	Süresi
%5 PHBV	%25 HFIP-%25 DMF-%50 Kloroform	70	
%8 PHBV	%25 HFIP-%25 DMF-%50 Kloroform	70	
%10 PHBV	%25 HFIP-%25 DMF-%50 Kloroform	70	

%13 PHBV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	70
		Kloroform		
%15 PHBV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	70
		Kloroform		
%10 PHBV/%5 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	70
		Kloroform		
%10 PHBV/%10 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	70
		Kloroform		
%10 PHBV/%15 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	70
		Kloroform		
%0.25 (w/v) PPV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	90
hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel		Kloroform		
%0.50 (w/v) PPV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	90
hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel		Kloroform		
%1 (w/v) PPV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	90
hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel		Kloroform		

3.2.2. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membranların Elektroçirime Yöntemiyle Üretilmesi

İnovento marka NS24XP model elektroçirime cihazı kullanılarak nanofiberler, oda sıcaklığında döner kollektöre bağlı yağlı kağıt altlık üzerine püskürtme yöntemiyle elde edilmiştir. Çizelge 3.1’de verilen konsantrasyonlarda hazırlanan PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel çözeltilerin elektroçirime yönteminde her biri ayrı ayrı şırıngalara yüklendikten sonra nanofiber membran üretimleri sağlanmıştır.

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran üretim aşamaları Şekil 3.1.’de verilmiştir.



Şekil 3.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran üretim aşamaları.

Şekil 3.1.'e göre PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran üretimi aşağıdaki işlem sırasıyla gerçekleştirilmiştir:

- Döner kollektör yüzeyine bağlanan altlık malzemeye yağlı kağıt bağlanması,
- Şırıngaya çekilen PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel polimer çözeltisinin bağlantısının yapılması,
- Bağlantı kontrollerinin yapılması,
- Elektroegirme çalışma parametreleri ayarlama (voltaj, besleme hızı, kollektör dönme hızı, çalışma mesafesi),
- Döner kollektör yüzeyine bağlanan altlık malzeme yağlı kağıt üzerine püskürtme işlemi uygulanarak nanofiber membranlar üretiminin sağlanması.

Üretilen membranlar, Binder marka VD115 model vakum etüvünde 24 saat boyunca 50 °C sıcaklıkta kurutma işlemi uygulanmıştır. Membranların yapısından uzaklaşmayan çözücülerin kurutma sonucunda uzaklaştırılması amacıyla bu işlem gerçekleştirilmiştir. Kloroform çözücüsü hızlı buharlaşırken, DMF gibi çözücüler membran yapısında daha uzun süre kalmaktadır [195-201]. Bu amaçla ideal lif

yapılaşması elde edilmesi için %25 HFIP-%25 DMF-%50 Kloroform çözücü sistemi kullanılmıştır.

3.3. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapıların Karakterizasyon Çalışmaları

3.3.1. Viskozite Ölçümü

Elektroeğirme tekniği ile PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran üretimi öncesi polimer çözeltilerinin viskozite akışkanlık (cp) değerleri tespit edilmiştir. Çözeltilerin dinamik viskozitesini ölçmek için Lamy Rheology'nin rotasyonel viskozimetresi RM 100 Plus kullanılmıştır. Metalik bir silindir, 30 ml polimerik çözelti ile doldurulmuştur. '31' tipi bir iş mili çözelti içinde asılı tutulmuş olup, belirli bir hızda döndürülmüştür. Mil üzerine uygulanan ölçülen tork, kesme gerilimine dönüştürülmüş ve viskozite değeri saptanmıştır. Viskozite değerleri olarak centipoise (cP) cinsinden değerler elde edilmiştir. Viskozite ölçümünün amacı elektroeğirme tekniği aşamasında hazırlanan çözeltinin nanofiber oluşturabilme akışkanlığının belirlenmesidir. Çözelti viskozitesi düştüğünde nanofiberler yerine boncuklar (beadler) elde edilirken, viskozite değeri fazla olduğu zaman elektroeğirme aşamasında nozul tıkanmaları, püskürtmeme, elde edilen liflerin mikron seviyede olması, liflerde topaklanma ve kırılmalar meydana gelmektedir [202-203]. Bu amaçla çözeltilerin viskozite ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Malzemelerin morfolojisi ve elektroeğirme kapasitesi üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olan faktörlerin başında, başlangıçtaki polimerik çözeltinin viskozitesi, yüzey gerilimi ve elektriksel iletkenlik gibi fiziksel özellikleri gelmektedir. Bu özelliklerin nanofiber oluşumu üzerindeki etkisi genel olarak kabul edilen bir gerçektir. Çözeltinin viskozitesi, elektroeğirme ile nanofiber üretiminde özellikle önemli bir parametredir [204-211].



Şekil 3.2. LAMY RHEOLOGY RM100 Plus viskozimetre cihazı.

3.3.2. Morfolojik Test

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar altın-paladyum (Au-Pd) malzemesi ile argon (Ar) gazı altında 1.5 dakika püskürtme yöntemi kullanılarak kaplanmıştır. Kaplama işleminin ardından Quanta marka FEI FEG450 model FEGSEM cihazında elektroğirme yöntemiyle üretilen PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların yüzey morfolojileri ve fiber çapları, düşük vakum dedektörü ile 10 kV'lık hızlandırma voltajında 3000x, 6000x ve 12000x büyütmedeki görüntüler incelenmiştir. %5 PHBV ve %8 PHBV membranlarının 50000x büyütmedeki FEGSEM görüntüleri alınmıştır. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların ortalama fiber çapları FEGSEM görüntüleri üzerinden ölçülerek elde edilmiştir. Ayrıca ortalama fiber çaplarının belirlenmesinde Image J yazılımı kullanılmıştır. Böylelikle nanofiber membranların histogram ortalama çap değerleri elde edilmiştir. FEGSEM kullanılmasının nedeni PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran film yapılarının hassas ve ince olmaları sebebiyle elektronların membranlara penetrasyon esnasında degrid ederek yakmalarının engellenmesi, yüksek çözünürlüklü görüntüler alınması ve SEM cihazlarında yer alan yüklenme hatalarının önüne geçilmesidir [204-211]. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel

nanofiber membranların altın-paladyum ile kaplamaya hazırlanması Şekil 3.3.'te verilmiştir.



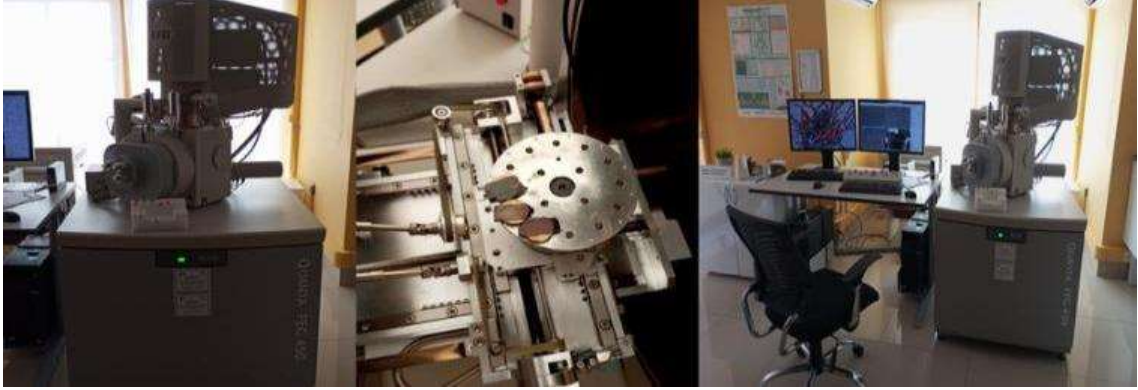
Şekil 3.3. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların altın-paladyum ile kaplamaya hazırlanması.

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların altın-paladyum kaplanma süreci Şekil 3.4.'te verilmiştir.



Şekil 3.4. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların altın-paladyum ile kaplanması.

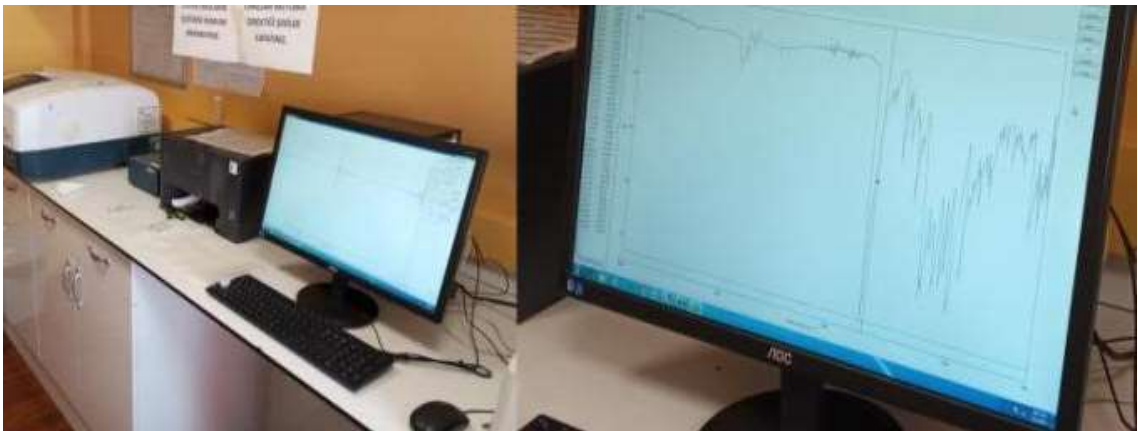
Quanta marka FEI FEG450 model FEGSEM cihazında altın-paladyum ile kaplanmış yapılmış PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların görüntüleri Şekil 3.5.'te verilmiştir.



Şekil 3.5. Quanta marka FEI FEG450 model FEGSEM cihaz görüntüsü ve kaplanmış PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların görüntüsü.

3.3.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

PHBV, jel, PPV hidroklorür ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranın fonksiyonel gruplarının varlığı, JASCO marka 6600 model FTIR analiz cihazında $400-4400\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında belirlenmiştir. Bu işlem sonucunda nanofiber membranlarında PHBV, jel ve PPV hidroklorür maddelerinin ve nanofiber membran yapısındaki maddelerin varlığı belirlenmiştir [201].



Şekil 3.6. FTIR yapısal analiz cihaz görüntüsü.

3.3.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)

PHBV, jel, PPV hidroklorür ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar 2 mg olacak şekilde tartılmıştır. Hitachi marka DSC 7000X model DSC analiz cihazında azot (N₂) gazı atmosferinde 10°C/dk ısıtma hızında -40-(+200) °C sıcaklık aralığında analiz işlemi yapılmıştır. DSC analizi ile PHBV, jel, PPV hidroklorür ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar erime noktası (T_e) ve entalpi (ΔH) değerleri tespit edilmiştir [209-2010].



Şekil 3.7. DSC termal analiz cihaz görüntüsü.

3.3.5. Termal Gravimetrik Analiz (TGA)

PHBV, jel, PPV hidroklorür ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar 1-7 mg olacak şekilde tartılmıştır. Hitachi marka STA 7200 model TGA analiz cihazında azot (N₂) gazı atmosferinde 10°C/dk ısıtma hızında 30-900 °C sıcaklık aralığında analiz işlemi gerçekleştirilmiştir [211-218].



Şekil 3.8. TGA analiz cihaz görüntüsü.

3.3.6. Mekanik Test

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların mekanik özellikleri (Membran Kalınlığı, Gerilim Kuvveti, Maksimum Uzama) ASTM D882-10 standartlarındaki çekme test işlemi DEVOTRANS marka DVT UZM K3 model çekme-basma test cihazında gerçekleştirilmiştir. Numunelere 500 N yük altında 5 mm²/dk. çekme hızı, 10 mm çene aralığı ayarlanarak mekanik özellikleri saptanmıştır. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar, 1x4 cm boyutunda DEVOTRANS marka DVT model kesme cihazında hazırlanmıştır [202-204]. Buna göre ASTM E4 standartlarına göre nanofiber membranlar 1x4 cm boyutunda kesilen nanofiber membranlar uç kısımlarından alt ve üst çeneye bağlanarak çekme test cihazının tutma birimlerine monte edilmiş ve 5 mm²/dk. Çekme hızı ile çalışılmıştır. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar 3'er kez mekanik test işlemine tabi tutularak aritmetik ortalamaları alınmıştır. 10 Newtonluk çekme test cihazı ve PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların mekanik test işlemine hazırlandığı kesme cihazı Şekil 3.9.'da gösterilmektedir.



Şekil 3.9. 10 Newtonluk çekme test cihazı ve PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların mekanik test işlemine hazırlandığı kesme cihazı.

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların nanofiber membranların kesme cihazındaki çeneler arasında görüntüsü Şekil 3.10.'da verilmiştir.



Şekil 3.10. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların çekme test cihazının çeneleri arasında bağlanma görüntüsü.

3.3.7. *In Vitro* PPV hidroklorür Salım Çalışmaları

PPV hidroklorürün nanofiber membran yapılardan salım profillerinin belirlenmesi amacıyla PPV hidroklorür PBS tamponu içerisinde farklı derişimlerde çözülmüş ve UVspektrofotometre kullanılarak 252 nm dalga boyunda bu çözeltilerin absorbansları ölçülerek standart kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Bütün çalışmalar $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de ve pH 7.4 ± 0.1 'de gerçekleştirilmiştir. PPV hidroklorürün nanofiber membran yapılardan *in vitro* etken madde salım profilinin tayini amacıyla numuneler 1x1 cm kesilerek deney tüplerine ilave edilmiştir. Nanofiber membranlar pH'ı 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 alınmış ve eppendorf tüplerine eklenmiştir. Sonrasında deney tüpüne 1.5 mL taze PBS eklenmiştir. UV-spektrofotometre kullanılarak 252 nm dalga boyunda numunelere ait absorbanslar kaydedilmiş ve kalibrasyon grafiği kullanılarak *in vitro* ilaç salım profili çıkarılmıştır. *In Vitro* PPV hidroklorür salım çalışmaları Jasco marka V-750 model *In vitro* Spektrofotometre kullanılarak yapılmış ve kümülatif salım yüzdeleri çıkarılmıştır [212-217].

3.3.8. Temas Açısı (Islanabilirlik) Testi

% 10 PHBV, % 10 PHBV/%5 Jel ve %0.25, %0.50, %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların temas açıları temas açısı analiz cihazı (KSV CAM-200 Instrument, Finlandiya) kullanılarak ölçülmüştür. Numuneler (2 x 2 cm) kesilerek test plakasına yerleştirilmiştir. Tüm analizlerde distile su damlaları (5 µL) kullanılmıştır. Ölçümler maddelerin beş noktasından test edilmiş ve ortalama değer rapor edilmiştir [200]. Temas açısı (ıslanabilirlik) test cihazı ve yazılım görüntüsü Şekil 3.11.'de yer almaktadır.



Şekil 3.11. Temas açısı (ıslanabilirlik) test cihazı ve yazılım görüntüsü.

3.3.9. *In Vitro* Biyodegradasyon Çalışmaları

% 10 PHBV, % 10 PHBV/% 5 Jel ve % 0.25, % 0.50, % 1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü % 10 PHBV/% 5 Jel nanofiber membranlar 2x2 cm boyutlarında kesilerek hazırlanmıştır. Kesim işleminden sonra membranlar, 24 saat boyunca 50°C'de vakum altında kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutma işlemi sonrasında membranlar hassas terazi ile tartılmıştır. Membranların başlangıç kuru ağırlıkları (W_i), yaklaşık olarak 10 mg olarak ölçülmüştür. Her bir nanofiber membran, 3 mg lizozim (104 unit/mL) içeren ve 10 mL PBS (pH 7.4, 0.1M) içeren deney tüplerine daldırılarak 37°C'de inkübe edilmiştir. 24 saatlik periyotlarla inkübasyon sonrası degradasyon ortamından alınan numuneler distile su ile yıkanmış ve daha sonra 1.5 saat boyunca etüvde kurutulmuştur. Degradasyon sonrası kuru ağırlıkları (W_f) ölçülmüştür. Numunelerin degradasyon profilleri, % WL (% Weight Loss) değerleri kullanılarak 15 gün boyunca yapılan kütle azalımı ölçümleri ile elde edilmiştir. %WL hesaplamasında kullanılan eşitlikte, W_i numunenin degradasyon öncesi kuru ağırlığını, W_f ise degradasyon sonrası kuru ağırlığını ifade etmektedir [218-219].

$$\%WL = (W_i - W_f) / W_i \times 100 \text{ (Eşitlik 1)}$$

Eşitlik 1' de verilen formül kullanılarak nanofiber membranların kütle azalimleri elde edilmiştir.

3.4. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapıların Hücre Kültürü Çalışmaları

MTT testi, hücre canlılığının değerlendirilmesinde kullanılan bir kolorimetrik yöntemdir. Bu yöntem, metabolik olarak aktif hücrelerin mitokondrilerinde bulunan dehidrogenaz enzimleri aracılığıyla sarı renkli tetrazolium tuzunu (3-(4,5-Dimetil-2-tiyazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolium bromür), suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine indirgemektedir. MTT analizi sonrasında oluşan formazan kristallerinin yoğunluğu, ortamdaki canlı hücre sayısı ile doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle, *in vitro* sitotoksitesite ve hücre tutunması ve proliferasyonu çalışmalarında hücre canlılığını belirlemede bu yöntem yaygın olarak kullanılmıştır [226-228].

3.4.1. *In Vitro* Sitotoksitesite Testi (MTT)

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların *in vitro* sitotoksitesite çalışmaları, ISO10993-5 standartlarına uygun olarak MTT testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, L929 fare fibroblast hücre hattı kullanılarak 24 ve 96 kuyucuklu doku kültürü polistiren plakaları (TCPS) tercih edilmiştir. Tıbbi amaçlar için tasarlanan polimerik malzemelerin sitotoksitesiteleri, genellikle degradasyon ürünlerinin etkilerinden kaynaklandığından, malzemelerin ekstraktları *in vitro* sitotoksitesite değerlendirilmesi bakımından kullanılmıştır. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar, 1x1 cm boyutlarında kesilerek hazırlanmış ve daha sonra UV ışığına maruz bırakılarak sterilize edilmiştir. Malzeme ekstraktlarını elde etmek amacıyla, kesilen membranlar 24 kuyucuklu plakalara yerleştirilmiş ve her kuyucuğa 6 mL/1cm² DMEM orta (%10 FBS, %1 L-glutamin, %1 antibiyotik (Penisilin/Streptomisin)) eklenerek 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. *In vitro* sitotoksitesite çalışması için 1X10⁴/kuyucuk L929 fare fibroblast hücreleri, 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve 37°C'de ve %5 CO₂ ile nemlendirilmiş bir ortamda DMEM ortamı (%10 FBS, %1 L-glutamin ve % 1 antibiyotik (Penisilin/Streptomisin)) ile 24 saat boyunca kültür çalışmaları sürdürülmüştür. Kültür süresinin sonunda, kuyucuklardan ortam alınarak, her kuyucuğa örneklerin 3 gün boyunca içinde bekletildiği ekstraksiyon ortamı ilave edilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından, ortam kuyucuklardan uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa 100µL taze DMEM ortamı ile 50 µL MTT çözeltisi eklenmiştir. 96 kuyucuklu doku kültürü polistiren plakaları, karanlık bir ortamda 4 saat

boyunca inkübe edilmiştir (37°C, %5 CO₂). Bu sürenin sonunda, plakadaki ortam atılarak, her kuyucuğa 100µL 0.1N HCl-izopropanol çözeltisi eklenmiş ve plaka 30 dakika karanlık bir ortamda beklemeye alınmıştır. Daha sonra, çözelti pipetleterek ve yeni bir 96 kuyucuklu plakaya aktarılmıştır. Son olarak, ELISA Mikroplaka Okuyucu yardımıyla 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüş ve hücre canlılığı yüzdesi çıkarılmıştır.

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 çoğaltma işlemi uygulanmıştır [220-225].

3.4.2.2. Nanofiber-Hücre Etkileşiminin İncelenmesi

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar, 1x1 cm boyutlarında kesilmiştir. Hücre ekimi öncesi, membranlar 20 dakika boyunca UV ışığına maruz bırakılarak sterilize edilmiştir. Daha sonra, membranlar 12 kuyucuklu doku kültürü polistiren plakalarında 3 kez PBS çözeltisi ile yıkanmıştır. PBS ile yıkama işleminden sonra, her bir numuneye 1x10⁵ L929 fare fibroblast hücresi (1x10⁵ /kuyucuk) eklenmiş ve bu kuyucuklara taze DMEM ortamı (%10 FBS, %1 L-glutamin ve %1 antibiyotik (Penicillin/Streptomisin) ile desteklenmiştir. Bu ortam her iki günde bir değiştirilerek, 2 hafta boyunca sürekli olarak beslenmiştir. Numuneler üzerindeki hücre proliferasyonu, 7. ve 14. günlerde MTT yöntemiyle değerlendirilmiştir. 7. ve 14. günlerde, numuneler PBS çözeltisi ile yıkanarak yapışmamış hücreler uzaklaştırılmıştır. Ardından, her bir numunenin üzerine 100 µL MTT çözeltisi eklenmiştir. MTT çözeltisiyle 4 saat boyunca inkübasyon sonrasında, ortamdaki sıvı alınarak her bir ortama 1 mL izopropanol-HCl çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra, bu çözeltilerden 100 µL alınarak 96 kuyucuklu plakalara transfer edilmiştir. ELISA Mikroplaka Okuyucu kullanılarak 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların hücre tutunması, FEGSEM ile incelenmiştir. 7. ve 14.

-

gün sonrasında, vasatlardan alınan numuneler PBS ile yıkandıktan sonra %2.5 (v/v) gluteraldehit çözeltisinde 30 dakika boyunca fikse edilmiştir. Daha sonra, PBS ile tekrar yıkanan numuneler, sıralı alkol çözeltilerinde (%25, 30, 50, 70, 90, 96, 100 etanol) 10 dakika bekletilerek dehidre işlemine tabi tutulmuştur. Ardından, numunelerin yüzeyine 1 damla Hekzametildisiloksan (HMDS) damlatılarak fiksasyon işlemi tamamlanmıştır. Numuneler, FEGSEM analizi için +4°C'de saklanmıştır. FEGSEM analizi öncesinde numuneler altın paladyum ile kaplanmış ve morfolojik görüntüleme yapılmıştır [226-228].

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapıların Elektrostatik Eğirme Parametreleri

Elektroeğirme yöntemi ile farklı formülasyonlar ve değişen elektroeğirme parametrelerine ait değerler (Çizelge 4.1.) kullanılarak üretilen PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar, Alan Emisyon Tabancalı Taramalı Elektron Mikroskobu (FEGSEM) yardımıyla morfolojik analiz olarak incelenmiştir. %5, %8, %10, %13 ve %15 (w/v) PHBV ile %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür konsantrasyonlarında hazırlanan PHBV/Jel nanofiber yapılardan en iyi morfolojiye sahip numuneler seçilerek, bu numunelerin FEGSEM morfolojik 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)
- **Jelatin çözelti konsantrasyonu:** %5 (w/v)
- **PPV hidroklorür konsantrasyonu:** %0.25, %0.50, %1 (w/v)
- **Akış hızı:** 3.0 mL/dk
- **Şırınga iğnesi iç çapı:** 0.4 mm
- **Voltaj:** 30 kV
- **Çalışma mesafesi:** 15 cm
- **Döner kollektör dönme hızı:** 1000 rpm
- **Çözücü:** %25 HFIP-%25 DMF-%50 Kloroform
- **Çözelti karıştırma süresi:** 90 dakika

Çizelge 4.1. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların fiber morfolojileri (Şırınga pompası besleme debisi 3.0 ml/saat, voltaj değeri 30.0 kV, kollektör dönme hızı 1000 rpm ve çalışma mesafesi 15 cm).

Numune Adı (w/v)	Çözücü Sistemi			Fiber Morfolojisi
%5 PHBV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Partikül oluşumu
	Kloroform			
%8 PHBV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Partikül oluşumu
	Kloroform			
%10 PHBV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Fiber oluşumu
	Kloroform			
%13 PHBV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Kırıklı, kalın ve aglomera fiber oluşumu
	Kloroform			
%15 PHBV	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Kırıklı, kalın ve aglomera fiber oluşumu
	Kloroform			
%10 PHBV/%5 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Fiber oluşumu
	Kloroform			
%10 PHBV/%10 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Kırıklı, kalın ve aglomera fiber oluşumu
	Kloroform			
%10 PHBV/%15 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Kırıklı, kalın ve aglomera fiber oluşumu
	Kloroform			
%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/%5 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Fiber oluşumu
	%10	Kloroform		
%0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/%5 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Kırıklı, kalın ve aglomera fiber oluşumu
	%10	Kloroform		
%1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	%25	HFIP-%25	DMF-%50	Kırıklı, kalın ve aglomera fiber oluşumu
	Kloroform			

Çizelge 4.1.'de PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların fiber morfolojileri (Şırınga pompası besleme debisi 3.0 ml/saat, voltaj

değeri 30.0 kV, kollektör dönme hızı 1000 rpm ve çalışma mesafesi 15 cm) yer almaktadır.

Elektroegirme tekniğı ile besleme hızı ve voltaj değerleri sabit tutularak sadece çalışma mesafeleri 10.0 ve 15.0 cm olarak değiştirilmiştir. Böylelikle fiber oluşumu ve fiber çap dağılımlarının yorumlanmasına katkı sağlanmıştır. Çalışma mesafesinin değiştirilmesi sonucunda fiber oluşumu ve fiber çap dağılımı farklılaşmaktadır. Döner kollektör ile nozul ucu arasındaki mesafe çok yakın olduğunda membran oluşumunda ıslanma gözlemlenirken, mesafenin çok uzak olması durumunda püskürtme işlemi döner kollektör yüzeyinde değil, sağ ve sol kabin çeperlerinde gerçekleşmektedir. Bu nedenle, nanofiber üretiminde ideal çalışma mesafesi önemli bir faktördür [195-198].

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar, belirli elektroegirme parametreleri kullanılarak hazırlanmıştır. Bu parametreler; şırınga pompası besleme debisi 3.0 ml/saat, voltaj değeri 30.0 kV, kollektör dönme hızı 1000 rpm ve çalışma mesafesi 15 cm olarak belirlenmiştir.

Elektroegirme tekniğıyle membran üretiminde çalışma mesafesi 10 ve 15 cm olarak ayarlanmıştır. Ancak ince lif yapılanması ve ideal gözenek oranı bakımından çalışma mesafesi parametre seçim optimum değeri 15 cm olarak uygulanmıştır.

4.2. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapılarının Karakterizasyon Çalışmaları

4.2.1. Viskozite Ölçümü

Elektroegirme ile üretilen PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların viskozite ölçüm sonuçları Çizelge 4.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların üretimi öncesi polimer çözeltilerinin viskozite ölçüm değerleri.

Numune Adı (w/v)	Viskozite (Centipoise (cP))
% 10 PHBV	553,4± 4,8
% 10 PHBV/%5 Jel	475,6± 7,6

%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	412,6± 3,2
%0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	394,8± 6,7
%1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	355,9± 1,1

Çizelge 4.2.'de polimer çözeltilerinin viskozite akışkanlık test sonuç değerleri yer almaktadır. 553,4± 4,8 cP değeri %10 PHBV çözeltisinde elde edilirken, %5 Jel katkısı ile çözelti viskozite değeri düşmüştür. 475,6± 7,6 cP değeri %5 Jel katkısı ile elde edilmiştir [229-231]. Bununla birlikte PPV hidroklorür etken madde oranı arttıkça çözelti viskozitesi giderek düşmüştür. Jel katkısı yumuşatıcı plastikleştirici etki yaratarak polimer çözeltisinin direncini kırmakta, bununla birlikte PPV hidroklorür etken madde oranı artışı ile çözelti akışkanlık direnci azalmıştır. Çözelti yapısındaki yumuşama ve seyreltik sulu form kazanımı çözelti viskozitesinin düşmesini sağlamıştır. Bu durumda fiber çaplarının azalmasını sağlamıştır. Ancak %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklendikçe %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran viskozite değerleri azalmıştır. Bu durumun sonucu olarak üretilen membranlarda fiber çaplarının azalmasına, aglomerasyona ve fiber kırılmalarına neden olunacaktır. Jel katkısı PHBV çözeltisini yumuşatarak daha akışkan olmasını sağlamıştır. Bu durumda viskozitenin düşmesine neden olmuştur. Bununla birlikte PPV hidroklorür katkısı sonucunda ve katkı oranının artması ile çözelti viskozite değerleri azalmıştır. Jel ve PPV hidroklorür polimer ve etken maddeleri yumuşatıcı özellik sağlayarak çözelti viskozitesini düşürmektedir. Polimer ve etken madde katılımı PHBV polimerinin sertliğini kırarak yumuşatmaktadır. PHBV kristal polimer yapısına jel ve PPV hidroklorür ilavesi ile kristal yapılar yumuşatılarak saf PHBV'nin sahip olduğu viskozite değeri azaltılmıştır. Katkı oranı ve katkı tipine göre çözelti viskozitesi düşürülebilmektedir. Viskozite düşüşü ile birlikte nanofiber elde edilmesi zorlaşmaktadır. Bu sebeple uygun viskoziteyi yakalamak lif oluşumunda önemlidir [229-234].

4.2.2. Morfolojik Analiz

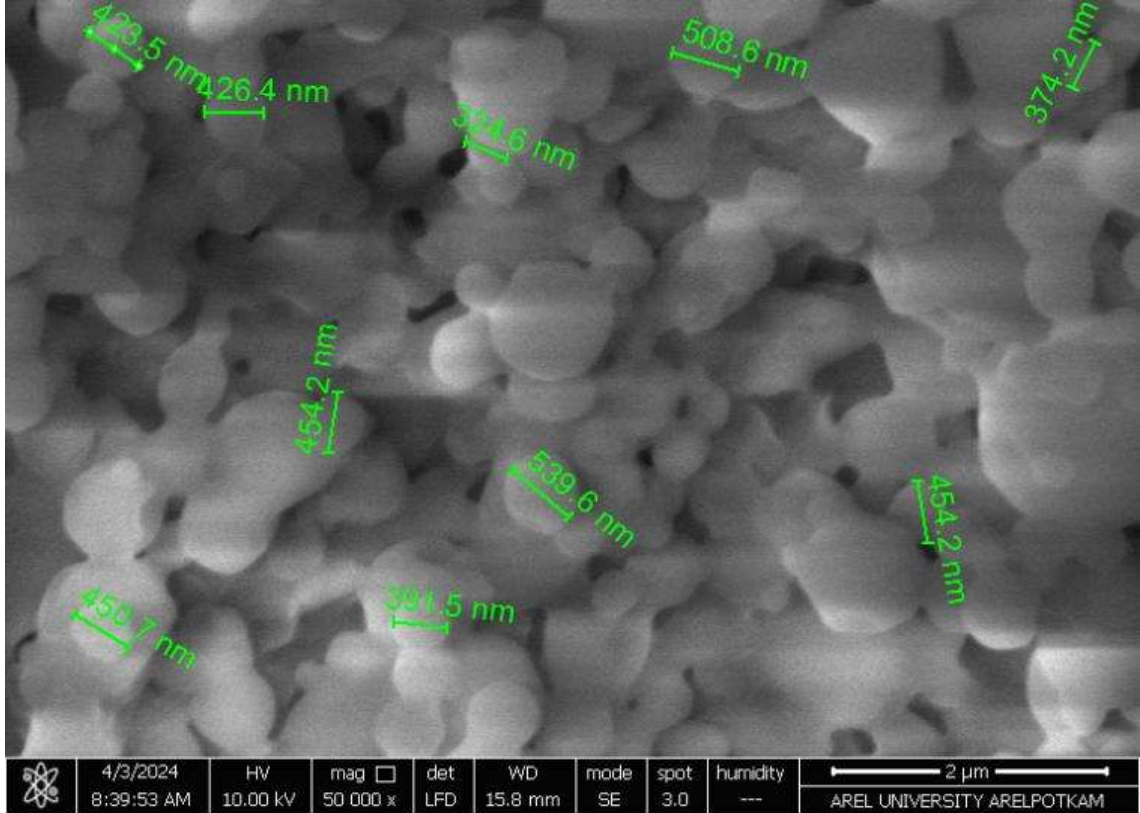
Elektroegirme tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklenen PHBV/jel nanofiber membranların minimum, maksimum ve ortalama çap değerleri izelge 4.3.'de yer almaktadır.

Çizelge 4.3. Elektroegirme tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklenen PHBV/jel nanofiber membranların çap analizi.

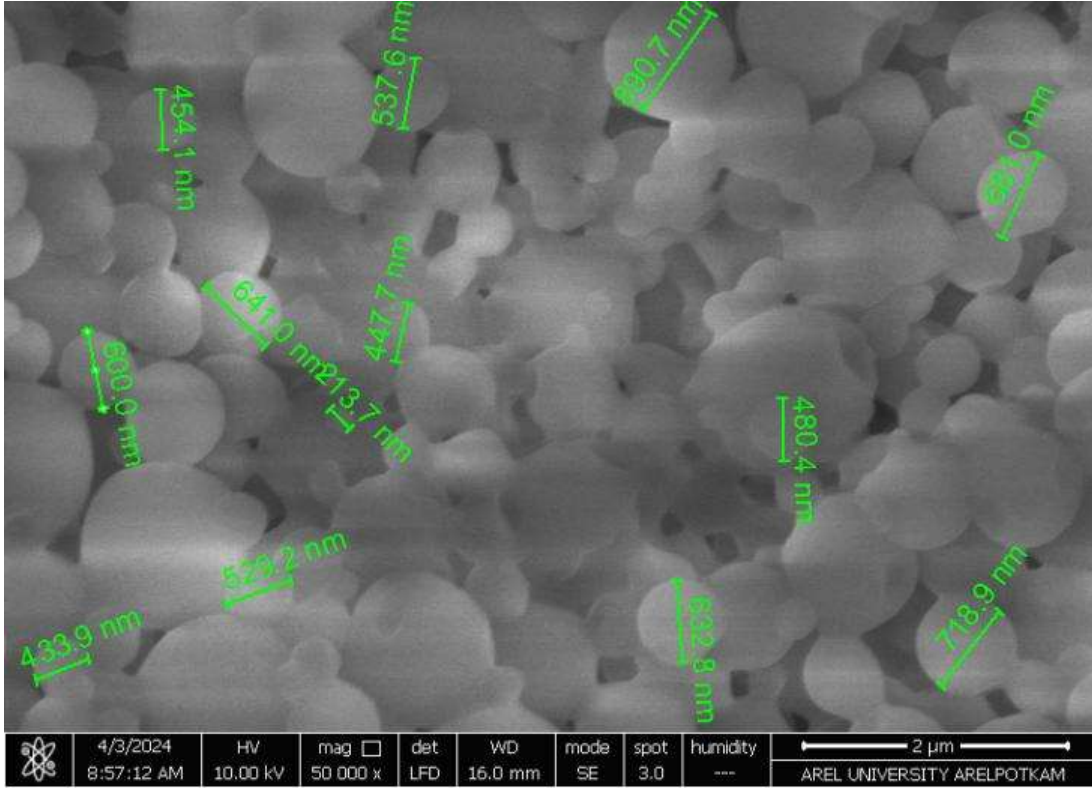
Numune Adı (w/v)	Minimum Lif/Partikül apı (nm)	Ortalama Lif/Partikül apı (nm)	Maksimum Lif/Partikül apı (nm)
%5 PHBV	374.2	558.53	539.6
%8 PHBV	213.7	558.53	890.7
%10 PHBV	159.0	399.54	639.1
%13 PHBV	212.1	789.15	2.383
%15 PHBV	295.7	1.561	3.658
%10 PHBV/%5 Jel	242.1	517.57	1.247
%10 PHBV/%10 Jel	676.4	748.23	1.459
%10 PHBV/%15 Jel	351.2	800.44	927.0
%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	225.16	368.65	763.7
%0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	293.1	478.23	786.9
%1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	163.7	497.85	1.339

Çizelge 4.3.'ye göre PPV hidroklorür oranı membran yapısında arttıkça fiberlerde kırılma, fiber kalınlaşmaları ve partikül formunda aglomerasyon meydana gelmiştir. Morfolojik açıdan en ince lif yapılaşması ve lif yönlenmesi %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membranında olduğu belirlenmiştir. 368.65 nm ortalama çap değeri elde edilmiştir.

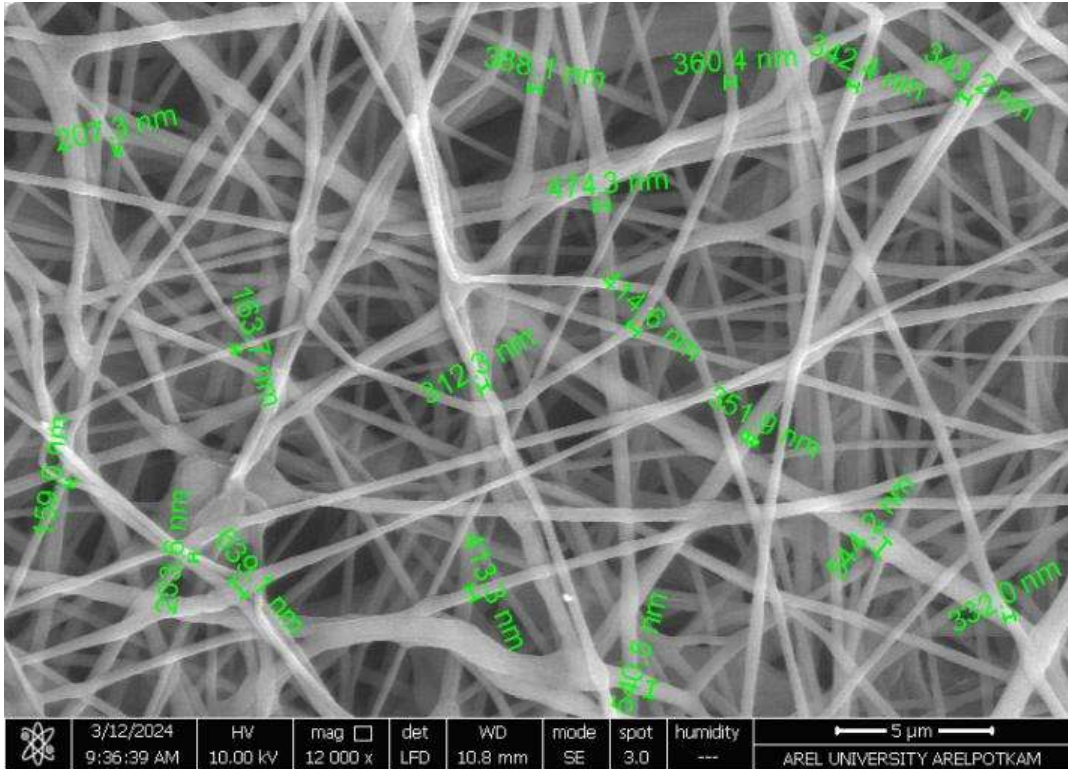
Altın-paladyum ile kaplanmış FEGSEM görüntüleri Şekil 4.1.- Şekil 4.11.'de verilmiştir.



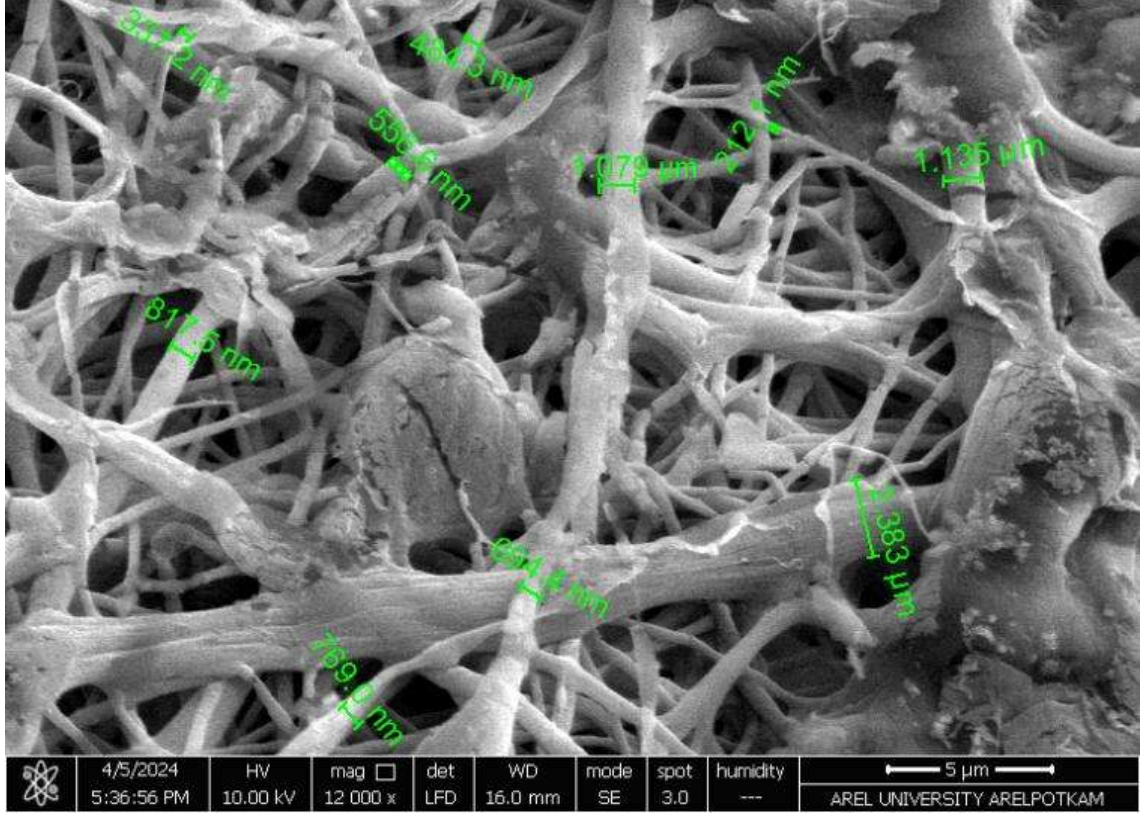
Şekil 4.1. %5 PHBV membran 50000X çap ölçümlü ve baloncuk tipinde partikül gösterimli FEGSEM görüntüsü.



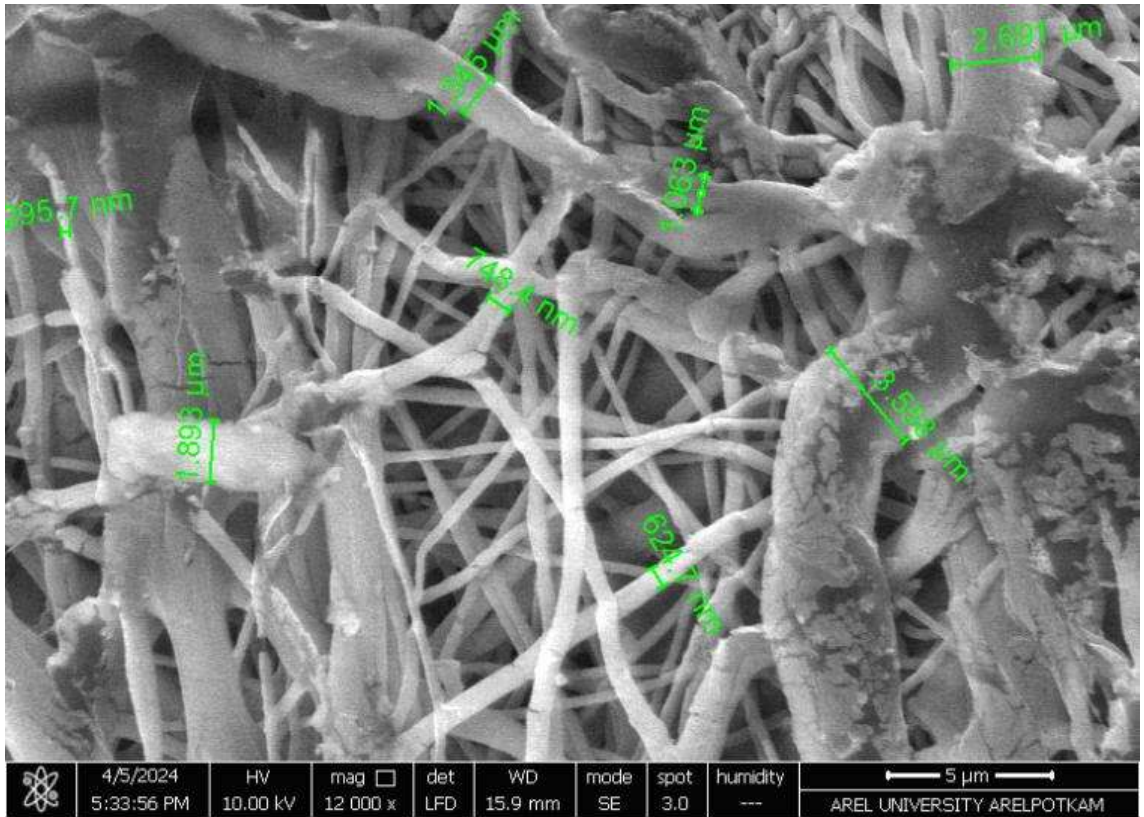
Şekil 4.2. %8 PHBV membran 50000X çap ölçümlü ve baloncuk tipinde partikül gösterimli FEGSEM görüntüsü.



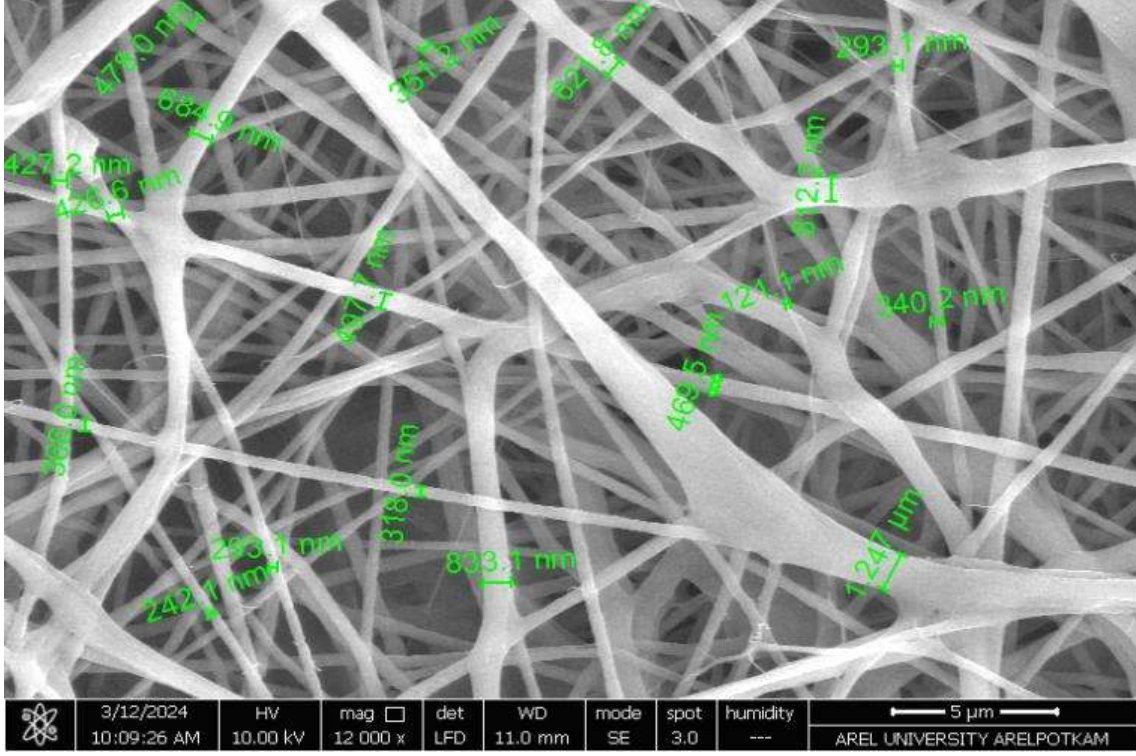
Şekil 4.3. %10 PHBV membran 12000X çap ölçümlü ve boncuk fiber FEGSEM görüntüsü.



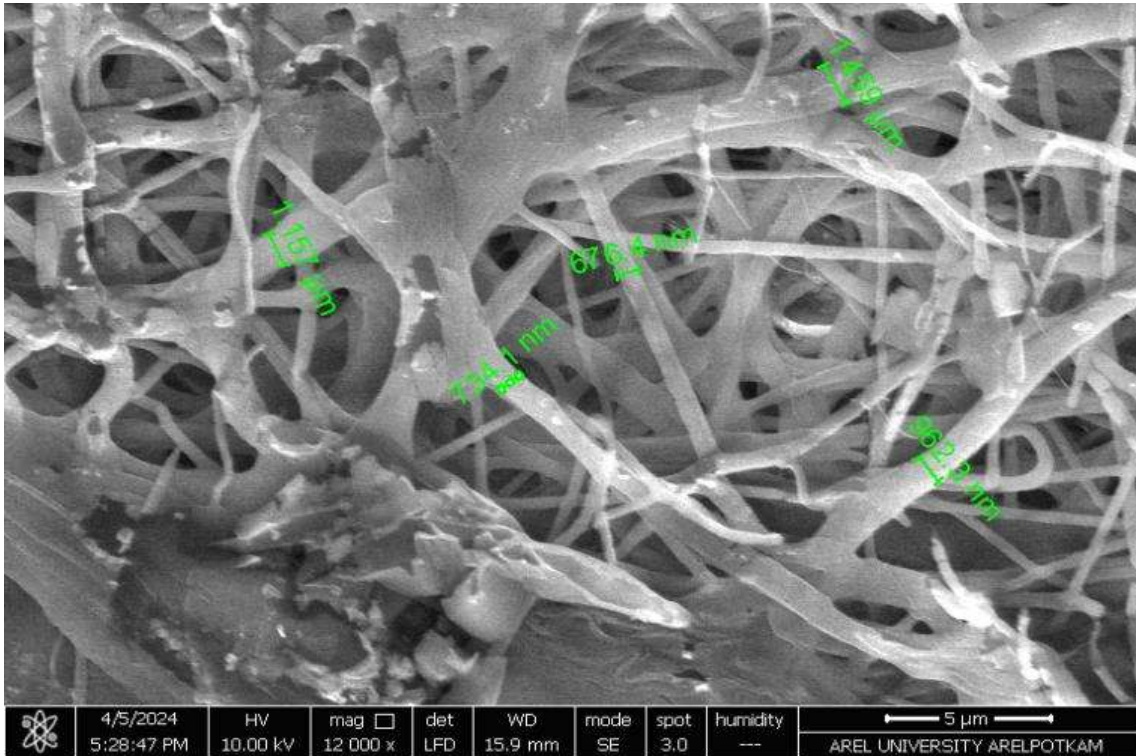
Şekil 4.4. %13 PHBV membran 12000X çap ölçümlü FEGSEM görüntüsü.



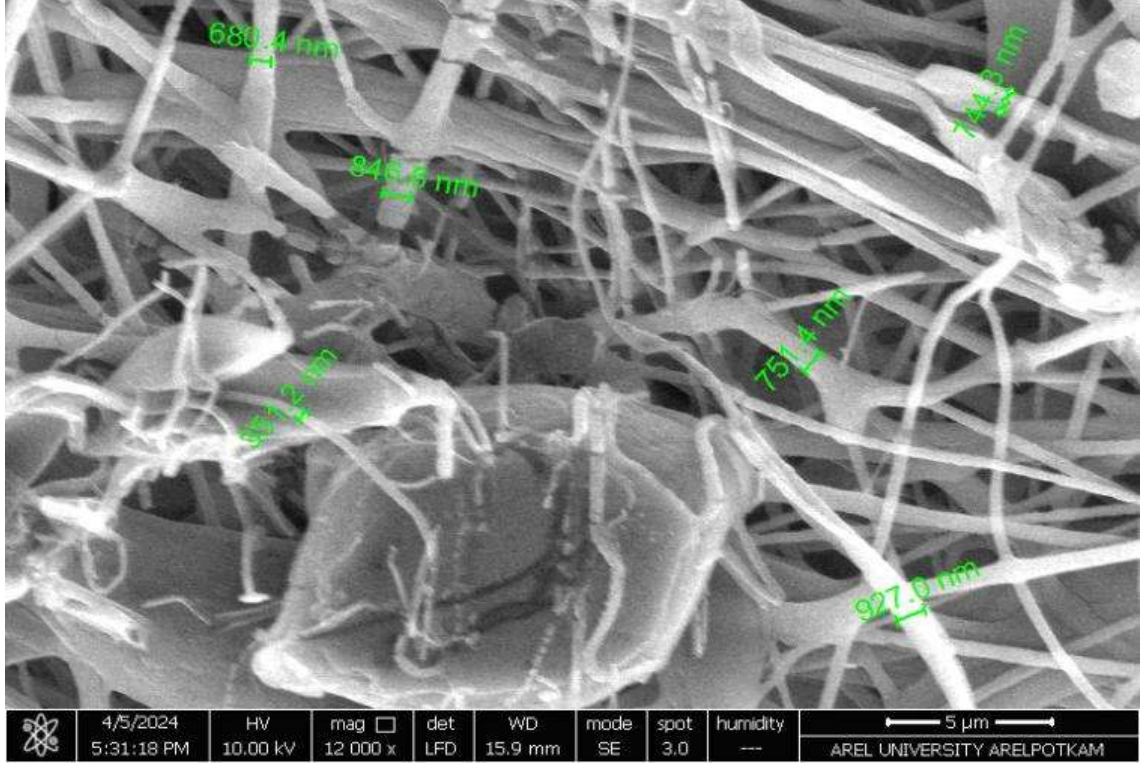
Şekil 4.5. %15 PHBV membran 12000X çap ölçümlü FEGSEM görüntüsü.



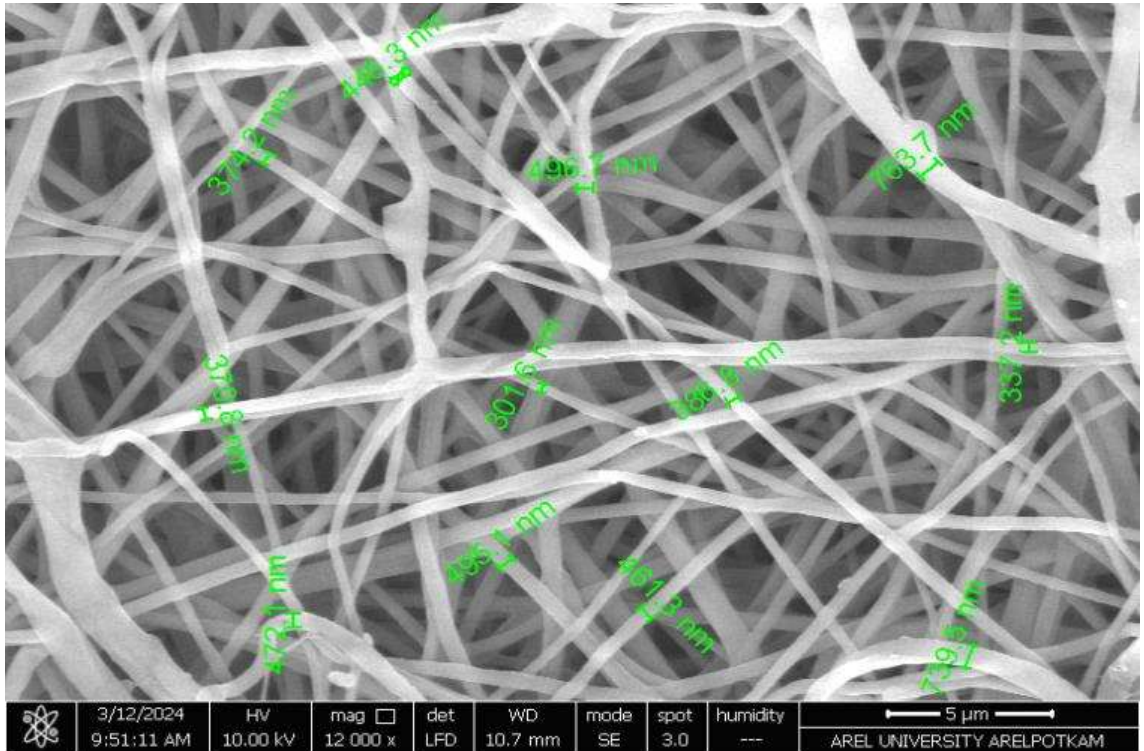
Şekil 4.6. %10 PHBV/%5 Jel membran 12000X çap ölçümlü ve boncuk fiber FEGSEM görüntüsü.



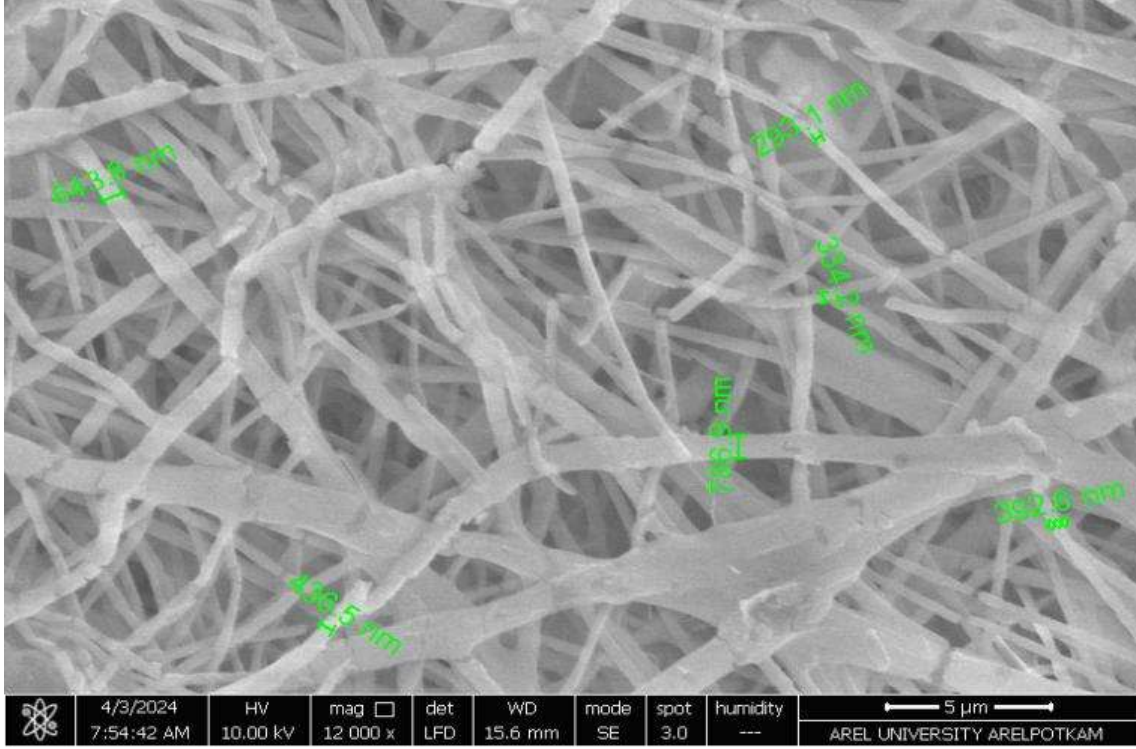
Şekil 4.7. %10 PHBV/%10 Jel membran 12000X çap ölçümlü, kırık fiber ve parçacıklı yapı FEGSEM görüntüsü.



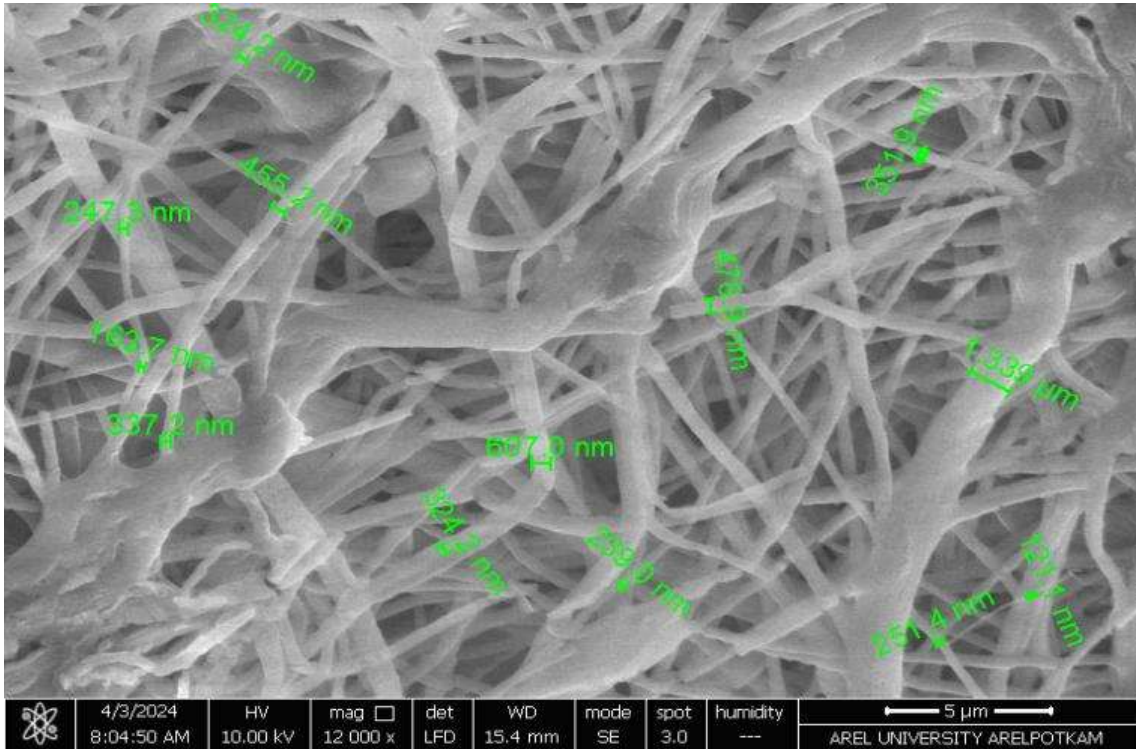
Şekil 4.8. %10 PHBV/%15 Jel membran 12000X çap ölçümlü, kırık fiber ve parçacıklı yapı FEGSEM görüntüsü.



Şekil 4.9. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran 12000X çap ölçümlü, yönlenmiş fiber FEGSEM görüntüsü.



Şekil 4.10. %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran 12000X çap ölçümlü, kırık ve kalın fiber FEGSEM görüntüsü.



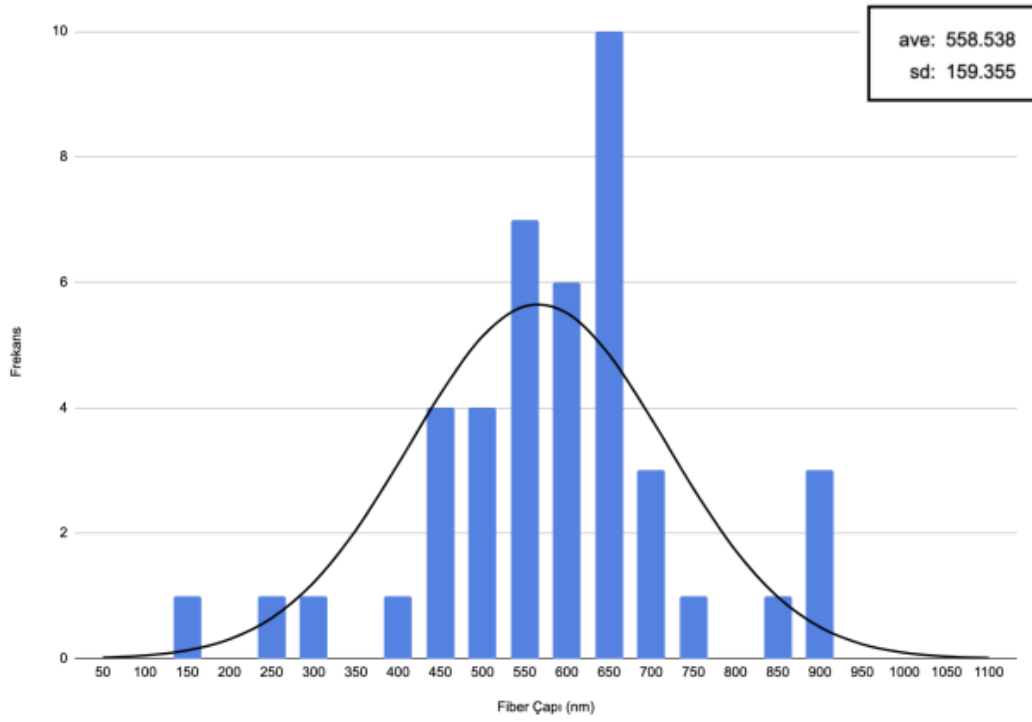
Şekil 4.11. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran 12000X çap ölçümlü, kırık ve kalın fiber FEGSEM görüntüsü.

-

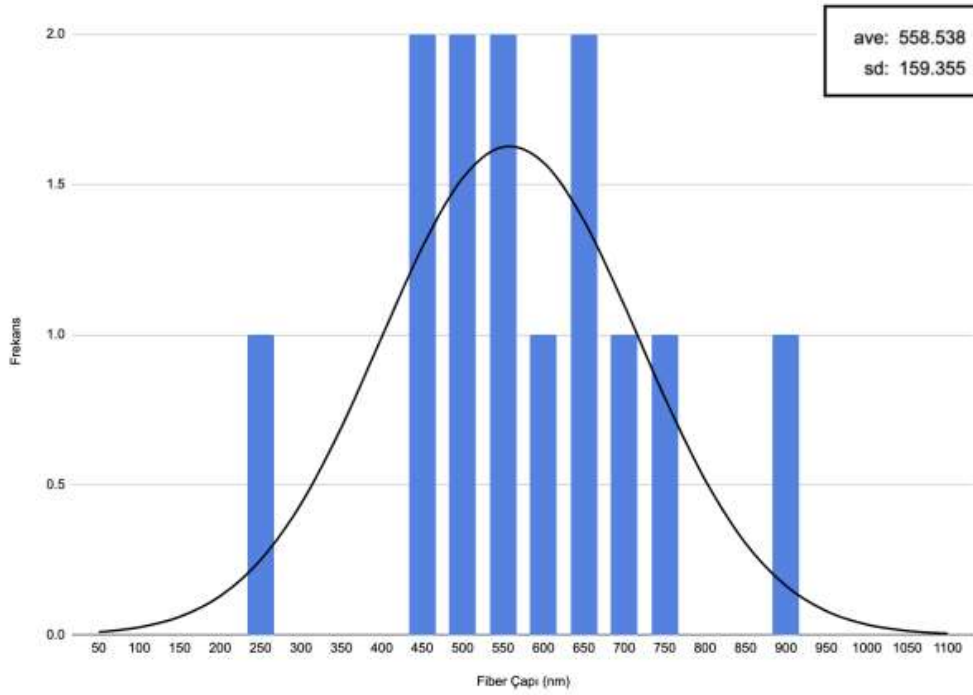
Şekil 4.1.-Şekil 4.11 arasında yer alan nanofiber membranların farklı büyütmelelerdeki FEGSEM görüntüleri ve Çizelge 4.2.'de yer alan membran fiber çap dağılımları incelendiğinde çözelti viskozitesinin fiber elde edilmesindeki önemi ortaya çıkmaktadır. Buna göre, %5 PHBV ve %8 PHBV numunelerinde partikül oluşumu gözlemlenirken, %10 PHBV'de fiber oluşumu gerçekleşmiştir. %13 ve %15 PHBV yüklü numunelerde ise kırıklı, kalın ve aglomere fiber oluşumu saptanmıştır. %10 PHBV/%5 Jel numunesinde fiber oluşumu gözlemlenirken, %10 ve %15 Jel katkılı numunelerde kırıklı, kalın ve aglomere fiber oluşumu tespit edilmiştir. Ayrıca, %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel numunesinde ince lif yapılanması gözlemlenirken, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklendiğinde kırıklı, kalın ve aglomere fiber oluşumu artmış ve fiber oluşum sayısı azalmıştır. Bu sonuçlar, literatürde belirtilen çözelti parametreleri ile elektroğirme parametrelerinin fiber çaplarına ve morfolojilerine olan etkileriyle uyum göstermektedir [195-198].

4.2.2.1. Nanofiber Membran Boy-Boy Dağılımı

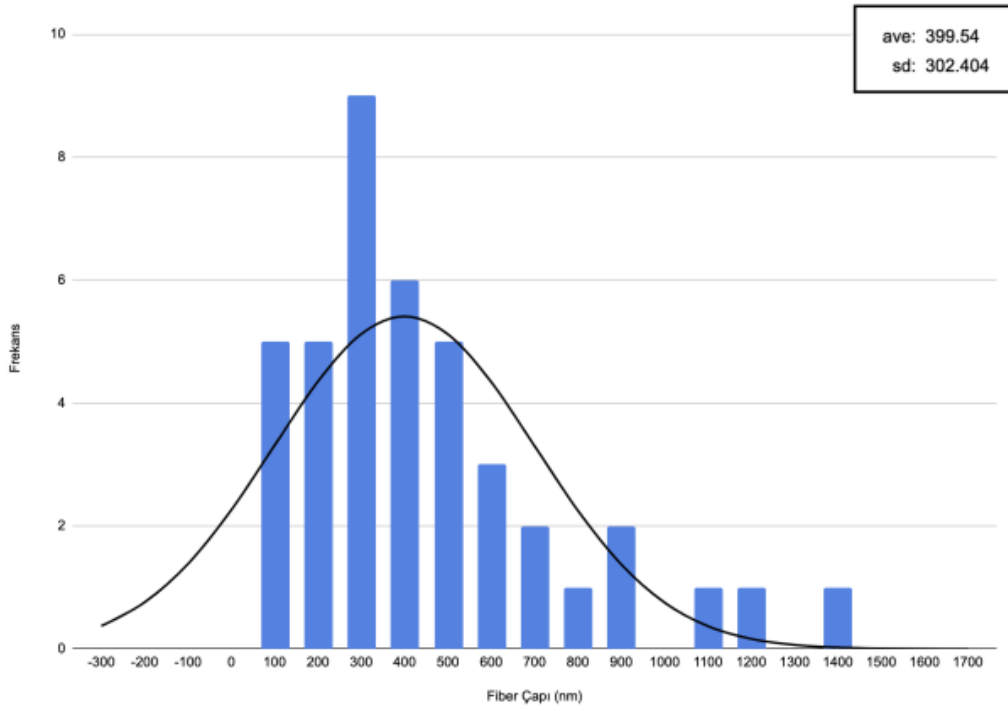
Nanofiber membranların boy-boy dağılımının detaylı analizi, farklı polimer konsantrasyonları içeren numuneler üzerinde oluşturulan histogram grafikleri aracılığıyla yürütülmüştür. Araştırma kapsamında incelenen numuneler; %5, %8, %10, %13 ve %15 PHBV içerikli çözeltiler ile %10 PHBV'nin %5, %10 ve %15 oranında Jel ile kombinasyonlarından oluşmaktadır. İlâveten, %10 PHBV ve %5 Jel içeren nanofiber membranlara, değişen konsantrasyonlarda (%0.25, %0.50 ve %1 w/v) PPV hidroklorür yüklemesi yapılmış ve bu yapıların boy ve çap dağılımları histogramlar ile analiz edilmiştir. Histogramlar, nanofiberlerin çap dağılımındaki varyansları ve tipik boyut özelliklerini belirgin bir şekilde göstermektedir. Çap ölçümleri, alan taramalı elektron mikroskobu (FEGSEM) görüntüleri üzerinden gerçekleştirilmiş ve Image J yazılımı kullanılarak elde edilen histogramlar ortalama çap değerleri Şekil 4.12-Şekil 4.22.'de verilmiştir.



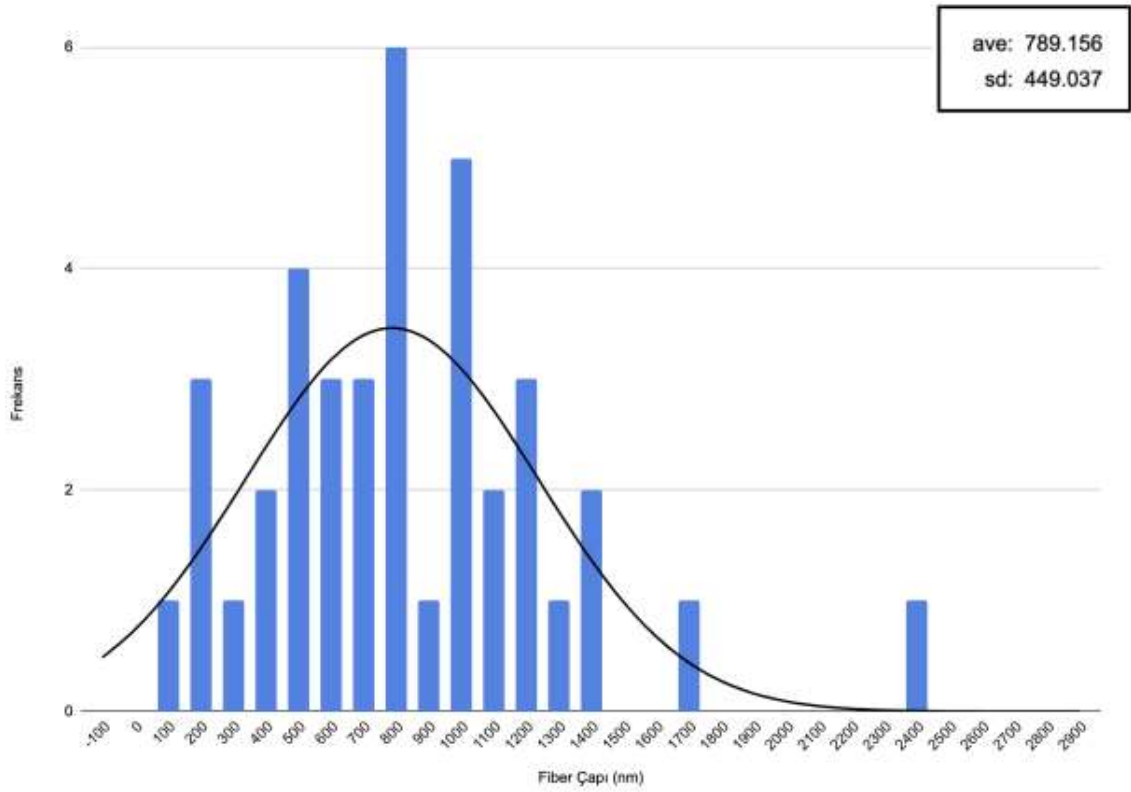
Şekil 4.12. %5 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.



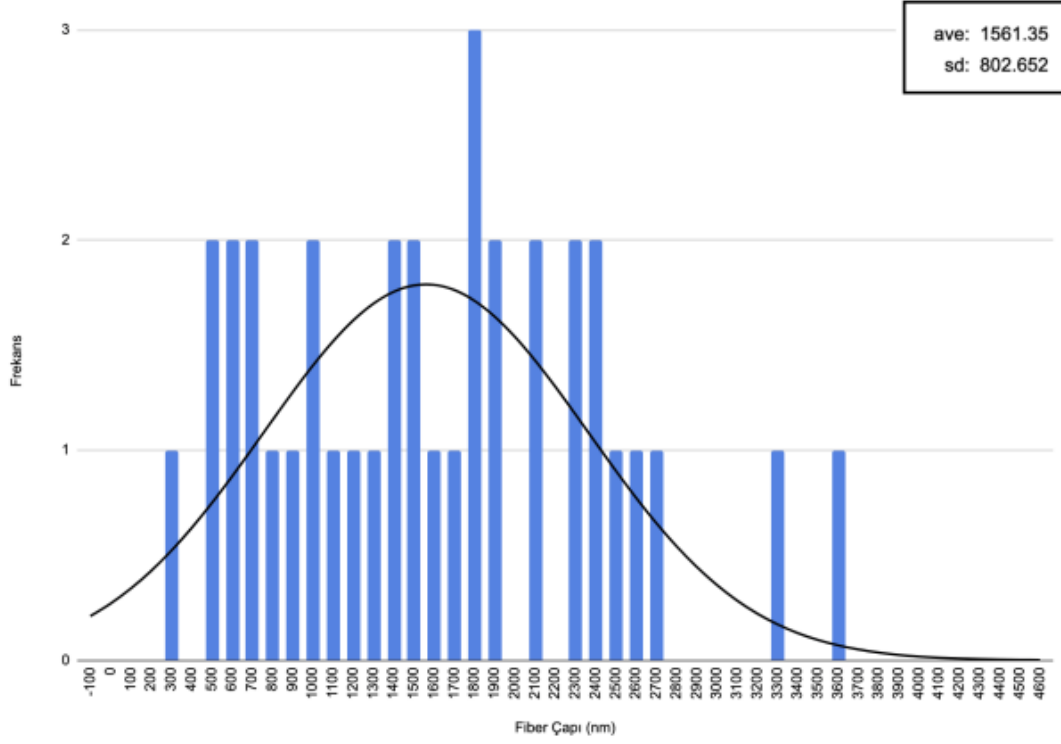
Şekil 4.13. %8 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.



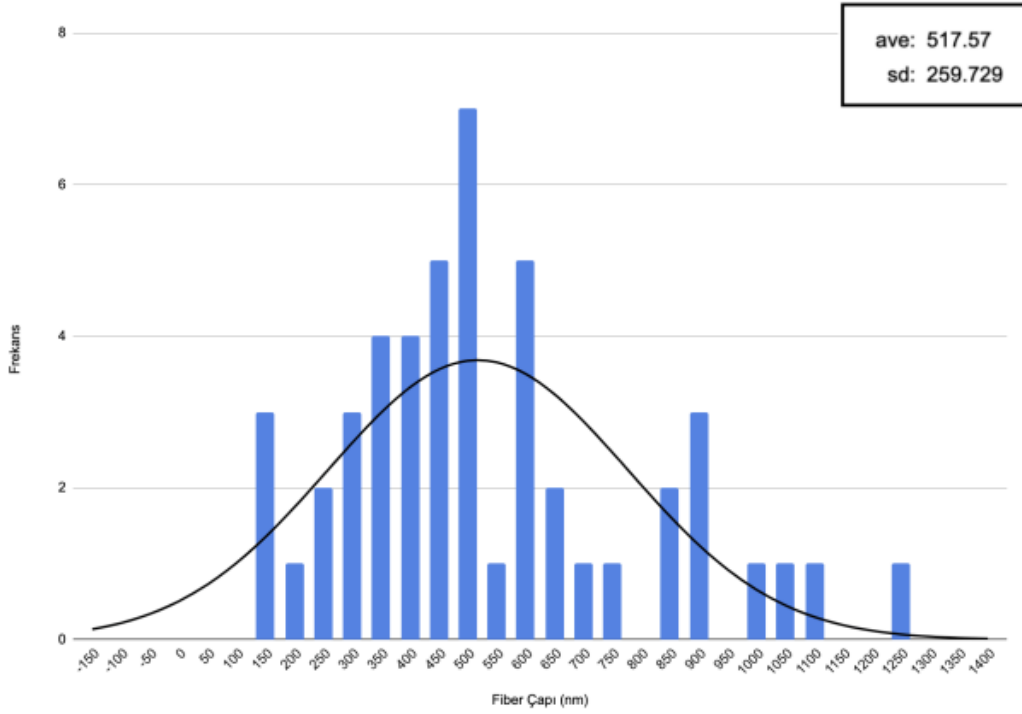
Şekil 4.14. %10 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.



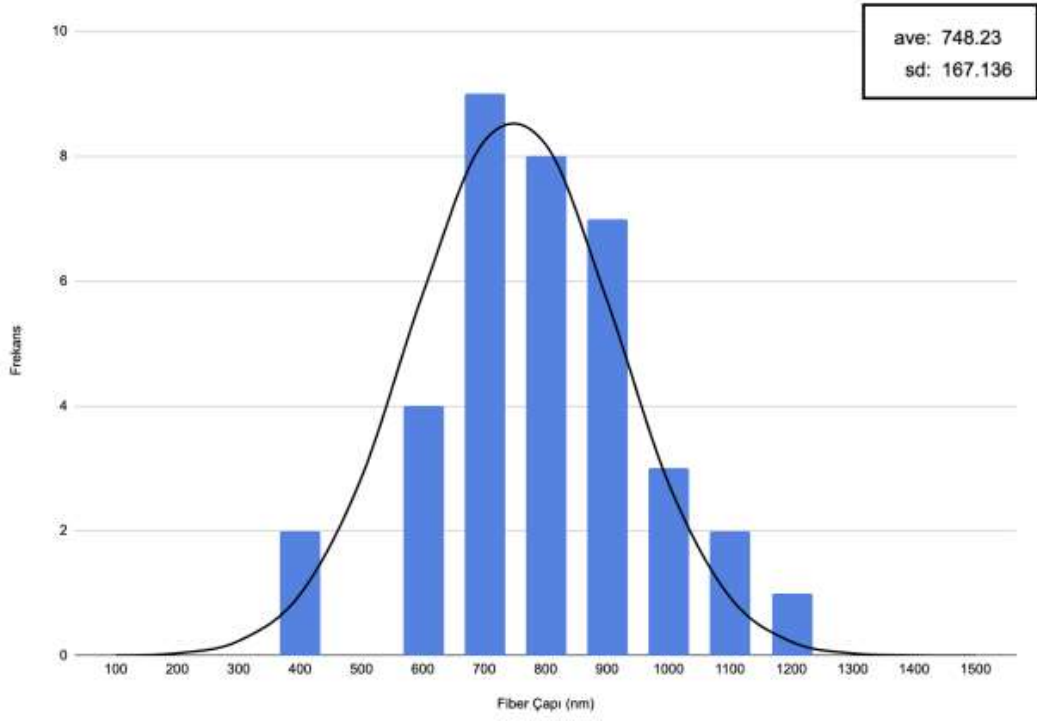
Şekil 4.15. %13 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.



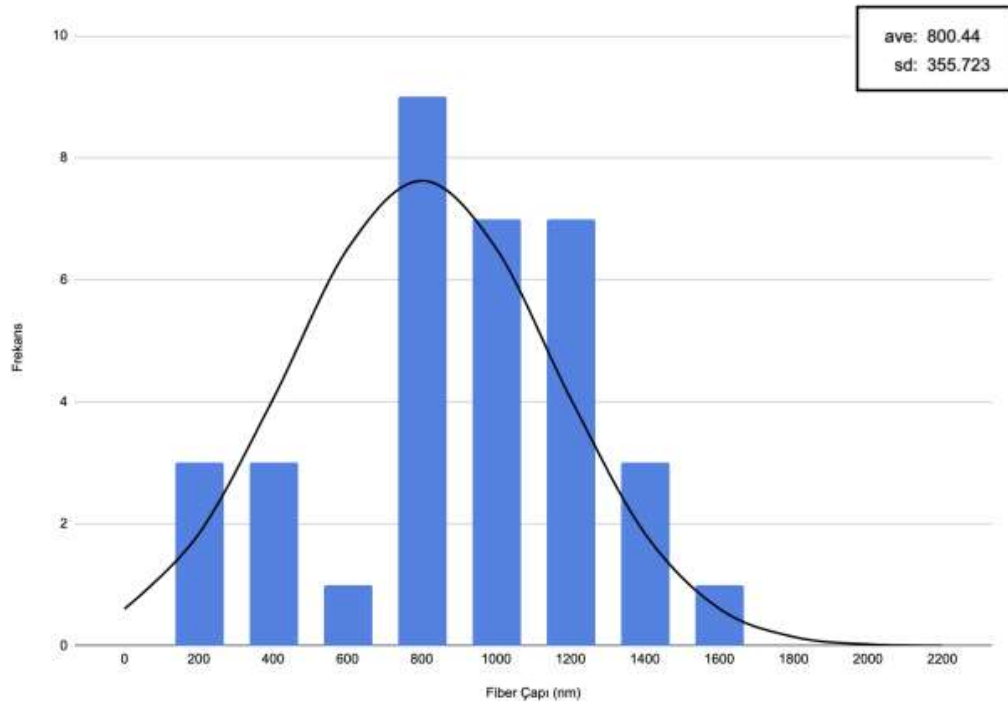
Şekil 4.16. %15 PHBV membran histogram ortalama çap değerleri.



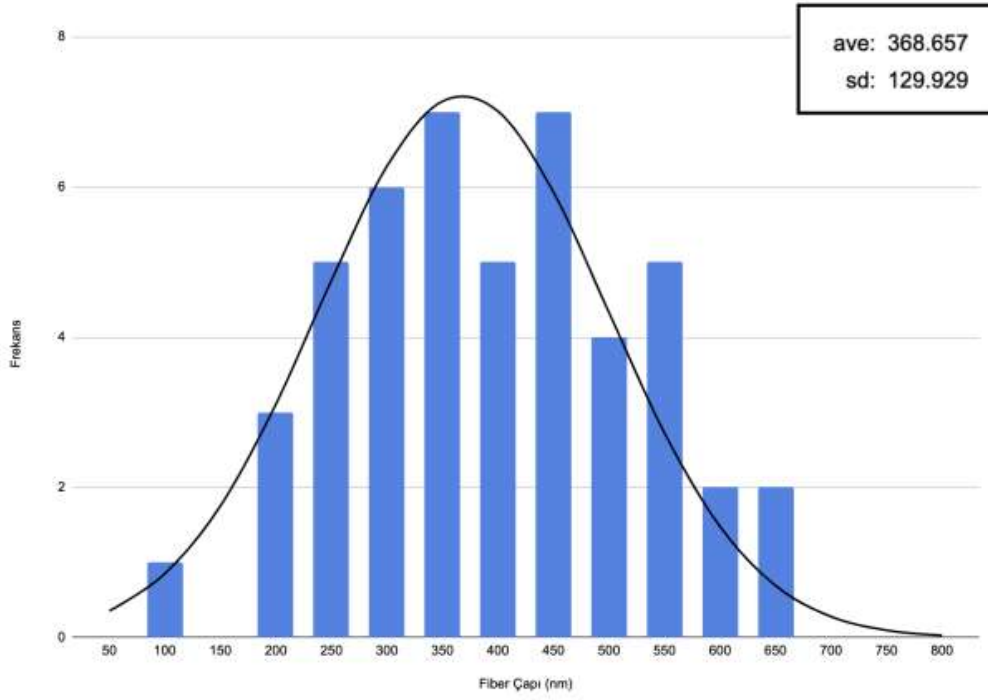
Şekil 4.17. %10 PHBV/%5 Jel membran histogram ortalama çap değerleri.



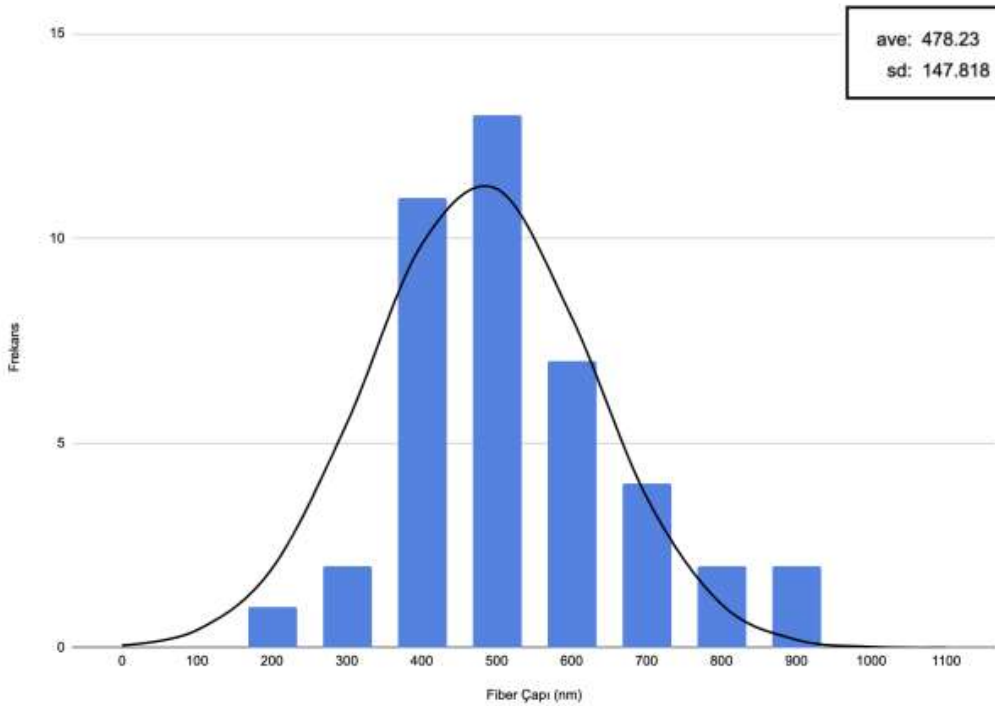
Şekil 4.18. %10 PHBV/%10 Jel membran histogram ortalama çap değerleri.



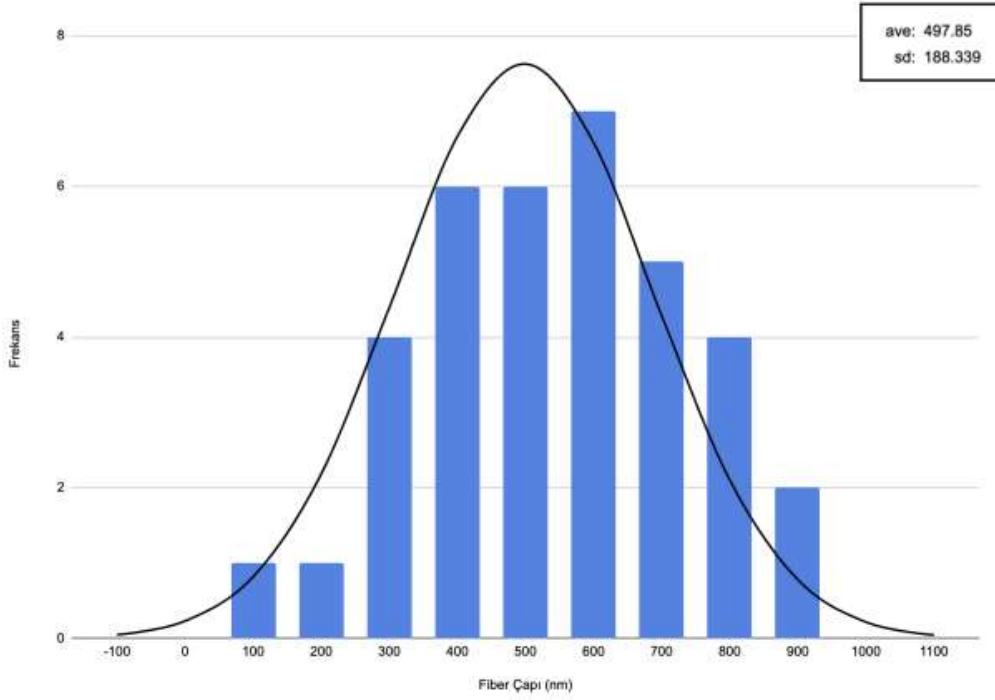
Şekil 4.19. %10 PHBV/%15 Jel membran histogram ortalama çap değerleri.



Şekil 4.20. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran histogram ortalama çap değerleri.



Şekil 4.21. %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran histogram ortalama çap değerleri.



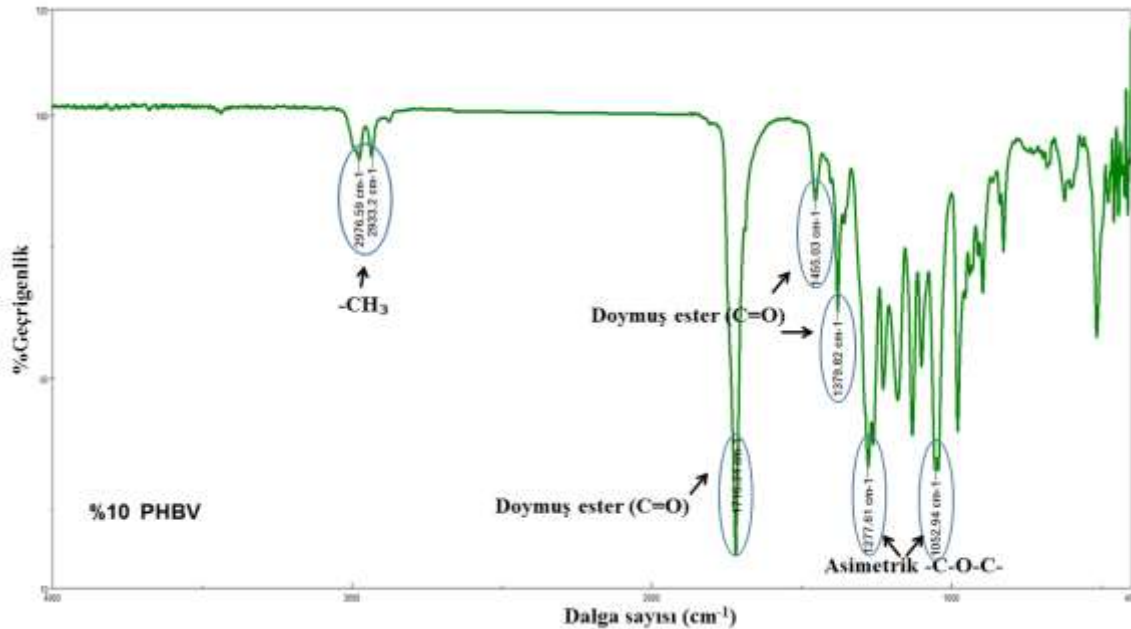
Şekil 4.22. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membran histogram ortalama çap değerleri.

Şekil 4.12.-Şekil 4.22 arasında yer alan nanofiber membranların histogram çapları ve Çizelge 4.2.'de yer alan membran fiber çap dağılımları incelendiğinde çözelti viskozitesinin fiber elde edilmesindeki önemi ortaya çıkmaktadır. %5 ve %8 PHBV membranlarının FEGSEM görüntüleri incelendiğinde fiber yapısından ziyade uygun viskoziteye kısaca akışkanlığa sahip olamamasından dolayı spreyleme yapıldığından partikül eldesi sağlanmıştır, fiber yapısı elde edilememiştir. %5 ve %8 PHBV numunelerinin ölçüm sonuçlarına göre 558.53 nanometre ortalama partikül çapları elde edilmiştir. %10 PHBV nanofiber membranında uygun formda fiber yapısı oluşmuştur. 399.54 nm ortalama fiber çap değeri tespit edilmiştir. %13 ve %15 PHBV nanofiber yapısında fiber yapısının yanı sıra aglomera topaklaşmış partiküller ile birlikte kırık fiber yapıları gözlemlenmiştir. 789.15 nm ve 1.561 nm ortalama çap değerleri elde edilmiş bununla birlikte hem mikron hem de nano seviyede lif yapılaşması oluşurken, lifler kırık ve kesikli formda oldukları gözlemlenmiştir. %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran ortalama çap değeri 517.57 nm olurken, %10 Jel ve %15 Jel katkısı sonucunda 748.23 ve 800.44 nm ortalama çap değerine sahip lif yapılanması tespit edilmiştir. Liflerde kırılmalar ve aglomerasyon meydana gelmiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5

Jel nanofiber membranı çalışmadaki en ince lif yapılanmasına sahipken aynı zamanda kırık fiber yapısına sahip olunmayan nanofiber membrandır. Elde edilen nanofiber membran ortalama çap değeri 368.65 nm olarak belirlenmiştir. %0.50 ve %1(w/v) PPV hidroklorür etken maddesi arttıkça ortalama çap değerleri 478.23 nm ve 497.85 nm olduğu saptanmıştır. PPV hidroklorür oranı arttıkça lif yapılaşmasında topaklanma ve lif yapısında kalınlaşma ve liflerin düzeninde bozulma meydana gelmiştir. Genel nanofiber membran yapısında gevrek lif yapıları meydana gelmiştir [195-198].

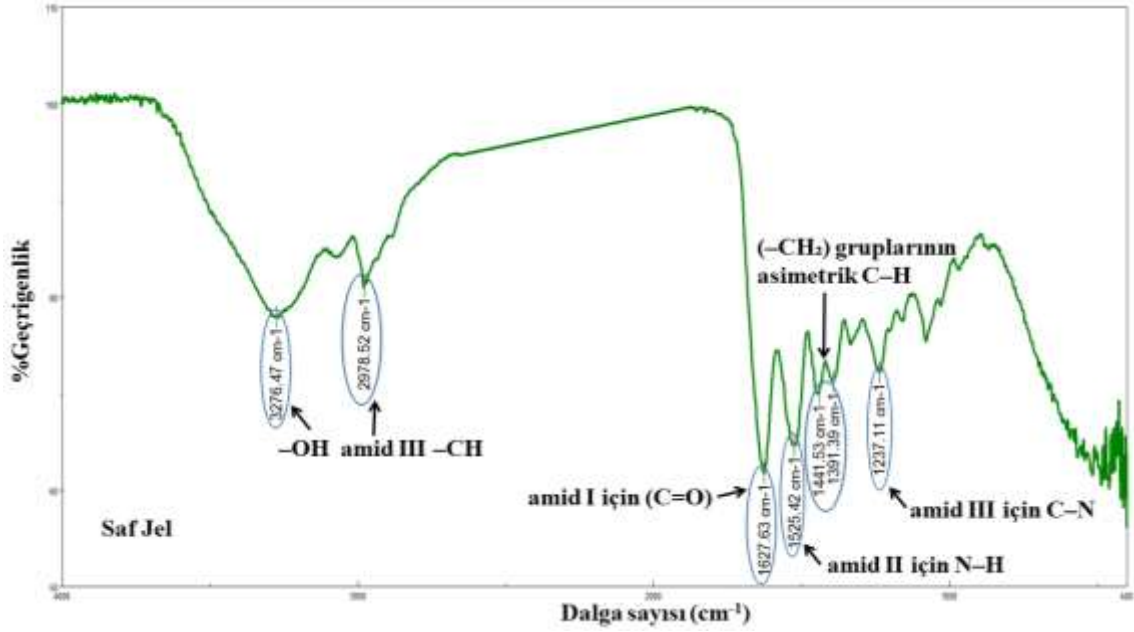
4.2.3. Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

%10 PHBV nanofiber yapıların spektrumunda incelendiğinde, 978.69-826.34 cm^{-1} arasında karakteristik bantlar, simetrik -C-O-C- gruplarının varlığını, 1277.61-1052.94 cm^{-1} arasındaki bantlar ise asimetrik -C-O-C- gruplarını göstermektedir. Ayrıca, 1716.34, 1455.03, 1379.82 cm^{-1} deki yoğun pikler, doymuş ester (C=O) gruplarının absorpsiyonunu, 2976.59-2933.2 cm^{-1} arasındaki gerilme bantları ise -CH₃ gruplarını temsil etmektedir. Fonksiyonel gruplar incelendiğinde PHBV polimerine ait bir yapı olduğu belirlenmiştir [243]. %10 PHBV nanofiber membran FTIR spektrumu Şekil 4.23.'de yer almaktadır.



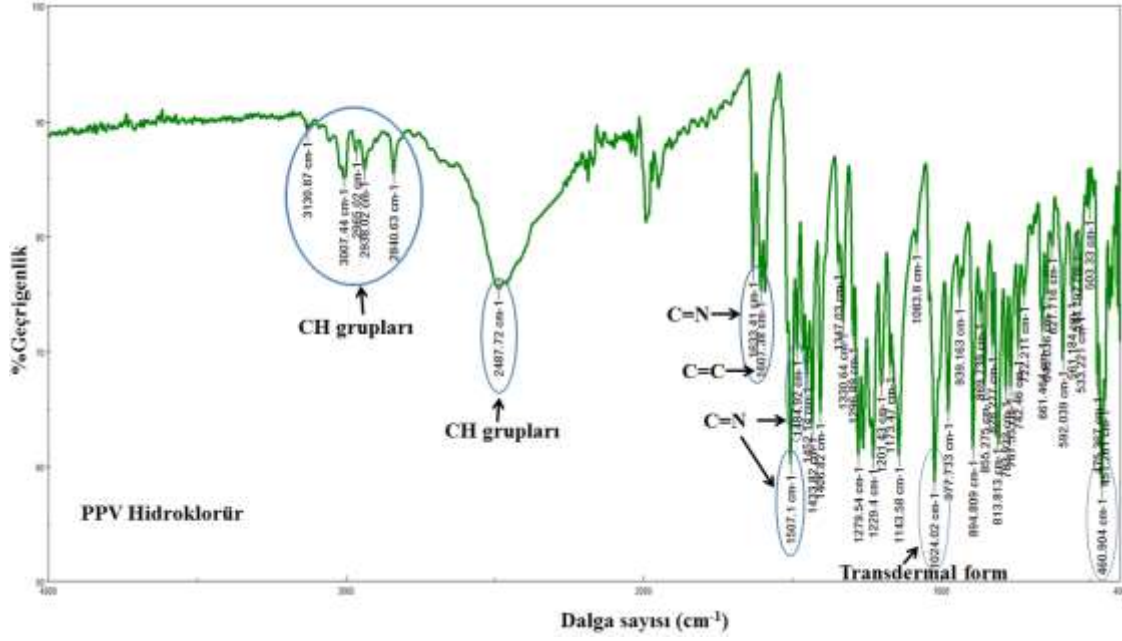
Şekil 4.23. %10 PHBV nanofiber membran FTIR spektrumu.

Saf jel FTIR spektrumu incelediğimizde, 3276.47 cm^{-1} 'deki pik $-\text{OH}$, 2978.52 cm^{-1} 'deki pik amid III ve $-\text{CH}$ gerilmesini, 1627.63 cm^{-1} 'deki pik amid I için ($\text{C}=\text{O}$) gerilme titreşimini, 1525.42 cm^{-1} 'deki pik amid II için $\text{N}-\text{H}$ gerilmesini, 1237.11 cm^{-1} 'deki pik amid III için $\text{C}-\text{N}$ gerilmesini, 1441.53 ve 1391.39 cm^{-1} 'deki pikler ise ($-\text{CH}_2$) gruplarının asimetrik $\text{C}-\text{H}$ gerilme titreşimini göstermektedir [244]. Belirlenmiş pik yapıları saf jel'e ait olduğunu göstermektedir. Saf jel FTIR spektrumu Şekil 4.24.'de gösterilmektedir.



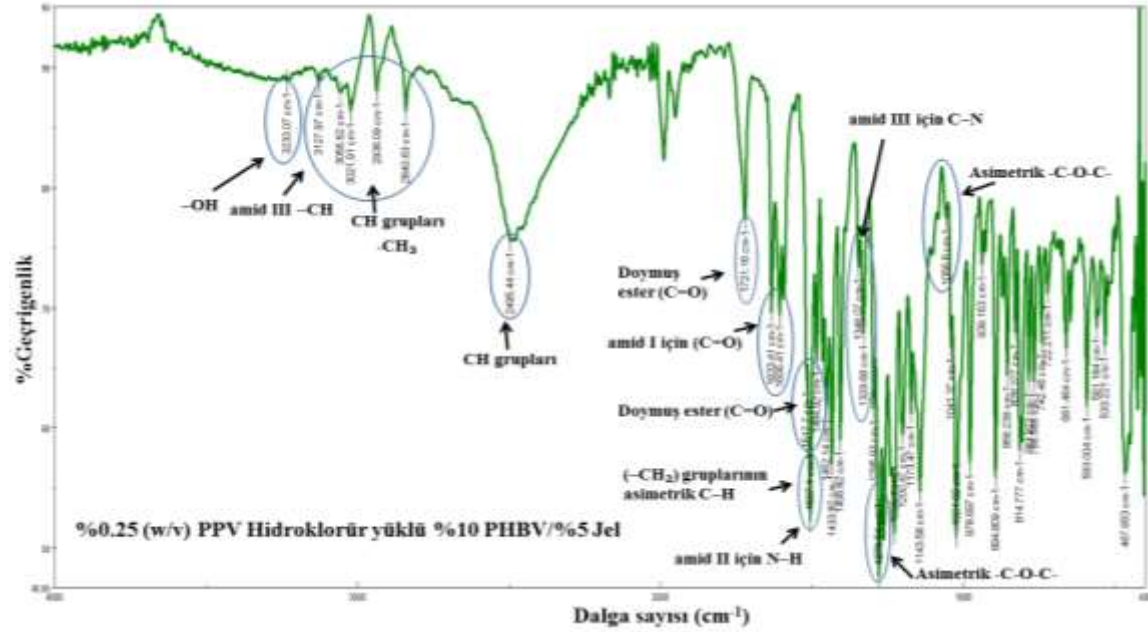
Şekil 4.24. Saf jel FTIR spektrumu.

Şekil 4.24.'e göre, PPV hidroklorür etken maddesinin ana pikleri 1633.41 cm^{-1} ve 1507.10 cm^{-1} dalga numarasındaki teorik zirvelere bulunmaktadır. 1024.02 cm^{-1} ve 1279.54 cm^{-1} transdermal formdadır [245]. PPV hidroklorür, bir alkaloid olup, çeşitli farmakolojik etkilere sahip bir madde olarak bilinmektedir. PPV hidroklorür'in FTIR yapısal spektrumu incelenmiş ve karakteristik bantlar belirlenmiştir. 3130.87, 3007.44, 2965.02, 2938.02, 2840.63 ve 2487.72 cm^{-1} 'de CH grupları, 1633.41, 1507.10, 1484.92 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{N}$ ve 1607.38 cm^{-1} 'de $\text{C}=\text{C}$ bantları tespit edilmiştir. U bantlar, PPV hidroklorür'in moleküler yapısındaki belirli fonksiyonel grupları temsil etmektedir. Özellikle, $\text{C}=\text{N}$ ve $\text{C}=\text{C}$ bağları, molekülün yapısındaki çift bağları işaret ederken, CH grupları organik bileşiklerde sıkça bulunan hidrojen atomlarını temsil etmektedir. Fonksiyonel gruplar, PPV hidroklorür etken maddesine ait olduğu tespit edilmiştir [246]. PPV hidroklorüre etken maddesine ait FTIR spektrumu Şekil 4.25.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.25. PPV hidroklorür FTIR spektrumu.

%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran FTIR spektrumu Şekil 4.26.'da yer almaktadır.



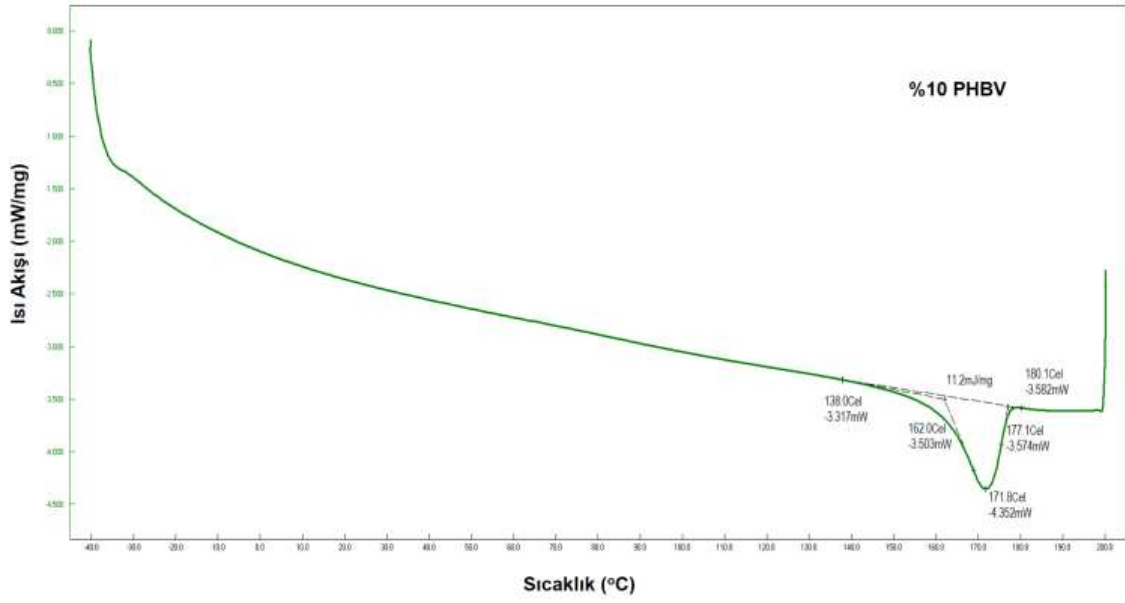
Şekil 4.26. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel FTIR spektrumu.

%10 PHBV spektrumunun pik şiddetleri belirgin bir formda bulunmaktadır. %5 Jel katkısı sonucunda FTIR spektrumları incelendiğinde %10 PHBV pik şiddetleri azalmış ve piklerde hafif kayma meydana gelmiştir [247-249]. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür

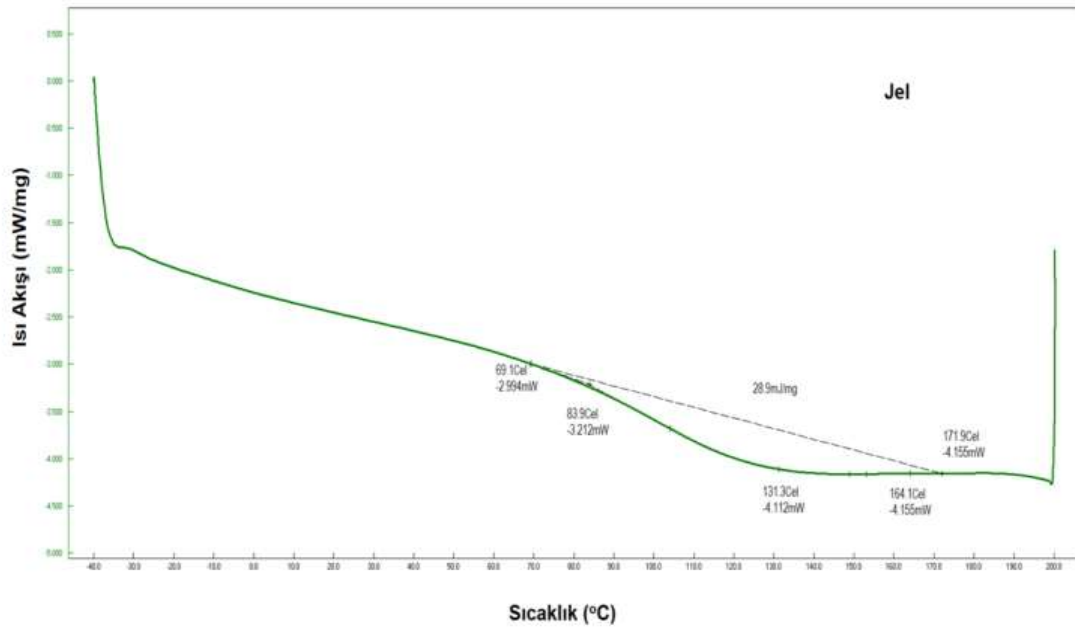
yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranında, PPV hidroklorüre ait spesifik pikler açığa çıkmıştır. %10 PHBV/%5 Jel yapısında PPV hidroklorür etken maddesi arttıkça %0.50 ve %1 (w/v) oranlarında pik şiddetleri zayıflamıştır. FTIR spektrumlarından çıkarılan yorumlar mekanik analiz çekme testi sonuçları ile de bağlantılı olarak yorumlanmıştır. PPV hidroklorür arttıkça kopma kuvveti ve membran uzama değerleri düşmektedir. FTIR spektrumlarına göre PPV hidroklorür arttıkça pik şiddetleri zayıflamaktadır. Bu zayıflama PPV hidroklorür içeriğinin membran yapısında artması ile doğru orantılıdır. PPV hidroklorür membran yapısını yumuşatarak membran mukavemetini düşürmektedir [250-252]. PHBV, Jel ve PPV hidroklorür maddelerinin de %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapısında yer aldığı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapısı incelendiğinde 3233.07 cm^{-1} 'de yer alan -OH piki saf jel, 2495.44 cm^{-1} 'de CH grubu PPV hidroklorür ve 1721.16 cm^{-1} 'de yer alan C=O doymuş ester spesifik pikleri yer almaktadır. Bu pikler ayırt edici pikler olup, üç maddeyi içeren FTIR spektrumunda net bir şekilde belirlenmiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapısında pik bölgelerinin kaydığı ve piklerin şiddetinde azalmalar ve spesifik pik oluşumları meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu durum üç farklı maddenin bir arada kullanıldığını doğrulamıştır [250-252].

4.2.4. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC)

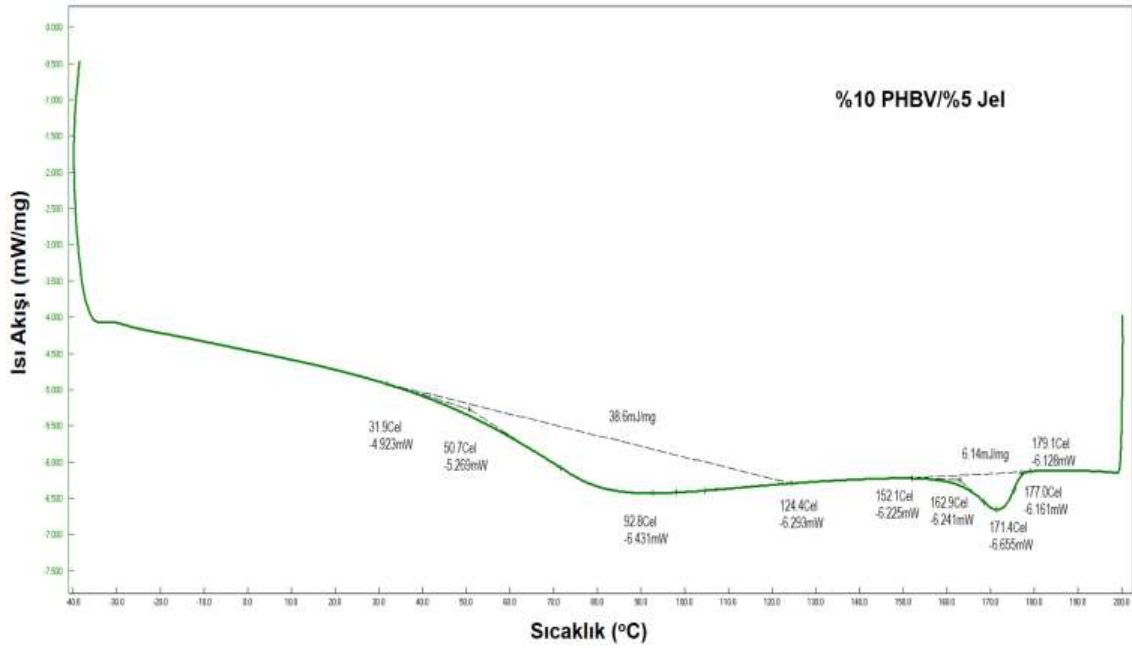
Elektroeğirme tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membranların DSC termogramları Şekil 4.27.- Şekil 4.30.'da verilmiştir.



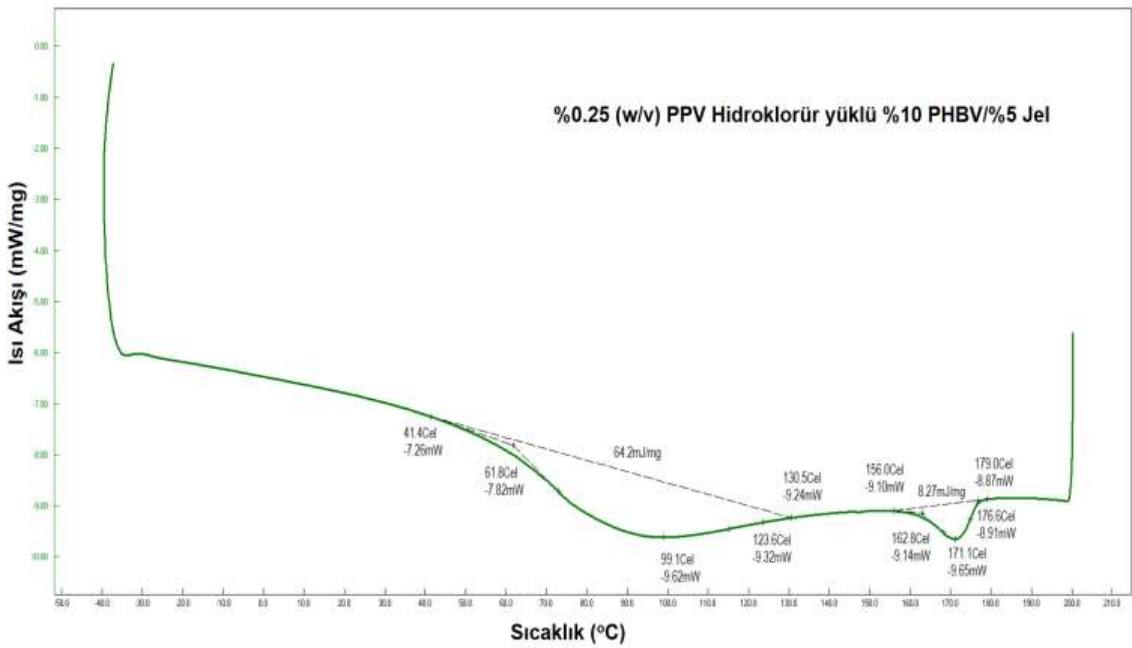
Şekil 4.27. %10 PHBV nanofiber membran DSC termogram grafiği.



Şekil 4.28. Jel DSC termogram grafiği.



Şekil 4.29. %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran DSC termogram grafiği.



Şekil 4.30. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran DSC termogram grafiği.

PHBV, Jel, PPV hidroklorür, PHBV/Jel ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların DSC termogramı değerleri Çizelge 4.4.'de yer almaktadır.

Çizelge 4.4. PHBV, Jel, PPV hidroklorür, PHBV/Jel ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların DSC termogramı değerleri.

Numune Adı (w/v)	PHBV Erime Sıcaklığı (°C)	PHBV Entalpi (mJ/mg)	Jel Erime Sıcaklığı (°C)	Jel Entalpi (mJ/mg)
% 10 PHBV	171.8	11.2	-	-
Jel	-	-	131.3	28.9
% 10 PHBV/%5 Jel	171.4	6.14	92.8	38.6
%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü % 10 PHBV/%5 Jel	171.1	8.27	99.1	64.2
%0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü % 10 PHBV/%5 Jel	170.2	8.94	99.6	72.4
% 1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü % 10 PHBV/%5 Jel	169.5	9.74	101.2	78.9

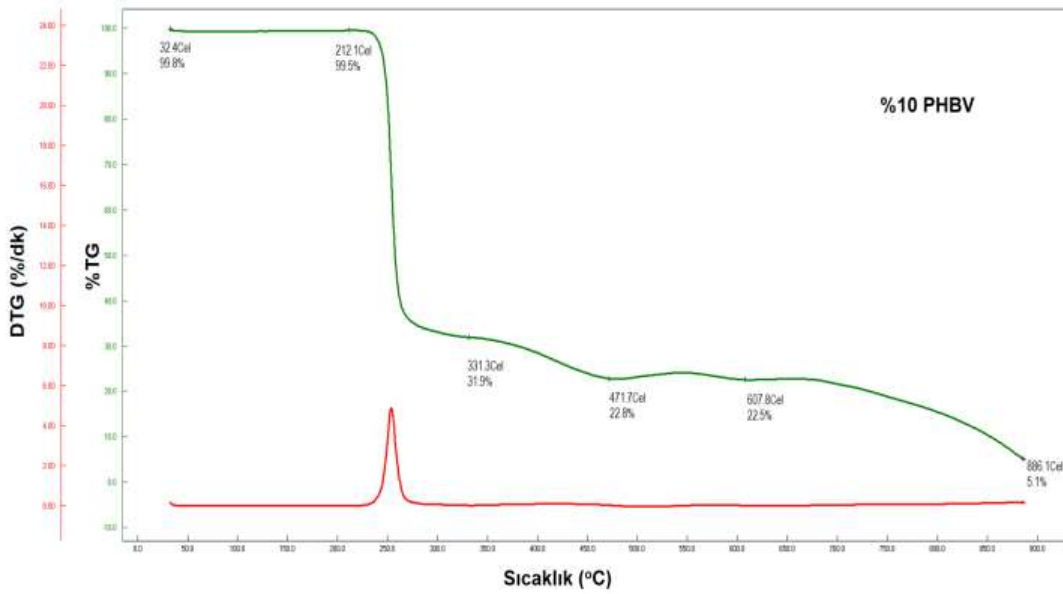
Çizelge 4.4.'te yer alan DSC termogram değerlerine göre nanofiber membranlardan PHBV polimeri 171.8 °C erime noktası sıcaklığı verirken, 11.2 mJ/mg entalpi değeri vermiştir. Jel polimeri ise 131.3 °C erime noktası sıcaklığı verirken, 28.9 mJ/mg entalpi değeri göstermiştir [290-295].

% 10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranı DSC termogramı incelendiğinde PHBV erime noktası sıcaklığı düşerken, entalpi değeri artmıştır. Jel erime noktası sıcaklığı düşerken, entalpi değeri de artmıştır [296-299]. PHBV kısmı 171.4 °C erime noktası sıcaklığı verirken 6.14 mJ/mg entalpi değeri vermiştir. Jel ise 92.8 °C erime noktası sıcaklığı verirken 38.6 mJ/mg entalpi değeri vermiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranı incelendiğinde PHBV erime noktası sıcaklığı düşerken, entalpi değeri artmıştır. Jel polimeri erime noktası sıcaklığı ve entalpi değeri artmıştır. PHBV kısmı 171.1 °C erime noktası sıcaklığı verirken 8.27 mJ/mg entalpi

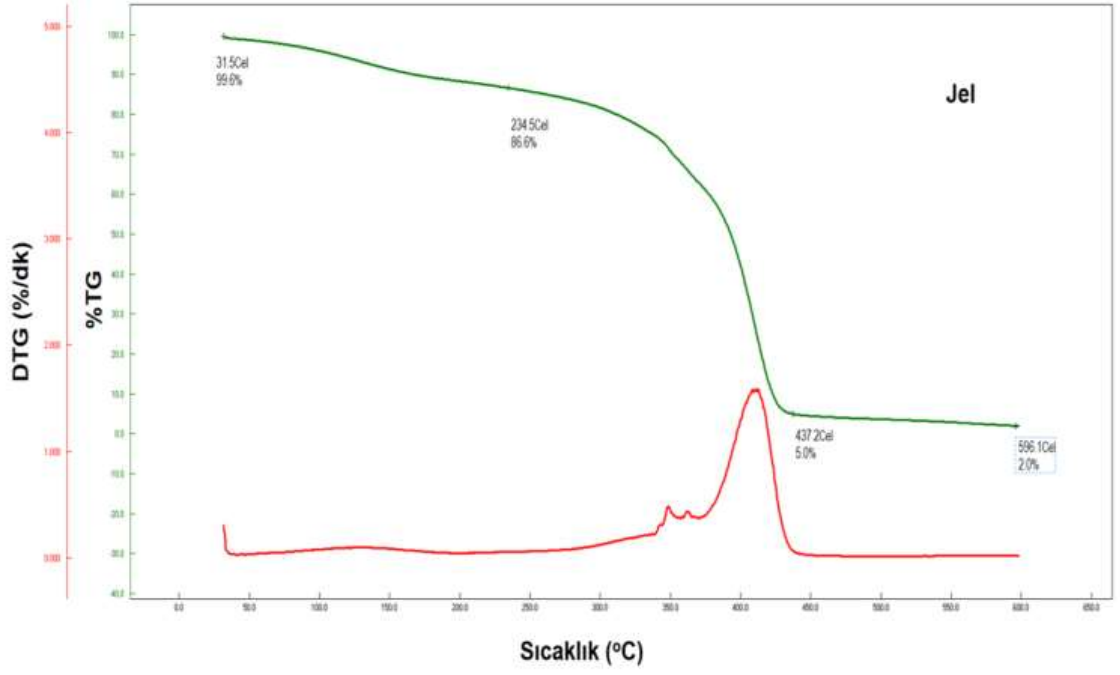
değeri vermiştir. Jel ise 99.1 °C erime noktası sıcaklığı verirken 64.2 mJ/mg entalpi değeri vermiştir. PPV hidroklorür etken maddesi arttıkça PHBV erime noktası sıcaklığı azalırken, entalpi değeri artmıştır. Jel polimerinin erime noktası ve entalpi değeri artmıştır. Sırasıyla %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranı incelendiğinde PHBV kısmı 170.2 °C erime noktası sıcaklığı verirken 8.94 mJ/mg entalpi değeri vermiştir. Jel ise 99.6 °C erime noktası sıcaklığı verirken 72.4 mJ/mg entalpi değeri vermiştir. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranı incelendiğinde PHBV kısmı 169.5 °C erime noktası sıcaklığı verirken 9.74 mJ/mg entalpi değeri vermiştir. Jel ise 101.2 °C erime noktası sıcaklığı verirken 78.9 mJ/mg entalpi değeri vermiştir. DSC termogramları incelendiğinde PHBV ve Jel polimeri arasındaki çalışma sıcaklık aralığı azalmıştır. PPV hidroklorür etken maddesi, Jel termal karakteristik özelliğini iyileştirirken, PHBV termal özelliklerini düşürmektedir. Ancak fazla bir sıcaklık düşüşü olmamasının aksine entalpi değerleri artış göstermiştir. Bu durumun sebebi erime noktasının düşmesi durumunda, entalpi genellikle artmaktadır. Bu koşullarda madde için daha fazla enerjinin harcanması gerekmektedir. Benzer şekilde, erime sıcaklığının artması durumunda, entalpi genellikle artar çünkü bu durumda katıdan sıvıya geçiş daha zor hale gelmekte ve daha fazla enerji ihtiyacı doğmaktadır. Bu durumda, erime noktası yükselirken, entalpi de genellikle artar [300-305]. FEGSEM morfolojik görüntüleri incelendiğinde PHBV polimer fiberlerinde oluşan kırıkların, polimerin kristal yapısının fazlalığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kırıklı yapılar, mekanik özellikleri düşürmeye neden olabileceği gibi, termal özelliklerinde zayıflamasına neden olmaktadır. Çalışma kapsamında FEGSEM görüntüleri incelendiğinde PPV hidroklorür oranı arttıkça fiber yapılarında kırılmalar ve aglomerasyon artmıştır. PHBV termal özellikleri düşerken, Jel termal özellikleri artmıştır. Ancak bu sıcaklık PPV hidroklorür maddesinin polimer yapısındaki reolojik davranışı farklılaştığından polimerler arasında termal özellikleri değiştirmektedir. Bununla birlikte çekme test sonuçlarına göre PPV hidroklorür oranı arttıkça mukavemet düşmekte ayrıca uzama değerleri de zayıflamaktadır. %10 PHBV ve %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlara göre çekme dayanımları daha yüksek olmuştur. Bu durumun asıl kaynağı PPV hidroklorür maddesinin %10 PHBV/%5 Jel lifleri arasına girerek mukavemet artışı sağlaması olarak gösterilmektedir. DSC termogramlarına göre nanofiber membran termal yapısı gereği PHBV ve Jel polimerlerinin çalışma sıcaklık aralığının azaldığı belirlenmiştir [306-308].

4.2.5. Termal Gravimetrik Analiz (TGA)

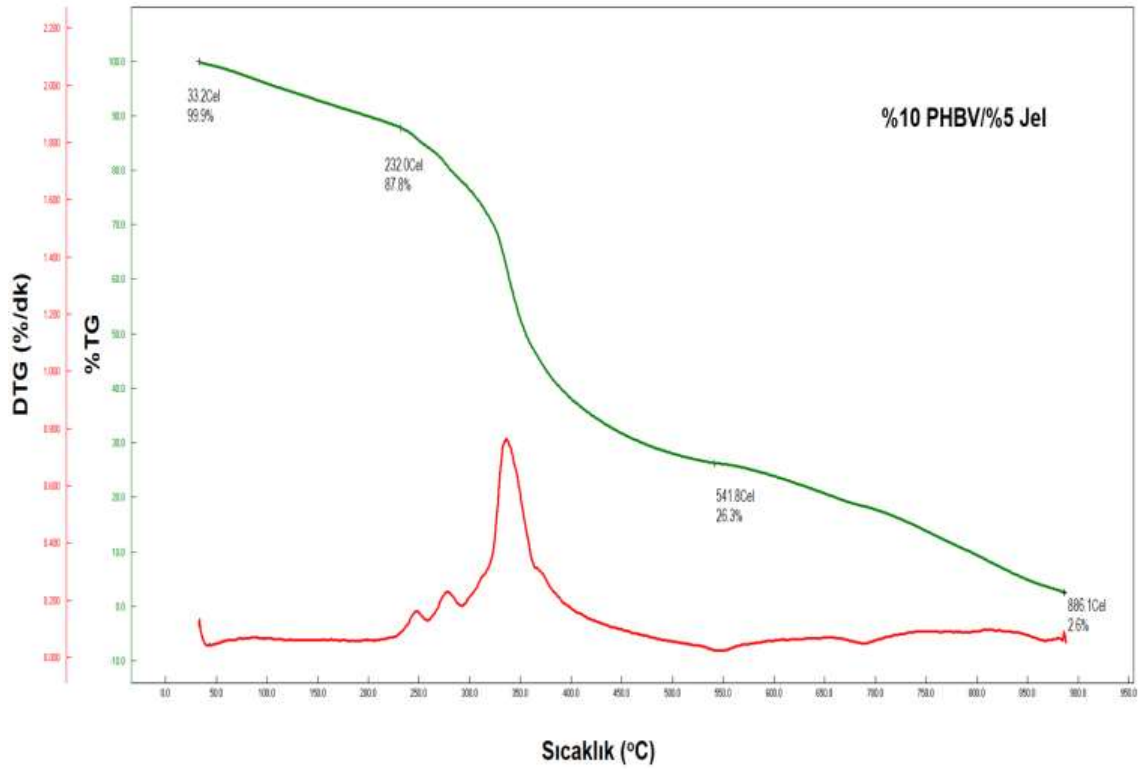
Termal stabilite, PHBV ve PHBV karışımlarının uygulamaları için önemli bir durumdur. PHBV bozunması sırasıyla 32.4 °C de %0.2, 212.2 °C de %0.5, 331.3 °C de %67.6, 471.7 °C de %9.1, 607.8 °C de %0.3 ve 886.1 °C de %17.4 bozunma gerçekleşmiştir. %5.1 oranında kalıntı alümina krozede kalmıştır [309]. Jel polimeri 4 kademede bozunmuştur. 31.5 °C'de %0.4, 234.5 °C'de %13, 437.2 °C'de %81.6 ve 596.1 °C'de %3 oranında bozunma meydana gelmiştir. %2 oranında kalıntı alümina krozede kalmıştır [310]. %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran bozunması sırasıyla 33.2 °C de %0.1, 232.0 °C de %12.1, 541.8 °C de % 61.5 ve 881.6 °C de %23.7 bozunma meydana gelmiştir. %2.6 oranında kalıntı alümina krozede kalmıştır. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranında bozunması sırasıyla 206.8 °C de %4.3, 247.9 °C de %6.1, 294.8 °C de %12.5, 478.8 °C de %36.7, 823.6 °C de %12.3 ve 883.6 °C de %17.1 bozunma meydana gelmiştir. -%4.8 çıkmasının nedeni azot gazı ile tepkimeye girerek ekstra yük oluşturmasından dolayı meydana gelmiştir. Bu durum TGA analizlerinde sıklıkla meydana gelen bir olaydır [311]. PHBV, Jel, PPV hidroklorür, PHBV/Jel ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran TGA termogramları Şekil 4.31.- Şekil 4.34.'de yer almaktadır.



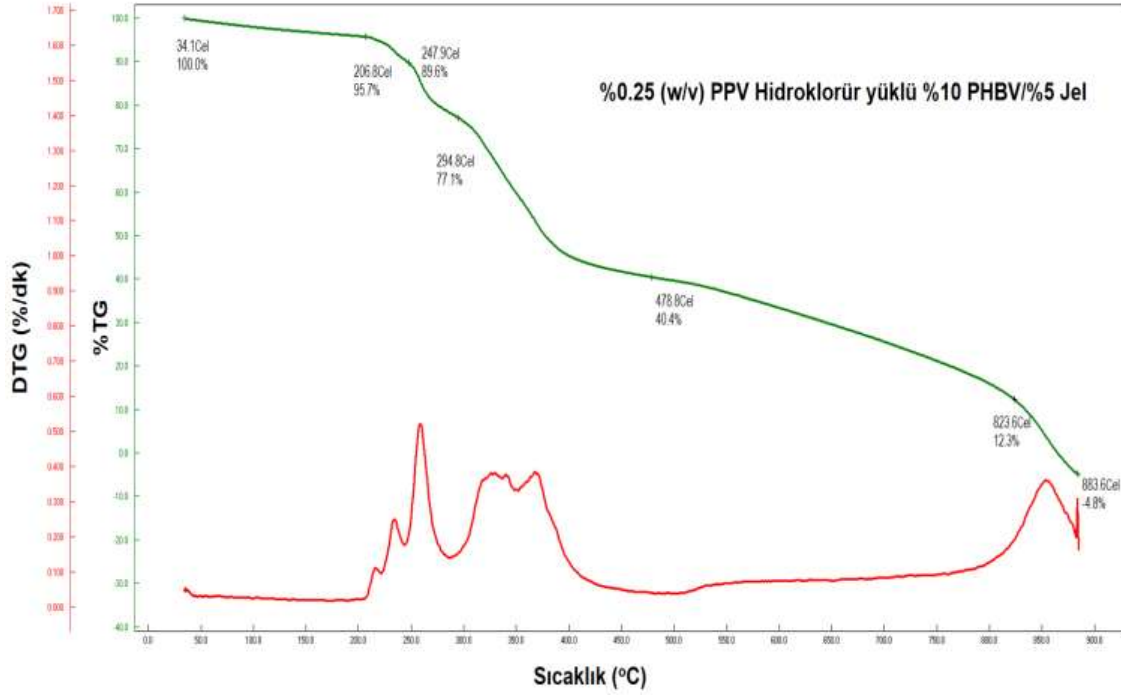
Şekil 4.31. %10 PHBV nanofiber membran TGA termogramları.



Şekil 4.32. Saf jel TGA termogramları.



Şekil 4.33. %10 PHBV/%5 Jel TGA termogramları.



Şekil 4.34. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran TGA termogramları.

Şekil 4.31.- Şekil 4.34.'e göre %10 PHBV yapısına %5 Jel katıldığında TGA bozunma sıcaklığını kaydırmıştır. Bu kaydırma durumu PHBV polimerinin daha geç bozunmasını sağlamaktadır. Plastifiyan yumuşatıcı özellik göstermiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklendikçe TGA termogramı bozunma sıcaklığı düşmüştür. PPV hidroklorür oranı arttıkça bozunma sıcaklığı giderek düşmüştür [312-315]. PHBV kristal yapısına jel polimeri arttıkça membran yapısının yumuşadığı ve bozunma sıcaklığını kaydıracağı tespit edilmiştir. Ancak PPV hidroklorür etken madde katılımı ile bozunma sıcaklığı düşüşü meydana gelmiştir. PPV hidroklorür etken madde oranı membran yapısında arttıkça bozunma sıcaklığı giderek düşmüştür. DSC termal analizi, çekme mekanik analiz ve FEGSEM morfojik analiz sonuçları ile uyumlu çıkan nanofiber membran yapısında PPV hidroklorür etken maddesinin artması sonucunda membran özelliklerinin kötüleştiği ve ideal membran özelliklerini karşılamada eksiklikler yaratacağı sonucuna varılmıştır [316-317]. Çalışmada %10 PHBV içerisine %5 Jel katılması gerçekleştirilmiştir. Ancak %10, %15 (w/v) oranlarında çalışmada üretilmiştir. Lif çapları %10 ve %15 (w/v) jel katıldığında büyümekte ve mikron seviyeye ulaşmıştır. Ayrıca topaklanma ve liflerde kırılmalar meydana gelmiştir. FEGSEM morfolojik görüntüleri incelendiğinde %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) oranlarındaki PPV hidroklorür etken madde katılımı ile sadece %0.25

(w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapısında lif yapılanmasına sahip, yönlendirilmiş fiber yapısı elde edilmiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür oranı katıldığında fiber incelmeleri gözlemlenirken, PPV hidroklorür oranı arttıkça genel membran yapısında lifleşme azalması, liflerde topaklanma ve kesik kesik fiber yapıları oluşurken, gevrek kırılma meydana gelmiştir. Bu durum mekanik özelliklerdeki PPV hidroklorür katkısı sonucunda hem kopma kuvveti hem de membran uzama değerlerinin düşmesi ile açıklanmaktadır. Zayıf bağ kopma kuvvetini doğrudan düşüreceğinden istenilen kopma kuvveti ve uzama değerleri elde edilemeyecektir. Membranların TGA termogramları incelendiğinde liflerde oluşan kırık kalınlaşma ve aglomerasyon kaynaklı membran bozunma sıcaklıkları azalmıştır. Bu azalmanın nedeni PPV hidroklorür yüklendikçe ve oranı arttıkça polimer yapısının bozulması olarak açıklanmaktadır. [318-319].

4.2.6. Mekanik Test

Elektroçirime tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların kalınlığı, elastik modül, kopma kuvvetleri ve uzama değerleri Çizelge 4.5.'de sunulmuştur.

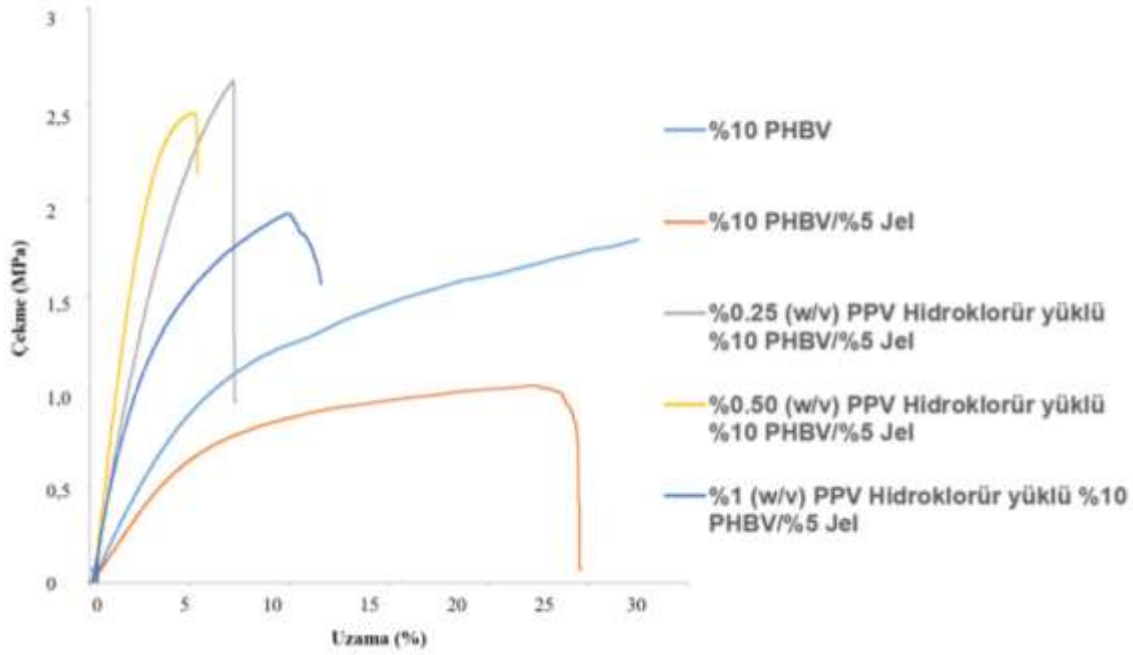
Çizelge 4.5. Elektroçirime tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların kalınlığı, elastik modül, kopma kuvvetleri ve uzama değerleri

Nanofiber Membranlar	Membran Kalınlığı (mm)	Elastik Modül (MPa)	Kopma Kuvvetleri (MPa)	Uzama Değerleri (%)
%10 PHBV	0.22	60,07981	1,882	31,325
%10 PHBV/%5 Jel	0.19	41,10813	1,104	26,856
%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	0.17	338,4888	2,670	7,888

%0.50 (w/v) PPV	0.19	402,6662	2,501	6,2111
hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel				
%1 (w/v) PPV	0.18	156,0644	1,997	12,796
hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel				

Çizelge 4.5.'de göre %10 PHBV nanofiber membranı 1,882 MPa kopma kuvveti vermiştir [253-255]. %5 Jel katkısı sonucunda membran kopma kuvveti azalarak 1,104 MPa kopma kuvveti elde edilmiştir. %10 PHBV/%5 Jel membrana göre %10 PHBV'e daha yüksek uzama göstermiştir. Buradaki durumun sebebi jel polimerinin PHBV liflerini yumuşatarak sertlik değerini düşürmesi ve gevrekleşmeye sebep olduğundan PHBV'ye göre erken kopma meydana gelmiştir. Kopma kuvvetinde oluşan azalma Jel polimerinin plastikleştirici yumuşatıcı olarak davranması olarak açıklanmaktadır [256-257]. %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklenen %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran kopma kuvveti ve uzama değerleri PPV hidroklorür oranı arttıkça azalmıştır. %10 PHBV ve %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlara göre daha yüksek kopma kuvveti gösterilirken uzama değerleri düşük olduğuna ulaşılmıştır. [258-261]. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran 1,997 MPa kopma kuvvetine sahip olurken, 12.796 mm membran uzama değeri elde edilmiştir. %0.25 ve %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlara göre daha düşük kopma kuvveti ancak daha yüksek uzama değeri elde edilmiştir. Membran yapılarında bu artışın asıl sebebi çekme test işleminde PPV hidroklorür etken maddesinin %10 PHBV/%5 Jel nanofiberleri arasına girerek çekim kuvvetine direnç göstermesi ve sünme davranışı sergilemesi olarak gösterilmektedir. PPV hidroklorür oranı arttıkça kopma kuvveti ve membran uzama değerleri düşmüştür. Bu durumun bir diğer kanıtı ise FEGSEM morfolojik görüntülerinde ortaya çıkan fiber kırılmalarıdır. Fiber kırılmaları PPV hidroklorür etken maddesi arttıkça daha belirgin hale gelmiştir. Morfolojik yapı incelendiğinde fiber yapısından ziyade aglomera topaklanmış bir yapı oluşumu ortaya çıkmıştır. Bunun sonucunda mukavemet azalışı ile birlikte zayıf membran dokusu uzama değerleri PPV hidroklorür oranı arttıkça düşmüştür. Nanofiber membran lif yapılanması bozularak gelen gerilmelere dayanım %10 PHBV ve %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlara göre daha yüksek elde edilirken, PPV hidroklorür oran artışı ile dayanım

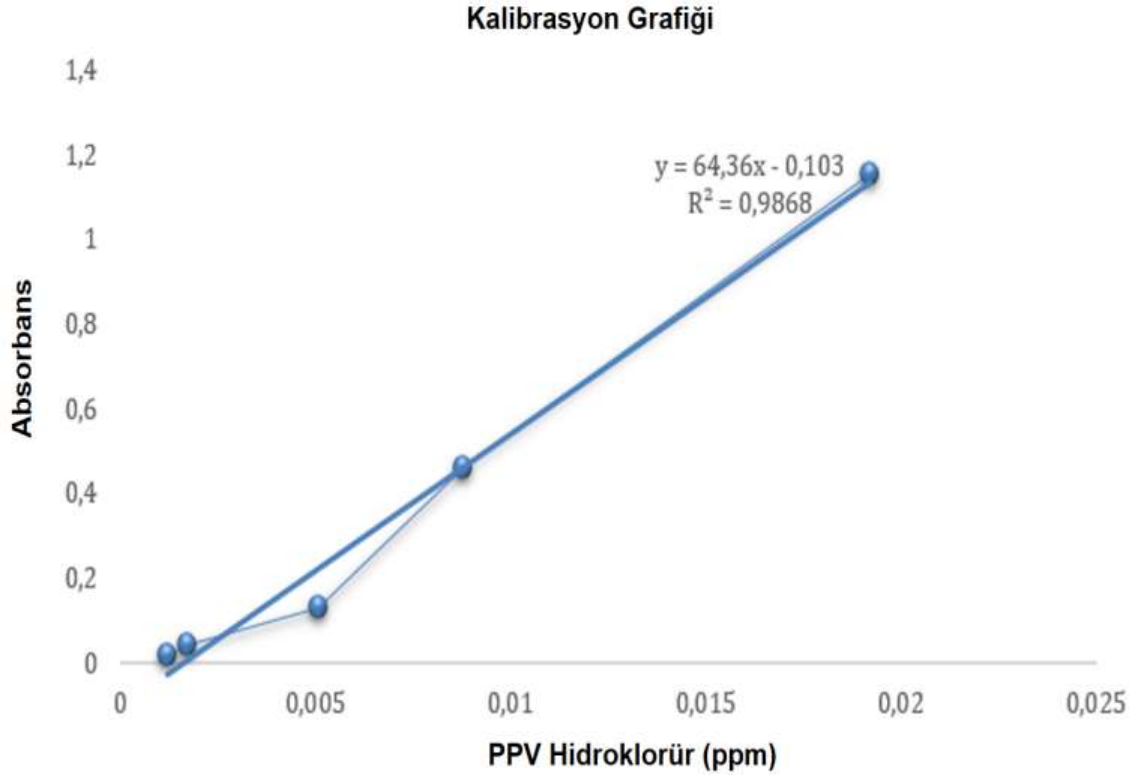
özellikleri düşmüştür. Bu durumun nedeni düzenli lif yapılaşmasının azalması ve topaklanma kusurları olarak açıklanmaktadır [262-268]. Bunların yanı sıra elastik modülü de önemli bir değerdir. Elastik modül değeri yüksek olduğu zaman membranın dayanıklı olduğu, düşük olduğu durumda ise membranın kırılğan olduğu sonucuna ulaşılmıştır [267, 268]. Çizelge 4.4 deki değerler incelendiğinde jel katkısı ile elastik modülü düşmüştür. Membran kopma kuvvetide azalmıştır. Ancak %0.25 ve %0.50 (w/v) PPV hidroklorür katıldıkça elastik modülle birlikte kopma kuvvetleri artmıştır. Ancak %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü membran elastik modülü düşmüştür. Bunun yanı sıra membran %uzama değerleri düşerken, %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü membran yapısı %uzama değeri artmıştır. %10 PHBV ve %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlarına nazaran membran kopma kuvveti de giderek düşmüştür. Jel ve PPV hidroklorür maddeleri PHBV zincirleri arasına girerek ana zincirdeki molekül etkileşimlerini azalttığı düşünülmektedir. Bu durum sonucunda % uzama, kopmadaki uzama ve kopmadaki kuvvet değerlerindeki azalmalar meydana gelmiştir. Elastik modülün düşmesi sonucunda membranın dış etkilere (örneğin gerilme, bükülme, çekme) karşı daha hassas hale gelmesine ve hasara daha yatkın olmasına, düşük elastik modül membranın filtreleme verimliliğini düşürmektedir. Yara örtücü materyal performansında membran filtreleme özelliği önemli bir etmendir. Nanofiber membranın yapısal deformasyonlara daha açık olmasına neden olmaktadır. Membranın istenmeyen şekilde şekillenmesine veya deforme olmasına ve membranın çabuk bozulmasına sebep olabilmektedir. PHBV membranların literatür çalışmaları incelendiğinde benzer mekanik analiz sonuçları göstermiştir [267, 268]. Elektroçirme tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların çekme-uzama grafiği Şekil 4.35.'de yer almaktadır.



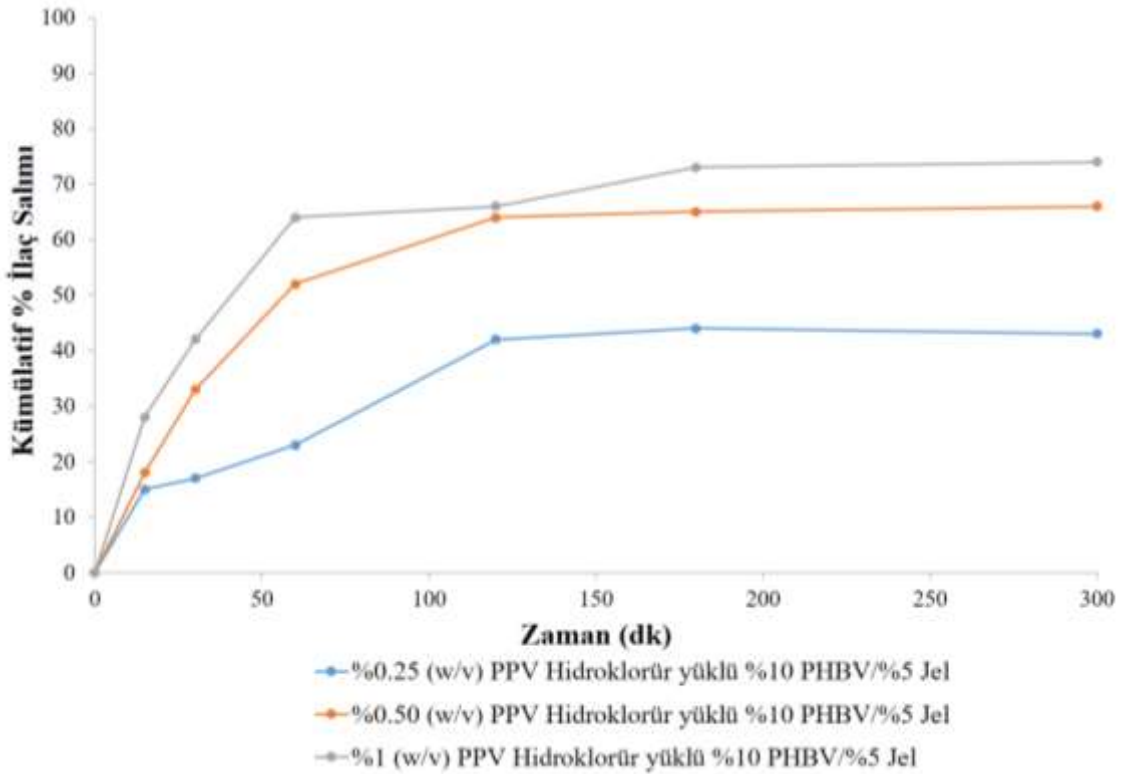
Şekil 4.35. Elektroğirme tekniğiyle elde edilen PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların çekme-uzama grafiği.

4.2.7. *In Vitro* Papaverin Hidroklorür Salım Çalışmaları

Sunulan çalışma kapsamında hazırlanan %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapıları farklı oranlarda etken madde (%0.25, %0.50 ve %1 (w/v)) yüklenmiştir. Farklı formülasyonlardaki %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapılardan PPV hidroklorür salım profilleri UV-vis spektrofotometre kullanılarak tayin edilmiştir. PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapılardan PPV hidroklorür *in vitro* salım profillerinin tayininde Şekil 4.36.'da verilen kalibrasyon grafiğinden yararlanılmıştır. PPV hidroklorür nanofiber membran yapılardan kümülatif salımı (%) zamanın fonksiyonu olarak elde edilmiştir (Şekil 4.37).



Şekil 4.36. PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapılarından PPV hidroklorür *in vitro* salım profili.



Şekil 4.37. PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların kümülatif % ilaç salım grafiği.

Nanofiber membranlar kümülatif yüzde (%) ilaç salımı değerleri Çizelge 4.6.'da gösterilmektedir.

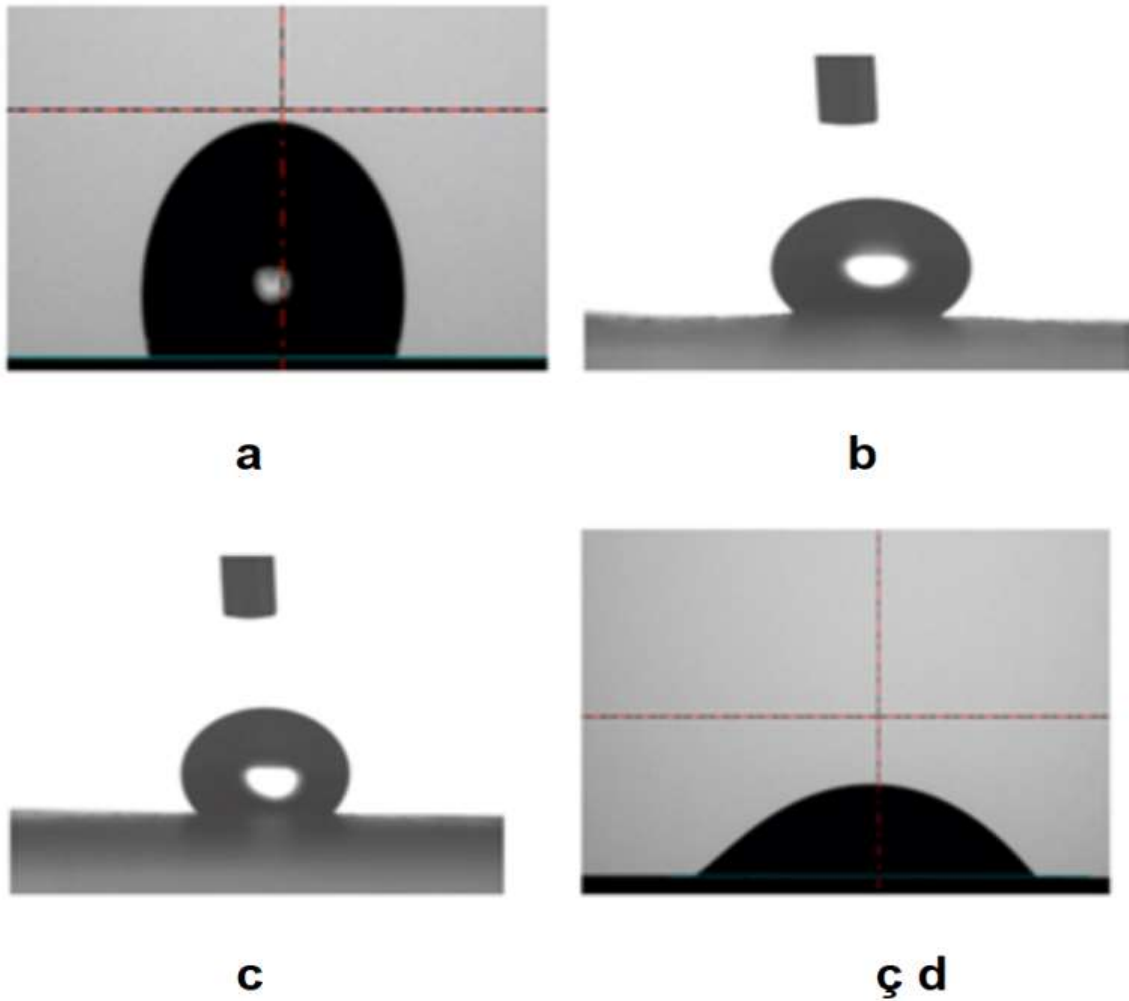
Çizelge 4.6. Nanofiber membranlar kümülatif yüzde (%) ilaç salımı değerleri.

Zaman (dk)	%0.25 (w/v) PPV Hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel kümülatif ilaç salım yüzdesi (%)	%0.50 (w/v) PPV Hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel kümülatif ilaç salım yüzdesi (%)	%1 (w/v) PPV Hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel kümülatif ilaç salım yüzdesi (%)
0	0	0	0
15	15	18	28
30	17	33	42
60	23	52	64
120	42	64	66
180	44	65	73
300	43	66	74

Çizelge 4.6.'ya göre, PPV hidroklorürün nanofiber membran yapılardan kümülatif salımı (%) zamanın fonksiyonu kapsamında kontrollü geciktirilmiş salımını doğrulamıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda Şekil 4.37.'ye göre, 15. dakikanın sonunda, tüm PHBV/Jel nanofiber membran yapılarından salınan PPV hidroklorür oranının oldukça benzer olduğu tespit edilmiştir. 300. dakikanın sonunda ise, bu nanofiber membran yapılardan salınan PPV hidroklorürün kümülatif salım yüzdeleri %43 ile %74 arasında değişim göstermiştir. En yüksek kümülatif salım yüzdesi %74 olup, bu değer %1 (w/v) PPV hidroklorür içeren PHBV/Jel nanofiber membran yapısında elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, PPV hidroklorür yükleme oranının artmasıyla, ortama salınan etken madde oranında belirgin bir artış olduğu saptanmıştır. Nanofiber membranlardaki PPV hidroklorür miktarının artışı, kümülatif salım yüzdesi hızını doğrudan arttırmıştır. Bu durum, nanofiber membran yapısındaki PPV hidroklorür oranının artmasıyla birlikte daha hızlı biyodegradasyon gerçekleşmesi ve dolayısıyla PPV hidroklorürün daha hızlı salınması ile açıklanabilmektedir [320-332].

4.2.8. Temas Açısı (Islanabilirlik) Testi

Nanofiber membranların hidrofobik/hidrofilik özellikleri, hücrelerin erken zamanda tutunumu, yapışması ve çoğalması üzerinde etkili olabilmektedir [235-236]. Genellikle 90° 'den az temas açısına sahip malzemeler hidrofilik olarak adlandırılırken, 90° 'den fazla temas açıları hidrofobik maddeler tarafından gösterilmektedir [237]. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlara yapılan su temas açısı ölçüm görüntüleri Şekil 4.38.'de verilmiştir.



Şekil 4.38. PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran su temas açısı görüntüleri (a. %10 PHBV, b. %10 PHBV/%5 Jel, c. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel ve ç.,d. %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar).

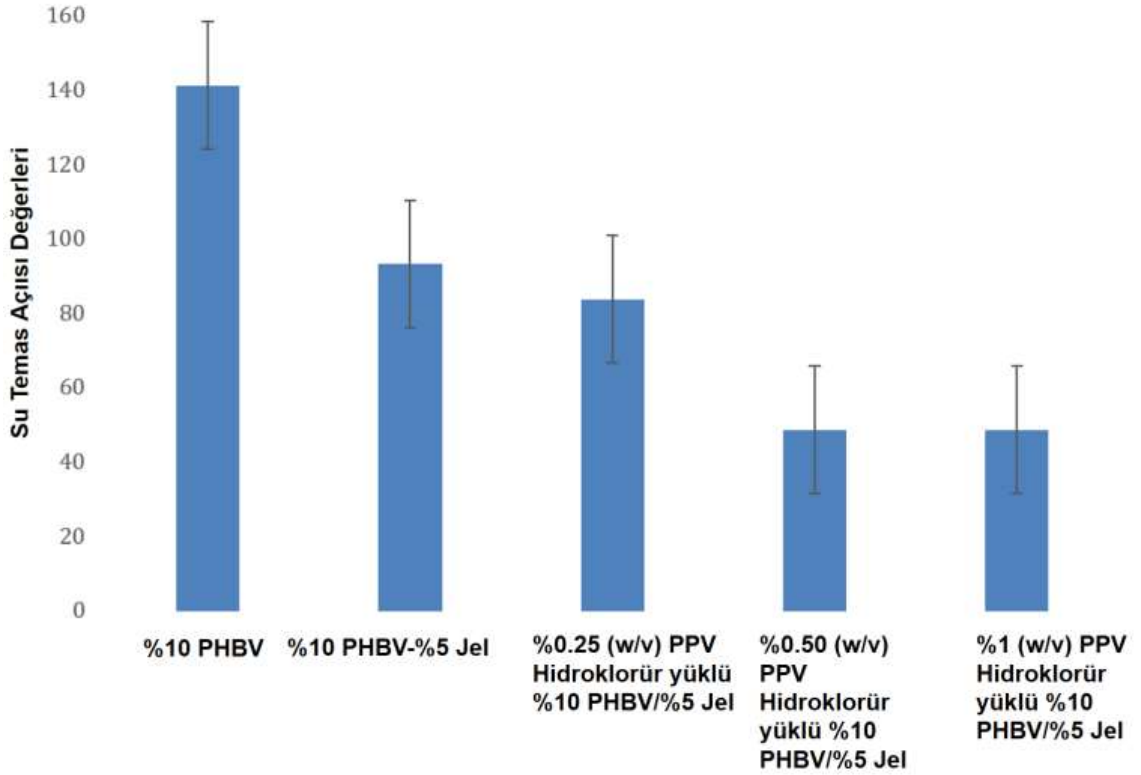
-

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlara yapılan su temas açısı ölçüm sonuç değerleri Çizelge 4.7.'de yer almaktadır.

Çizelge 4.7. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlara yapılan su temas açısı ölçüm sonuç değerleri.

Numune Adı (w/v)	Su Temas Açısı Değerleri
% 10 PHBV	141.3°
% 10 PHBV/%5 Jel	93.2°
%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	83.7°
%0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	48.6°
% 1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel	48.6°

Çizelge 4.7.'ye göre, PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membran su temas açısı görüntüleri/damlaların üzerine yazılan açısı görüntüleri Şekil 4.39.'da verilmiştir. Jel katkısı sonucunda PHBV kristal yapısı yumuşatılmış ve 93.2° su temas açısı değeri elde edilmiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel numunesinde 83.7° temas açısı değeri elde edilirken, %0.50 ve 1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel numunelerinde 48.6° su temas açısı değeri elde edilmiştir. Jel ve PPV hidroklorür katkıları PHBV kristal yapısını kırarak hidrofobiklik değerini düşürerek hidrofilik yapıya düşürmüştür. Bu durumun sebebi jel ve PPV hidroklorür etken maddelerinin su içeriği sebebiyle kristal yapıların kırılması ve yumuşatılmasıdır. Böylelikle su temas açıları PPV hidroklorür arttıkça düşmüştür. PPV hidroklorür hidrofiliklik (suyu seven) sağlamıştır [235-237].

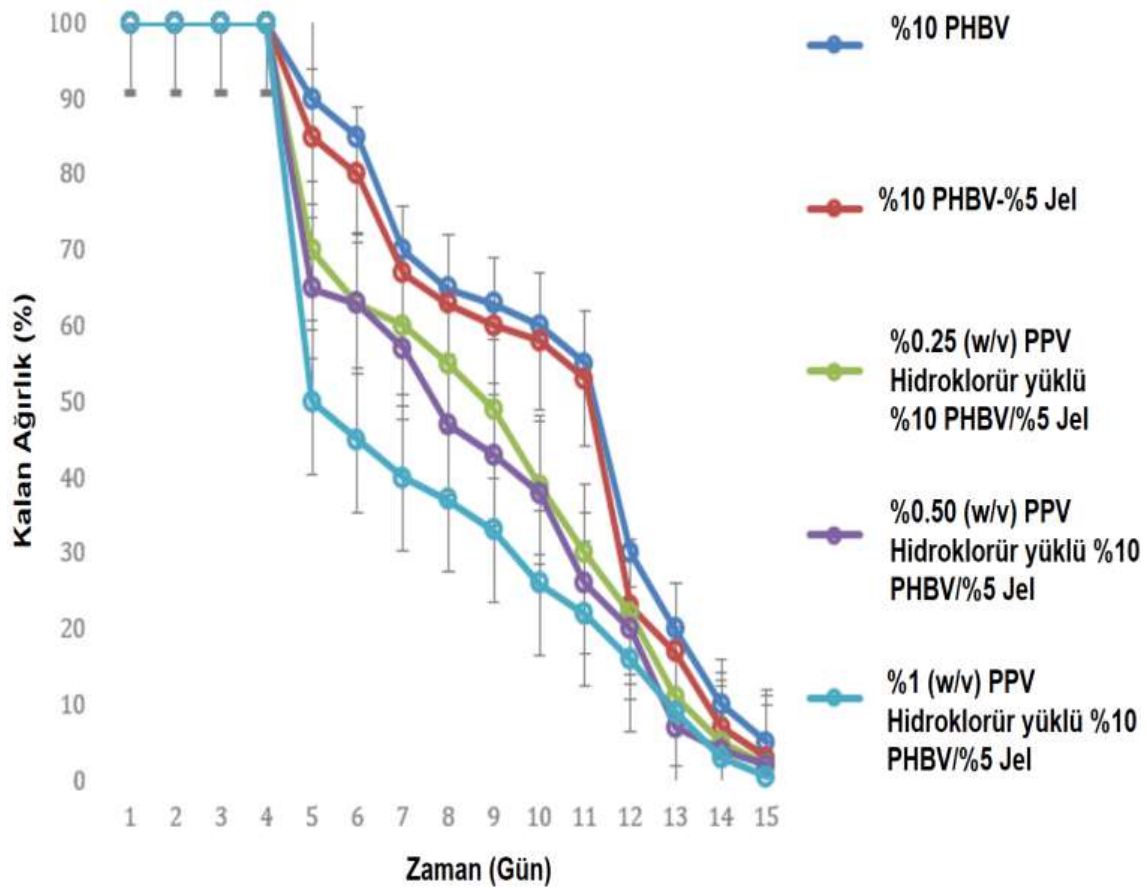


Şekil 4.39. PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran su temas açısı görüntüleri (%10 PHBV, %10 PHBV/%5 Jel, %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel ve %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar).

4.2.9. *In Vitro* Biyodegradasyon Çalışmaları

PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membranlar, 37°C'de, 3 mg lizozim (104 unit/mL) ve 10 ml PBS içeren (pH 7.4, 0.1M) çözelti ortamında 15 gün boyunca biyodegradasyonları izlenmiş ve yüzde kalan ağırlık verileri kaydedilmiştir. İncelenen tüm nanofiber membran yapılarında, 15 günlük degradasyon süresince devamlı ve önemli bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. 5. günden sonra membran yüzeylerinde hasarlar, kıvrılma, parçalanma, yırtılma, membran yapısının bozulması ve fiber agregasyonu gibi belirgin morfolojik değişimler gözlenmeye başlanmış ve 15 günlük biyodegradasyon süresi boyunca devam etmiştir. 15 günün sonunda nanofiber membran yapıların ağırlık kaybı benzer olsa da, 5. ve 15. günler arasındaki günlerde PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapıların biyolojik bozunmaları, %10 PHBV nanofiber membranlara göre daha hızlı bir

şekilde gerçekleşmiştir. Ayrıca, biyolojik bozunma sonuçları, PPV hidroklorür oranının artmasıyla nanofiber membranların daha hızlı bozunduğunu göstermiştir. Bu durum, fiziksel olarak membran yapılarından gözlemlenebilir bir durumdur. Membranlar esnek olmayıp, kırılabilir ve gevrek yapıdadır. Bu membranların biyolojik bozunum durumları da bu özellik sebebiyle daha hızlı meydana gelmiştir [333-335]. 15. gün sonunda en çok bozunma oranı %0.5 kuru ağırlık kalıntısı ve %99.5 oranında biyolojik bozunmaya uğrayan %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranı olmuştur. PPV hidroklorür etken madde oranı arttıkça biyodegradasyon süreci hızlanmaktadır. PPV hidroklorür içeriği arttıkça toksik etki artmaktadır. Bu toksik etki biyodegradasyon sürecini hızlandırmaktadır [336-342]. PHBV, PHBV/Jel ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membranların PBS-lizozim çözeltisi içerisindeki *in vitro* biyodegradasyonu Şekil 4.40.'da yer almaktadır.



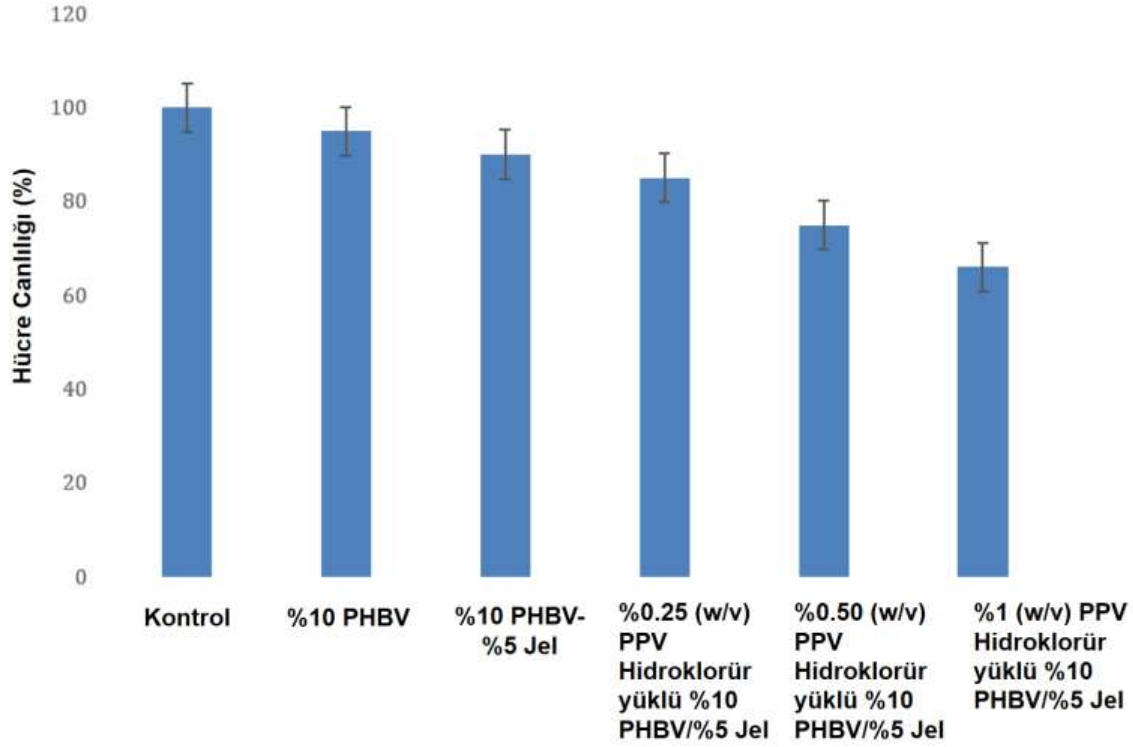
Şekil 4.40. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlara PBS-lizozim çözeltisi içerisindeki *in vitro* degradasyonu.

4.3. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür Yüklü PHBV/Jel Nanofiber Membran Yapıların Hücre Kültür Çalışmaları

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlara yapıların hücre kültürü çalışmaları kapsamında nanofiber membranların hücreler ile etkileşimi incelenmiştir. Biyouyumluluk testleri ile hücre yapışma/proliferasyon çalışmaları yapılmıştır. *In vitro* sitotoksosite testi (MTT) ile hücre tutunma ve proliferasyon çalışmalarında L929 fare fibroblast hücre hattı kullanılmıştır. MTT testi, hücre canlılığının belirlenmesinde kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. 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. MTT analizi sonrası oluşan formazan kristallerinin yoğunluğu, ortamda bulunan canlı hücre sayısı ile orantılıdır. Bu nedenle, *in vitro* sitotoksosite ve hücre proliferasyon çalışmalarında hücre canlılığının belirlenmesinde bu yöntemden yararlanılmıştır. Hücre proliferasyonu ayrıca FEGSEM morfolojik analizleri ile de incelenmiştir.

4.3.1. *In Vitro* Sitotoksosite Testi (MTT)

PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların biyouyumluluk testleri gerçekleştirilmiştir. L929 fare fibroblast hücrelerinin PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapıların ekstraksiyon vasatı ile 24 saatlik inkübasyon sonrası hücre canlılığı MTT testi ile belirlenmiştir. L929 fare fibroblast hücrelerinin taze kültür vasatı (Kontrol: TCPS) ve PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 24 saatlik inkübasyon sonucu % hücre canlılığı Şekil 4.41.'de verilmiştir.



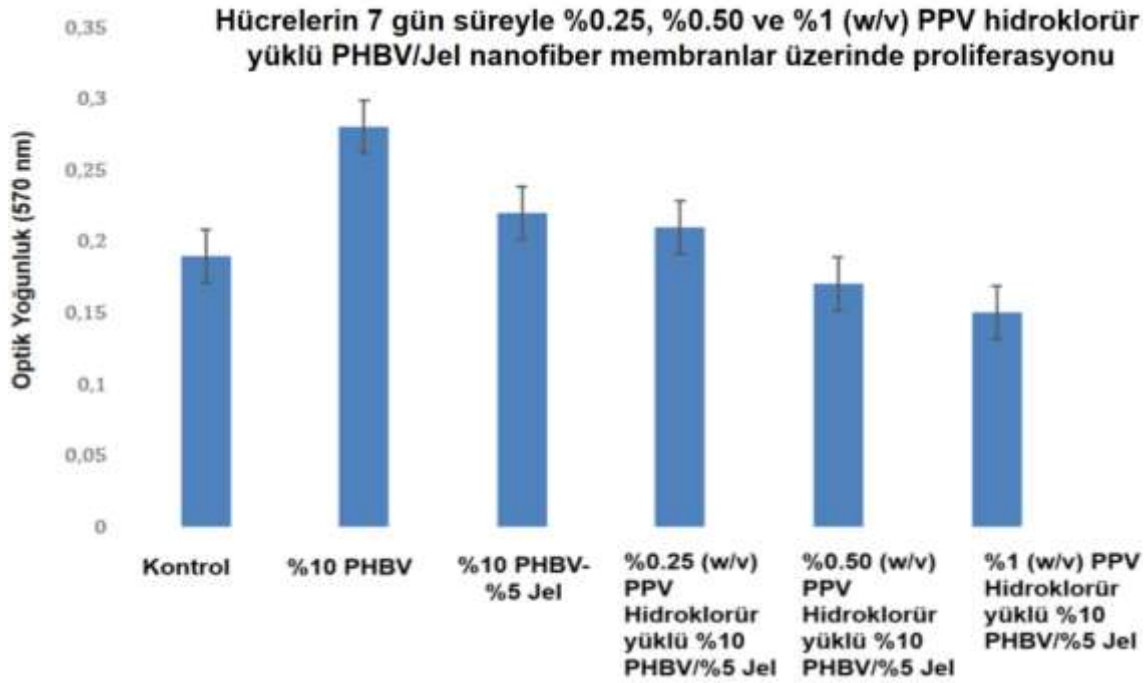
Şekil 4.41. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 24 saatlik inkübasyon sonucu % hücre canlılığı.

Şekil 4.41.'de PHBV, PHBV/Jel, %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar ile kültüre edilmiş hücrelerin % canlılığı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında azalan bir grafik elde edilmiştir. L929 fare fibroblast hücre hattına PPV hidroklorür arttıkça ve etken madde artışına bağlı olarak toksik etki göstermiştir. Kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmada hücre canlılığı PHBV, PHBV/Jel, %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar ekstraksiyon vasatında azalma göstermiştir. %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar ve PPV hidroklorür oranı arttıkça hücre canlılığı azalış göstererek kontrol grubundan daha düşük çıkmıştır. Bu durumun sebebi PPV hidroklorür salınan ortamda % hücre canlılığını azaltmıştır [348-350].

4.3.2. Hücre Tutunması ve Proliferasyonu

PHBV/Jel nanofiber membran yapılar üzerindeki hücre tutunma/proliferasyonu biyokimyasal analizler ve FEGSEM analizleri ile incelenmiştir. PHBV/Jel ve PPV

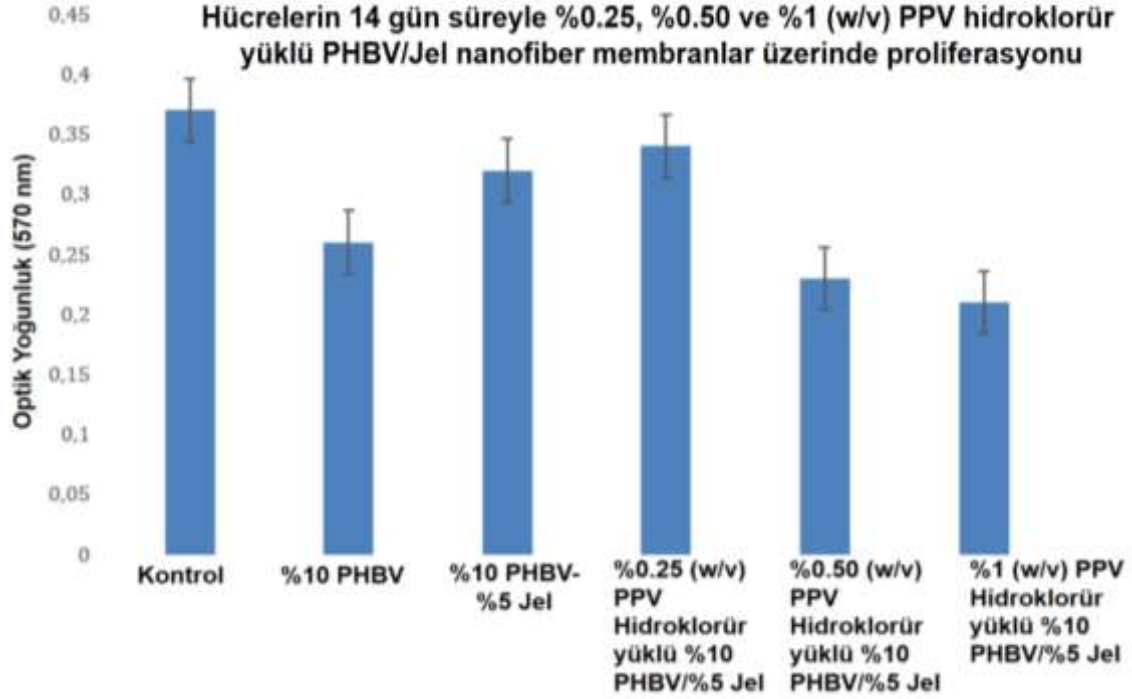
hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapılarının L929 fare fibroblast hücreleri ile 7 günlük inkübasyonu sonunda bu yapılar üzerindeki hücre tutunma/proliferasyon FEGSEM görüntüleri Şekil 4.42.'de verilmiştir.



Şekil 4.42. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapılarına ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonu (Hücreler 7 gün süreyle %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar ve TCPS substratlarıyla (kontrol) kültüre edilmiştir).

Şekil 4.42.'de hücreler 7 gün süreyle %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membran ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir. Buna göre 7 günlük inkübasyon sonrası, PHBV ve farklı konsantrasyonlarda (%0.25, %0.50 ve %1 (w/v)) PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membranlarda PPV hidroklorür oranı arttıkça optik yoğunluk azalmıştır, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında optik yoğunluğun belirgin bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, PHBV ve farklı konsantrasyonlarda PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membranların L929 fare fibroblast hücrelerine karşı toksik bir etkisinin olduğunu, PPV hidroklorür oranı arttıkça hücre tutunması, büyümesi ve proliferasyonun azaldığı belirlenmiştir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında membranlarda hücre proliferasyonunun azalmasının nedeni, nanofiber yapıların lif yapılaşmasının bozulması ve aglomerasyon olarak açıklanmaktadır.

Hücreler 14 gün süreyle %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir. Proliferasyon derecesi, MTT testi ile ölçülmüştür Şekil 4.43.'de verilmiştir.

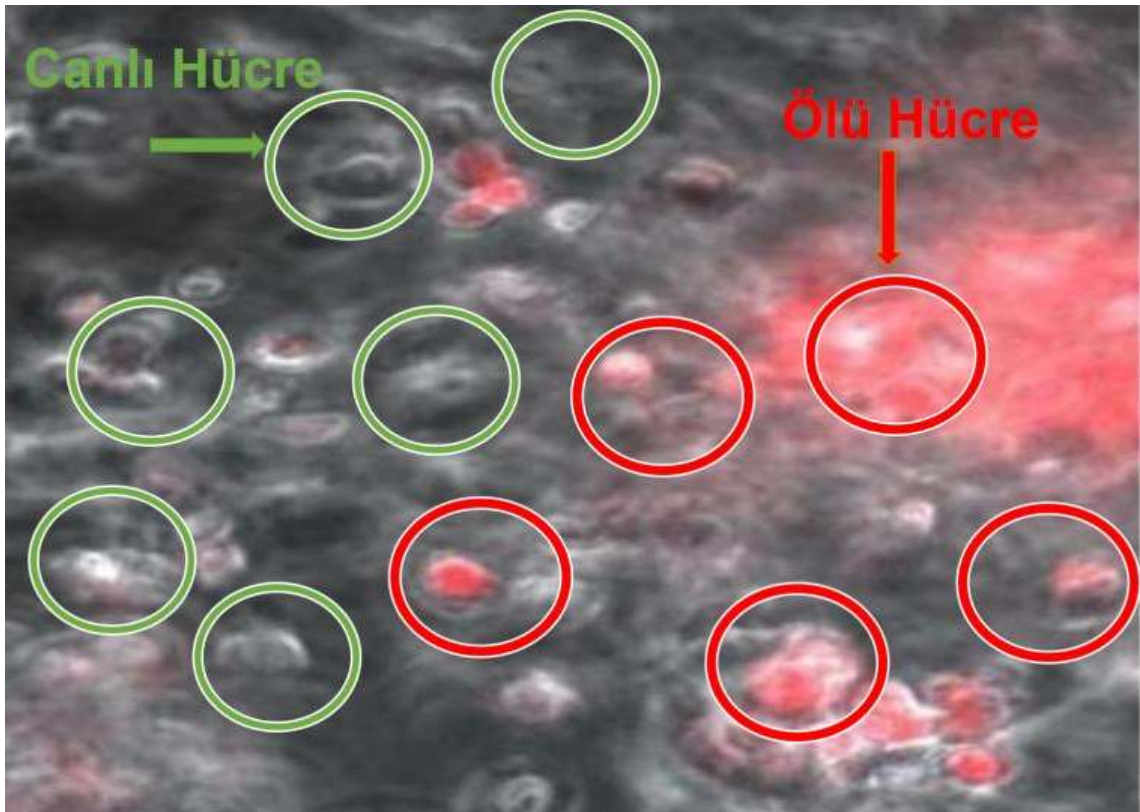


Şekil 4.43. PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran yapılarına ekilen L929 fare fibroblast hücrelerinin proliferasyonu (Hücreler 14 gün süreyle %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir).

Şekil 4.43.'de hücreler 14 gün süreyle %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membran ve TCPS substratlarıyla (Kontrol) kültüre edilmiştir. Buna göre, 14 günlük inkübasyon sonrası kontrol grubu (TCPS) ile PPV hidroklorür içermeyen ve PPV hidroklorür yüklü nanofiber membran yapıları üzerinde kültüre olan fibroblast hücre yoğunluğunun 7. güne göre hem kontrol grubunda hem de bütün nanofiber membran yapısında azaldığını tespit edilmiştir. Bu süre sonunda PPV hidroklorür yüklenenlere göre PPV hidroklorür içermeyen nanofiber membran yapılarında optik yoğunlukta gözlemlenen artış, PHBV'nin su iticiliğinin yanı sıra PPV hidroklorür yüklü nanofiber membran yapılarına göre daha yüksek ortalama fiber çapları ile açıklanmaktadır. Su iticilik, nanofiber membranların biyolojik performansına (hücre tutunması, çoğalması, proliferasyon vb.) etki eden en önemli yüzey özelliklerindedir. PPV hidroklorür artışına

bağlı olarak fiber yapısının bozulması ve aglomerasyon ile hücrelerin nanofiber yüzeylere tutunabilecekleri ve proliferere olabilecekleri ortam sağlanamamıştır. Ayrıca %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranların optik yoğunluğunun daha az artış göstermesinin nedeni olarak da, PPV hidroklorürün *in vitro* salımının %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü PHBV/jel nanofiber membran yapılarına kıyasla daha düşük olması gösterilebilmektedir. PPV hidroklorür salım çalışmaları, nanofiber membran yapısında artan PPV hidroklorür konsantrasyonuna bağlı olarak PPV hidroklorür yüklenmesi salım hızının da azaldığını göstermektedir. Dolayısıyla PPV hidroklorür yüklü bu nanofiber membranların yapıların hücre uyumluluğu PPV hidroklorür bu yapılardan salım hızına göre değişmektedir.

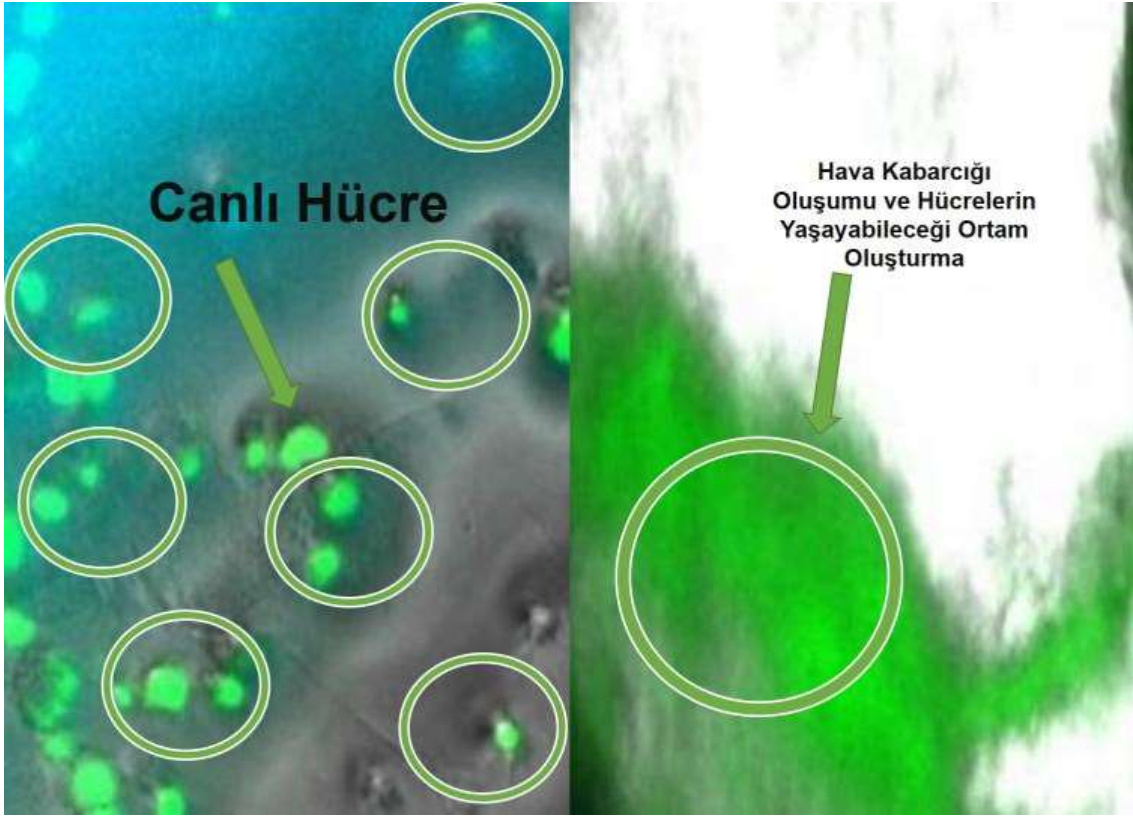
%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel en ideal hücre tutunması ve proliferasyon göstermiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların 24. saat canlı (boyanmamışlar) ve ölü hücreler (kırmızı) gösterimi Şekil 4.44.'te verilmiştir.



Şekil 4.44. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların 24. saat canlı (boyanmamışlar) ve ölü hücreler (kırmızı) gösterimi.

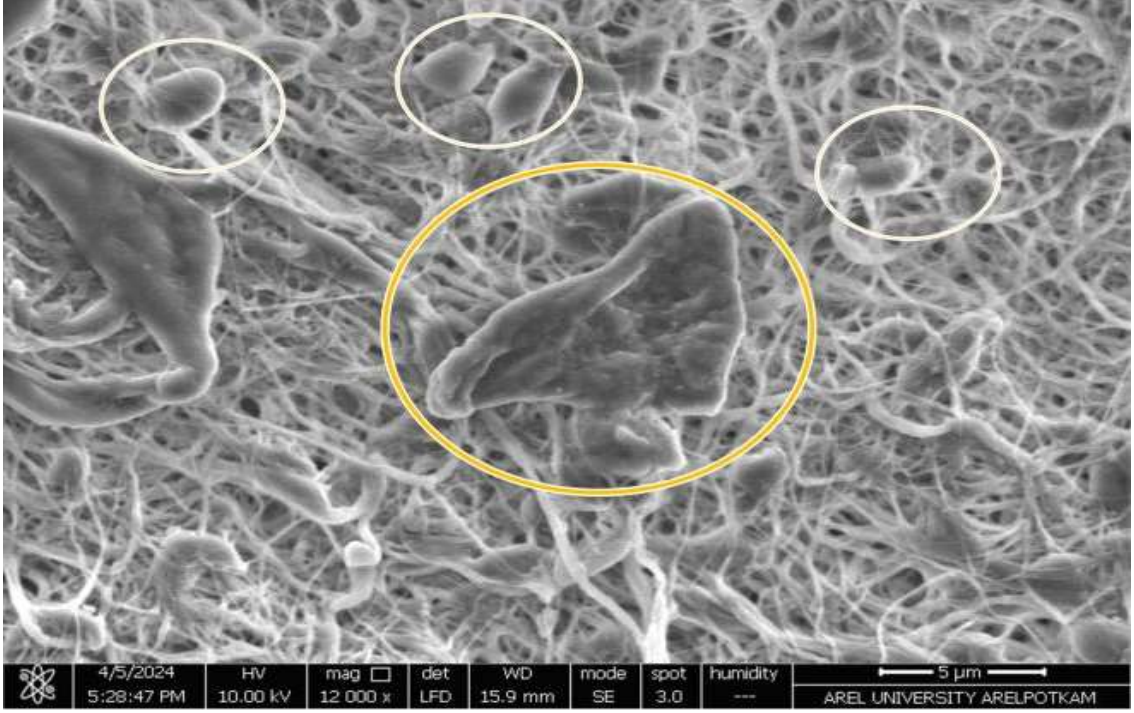
-

%0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların 24. saat hücre canlılığı görüntüsü Şekil 4.45.'te yer almaktadır.

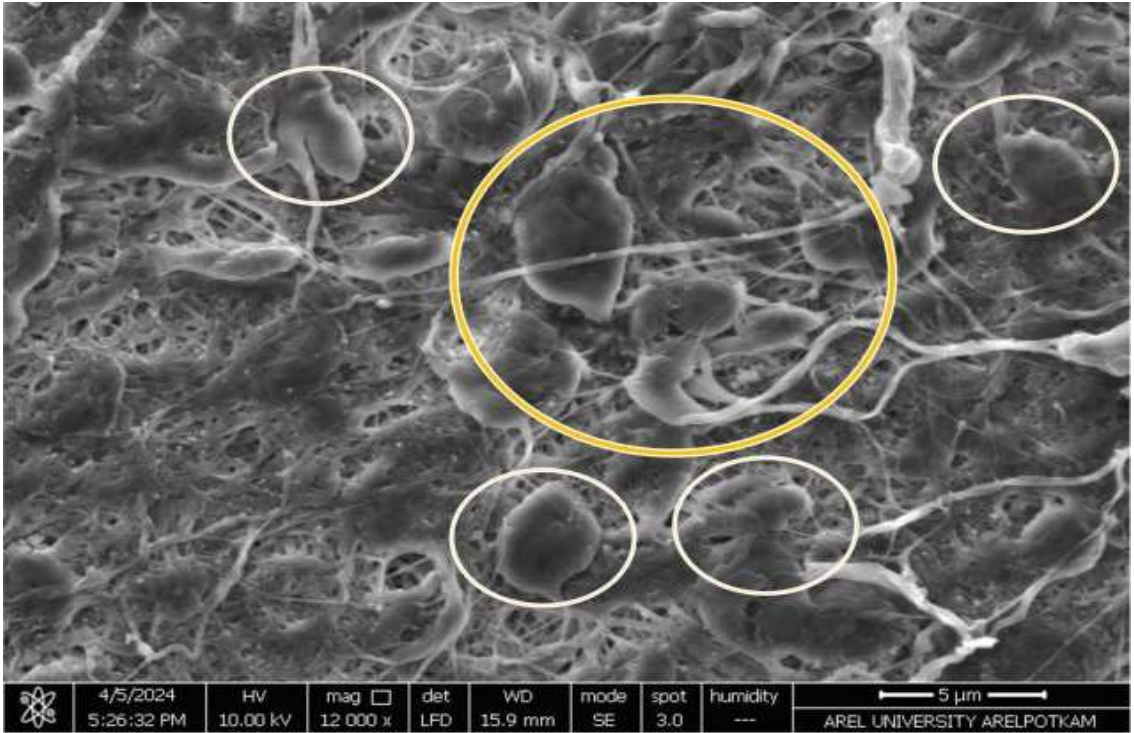


Şekil 4.45. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranların 24. saat hücre canlılığı görüntüsü (Yeşil boyanmışlar canlı hücreleri temsil etmekte).

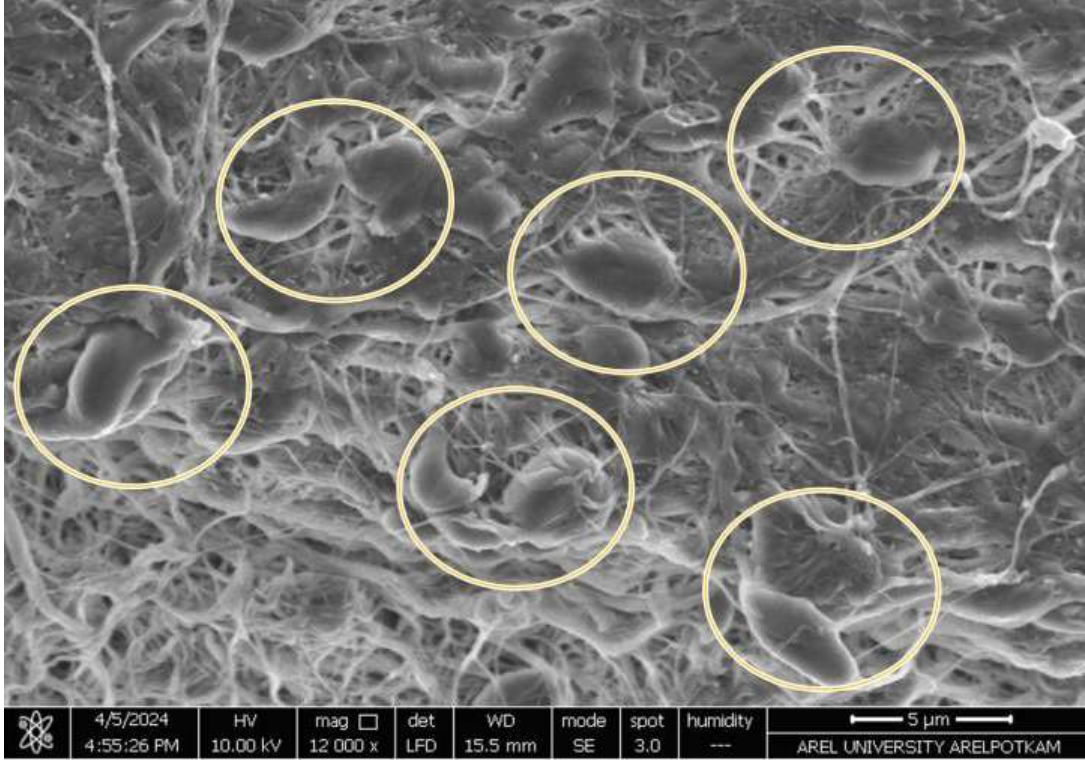
PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membran L929 fare fibroblast hücreleri ile 14 günlük inkübasyonu sonunda bu yapılar üzerindeki hücre tutunma/proliferasyon FEGSEM görüntüleri Şekil 4.46.-Şekil 4.50.'de verilmiştir.



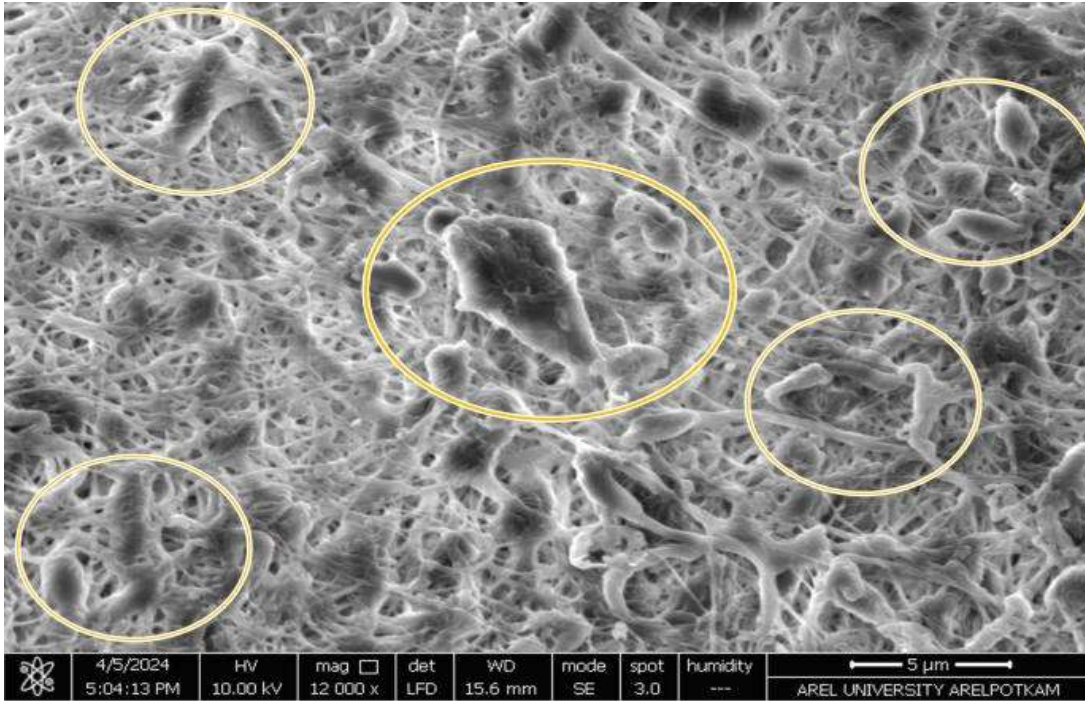
Şekil 4.46. %10 PHBV nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü ve tutunan hücrelerin gösterimi. (Görüntü 12000X de alınmıştır).



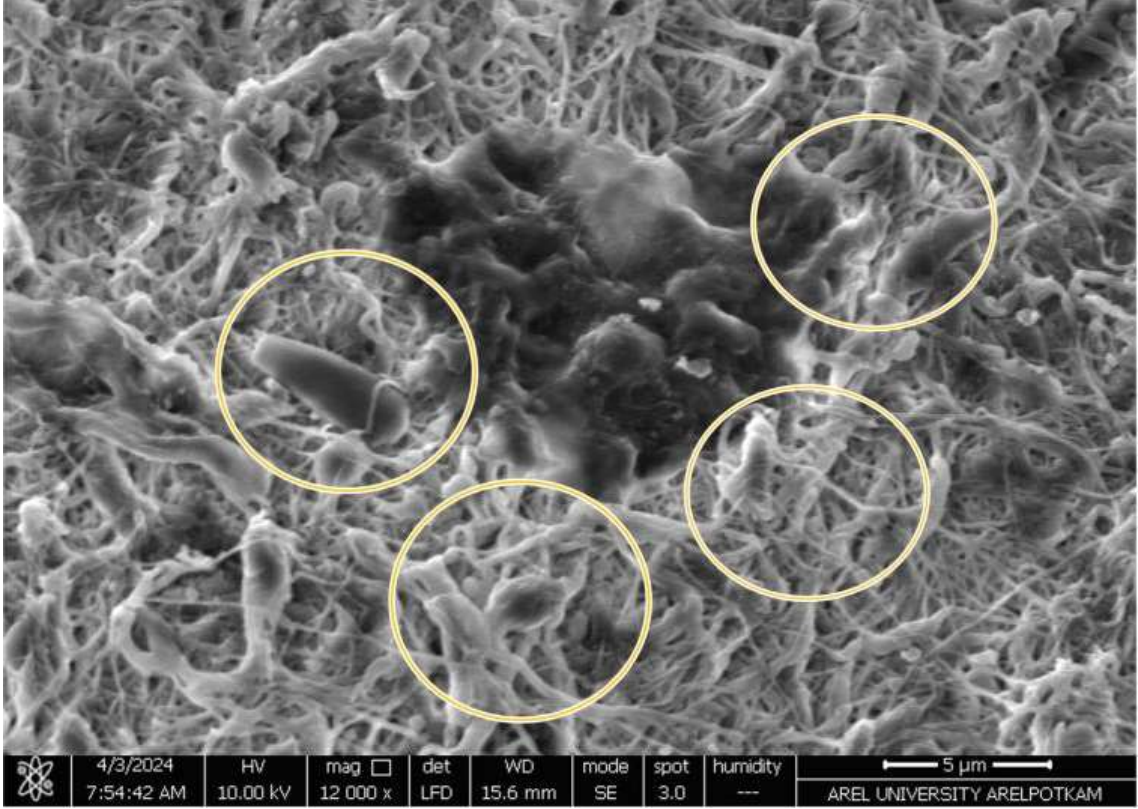
Şekil 4.47. %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü ve tutunan hücrelerin gösterimi. (Görüntü 12000X de alınmıştır).



Şekil 4.48. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü ve tutunan hücrelerin gösterimi (Görüntü 12000X de alınmıştır).



Şekil 4.49. %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü ve tutunan hücrelerin gösterimi (Görüntü 12000X de alınmıştır).



Şekil 4.50. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüsü (Görüntü 12000X de alınmıştır).

Şekil 4.46-Şekil 4.50.'ye göre nanofiber membranlar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 14 günlük FEGSEM görüntüleri alınmıştır. Yüzey pürüzlülüğü kaynaklı hücrelerin tutunması daha yüksek olurken, PPV hidroklorür oranı arttıkça hücre tutunmaları zayıflamıştır. Bu durumun sebebi olarak PPV hidroklorür oranının artması ve artışa bağlı olarak fiber kırılmaları, aglomerasyon ve fiber kalınlaşmaları gösterilmektedir. Bu zayıflık sonucu hücreler tutunamamakta ve proliferasyon değerleri azalmaktadır [348-350].

5. YORUM

Bu tez çalışması kapsamında üretral onarımda kullanılmak üzere, farklı konsantrasyonlara sahip (%0.25, %0.50 ve %1 (w/v)) Papaverin (PPV) hidroklorür yüklü PHBV/Jelatin (Jel) nanofiber membranların elektroğirme yöntemiyle sentezlenerek karakterize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir:

Viskozite ölçüm sonuçlarına göre, %10 PHBV çözeltisinin viskozite değeri $553,4 \pm 4,8$ cP olarak elde edilmiştir. %5 Jel katkısı eklendiğinde ise çözelti viskozite değeri düşerek $475,6 \pm 7,6$ cP olmuştur. Bu düşüş, Jel katkısının yumuşatıcı ve plastikleştirici etkisiyle polimer çözeltisinin direncini kırmasından kaynaklanmaktadır. Jel, polimer matrisini yumuşatarak çözeltinin akışkanlığını artırır ve böylece viskozite değerini düşürür. Ayrıca, PPV hidroklorür etken madde oranı arttıkça çözelti viskozitesi aşamalı olarak azalmıştır. PPV hidroklorür, çözeltime dahil edildiğinde polimer matrisinin akışkanlık direncini daha da azaltır ve bu nedenle viskozite değerlerinde düşüş gözlenir. Uygun viskozite, elektroğirme işlemi sırasında düzgün ve homojen nanofiber oluşumunu sağlamak için kritik bir parametredir. Uygun viskozite aralığı, genellikle polimer çözeltisinin fiber formasyonunu kolaylaştıran ve partikül oluşumunu minimize eden 300-600 cP aralığında olmalıdır. Bu aralık dışında, özellikle düşük viskozite değerlerinde, fiber oluşumu yerine partikül oluşumu gözlenir.

Morfolojik analiz sonuçlarına göre, FEGSEM görüntüleri üzerinden fiber çapları ölçülmüş ve Image J yazılımı kullanılarak histogram ortalama çap değerleri belirlenmiştir. %5 ve %8 PHBV membranlarının FEGSEM görüntülerinde, uygun viskoziteye sahip olmamaları nedeniyle partikül oluşumu gözlenmiştir; bu durum, elektroğirme sırasında spreyleme etkisiyle oluşmuştur. %10 PHBV yüklü çözeltiler ise fiber oluşumu sağlamış ve %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranı en ince lif yapılanmasına sahip olmuştur. Bu membranın ortalama fiber çapı 368.65 nm olarak belirlenmiştir. PPV hidroklorür miktarı arttıkça (%0.50 ve %1 (w/v)), ortalama fiber çap değerleri sırasıyla 478.23 nm ve 497.85 nm'ye yükselmiştir. PPV hidroklorür miktarının artmasıyla lif yapısında bozulma, topaklanma ve lif kalınlaşması meydana gelmiştir. En ince lif yapılaşması ve fiber yönlenmesine sahip olan membran, %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran olarak belirlenmiştir.

Mekanik test sonuçlarına göre, %10 PHBV nanofiber membranın kopma kuvveti 1,882 MPa olarak belirlenmiştir. %5 Jel katkısı sonucunda membran kopma kuvveti azalarak 1,104 MPa'ya düşmüştür. %10 PHBV/%5 Jel membran, %10 PHBV'e göre daha yüksek uzama göstermiştir. Bu durum, Jel polimerinin PHBV liflerini yumuşatarak sertlik değerini düşürmesi ve gevrekleşmeye neden olması sonucu erken kopma meydana gelmesinden kaynaklanmaktadır. PPV hidroklorür oranı arttıkça kopma kuvveti ve membran uzama değerleri düşmüştür. Bu durum, FEGSEM morfolojik görüntülerinde ortaya çıkan fiber kırılmaları ile de kanıtlanmaktadır. Fiber kırılmaları, PPV hidroklorür etken maddesi arttıkça daha belirgin hale gelmiştir. Elastik modül değeri yüksek olduğu zaman membranın dayanıklı olduğu, düşük olduğu durumda ise membranın kırılğan olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Jel katkısı ile elastik modülü düşmüştür. Membran kopma kuvvetide azalmıştır. Ancak %0.25 ve %0.50 (w/v) PPV hidroklorür katıldıkça elastik modülle birlikte kopma kuvvetleri artmıştır. Ancak %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü membran elastik modülü düşmüştür. Bunun yanı sıra membran %uzama değerleri düşerken, %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü membran yapısı %uzama değeri artmıştır. %10 PHBV ve %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlarına nazaran membran kopma kuvveti de giderek düşmüştür. Jel ve PPV hidroklorür maddeleri PHBV zincirleri arasına girerek ana zincirdeki molekül etkileşimlerini azalttığı düşünülmektedir. Bu durum sonucunda % uzama, kopmadaki uzama ve kopmadaki kuvvet değerlerindeki azalmalar meydana gelmiştir. Elastik modülün düşmesi sonucunda membranın dış etkilere (örneğin gerilme, bükülme, çekme) karşı daha hassas hale gelmesine ve hasara daha yatkın olmasına, düşük elastik modül membranın filtreleme verimliliğini düşürmektedir. Yara örtücü materyal performansında membran filtreleme özelliği önemli bir etmendir. Nanofiber membranın yapısal deformasyonlara daha açık olmasına neden olmaktadır. Membranın istenmeyen şekilde şekillenmesine veya deforme olmasına ve membranın çabuk bozulmasına sebep olabilmektedir. PHBV membranların literatür çalışmaları incelendiğinde benzer mekanik analiz sonuçları göstermiştir.

FTIR analizi sonuçlarına göre, PHBV, Jel ve PPV hidroklorür maddelerinin de %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapısında yer aldığı sonucuna ulaşılmıştır. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapısı incelendiğinde 3233.07 cm^{-1} 'de yer alan -OH piki saf jel, 2495.44 cm^{-1} 'de CH grubu PPV hidroklorür ve 1721.16 cm^{-1} 'de yer alan C=O doymuş ester spesifik pikleri yer almaktadır. Bu pikler ayırt edici pikler olup, üç maddeyi içeren

FTIR spektrumunda net bir şekilde belirlenmiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membran yapısında pik bölgelerinin kaydığı ve piklerin şiddetinde azalmalar ve spesifik pik oluşumları meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu durum üç farklı maddenin bir arada kullanıldığını doğrulamıştır. PPV hidroklorür miktarı arttıkça kopma kuvveti ve membran uzama değerlerinin düştüğü ve FTIR spektrumunda pik şiddetlerinin zayıfladığı gözlemlenmiştir. Bu durum, PPV hidroklorür içeriğinin membran yapısındaki artışla doğru orantılı olduğunu ve PPV hidroklorür'ün membran yapısını yumuşatarak liflerin mukavemetini düşürdüğünü göstermektedir.

DSC analizi sonuçlarına göre, %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranın DSC termogramı incelendiğinde PHBV ve Jel nanofiber membranlar arasındaki çalışma sıcaklık aralığı azalmıştır. PPV hidroklorür etken maddesi, Jel termal karakteristik özelliğini iyileştirirken, PHBV'nin termal özelliklerini düşürmektedir. Ancak fazla bir sıcaklık düşüşü olmamasına karşın entalpi değerleri artış göstermiştir. Bu durumun sebebi, erime noktasının düşmesi durumunda entalpi genellikle artmaktadır. Bu koşullarda madde için daha fazla enerjinin harcanması gerekmektedir. Benzer şekilde, erime sıcaklığının artması durumunda entalpi genellikle artar çünkü katıdan sıvıya geçiş daha zor hale gelmekte ve daha fazla enerji ihtiyacı doğmaktadır.

TGA analiz sonuçlarına göre, PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlarda bozunma sıcaklıklarının düştüğü gözlemlenmiştir. PPV hidroklorür etken maddesi, Jel termal karakteristiklerini artırırken, PHBV'nin termal özelliklerini azaltmıştır. Bu durum, PPV hidroklorür miktarının artmasıyla membranın özelliklerinin kötüleştiğini ve istenilen mekanik özelliklere ulaşamayacağını göstermektedir. FEGSEM analizi, %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü membranın yönlendirilmiş lif yapısına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ancak, PPV hidroklorür oranının artmasıyla nanofiber membran yapısındaki liflerin topaklandığı ve kesik kesik oluştuğu gözlemlenmiştir. Bu durum, mekanik özelliklerdeki zayıflamayı ve kopma kuvveti ile membran uzama değerlerinde düşüş olmasına neden olmaktadır. TGA analizi, liflerde oluşan kırık, kalınlaşma ve aglomerasyon nedeniyle membran bozunma sıcaklıklarının azaldığını göstermektedir. Bu azalma, PPV hidroklorür miktarının ve yükleme oranının artmasıyla polimer yapısının bozulmasından kaynaklanmaktadır.

In vitro PPV hidroklorür salım çalışmaları sonuçlarına göre; PPV hidroklorürün nanofiber membran yapılarından kümülatif salımı (%) zamanın fonksiyonu kapsamında kontrollü geciktirilmiş salımını doğrulamıştır. 15. dakikanın sonunda, tüm PHBV/Jel nanofiber

membran yapılarından salınan PPV hidroklorür oranının oldukça benzer olduğu tespit edilmiştir. 300. dakikanın sonunda ise, bu nanofiber membran yapılardan salınan PPV hidroklorürün kümülatif salım yüzdeleri %43 ile %74 arasında değişim göstermiştir. En yüksek kümülatif salım yüzdesi %74 olup, bu değer %1 (w/v) PPV hidroklorür içeren PHBV/Jel nanofiber membran yapısında elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, PPV hidroklorür yükleme oranının artmasıyla, ortama salınan etken madde oranında belirgin bir artış olduğu saptanmıştır. Nanofiber membranlardaki PPV hidroklorür miktarının artışı, kümülatif salım yüzdesi hızını doğrudan arttırmıştır. Bu durum, nanofiber membran yapısındaki PPV hidroklorür oranının artmasıyla birlikte daha hızlı biyodegradasyon gerçekleşmesi ve dolayısıyla PPV hidroklorürün daha hızlı salınması ile açıklanabilmektedir.

Temas açısı testi sonuçlarına göre, %10 PHBV nanofiber membranın temas açısı 141.3° iken, %10 PHBV/%5 Jel membranın temas açısı 93.2° olarak belirlenmiştir. Jel ilavesi PHBV nanofiberin kristal yapısı yumuşaması sonucunda suya karşı ilgisi arttıkça temas açısı azalmıştır. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membranın temas açısı 83.7° , %0.50 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membranında ise 48.6° olarak ölçülmüştür. PPV hidroklorür, hidrofilik bir madde olduğundan membran yapılarında kullanımı arttıkça nanofiber membranlar hidrofilik yapıya dönüşmektedir. %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membranın temas açısı θ değeri ise 48.6° olarak belirlenmiştir. %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü membranlar aynı temas açısı değerine sahiptir. Bu durum, nanofiber membran öncesi yapılan viskozite analizi sonuçlarındaki düşüşü ve diğer analizlerdeki azalmayı açıklamaktadır.

In vitro biyodegradasyon çalışmaları sonuçlarına göre; nanofiber membran yapılarında, 15 gün boyunca sürekli ve belirgin ağırlık kaybı gözlemlenmiştir. 5. günden itibaren membran yüzeylerinde belirgin morfolojik değişimler başlamış; kıvrılma, parçalanma, yırtılma, solma ve fiber agregasyonu gibi. 15 gün sonunda, nanofiber membranların ağırlık kaybı benzer olsa da PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel membranların biyolojik bozunması %10 PHBV membranlara göre daha hızlı gerçekleşmiştir. Biyolojik bozunma sonuçları, PPV hidroklorür oranının artmasıyla nanofiber membranların daha hızlı bozunduğunu göstermiştir. Bu durum, fiziksel olarak gözlemlenebilir bir durumdur; membranlar esnek değil, kırılkan ve gevrek yapıdadır. 15. gün sonunda, en yüksek bozunma oranı %0,5 kuru ağırlık kalıntısı ve %99.5 oranında biyolojik bozunma gösteren %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranı olmuştur. PPV

hidroklorür etken madde oranı arttıkça biyodegradasyon süreci hızlanmış ve bu toksik etki biyodegradasyon sürecini hızlandırmıştır.

In vitro sitotoksisite testi (MTT) sonucunda PHBV, PHBV/Jel ve PPV hidroklorür yüklü PHBV/Jel nanofiber membranlar üzerinde kültüre olmuş L929 fare fibroblast hücrelerinin 24 saatlik inkübasyon sonucu % hücre canlılığı elde edilmiştir. L929 fare fibroblast hücre hattına PPV hidroklorür arttıkça ve etken madde artışına bağlı olarak toksik etki göstermiştir. %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiber membranlar ve PPV hidroklorür oranı arttıkça hücre canlılığı azalış göstererek kontrol grubundan daha düşük çıkmıştır. Bu durumun sebebi PPV hidroklorür salınan ortamda % hücre canlılığını azaltmıştır.

Hücre tutunması ve proliferasyonu sonuçlarına göre, FEGSEM analizleri, hücrelerin nanofiber membranlara yapıştığını ve çoğaldığını göstermiştir. Ancak, PPV hidroklorür konsantrasyonundaki artışın hücre çoğalmasını azalttığı tespit edilmiştir. Özellikle, %0.50 ve %1 (w/v) PPV hidroklorür yüklü nanofiberlerde en belirgin değişiklikler gözlemlenmiştir. Bu artışın, nanofiberlerdeki pürüzlülüğü azaltarak hücrelerin tutunmasını zorlaştırdığı saptanmıştır. PPV hidroklorür konsantrasyonu arttıkça optik yoğunluğun azaldığı ve bunun hücrelerin tutunma ve çoğalmasını engellediği gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hücre proliferasyonunun azalmasının nedeni nanofiber yapılarının bozulması ve hücre tutunmasının azalması olarak belirlenmiştir. %0.25 (w/v) PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiberler en uygun hücre tutunma ve çoğalma göstermiştir.

Yapılan bu çalışmalar sonucu, hazırlanan %0.25, %0.50 ve %1 (w/v) oranlarındaki PPV hidroklorür yüklü %10 PHBV/%5 Jel nanofiberlerin üretral yaralanmalarda kullanılabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar ve yapılan analizler doğrultusunda, gelecekteki araştırmalar ve uygulamalar için aşağıdaki öneriler sunulmaktadır:

- Nanofiber üretiminde birden fazla etken madde kullanılarak, malzeme özellikleri geliştirilebilir. Bu sayede, iki farklı etken maddenin birlikte eklenmesi, membranların işlevselliğini ve etkinliğini artırabilir.
- Hidrofilik (örneğin polietilen oksit, PEO; polivinil alkol, PVA) ve hidrofobik (örneğin polikaprolakton, PCL; polilaktik asit, PLA) polimerler ile karışımlar elde

edilerek membran üretimleri gerçekleştirilebilir. Bu karışımlar, lif kırılmalarını ve aglomerasyonu engelleyerek daha dayanıklı ve etkili nanofiber membranlar elde edilmesini sağlayabilir.

- Canlı ortamında (in vivo) biyomalzemelerin fonksiyonlarını ve etkinliklerini gözlemlemek amacıyla hayvan deneyleri gerçekleştirilebilir. Bu çalışmalar, geliştirilen nanofiber membranların klinik uygulamalara geçişini hızlandırabilir.
- Nanopartikül formunda etken madde kapsülleme ve kontrollü ilaç salım çalışmaları gerçekleştirilebilir. Bu sayede, hedeflenen bölgeye spesifik ve uzun süreli ilaç salımı sağlanabilir.
- Geliştirilen nanofiber membranlar, sadece üretral onarım için değil, aynı zamanda diğer doku onarımları ve rejeneratif tıp uygulamaları için de kullanılabilir. Farklı doku tiplerine yönelik özelleştirilmiş nanofiber yapıların geliştirilmesi, bu membranların çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılma potansiyelini artırabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Fowler Jr, F. J., Barry, M. J., Lu-Yao, G., Roman, A., Wasson, J., Wennberg, J. E. Patient-reported complications and follow-up treatment after radical prostatectomy. *Urology*, **1993**, 42, 622–629.
2. McAninch, J. W., Santucci, R. A. Genitourinary Trauma. *Campbell's Urology*, **2002**, 4(105).
3. Osman, N. I., Hillary, C., Bullock, A. J., MacNeil, S., Chapple, C. R. Tissue engineered buccal mucosa for urethroplasty: progress and future directions. *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **2015**, 69-83.
4. Kavak, V. Organa Genitalia (Üreme Organları).**2007**, *PUBERTE*, 9.
5. Chen, Z., Bachhuka, A., Wei, F., Wang, X., Liu, G., Vasilev, K., et al. Nanotopography-based strategy for the precise manipulation of osteoimmunomodulation in bone regeneration. *Nanoscale*, **2017**, 9, 18129–52.
6. Gogotsi, Y. *Nanotubes and Nanofibers.*, 1st Edition, Taylor & Francis Group, **2006**.
7. Ren, Y., Huang, L., Wang, Y., Mei, L., Fan, R., He, M., et al.. Stereocomplexed electrospun nanofibers containing poly (lactic acid) modified quaternized chitosan for wound healing. *Carbohydr. Polym.*, **2020**, 247, 116754.
8. Adeli H, Khorasani MT, Parvazinia M. Wound dressing based on electrospun PVA/chitosan/starch nanofibrous mats: Fabrication, antibacterial and cytocompatibility evaluation and *in vitro* healing assay. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, 122, 238–254.
9. Memic A, Abudula T, Mohammed HS, Joshi Navare K, Colombani T, Bencherif SA. Latest Progress in Electrospun Nanofibers for Wound Healing Applications. *ACS Appl. Bio. Mater.* **2019**, 2, 952–969.
10. Augustine R, Rehman SRU, Ahmed R, Zahid AA, Sharifi M, Falahati M, Hasan A. Electrospun chitosan membranes containing bioactive and therapeutic agents for enhanced wound healing. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, 156, 153–170.
11. Zhu Z, Liu Y, Xue Y, Cheng X, Zhao W, Wang J, He R, Wan Q, Pei X. Tazarotene Released from Aligned Electrospun Membrane Facilitates Cutaneous Wound Healing by Promoting Angiogenesis. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2019**, 11, 36141–36153.
12. Chen Q, Wu J, Liu Y, Li Y, Zhang C, Qi W, Yeung KWK, Wong TM, Zhao X, Pan H. Electrospun chitosan/PVA/bioglass Nanofibrous membrane with spatially designed structure for accelerating chronic wound healing. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **2019**, 105, 110083.
13. Fang Y, Zhu X, Wang N, Zhang X, Yang D, Nie J, Ma G. Biodegradable core-shell electrospun nanofibers based on PLA and γ -PGA for wound healing. *Eur. Polym. J.* **2019**, 116, 30–37.
14. Perumal G, Pappuru S, Chakraborty D, Nandkumar AM, Chand DK, Doble M. Synthesis and characterization of curcumin loaded PLA—Hyperbranched polyglycerol electrospun blend for wound dressing applications. *Mater. Sci. Eng. C.* **2017**, 76, 1196–1204.
15. Khan N, Misra M, Koch T, Mohanty A. Applications of electrospun nanofibers in the biomedical field. *SURG J.* **2012**, 5, 63–73.

16. Miguel SP, Sequeira RS, Moreira AF, Cabral CSD, Mendonca AG, Ferreira P, Correia IJ. An overview of electrospun membranes loaded with bioactive molecules for improving the wound healing process. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2019**, 139, 1–22.
17. Zhang S, Ye J, Sun Y, Kang J, Liu J, Wang Y, Li Y, Zhang L, Ning G. Electrospun fibrous mat based on silver (I) metal-organic frameworks-poly(lactic acid) for bacterial killing and antibiotic-free wound dressing. *Chem. Eng. J.* **2020**, 390, 124523.
18. Dong Y, Zheng Y, Zhang K, Yao Y, Wang L, Li X, Yu J, Ding B. Electrospun Nanofibrous Materials for Wound Healing. *Adv. Fiber Mater.* **2020**, 2, 212–227.
19. Ilomuanya MO, Adebona AC, Wang W, Sowemimo A, Eziegbo CL, Silva BO, Adeosun SO, Joubert E, De Beer D. Development and characterization of collagen-based electrospun scaffolds containing silver sulphadiazine and *Aspalathus linearis* extract for potential wound healing applications. *SN Appl. Sci.* **2020**, 2, 1–13.
20. Huang WC, Ying R, Wang W, Guo Y, He Y, Mo X, Xue C, Mao X. A Macroporous Hydrogel Dressing with Enhanced Antibacterial and Anti-Inflammatory Capabilities for Accelerated Wound Healing. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, 30, 2000644.
21. Qu J, Zhao X, Liang Y, Xu Y, Ma PX, Guo B. Degradable conductive injectable hydrogels as novel antibacterial, anti-oxidant wound dressings for wound healing. *Chem. Eng. J.* **2019**, 362, 548–560.
22. Koivuniemi R, Hakkarainen T, Kiiskinen J, Kosonen M, Vuola J, Valtonen J, Luukko K, Kavola H, Yliperttula M. Clinical study of nanofibrillar cellulose hydrogel dressing for skin graft donor site treatment. *Adv. Wound Care.* **2020**, 9, 199–210.
23. Kong D, Zhang Q, You J, Cheng Y, Hong C, Chen Z, Jiang T, Hao T. Adhesion loss mechanism based on carboxymethyl cellulose-filled hydrocolloid dressings in physiological wounds environment. *Carbohydr. Polym.* **2020**, 235, 115953.
24. Chin C-Y, Ng P-Y, Ng S-F. *Moringa oleifera* standardised aqueous leaf extract-loaded hydrocolloid film dressing: *In vivo* dermal safety and wound healing evaluation in STZ/HFD diabetic rat model. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2019**, 9, 453–468.
25. Chamorro AM, Thomas MCV, Mieras AS, Leiva A, Martínez MP, Yeste MMSH, Grupo U. Multicenter randomized controlled trial comparing the effectiveness and safety of hydrocellular and hydrocolloid dressings for treatment of category II pressure ulcers in patients at primary and long-term care institutions. *Int. J. Nurs. Stud.* **2019**, 94, 179–185.
26. Zhang K, Bai X, Yuan Z, Cao X, Jiao X, Li Y, Qin Y, Wen Y, Zhang X. Layered nanofiber sponge with an improved capacity for promoting blood coagulation and wound healing. *Biomaterials.* **2019**, 204, 70–79.
27. Khalid A, Naeem N, Khan T, Wahid F. Polysaccharide Composites as a Wound-Healing Sponge. *Adv. Appl. Polysacch. Their Compos.* **2020**, 73, 1.
28. Hao Y, Zhao W, Zhang L, Zeng X, Sun Z, Zhang D, Shen P, Li Z, Han Y, Li P. Bio-multifunctional alginate/chitosan/Fucoidan sponges with enhanced angiogenesis and hair follicle regeneration for promoting full-thickness wound healing. *Mater. Des.* **2020**, 193, 108863.
29. Lazzeri L, Cascone MG, Danti S, Serino LP, Moscato S, Bernardini N. Gelatine/PLLA sponge-like scaffolds: Morphological and biological characterization. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2007**, 18, 1399–1405.

30. Zhao WY, Fang QQ, Wang XF, Wang XW, Zhang T, Shi BH, Zheng B, Zhang DD, Hu YY, Ma L. Chitosan-calcium alginate dressing promotes wound healing: A preliminary study. *Wound Repair Regen.* **2020**, 28, 326–337.
31. Xing L, Ma Y, Tan H, Yuan G, Li S, Li J, Jia Y, Zhou T, Niu X, Hu X. Alginate membrane dressing toughened by chitosan floccule to load antibacterial drugs for wound healing. *Polym. Test.* **2019**, 79, 106039.
32. Zare-Gachi M, Daemi H, Mohammadi J, Baei P, Bazgir F, Hosseini-Salekdeh S, Baharvand H. Improving anti-hemolytic, antibacterial and wound healing properties of alginate fibrous wound dressings by exchanging counter-cation for infected full-thickness skin wounds. *Mater. Sci. Eng. C.* **2020**, 107, 110321.
33. Bi H, Feng T, Li B, Han Y. *In Vitro and In Vivo* Comparison Study of Electrospun PLA and PLA/PVA/SA Fiber Membranes for Wound Healing. *Polymers.* **2020**, 12, 839.
34. Alberti TB, Coelho DS, de Prá M, Maraschin M, Veleirinho B. Electrospun PVA nanoscaffolds associated with propolis nanoparticles with wound healing activity. *J. Mater. Sci.* **2020**, 55, 1–16.
35. Dhivya S, Vijaya Padma V, Santhini E. Wound dressings—a review. *Biomedicine.* **2015**, 5, 22.
36. Gong W, Li J, Ren G, Lv L. Wound healing and inflammation characteristics of the submicrometric mats prepared from electrospinning. *J. Bioact. Compat. Polym.* **2018**, 34, 83–96.
37. Safaee-Ardakani MR, Hatamian-Zarmi A, Sadat SM, Mokhtari-Hosseini ZB, Ebrahimi-Hosseinzadeh B, Rashidiani J, Kooshki H. Electrospun Schizophyllan/polyvinyl alcohol blend nanofibrous scaffold as potential wound healing. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, 127, 27–38.
38. Moradkhannejhad L, Abdouss M, Nikfarjam N, Shahriari MH, Heidary V. The effect of molecular weight and content of PEG on *in vitro* drug release of electrospun curcumin loaded PLA/PEG nanofibers. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2020**, 56, 101554.
39. Liu X, Nielsen LH, Qu H, Christensen LP, Rantanen J, Yang M. Stability of lysozyme incorporated into electrospun fibrous mats for wound healing. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2019**, 136, 240–249.
40. Joseph B, Augustine R, Kalarikkal N, Thomas S, Seantier B, Grohens Y. Recent advances in electrospun polycaprolactone based scaffolds for wound healing and skin bioengineering applications. *Mater. Today Commun.* **2019**, 19, 319–335.
41. Doderio A, Scarfi S, Pozzolini M, Vicini S, Alloisio M, Castellano M. Alginate-Based Electrospun Membranes Containing ZnO Nanoparticles as Potential Wound Healing Patches: Biological, Mechanical, and Physicochemical Characterization. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2020**, 12, 3371–3381.
42. Zahedi E, Esmaili A, Eslahi N, Shokrgozar MA, Simchi A. Fabrication and Characterization of Core-Shell Electrospun Fibrous Mats Containing Medicinal Herbs for Wound Healing and Skin Tissue Engineering. *Mar. Drugs.* **2019**, 17, 27.
43. Dai X, Liu J, Zheng H, Wichmann J, Hopfner U, Sudhop S, Prein C, Shen Y, Machens HG, Schilling AF. Nano-formulated curcumin accelerates acute wound healing through

- Dkk-1-mediated fibroblast mobilization and MCP-1-mediated anti-inflammation. *NPG Asia Mater.* **2017**, 9, e368.
44. Ullah A, Ullah S, Khan MQ, Hashmi M, Nam PD, Kato Y, Tamada Y, Kim IS. Manuka honey incorporated cellulose acetate nanofibrous mats: Fabrication and *in vitro* evaluation as a potential wound dressing. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, 155, 479–489.
 45. Miao J, Pangule RC, Paskaleva EE, Hwang EE, Kane RS, Linhardt RJ, Dordick JS. Lysostaphin-functionalized cellulose fibers with antistaphylococcal activity for wound healing applications. *Biomaterials.* **2011**, 32, 9557–9567.
 46. Mutlu G, Calamak S, Ulubayram K, Guven E. Curcumin-loaded electrospun PHBV nanofibers as potential wound dressing material. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2018**, 43, 185–193.
 47. Ghorbani S, Eyni H, Tiraihi T, Asl LS, Soleimani M, Atashi A, Beiranvand SP, Warkiani ME. Combined effects of 3D bone marrow stem cell-seeded wet-electrospun poly lactic acid scaffolds on full-thickness skin wound healing. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* **2018**, 67, 905–912.
 48. Malgarim Cordenonsi L, Faccendini A, Rossi S, Bonferoni MC, Malavasi L, Raffin R, Scherman Schapoval EE, Del Fante C, Vigani B, Miele D, et al. Platelet lysate loaded electrospun scaffolds: Effect of nanofiber types on wound healing. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2019**, 142, 247–257.
 49. Cui S, Sun X, Li K, Gou D, Zhou Y, Hu J, Liu Y. Polylactide nanofibers delivering doxycycline for chronic wound treatment. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **2019**, 104, 109745.
 50. Rezvani Ghomi E, Khalili S, Nouri Khorasani S, Esmaeely Neisiany R, Ramakrishna S. Wound dressings: Current advances and future directions. *J. Appl. Polym. Sci.* **2019**, 136, 47738.
 51. Dabiri G, Damstetter E, Phillips T. Choosing a Wound Dressing Based on Common Wound Characteristics. *Adv. Wound Care.* **2016**, 5, 32–41.
 52. Tao G, Cai R, Wang Y, Liu L, Zuo H, Zhao P, Umar A, Mao C, Xia Q, He H. Bioinspired design of AgNPs embedded silk sericin-based sponges for efficiently combating bacteria and promoting wound healing. *Mater. Des.* **2019**, 180, 107940.
 53. Fahimirad S, Ajalloueiian F. Naturally-derived electrospun wound dressings for target delivery of bio-active agents. *Int. J. Pharm.* **2019**, 566, 307–328.
 54. Maleki H, Barani H. Morphological and mechanical properties of drawn poly(l-lactide) electrospun twisted yarns. *Polym. Eng. Sci.* **2018**, 58, 1091–1096.
 55. Azimi B, Milazzo M, Lazzeri A, Berrettini S, Uddin MJ, Qin Z, Buehler MJ, Danti S. Electrospinning Piezoelectric Fibers for Biocompatible Devices. *Adv. Healthc. Mater.* **2019**, 9, 1901287.
 56. Günday C, Anand S, Gencer HB, Munafò S, Moroni L, Fusco A, Donnarumma G, Ricci C, Hatir PC, Türeli NG, et al. Ciprofloxacin-loaded polymeric nanoparticles incorporated electrospun fibers for drug delivery in tissue engineering applications. *Drug Deliv. Transl. Res.* **2020**, 10, 706–720.
 57. Dart A, Bhave M, Kingshott P. Antimicrobial Peptide-Based Electrospun Fibers for Wound Healing Applications. *Macromol. Biosci.* **2019**, 19, e1800488.

58. Yang X, Li L, Yang D, Nie J, Ma G. Electrospun Core–Shell Fibrous 2D Scaffold with Biocompatible Poly (Glycerol Sebacate) and Poly-L-Lactic Acid for Wound Healing. *Adv. Fiber Mater.* **2020**, 2, 105–117.
59. Wang J, Windbergs M. Functional electrospun fibers for the treatment of human skin wounds. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2017**, 119, 283–299.
60. Huang W, Zou T, Li S, Jing J, Xia X, Liu X. Drug-Loaded Zein Nanofibers Prepared Using a Modified Coaxial Electrospinning Process. *AAPS PharmSciTech.* **2013**, 14, 675–681.
61. Yao Z-C, Zhang C, Ahmad Z, Huang J, Li J-S, Chang M-W. Designer fibers from 2D to 3D—Simultaneous and controlled engineering of morphology, shape and size. *Chem. Eng. J.* **2018**, 334, 89–98.
62. Ura DP, Karbowniczek JE, Szewczyk PK, Metwally S, Kopyscianski M, Stachewicz U. Cell Integration with Electrospun PMMA Nanofibers, Microfibers, Ribbons, and Films: A Microscopy Study. *Bioengineering.* **2019**, 6, 41.
63. Wang C, Wang J, Zeng L, Qiao Z, Liu X, Liu H, Zhang J, Ding J. Fabrication of Electrospun Polymer Nanofibers with Diverse Morphologies. *Molecules.* **2019**, 24, 834.
64. Maleki H, Semnani Rahbar R, Saadatmand MM, Barani H. Physical and morphological characterisation of poly(L-lactide) acid-based electrospun fibrous structures: Tuning solution properties. *Plast. Rubber Compos.* **2018**, 47, 438–446.
65. Maleki H, Gharehaghaji AA, Toliyat T, Dijkstra PJ. Drug release behavior of electrospun twisted yarns as implantable medical devices. *Biofabrication.* **2016**, 8, 35019.
66. Barani H, Khorashadizadeh M, Haseloer A, Klein A. Characterization and Release Behavior of a Thiosemicarbazone from Electrospun Polyvinyl Alcohol Core-Shell Nanofibers. *Polymers.* **2020**, 12, 1488.
67. Gaharwar AK, Mihaila SM, Kulkarni AA, Patel A, Di Luca A, Reis RL, Gomes ME, van Blitterswijk C, Moroni L, Khademhosseini A. Amphiphilic beads as depots for sustained drug release integrated into fibrillar scaffolds. *J. Control. Release.* **2014**, 187, 66–73.
68. Li TX, Ding X, Sui X, Tian LL, Zhang Y, Hu JY, Yang XD. Sustained Release of Protein Particle Encapsulated in Bead-on-String Electrospun Nanofibers. *J. Macromol. Sci. Part B.* **2015**, 54, 887–896.
69. Li T, Ding X, Tian L, Hu J, Yang X, Ramakrishna S. The control of beads diameter of bead-on-string electrospun nanofibers and the corresponding release behaviors of embedded drugs. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **2017**, 74, 471–477.
70. Maleki H, Mathur S, Klein A. Antibacterial Ag containing core-shell polyvinyl alcohol-poly (lactic acid) nanofibers for biomedical applications. *Polym. Eng. Sci.* **2020**, 60, 1221–1230.
71. Hadisi Z, Farokhi M, Bakhsheshi-Rad HR, Jahanshahi M, Hasanpour S, Pagan E, Dolatshahi-Pirouz A, Zhang YS, Kundu SC, Akbari M. Hyaluronic Acid (HA)-Based Silk Fibroin/Zinc Oxide Core–Shell Electrospun Dressing for Burn Wound Management. *Macromol. Biosci.* **2020**, 20, 1900328.
72. Maleki H, Gharehaghaji AA, Criscenti G, Moroni L, Dijkstra PJ. The influence of process parameters on the properties of electrospun PLLA yarns studied by the response surface methodology. *J. Appl. Polym. Sci.* **2015**, 132.

73. Maleki H, Gharehaghaji AA, Moroni L, Dijkstra PJ. Influence of the solvent type on the morphology and mechanical properties of electrospun PLLA yarns. *Biofabrication*. **2013**, 5, 035014.
74. Danti S, D'Alessandro D, Mota C, Bruschini L, Berrettini S. Applications of bioresorbable polymers in skin and eardrum. In *Bioresorbable Polymers for Biomedical Applications*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, **2017**; pp. 423–444.
75. Feng X, Li J, Zhang X, Liu T, Ding J, Chen X. Electrospun polymer micro/nanofibers as pharmaceutical repositories for healthcare. *J. Control. Release*. **2019**, 302, 19–41.
76. Alves PE, Soares BG, Lins LC, Livi S, Santos EP. Controlled delivery of dexamethasone and betamethasone from PLA electrospun fibers: A comparative study. *Eur. Polym. J.* **2019**, 117, 1–9.
77. Li J, Hu Y, He T, Huang M, Zhang X, Yuan J, Wei Y, Dong X, Liu W, Ko F, et al. Electrospun Sandwich-Structure Composite Membranes for Wound Dressing Scaffolds with High Antioxidant and Antibacterial Activity. *Macromol. Mater. Eng.* **2017**, 303, 1700270.
78. Pour Khalili N, Moradi R, Kavehpour P, Islamzada F. Boron nitride nanotube clusters and their hybrid nanofibers with polycaprolacton: Thermo-pH sensitive drug delivery functional materials. *Eur. Polym. J.* **2020**, 127, 109585.
79. Gačanin J, Hedrich J, Sieste S, Glaßer G, Lieberwirth I, Schilling C, Fischer S, Barth H, Knöll B, Synatschke CV. Autonomous Ultrafast Self-Healing Hydrogels by pH-Responsive Functional Nanofiber Gelators as Cell Matrices. *Adv. Mater.* **2019**, 31, 1805044.
80. He H, Cheng M, Liang Y, Zhu H, Sun Y, Dong D, Wang S. Intelligent Cellulose Nanofibers with Excellent Biocompatibility Enable Sustained Antibacterial and Drug Release via a pH-Responsive Mechanism. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, 68, 3518–3527.
81. Mamidi N, Zuníga AE, Villela-Castrejón J. Engineering and evaluation of forcespun functionalized carbon nano-onions reinforced poly (ϵ -caprolactone) composite nanofibers for pH-responsive drug release. *Mater. Sci. Eng. C*. **2020**, 112, 110928.
82. Abdalkarim SYH, Yu H, Wang C, Chen Y, Zou Z, Han L, Yao J, Tam KC. Thermo and light-responsive phase change nanofibers with high energy storage efficiency for energy storage and thermally regulated on–off drug release devices. *Chem. Eng. J.* **2019**, 375, 121979.
83. Yang X, Li W, Sun Z, Yang C, Tang D. Electrospun P (NVCL-co-MAA) nanofibers and their pH/temperature dual-response drug release profiles. *Colloid Polym. Sci.* **2020**, 298, 629–636.
84. Hoque J, Sangaj N, Varghese S. Stimuli-Responsive Supramolecular Hydrogels and Their Applications in Regenerative Medicine. *Macromol. Biosci.* **2019**, 19, 1800259.
85. Jang HH, Park SB, Hong JS, Lee HL, Song YH, Kim J, Jung YH, Kim C, Kim D-M, Lee SE, et al. Piperlongumine-Eluting Gastrointestinal Stent Using Reactive Oxygen Species-Sensitive Nanofiber Mats for Inhibition of Cholangiocarcinoma Cells. *Nanoscale Res. Lett.* **2019**, 14, 58.

86. Gao S, Tang G, Hua D, Xiong R, Han J, Jiang S, Zhang Q, Huang C. Stimuli-responsive bio-based polymeric systems and their applications. *J. Mater. Chem. B*. **2019**, 7, 709–729.
87. Liu M, Duan XP, Li YM, Yang DP, Long YZ. Electrospun nanofibers for wound healing. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **2017**, 76, 1413–1423.
88. Nagarajan S, Bechelany M, Kalkura NS, Miele P, Bohatier CP, Balme S. Chapter 20—Electrospun Nanofibers for Drug Delivery in Regenerative Medicine. In *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*; Mohapatra SS, Ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, **2019**; pp. 595–625.
89. Leung CM, Dhand C, Mayandi V, Ramalingam R, Lim FP, Barathi VA, Dwivedi N, Orive G, Beuerman RW, Ramakrishna S, et al. Wound healing properties of magnesium mineralized antimicrobial nanofibre dressings containing chondroitin sulphate—A comparison between blend and core–shell nanofibres. *Biomater. Sci.* **2020**, 8, 3454–3471.
90. Li J, Xu W, Chen J, Li D, Zhang K, Liu T, Ding J, Chen X. Highly Bioadhesive Polymer Membrane Continuously Releases Cytostatic and Anti-Inflammatory Drugs for Peritoneal Adhesion Prevention. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2018**, 4, 2026–2036.
91. Sofi HS, Ashraf R, Khan AH, Beigh MA, Majeed S, Sheikh FA. Reconstructing nanofibers from natural polymers using surface functionalization approaches for applications in tissue engineering, drug delivery and biosensing devices. *Mater. Sci. Eng. C*. **2019**, 94, 1102–1124.
92. Miroshnichenko S, Timofeeva V, Permyakova E, Ershov S, Kiryukhantsev-Korneev P, Dvořáková E, Shtansky DV, Zajíčková L, Solovieva A, Manakhov A. Plasma-coated polycaprolactone nanofibers with covalently bonded platelet-rich plasma enhance adhesion and growth of human fibroblasts. *Nanomaterials*. **2019**, 9, 637.
93. Maleki H, Gharehaghaji AA, Dijkstra PJ. A novel honey-based nanofibrous scaffold for wound dressing application. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, 127, 4086–4092.
94. Alippilakkotte S, Kumar S, Sreejith L. Fabrication of PLA/Ag nanofibers by green synthesis method using *Momordica charantia* fruit extract for wound dressing applications. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* **2017**, 529, 771–782.
95. Milazzo M, Gallone G, Marcello E, Mariniello MD, Bruschini L, Roy I, Danti S. Biodegradable polymeric micro/nano-structures with intrinsic antifouling/antimicrobial properties: Relevance in damaged skin and other biomedical applications. *J. Funct. Biomater.* **2020**, 11, 60.
96. Zhao J, Han F, Zhang W, Yang Y, You D, Li L. Toward improved wound dressings: Effects of polydopamine-decorated poly (lactic-co-glycolic acid) electrospinning incorporating basic fibroblast growth factor and ponicin G1. *RSC Adv.* **2019**, 9, 33038–33051.
97. Dwivedi C, Pandey H, Pandey AC, Patil S, Ramteke PW, Laux P, Luch A, Singh AV. *In vivo* biocompatibility of electrospun biodegradable dual carrier (antibiotic+ growth factor) in a mouse model—Implications for rapid wound healing. *Pharmaceutics*. **2019**, 11, 180.
98. Seonwoo H, Shin B, Jang K-J, Lee M, Choo O-S, Park S-B, Kim YC, Choi M-J, Kim J, Garg P, et al. Epidermal Growth Factor–Releasing Radially Aligned Electrospun

- Nanofibrous Patches for the Regeneration of Chronic Tympanic Membrane Perforations. *Adv. Healthc. Mater.* **2019**, 8, 1801160.
99. Balakrishnan SB, Thambusamy S. Preparation of silver nanoparticles and riboflavin embedded electrospun polymer nanofibrous scaffolds for *in vivo* wound dressing application. *Process Biochem.* **2020**, 88, 148–158.
 100. Luef KP, Stelzer F, Wiesbrock F. Poly (hydroxy alkanate)s in medical applications. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **2015**, 29, 287–297.
 101. Kakoria A, Sinha-Ray S. A review on biopolymer-based fibers via electrospinning and solution blowing and their applications. *Fibers.* **2018**, 6, 45.
 102. Hamdan S, Pastar I, Drakulich S, Dikici E, Tomic-Canic M, Deo S, Daunert S. Nanotechnology-driven therapeutic interventions in wound healing: Potential uses and applications. *ACS Cent. Sci.* **2017**, 3, 163–175.
 103. Thakur VK, Thakur MK, Kessler MR. Handbook of Composites from Renewable Materials, Biodegradable Materials; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, **2017**; Volume 5.
 104. Lin N, Dufresne A. Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *Eur. Polym. J.* **2014**, 59, 302–325.
 105. Prasanth R, Nageswaran S, Thakur VK, Ahn J-H. Electrospinning of cellulose: Process and applications. In *Nanocellulose Polymer Nanocomposites: Fundamentals and Applications*; Thakur VK, Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, **2014**; pp. 311–340.
 106. Kucin'ska-Lipka J, Gubanska I, Janik H. Bacterial cellulose in the field of wound healing and regenerative medicine of skin: Recent trends and future perspectives. *Polym. Bull.* **2015**, 72, 2399–2419.
 107. Hakkarainen T, Koivuniemi R, Kosonen M, Escobedo-Lucea C, Sanz-Garcia A, Vuola J, Valtonen J, Tammela P, Mäkitie A, Luukko K. Nanofibrillar cellulose wound dressing in skin graft donor site treatment. *J. Control. Release.* **2016**, 244, 292–301.
 108. Bodin A, Concaro S, Brittberg M, Gatenholm P. Bacterial cellulose as a potential meniscus implant. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **2007**, 1, 406–408.
 109. Czaja W, Krystynowicz A, Bielecki S, Brown RM Jr. Microbial cellulose—The natural power to heal wounds. *Biomaterials.* **2006**, 27, 145–151.
 110. Muangman P, Opananon S, Suwanchot S, Thangthed O. Efficiency of microbial cellulose dressing in partial-thickness burn wounds. *J. Am. Coll. Certif. Wound Spec.* **2011**, 3, 16–19.
 111. Sahana T, Rekha P. Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering. *Mol. Biol. Rep.* **2018**, 45, 2857–2867.
 112. Vatankhah E, Prabhakaran MP, Jin G, Mobarakeh LG, Ramakrishna S. Development of nanofibrous cellulose acetate/gelatin skin substitutes for variety wound treatment applications. *J. Biomater. Appl.* **2014**, 28, 909–921.
 113. Frenot A, Henriksson MW, Walkenström P. Electrospinning of cellulose-based nanofibers. *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, 103, 1473–1482.

114. He X, Cheng L, Zhang X, Xiao Q, Zhang W, Lu C. Tissue engineering scaffolds electrospun from cotton cellulose. *Carbohydr. Polym.* **2015**, 115, 485–493.
115. Lee KY, Jeong L, Kang YO, Lee SJ, Park WH. Electrospinning of polysaccharides for regenerative medicine. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2009**, 61, 1020–1032.
116. Frey MW. Electrospinning cellulose and cellulose derivatives. *Polym. Rev.* **2008**, 48, 378–391.
117. Liu X, Lin T, Gao Y, Xu Z, Huang C, Yao G, Jiang L, Tang Y, Wang X. Antimicrobial electrospun nanofibers of cellulose acetate and polyester urethane composite for wound dressing. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* **2012**, 100, 1556–1565.
118. Park T-J, Jung YJ, Choi S-W, Park H, Kim H, Kim E, Lee SH, Kim JH. Native chitosan/cellulose composite fibers from an ionic liquid via electrospinning. *Macromol. Res.* **2011**, 19, 213–215.
119. Rao SS, Jeyapal SG, Rajiv S. Biodegradable electrospun nanocomposite fibers based on Poly (2-hydroxy ethyl methacrylate) and bamboo cellulose. *Compos. Part B Eng.* **2014**, 60, 43–48.
120. Anitha S, Brabu B, Thiruvadigal DJ, Gopalakrishnan C, Natarajan T. Optical, bactericidal and water repellent properties of electrospun nano-composite membranes of cellulose acetate and ZnO. *Carbohydr. Polym.* **2012**, 87, 1065–1072.
121. Song J, Birbach NL, Hinestroza JP. Deposition of silver nanoparticles on cellulosic fibers via stabilization of carboxymethyl groups. *Cellulose.* **2012**, 19, 411–424.
122. Min B-M, Lee SW, Lim JN, You Y, Lee TS, Kang PH, Park WH. Chitin and chitosan nanofibers: Electrospinning of chitin and deacetylation of chitin nanofibers. *Polymer.* **2004**, 45, 7137–7142.
123. Jayakumar R, Prabakaran M, Kumar PS, Nair S, Tamura H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol. Adv.* **2011**, 29, 322–337.
124. Teng SH, Wang P, Kim HJ. Blend fibers of chitosan–agarose by electrospinning. *Mater. Lett.* **2009**, 63, 2510–2512.
125. Naseri N, Algan C, Jacobs V, John M, Oksman K, Mathew AP. Electrospun chitosan-based nanocomposite mats reinforced with chitin nanocrystals for wound dressing. *Carbohydr. Polym.* **2014**, 109, 7–15.
126. Yousefi I, Pakravan M, Rahimi H, Bahador A, Farshadzadeh Z, Haririan I. An investigation of electrospun Henna leaves extract-loaded chitosan based nanofibrous mats for skin tissue engineering. *Mater. Sci. Eng. C.* **2017**, 75, 433–444.
127. 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. *Int. J. Biol. Macromol.* **2014**, 68, 92–97.
128. Cai Z-X, Mo X-M, Zhang K-H, Fan L-P, Yin A-L, He C-L, Wang H-S. Fabrication of chitosan/silk fibroin composite nanofibers for wound-dressing applications. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, 11, 3529–3539.

129. Ardila N, Medina N, Arkoun M, Heuzey MC, Ajji A, Panchal CJ. Chitosan–bacterial nanocellulose nanofibrous structures for potential wound dressing applications. *Cellulose*. **2016**, 23, 3089–3104.
130. Datta S, Rameshbabu AP, Bankoti K, Maity PP, Das D, Pal S, Roy S, Sen R, Dhara S. Oleoyl-chitosan-based nanofiber mats impregnated with amniotic membrane derived stem cells for accelerated full-thickness excisional wound healing. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2017**, 3, 1738–1749.
131. Kalantari K, Afifi AM, Jahangirian H, Webster TJ. Biomedical applications of chitosan electrospun nanofibers as a green polymer–Review. *Carbohydr. Polym.* **2019**, 207, 588–600.
132. Patel SKS, Sandeep K, Singh M, Singh GP, Lee J-K, Bhatia SK, Kalia VC, de Souza L, Shivakumar S. Biotechnological Application of Polyhydroxyalkanoates and Their Composites as Anti-microbials Agents. In *Biotechnological Applications of Polyhydroxyalkanoates*; Kalia VC, Ed.; Springer: Singapore, **2019**; pp. 227–290.
133. Osswald TA, Garcia-Rodriguez S, Teramoto N, Rai R, Roy I, Visakh P, Thomas S, Pothan LA, Fukushima K, Tabuani D. A Handbook of Applied Biopolymer Technology: Synthesis, Degradation and Applications; Royal Society of Chemistry: London, UK, **2011**.
134. Wu Q, Wang Y, Chen GQ. Medical application of microbial biopolyesters polyhydroxyalkanoates. *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol.* **2009**, 37, 1–12.
135. Junyu Z, Ekaterina IS, Tatiana GV, Luiziana FDS, Guo-Qiang C. Polyhydroxyalkanoates (PHA) for therapeutic applications. *Mater. Sci. Eng.* **2018**, 86, 144–150.
136. Chen G-Q, Zhang J. Microbial polyhydroxyalkanoates as medical implant biomaterials. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* **2018**, 46, 1–18.
137. Cheng S, Wu Q, Yang F, Xu M, Leski M, Chen G-Q. Influence of dl- β -Hydroxybutyric Acid on Cell Proliferation and Calcium Influx. *Biomacromolecules*. **2005**, 6, 593–597.
138. Yang X-D, Zou X-H, Dai Z-W, Luo R-C, Wei C-J, Chen G-Q. Effects of Oligo(3-hydroxyalkanoates) on the Viability and Insulin Secretion of Murine Beta Cells. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2009**, 20, 1729–1746.
139. Sudesh K, Abe H, Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: Biological polyesters. *Prog. Polym. Sci.* **2000**, 25, 1503–1555.
140. Sanhueza C, Acevedo F, Rocha S, Villegas P, Seeger M, Navia R. Polyhydroxyalkanoates as biomaterial for electrospun scaffolds. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, 124, 102–110.
141. Volova T, Goncharov D, Sukovatyi A, Shabanov A, Nikolaeva E, Shishatskaya E. Electrospinning of polyhydroxyalkanoate fibrous scaffolds: Effects on electrospinning parameters on structure and properties. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2014**, 25, 370–393.
142. Li W, Cicek N, Levin DB, Liu S. Enabling electrospinning of medium-chain length polyhydroxyalkanoates (PHAs) by blending with short-chain length PHAs. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* **2019**, 68, 499–509.

143. Zhu M, Zuo W, Yu H, Yang W, Chen Y. Superhydrophobic surface directly created by electrospinning based on hydrophilic material. *J. Mater. Sci.* **2006**, 41, 3793–3797.
144. Shishatskaya EI, Nikolaeva ED, Vinogradova ON, Volova TG. Experimental wound dressings of degradable PHA for skin defect repair. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2016**, 27, 165.
145. Suwanton O, Waleetorncheepsawat S, Sanchavanakit N, Pavasant P, Cheepsunthorn P, Bunaprasert T, Supaphol P. *In vitro* biocompatibility of electrospun poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) fiber mats. *Int. J. Biol. Macromol.* **2007**, 40, 217–223.
146. Han I, Shim KJ, Kim JY, Im SU, Sung YK, Kim M, Kang I-K, Kim JC. Effect of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Nanofiber Matrices Cocultured With Hair Follicular Epithelial and Dermal Cells for Biological Wound Dressing. *Artif. Organs.* **2007**, 31, 801–808.
147. Kuppan P, Vasanthan KS, Sundaramurthi D, Krishnan UM, Sethuraman S. Development of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Fibers for Skin Tissue Engineering: Effects of Topography, Mechanical, and Chemical Stimuli. *Biomacromolecules.* **2011**, 12, 3156–3165.
148. Abdul M, Kasturi M, Sivakumar M, Kumar S, Syed S, Rahman S, Noor A, Nanthini S. Fabrication and Characterization of an Electrospun PHA/Graphene Silver Nanocomposite Scaffold for Antibacterial Applications. *Materials.* **2018**, 11, 15.
149. Yuan J, Geng J, Xing Z, Shim KJ, Han I, Kim JC, Kang IK, Shen J. Novel wound dressing based on nanofibrous PHBV–keratin mats. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **2015**, 9, 1027–1035.
150. Salvatore L, Carofiglio VE, Stufano P, Bonfrate V, Calò E, Scarlino S, Nitti P, Centrone D, Cascione M, Leporatti S. Potential of electrospun poly (3-hydroxybutyrate)/collagen blends for tissue engineering applications. *J. Healthc. Eng.* **2018**, 2018, 6573947.
151. Meng W, Kim S-Y, Yuan J, Kim JC, Kwon OH, Kawazoe N, Chen G, Ito Y, Kang I-K. Electrospun PHBV/collagen composite nanofibrous scaffolds for tissue engineering. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2007**, 18, 81–94.
152. Kandhasamy S, Perumal S, Madhan B, Umamaheswari N, Banday JA, Perumal PT, Santhanakrishnan VP. Synthesis and Fabrication of Collagen-Coated Ostholamide Electrospun Nanofiber Scaffold for Wound Healing. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* **2017**, 9, 8556–8568.
153. Azimi B, Thomas L, Fusco A, Kalaoglu Altan O, Basnett P, Cinelli P, De Clerck K, Roy I, Donnarumma G, Coltelli MB, et al. Electrospun Chitin Nanofibril/Electrospun Polyhydroxyalkanoate Fiber Mesh as Functional Nonwoven for Skin Applications. *J. Funct. Biomater.* **2020**, 11, 62.
154. Danti S, Trombi L, Fusco A, Azimi B, Lazzeri A, Morganti P, Coltelli M-B, Donnarumma G. Chitin nanofibrils and nanolignin as functional agents in skin regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 2669.
155. Ditaranto N, Basoli F, Trombetta M, Cioffi N, Rainer A. Electrospun nanomaterials implementing antibacterial inorganic nanophases. *Appl. Sci.* **2018**, 8, 1643.

156. Melendez-Rodriguez B, Figueroa-Lopez KJ, Bernardos A, Martínez-Máñez R, Cabedo L, Torres-Giner SM, Lagaron JM. Electrospun antimicrobial films of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) containing eugenol essential oil encapsulated in mesoporous silica nanoparticles. *Nanomaterials*. **2019**, 9, 227.
157. Azizi S, Ahmad M, Mahdavi M, Abdolmohammadi S. Preparation, characterization, and antimicrobial activities of ZnO nanoparticles/cellulose nanocrystal nanocomposites. *BioResources*. **2013**, 8, 1841–1851.
158. Gold K, Slay B, Knackstedt M, Gaharwar AK. Antimicrobial Activity of Metal and Metal-Oxide Based Nanoparticles. *Adv. Ther.* **2018**, 1, 1700033.
159. Figueroa-Lopez KJ, Torres-Giner S, Enescu D, Cabedo L, Cerqueira MA, Pastrana LM, Lagaron JM. Electrospun active biopapers of food waste derived poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) with short-term and long-term antimicrobial performance. *Nanomaterials*. **2020**, 10, 506.
160. Khezerlou A, Alizadeh-Sani M, Azizi-Lalabadi M, Ehsani A. Nanoparticles and their antimicrobial properties against pathogens including bacteria, fungi, parasites and viruses. *Microb. Pathog.* **2018**, 123, 505–526.
161. Abdalkarim SYH, Yu H-Y, Wang D, Yao J. Electrospun poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxy-valerate)/cellulose reinforced nanofibrous membranes with ZnO nanocrystals for antibacterial wound dressings. *Cellulose*. **2017**, 24, 2925–2938.
162. Siddiqi KS, ur Rahman A, Husen A. Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes. *Nanoscale Res. Lett.* **2018**, 13, 141.
163. Sen CK, Khanna S, Gordillo G, Bagchi D, Bagchi M, Roy S. Oxygen, oxidants, and antioxidants in wound healing: An emerging paradigm. *Ann. NY Acad. Sci.* **2002**, 957, 239–249.
164. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*. **1991**, 40, 405–412.
165. Augustine R, Hasan A, Patan NK, Dalvi YB, Varghese R, Antony A, Unni RN, Sandhyarani N, Moustafa AEA. Cerium Oxide Nanoparticle Incorporated Electrospun Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Membranes for Diabetic Wound Healing Applications. *ACS Biomater.* **2020**, 6, 58–70.
166. Cristallini C, Danti S, Azimi B, Tempesti V, Ricci C, Ventrelli L, Cinelli P, Barbani N, Lazzeri A. Multifunctional Coatings for Robotic Implanted Device. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20, 5126.
167. Li W, Cicek N, Levin DB, Logsetty S, Liu S. Bacteria-triggered release of a potent biocide from core-shell polyhydroxyalkanoate (PHA)-based nanofibers for wound dressing applications. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2020**, 31, 394–406.
168. Fattahi F-S, Khoddami A, Avinc O. Poly(lactic acid) (PLA) Nanofibers for Bone Tissue Engineering. *J. Text. Polym.* **2019**, 7, 47.
169. Kian L, Saba N, Jawaid M, Sultan M. A review on processing techniques of bast fibers nanocellulose and its polylactic acid (PLA) nanocomposites. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, 121, 1314–1328.

170. Li W, Fan X, Wang X, Shang X, Wang Q, Lin J, Hu Z, Li Z. Stereocomplexed micelle formation through enantiomeric PLA-based Y-shaped copolymer for targeted drug delivery. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* **2018**, 91, 688–695.
171. Maleki H, Barani H. Stereocomplex electrospun fibers from high molecular weight of poly (L-lactic acid) and poly (D-lactic acid). *J. Polym. Eng.* **2020**, 40, 136–142.
172. Augustine R, Zahid AA, Hasan A, Wang M, Webster TJ. CTGF loaded electrospun dual porous core-shell membrane for diabetic wound healing. *Int. J. Nanomed.* **2019**, 14, 8573.
173. Pankongadisak P, Sangklin S, Chuysinuan P, Suwantong O, Supaphol P. The use of electrospun curcumin-loaded poly(L-lactic acid) fiber mats as wound dressing materials. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2019**, 53, 101121.
174. Zou F, Sun X, Wang X. Elastic, hydrophilic and biodegradable poly (1, 8-octanediol-co-citric acid)/polylactic acid nanofibrous membranes for potential wound dressing applications. *Polym. Degrad. Stab.* **2019**, 166, 163–173.
175. Yang C, Yan Z, Lian Y, Wang J, Zhang K. Graphene oxide coated shell-core structured chitosan/PLLA nanofibrous scaffolds for wound dressing. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2020**, 31, 622–641.
176. Majchrowicz A, Roguska A, Krawczyn´ska A, Lewandowska M, Martí-Muñoz J, Engel E, Castano O. *In vitro* evaluation of degradable electrospun polylactic acid/bioactive calcium phosphate ormoglass scaffolds. *Arch. Civ. Mech. Eng.* **2020**, 20, 50.
177. Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R.L.; Laversanne, M.; Soerjomataram, I.; Jemal, A.; Bray, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA A Cancer J. Clin.* **2021**, 71, 209–249.
178. Hanahan, D.; Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* **2000**, 100, 57–70.
179. Balunas, M.J.; Kinghorn, A.D. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci.* **2005**, 78, 431–441.
180. Singh, R. Medicinal plants: A review. *J. Plant Sci.* **2015**, 3, 50–55.
181. Rehman, J.U.; Zahra; Ahmad, N.; Khalid, M.; Noor ul Huda Khan Asghar, H.M.; Gilani, Z.A.; Ullah, I.; Nasar, G.; Akhtar, M.M.; Usmani, M.N. Intensity modulated radiation therapy: A review of current practice and future outlooks. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* **2018**, 11, 361–367.
182. Benej, M.; Hong, X.; Vibhute, S.; Scott, S.; Wu, J.; Graves, E.; Le, Q.-T.; Koong, A.C.; Giaccia, A.J.; Yu, B. Papaverin hidroklorüre and its derivatives radiosensitize solid tumors by inhibiting mitochondrial metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, 115, 10756–10761.
183. Afzali, M.; Ghaeli, P.; Khanavi, M.; Parsa, M.; Montazeri, H.; Ghahremani, M.H.; Ostad, S.N. Non-addictive opium alkaloids selectively induce apoptosis in cancer cells compared to normal cells. *DARU J. Pharm. Sci.* **2015**, 23, 16.
184. Gümüşçü, A.; Arslan, N.; Sarihan, E.O. Evaluation of selected poppy (*Papaver somniferum* L.) lines by their morphine and other alkaloids contents. *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, 226, 1213–1220.

185. Sajadian, S.; Vatankhah, M.; Majdzadeh, M.; Kouhsari, S.M.; Ghahremani, M.H. Cell cycle arrest and apoptogenic properties of opium alkaloids noscapine and papaverin hidroklorüre on breast cancer stem cells. *Toxicol. Mech. Methods* **2015**, *25*, 388–395.
186. Vardanyan, R.S.; Hruba, V.J. 19-Antianginal Drugs. In *Synthesis of Essential Drugs*; Vardanyan, R.S., Hruba, V.J., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2006; pp. 257–267.
187. Hebb, A.L.O.; Robertson, H.A.; Denovan-Wright, E.M. Phosphodiesterase 10A inhibition is associated with locomotor and cognitive deficits and increased anxiety in mice. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2008**, *18*, 339–363.
188. Gomes, D.A.; Joubert, A.M.; Visagie, M.H. *In Vitro* Effects of Papaverin hidroklorüre on Cell Proliferation, Reactive Oxygen Species, and Cell Cycle Progression in Cancer Cells. *Molecules* **2021**, *26*, 6388.
189. Li, R.; Zou, X.; Huang, H.; Yu, Y.; Zhang, H.; Liu, P.; Pan, S.; Ouyang, Y.; Shang, Y. HMGB1/PI3K/Akt/mTOR Signaling Participates in the Pathological Process of Acute Lung Injury by Regulating the Maturation and Function of Dendritic Cells. *Front. Immunol.* **2020**, *11*, 1104.
190. Gomes, D.A.; Joubert, A.M.; Visagie, M.H. *In Vitro* Effects of Papaverin hidroklorüre on Cell Migration and Vascular Endothelial Growth Factor in Cancer Cell Lines. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 4654.
191. Yuan, S.; Liu, Z.; Xu, Z.; Liu, J.; Zhang, J. High mobility group box 1 (HMGB1): A pivotal regulator of hematopoietic malignancies. *J. Hematol. Oncol.* **2020**, *13*, 91.
192. Rabbani S, Jafari R, Momen G. Superhydrophobic micro-nanofibers from PHBV-SiO₂ biopolymer composites produced by electrospinning. *Functional Composite Materials.* **2022**, 3(1),1.
193. Mutlu G, Calamak S, Ulubayram K, Guven E. Curcumin-loaded electrospun PHBV nanofibers as potential wound-dressing material. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* **2018**, *43*, 185-193.
194. Zhu S, Yu H, Chen Y, Zhu M. Study on the morphologies and formational mechanism of poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) ultrafine fibers by dry-jet-wet-electrospinning. *Journal of Nanomaterials.* **2012**, 2012, 16-16.
195. Kriegel C, Arrechi A, Kit K, McClements DJ, Weiss J. Fabrication, functionalization, and application of electrospun biopolymer nanofibers. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **2008**, *48*(8), 775-797.
196. Ibrahim HM, Klingner A. A review on electrospun polymeric nanofibers: Production parameters and potential applications. *Polym Test.* **2020**, *90*,106647.
197. Rivera-Briso AL, Aachmann FL, Moreno-Manzano V, Serrano-Aroca Á. Graphene oxide nanosheets versus carbon nanofibers: Enhancement of physical and biological properties of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) films for biomedical applications. *Int J Biol Macromol.* **2020**, *143*,1000-1008.
198. Melendez-Rodriguez B, Figueroa-Lopez KJ, Bernardos A, Martínez-Máñez R, Cabedo L, Torres-Giner S, et al. Electrospun antimicrobial films of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) containing eugenol essential oil encapsulated in mesoporous silica nanoparticles. *Nanomaterials.* **2019**, *9*(2), 227.

199. Biazar E. Application of polymeric nanofibers in medical designs, part III: Musculoskeletal and urological tissues. *Int J Polymeric Materials Polymeric Biomaterials*. **2017**,66(1), 28-37.
200. Niu Y, Liu G, Chen C, Fu M, Fu W, Zhao Z, et al. Urethral reconstruction using an amphiphilic tissue-engineered autologous polyurethane nanofiber scaffold with rapid vascularization function. *Biomaterials Science*. **2020**, 8(8), 2164-2174.
201. Mokhtar SMA, Derrick-Roberts AL, Evans DR, Strudwick XL. Cell Viability Assessment of PEDOT Conducting Polymer-Coated Microneedles for Skin Sampling. *ACS Applied Bio Materials*. **2023**, 6(11), 4662-4671.
202. da Silva Burgal J, Peeva L, Marchetti P, Livingston A. Controlling molecular weight cut-off of PEEK nanofiltration membranes using a drying method. *Journal of Membrane Science*. **2015**, 493, 524-538.
203. Nguyen QT, Alaoui OT, Yang H, Mbareck C. Dry-cast process for synthetic microporous membranes: Physico-chemical analyses through morphological studies. *Journal of Membrane Science*. 2010, 358(1-2), 13-25.
204. Hsu C, Shivkumar S. Nano-sized beads and porous fiber constructs of poly (ϵ -caprolactone) produced by electrospinning. *Journal of Materials Science*. **2004**;39, 3003-3013.
205. Kanjanapongkul K, Wongsasulak S, Yoovidhya T. Investigation and prevention of clogging during electrospinning of zein solution. *Journal of Applied Polymer Science*. **2010**,118(3), 1821-1829.
206. Tong HW, Wang M. Electrospinning of poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) fibrous tissue engineering scaffolds in two different electric fields. *Polymer Engineering & Science*. **2011**, 51(7), 1325-1338.
207. Gao C, Zhang L, Wang J, Jin M, Tang Q, Chen Z, et al. Electrospun nanofibers promote wound healing: Theories, techniques, and perspectives. *J Mater Chem B*. **2021**, 9(14), 3106-3130.
208. Wang Q, Ma J, Chen S, Wu S. Designing an innovative electrospinning strategy to generate PHBV nanofiber scaffolds with a radially oriented fibrous pattern. *Nanomaterials*. **2023**,13(7), 1150.
209. Kaniuk Ł, Podborska A, Stachewicz U. Enhanced mechanical performance and wettability of PHBV fiber blends with evening primrose oil for skin patches improving hydration and comfort. *Journal of Materials Chemistry B*. **2022**, 10(11), 1763-1774.
210. Karbowniczek JE, Kaniuk Ł, Berniak K, Gruszczyński A, Stachewicz U. Enhanced cells anchoring to electrospun hybrid scaffolds with PHBV and HA particles for bone tissue regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. **2021**, 9, 632029.
211. Ublekov F, Budurova D, Staneva M, Natova M, Penchev H. Self-supporting electrospun PHB and PHBV/organoclay nanocomposite fibrous scaffolds. *Materials Letters*. **2018**, 218, 353-356.
212. Lü LX, Wang YY, Mao X, Xiao ZD, Huang NP. The effects of PHBV electrospun fibers with different diameters and orientations on growth behavior of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells. *Biomedical Materials*. **2012**, 7(1), 015002.

213. Tong HW, Wang M. Electrospinning of poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) fibrous scaffolds for tissue engineering applications: effects of electrospinning parameters and solution properties. *Journal of Macromolecular Science, Part B*. **2011**, 50(8), 1535-1558.
214. Berthet MA, Angellier-Coussy H, Chea V, Guillard V, Gastaldi E, Gontard N. Sustainable food packaging: Valorising wheat straw fibres for tuning PHBV-based composites properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*. **2015**, 72, 139-147.
215. <https://electrospintech.com/beads.html>
216. Deepthi S, Sundaram MN, Vijayan P, Nair SV, Jayakumar R. Engineering poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) based vascular scaffolds to mimic native artery. *International Journal of Biological Macromolecules*. **2018**, 109, 85-98.
217. Xu Y, Zou L, Lu H, Kang T. Effect of different solvent systems on PHBV/PEO electrospun fibers. *RSC Advances*. **2017**, 7(7), 4000-4010.
218. Lo JSC, Chen X, Chen S, Miao Y, Daoud WA, Tso CY, Lin CSK. Fabrication of biodegradable PLA-PHBV medical textiles via electrospinning for healthcare apparel and personal protective equipment. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. **2024**, 39, 101536.
219. Sumama NK. Development of air-jet spun PHBV/PCL composite scaffolds for wound healing applications. Master's thesis. **2021**.
220. Menarabazari MJ, Katbab AA. Electrospun core-shell nanofibers based on thermoplastic urethane elastomer and gelatin: Evolution of cell behavior. In *AIP Conference Proceedings*. **2017**, 1914, No. 1. AIP Publishing.
221. Gautam S, Chou CF, Dinda AK, Potdar PD, Mishra NC. Fabrication and characterization of PCL/gelatin/chitosan ternary nanofibrous composite scaffold for tissue engineering applications. *Journal of Materials Science*. **2014**, 49, 1076-1089.
222. https://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article_49399/ATFM-43-479-En.pdf
223. Keskin DE, Karataş A. Diatom Silika İskeletleri ile Güçlendirilmiş Polihidroksibutirat-kohidroksivalerat/Pullulan Üç Boyutlu Doku İskelelerinin Kemik Doku Mühendisliğinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. **2018**.
224. Upson SJ, O'Haire T, Russell SJ, Dalgarno K, Ferreira AM. Centrifugally spun PHBV micro and nanofibres. *Materials Science and Engineering: C*. **2017**, 76, 190-195.
225. Aynali F, Balci H, Doganci E, Bulus E. Production and characterization of non-leaching antimicrobial and hydrophilic polycaprolactone based nanofiber mats. *European Polymer Journal*. **2021**, 149, 110368.
226. Buluş E, Buluş GS, Şahin YM. Hızlı Prototiplemeye Yönelik Termal Dayanımlı Elektromanyetik Kalkan Özellikli Filament Üretimi. *Doğu Fen Bilimleri Dergisi*. **2022**, 5(2), 50-64.
227. Panin SV, Kornienko LA, Vannasri S, Ivanova LR, Shil'ko SV. Comparative analysis of the influence of nano- and microfillers of oxidized Al on the frictional-mechanical characteristics of UHMWPE. *Journal of Friction and Wear*. **2010**, 31, 371-377.

228. Ozkok F, Onul N, Bulus E, Sahin YM, Bulus GS. Investigation of Morphological and Mechanical Properties of New Anthraquinone Substance Added Polymeric Wound Healers. *Journal of Materials and Electronic Devices*. **2022**, 3(1).
229. Buluş E, Sahin YM, Buluş GS. Nanotechnological Dressings Containing Pomegranate. *Journal of Materials and Electronic Devices*. **2023**, 2(1).
230. Özdemir O, Yilmaz N, Mesut GOK, Kaya MO. Determination of antimicrobial and antioxidant activities of *Lavandula angustifolia* volatile oil. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*. **2022**, 9(3), 265-273.
231. Kestendjieva S, Kyurkchiev D, Tsvetkova G, Mehandjiev T, Dimitrov A, Nikolov A, Kyurkchiev S. Characterization of mesenchymal stem cells isolated from the human umbilical cord. *Cell Biology International*. **2008**, 32(7), 724-732.
232. Zhou J, Cheng L, Sun X, Wang X, Jin S, Li J, Wu Q. Neurogenic differentiation of human umbilical cord mesenchymal stem cells on aligned electrospun polypyrrole/polylactide composite nanofibers with electrical stimulation. *Frontiers of Materials Science*. **2016**, 10, 260-269.
233. Mashayekhi S, Rasoulpoor S, Shabani S, Esmaeilizadeh N, Serati-Nouri H, Sheervalilou R, Pilehvar-Soltanahmadi Y. Curcumin-loaded mesoporous silica nanoparticles/nanofiber composites for supporting long-term proliferation and stemness preservation of adipose-derived stem cells. *International Journal of Pharmaceutics*. **2020**, 587, 119656.
234. Mottin AC, Ayres E, Oréface RL, Câmara JJD. What changes in poly (3-hydroxybutyrate)(PHB) when processed as electrospun nanofibers or thermo-compression molded film? *Materials Research*. **2016**, 19, 57-66.
235. Şahan N, Fois M, Paksoy H. The effects of various carbon derivative additives on the thermal properties of paraffin as a phase change material. *International Journal of Energy Research*. **2016**, 40(2), 198-206.
236. Nangare S, Dugam S, Patil P, Tade R, Jadhav N. Silk industry waste protein: isolation, purification and fabrication of electrospun silk protein nanofibers as a possible nanocarrier for floating drug delivery. *Nanotechnology*. **2020**, 32(3), 035101.
237. Maziya K, Dlamini BC, Malinga SP. Hyperbranched polymer nanofibrous membrane grafted with silver nanoparticles for dual antifouling and antibacterial properties against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Reactive and Functional Polymers*. **2020**, 148, 104494.
238. Penedos JMDVP. Effect of inorganics on the thermal decomposition behaviour of wheat straw. **2021**.
239. Teixeira MA, Antunes JC, Seabra CL, Fertuzinhos A, Tohidi SD, Reis S, Felgueiras HP. Antibacterial and hemostatic capacities of cellulose nanocrystalline-reinforced poly (vinyl alcohol) electrospun mats doped with Tiger 17 and pexiganan peptides for prospective wound healing applications. *Biomaterials Advances*. **2022**, 137, 212830.
240. Ismik D, Findikoglu MS, Mansuroglu DS, Bulus E, Şahin YM. Synthesis of aloe vera loaded chitosan nanoparticle with ionic gelling method. In *2019 Scientific Meeting on Electrical-Electronics & Biomedical Engineering and Computer Science (EBBT)*. **2019**, IEEE.

241. Kazsoki A, Szabó P, Zelkó R. Prediction of the hydroxypropyl cellulose—poly (vinyl alcohol) ratio in aqueous solution containing papaverin hidroklorüre hydrochloride in terms of drug loaded electrospun fiber formation, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2017**, 138, 357-362.
242. Basar AO, Prieto C, Pardo-Figuerez M, Lagaron JM. Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) electrospun nanofibers containing natural deep eutectic solvents exhibiting a 3D rugose morphology and charge retention properties, *ACS omega*, **2023**, 8(4), 3798-3811.
243. Meng W, Xing ZC, Jung KH, Kim SY, Yuan J, Kang IK, Shin HI. Synthesis of gelatin-containing PHBV nanofiber mats for biomedical application, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2008**, 19, 2799-2807.
244. Feng S, Shen X, Fu Z, Shao M. Preparation and characterization of gelatin–poly (L-lactic) acid/poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) composite nanofibrous scaffolds, *Journal of Macromolecular Science, Part B*, **2011**, 50(9), 1705-1713.
245. Kim YE, Kim YJ. Effect of biopolymers on the characteristics and cytocompatibility of biocomposite nanofibrous scaffolds, *Polymer journal*, **2013**, 45(8), 845-853.
246. Cuia W. Electrospun Biodegradable Polyester Micro-/Nanofibers for Drug Delivery and Their Clinical Applications, *Handbook of Polyester Drug Delivery Systems*, **2016**, 125.
247. Singh P. Electrospinning—A Novel Approach to Developing Drug Delivery System, *Doctoral dissertation, Brac University*, **2021**.
248. Ibne Mahbub MS, Kim YJ, Choi H, Lee BT. Papaverin hidroklorüre loaded injectable and thermosensitive hydrogel system for improving survival of rat dorsal skin flaps, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2023**, 34(6), 28.
249. Han I, Shim KJ, Kim JY, Im SU, Sung YK, Kim M, Kim JC. Biyolojik yara pansumanı için saç foliküler epitel ve dermal hücreleri ile birlikte kültürlenmiş poli (3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksivalerat) nanofiber matrislerinin etkisi, *Yapay Organlar*, **2007**, 31(11), 801-808.
250. Zhong H, Li Z, Zhao T, Chen Y. Surface modification of nanofibers by physical adsorption of fiber-homologous amphiphilic copolymers and nanofiber-reinforced hydrogels with excellent tissue adhesion, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **2021**, 7(10), 4828-4837.
251. Wang Y, Cui FZ, Jiao YP, Hu K, Fan DD. Modification of bone graft by blending with lecithin to improve hydrophilicity and biocompatibility, *Biomedical Materials*, **2008**, 3(1), 015012.
252. Wang Q, Ma J, Chen S, Wu S. Designing an innovative electrospinning strategy to generate PHBV nanofiber scaffolds with a radially oriented fibrous pattern, *Nanomaterials*, **2023**, 13(7), 1150.
253. Kuppan P, Sethuraman S, Krishnan UM. Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-based nanofibrous scaffolds to support functional esophageal epithelial cells towards engineering the esophagus, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **2014**, 25(6), 574-593.

254. Xiang HX, Chen SH, Cheng YH, Zhou Z, Zhu MF. Structural characteristics and enhanced mechanical and thermal properties of full biodegradable tea polyphenol/poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) composite films, *Express Polymer Letters*, **2013**, 7(9).
255. Li Y, Ceylan M, Shrestha B, Wang H, Lu QR, Asmatulu R, Yao L. Nanofibers support oligodendrocyte precursor cell growth and function as a neuron-free model for myelination study, *Biomacromolecules*, **2014**, 15(1), 319-326.
256. Özçetin A. Papaverin hidroklorüre loaded biopolymeric membranes to be used in hemodialysis, Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü, **2007**.
257. Mendes JBO, Riekes MK, Oliveira VM, Michel MD, Stulzer HK, Khalil NM, Zawadski ZF, Mainardes RM, Farago PV. PHBV/PCL Microparticles for Controlled Release of Resveratrol: Physicochemical Characterization, Antioxidant Potential, and Effect on Hemolysis of Human Erythrocytes, *The Scientific World Journal*, **2012**.
258. Gomes S, et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of electrospun nanofibers of PCL, chitosan and gelatin: A comparative study, *Materials Science and Engineering: C*, **2015**, 46, 348-358.
259. Prabhakara P, Koland M, Vijaynarayana K, Harish NM, Shankar G, Ahmed MG, Satyanarayana D. Preparation and evaluation of Transdermal patches of Papaverin hidroklorüre hydrochloride, *Int J Res Pharm Sci*, **2010**, 1(3), 259-266.
260. Gaber A, Alsanie WF, Kumar DN, Refat MS, Saied EM. Novel papaverin hidroklorüre metal complexes with potential anticancer activities, *Molecules*, **2020**, 25(22), 5447.
261. Xu Y, Lu H, Sun C, Zou L, Yin H, Li W. Preparation and characterization of phbv/peo/az-gelatin electrospun mats with photochemical surface modification: the role of AZ-gelatin, *Macromolecular Materials and Engineering*, **2020**, 305(10), 2000344.
262. Perveen K, Masood F, Hameed A. Preparation, characterization and evaluation of antibacterial properties of epirubicin loaded PHB and PHBV nanoparticles, *International journal of biological macromolecules*, **2020**, 144, 259-266.
263. Prabhakaran MP, Vatankhah E, Ramakrishna S. Electrospun aligned PHBV/collagen nanofibers as substrates for nerve tissue engineering, *Biotechnology and bioengineering*, **2013**, 110(10), 2775-2784.
264. Vijayaraghavan K, Nalini SK, Prakash NU, Madhankumar D. One step green synthesis of silver nano/microparticles using extracts of *Trachyspermum ammi* and *Papaver somniferum*, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2012**, 94, 114-117.
265. Bakhshizadeh M, Ayaseh A, Hamishehkar H, Kafil HS, Moghaddam TN, Hagh PB, Lorenzo JM. Multifunctional performance of packaging system based on gelatin/alohe vera gel film containing of rosemary essential oil and common poppy anthocyanins, *Food Control*, **2023**, 154, 110017.
266. Li L, Zhao Z, Wei S, Xu K, Xia J, Wu Q, Wang L. Development and application of multifunctional films based on modified chitosan/gelatin polyelectrolyte complex for preservation and monitoring, *Food Hydrocolloids*, **2024**, 147, 109336.

267. Tong H W, Wang M, Li Z Y, Lu, W W. Electrospinning, characterization and in vitro biological evaluation of nanocomposite fibers containing carbonated hydroxyapatite nanoparticles, *Biomedical Materials*, **2010**, 5(5), 054111.
268. Kim H S, Chen J, Wu L P, Wu, Xiang H, Leong K W, Han J. Prevention of excessive scar formation using nanofibrous meshes made of biodegradable elastomer poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), *Journal of tissue engineering*, **2020**. 11, 2041731420949332.
269. Fadel SM, Hassan ML, Oksman K. Improving tensile strength and moisture barrier properties of gelatin using microfibrillated cellulose, *Journal of composite materials*, **2013**, 47(16), 1977-1985.
270. Kavooosi G, Rahmatollahi A, Dadfar SM, Purfard AM. Effects of essential oil on the water binding capacity, physico-mechanical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films, *LWT-Food Science and Technology*, **2014**, 57(2), 556-561.
271. Farahnaky A, Dadfar SM, Shahbazi M. Physical and mechanical properties of gelatin–clay nanocomposite, *Journal of Food Engineering*, **2014**, 122, 78-83.
272. Bianco A, Calderone M, Cacciotti I. Electrospun PHBV/PEO co-solution blends: Microstructure, thermal and mechanical properties, *Materials Science and Engineering: C*, **2013**, 33(3), 1067-1077.
273. Karbowniczek JE, Ura DP, Stachewicz U. Nanoparticles distribution and agglomeration analysis in electrospun fiber based composites for desired mechanical performance of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate (PHBV) scaffolds with hydroxyapatite (HA) and titanium dioxide (TiO₂) towards medical applications, *Composites Part B: Engineering*, **2022**, 241, 110011.
274. Kaniuk Ł, Stachewicz U. Development and advantages of biodegradable PHA polymers based on electrospun PHBV fibers for tissue engineering and other biomedical applications, *ACS biomaterials science & engineering*, **2021**, 7(12), 5339-5362.
275. Xiang H, Chen Z, Zheng N, Zhang X, Zhu L, Zhou Z, Zhu M. Melt-spun microbial poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) fibers with enhanced toughness: Synergistic effect of heterogeneous nucleation, long-chain branching and drawing process, *International journal of biological macromolecules*, **2019**, 122, 1136-1143.
276. Paşcu EI, Stokes J, McGuinness GB. Electrospun composites of PHBV, silk fibroin and nano-hydroxyapatite for bone tissue engineering, *Materials Science and Engineering: C*, **2013**, 33(8), 4905-4916.
277. Del Gaudio C, Ercolani E, Nanni F, Bianco A. Assessment of poly (ϵ -caprolactone)/poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) blends processed by solvent casting and electrospinning, *Materials Science and Engineering: A*, **2011**, 528(3), 1764-1772.
278. Meng W, Xing ZC, Jung KH, Kim SY, Yuan J, Kang IK, Shin HI. Synthesis of gelatin-containing PHBV nanofiber mats for biomedical application, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2008**, 19, 2799-2807.

279. Zhao X, Liu H, Hu Y, Huang J, Zhang S, Ja F. A novel gelatin-AgNPs coating preparing method for fabrication of antibacterial and no inflammation inducible coatings on PHBV, *Reactive and Functional Polymers*, **2016**, 107, 54-59.
280. Cuia W. Electrospun Biodegradable Polyester Micro-/Nanofibers for Drug Delivery and Their Clinical Applications, *Handbook of Polyester Drug Delivery Systems*, **2016**, 125.
281. McGuinness GB, Pascu I, Lally C, O'Connor R. 2 Scaffold Processing Technologies for Tailored Cell Interactions, *Cell and Material Interface: Advances in Tissue Engineering, Biosensor, Implant, and Imaging Technologies*, **2018**, 15.
282. Ding Y, Li W, Zhang F, Liu Z, Zanjanzadeh Ezazi N, Liu D, Santos HA. Electrospun fibrous architectures for drug delivery, tissue engineering and cancer therapy, *Advanced Functional Materials*, **2019**, 29(2), 1802852.
283. Gaber A, Alsanie WF, Kumar DN, Refat MS, Saied EM. Novel papaverin hidroklorüre metal complexes with potential anticancer activities, *Molecules*, **2020**, 25(22), 5447.
284. Gümüş GK. Kalp ilacı olan verapamilin insan flora bakteriler üzerine etkisi, DNA ile etkileşiminin *in vitro* ve *in silico* analizi, Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü.
285. Karadağ MK. Nigella sativa ekstresinin cas: 490-91-5 deneysel subaraknoid kanamaya bağlı vasküler değişiklikler üzerine olan etkisinin ışık mikroskopik ve stereolojik incelenmesi.
286. Sharifzadeh Naeini M, Naghavi MR, Bihamta MR, Sabokdast M, Salehi M. Production of some benzyloquinoline alkaloids in *Papaver armeniacum* L. hairy root cultures elicited with salicylic acid and methyl jasmonate, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, **2021**, 57, 261-271.
287. Eliwa D, Albadry MA, Ibrahim ARS, Kabbash A, Meepagala K, Khan IA, Ross SA. Biotransformation of papaverin hidroklorüre and *in silico* docking studies of the metabolites on human phosphodiesterase 10a, *Phytochemistry*, **2021**, 183, 112598.
288. Bhattacharjee B, Ghosh S, Mukherjee R, Haldar J. Quaternary lipophilic chitosan and gelatin cross-linked antibacterial hydrogel effectively kills multidrug-resistant bacteria with minimal toxicity toward mammalian cells, *Biomacromolecules*, **2020**, 22(2), 557-571.
289. Koshiko S, Sasajima T, Muraki S, Azuma N, Yamazaki K, Chiba K, Inaba M. Limitations in the use of rifampicin-gelatin grafts against virulent organisms, *Journal of vascular surgery*, **2002**, 35(4), 779-785.
290. Thongsrihem N, Taokaew S, Sriariyanun M, Kirdponpattara S. Antibacterial activity in gelatin-bacterial cellulose composite film by thermally crosslinking with cinnamaldehyde towards food packaging application, *Food Packaging and Shelf Life*, **2022**, 31, 100766.
291. Treesuppharat W, Rojanapanthu P, Siangsanoh C, Manuspiya H, Ummartyotin S. Synthesis and characterization of bacterial cellulose and gelatin-based hydrogel composites for drug-delivery systems, *Biotechnology reports*, **2017**, 15, 84-91.

292. Sundaramurthi D, Krishnan UM, Sethuraman S. Biocompatibility of poly (3-hydroxybutyrate-co3-hydroxyvalerate)(PHBV) nanofibers for skin tissue engineering, *Journal of biomedical nanotechnology*, **2013**, 9(8), 1383-1392.
293. Montazeri M, Rashidi N, Biazar E, Majdi A. Compatibility of cardiac muscle cells on coated-gelatin electro-spun polyhydroxybutyrate/valerate nano fibrous film, *laser*, **2011**, 17, 20.
294. Gheibi A, Khoshnevisan K, Ketabchi N, Derakhshan MA, Babadi AA. Application of electrospun nanofibrous PHBV scaffold in neural graft and regeneration: A mini-review, *Nanomedicine Research Journal*, **2016**, 1(2), 107-111.
295. Kuppan P, Sethuraman S, Krishnan UM. Interaction of human smooth muscle cells on random and aligned nanofibrous scaffolds of PHBV and PHBV-gelatin, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, **2016**, 65(16), 816-825.
296. Abazari MF, Karizi SZ, Hajati-Birgani N, Norouzi S, Khazeni Z, Hashemi J, Enderami SE. PHBV nanofibers promotes insulin-producing cells differentiation of human induced pluripotent stem cells, *Gene*, **2021**, 768, 145333.
297. Kaniuk Ł, Stachewicz U. Development and advantages of biodegradable PHA polymers based on electrospun PHBV fibers for tissue engineering and other biomedical applications, *ACS biomaterials science & engineering*, **2021**, 7(12), 5339-5362.
298. MACHT DI. A pharmacologic and clinical study of papaverin hidroklorür, *Archives of Internal Medicine*, **1916**, 17(6_1), 786-805.
299. Davila JC, Reddy CG, Davis PJ, Acosta D. Toxicity assessment of papaverine hydrochloride and papaverin hidroklorüre-derived metabolites in primary cultures of rat hepatocytes, *In vitro cellular & developmental biology*, **1990**, 26, 515-524.
300. Davila JC, Davis PJ, Acosta D. Changes in glutathione and cellular energy as potential mechanisms of papaverin hidroklorüre-induced hepatotoxicity *in vitro*, *Toxicology and applied pharmacology*, **1991**, 108(1), 28-36.
301. Vaziri ND, Stokes J, Treadwell TR. Lactic acidosis, a complication of papaverin hidroklorüre overdose, *Clinical Toxicology*, **1981**, 18(4), 417-423.
302. Rubens FD, Labow RS, Meek E, Bedard E. Papaverin hidroklorüre solutions cause loss of viability of endothelial cells, *Journal of Cardiovascular Surgery*, **1998**, 39(2), 193.
303. Kozlov PV, Burdygina GI. The structure and properties of solid gelatin and the principles of their modification, *Polymer*, **1983**, 24(6), 651-666.
304. Catoni SE, Trindade KN, Gomes CA, Schneider AL, Pezzin A, Soldi V. Influence of poly (ethylene glycol)-(PEG) on the properties of influence of poly (3-hydroxybutyrate-CO-3-hydroxyvalerate)-PHBV, *Polímeros*, **2013**, 23, 320-325.
305. Hermida-Merino C, Cabaleiro D, Lugo L, Valcarcel J, Vázquez JA, Bravo I, Hermida-Merino D. Characterization of tuna gelatin-based hydrogels as a matrix for drug delivery, *Gels*, **2022**, 8(4), 237.
306. Villasante J, Martin-Lujano A, Almajano MP. Characterization and application of gelatin films with pecan walnut and shell extract (*Carya illinoensis*), *Polymers*, **2020**, 12(6), 1424.

307. Ghorani B, Emadzadeh B, Rezaeinia H, Russell SJ. Improvements in gelatin cold water solubility after electrospinning and associated physicochemical, functional and rheological properties, *Food Hydrocolloids*, **2020**, 104, 105740.
308. Mukherjee I, Rosolen M. Thermal transitions of gelatin evaluated using DSC sample pans of various seal integrities, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **2013**, 114, 1161-1166.
309. Qu W, Häkkinen R, Allen J, D'Agostino C, Abbott AP. Globular and fibrous proteins modified with deep eutectic solvents: Materials for drug delivery, *Molecules*, **2019**, 24(19), 3583.
310. Goonoo N, Bhaw-Luximon A, Passanha P, Esteves S, Schoenherr H, Jhurry D. Biomineralization potential and cellular response of PHB and PHBV blends with natural anionic polysaccharides, *Materials Science and Engineering: C*, **2017**, 76, 13-24.
311. Kim YE, Kim YJ. Effect of biopolymers on the characteristics and cytocompatibility of biocomposite nanofibrous scaffolds, *Polymer journal*, **2013**, 45(8), 845-853.
312. Pérez-Marroquín XA, Aguirre-Cruz G, Campos-Lozada G, Callejas-Quijada G, León-López A, Campos-Montiel RG, Aguirre-Álvarez G. Green synthesis of silver nanoparticles for preparation of gelatin films with antimicrobial activity, *Polymers*, **2022**, 14(17), 3453.
313. Yoshikawa T, Miura H, Hirota T, Asai S, Yamashita M, Yamada K, Takamatsu H. Fundamental evaluation of thermophysical properties of lipiodol associated with cryoablation: freezing experiments using lipiodol phantom, *CardioVascular and Interventional Radiology*, **2020**, 43, 514-519.
314. Naseem R, Montalbano G, German MJ, Ferreira AM, Gentile P, Dalgarno K. Influence of pcl and phbv on plla thermal and mechanical properties in binary and ternary polymer blends, *Molecules*, **2022**, 27(21), 7633.
315. Yang C, Plackett D, Needham D, Burt HM. PLGA and PHBV microsphere formulations and solid-state characterization: possible implications for local delivery of fusidic acid for the treatment and prevention of orthopaedic infections, *Pharmaceutical research*, **2009**, 26, 1644-1656.
316. Eesaee M, Ghassemi P, Nguyen DD, Thomas S, Elkoun S, Nguyen-Tri P. Morphology and crystallization behaviour of polyhydroxyalkanoates-based blends and composites: A review, *Biochemical Engineering Journal*, **2022**, 187, 108588.
317. Karpova SG, Olkhov AA, Varyan IA, Popov AA, Iordanskii AL. Effect of Drug Encapsulation and Hydrothermal Exposure on the Structure and Molecular Dynamics of the Binary System Poly (3-hydroxybutyrate)-chitosan, *Polymers*, **2023**, 15(10), 2260.
318. Berthet MA, Gontard N, Angellier-Coussy H. Impact of fibre moisture content on the structure/mechanical properties relationships of PHBV/wheat straw fibres biocomposites, *Composites Science and Technology*, **2015**, 117, 386-391.
319. Lagazzo A, Moliner C, Bosio B, Botter R, Arato E. Evaluation of the mechanical and thermal properties decay of PHBV/sisal and PLA/sisal biocomposites at different recycle steps, *Polymers*, **2019**, 11(9), 1477.

320. Arifin W, Kuboki T. Effects of glass fibers on mechanical and thermal properties of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate), *Polymer Composites*, **2018**, 39(2), 491-503.
321. Sumama NK. Development of air-jet spun PHBV/PCL composite scaffolds for wound healing applications, Master's thesis, **2021**.
322. Figueredo GPD, Carvalho AFMD, Medeiros RLBD, Silva FM, Macêdo HPD, Melo MADF, Melo DMDA. Synthesis of MgAl₂O₄ by gelatin method: effect of temperature and time of calcination in crystalline structure, *Materials Research*, **2017**, 20, 254-259.
323. Kirboga S, Öner M. Oxygen barrier and thermomechanical properties of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) biocomposites reinforced with calcium carbonate particles, *Acta Chimica Slovenica*, **2020**, 67(1).
324. Öner M, Kızıl G, Keskin G, Pochat-Bohatier C, Bechelany M. The Effect of Boron Nitride on the Thermal and Mechanical Properties of Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), *Nanomaterials*, **2018**, 8(11), 940.
325. Abdalkarim SYH, Yu HY, Song ML, Zhou Y, Yao J, Ni QQ. *In vitro* degradation and possible hydrolytic mechanism of PHBV nanocomposites by incorporating cellulose nanocrystal-ZnO nanohybrids, *Carbohydrate polymers*, **2017**, 176, 38-49.
326. Duan B, Wang M. Customized Ca-P/PHBV nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering: design, fabrication, surface modification and sustained release of growth factor, *Journal of the Royal Society Interface*, **2010**, 7(suppl_5), S615-S629.
327. Maiza M, Benaniba MT, Quintard G, Massardier-Nageotte V. Biobased additive plasticizing Polylactic acid (PLA), *Polimeros*, **2015**, 25, 581-590.
328. Györyová K, Kovářová J, Andogová E, Zeleňák V, Nour El-Dien F. Thermal, Spectral and Antimicrobial Properties of New Zinc (II) Isobutyrate Compounds: Part I. Papaverin hidroklorüre, Phenazone, *Journal of thermal analysis and calorimetry*, **2002**, 67(1), 119-128.
329. Xu Y, Zou L, Lu H, Kang T. Effect of different solvent systems on PHBV/PEO electrospun fibers, *RSC advances*, **2017**, 7(7), 4000-4010.
330. Lo JSC, Chen X, Chen S, Miao Y, Daoud WA, Tso CY, Lin CSK. Fabrication of biodegradable PLA-PHBV medical textiles via electrospinning for healthcare apparel and personal protective equipment, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, **2024**, 39, 101536.
331. Chandy T, Sharma CP. Biodegradable chitosan matrix for the controlled release of steroids. *Biomaterials, Artificial Cells and Immobilization Biotechnology*. **1991**, 19(4), 745-760.
332. Zhu W, Liu S, Zhao J, Liu S, Jiang S, Li B, ... Cui W. Highly flexible and rapidly degradable papaverin hidroklorüre-loaded electrospun fibrous membranes for preventing vasospasm and repairing vascular tissue. *Acta Biomaterialia*. **2014**, 10(7), 3018-3028.
333. Piotrowska K, Hermann TW, Augustyniak WL. Photooxidation of papaverin hidroklorüre, papaverin hidroklorürol and papaveraldine in their chloroform solutions. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. **2002**, 59(5), 359-364.

334. Piotrowska K, Hermann TW, Pawelska A. Photostabilization of papaverin hidroklorüre hydrochloride solutions. *Acta Pol Pharm.* **2010**, 67(4), 321-326.
335. Miyajima M, Koshika A, Okada JI, Ikeda M, Nishimura K. Effect of polymer crystallinity on papaverin hidroklorüre release from poly (L-lactic acid) matrix. *Journal of Controlled Release.* **1997**, 49(2-3), 207-215.
336. Prado N, Ochoa J, Amrane A. Biodegradation by activated sludge and toxicity of tetracycline in a semi-industrial membrane bioreactor. *Bioresource Technology.* **2009**,100(15), 3769-3774.
337. Vieira WT, de Farias MB, Spaolonzi MP, da Silva MGC, Vieira MGA. Removal of endocrine disruptors in waters by adsorption, membrane filtration and biodegradation. A review. *Environmental Chemistry Letters.* **2020**,18(4), 1113-1143.
338. Braatheeswaran D, Mathew A, Aswathy RG, Nagaoka Y, Venugopal K, Yoshida Y, Maekawa T, Sakthikumar D. Hybrid Fluorescent Curcumin Loaded Zein Electrospun Nanofibrous Scaffold for Medical Applications. *Biomedical Materials.* **2012**, 7.
339. Zhu W, Liu S, Zhao J, Liu S, Jiang S, Li B, ... Cui W. Highly flexible and rapidly degradable papaverin hidroklorüre-loaded electrospun fibrous membranes for preventing vasospasm and repairing vascular tissue. *Acta Biomaterialia.* **2014**,10(7), 3018-3028.
340. Miyajima M, Koshika A, Okada JI, Ikeda M, Nishimura K. Effect of polymer crystallinity on papaverin hidroklorüre release from poly (L-lactic acid) matrix. *Journal of Controlled Release.* **1997**,49(2-3), 207-215.
341. Darie-Niță RN, Râpă M, Frackowiak S. Special features of polyester-based materials for medical applications. *Polymers.* **2022**,14(5), 951.
342. Suvarnapathaki S, Wu X, Lantigua D, Nguyen MA, Camci-Unal G. Breathing life into engineered tissues using oxygen-releasing biomaterials. *NPG Asia Materials.* **2019**,11(1), 65.
343. Law JX, Liau LL, Saim A, Yang Y, Idrus R. Electrospun collagen nanofibers and their applications in skin tissue engineering. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine.* **2017**,14, 699-718.
344. Wang S, Xiong Y, Chen J, Ghanem A, Wang Y, Yang J, Sun B. Three dimensional printing bilayer membrane scaffold promotes wound healing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* **2019**, 7, 348.
345. He R, Li J, Chen M, Zhang S, Cheng Y, Ning X, Wang N. Tailoring moisture electroactive Ag/Zn@ cotton coupled with electrospun PVDF/PS nanofibers for antimicrobial face masks. *Journal of Hazardous Materials.* **2022**, 428, 128239.
346. Li C, Fu R, Yu C, Li Z, Guan H, Hu D, ... Lu L. Silver nanoparticle/chitosan oligosaccharide/poly (vinyl alcohol) nanofibers as wound dressings: a preclinical study. *International Journal of Nanomedicine.* **2013**, 4131-4145.
347. Alven S, Buyana B, Feketschane Z, Aderibigbe BA. Electrospun nanofibers/nanofibrous scaffolds loaded with silver nanoparticles as effective antibacterial wound dressing materials. *Pharmaceutics.* **2021**,13(7), 964.
348. Zhou T, Li G, Lin S, Shi S, Liao J, Tian T, ... Lin Y. Fabrication of electrospun 3D nanofibrous poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate)/graphene scaffolds for

-
potential bone tissue engineering: Effects of graphene on scaffold properties and cellular behaviors. *Journal of Biomedical Nanotechnology*. **2017**,13(7), 822-834.

EKLER

EK 1 – Tez Çalışması Orjinallik Raporu

