T.C.
İstanbul
YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ÇAY AĞACI YAĞI KATKILI POLİMERİK NANOFİBER YARA ÖRTÜSÜ ÜRETİMİ ve KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KÜBRA GÖKYILDIRIM

Tez Danışmanı

Doç. Dr. SEZEN CANIM ATEŞ

İSTANBUL
EYLÜL 2023

T.C.

İstanbul

YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

KABUL ONAY

Biyomedikal Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/09/2023

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Sezen CANIM ATEŞ

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi _____

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Sezen CANIM ATEŞ

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi _____

Prof. Dr. Serap DERMAN

Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Tülay İREZ

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi _____

Bu çalışma TÜBİTAK BİDEB tarafından 2210-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında desteklenmiştir.

ETİK BEYAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

20/09/2023

KÜBRA GÖKYILDIRIM

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca her zaman çok iyi iletişim kurduğumuz, iyi niyetini ve bilgisini esirgemeyen tecrübeleriyle çalışmama ışık tutan danışmanım Sayın Doç. Dr. Sezen CANIM ATEŞ'e,

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümünde, laboratuvarında çalışmama izin veren ve her konuda çok yardımcı olan, bilimsel görüşleriyle aydınlatan sayın Prof. Dr. Serap DERMAN'a,

Tez sürecimde yanımda olan çalışmamın başından sonuna kadar ilgilenen ve bildiği her şeyi aktaran Yıldız Teknik Üniversitesi Derman Lab araştırmacılarından aynı zamanda Yıldız Teknik Üniversitesinde doktora öğrencisi olan Cansu GÜLCAN' a,

Yine Derman Lab araştırmacılarından doktora öğrencisi Seçil KAYA'ya ve laboratuvarda beraber çalıştığım tüm hocalarıma, araştırmacılara ve arkadaşlarıma,

Biyouyumluluk ve antibakteriyel testlerini beraber yaptığımız öğretim görevlisi Neşe EVCİL, araştırma görevlileri Zehra KÖSE ve Rezzan YARDIMCI'ya,

Hayatımın her noktasında bana destek veren babam Ali GÖKYILDIRIM, annem Esin GÖKYILDIRIM, ablam Hande GÖKYILDIRIM, dedem Mehmet TOZCU ve anneannem İjlal TOZCU'ya, tüm aileme ve arkadaşlarıma,

2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında destek veren TÜBİTAK BİDEB'e,

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

KÜBRA GÖKYILDIRIM

EYLÜL 2023

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY ..... **i**
ETİK BEYAN ..... **iii**
ÖNSÖZ ..... **iv**
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **viii**
TABLOLAR LİSTESİ ..... **x**
KISALTMALAR ..... **xi**
SİMGELER ..... **xii**
ÖZET ..... **xiii**
ABSTRACT ..... **xiv**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1 Deri ve Fonksiyonları 2
2.2 Yara ve Yara Çeşitleri 3
2.3 Yara İyileşmesi ve Evreleri 4
2.3.1 Hemostaz Aşaması 5
2.3.2 Enflamasyon 5
2.3.3 Proliferasyon Aşaması 5
2.3.4 Yeniden Şekillenme 6
2.4 Yara Örtüleri 7
2.4.1 Modern Yara Örtüleri 7
2.4.2 Yarı Geçirgen Film Örtüleri 7
2.4.3 Yarı Geçirgen Köpük Örtüleri 8
2.4.4 Hidrojel Yara Örtüleri 8
2.4.5 Hidrokolloid Yara Örtüleri 9
2.4.6 Aljinat Yara Örtüleri 10
2.4.7 Büyüme Faktörü İçeren Yara Örtüleri 11
2.4.8 Nanofiber Yara Örtüleri 11
2.4.9 Antimikrobiyal Yara Örtüleri 12
2.5 Elektro Çekim Yöntemi 14
2.6 Elektro Çekim Yöntemini Etkileyen Parametreler 15
2.6.1 Polimer Konsantrasyonu 15
2.6.2 Çözücü Etkisi 15
2.6.3 Elektiriksel iletkenlik 16

2.6.4 Viskozite 16
2.6.5 Moleküler ağırlık 17
2.6.6 Uygulanan Gerilim 17
2.6.7 Akış Hızı 18
2.6.8 Uç ve Toplayıcı Arasındaki Mesafe 18
2.6.9 Ortamla İlgili Parametreler 18
2.7 Polivinil Alkol 19
2.8 PVA Polimerinin Sitrik Asit ile Çapraz Bağlanması 20
2.9 Çay Ağacı Yağı (TTO) 20
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR 23
3.1 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar 23
3.2 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar 23
3.3 Çözeltilerin Hazırlanması 24
3.3.1 Polivinil Alkol Polimer Çözeltisi 24
3.3.2 PVA/CA Çapraz Bağlama Çözeltisi 24
3.3.3 Fosfat Tamponlu Salin (PBS) Çözeltisi 24
3.3.4 Çay ağacı Yağı Çözeltisi 24
3.4 Elektro Çekim Yöntemi ile Nanofiber Üretimi 25
3.4.1 PVA Polimerinin Sitrik Asit ile Çapraz Bağlanması 25
3.5 Nanofiber Matlara Çay Ağacı Yağı Yüklenmesi 26
3.6 Nanofiber Matların Karekterizasyonları ve Biyolojik Aktivite Testleri 26
3.6.1 Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) Analizi 27
3.6.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi 27
3.6.3 Şişme Testi 28
3.6.4 *In-vitro* Çay Ağacı Yağı Salım Testi 28
3.6.5 Antibakteriyel Aktivite Testi 29
3.6.6 Biyouyumluluk Testi 30
4. SONUÇLAR 32
4.1 Optimizasyon Aşamasında Üretilen Nanofiber Matların SEM Analizi 32
4.2 Tez Çalışmasında Kullanılan Nanofiber Matların SEM Analizi 35
4.3 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi 39
4.4 Şişme Testi Sonuçları 40
4.5 Çay Ağacı Yağına Ait Kalibrasyon Eğrisi 42
4.6 *In-vitro* Salım Analizi 43
4.7 Yara Örtü Malzemesinin Biyolojik Aktivite Testleri 44

4.7.1 Biyouyumluluk Testi -İndirekt Hücre Canlılık Analizi 44
4.7.2 Antibakteriyel Aktivite Analizi 45
5. YORUMLAR VE ÖNERİLER 47
KAYNAKÇA 49
ÖZGEÇMİŞ 55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 İnsan derisinin yapısı [8] 3
Şekil 2.2 Yara iyileşme evreleri 4
Şekil 2.3 Film örtüleri [24] 7
Şekil 2.4 Köpük Yara Örtüsü[24] 8
Şekil 2.5 Hidrojel Yara Örtüsü (Suprasorb®) [24] 9
Şekil 2.6 Hidrokolloid Yara Örtüsü Comfeel® Plus Ulcer (Coloplast A/S, Danimarka [30] 10
Şekil 2.7 Aljinat Yara Örtüleri [24] 10
Şekil 2.8 Elektro Çekim işleminin şematik gösterimi: a) Dikey kurulum b) yatay kurulumu [47] 14
Şekil 2.9 PVA'nın kimyasal formülü[71] 19
Şekil 2.10 CA'nınkimyasal formülü [73]. 20
Şekil 2.11 Çay Ağacı [76] 21
Şekil 3.1 Elektro Çekim Cihazı 25
Şekil 3.2 PVA/CA nanofiber matın çapraz bağlanma aşamaları 26
Şekil 3.3 Çalışma Şeması 27
Şekil 3.4 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) 27
Şekil 3.5 FT-IR cihazı 28
Şekil 3.6 Antibakteriyel testi aşamaları 29
Şekil 3.7 Hücre canlılık testleri için plaka okuyucu spektrofotometre cihazı 31
Şekil 4.1 %5 w/v PVA (146,000-186,000 g/mol) +%5 CA , (a) 1000x ve (b) 5000x büyütme SEM görüntüleri 33
Şekil 4.2 Optimizasyon aşamasında üretilen fiber SEM görüntüleri 2500x ve 5000x büyütme 33
Şekil 4.3 %6 PVA + %5 CA Çapraz Bağlanmış Boncuklu Morfolojiye Sahip 34
(a) 10000x ve (b) 20000x Büyütmeli Nanofiber Matlar 34
Şekil 4.4 Aynı molekül ağırlığında olan ve %6-8 konsantrasyonlarında hazırlanmış PVA/CA nanofiber matlar 34
Şekil 4.5 (a) %8 PVA nanofiber mat 1000x büyütme (b) %8 PVA + % 5 CA 36
çapraz bağlı nanofiber mat 1000x büyütme 36
Şekil 4.6 (a) %8 PVA nanofiber mat 2000x büyütme (b) %8 PVA + % 5 CA 36
çapraz bağlı nanofiber mat 2000x büyütme 36
Şekil 4.7 (a) %8 PVA nanofiber mat 5000x büyütme (b)%8 PVA + % 5 CA 36
çapraz bağlı nanofiber mat 5000x büyütme 36
Şekil 4.8 (a) %8 PVA nanofiber mat 10000x büyütme (b)%8 PVA + % 5 CA çapraz bağlı nanofiber mat 10000x büyütme 37
Şekil 4.9 Çapraz bağlı nanofiber matın temas noktaları 37
Şekil 4.10 (a) Çay ağacı yağı yüklü PVA/CA/TTO nanofiber mat 1000x büyütme (b) Çay ağacı yağı yüklü PVA/CA/TTO nanofiber mat 10000x büyütme 38
Şekil 4.11 PVA ve PVA/CA nanofiber matın FT-IR spektrumu 39
Şekil 4.12 Çay ağacı yağı (TTO) ve TTO katkılı nanofiber matın FT-IR spektrumu 39
Şekil 4.13 PVA/CA/TTO nanofiber matların zamana bağlı (%) şişme grafiği 41
Şekil 4.14 Çay Ağacı Yağı kalibrasyon grafiği (1mcg=1 mg/1000) 42
Şekil 4.15 Kümülatif salım grafiği 43
Şekil 4.16 PVA/CA nanofiber mat ve PVA/CA/TTO nanofiber matların zamana bağlı hücre canlılığı (%) grafiği 44
Şekil 4.17 (A) S. *aureus* bulunan agar plaka üzerinde PVA/CA nanofiber mat, (B) E. *coli* bulunan agar plaka üzerinde PVA/CA nanofiber mat, (C) S. *aureus* bulunan agar

plaka üzerinde TTO yüklü PVA/CA/TTO nanofiber mat, (D) E. *coli* bulunan agar plaka üzerinde TTO yüklü PVA/CA/TTO nanofiber mat..... 45

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Elektro çekim yöntemini etkileyen parametreler 15
Tablo 2. ISO/FDIS 4730:2004'e göre çay ağacı yağının kromatografik profili 21
Tablo 3. PVA (146,000-186,000 g/mol) konsantrasyon ve çözücüye göre deneme sonuçları 32
Tablo 4. PVA (89,000-99,000 g/mol) elektro çekim denemesi 34
Tablo 5. Üretilen yara örtüsü numunelerinin elektro çekim paremetreleri 35
Tablo 6. PVA/CA/TTO nanofiber matların zamana bağlı şişme-ağırlık tablosu 41
Tablo 7. Çay Ağacı Yağı -Etanol kalibrasyon eğrisi için okunan değerler 42

KISALTMALAR

CA	Sitrik Asit
PVA	Polivinil Alkol
TTO	Çay Ağacı Yağı
PVA/CA	Sitrik Asit ile Çapraz Bağlı PVA Nanofiber Mat
PVA/CA/TTO	Çay Ağacı Yağı Yüklü Nanofiber Mat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
ATR-FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
L929	Fare Fibroblast Hücre Hattı
MHA	Mueller Hilton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür
ECM	Ekstraselüler Matriks
IL	İnterlekin
rhEGF	Rekombinant İnsan Epidermal Büyüme Faktörü
FBS	Fetal Bovin Serum
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PCL	Polikaprolakton
UV-VIS	Ultraviyole-Görünür Bölge (Ultraviolet–Visible)
NF	Nanofiber
PDGF	Trombısit Kaynaklı Büyüme Faktörü
$\mathbf{W_w}$	Islak Nanofiber Ağırlığı
$\mathbf{W_d}$	Kurutulmuş nanofiber ağırlığı

SİMGELER

%	Yüzde
°C	Derece Santigrat
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
g	Gram
mg	Miligram
mL	Mililitre
nm	Nanometre
µm	Mikrometre
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
w/v	Kütle/Hacim
Pd	Paladyum
Au	Altın
kV	Kilovolt
dk	Dakika

ÖZET

Çay Ağacı Yağı Katkılı Polimerik Nanofiber Yara Örtüsü Üretimi ve Karakterizasyonu

Kübra Gökyıldırım

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç.Dr.Sezen Canım Ateş

Eylül 2023, 70 sayfa

Deri hastalıklarında birçok tedavi yöntemi kullanılabilmektedir. Bunlardan biri, hastanın sağlıklı bir bölgesinden alınan bir doku parçasının, doku kaybının veya hasarının olduğu bölgeye yerleştirilmesi ile sağlanan tedavidir. İkinci bir yöntem ise transplantasyon yani başka bir canlıdan alınan sağlıklı dokunun hastaya nakil edilmesidir. Ayrıca deri, kendi kendini onarabilmekte veya tamamlayabilmektedir. Fakat yara iyileşmesi sürecinde enfeksiyon oluşursa doğal iyileşme süreci tehlikeye girer. Bahsedilen bu metodların kullanılması için belirli bir zaman zarfına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle klinik ihtiyaçların gereksinimlerini karşılayabilecek, yara iyileşme sürecini hızlandıracak, uygun özelliklere sahip ve doğal antibakteriyel aktiviteye etki eden çok işlevli özelliklerde yara örtüsünün geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada, yeni nesil yara örtüsü üretimi için cilde benzer gözenekli bir yapı oluşturmak amacıyla elektro çekim yöntemi kullanılmıştır. Polivinil alkol (PVA) polimeri ile çapraz bağlama ajanı olan sitrik asit (CA) kullanılarak hazırlanan çözeltiye elektro çekim yöntemi uygulanmış ve üretilen PVA/CA nanofiber matlar daha sonra ısıl işlem ile çapraz bağlanmıştır. Yara bölgesinin bakterilere karşı daha korunumlu olması için antibakteriyel özelliği olduğu bilinen ve doğal kaynaklı çay ağacı yağı (TTO) nanofiber matlara damlatma yöntemiyle yüklenmiştir.

Bilindiği kadarıyla literatürde elektro çekim yöntemiyle üretilmiş çay ağacı yağı katkılı, sitrik asit ile çapraz bağlı PVA polimeri tabanlı bir yara örtüsü çalışması yapılmamıştır.

Üretilen yara örtüsünün karakterizasyonları için Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), şişme testi, çay ağacı yağının salım testi yapılmıştır. Yara örtü malzemesinin antibakteriyel testi inhibisyon bölgesi analizi ile *E.coli* ve *S.aureus* bakterileri üzerinde, biyouyumluluk çalışması ise L929 hücre hattı üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler:*Yara örtüsü, elektro çekim yöntemi, çay ağacı yağı, polivinil alkol.*

ABSTRACT

Production and Characterization of Tea Tree Oil Containing Polymeric Nanofiber Wound Dressing

Kübra GÖKYILDIRIM

İstanbul Yeni Yüzyıl University, Science and Engineering Institute

Master Thesis, Biomedical Engineering

Department Supervisor: Assoc. Prof. Sezen CANIM ATEŞ

September 2023, 70 pages

Numerous treatment methods can be used in skin diseases. One of these methods is the treatment provided by placing a piece of tissue taken from a patient's healthy part to the area where there is tissue loss or impairment. The second method is transplantation, which is transferring healthy tissue taken from another living thing to the patient. Additionally, the skin can repair or complete itself. Nevertheless, if infection arises during the wound healing process, the natural healing process is put at risk. A certain period of time is required for these methods to be implemented. There is a necessity to add multifunctional wound dressings that can meet clinical healing features, expedite the wound healing process, have appropriate properties, and integrate natural antibacterial activity.

In this study, electrospinning method was carried out to create a porous structure like the skin for the production of a new generation wound dressing. Electrospinning method was implemented to the solution prepared using polyvinyl alcohol (PVA) polymer and citric acid (CA), a cross-linking agent. The produced PVA/CA nanofiber mats were then cross-linked by heat treatment. So as to protect the wound area against bacteria, naturally-derived tea tree oil (TTO), which is known to have antibacterial features, is loaded onto the nanofiber mats by drip method.

As far as it is known, there has been no wound dressing study in the literature based on PVA polymer cross-linked with citric acid and containing tea tree oil produced by the electrospinning method.

Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), swelling test, and release test of tea tree oil were performed for the characterization of the produced wound dressing. The antibacterial test of the wound dressing material was carried out on *E. coli* and *S. auerus* bacteria by inhibition zone analysis, and the biocompatibility was performed on L929 cell line by viability analysis.

Anahtar Kelimeler: *Wound dressing, electrospinning method, tea tree oil, polyvinyl alcohol.*

1. GİRİŞ

Derinin bütünlüğüne zarar gelmesi ve fonksiyonlarının kaybedilmesi büyük sorunlar teşkil etmektedir. Dünyada yaklaşık 100 milyon travmatik ve 300 milyon kronik yara hastası bulunmaktadır [1,2].

Yara, ciltte ekzojen bir genellikle laserasyona bağlı olarak meydana gelen ve travmaya neden olan rahatsızlıktır. Akut yara daha hızlı iyileşebilirken kronik yara daha zor iyileşir bundan dolayı bakteriyel saldırı riski yüksektir [3]. Artan kronik yara insidansı ve enfeksiyon patojenlerinin sürekli devem eden direnci nedeniyle, etkili terapötik yara bakımına ihtiyaç vardır. Yara örtüsünün 2012 yılında küresel pazar büyüklüğü 12,4 milyar ABD dolarına çıkmıştır. 2022'den 2030'a kadar küresel pazar büyüklüğünün yıllık %5,3 bileşik büyüme oranında artması beklenmektedir. Bu nedenle yara tedavisi için uyumlu bir materyal geliştirmek-üretmek büyük önem taşımaktadır [4].

Yara örtüsü teknolojisindeki gelişmeler, yarayı örtmek ve gizlemekten daha fazlasını yapan, aynı zamanda iyileşme sürecini kolaylaştırabilen ve iyileşmeyen yaralardaki belirli sorunları ele alabilen üretimlerin çoğalmasına yol açmıştır.Yara örtüleri, kronik iyileşmeyen yaraların altta yatan nedenlerini yönetmeye yönelik genel çabalarla uyum içinde önemli bir yardımcı rol oynayabilir [5]. Bu bağlamda, nanometre aralığında çaplara sahip elektrospun fiberler doğal insan hücre dışı matrisinin yapısını andırırken, bu tür fiber keçeler fiziksel ve mekanik koruma sağlamaktadır [6].

Bu tez çalışmasında, yara örtü malzemesi olarak kullanılmak üzere elektro çekim yöntemi ile TTO yüklenmiş çapraz bağlı PVA nanofiber yapılar elde edilmiştir. Nanofiber yapıları SEM ve FT-IR analizleri ile incelenmiştir. Şişme testleri yapılmış olup su tutma kapasitesine bakılmıştır. *In vitro* salım profillerini incelemek için spektrofotometrik yöntemden yararlanılmıştır. TTO yüklenilen PVA nanofiberlerin *in vitro* biyouyumluluk çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu nanofiberlerin L929 fare fibroblast hücrelerine karşı sitotoksisitesi MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde antibakteriyel aktivite testleri yapılmıştır. Hazırlanan TTO katkılı, CA ile çapraz bağlanmış PVA nanofiber yapıların, doku mühendisliğinde yeni nesil yara örtüsü üretimi olarak önemli bir potansiyele sahip olmaduğu belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Deri ve Fonksiyonları

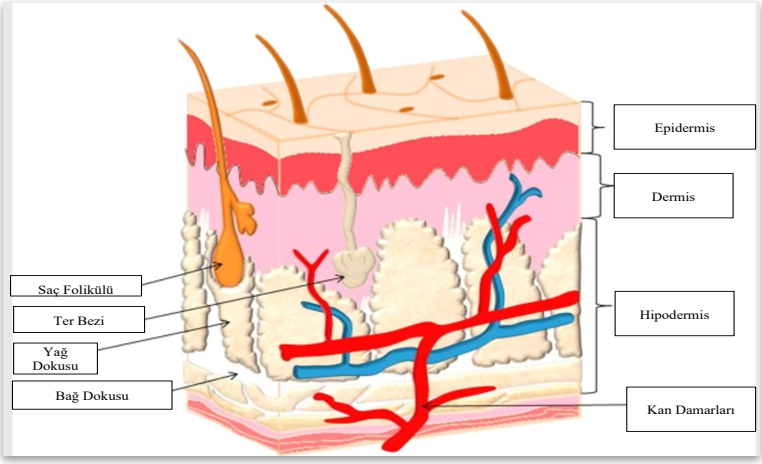
Deri, insan vücudundaki iskelet sisteminden sonraki en büyük organdır. Erişkin bir insanın toplam vücut ağırlığının %15'ini kapsamaktadır ve derinin yüzey alanı 1.9 m^2'yi bulmaktadır. Eş zamanlı olarak deri, vücudun lenfatik sistemi, damar sistemi ve epidermal siniri gibi çeşitli biyolojik sistemleri birbirine bağlayan organıdır [7].

Aynı zamanda deri, insan vücuduna oksijen ve besin sağlamak, toksik maddeleri uzaklaştırmak ve bağışıklık tepkileri üretmektedir. Bu nedenle cildi korumak ve cilt onarımını etkili bir şekilde hızlandırmak kritik öneme sahiptir. Deri; epidermis, dermis ve hipodermis adı verilen tabakalardan oluşmaktadır.

Epidermis derinin en dış katmanıdır. Epidermisin melanosit hücreleri melatonin pigmentini sağlayarak deriye rengini verir. Epidermis; dermal hücreler (fibroblastlar, mast hücreleri) içinde hücresel iletişim amacıyla büyüme faktörleri salgılar. Epidermis tabakası aynı zamanda deri matrisinin üretimini ya da uygun olduğu zaman bozunmasını uyarır. Derinin bu katmanından besin maddelerinin taşınması seçici bariyerden geçtikten sonra hücreler arası sıvıların difüzyonu yoluyla olmaktadır. Epidermis su ve hava geçirmezdir. Deri yoluyla vücuda giren maddelerin giriş ve çıkışını kontrol eder ve iç katmanları korur.

Dermis tabakası; epidermis ile hipodermis arasında bulunmaktadır. Bağ dokusu, ter bezleri ve kıl köklerini içerir. Dermisin içine kadar gelen epidermal uzantılar: kıl folikülleri, ter bezleri ve sebum bezleri; derinin bariyer görevi ve termoregülatör işlevini gerçekleştirirler. Anne karnındaki gelişim döneminde, ektoderm ve mezodermden türevlenen deri dokusu, doğumdan sonra dermis ve epidermis bileşenleriyle, termoregülasyon, mikrobiyal koruma, desikasyon bariyeri, mekanik koruma ve yara iyileşmesi, estetik görünüm, pigmentasyon ve kasılma kontrolü görevlerini yerine getirir.

Hipodermis, derinin en alt tabakasıdır. Deriyi mekanik etkilerin zararlarından enerji absorblayan bir katman gibi korur. Yapısında bol lipit bulunması sayesinde vücuda enerji sağlayan kaynak olmasının yanı sıra izole edici bir tabaka olarak da termoregülasyonu sağlar [8].



Şekil 2.1 İnsan derisinin yapısı [8]

Derinin çok çeşitli fonksiyonları vardır. Bunlar aşağıda verildiği gibidir.

- Koruma: Deri dış ortamdaki ısıya (sıcak- soğuk), vücuttaki suyun kaybına, ultraviyoleye, kimyasal maddelere, mikroorganizmalara ve minör travmalara karşım bünyeyi koruyucudur. Karniye tabakası, melanositler, Langerhans adacıkları aracılığıyla gerçekleşir.
- Duyu: Sıcak, soğuk, dokunma, ağrı hissi.
- Termoregülasyon: Terleme, vazodilatasyon, vazokonsrüksiyon yapma.
- İmmünolojik defans: Langerhans hücreleri aracılığıyla gerçekleşir.
- D vitamini sentezi: Keratinositler aracılığıyla gerçekleşir.
- Yara İyileştirme: Repitelizasyon, dermal tamir yapar.
- Detoksifikasyon: Terleme,apokrin ter bezleri aracılığıyla gerçekleşir.
- Ruhsal durumun ifadesi, estetik: Deri, saç ve tırnakların sağlığı etkiler.

2.2 Yara ve Yara Çeşitleri

Yara, fiziksel veya termal hasardan kaynaklanan deri veya mukozanın epitelyal astarının sürekliliğinde bir bozulma olarak tanımlanır [9]. Yaralar çok sayıda endojen biyokimyasal olayı ve/veya bağışıklık sisteminin hücresel reaksiyonlarını içeren insan derisinin travma kaynaklı meydana gelmiş rahatsızlıklarıdır.

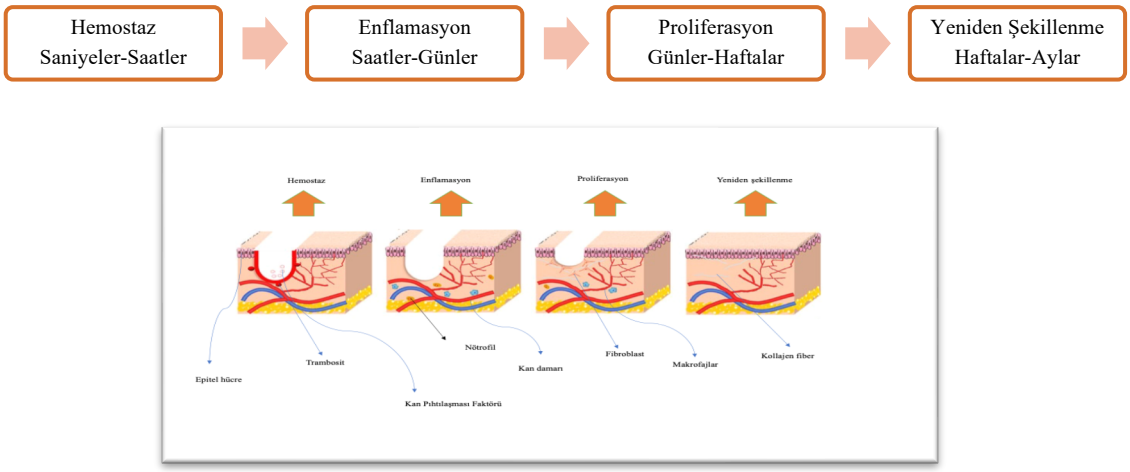
Cilt yaraları, iyileşme süresine ve doğasına bağlı olarak akut veya kronik olarak sınıflandırılabilir. Delinmeler, kesikler, yanıklar ve sıyrıklar nedeniyle akut bir yara aniden oluşabilir. Kronik yaralar genellikle bası yarası, bacak ülseri ve yanıklardan kaynaklanır[10]. Bu akut yaralar kısa sürede ve düzenli bir yara iyileşme süreci içinde iyileşme

gösterebilir. Kronik yaralar ise genellikle iyileşme sürecinin enflamasyon fazında engeller. Kronik yaralar, Yara İyileştirme Derneği'nin etiyolojilerine göre diyabetik, basınç, arteriyel ve venöz yetmezlik ülserleri olarak sınıflandırılabilir [11].

Cildin kendi kendini yenileme kapasitesi sergilediği tartışılmıştır; fakat kronik yaralar (örn. diyabetik ayak ülseri) veya ciddi lezyonların sonucu olan yaralar söz konusu olduğunda, bunların iyileşmesi zordur veya iyileştirilememektedir. Çeşitli faktörler iyileşme sürecini etkileyerek yara iyileşme potansiyelinde düşüşe neden olabilir. İyileşme sürecini etkileyen yerel faktörler arasında venöz yetmezlik, yabancı cisim reaksiyonu, enfeksiyon ve oksijenasyon yer alırken, sistemik faktörler arasında cinsiyet, yaş, diyabetik durum, fizyolojik stres, cinsiyet hormonal dengesizliği ve uygunsuz ilaçlar yer alır [12].

2.3 Yara İyileşmesi ve Evreleri

Yara iyileşmesi, çözünür ajanlar, kan hücreleri, ekstraselüler matris elemanları ve parenkimal hücrelerin birlikte rol aldığı dinamik ve birbiriyle eş zamanlı hareket eden bir süreçtir [13]. Hücresel ve moleküler düzeydeki gelişmelerin olduğu bu süreçte hasar almış dokuların onarımı gerçekleşmektedir. Dört farklı aşamadan oluşan bir doku rejenerasyonu ve büyüme sürecidir. (i) pıhtılaşma ve hemostaz aşaması, (ii) şişmenin meydana geldiği enflamatuvar faz, (iii) yeni dokuların ve kan damarlarının oluştuğu proliferasyon dönemi ve (iv) yeni dokuların yeniden şekillenmesinin gerçekleştiği olgunlaşma aşamasıdır [14]. Bu aşamalar, birbiriyle iyi bağlantılı sıralı bir şekilde meydana gelir ve bu fazların ilerlemesi büyük ölçüde yara tipine bağlıdır [15].



Şekil 2.2 Yara iyileşme evreleri

2.3.1 Hemostaz Aşaması

Platelet pıhtısının oluşumuyla hemostaz aşaması gerçekleşmiş olur. Ardından fibrin matris oluşumu gerçekleşir ve hücrelere yataklık eder. Kompleman aktivasyonu cevabı ile birlikte nötrofiller yara bölgesine getirilerek plateletlerin ve bakteriyel degredasyon ürünlerinin hücre dışı bırakılmasında görev alır [16].

2.3.2 Enflamasyon

Enflamasyon doku hasarının hemen ardından meydana gelir. Görevi yaralı bölgeye enflamatuar hücrelerini getirmektir.

Nötrofiller yara bölgesine ilk gelen lökositlerdir. Yara bölgesinde mikroorganizma varlığında yaralanmayı takip ederek ilk birkaç dakikada, enfeksiyon yoksa 6 saat içinde yara bölgesine göç etmektedir. Yaralanmadan sonra, 24-48 saat aralığında sayıları en üst seviyeye ulaşmaktadır. Nötrofiller elastaz, kollajenaz vb. proteazları salgılayarak, hasarlı ve denatüre olmuş ekstraselüler matriks elemanlarını ortadan kaldırmakta ve ölü dokuların uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Yara iyileşmesinin bu evresinde lökositlerin yara içine migrasyonu ile karakterizedir. Yaralanmış bölgeye lökosit göçü kompleman faktörler, elastin yıkım ürünleri ile TGF-β, tümör nekroz faktör-α (TNF-α), interlökin-1 (IL-1), PDGF, lökotrien B4 ve faktör IV içeren immünomodülatör faktörler tarafından uyarılır. Lökositler yara bölgesindeki kılcal damarların üstünü kaplayan endotel hücrelere yapışırlar. Bu hücreler bakterileri yok eder, ölmekte olan hücrelerdeki kalıntıları ortadan kaldırır ve hasar görmüş matriksi onarır, böylece onarım işlemleri devam etmektedir [17].

2.3.3 Proliferasyon Aşaması

Yeniden şekillenme veya yeni doku oluşumu hücresel çoğalma ve çeşitli hücre tiplerinin bölgeye ulaşmasıyla birlikte gerçekleşen bir evredir. Bu evrenin aşamaları fibroblast göçü, kollajen sentezi, anjiogenez ve granülasyon dokusunun meydana gelmesi olarak sıralanabilmektedir. Fibroblast göçü evresi yaralanmadan sonra yara bölgesinde sayıları artan fibroblastların bölgeye giderek prolifere oldukları kollajen birikimi süreci olarak tanımlanmaktadır. Endotelyal hücrelerin ve fibroblastların proliferasyonundan, trombosit ve aktive olmuş makrofajlardan kaynaklanan büyüme faktörleri ve sitokinler sorumludur. İnflamatuar hücrelerden ve ekstrasellüler fragmentlerden salgılanan IL-1, TNF-α, PDGF, EGF, FGF özellikle TGF-β1 ve TGF-β2 fibroblastların yara bölgesine göçünü, çoğalmasını ve kollajen üretimini uyarmaktadır. Bu aşamanın

sonunda yara bölgesine gelen fibroblast hücrelerinin bir kısmı miyofibroblast hücrelerine dönüşmektedir. Kollajen oluşumu yara iyileşmesinin 4-5. günlerinde başlamaktadır. Üretilen kollajenler yara iyileşmesinin önemli bir noktasıdır. Anjiyogenez, mevcut kan damarlarından yeni kan damarlarının oluşmasını ifade eder. Hemostaz aşamasında salgılanan birçok anjiogenik faktör anjiyogenezi harekete geçirir. Endotel hücreleri FGF, VEGF, PDGF, anjiogenin, TGF-α, TGF-β gibi birçok anjiogenik faktöre cevap verir. Aynı anda gerçekleşen anjiyogenez ile birlikte, fibroblast proliferasyonu azalmakta, sağlanan oksijenle, olgunlaşmamış kollajen lifleri birbirleriyle çapraz bağlanarak kollajeni meydana getirmektedir. Granülasyon dokusunun gelişimi yara iyileşmesinin en belirgin göstergesidir. Yara oluşumunun yaklaşık 6. gününde yara dudakları yani cildin açılmış kısmı arasındaki fibroblastlar, kollajen lifler ve kapillar yara yüzeyine paralel bir konum alarak açık kısımları birbirine bağlamaktadır [18].

2.3.4 Yeniden Şekillenme

Yara iyileşmesinin son evresi olan yeniden şekillenme doku hasarını takiben 2−3 hafta içinde başlayarak 1 yıl veya daha fazla sürebilir. Yeniden şekillenme evresinde tip III kolajen, tip I kolajene dönüşür. Endotel hücrelerinin bir çoğu apoptoza uğrar veya yüksek oranda kolajenden oluşan ekstraselüler matris içinde bir miktar hücre bırakarak yaralı alandan uzaklaşırlar. Epitelyal hücreler ile mezenkimal hücrelerin birbiriyle etkileşmesi sonucu deri bütünlüğünü ve homeostaz düzenlenir. Aselüler matris aktif olarak yeniden şekillenmiş olur. Onarılan yeni doku önceki hasar görmemiş hali gibi olamaz. Yaralanma sonrası onarım tamamlandığında doku yamalı bir bölge gibi görülmekedir. Hücrelerin tam organize olmamış bir ekstraselüler matris içerisindeki makroskopik yapısı ‘skar’ olarak adlandırılır [19]. İyileşme sürecinin önceki basamaklarında olan bazı düzensizlikler sonucu yara yatağında aşırı kollajen birikebilir ve anormal doku gelişimi görülebilmektedir. Bunlar atrofik, hipertrofik ve keloid skarlar olarak adlandırılmaktadır [20].

2.4 Yara Örtüleri

2.4.1 Modern Yara Örtüleri

Modern yara örtüleri, yarayı kapatmaktan öte iyileşmesi işlevini kolaylaştırmak için geliştirilmiştir. Bu pansumanlar, yarayı dehidrasyondan korumaya ve iyileşmeyi desteklemeye odaklanmıştır. Modern yara örtüleri üretiminde genellikle sentetik olan polimerlerden kullanılmaktadır [21].

Gazlı bez ve tül pansuman gibi pasif ürünler yara baskılayıcı değildir, yarayı örterek altındaki işlevini geri kazandırmak için kullanılmaktadır. Yara etkileşimli örtüler film, köpük, hidrojel ve hidrokolloid formlarında bulunmaktadır. Bu örtüler bakterilerin yara ortamına girmesine karşı bariyer görevi görmektedir [22].

2.4.2 Yarı Geçirgen Film Örtüleri

Bu film örtüleri genel olarak poliüretan bazlı malzemelerden ve tıbbi yapıştırıcılardan oluşmaktadır. Yarı geçirgen filmler, oksijen, karbondioksit ve su buharının filmin içinden geçmesine izin verirken aynı zamanda bakterilerin geçmesini engeller [22]. Bu yara örtülerinin sıvı emme özelliği yoktur, bu nedenle ozmotik sıvı yaraları için uygun değildir. Film örtülerin temel kullanım amacı akut cilt yanıkları, yaralanmalar, cilt kusurları, dikiş yaraları, kateterizasyon, stoma fiksasyonu ve basınç ülserlerinin önlenmesidir. Şeffaf filmler sayesinde yara örtüsünü çıkarmadan yara kapanmasının kontrolünü sağlamakta mümkündür. Dolayısıyla bu örtüler epitelize edici yara, yüzeysel yara ve düşük eksudalı basit yaralar için önerilmektedir. Ticari olarak temin edilen bu film örtülerine örnek olarak Opsite™, Tegaderm™, Biooclusive™ verilebilir [23-14].



Şekil 2.3 Film örtüleri [24]

2.4.3 Yarı Geçirgen Köpük Örtüleri

Dış katmanın hidrofobik özellikleri yarayı sıvıdan korurken gözenekli yapısı gaz alışverişine ve su buharına izin verir. Silikondan ve poliüretan üretilirler. Köpük, yara kalınlığına bağlı olarak değişen miktarlarda yara drenajını absorbe etme kapasitesine sahiptir. Köpük pansumanlar orta ila yüksek derecede eksudalı yaralar için uygundur. Genellikle emilim için birincil pansuman olarak kullanılırlar. Yüksek emicilikleri ve nem buharı geçirgenlikleri nedeniyle ikincil pansumanlara gerek kalmaz.

Köpük pansumanın sık pansuman gerektirir ve iyileşmesi eksudalara bağlı olduğundan az eksüdalı yaralar, kuru yaralar ve kuru yara izleri için uygun değildir. Ticari olarak temin edilen bu film örtülerine Lyofoam™, Allevyn™ ve Tielle™ örnek verilebilir [14].



Şekil 2.4 Köpük Yara Örtüsü[24]

2.4.4 Hidrojel Yara Örtüleri

Hidrojel yara örtüleri su veya gliserin bazlıdır. Ana maddeleri polietilen oksit, poliakrilamid veya polivinil pirrolidindir.

Hidrojeller üstün nemlendirme yeteneklerinden dolayı yaranın nemli kalmasını sağlar ve zarar görmüş dokunun temizlenmesinde rol oynar. Hidrojeller şeffaf olduğundan, pansumanla kaplı olmasına rağmen gözle görülebilir ve yaranın durumu takip edilebilmektedir [25].

Hidrojeller iyi bir elastik performansa sahiptir bu yüzden uygulanması veya çıkarılması kolaydır. Dolayısıyla bu pansumanlar yaraya yapışarak kullanımdan sonra herhangi bir hasara neden olmaz. Değiştirildikten sonra normal salin solüsyonu ile temizlenebilirler.

Bu özelliklere dayanarak, hidrojeller öncelikle basınç ülserleri, cerrahi yaralar, yanıklar, radyasyon dermatiti vb. küçük veya orta derecede eksudalı yaralar için uygundurlar [26].

Hidrojel yara örtüleri %70-%90 oranda su içerir ve bu, yaralarda kötü kokuya neden olan maserasyon ve bakteriyel genişleme dahil olmak üzere kullanımlarında zorluklara yol açar. Hidrojellerin diğer bir dezavantajı, zayıf mekanik kaliteleridir. Nu-gel, Aquaform polimerleri ve Purilon Intrasite™, Intrasite™, Nu- gel™, Aquaform™ ticari olarak satılan hidrojel yara örtüleri örnekleridir [27].



Şekil 2.5 Hidrojel Yara Örtüsü (Suprasorb®) [24]

2.4.5 Hidrokolloid Yara Örtüleri

En yaygın kullanılan yara örtüsüdür. Güçlü su emme kabiliyetine sahip hidrokolloid moleküller, yapışkan özelliklere sahip iç koloidal katman ve dışında su geçirimsiz katman olmak üzere iki kısımdan oluşan opak tıbbi pansumanlardır [28].

Hidrokolloidler su buharını geçirgen olmalarına rağmen bakterilere karşı geçirimsizdirler ve yara eksüdalarını absorbe etme özelliğine sahiptirler. Bu hidrokolloidler yara eksüdası ile temas ettiğinde jeller oluştururlar ve eksüdaları emerek ve tutarak granülasyon dokusunun korunmasına yardımcı olan nemli bir ortam sağlarlar. Hidrokolloid pansuman çıkarttırılırken ağrıya sebep olmadığı için çocuk hastalarda kullanımı uygun olduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda bu pansumanlar deride dermis tabakasına kadar uzanan hafif yaralar için uygundur. Yara çevresini bakteriyel enfeksiyondan korur ve iyileşme sürecini desteklemektedir [29]. Piyasa da ticari olarak bilinen örnekler ise Granuflex™, Comfeel™, Tegasorb™ dır [14].



Şekil 2.6 Hidrokolloid Yara Örtüsü Comfeel® Plus Ulcer (Coloplast A/S, Danimarka [30]

2.4.6 Aljinat Yara Örtüleri

Aljinat pansumanın ana maddeleri sodyum metil karbonat selüloz ve kalsiyum aljinattır. Bu yara örtüleri ağırlıklarının 20 katı kadar sıvıları alabilme özelliğiyle mevcut eksüda emici yara örtüleri arasında güçlü olanıdır [31]. Pansuman yaraya temas eder etmez, aljinatta bulunan iyonlar, bir savunma mekanizması oluşturmak için kanla değiştirilir. Aljinat lifleri salin irrigasyonu ile giderilebilir ve kullanımdan sonra granülasyon dokusuna zarar vermezler. Bu yara örtüleri, basınç ülserleri ve çeşitli ülser yaraları gibi ağır sıvı sızdıran yaralar için uygundur. Güçlü emme kapasiteleri nedeniyle kuru yaralar ve sert dokuya sahip yaralar için uygun değildir. Ticari olarak temin edilebilen bazı aljinat sargılar Sorbsan™, Kaltostat™, Algisite™' dır [21] .



Şekil 2.7 Aljinat Yara Örtüleri [24]

2.4.7 Büyüme Faktörü İçeren Yara Örtüleri

Büyüme faktörleri hücrelerin bölünmesi, hücrelerin göç etmesi, farklılaşması, protein ve enzim üretiminde görev almaktadır. Büyüme faktörleri yara iyileştirme etkisi anjiyogenezi ve hücresel üremeyi uyarmak yoluyla göstermektedirler.

Yara iyileşmesinde etkili olan büyüme faktörlerinden bazıları; Trombositten zengin yara iyileşmesini sağlayan büyüme faktörü (PDWHF), granülosit – makrofaj uyarıcı faktör (GM-CSF) ve epidermal büyüme faktörüdür (EGF) [32].

Büyüme faktörlerinin çeşitli yara örtüleriyle birlikte kullanımı pek çok çalışmada incelenmiştir. Bu büyüme faktörlerinin çoğu rekombinant proteinlerdir. Uygun yara örtüsünün seçimi bu faktörlerin salımı ve yara bölgesindeki etkinliği açısından çok önemlidir. Klinik çalışmalardaki zorluklara rağmen yara tedavisinde büyüme faktörlerinin kullanımının umut verici olduğunu vurgulanmaktadır [33].

2.4.8 Nanofiber Yara Örtüleri

Yapılan literatür çalışmaları doğrultusunda elektro çekim yöntemi ile üretilen nanofiber yara örtüler oldukça önem kazanmıştır. Nanofiberlerin yüzey alanı/hacim oranlarının yüksek olmasına bağlı olarak absorblama kapasiteleri yüksektir. Böylece hidrofilik polimerlerden yapılmış nanolif yapısındaki bir yara örtüsü, diğer yara örtüsüne göre daha etkili bir şekilde eksüdayı absorbe edebilir [34]. Nanofiber yara pansumanları, deri hücre dışı matrisini (ECM) taklit eden morfolojik özellikleri, topografik özellikleri, fiber mattaki gözeneklilik, oksijen geçirgenliği, ayarlanabilir nano şekillendirme gibi birçok faydalı özelliği açısından başarılıdır [35]. Elde edilen nanofiber yapılarının esnek ve kesilip şekillendirilebilir olması bölgeye özgü uygulamalar için çeşitli avantajlar sağlar. Nanofiber yara örtülerinde birçok ilaç, iyileştirici ajanlar, bitkiler ve uçucu yağlar elektro çekim yöntemiyle verimli bir şekilde birleştirebilmektedir. Tüm bu iyi özelliklere rağmen, elektro çekim yöntemi ile üretilen nanolifli ürünler, ölçeklendirme, tekrar üretilebilirlik gibi optimazyon sorunlarıyla karşı karşıyadır [36].

PVA polimeri ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmış olup suda yüksek oranda çözünen, kimyasal direnci, biyouyumluluğu ve biyolojik olarak parçalanabilirliği nedeniyle nanofiber yara örtüsü üretimi için ideal bir polimer adayıdır [37].

Ardekani ve ark. çoklu ilaçlara dirençli patojenlerden dolayı oluşan yaralar için Kitosan/poli(vinil alkol)/Jelatin (CS/PVA/Gel) solüsyonlarına Zataria multiflora (ZM) uçucu yağı dahil ederek bir yara örtüsü oluşturmuşlardır. 24 saatlik inkübasyondan

sonra *S. aureus, P. aeruginosa ve C. albicans'ın* büyümesini tamamen inhibe ettiği görülmüştür. Nano elyaf keçelerin mekanik özellikleri, çekme testi ile incelenmiştir. ZM esansiyel yağı ile yüklenmiş CS/PVA/Gel nanofiber matların geleneksel yara örtülerine umut verici alternatifler olduğunu gösterilmiştir [38].

Lee ve ark. yaptığı çalışmada doğal ürünlere dayalı biyoaktif ve etkileşimli yara pansuman malzemeleri geliştirmek için, bitki kaynaklı uçucu yağlar içeren PVA nanolifli membranlar üretilmiş ve bunların yara pansuman için potansiyel uygulamaları incelemişlerdir. Etkili yara bakımı için uygun işleme koşullarını bulmak üzere kompozit membranların antimikrobiyal etkinliği, hava/nem buharı taşınması ve su emme özellikleri değerlendirilmiştir. Kalitatif ve kantitatif antimikrobiyal değerlendirmeler, palmarosa yağı içeren membranların, fitosit yağı içeren membranlara göre *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans*'a karşı üstün antimikrobiyal etkilere sahip olduğunu ve yara bakımı için makul seviyelerde gaz ve nem buharı geçirgenliği sağladığı ve eksüda emilimine izin verecek şekilde su alma özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir [39].

Bir başka araştırma homojen jel benzeri kullanılarak tek bir adımda emülsiyon elektro eğirme yoluyla üretilen bir elektrospun Poli (L-laktik asit) (PLLA)/PVA/Kitosan (CS) yara örtüsü malzemesinin gelişimini bildirmektedir. iki farklı ve uyumsuz polimer solüsyonunun süspansiyonları üretilen elektrospun PLLA/PVA/CS fiber matların gözeneklilik, ıslanabilirlik, su buharı iletim hızı (WVTR) ve hücre dışı matris (ECM) için literatüre benzer şişme özellikleri nedeniyle bir yara örtüsü olarak ideal özellikler gösterdiğini bildirilmiş olup HP içeren PLLA/PVA/CS fibermatlar , normal insan dermal fibroblastlarında (NHDF) sitotoksisiteye neden olmadan gram-pozitif bakteri *Staphylococcus aureus'un* büyümesini önleyebildiği gösterilmiştir. Bu bulgular, bu elektrospun pansuman matlarının, yara iyileşmesi için uygun bir destek yara örtüsünün yanı sıra yara enfeksiyonlarını önlemede yardımcı olduğunu düşündürmektedir [40].

2.4.9 Antimikrobiyal Yara Örtüleri

Antimikrobiyal yara örtüleri bir çok şekilde tasarlanabilir. Yara örtüsü malzemesinin kendi içinden gelen bir antimikrobiyal özelliği olabilir, bir polimer omurgasına antibiyotik ajan eklenerek veya bir polimer yüzeyine bağlı nanopartiküller eklenerek antimikrobiyal özellik kazandırılabilir. Birçok çalışma ve inceleme, antimikrobiyal ve antibiyotik metal nanopartiküller kullanılarak üretilen aktif yara örtüleri hakkında rapor

vermiştir. Ancak son zamanlarda araştırmacılar bitkilerden elde edilen aktif doğal antimikrobiyal ve antioksidan ajanlara dikkat çekmektedir [41].

Bakterilerin açık bir yara da dahil olmak üzere hem biyolojik hem de biyolojik olmayan yüzeylerde doğal olarak kolonize olabileceği kabul edilmektedir. Kronik yara oluşumunun başlangıcında başta *S. aureus* olmak üzere Gram pozitif bakteriler daha baskındır. Daha sonra, *E. coli ve P. aeruginosa* gibi Gram-negatif türler saptanır ve derinin derin katmanlarını istila etme eğilimi göstererek doku hasarına yol açarlar. Cildin belirli morbidite ve mortalite oranı vardır. Bu oranların artması riskini azaltmak için, antimikrobiyal yara örtüleri çalışmaları yapılmaktadır.

Bilinen yara örtülerine antibakteriyellik özelliği doğal ya da sentetik bir etken madde ile de kazandırılabilir. Son zamanlarda uçucu yağların antimikrobiyal özellikleri ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Yara örtüsü üretimi için Flores ve ark. hidrojellere ayrı ayrı bir TTO nanokapsül (TTO-NC) ve nanoemülsiyonlar (TTO-NE) formüle ederek her iki sistemi karşılaştırılmıştır. Enflamatuar bozuklukların tedavisi ve yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini araştırılmışlardır. TTO-NC hidrojeli enflamasyonu azaltarak yaraları TTO-NE'den daha hızlı iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak her iki hidrojelin de iyileşme sürecini destekleyebileceğini gösterilmiştir [41].

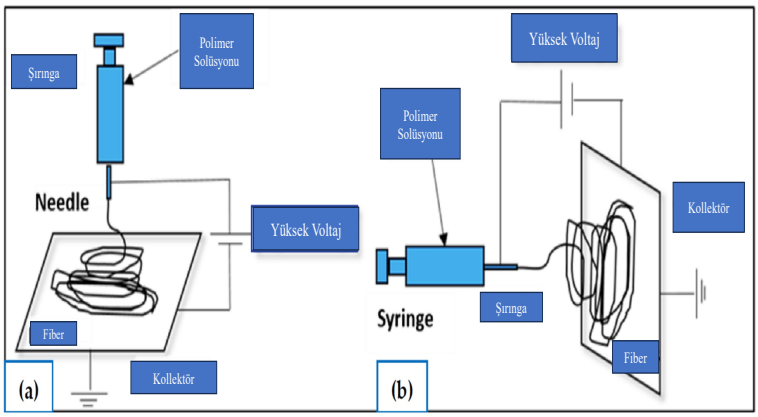
Ge ve ark. yaptığı bir çalışmalarında yara örtüsü olarak kullanılmak üzere çay ağacı yağı ve kitosan bazlı filmler üretmişlerdir. Kitosan filmlere TTO ekleyerek muamele etmişlerdir. TTO eklenmesiyle filmlerin sıvı emilimi giderek azalmış ve su buharı geçirgenliği artmıştır. Bu filmler *S. aureus, E. coli* ve *C. albicansa* karşı sürekli büyüme inhibe edici etki göstermiştir. Sonuç olarak çay ağacı yağı damlacıklarının antimikrobiyal filmlerde önemli bir rol oynadığı ve iyi bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir [42].

Xu ve ark. yaptığı çalışmada antioksidan ve antibakteriyel aktivitelere sahip yeni bir asimetrik nanofiber membran geliştirmek için, elektroeğirme yoluyla suda çözünür çay ağacı özü (TTE) ve TTO yüklemek amacıyla taşıyıcı olarak biyouyumlu polivinil pirolidon (PVP) ve polikaprolakton (PCL) kullanılmıştır. TTE'nin yalnızca TTE-PVP-3/TTO-PCL'nin antioksidan aktivitesini iyileştirebileceğini, TTO'nun ise antibakteriyel aktiviteyi etkili bir şekilde iyileştirebileceğini göstermişlerdir. Sonuç olarak, TTE-PVP-3/TTO PCL potansiyel olarak yeni bir tür anti-oksidatif ve antibakteriyel yara örtüsü olarak kullanılabileceği görülmüştür [43].

Veronica ve ark. yaptıkları çalışmada yara iyileştirme uygulaması için PHBV nanoliflerler üzerine farklı bir esansiyel yağ ekleme yöntemi gerçekleştirilmiştir; kapsülleme yerine yağ, polimer matrisi üzerine damlatılarak emdirilmiştir Nanoliflerde gerçekleştirilen MTT tahlili, PHBV/TTO'daki uçucu yağ ile ilişkilendirildiğinde salımı düşük hücre canlılığı ile sonuçlanırken, tek başına PHBV için sitotoksisite olmadığını gösterdi. Yara iyileşmesinde bir uygulama önerisi olarak ve gerçekleştirilen bir dizi karakterizasyon göz önüne alındığında, PHBV/TTO nanofiber, yara enfeksiyonunu yönetmek için acil bir eylemde kullanılabilirken, 24 saat sonra doku onarımını desteklemek için herhangi bir pansuman değişikliği gerekli olmayacaktır. Genel olarak, bu çalışmanın sonuçları, Çay Ağacı yağının PHBV tarafından emilmesinin, antimikrobiyal bir sargı olarak kullanılmak üzere büyük potansiyele sahip bir nano elyaf ürettiğini göstermektedir [44].

2.5 Elektro Çekim Yöntemi

Elektro çekim yöntemi çok amaçlı bir yöntem olup, rejeneratif tıp ve doku mühendisliği kullanımları için yararlı özelliklere sahip çeşitli liflerin üretilmesini mümkün kılmaktadır. Bu yöntemin esas prensibi polimer çözeltisine yüksek potansiyel alanı kullanılarak çok küçük çaplı liflerin üretilmesine dayanır. Bu proseste iğnenin ucunda polimerin kendi yüzey gerilimi tarafından tutulan polimer çözeltisine elekriksel alan uygulanır. Elektriksel alanın gücü arttıkça çözelti iğnenin ucunda uzar ve Taylor konisi olarak bilinen konik bir şekil alır. Ve en sonunda elektrostatik kuvvetler polimer çözeltisinin yüzey gerilimini aştığında; polimer jeti topraklanmış kollektör yüzeyine doğru gider. Çıkan jet ivmelendikçe büyük oranda çözücü buharlaşır ve kollektör yüzeyinde dokusuz yüzey formunda polimerik lifler oluşur [45-46].



Şekil 2.8 Elektro Çekim işleminin şematik gösterimi: a) Dikey kurulum b) yatay kurulumu [47].

2.6 Elektro Çekim Yöntemini Etkileyen Parametreler

Elektro Çekim yöntemini ve üreteceğimiz nanofiber yapıları etkileyecek çok fazla parametre bulunmaktadır. Bu yüzden optimizasyonu zordur. Aşağıdaki tabloda etkileyen parametreler gösterilmiştir. Detaylı açıklamaları ise aşağıda yapılmıştır.

Tablo 1. Elektro çekim yöntemini etkileyen parametreler

Çözelti Paremetreleri	Molekül Ağırlığı Viskozite Yüzey Gerilimi Çözelti İletkenliği Çözücünün Dielektrik Özellikleri
İşlem Parametreleri	Voltaj Çekim Mesafesi İğne Çapı Toplayıcı Tipi Besleme Hız
Ortam Parametreleri	Sıcaklık Nem Basınç

2.6.1 Polimer Konsantrasyonu

Viskozite ve yüzey gerilimi nanolif üretmek için polimer konsantrasyonunun seçiminde önemli bir role sahiptir. Elektroeğirme işleminde, düşük konsantrasyonlu polimer çözeltisi yüzey gerilimini etkiler, bu da lifler yerine boncukların sentezlenmesine yol açar [48]. Aynı zamanda polimer çözeltisi yüksek oranda konsantre olduğunda, besleme hızını bozan yüksek viskozite nedeniyle şırınga ucunda donma olur ve ilerleyemez [49-50].

2.6.2 Çözücü Etkisi

Polimer çözeltisini hazırlamak için uygun bir çözücünün seçilmesi elektro eğirebilirliği hakkında önemli bir adımdır. Seçilen çözücü,doğru buharlaşma hızı, kaynama noktası ve buhar basıncı gibi ideal ve etkili özelliklere sahip olmalıdır.

Sentetik polimerlerin elektroeğirilmesi için etanol, hekzafloro izopropanol, kloroform, diklorometan ve dimetilformamid gibi farklı çözücüler kullanılır. Sonuçlar, polimerin fiziksel özelliklerinin solvent seçimine bağlı olduğunu doğrulamaktadır [51].

Renker ve Doshi'ye göre polimer çözeltisinin yüzey geriliminin düşürülmesiyle boncuksuz liflerin oluşturulması kolaylaştırılmaktadır. Yüzey gerilimi, polimer konsantrasyonundan çok çözücünün bileşimine bağlı olduğundan, çözücünün daha az yüzey gerilimi elektroeğirme için her zaman uygun olmadığı belirtilmektedir [52].

Fiberlerin morfolojisi çözücünün buharlaşma hızından etkilenir. Hızlı buharlaşma, yuvarlak liflerin aksine düz liflerin oluşmasına neden olabilir. Oluşan yassı fiberlerin aslında arasında küçük bir çözücü hapsolduğunu anlamına gelmektedir ve çözücü buharlaştıkça fiberin düzleşmesine neden olur [53].

2.6.3 Elektiriksel iletkenlik

Kullanılan polimer tipi, kullanılan çözücü ve iyonlaşabilen tuzların varlığı, polimer çözeltisinin iletkenliğini belirlemede etkilidir [54]. Bir elektrik alanının varlığında, yüksek iletkenliğe sahip bir fiber jeti, daha az iletken olana kıyasla daha yüksek çekme kuvvetine maruz kalır. Eğirme sırasında çözeltinin elektrik iletkenliğini artırmanın nanolif çapında oldukça büyük bir düşüşe neden olduğu keşfedildi. Buna karşılık, düşük iletkenlik ile elektrik alanı, düzgün lifler oluşturmak için yeterli jet uzaması sağlayamaz ve bu da boncukların görünmesine yol açar [48].

Hayati ve arkadaşlarına göre, yüksek iletken çözümler, sağlam bir elektrik alanın varlığında oldukça kararsızdır, bu da önemli bükülme kararsızlığına ayrıca geniş bir çap dağılımına neden olabilmektedir [55].

İyonlar, elektroeğirme işlemi sırasında bir elektrik alanına maruz kaldıklarında, taşıma yük kapasiteleri arttıkça ek strese maruz kalırlar. Tuz ilavesi, daha ince, daha düzgün liflerle sonuçlanır ve aynı zamanda boncuk gelişimini azaltmaktadır [52-56].

2.6.4 Viskozite

Viskozite, moleküler ağırlıkla veya polimer konsantrasyonundaki bir artışla artırılabilir ve viskozite artmasıyla daha büyük çaplı polimer liflerinin üretimini arttırırken boncuk oluşumu olasılığı azaltır böylelikle liflerin görünümü daha üniform olur. Çok düşük viskozitelerde, zincir dolaşıklığının eksikliği nedeniyle, herhangi bir sürekli lif oluşumunun olmadığı ve lif jetinin damlacıklara ayrıldığı gösterilmiştir. Öte yandan, bir polimer çözeltisi çok yüksek viskoziteye sahip olduğunda, çözeltiden fiber elde etmek çok zordur çünkü polimer akışı iğnenin ucunda durur ve donma yapar.

Çözeltinin viskozitesi, polimer konsantrasyonuyla önemli ölçüde ilişkilidir. Çözeltiler, elektroeğirme işleminde gerilim gevşemesi için daha uzun bir süre sergiler. Çözeltinin konsantrasyonu ile viskozite yükseltilerek, daha büyük ve çok daha düzgün lifler üretilebilmektedir [48].

Daha az viskoziteye ve yüzey gerilimine sahip çözeltilerden boncuklu fiber üretimi olmaktadır. Konsantrasyon optimal seviyenin üzerindeyken sürekli nanolifli yapılar oluşturulur ve morfoloji, hazırlanan çözeltinin konsantrasyonundan etkilenir [57-52].

2.6.5 Moleküler ağırlık

Polimer molekül ağırlığı, nanofiberin morfolojisini etkileyen bir başka en önemli parametredir. Düzgün nanofiber yapılar, uygun moleküler ağırlıklara sahip polimerlerle çalışılarak elde edilebilir. Düşük moleküler ağırlıklı polimer çözeltilerinde, lifler yerine boncuklar oluşumu gözlemlenirken yüksek moleküler ağırlıklı polimer çözeltileri ise artan ortalama çapa sahip liflerle sonuçlanır [58-59]. Aynı zamanda visikozitesini arttırdığı için sürekli nanofiber oluşumunu yavaşlatmaktadır ve iğne ucunda donma yapmaktadır. Polimerin molekül ağırlığından çözeltinin viskozitesi, yüzey gerilimi, iletkenliği ve dielektrik dayanımı gibi özellikleri önemli ölçüde etkilenmektedir [60]. Casper ve ark. polimerin moleküler ağırlığını artırmanın, lif morfolojisinde boncuk sayısında azalma ve düzensiz form gibi değişikliklere neden olurken aynı zamanda gözenek boyutunu büyüttüğünü keşfetmiştir. Böylelikle daha tutarlı biyofiziksel özelliklere sahip bir ağ oluşturmak mümkün hale geldiği belirtilmektedir [61].

Tekdüze nanoliflerin üretimi söz konusu olduğunda, zincir dolaşıklığının yüksek moleküler ağırlıktan daha önemli olduğu araştırılmıştır. Polimer molekülleri arasındaki etkileşimler zincir dolanması için yeterliyse, nanoliflerin oluşumunun gerçekleşeceği belirtilmektedir [62].

2.6.6 Uygulanan Gerilim

Mevcut birçok polimer nedeniyle daha yüksek voltajla daha kalın liflerin üretildiği öne sürülmüştür. Bununla birlikte diğerler grup ise, polimer jetine elektrostatik itme kuvvetleri uygulandığı için voltaj arttıkça daha ince liflerin üretildiğini iddia ettiler. Çoğu durumda, hızlı solvent buharlaşması ve daha düşük lif çapı, jette uygulanan daha yüksek elektrik kuvvetlerinden kaynaklanmaktadır [48].

Bu nedenle yüksek voltajlarda boncuk üretme şansı daha fazladır. Larrondo ve Manley'e göre, uygulanan elektrik alan iki katına çıkarıldığında fiberin çapı yaklaşık olarak yarı yarıya azalır [56].

2.6.7 Akış Hızı

Polimer çözeltisi dağıtım hızı ve jet yoğunluğu, bir şırınga içindeki polimer akış hızından etkilenir ve bu da liflerin çapını ve morfolojisini etkiler. Daha ince lifler oluşturmak için daha yavaş bir akış hızı kullanılabilirken, polimer çözeltisi besleme hızının arttırılması lif çapında bir artışa neden oldu. Çözücünün buharlaşmak için yeterli zamanı olduğundan, daha yavaş besleme hızı tercih edilir. Aynı zamanda daha büyük akış hızları boncuklu liflerin gelişmesine neden olur çünkü solventin toplayıcı kollektöre yaklaşmadan önce buharlaşması için yeterli zamanı yoktur [63]. Liflerin gözenekliliği ve şekli de akış hızından etkilenir.

Megelski ve ark. polistiren ve tetrahidrofuranın elektrospun liflerinin yapısı üzerindeki akış hızının etkisini incelemişlerdir. Akış hızını artırarak hem gözenek boyutu hem de lif çapının arttığı görülmüştür [48].

2.6.8 Uç ve Toplayıcı Arasındaki Mesafe

Şırınga ucu ile toplayıcı kollektör arasındaki mesafe hem morfolojiyi hem de lif çapını etkilemektedir. Fiberlerin toplayıcı kollektöre ulaşmadan önce kuruması için yeterli zamana sahip olmaları gerekir bunun içinde optimum bir mesafe olmalıdır. Değilse, boncuklar ya çok yakın ya da çok uzak bir mesafede üretilir [48].

Mesafe, elektrospreyleme veya elektroçekimin nihai olarak gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini belirleyebilir. Ek olarak, mesafe arttıkça daha yuvarlak lifler elde edilirken mesafe azaltıldığında daha düz lifler elde edildiği belirtilmektedir [64]. Kısa mesafeler, polimer çözeltisinin konsantrasyonundan bağımsız olarak düz veya yarı-şerit elyaf ve boncuklu bir yapı ile sonuçlanacaktır [65]. Bu, polimer fiberin kollektör toplayıcıya girmeden önce yeterince kurutulmaması ile ilgilidir. Optimum mesafenin dikkate alınması, çözücünün doğası da dahil olmak üzere birçok parametreden etkilenir. Bu nedenle, yüksek uçucu çözücüler için kısa mesafeler kullanılırken, su gibi düşük uçucu çözücüler için yeterli buharlaşma olması gerektiğinden daha büyük mesafeler gerekir. Boncuksuz lifler üretmesi için minimum 8 ila 15 cm mesafe gereklidir [66].

2.6.9 Ortamla İlgili Parametreler

Elektro eğrilmiş nanoliflerin kalitesi, elektro eğirme ekipmanı ve substrat parametrelerine ek olarak sıcaklık, hava akış hızı ve nem gibi çevresel koşullardan önemli ölçüde etkilenir. Sıcaklık ve viskozite ters bir ilişkiye sahiptir [45]. Yüksek nem, katılaşma

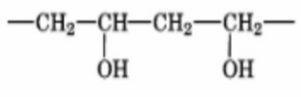
süresi ile negatif ilişkilidir, bu nedenle yüksek nem, eğirme sürecini engeller ve şarjlı püskürtmeyi uzatır [67].

Bazı çalışmalar, nem yeterince düşükse solventlerin buharlaşma yoluyla tamamen giderilebileceğini, yüksek nemli ortamların ise fibril oluşumunu bozabileceğini bildirmiştir [68]. Sıcaklık, nano lifli iskelelerin morfolojisini etkileyen bir başka faktördür. Sıcaklık farklılıklarına bağlı olarak iki tür morfoloji gözlenir: düşük sıcaklıklarda oluşan boncuklar ve yüksek sıcaklıklarda oluşan yoğun ve düz lifler [69].

Sıcaklığın artmasıyla, polimer çözeltisinin viskozitesi azalır ve bu da küçük çaplı liflerin üretilmesine yol açar [70].

2.7 Polivinil Alkol

Bu çalışma için hidrofilik, yarı kristal, tamamen biyolojik olarak parçalanabilir, toksik olmayan, biyouyumlu, elektro çekim yöntemi için uygun bir sentetik polimer olan PVA seçilmiştir. Kullanılan polimerin özellikleri elektro çekim sistemindeki üretim parametrelerini aynı zamanda ideal morfolojiye sahip nanofiberlerin üretilmesini etkilemektedir.



Şekil 2.9 PVA'nın kimyasal formülü[71]

PVA polimeri, hafif kokulu, beyaz, toz veya granüler haldedir. Yüksek sıcaklıklarda suda çözünebilmektedir. Hidroliz derecesi ve polimerleşme PVA'nın çözünürlüğü üzerinde etkili olmaktadır. Hidrofilik polimer malzemeler, sulu çözeltide şişerler; ancak çok hidrofiliklerse mekanik dirençlerini kaybedebilirler. PVA moleküllerinde bulunan çok sayıda hidroksil grubu sebebiyle güçlü bir şekilde hidrofiliktir. Bu durumun dezavantajları arasında mekanik özelliklerini kaybetmek ve uygulamalarını sınırlandırmak vardır. Hem istenilen mekanik direnç için hemde uygulamala alanları için, hidrofilik ve hidrofobik özelliği dengede tutmak gerekir. Bu durumu önlemek için çapraz bağlama yöntemi kullanılabilir [72].

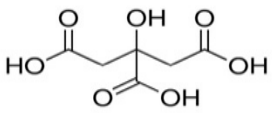
Literatürde farklı çalışmalarda, PVA, sülfosüksinik asit (SSA), gluteraldehit, borik asit, maleik asit (MA) , fosfotungustik asit (PWA) ve CA ile çapraz bağlanmıştır .

2.8 PVA Polimerinin Sitrik Asit ile Çapraz Bağlanması

PVA nanoliflerinin suda çözünürlük özelliğini ortadan kaldırmak için çapraz bağlama işlemi uygulanmaktadır. Çapraz bağlayıcılar, polimer zincirinde mevcut olan hidroksil bileşikleri ile reaksiyona girerek çapraz bağların oluşmasına yol açabilir. Çapraz bağlayıcılar oldukça reaktif ve bir kısmı toksik olduğundan eğirme işlemi sırasında polimerin jelleşmesine neden olurlar. Bu da çapraz bağlı PVA nanofiberlerine herhangi bir olumsuz etki yaratmadan veya özelliklerinden ödün vermeden üretme de zorluklar çıkarmaktadır [73].

Sitrik asit (CA), vücudun toksik olmayan metabolik bir ürünü olduğundan yani Krebs döngüsünde açığa çıktığında insan sağlığı açısından zararsız olarak derecelendirilmiştir. Düşük maliyeti, plastikleştirici, çapraz bağlayıcı ve antimikrobiyal özellikleri birçok kullanım alanı oluşturmaktadır. Çoklu karboksil yapısı sebebiyle çapraz bağlama ajanı olarak kullanılabilmektedir [72].

Yapılan bir çalışmada, CA ilaveli nişasta-PVA filminin, gliserol ilaveli nişasta-PVA filmleri ile karşılaştırıldığında daha iyi sonuçlar vermesi, sitrik asit ve nişasta-PVA molekülleri arasındaki hidrojen bağının oluşması ile bağlantı kurulmuştur [74] .



Şekil 2.10 CA'nınkimyasal formülü [73].

Sitrik asit içeren PVA nanoliflerinin ısısal işleme tabi tutulması durumunda, sitrik asidin karboksil grupları ile PVA'nın hidroksil grupları arasında bir esterleşme reaksiyonun oluşması beklenmektedir [75].

2.9 Çay Ağacı Yağı (TTO)

Çay ağacı yağı (TTO), Avustralya'nın yerli bitkisi olan *Melale uca alternifolia'*nın yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen, soluk sarı-beyaz renkli olan ve kendine özgü kokusu bulunan esansiyel bir yağdır.



Şekil 2.11 Çay Ağacı [76]

TTO terpen hidrokarbonlardan, monoterpenlerden, seskiterpenlerden ve alakalı alkollerden oluşur. C_5H_8 formülüne sahip olan Terpenler, uçucu ve aromatik hidrokarbonlardır. İzopren polimerleri olarak kabul edilebilir.

Çay ağacı yağı örnekleri gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ve gaz kromatografisi ile incelemiş. Yaklaşık 100 bileşen varlığını bildirmiştir [77].

Tablo 2. ISO/FDIS 4730:2004'e göre çay ağacı yağının kromatografik profili

Bileşen	Maksimum(%)	Minumum(%)
α-Pinen	6	1
Sabinen	3.5	Eser
α-Terpinen	13	5
Limonen	1.5	0.5
p-Simen	8	0.5
1,8-Sineol (ökaliptol)	15	Eser
γ-Terpinen	28	10
Terpinolen	5	1.5
Terpinen-4-ol	48	30
α-Terpineol	8	1.5
Aromadendren	3	Eser
Leden (viridoflorene)	3	Eser
δ-Kadinen	3	Eser
Globulol	1	Eser
Viridiflorol	1	Eser

Çay ağacı yağı güçlü antiseptik etkisi ve geniş kullanım alanı nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antiinflamatuar özelliklere sahip olduğunu ayrıca TTO'nun insanlarda yara iyileşme sürecini hızlandırdığı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile gösterilmiştir [76-78].

Literatür incelendiğinde çay ağacı yağının yüzeylere farklı yöntemlerle eklendiği ve çalışmalar yapıldığı belirlenmiştir.Çay ağacı yağı mikrokapsülleme, film oluşturma ve elektro çekim yöntemleriyle yara örtüsü üretimine katılmaktadır ve antibakteriyel özellikleri gözlemlenmektedir.

Bu tez çalışmasında elektro çekim yöntemiyle üretilen polimer tabanlı yara örtüsüne TTO damlatılmasıyla yükleme yapılmıştır. Elde edilen yara örtüsü malzemesinin SEM, FT-IR, şişme, *in vitro* salım, antibakteriyel aktivite testi ve biyouyumluluk deneyleri yapılarak sonuçları incelenmiştir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar

Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ve markaları aşağıda verilmiştir.

- Elektro-Çekim Cihazı (Nanofen)
- Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Zeis EVO LS10-Fei Quanta 450 Feg Esem Sem)
- FT-IR Spektrofotometresi (IRAfinnity-1)
- Uv-Görünür Bölge Spektrofotometresi (UV-Vis) (Shidmadzu UV-1700)
- Vakumlu Etüv (Binder)
- Ultrasonik Su Banyosu (Bandelin Sonorex)
- Çalkalamalı Su Banyosu (N-BIOTEK NB-303)
- Hassas Terazi (Sortorius CP225D)
- Mikropipet(ISOLAB)
- Vortex (Heidolph REAX Top)
- İnkübatör (WiseCube-C-180)
- Laminar Akış Kabini (Nüve LN 120)
- Santrifuj Cihazı (Himac)
- Mikroplaka Spektrofotmetresi **(**Thermo Multiskan Go)

3.2 Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasallar

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar ve markaları

- Polinivil Alkol (PVA) (146,000-186,000 g/mol) (Sigma Aldrich)
- Polinivil Alkol (PVA) (89,000-99,000 g/mol) (Sigma Aldrich)
- Sitrik Asit (Merck)
- Etanol (Sigma Aldrich)
- Çay Ağacı Yağı (TTO) (Mosmed)
- PBS Tablet (Sigma Aldrich)
- Mueller Hinton Agar (Himedia)

3.3 Çözeltilerin Hazırlanması

3.3.1 Polivinil Alkol Polimer Çözeltisi

- Optimizasyon aşamasında çalışılan molekül ağırlığı 146,000-186,000 g/mol olan PVA polimeri %5 (w/v) oranda hazırlanmıştır. 0,5 gram PVA polimeri , 5 mL distile su / 5 mL etanol içinde , 300 rpm'de 90°C de 8-9 saat karıştırılarak homojen hale getirilmiştir.
- %6 (w/v) ve %8 (w/v) olarak hazırlanan 89,000-99,000 g/mol molekül ağırlığına sahip PVA polimeri sırasıyla 0,6 gram PVA ,5 mL distile su / 5 mL etanol içerisinde ve 0,8 gram PVA 5 mL distile su /5 mL etanol içerisinde 300 rpm'de 90 °C de 4 saat karıştırılarak homojen hale getirilmiştir.

3.3.2 PVA/CA Çapraz Bağlama Çözeltisi

Homojen hale gelmiş PVA çözeltisine sitrik asit (CA), PVA ağırlığı baz alınarak %5 konsantrasyonunda ilave edilmiş ve 3 saat daha oda sıcaklığında karıştırılarak çözelti homojen hale getirilmiştir [72].

3.3.3 Fosfat Tamponlu Salin (PBS) Çözeltisi

Çay ağacı yağı emdirilmiş nanofiber matların şişme, bozunma ve salım testlerinde kullanmak üzere 200 mL saf su içine PBS ticari hazır tampon tabletini ekledikten sonra manyetik karıştırıcı da homojen hale getirilmiştir. PBS çözeltesinin pH 7.4 'te ölçülmüştür.

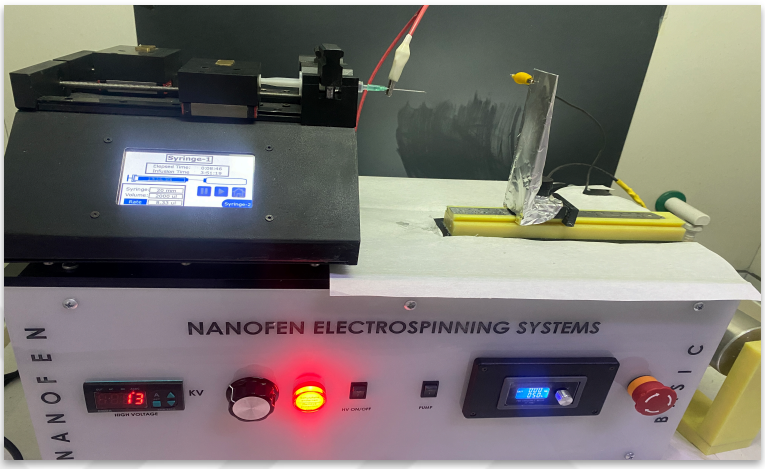
3.3.4 Çay ağacı Yağı Çözeltisi

TTO/Etanol için kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Bu eğrinin çıkarılması için standart stok çözeltisi hazırlanmıştır. Çözeltinin konsantrasyonu 1 mg/mL TTO şeklinde oluşturulmuştur. TTO spektral taraması için standart çözelti kullanılmıştır [79]. Hazırlanan standart çözeltiden 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 2.0, 2.4, 2.6, 3.0, 3.4, 3.8 mL alınarak 10 mL hacimsel şişelere aktarılmıştır ve vortexlenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin UV-Görünür Bölge Spektrofotometre cihazında 200-800 nm dalga boyu aralığında spektrumları alınmıştır. Elde edilen spektrumlardan TTO'nun maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu bulunmuştur.

Çözeltiler için dalga boyu değerine karşılık gelen absorbans değerleri okunmuştur ve konsantrasyona karşı absorbans grafikleri çizilmiştir [80].

3.4 Elektro Çekim Yöntemi ile Nanofiber Üretimi

Hazırlanan 10 mL'lik %8 (w/v) PVA ve %8 (w/v) PVA /%5 (w/v) CA çözeltisi 5 mL'lik şırınga içine alınmıştır. Kolektör üzeri alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Kullanılan şırınga ucu küt ve 21 Gauge kalınlığındadır. Üretilen PVA/CA nanofiber matlar çapraz bağlanmak üzere +4 °C'de saklanmıştır.



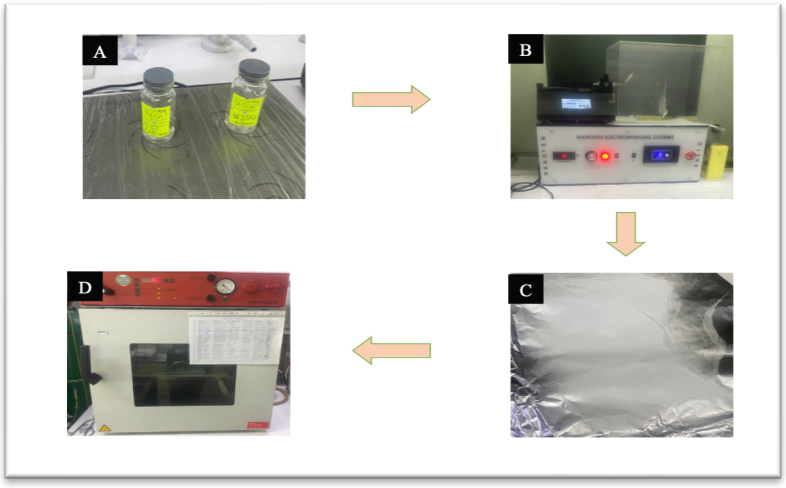
Şekil 3.1 Elektro Çekim Cihazı

3.4.1 PVA Polimerinin Sitrik Asit ile Çapraz Bağlanması

Sitrik asit katkılı polimer çözeltisi hazırlanması için için öncelikle PVA polimerin ağırlığınca %5 lik bir oranda CA çözeltiye eklenerek, manyetik karıştırıcı da 500 rpm de 3 saat karıştırılarak homojen hale getirilmiştir.

Daha sonra homojen hale getirilen sitrik asitli polimer çözeltisinden elektro eğirme işlemi ile nanofiber oluşturulmuştur. Elde edilen nanofiber 130°C 8 dakika , 170 °C 10 dakika ve 150 °C 10 dakika litaratür örneklerinden yola çıkılarak etüvde ısıya maruz bırakılmış ve çapraz bağlanmıştır [81].

3 farklı ısıl işlem ile çapraz bağlama denemesinden sonra nanofiberlerin 170 °C 10 dakika da sarı renge döndüğü gözlemlendiği için uygun bulunmamıştır. 150 °C 10 dakika ve 130°C 8 dakika denemelerinden sonra doğruluğunu ölçmek için suya daldırma yapılmıştır. 24 saat distile su içerisinde bırakılan nanofiber matların şeklinde bozulma olup olmadığına bakılmıştır. Ve 150 °C 10 dakika da nanofiberin yapısında bozulma veya su da bekletme de çözülme gözlenmemiştir. 150°C 10 dakika ile çapraz bağlama işlemi yapılmıştır.



Şekil 3.2 PVA/CA nanofiber matın çapraz bağlanma aşamaları

Şekil 3.2'de verilen (A) sitrik asitin polivinil alkol çözeltisine eklenip manyetik karıştırıcıda 500 rpm de 3 saat oda sıcaklığında karıştırılarak homojen hale getirilme işlemidir. (B)'de verilen görsel homojen hale gelen solüsyona elektro çekim işlemi uygulanmasıdır. (C)'de nanofiber mat elde edilmesi ve son olarak (D) görselinde verilen elde edilen nanofiber mata 150 °C 10 dakika ısıl işlem uygulanmasıyla çapraz bağlama işlemidir.

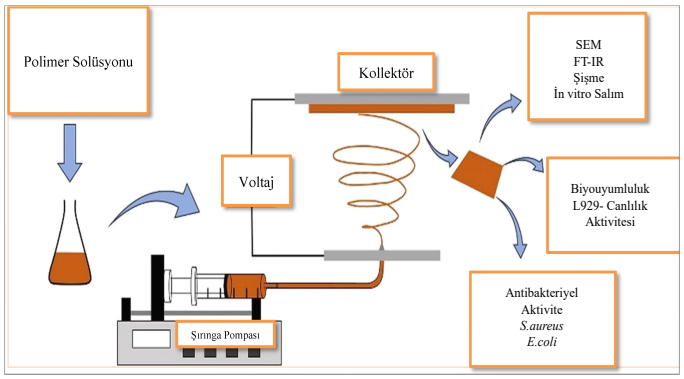
3.5 Nanofiber Matlara Çay Ağacı Yağı Yüklenmesi

Laboratuvarımızda TTO ile yapılan ön çalışmalara göre yükleme yapılacak TTO miktarının konsantrasyonu belirlenmiştir.

1 cm^2 boyutundaki çapraz bağlanmış ve vakumlu etüvde kurutulmuş nanofiber matlara 0,25 mg/mL ve 0,5 mg/mL konsantrasyonlarında 20 µL çay ağacı yağı çözeltisi damlatma yolu ile yüklenmiştir. Yükleme sonrası 48 saat oda sıcaklığında kurutulan matlar karakterizasyonları için +4 °C'de saklanmıştır.

3.6 Nanofiber Matların Karekterizasyonları ve Biyolojik Aktivite Testleri

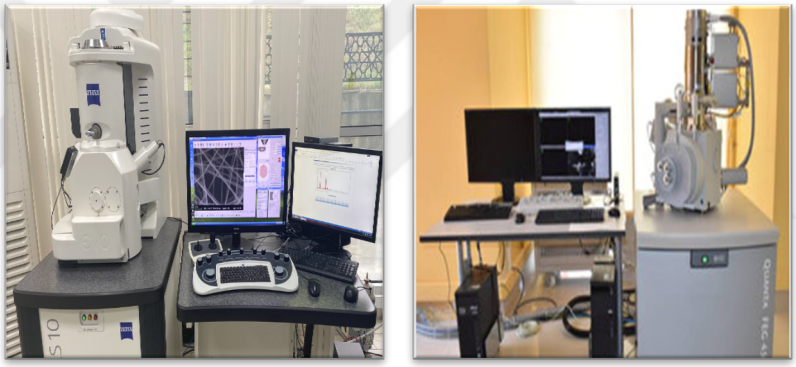
PVA, PVA/CA ve PVA/CA/TTO içeren yara örtülerine, tüm karekterizasyonlardan ve testlerden önce vakumlu etüvde kurutma işlemi yapılmıştır. Hazır hale getirilen nanofiber matlar fizikokimyasal ve morfolojik analizler ile karakterize edilmiştir. Daha sonra şişme, salım ve biyolojik aktivite testleri de yapılarak analiz sonuçları incelenmiştir.



Şekil 3.3 Çalışma Şeması

3.6.1 Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) Analizi

Görüntüleme öncesi vakumlu etüvde kurutulan PVA/CA ve PVA/CA/TTO matlar Au-Pd alaşımı ile kaplanarak iletken hale getirilmiştir. Oluşan nanofiberlerin morfolojileri SEM ile incelenmiştir [82].



Şekil 3.4 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)

3.6.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Ekstrat olarak kullanılan TTO, üretilen PVA, PVA/CA (çapraz bağlı) ve PVA/CA/TTO nanofiber matların fonksiyonel grup analizleri aşağıda verilen 400-4000 cm^{-1} dalga sayıları aralığında FT-IR spektroskopisi ile fonksiyonel grup analizleri yapılmıştır [82].



Şekil 3.5 FT-IR cihazı

3.6.3 Şişme Testi

Elektro-çekim yöntemi ile üretilen nanofiber matların sıvı absorplama yeteneğinin belirlenmesi için şişme testi yapılmıştır. PVA/CA/TTO 1cm x 1cm şeklinde kesilerek pH=7.4 olan PBS tampon çözeltisine koyulmuş ve 37 °C derece sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda 150 rpm'de bekletilmiştir. Belirli zaman aralıklarında çıkartılıp bir havlu kağıda fazla sıvısı bastırılarak hassas terazi de ölçümleri yapılmıştır.3.1'de verilen eşitlik kullanılarak nanofiber matların sıvıyı emme oranları belirlenmiş ve zamana bağlı grafiği çizilmiştir [37].

$$Şişme\ Yüzdelik\ oranı\ (\%) = \frac{Ww-Wd}{Wd} \times 100 \qquad (3.1)$$

Wd numune suya girmeden önce vakumlu etüvde kurutulmuş ağırlığını ve Ww ıslak ağırlığını ifade etmektedir.

3.6.4 *In-vitro* Çay Ağacı Yağı Salım Testi

PVA/CA/TTO nanofiber matlar 37°C'lik 1 mL PBS çözeltisine ekleyip 150 rpm çalkalamalı su banyosuna yerleştirilmiştir. 1., 3., 6., 24. ve 48. saatlerde numuneden alınan örneklerin çay ağacı yağı absorbans değerleri UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür. Her alınan örnekten sonra üstüne taze PBS eklenmiştir. Eşitlik 3.2' de verilen yüzde kümülatif salım ile hesaplanmıştır**.**

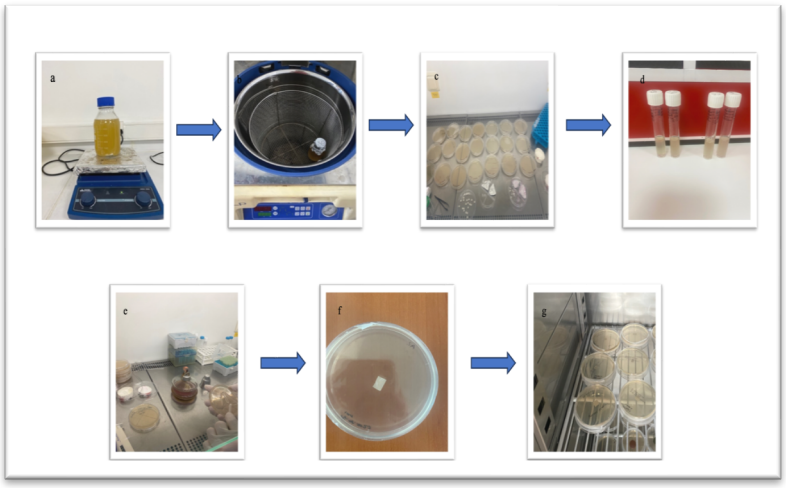
$$Kümülatif\ Salım\ (\%) = \frac{\sum m_{TTO}}{Absorbsiyon\ Verimliliği} \qquad (3.2)$$

3.6.5 Antibakteriyel Aktivite Testi

S. aureus ve E. coli bakterileri deride ve diğer yumuşak dokularda birçok enfeksiyona neden olabilmektedir. Aynı zamanda akut veya kronik yaralarda iyileşme sürecini geciktirebilmektedir. Bilinen klinik enfeksiyonların en yaygın kaynaklarıdır [83-84]. Elektro çekim işlemi yapılmış ve çay ağacı yağı içeren nanofiber yüzeylerin antibakteriyel etkinliğini test etmek için agar difüzyon yöntemi seçilmiştir. Her numune için sırasıyla gram pozitif ve gram negatif bakteriler olan *S. aureus ve E .coli* bakterileri ile çalışılmıştır.

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilen antibakteriyel testleri için öncelikle agar hazırlanmıştır. 38 gr MHA (Mueller Hilton Agar) 1 mL distile su içerisinde manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen hale getirilmiştir. Otoklavlama işlemi gerçekleştirildikten sonra petri kaplarına dökülerek 1 saat katılaşması için bekletilmiştir. Daha sonra +4 °C saklanmıştır.

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan katı besiyerinden bir öze dolusu bakteri alındıktan sonra 5 mL Mueller Hinton Broth sıvı besiyeri içerisine aktarılmıştır. Daha sonra 24 saat 37 °C etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda elde edilen çalışma kültürü spektrofotometre ile OD_{600} değeri 0.1-0.2 olacak şekilde seyreltilerek ayarlanmıştır (McFarland 10^8 CFU/mL). *S. aureus ve E. coli* bakterileri 100'er µL olarak drigalski spatülü yardımıyla agarların üzerine yayılmıştır. 15 dakika oda sıcaklığında kurumaya bırakılan petrilere sırasıyla PVA/CA ve PVA/CA/TTO nanofiber matlar yerleştirilmiştir. 37 °C etüvde 18 saat etüvde bırakılmıştır. Ve daha sonra antibakteriyel etkinlikleri gözlemlenmiştir [37].



Şekil 3.6 Antibakteriyel testi aşamaları

Şekil 3.6 da verilen (a) Agar çözeltisi hazırlama (b) Agarın otoklav işlemi (c) Agarların petri kaplarına dökülmesi ve hazırlanması (d) Ekilecek bakterilerin OD_{600} de absorbans 0,1-0,2 ölçülüp hazırlanması (e) Bakterilerin agar yüzeylerine swab yardımıyla dağıtılması (f) Nanofiber matların agarlara yerleştirilmesi (g) Etüvde 24 saat 37 °C de inkübasyonu.

3.6.6 Biyouyumluluk Testi

Biyouyumluluk deneyleri İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Yaşam Bilimleri Laboratuvarında bulunan fare fibroblast hücreleri (L929) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fibroblastlar, %10 FBS ve %1 penisilin streptomisin içeren DMEM/F12 büyüme ortamında %5 CO_2, %95 nem ve 37 °C'ye ayarlanmış inkübatör şartlarında kültüre edilmiştir. Fibroblast hücreleri flask yüzeyinde %90 hücre yoğunluğuna ulaştıktan sonra pasajlama işlemi yapılmıştır. Pasajlama işleminde hücreler PBS ile yıkandıktan sonra 1 mL tripsin-EDTA kullanılarak 5 dakika inkübe edilmiştir. Hücreler yüzeyden ayrıldığı görüldükten sonra flaska 2 mL besiyeri eklenmiştir ve santrifüj tüpüne aktarılmıştır. 1000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Hücre sayımı Thoma lamında tripan mavisi kullanılarak invert mikroskop ile yapılmıştır [85].

PVA/CA çapraz bağlı nanofiberlere iki farklı konsantrasyonda çay ağacı yağı (0,5 ve 0,25 mg/mL) yüklenerek oluşturulan PVA/CA/TTO nanofiber matların biyouyumluluk özellikleri ISO-10993-5 standardına göre test edilmiştir. Hücre metabolik aktivitesini değerlendirmek amacıyla MTT (3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür)testi kullanılarak indirekt hücre canlılığı analizi yapılmıştır [44].

1x1 cm^2'lik boyutlarda kesilen yara örtü malzemeleri, UV ile arkalı önlü 15 dakika boyunca sterilize edilmiştir ve ardından steril koşullarda (laminer flow kabinde) hücre büyüme ortamı içeren (6 mL) falkonlara bırakılmıştur. Bu falkonlar 130 rpm ve 37 °C ayarlanmış inkübatöre konulmuş ve 7 gün boyunca inkübe edilmiştir. 24., 48., 72 ve 168. saatlerde yara örtü malzemelerinin ekstraktlarından 500 µL örnek ekstrat alınarak hücre canlılık analizinde kullanılmak üzere +4 °C'de saklanmıştır [86-87].

MTT testi için 96 kuyulu plakaların her kuyusuna $1x10^5$ hücre/mL olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirilmiştir. Plakalar %5 CO_2, %95 nem ve 37 °C şartlarında 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu inkübasyon süresi sonrası kontrol grubu ortamı taze besi yeri ile değiştirilirken deney grupları yara örtü malzemelerine ait 24, 48, 72 ve 168. saat ekstraktları ile değiştirilmiştir. Her grup için üç tekrarlı çalışılmıştır.

24 saat boyunca hücreler inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra plakaların her bir kuyusuna 10 µL MTT solüsyonu eklenerek plakalar karanlık inkübasyon koşullarında 3 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda canlı hücrelerde meydana gelen mor renkli formazanı çözdürmek için her bir kuyuya 100 µL DMSO eklenerek karanlık ortamda 15 dakika inkübe edilmiştir. Son işlem olarak plakalardaki optik yoğunluk mikroplaka okuyucu cihazı ile 540 nm'de ölçülmüştür. Tüm değerler ortalama ±SD'ler alınarak hesaplanmıştır (n=3). Eşitlik 3.4'te verilen formül kullanılarak yara örtü malzemelerinin hücre canlılığına etkisi (%) kontrol grubuna göre hesaplanmıştır.

$$Hücre\ Canlılığı\ (\%) = \frac{Örnek\ Absorbansı}{Kontrol\ Absorbansı} \times\ 100 \qquad (3.3)$$



Şekil 3.7 Hücre canlılık testleri için plaka okuyucu spektrofotometre cihazı

4. SONUÇLAR

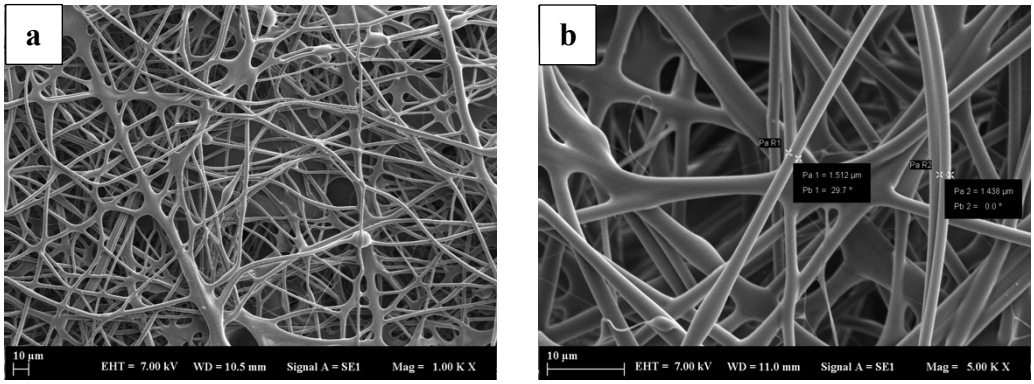
4.1 Optimizasyon Aşamasında Üretilen Nanofiber Matların SEM Analizi

Yüksek molekül ağırlıklı çalışılan PVA (146,000-186,000 g/mol) sulu çözeltisinin diğer molekül ağırlığına oranla homejen hale getirilmesi zor olmuştur. Homojen hale getirilen çözeltilerin elektro çekim sırasında iğne ucunda donma, iletkenlik, uzun sürelerde çok az fiber oluşumu gibi nanofiber üretme açısından çeşitli problemlerle karşılaşılmıştır. Bu sebeplerle düşük konsantrasyonlarda çalışılmıştır.

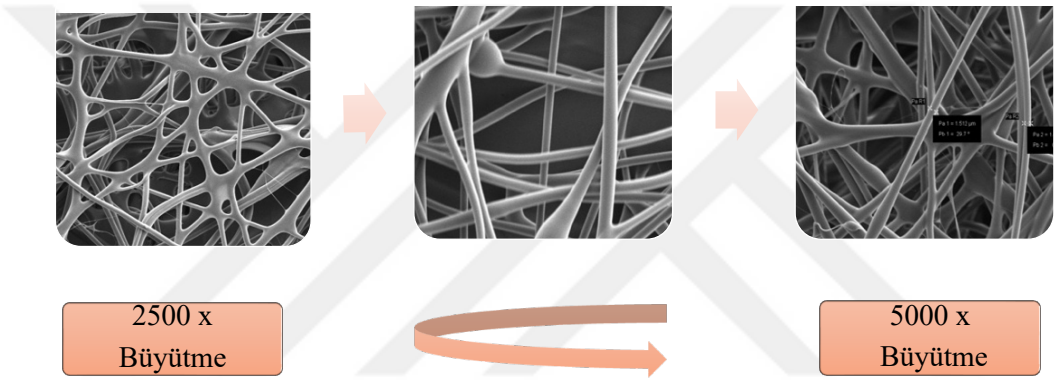
Tablo 3. de gösterildiği gibi konsantrasyon ve çözücü değiştirilerek denemeler yapılmıştır. Fiber oluşumu gözlemlenen değerler ile çalışma yapılıp SEM görüntüleri alınmıştır.

Tablo 3. PVA (146,000-186,000 g/mol) konsantrasyon ve çözücüye göre deneme sonuçları

Polimer	Çözücü	E.Çekim Sonucu
%2.5 w/v PVA	dH_2O	Fiber oluşumu gözlemlenmedi.
%4 w/v PVA	dH_2O	Fiber oluşumu gözlemlenmedi.
%5 w/v PVA	dH_2O	Fiber oluşumu gözlemlenmedi.
%7 w/v PVA	dH_2O	Fiber oluşumu gözlemlenmedi.
%4 w/v PVA	dH_2O/Etanol	Fiber oluşumu gözlemlendi.
%5 w/v PVA	dH_2O/Etanol	Fiber oluşumu gözlemlendi.
%7 w/v PVA	dH_2O/Etanol	Fiber oluşumu gözlemlenmedi.
%4 w/v PVA + %5 CA	dH_2O/Etanol	Fiber oluşumu gözlemlendi.
%5 w/v PVA +%5 CA	dH_2O/Etanol	Fiber oluşumu gözlemlendi.



Şekil 4.1 %5 w/v PVA (146,000-186,000 g/mol) +%5 CA , (a) 1000x ve (b) 5000x büyütme SEM görüntüleri



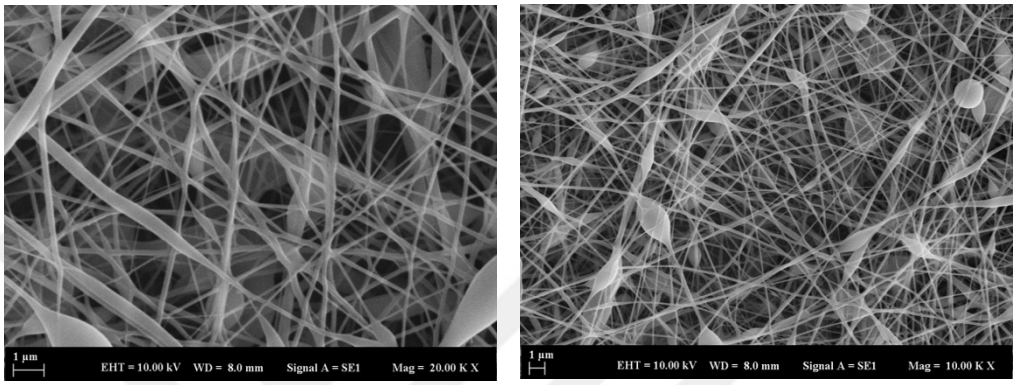
Şekil 4.2 Optimizasyon aşamasında üretilen fiber SEM görüntüleri 2500x ve 5000x büyütme

Şekil 4.1 ve şekil 4.2'de görüldüğü gibi lifler düzensiz yapıda oluşmuştur. Yüksek molekül ağırlığından dolayı uzayan zincirlerin üst üste yığılması böyle bir sonuç doğurmuş olabilmektedir. Lifler yassılaşmış ve çapları mikro boyutta ölçülmüştür. Haghi ve arkadaşları yüksek molekül ağırlıklı PVA polimeri ile nanofiber üretmişlerdir ve ürettikleri nanofiberlerin çapı daha düşük molekül ağırlığıklı PVA nanofiber matlara kıyasla artış göstermiştir. Bu çalışmada literatüre paralel sonuçlar doğurmuştur [88].

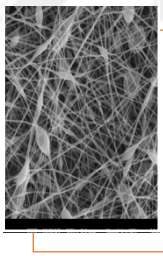
Fiber yapısının düzensiz olması ve yüksek boyutlarda çıkan fiber örneklerinden dolayı molekül ağırlığı ortalama yükseklikte olan 89,000-99,000 g/mol ile çalışmalara devam edilmiştir ve tezde üretilen yara örtüsü elde edilmiştir.

Tablo 4. PVA (89,000-99,000 g/mol) elektro çekim denemesi

Çözelti	Akış Hızı	Voltaj	Mesafe	İğne Ucu
%6 wt PVA	0,8 mL/sa	20 kV	12 cm	21 Gauge
%6 wt PVA+ %5 CA	0,8 mL/sa	20 kV	12 cm	21 Gauge



Şekil 4.3 %6 PVA + %5 CA Çapraz Bağlanmış Boncuklu Morfolojiye Sahip (a) 10000x ve (b) 20000x Büyütmeli Nanofiber Matlar



%6 w/v PVA + %5 Ca -Morfolojisi bozuk , boncuklu ve düzgün bir yapıya sahip olmayan nanofiber mat-10000x büyütme



%8 w/v PVA + %5 CA-Morfolojisi düzgün , boncuklu yapıya sahip olmayan nanofiber mat-10000x büyütme

Şekil 4.4 Aynı molekül ağırlığında olan ve %6-8 konsantrasyonlarında hazırlanmış PVA/CA nanofiber matlar.

Şekil 4.4 de verilen SEM sonuçlarında molekül ağırlığı, kullanılan voltaj , iğne ucu sabit tutularak sadece polimerin konsantrasyonu arttırılarak boncuklu yapı giderilmiştir.

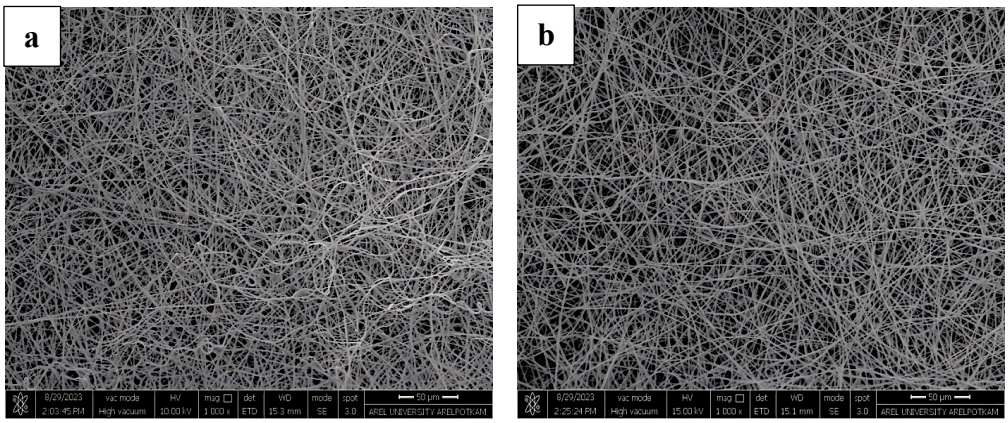
Zhang ve ark. yaptığı çalışmada %6-8 konsantrasyona sahip PVA çözeltilerinden elektro çekim yöntemiyle hazırladıkları nanofiber matların morfolojilerini taramalı elektron mikroskobu altında gözlemlemiş ve sonucunda artan çözelti konsantrasyonuyla boncuklu yapıdan düzgün nanofiber yapısına geçtiğini göstermişlerdir [89].

4.2 Tez Çalışmasında Kullanılan Nanofiber Matların SEM Analizi

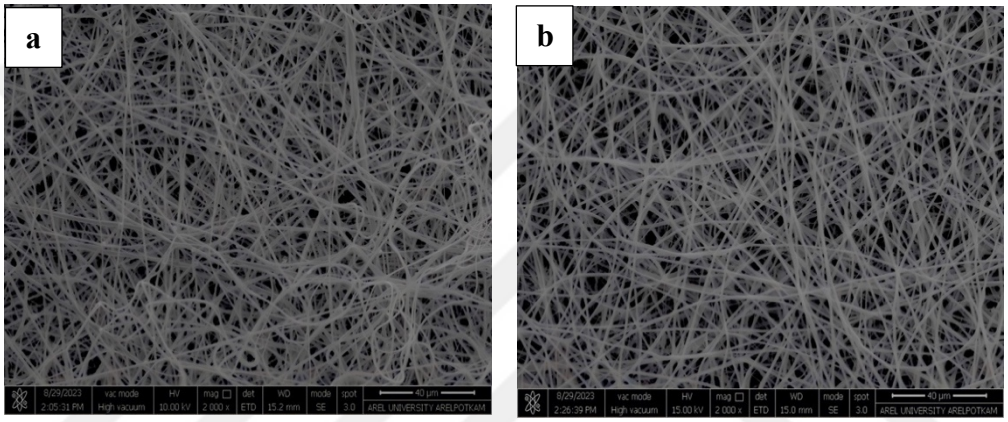
Yapılan tez çalışmasında üretilen yara örtü malzemelerinin fiber morfolojisi, fiber dağılımı ve çaplarının belirlenmesi amacıyla SEM analizi yapılmıştır. PVA, PVA/CA (çapraz bağlı) ve PVA/CA/TTO nanofiber yapıların SEM analizleri 1000x, 2000x, 5000x ve 10000x büyütmeler gerçekleştirilerek karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. ImageJ programı ile rastgele seçilen 100 adet PVA, PVA/CA ve PVA/CA/TTO nanofiber matların çapları ölçülmüştür. PVA nanofiber matın ortalama çapı 430,85 nm, PVA/CA çapraz bağlı nanofiber matın ortalama çapı 496,08 nm ve PVA/CA nanofiber matların TTO damlatılmasından sonra görüntülenen nanofiber matın ortalama çapı 648,64 nm bulunmuştur.

Tablo 5. Üretilen yara örtüsü numunelerinin elektro çekim paremetreleri

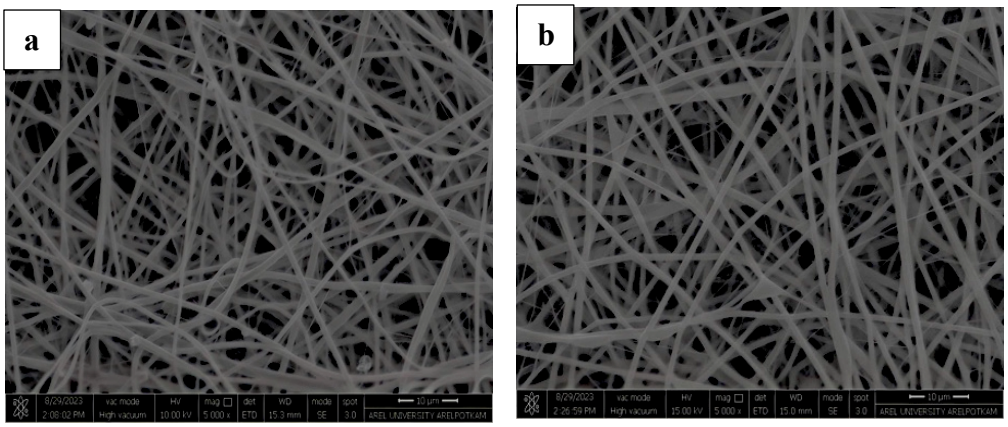
Çözelti	Akış Hızı	Voltaj	Mesafe	İğne Ucu
%8 wt PVA	0,8 mL/sa	20 kV	12 cm	21 Gauge
%8 wt PVA + %5 CA	0,8 mL/sa	20 kV	12 cm	21 Gauge



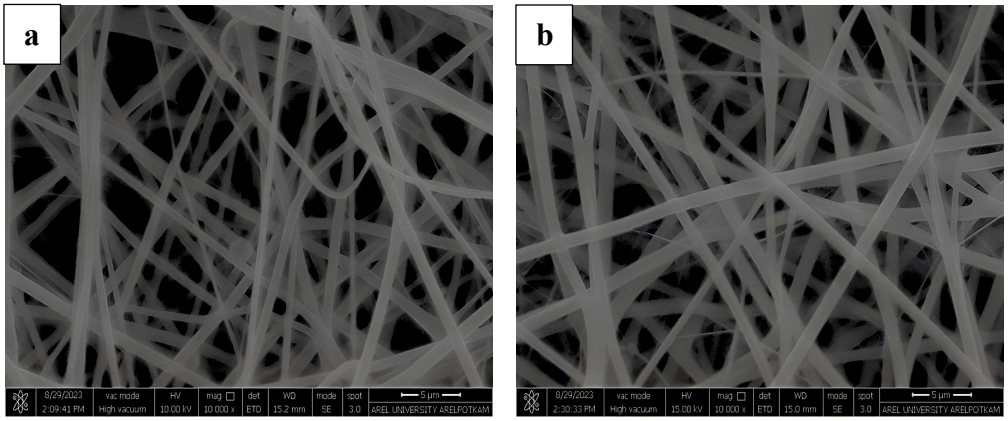
Şekil 4.5 (a) %8 PVA nanofiber mat 1000x büyütme (b) %8 PVA + % 5 CA çapraz bağlı nanofiber mat 1000x büyütme



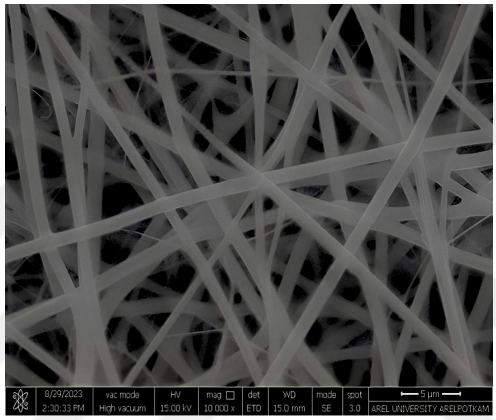
Şekil 4.6 (a) %8 PVA nanofiber mat 2000x büyütme (b) %8 PVA + % 5 CA çapraz bağlı nanofiber mat 2000x büyütme



Şekil 4.7 (a) %8 PVA nanofiber mat 5000x büyütme (b)%8 PVA + % 5 CA çapraz bağlı nanofiber mat 5000x büyütme



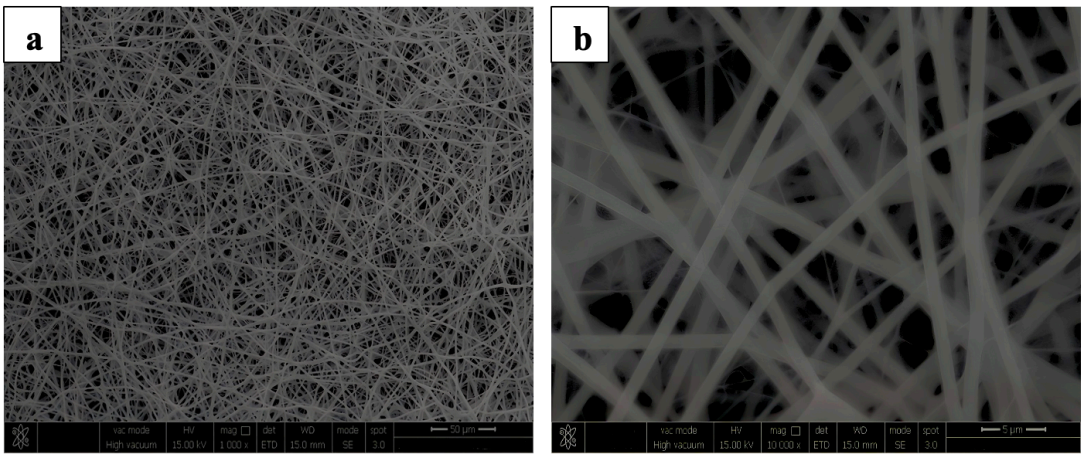
Şekil 4.8 (a) %8 PVA nanofiber mat 10000x büyütme (b)%8 PVA + % 5 CA çapraz bağlı nanofiber mat 10000x büyütme



Şekil 4.9 Çapraz bağlı nanofiber matın temas noktaları

4.9 da verilen çapraz bağlanmış nanofiberlerin temas noktaları belirgin hale gelen geldiği fark edilmektedir. Sitrik asit eklenmiş PVA çözeltileri, makromoleküllerin oluşturduğu iç sürtünmedeki yükselme nedeniyle belirgin ölçüde viskozitenin arttığı bildirilmiştir. Aynı zamanda çapraz bağlanmanın etkisiyle nanofiber yapıları daha düzgün bir görünüm almıştır.Çapraz bağlama sonrasında yüzeyin lifli yapısını kaybetmediği ve nanolifler morfolojisinde herhangi bir değişimin gerçekleşmediği hatta düzgün lif yapısı elde edildiği görülmektedir. Ayrıca çapraz bağlama işleminin lif çapları üzerinde olumsuz bir etkisi olmamıştır [90]. Çalışma sonunda elde edilen PVA/CA nanofiberlerin çap dağılımları, boncuksuz ve homojen liflere sahip olmaları literatür ile uyumlu bulunmuştur.

PVA/CA/TTO nanofiber matların SEM görüntüleri Şekil 4.10'da (a) 1000x, (b) 10000x büyütme ile gösterilmiştir. Üretilen nanofiber matlar, TTO damlatıldıktan sonra emilim göstermesi ve aynı zamanda kurumaları için 48 saat oda sıcaklığında bırakılmıştır ve daha sonra SEM'e götürülmüştür [44].



Şekil 4.10 (a) Çay ağacı yağı yüklü PVA/CA/TTO nanofiber mat 1000x büyütme (b) Çay ağacı yağı yüklü PVA/CA/TTO nanofiber mat 10000x büyütme

Çay ağacı yağının PVA/CA nanofiber matına damlatma yöntemiyle eklenmesiyle lif çapında az da olsa artış meydana gelmiştir. Aynı zamanda fiber yapılarında yapışmalar gözlemlenmektedir. Bunun sebebi olarak TTO çözeltilerinin liflerin arasına dağıldığı ve o şekilde emilim gösterdiği düşünülmektedir.

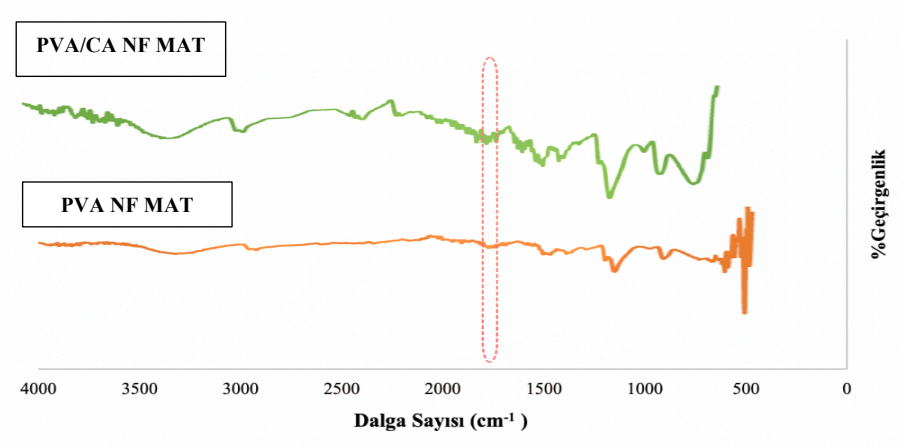
Heterojen bir nanofiber görüntünün olması TTO temas ettiği ve değişik bölgelerde absorblama olduğunu bundan dolayıda temas bölgelerindeki lif çaplarının arttığı düşünülmektedir.

TTO damlatılmış nanofiber matın incelenmesinde yağın yapısında bulunan hidrofiliklerden dolayı fiber yapısında yapışmalar olduğu düşünülmektedir. Fiber çaplarında artış mevcuttur. TTO morfolojisi farklı bir durumu ortaya çıkarmıştır ve uçucu yağ emiliminin bir sonucu olarak yağın PVA/CA yüzeyinde yayılmasıyla ortalama lif çapı 648,64 nm'ye yükselmiştir.

Partheniadis ve ark. yaptığı çalışmada çay ağacı yağının (TTO) makrokapsülle nanolifli yapıya katılması sonucunu SEM ile görüntülenmiş ve SEM görüntüleri, çekirdek kılıf yapılı üretilen malzemenin ortalama çapının 564 ila 746 nm arasında olduğunu göstermiştir [91].

Elektro çekim sırasında çözelti içine değil de sonradan üretilen mata uçucu yağ eklendiği için TTO emildi ve nanofiber matı kapladı. Bu sebeple ortalama lif çapının artmasına neden olduğu düşünülmektedir [44].

4.3 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

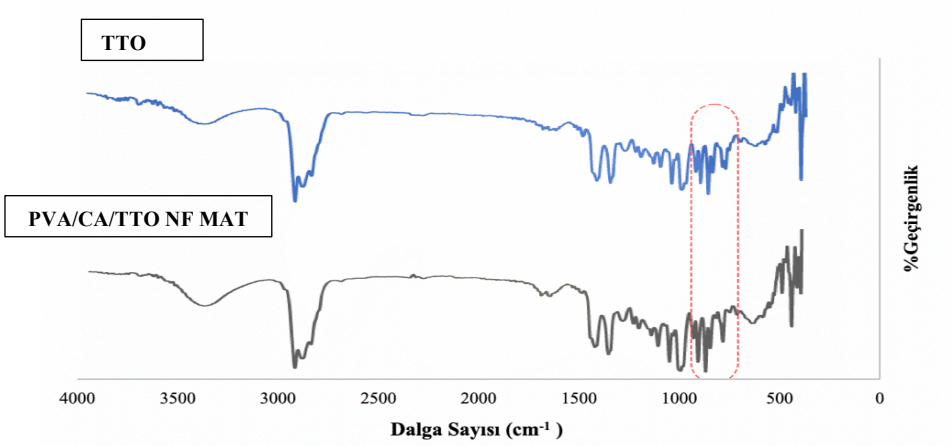


Şekil 4.11 PVA ve PVA/CA nanofiber matın FT-IR spektrumu

PVA nanofiber matta PVA toz numunesinde görülen 3600-3200 cm^{-1} arasında oluşan O-H bandı 3271 cm^{-1}'de, 3000-2840 cm^{-1} arasında oluşan C-H bandı 2912 cm^{-1}'de görülmüştür. C-O gerilmesi 1087 cm^{-1}' de, C-H gerilmesi 1435 ile 1419 cm^{-1} , C-C gerilmesi 833 cm^{-1}'de gözlemlenmiştir.

PVA/CA capraz bağlı nanofiber mat ; karekteristik O-H bandı 3309,84 cm^{-1}'de

C=O bandı ise 1716 cm^{-1}'de görülmektedir [92].



Şekil 4.12 Çay ağacı yağı (TTO) ve TTO katkılı nanofiber matın FT-IR spektrumu

Literatürde çay ağacı yağının GC/MS analizleriyle tanımlandığı gibi bileşiklerinin spesifik fonksiyonel gruplarının varlığını göstermiştir [93]. Bileşiklerde bulunan C-H bantları 2958 ila 2877 cm^{-1} arasında, 798,5 ile 802,38 cm^{-1} arasında tekrar C-H bantları, 3394,71 cm^{-1} O-H gerilmesi ve 1026,4 cm-1 de C-O alkollü bandı keskin bir pik

oluşturmuştur. 2958 ile 2873 cm^{-1} arasında oluşan üç keskin pik C-H bağlarının varlığından kaynaklanan esneme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Rytwo ve ark. yaptığı çalışmada da terpinen-4-ol bileşiğine ait 889, 864 ve 799 cm^{-1} dalga boylarındaki pikleri ve ɣ- terpinen bileşiğine ait 830, 815 ve 780 cm^{-1} dalga boylarında pikleri gözlemlendiklerini göstermişlerdir [94].

TTO'nun damlatma yoluyla nanofiber mata eklenmesiyle TTO'ya ait baskın pikler nanofiber yapısında görünmüştür. γ-terpinen ve terpinen-4-ol'un karakteristik ana bantları, nanofiberin elde edilen spektrumlarda gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak TTO'nun yapıda bulunduğu ve damlatma yöntemiyle doğru bir şekilde yüklendiği belirlenmiştir.

4.4 Şişme Testi Sonuçları

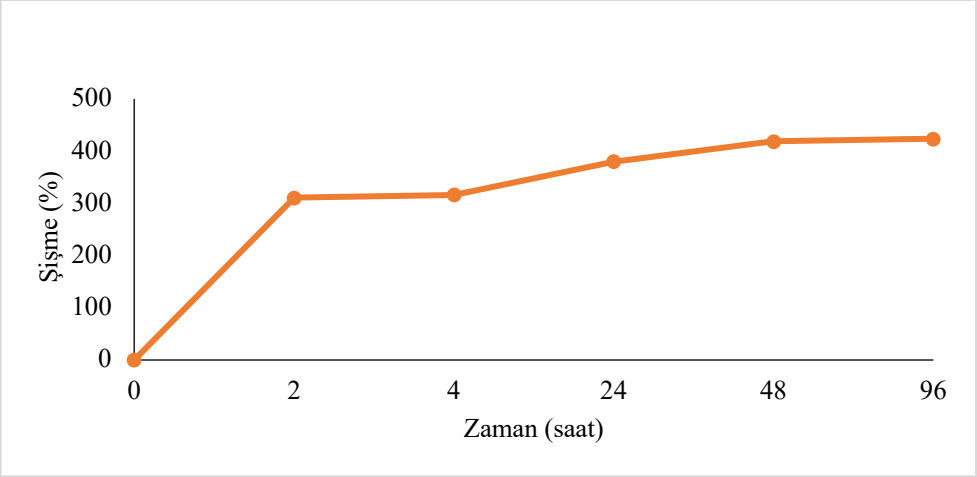
Yara eksüdanı yarayı nemli tutarak iyileştirmek için uygun ortamı sağlamaktadır. Yaranın fazla eksüdan bırakması ise yaranın gözlemlenmesi için problem oluşturabilir. Bu sebeple yara eksüdanını emme özelliği olan yara örtüleri üretilmesi beklenmektedir. Şişme testleri nanofiber matların eksüda emme yeteneğinin nicel olarak değerlendirilmesine olanak tanımaktadır. PVA polimeri ile yapılan birkaç nanofiber üretim çalışmasında PBS tamponunda maksimum şişme oranları %130 , %200 bulunmuştur [95]**.**

Literatürde Ardekani ve ark. yara bakımı için yaptığı çalışmada *Zataria multiflora* (ZM) esansiyel yağı ile kapsüllenmiş elektrospun jelatin-PVA nanofiberleri hazırlayarak şişme deneyleri yaparak elektrospun hibrit nanofiberlerin yaklaşık %400-900 sıvı absorbladığını göstermişlerdir [37].

Genel anlamda literatürde ideal yara örtüsünün sıvı absorblamasının %100-900 arası olduğu bildirilmiştir [37]. Bu çalışmada belirli saatlerde PVA/CA/TTO nanofiber matların PBS tamponunda 37 derece de çalkalamalı su banyosunda bekletilerek ağırlıkları ölçülmüştür.

Tablo 6. PVA/CA/TTO nanofiber matların zamana bağlı şişme-ağırlık tablosu

Zaman (saat)	PVA/CA/TTO Ağırlık (mg)
0.saat	1,72 mg
2.saat	7,06 mg
4.saat	7,16 mg
24.saat	8,26 mg
48.saat	8,92 mg
96.saat	9,01 mg



Şekil 4.13 PVA/CA/TTO nanofiber matların zamana bağlı (%) şişme grafiği

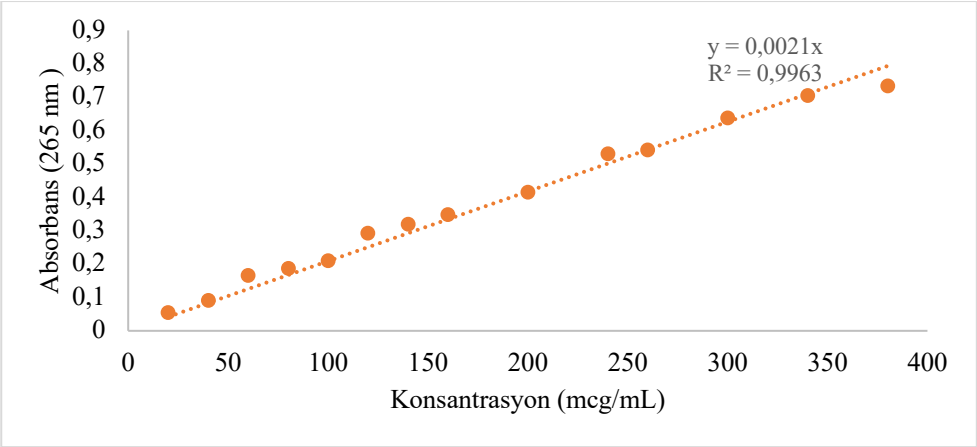
Tablo 6'da verilen değerlere göre PVA/CA/TTO nanofiber matların yüzdelik şişme grafiği çizilmiştir.Polivinil alkol hidrofilik bir polimerdir. Bu sebeple sitrik asit ile ısıl işlem uygulanarak çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlanan nanofiber mata çay ağacı yağı emdirilmesine rağmen nanofiber matların gözeneklilik özelliğinden dolayı şişme kapasitesi %423,83 oranına çıktığı düşünülmektedir. Sonuçlar literatüre uygun bulunmuştur.

4.5 Çay Ağacı Yağına Ait Kalibrasyon Eğrisi

Yapılan ölçümler sonucunda konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleri ile kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Bu eğrinin R^2 değeri ile doğru denklemi verilmiştir. TTO-Etanol çözeltilerine ait kalibrasyon eğrisi salım çalışmalarında nanofiber mattan salınan TTO miktarının belirlenmesi için kullanılmıştır.

Tablo 7. Çay Ağacı Yağı -Etanol kalibrasyon eğrisi için okunan değerler

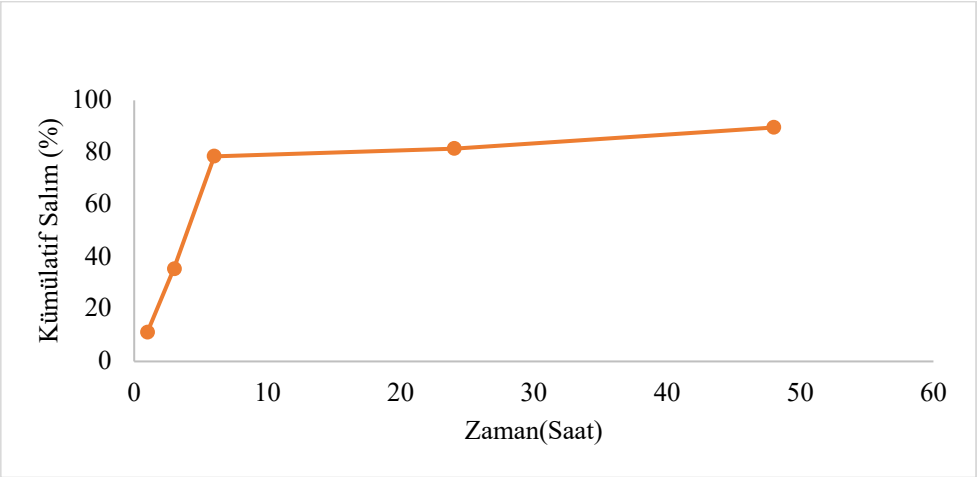
Konsantrasyon (mcg/mL)	Absorbans (265 nm)
20	0,054
40	0,091
80	0,187
100	0,21
140	0,319
160	0,348
200	0,415
240	0,53
260	0,541
300	0,637
340	0,704
380	0,733



Şekil 4.14 Çay Ağacı Yağı kalibrasyon grafiği (1mcg=1 mg/1000)

4.6 *In-vitro* Salım Analizi

Çay ağacı yağı damlatılmış yara örtülerinin çay ağacı yağı salım profilleri PBS ortamında 48 saat boyunca incelenmiştir. 1., 3., 6., 24. ve 48. saat aralıklarında örnek numuneler alınarak UV ölçümleri 265 nm de yapılmış ve daha önce hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak konsantrasyonları belirlenmiştir. Zamana bağlı kümülatif salım grafiği gösterilmiştir. Yapılan deney sonucunda çay ağacı yağının %89'u PBS ortamında salımı gerçekleşmiştir.



Şekil 4.15 Kümülatif salım grafiği

Bu çalışmada TTO ilk 6 saatte %78,6' sını salmıştır. İlk iki saatte yavaş ve düzenli bir salım gerçekleştirmiş olup 6.saatte beklendiği gibi daha yüksek bir salım gerçekleşmiştir. 24. ve 48. saatlerde minimum düzeyde bir salım gerçekleşmiştir_ve 48 saatin sonunda %89,6 oranda salıma ulaşılmıştır. Daha sonraki saatlerde absorbansın neredeyse değişmediği belirlendiği için 48 saatlik bir inceleme yapılmıştır. Sonuç olarak nanofiberin yüzeyinde biriken çay ağacı yağının salımı gerçekleşmiştir ve sonra ki saatlerde ise polimer tarafından etkili bir şekilde emilen yağın salımının gerçekleştiğini göstermektedir.

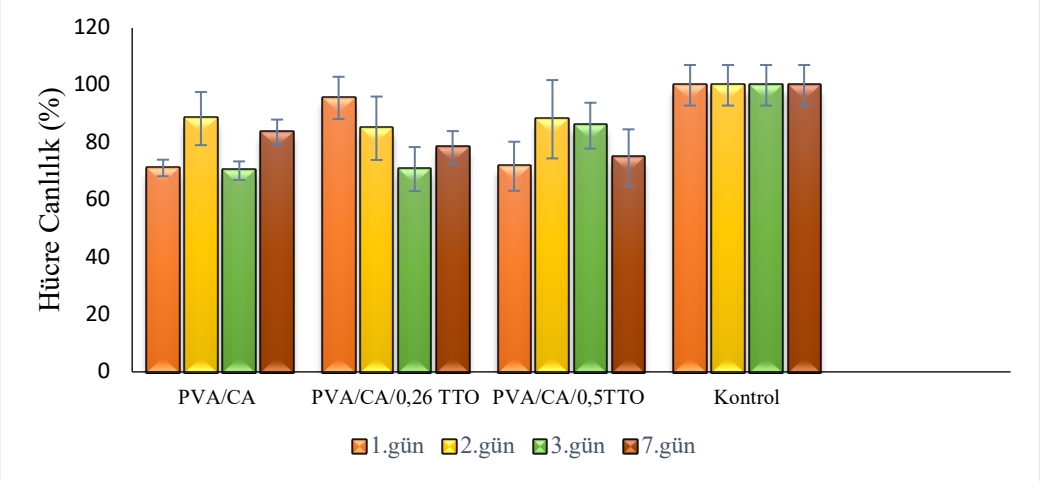
Ghorbani ve ark., yaptığı salım çalışmasında iki farklı pH değeri ile çay ağacı yağının salımını incelemişlerdir. 36 saat sonra pH = 7.4 de %80 oranında salındığı görülmüştür. PH değeri 5.5 de ise 95 % oranında bir salım gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Ve asidik ortamda çay ağacı yağının daha hızlı salındığı sonucuna ulaşılmıştır. Salımın 7.saatlerinde en yüksek orana ulaşılmıştır ve sonuç olarak elektrospun matların içinde sıkışan çay ağacı yağı molekülleri ortama kolayca salınabildiğini ortaya koymuşlardır [96].

4.7 Yara Örtü Malzemesinin Biyolojik Aktivite Testleri

4.7.1 Biyouyumluluk Testi -İndirekt Hücre Canlılık Analizi

İndirekt hücre canlılık analizi için PVA/CA nanofiber matlar ve iki farklı konsantrasyonda hazırlanmış çay ağacı yağı (0,25 mg/mL ve 0,5 mg/mL) katkılı PVA/CA/TTO nanofiber matların ekstratlarından örnekler alınmıştır. L929 fibroblast hücreler alınan örnekler ile birleştirilmiştir. % hücre canlılık formülü kullanılarak canlılık yüzdelikleri kontrol grubuna göre belirlenmiştir. Kontrol grubu hücre canlılığı %100 olarak kabul edilmiştir. PVA/CA nanofiber matların 24 saatlik analiz sonucunda 24, 48, 72 ve 168. saatlerde sırasıyla %71,14, %88,380, %70,19 ve %83,67 çıkmıştır. PVA/CA/0,26TTO nanofiber matlar 24, 48, 72 ve 168. saatlerde sırasıyla %95,0, %85, %70,76 ve %78,23 ve PVA/CA/0,5TTO nanofiber matlar 24, 48, 72 ve 168. saatlerde ise sırasıyla %71,75, %88,15, %85,9 ve %74,66 bulunmuştur.

Testler ISO10993-5 standardına göre gerçekleştirilmiştir; hücrenin hayatta kalma oranı %70'üzerindeyse numunenin sitotoksisitesi yok sayılmaktadır. Tüm örnek nanofiber matların hücre canlılığı %70'in üzerinde olduğu için sitotoksisitenin olmadığını görülmüştür. Çapraz bağlama ajanı olan CA'nın seçilmesi sitotoksik etki göstermemiştir. Daha az oranda eklenmesiyle daha yüksek biyouyumluluk verebileceği düşünülmektedir. TTO eklenmesiyle biyouyumluluğun arttığı ve iki ayrı konsantrasyondan ise en iyi sonuç veren 0,25 mg/mL TTO katkılı nanofiber mat olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.16 PVA/CA nanofiber mat ve PVA/CA/TTO nanofiber matların zamana bağlı hücre canlılığı (%) grafiği

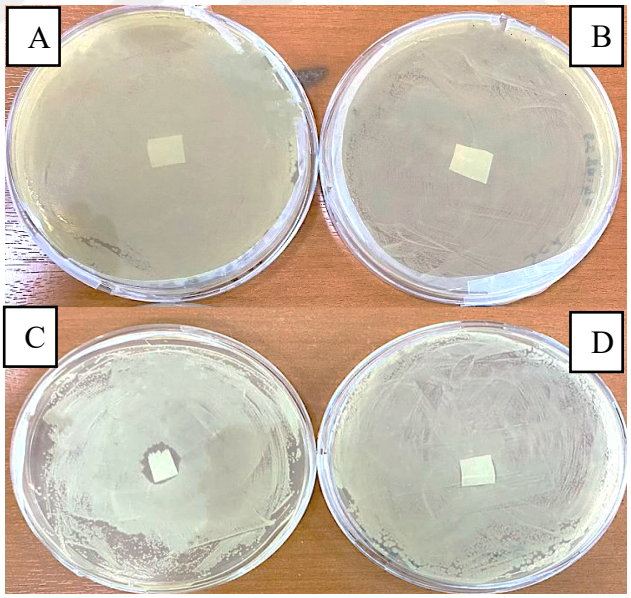
Huang ve ark., yaptığı çalışmada CA ile PVA'nın çapraz bağlanmış nanofiber yapısının kimyasal özellikleri, mekanik mukavemeti, şişme direnci ve sitotoksisitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda eklenilen CA'nın, ağırlıkça %20'den daha az olan örneğinde PVA'da fiber çapraz bağlanması için kullanıldığında L929 hücre canlılığı açısından toksik olmadığını göstermiştir [96].

Khataei ve ark, PVP ve TTO'dan oluşan nanolifli yapı iskelesini elektro çekim yöntemiyle üretmişlerdir ve TTO konsantrasyonunun arttırılmasının hücre canlılığını önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir [97].

Elde edilen sonuçlar literatürdeki çalışmalar ile karşılaştırıldığında, üretilen PVA/CA ve PVA/CA/TTO nanofiber matların yara iyileştirme uygulamaları için uygun malzemeler olduğu anlaşılmaktadır.

4.7.2 Antibakteriyel Aktivite Analizi

PVA/CA nanofiber matların ve çay ağacı yağı katkılı PVA/CA/TTO nanofiber matların antibakteriyel analizini yapmak için disk difüzyon metodu seçilmiştir. Şekil 4.15'de verilen nanofiber matların *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerinin bulunduğu agar plakalarda inhibisyon bölgesi oluşturma yetenekleri gözlemlenmiştir.



Şekil 4.17 (A) S. *aureus* bulunan agar plaka üzerinde PVA/CA nanofiber mat, (B) E. *coli* bulunan agar plaka üzerinde PVA/CA nanofiber mat, (C) S. *aureus* bulunan agar plaka üzerinde TTO yüklü PVA/CA/TTO nanofiber mat, (D) E. *coli* bulunan agar plaka üzerinde TTO yüklü PVA/CA/TTO nanofiber mat

PVA/CA çapraz bağlı nanofiber matlarda antibakteriyel etki gözlemlenmemiştir**.** Bunun sebebi olarak PVA/CA da bulunan polivinil alkol içeriği düşünülmektedir. Literatürde yalnızca PVA bulunan membranın bir antibakteriyel ajan kullanmadan yapılan çalışmasında antibakteriyel etki göstermediği belirtilmiştir [98].

Şekil 4.17'de verilen PVA/CA/TTO nanofiber matı *S.aureus'ta* nanofiber mat dahil olmak üzere 9 mm inhibisyon bölgesi oluşturmuştur. Nanofiber matın agar yüzeyinde bulunduğu alan dahil olmak üzere kenarlarında da bakteri oluşumu gözlemlenmemiştir. *E.coli* de ise nanofiber matın çevresi şeffaf bir bölge oluşturmuş ve o bölge de bakteri gözlemlenmemiştir.

Doustar ve ark. yaptığı çalışmada PS/TTO nanofiber matların *E.coli* (ortalama inhibisyon çapı 20,1 mm) ve *S.aureus* (ortalama inhibisyon çapı 30,7 mm) bakterilerine karşı en büyük inhibisyon çapını bildirmişlerdir [78].

Literatürde Lee ve ark. yaptığı çalışmada %5 TTO içeren nanofiberlerin antimikrobiyal özelliklerini belirlemek için E.*coli* ve *S.aureus* bakterilerini kullanmışlardır. TTO (PU-TTO) içeren nanofiberler, kontrole (PU) kıyasla daha büyük bir inhibisyon bölgesi gösterdiğini gözlemlemişlerdir. E.*coli* ye göre S.*aerusta* daha geniş çaplı inhibisyon bölgesi oluşturdukları bildirilmiştir [39].

Literatürdeki çalışmalarda incelendiğinde TTO'nun *S. aureus* bakterilere oranla *E. coli* bakterilere daha az etki ettiği belirtilmiştir. Bunun nedeni olarak *E.coli bakteri* hücresinin, antibakteriyel ajanlara karşı daha iyi korunmasını sağlayan hücre zarı ve spesifik dış zarı olduğunu ve TTO'nun bakteriye etki etmesini engellemesi düşünülmektedir [98].

5. YORUMLAR VE ÖNERİLER

Üretilen çay ağacı yağı katkılı nanofiber yara örtüsü üretimimizde elde edilen tüm sonuçlarda %70 üzeri canlılık değerleri çıktığı için biyouyumlu bulunmuştur. Çay ağacı yağının eklenmesiyle biyouyumluluğun arttığı görülmüştür. Literatürde uçucu yağlar ile ilgili bir açık söz konusudur. Hangi konsantrasyonda toksik etki hangi konsantrasyonda iyileştirici etki yaptığı tartışmalar arasındadır. Bu çalışmada düşük konsantrasyonda çay ağacı yağı kullanılmasının asıl sebebi yüksek oranlarda kullanılmasıyla toksik etki yaratabileceği düşüncedir [99]. PVA/CA nanofiber matlarda biyouyumlu çıkmıştır fakat daha yüksek bir oran beklenirken sitrik asit ile çapraz bağlanmasından dolayı canlılığın düşmüş olabileceği düşünülmektedir. Çapraz bağlayıcının yeterince nanofiber mattan uzaklaştırılmamış olması da bu etkiyi yaratabilmektedir. Daha iyi bir kurutma yöntemi seçilerek bu problem giderilebileceği düşünülmektedir.

Çay ağacı yağı yüklü nanofiber matların *E. coli* bakterilerinde yeterli etki göstermeme nedeni olarak *E.coli'nin* hücre duvarına sahip olması olduğu düşünülmektedir [96]. Fakat kullanılan çay ağacı yağı oranı azdır ve testler yapılmadan önce literatürde belirtilen doğrultuda kurutulmuştur [44]. Oda sıcaklığında kurutulmasına rağmen bir kısmı uçmuş olabileceği için daha az kurutma veya daha doğru bir kurutma işlemi yapılarak bakteriyeller üzerinde ki etkisi gözlemlenebilir. *S. aureus* bakterisinde ise 9 mm'lik bir inhibasyon bölgesi göstermiştir. *S.aureus* kronik yaralara ilişkilendirilen bakterilerdendir [100]. Çay ağacı yağının belirgin şekilde *S. aureusa* etki etmesi kronik yaralar için üretilen antimikrobiyal yara örtüleri açısından umut vaat edici olduğu düşünülmektedir.

SEM analizine bakıldığında yüksek molekül ağırlıklı ve daha orta molekül ağırlıklı PVA çalışmalarında orta molekül ağırlıklı ile üretilen nanofiberlerin daha başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür. Molekül ağırlığının yüksek olmasından dolayı elektro çekim aşamasında zorluklarla karşılaşıldığı düşünülmektedir. Daha düşük konsantrasyonda çalışılarak bu zorluklar yenilsede sürekli bir çalışma yapmak için farklı bir çözücü denenerek bu sorunun giderilebileceği düşünülmektedir. Çözelti iletkenliğini NaCl kullanılarak arttırılması fiberlerin kesinti yapmadan kollektörlere ulaşmasını sağlayabilir [101]. Çay ağacı yağı eklenmesiyle nanofiber yapıların biraz yassı ve yapışık görüntü verdiği analiz edilmiştir. Bu da beklenen bir sonuçtur. Oluşturulan nanofiber matlara damlatma yöntemiyle eklendiği için böyle bir görüntü

verebilmektedir. Yine daha doğru bir kurutma yöntemiyle bu sorun giderilebilir. Üretilen yara örtüsü nanofiber matların PVA, PVA/CA ve PVA/CA/TTO için ortalama çapları 100 örnek nanofiber mat üzerinden ölçülmüştür. PVA nanofiber matın ortalama çapı 430,85 nm, PVA/CA çapraz bağlı nanofiber matın ortalama çapı 496,08 nm ve PVA/CA nanofiber matların TTO damlatılmasından sonra görüntülenen nanofiber matın ortalama çapı 648,64 nm bulunmuştur.

FT-IR spektrumu incelendiğinde TTO'ya γ-terpinen ve terpinen-4-ol'un karakteristik ana bantları TTO eklenmiş nanofiber matın spektral analizinde gözlemlenmiştir.

Kümülatif salım testi sonucunda 6.saatte en yüksek oranda salım gerçekleşmiş ve 48 saatin sonunda %89 salım gözlemlenmiştir. Nanofiber mata yükleme yaptığımız için 6.saatte yüksek salım göstermiş olduğu düşünülmektedir. Diğer çalışmalarda elektro çekim sırasında polimer solüsyonuna çay ağacı ekleme yöntemi ile nanofiberler üretip onların salımı incelenip karşılaştırılabilir.

Şişme testi sonucu %423,83 çıkmıstır. Çapraz bağlama yapılmasına rağmen iyi bir sonuç vermesi gözenenekli nanofiber yapısından oldugu düşünülmektedir. Yara eksüdanı yarayı besler ama fazlası yara alanını gözlemleme açısından zarar verir o yüzen ideal yara örtüsü ideal bir absorblama oranı vermelidir. Literatürde de Arkadeni ve ark. şişme testi yani nanofiberin sıvı alımı için %100 ile %900 arasında geniş bir skala belirtmişlerdir [37].

Doğal ürünlerin yara örtülerinde kullanılması aşamalarında laboratuvar , klinik hatta ticarileşme alanları arasında derin bir boşluk mevcuttur. Bu boşluğu kapatabilmek için, yara örtülerinde doğal ürünlerin toksisitesi ve kimyasal yapıları aynı zamanda kimyasal eksiklikleri sorununu klinik olarak dikkatli bir şekilde araştırarak uygun çalışmalar yapılması takdirde üstesinden gelinebilir. Çevre dostu, uygun maliyetli malzemelere yönelinen bu günlerde, çay ağacı yağı kullanarak üretilen yara örtüsü üretimi çalışması literatür ile karşılaştırılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir.Bu çalışmanın devamı olarak *in vivo* ve *in vitro* yara iyileşmesi deneyleri, antioksidan etkileri ve mantarlar üzerinde antimikrobiyal etkileri detaylı olarak incelenebilir.

Sonuç olarak yapılan bu tez çalışması genel anlamda daha çevre dostu, uygun maliyetli, antioksidan, antimikrobiyellik gibi çeşitli etkinlikleri bilinen çay ağacı yağı kullanarak yara örtüsü üretimini başarılı bir şekilde gerçekleştirmiştir. Bundan sonra çalışılan bu malzemenin üretiminin standartlaştırılarak ticari hale getirilmesi ile ilgili çalışmalar yapılması düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

1. Sandri, G., el al., *Halloysite and chitosan oligosaccharide nanocomposite for wound healing.* Acta Biomater, 2017. 15(57): p. 216-224.
2. Tao, G ., el al ., *Bioinspired design of AgNPs embedded silk sericin-based sponges for efficiently combating bacteria and promoting wound healing*. Materials & Design,2019.180 :107940.
3. Gizaw M, Thompson J , Faglie A , Lee S.H , Neuenschwander P and Chou S.F , *Electrospun fibers as a dressing material for drug and biological agent delivery in wound healing applications*. Bioengineering, 2018.5(1):p.9.
4. Shi S., el al., *A skin-like nanostructured membrane for advanced wound dressing.* Composites Part B: Engineering,2023.250:110438.
5. Ovington L.G, Advances in wound dressings.Clinics in Dermatology.,2007.25(1):p. 33-38.
6. Wang J and Windbergs M ,*Functional electrospun fibers for the treatment of human skin wounds.* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2017.119 : p. 283-299.
7. Schulz T. J, Tompkins R.G and Burke J.F., *Artificial skin. Annual review of medicine*, 2000. 51: p. 231-44.
8. Metcalfe AD and Ferguson MW., *Bioengineering skin using mechanisms of regeneration and repair*. Biomaterials, 2007. 28: p. 5100-13.
9. Robson MC, Steed DL and Franz MG., *Wound healing: biological features and approaches to maximize healing trajectories.* Curr Probl Surg,2001.38(2) :p.72-140.
10. Jeckson TA, Neo YP, Sisinthy SP and Gorain B, *Delivery of Therapeutics from Layer-by-Layer Electrospun Nanofiber Matrix for Wound Healing:* An Update.Journel of Pharmaceutical Sciences,2021.110(2):p.635-653.
11. Simões D, Miguel SP, Ribeiro MP, Coutinho P, Mendonça AG and Correia IJ, *Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review*. Eur J Pharm Biopharm,2018.127:p.130-141.
12. Wang J and Windbergs M, Functional electrospun fibers for the treatment of human skin wounds. Eur J Pharm Biopharm,2017.119:p.283-299.
13. Enoch S and Leaper DH., *Basic science of wound healing.*Surgery(oxford),2005.23(2):p.37-42.
14. Dhivya S, Padma VV and Santhini E.,Wound dressings – a review. BioMedicine, 2015. 5(4): p. 24-28 .
15. Öztaş, P., *Yara İyileşmesi, Bakımı ve Tedavisi*.Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi,2021. 54(2):p.341-351.
16. Zeren, Büşra ., İnsan Dermal Fibroblast ve Keratinositlerini İçeren Kitosan-Jelatin/Fibrin Yapıştırıcı Esaslı İki Tabakalı Yapay Deri Sisteminin Geliştirilmesi,Yüksek Lisans Tezi ,Hacettepe Üniversitesi ,Fen Bilimleri Enstitüsü,Ankara:2014.
17. Monaco Jl and Lawrence WT., *Acute wound healing an overview*. Clinics in Plastic Surgary,2003.30(1):p.1-12.
18. Öztopalan DP, Işık R ve Durmuş AS., *Yara İyileşmesinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinlerin Rolü* .Dicle Üniv Vet Fak Derg, 2017.10(1):p.83-88.
19. Gurtner G.C , Werner S, Barrandon Y, and Longaker MT., *Wound repair and regeneration*.Nature, 2008.453:p.314-321.

20. Olgun , ME., Plastik, Vücuttaki Skarlar Üzerine Uygulanan Lazer Tedavisinin Etkinliğinin Değerlendirilmesi. Tıpta Uzmanlık Tezi,T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Sağlık Uygulama Ve Araştırma Merkezi.Ankara:2019.
21. Ghomi ER, Niazi M and Ramakrishna S., *The evolution of wound dressings: From traditional to smart dressings.*Polymers for advanced tecnologies,2022.34(2):p 520-530.
22. Strecker-McGraw MK, Jones TR and Baer DG., *Soft tissue wounds and principles of healing*. Emergency Medicine Clinics of North America, 2007.25 (1): p. 1–22.
23. Thomas S, Loveless P and Hay NP., *Comparative review of the properties of six semipermeable film dressings.* Pharm J ,1988. 240:p .785–7.
24. Erdem, R., Nanolif Bazlı Yara örtüsü yüzeyi geliştirilmesi,Doktora Tezi ,Marmara Üniverstesi,Fen Bilimleri Enstitüsü,İstanbul :;2013.
25. Kamoun EA, Kenawy ES and Chen X., *A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications:PVA-based hydrogel dressings.* Journal of Advanced Research,2017.8(3):p.217-233.
26. Shamloo A, Sarmadi M, Aghababaie Z and Vossoughi M., *Accelerated full-thickness wound healing via sustained bFGF delivery based on a PVA/chitosan/gelatin hydrogel incorporating PCL microspheres*. International Journal of Pharmaceutics*, 2018.* 537: p. 278–289.
27. Shi C., el al ., *Selection of Appropriate Wound Dressing for Various.* Frontiers in Bioengineering and Biotechnology,2020.8:p.182.
28. Kamińska, MS., et al., *B. Effectiveness of hydrocolloid dressings for treating pressure ulcers in adult patients: a systematic review and meta-analysis.* Int J Environ Res Public Health, 2020.17(21): p. 7881.
29. Momoh FU, Boateng JS, Richardson SC, Chowdhry BZ and Mitchell JC., *Development and functional characterization of alginate dressing as potential protein delivery system for wound healing.* Int J Biol Macromol, 2015. 81: p. 137-150.
30. Pancur S, Bilensoy E ve Çalış S., *Biyoparçalanır Doğal ve Sentetik Polimerlerin Yara Örtülerinde Kullanımı*. FABAD J. Pharm. Sci,2022.47(3):p. 419-442.
31. Aderibigbe BA., et al ., *Alginate in wound dressings*. Pharmaceutics, 2018; p. 10-42.
32. Mutlu S ve Yılmaz E., *Yara Yönetiminde Güncel Yaklaşımlar.* Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi,2019.8(4):p.481-494.
33. Kurtoğlu AH ve Karataş A., *Yara tedavisinde güncel yaklaşımlar: modern yara örtüleri.* Ankara Ecz. Fak. Derg,2009. 38 (3):p.211-232.
34. Tort S ve Acartürk F., *Yara Tedavisi ve Nanolif Yapısındaki Yara Örtüleri*. Turkiye Klinikleri J Pharm Sci ,2015.4: p.68-78.
35. Ghomi, E.R ., et al ., *Electrospun Aligned PCL/Gelatin Scaffolds Mimicking the Skin ECM for Effective Antimicrobial Wound Dressings.Advanced Fiber Materials* ,2023.5:p.235-251.
36. Ghomi, E.R ., et al., *Advances in electrospinning of aligned nanofiber scaffolds used for wound dressings*. Current Opinion in Biomedical Engineering , 2022. 22:100393.
37. Adeli H, Khorasani MT and 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:p.238-254.
38. Ardekani NT, Khorram M, Zomorodian K, Yazdanpanah S, Veisi H and Veisi H., *Evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)-based nanofiber mats incorporated*

with Zataria multiflora essential oil as potential wound dressing.Int J Biol Macromol.2019.125:p.743-750.
39. Lee K and Lee S., *Electrospun Nanofibrous Membranes with Essential Oils for Wound Dressing Applications*. Fibers and Polymers ,2020. 21: p.999–1012.
40. Mouro C, Gomes AP and Gouveia IC., *Emulsion Electrospinning of PLLA/PVA/Chitosan with Hypericum perforatum L. as an Antibacterial Nanofibrous Wound Dressing*.Gels,2023.9(5):p.353.
41. Luca, ID ., et al ., *Nanotechnology Development for Formulating Essential Oils in Wound Dressing Materials to Promote the Wound-Healing Process: A Review.* Appl. Sci,2021.11(4):p.1713.
42. Ge Y. and Ge M., *Sustained Broad-Spectrum Antimicrobial and Haemostatic Chitosan-Based Film with Immerged Tea Tree Oil Droplets*.Fibers and Polymers,2015.16(2):p. 308-318.
43. Xu Y, Xie L, Hou T, Wang D, Zhang T and Li C., *Preparation and Properties of Asymmetric Polyvinyl Pyrroli-Done/Polycaprolactone Composite Nanofiber Loaded with Tea Tree Extract*.Polymers (Basel),2022.14(18):p. 3714.
44. Santos, V. R., et al., *Electrospun PHBV nanofiber containing Tea Tree Oil: physicochemical and antimicrobial activity*.Polímeros:Ciênciae Tecnologia,2023. 33(1): e20230004.
45. Zussman E, Theron A and Yarin AL., et al ., *Formation of Nanofiber Crossbars in Electrospinning*, Applied Physics Letters, 2003.82 (6): p.973-975.
46. Rutledge GC and Fridrikh SV*., Formation of fibers by electrospinning*. Advanced Drug Delivery Reviews,2007. 59: p.1384–1391
47. Isaac B , Taylor RM and Reifsnider K., *Mechanical and Dielectric Properties of Aligned Electrospun Fibers*. Fibers, 2021.9 :p.4.
48. Bae, HS ., et al ., *Fabrication of highly porous PMMA electrospun fibers and their application in the removal of phenol and iodine*. Journal of Polymer Research , 2013. 20:p.158.
49. Ingavle GC, and Leach JK., *Advancements in electrospinning of polymeric nanofibrous scaffolds for tissue engineering*. Tissue Engineering Part B: Reviews, 2014. 20:p. 277–293.
50. Qian, YF., et al ., *Electrospinning of polymethyl methacrylate nanofibres in different solvents.* Iran. Polym. J, 2010. 19:p. 79–87.
51. Al-Abduljabbar A and Farooq I., *Electrospun Polymer Nanofibers: Processing, Properties, and Applications*.Polymers,2023.15(1):p.65.
52. Bhardwaj N and Kundu SC.,*Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique*. Biotechnol. Adv,2010. 28:p. 325–347.
53. Baji A, Mai YW, Wong SC, Abtahi M and Chen P ., *Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties*. Compos. Sci. Technol, 2010. 70:p.703–718.
54. Ingavle GC and Leach JK., *Advancements in electrospinning of polymeric nanofibrous scaffolds for tissue engineering*. Tiss.Eng.,2014.20:p.277–293.
55. Abbasi N, Soudi S, Hayati-Roodbari N, Dodel M and Soleimani M., *The effects of plasma treated electrospun nanofibrous poly (ε-caprolactone) scaffolds with different orientations on mouse embryonic stem cell proliferation*. Cell J, 2014.16:p.245.
56. Haider AH, Haider S and Kang IK ., *Comprehensive Review Summarizing the Effect of Electrospinning Parameters and Potential Applications of Nanofibers in Biomedical and Biotechnology*.Arab. J. Chem,2015.10:p.24.

57. Kumar PR, Khan N, Vivekanandhan S, Satyanarayana N, Mohanty AK and Misra M., *Nanofibers: Effective generation by electrospinning and their applications*. J. Nanosci. Nanotechnol, 2012. 12:p. 25.
58. Koski A, Yim K and Shivkumar S., *Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning*. Materials Letters,2004. 58(3-4):p. 493-497 .
59. Wen, X., et al., *Preparation of electrospun PLA nanofiber scaffold and the evaluation in vitro.* Key Engineering Materials,2005.288-289:p.139–142.
60. Zafar, M., et al ., *Potential of electrospun nanofibers for biomedical and dental applications. Materials* ,2016.9:p. 73.
61. Hanumantharao N and Rao S., *Multi-functional electrospun nanofibers from polymer blends for scaffold tissue engineering*. Fibers, 2019.7:p.66.
62. Teo WE and Ramakrishna S., A review on electrospinning design and nanofibre assemblies. Nanotechnology,2006. 17:p. R89.
63. Bose S, Ke D, Sahasrabudhe H and Bandyopadhyay A., *Additive manufacturing of biomaterials*.Progress in Materials Science,2018.93:p.45-111
64. Jayaraman K, Kotaki M, Zhang Y , Mo X and Ramakrishna S., *Recent advances in polymer nanofibers*. J.Nanosci. Nanotechnol. 2004, 4, 52–65. [Google Scholar]]
65. Ashammakhi N, Wimpenny I, Nikkola L and Yang Y.,*Electrospinning: Methods and development of biodegradable nanofibres for drug release*. J.Biomed. Nanotechnol, 2009.5:p. 19.
66. Ingavle GC and Leach JK., *Advancements in electrospinning of polymeric nanofibrous scaffolds for tissue engineering*. Tiss. Eng. Part B Rev, 2014. 20:p. 277–293.
67. Casper, C.L.,et al ., *Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: Effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process*. Macromolecules, 2004. 37(2):p. 573–578.
68. Huang ZM, Zhang YZ, Kotaki M and Ramakrishna S.,*A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and Their Applications in Nanocomposites Composites Science and Technology*,2003. 63(15):p.2223-2253.
69. Khademhosseini A, Vacanti JP and Langer R., *Progress in tissue engineering. Scientific American*, 2009;300:64–71.
70. Rodoplu D and Mutlu M. *Effects of electrospinning setup and process parameters on nanofiber morphology intended for the modification of quartz crystal microbalance surfaces*. J Eng Fibers Fabr 2012;7:118–23.
71. Marten, F. L., "*Vinyl Alcohol Polymers" Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley & Sons Inc,2000.p:1-16.
72. G. Gökşen, Elektroeğirme yöntemiyle uçucu yağların nanolif ile enkapsülasyonu ve karakterizasyonu, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü , Mersin:;2020.
73. Ceylan ,S., Doku Mühendisliği Uygulamaları İçin Polivinil Alkol (Pva)/Nişasta Temelli Kriyojel Doku İskelelerinin Geliştirilmesi: Sentez, Karakterizasyon ve Biyouyumluluk Değerlendirmeleri ,Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,Mersin :;2018.
74. Lytou A. E., K, Skandamis P,N, Nychas G .J.E and Panagou E.Z, *Investigating the influence of organic acid marinades, storage temperature and time on the survival/inactivation interface of Salmonella on chicken breast fillets. International Journal of Food Microbiology*, 2019. 299:p. 47–57.
75. Truong, Y. B., et al., *Functional Cross-Linked Electrospun Polyvinyl Alcohol Membranes and Their Potential Applications*. Macromolecular Materials and Engineering, 2017. 302:p. 1–9.

76. Özfenerci M. ve Çalışkan Koca. U, *Tea Tree Oil and Its Use in Aromatherapy .Current Perspectives on Medical& Aromatic Plants*,2018.2:p.90-102.
77. Carson C. F , Hammer K. A, and Riley T. V, *Melaleuca alternifolia (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties.*Clin Microbiol Rev,2006.19:p.50-62.
78. Doustdar F., Ramezani S, Ghorbani M, Mortazavi Moghadam F, *Optimization and characterization of a novel tea tree oil-integrated poly (ε-caprolactone)/soy protein isolate electrospun mat as a wound care system.* International Journal of Pharmaceutics,2022.627:p. 122218
79. Kong P, Abe J.P, Masuo S and Enomae T, *Preparation and characterization of tea tree oil-β-cyclodextrin microcapsules with super-high encapsulation efficiency.* Journal of Bioresources and Bioproducts,2023.8(3):p. 224-234.
80. Manjula B.P, Joshi V.G, Setty R and Geetha M, *Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Estimation of Tea Tree Oil in Bulk and Cosmeceutical Creams*. Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research,2021.55(1):p.61.
81. Yu , D., et all., *Fabrication, characterization, and antibacterial properties of citric acid crosslinked PVA electrospun microfibre mats for active food packaging*.PackakingTechnologyandScience,2021.**34**(6):p.361-370.
82. Castro,J.I., et al., *Chitosan/Polyvinyl Alcohol/Tea Tree Essential Oil Composite Films for BiomedicalApplications*.Polymers(Basel),2021.**13**(21):p.3753.
83. Weinstein R. A., Gaynes R., & Edwards J, R., *Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacill*i.Clinical Infectious Diseases, 2005.**41**(6):p.848–854.
84. Wertheim, H.F., et al., *The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections Lancet Infectious Diseases*,2005.**5**:p.751-762.
85. Mansuroğlu B , Derman S , Kızılbey K, Ateş SC and Akdeste ZM., *Synthetic peptide vaccine for Foot-and-Mouth Disease: synthesis, characterization and immunogenicity.* Turkish Journal of Biochemistry, 2020.**45**(6):p.859-868.
86. Hussein MAM, Gündüz O, Sahin A, Grinholch M, El-Sherbeny IM and Megahed M., *Dual Spinneret Electrospun Polyurethane/PVA-Gelatin Nanofibrous Scaffolds Containing Cinnamon Essential Oil and Nanoceria for Chronic Diabetic Wound Healing: Preparation, Physicochemical Characterization and In-Vitro Evaluation.*Molecules, 2022. **27**(7).p: 2146.
87. Borges-Vilches J, Unalan I, Fernández K and Boccaccini AR. *Fabrication of Biocompatible Electrospun Poly(ε-caprolactone)/Gelatin Nanofibers Loaded with Pinus radiata Bark Extracts for Wound Healing Applications.*Polymers (Basel), 2022.**14**(12):p.2331
88. Haghi AK and Akbari M., *Trends in electrospinning of natural nanofibers*. Pss Aplications and Materials Science,2007.204(6).p:1830-1834.
89. Zhang C.,Yuan X , Wu L, Han Y and Sheng J., *Study on morphology of electrospun poly(vinyl alcohol) mats.* European Polymer Journal, 2005.41:p.423-432.
90. Çiftçi Ş , Özek S , Saksoy SA,, Aksoy K and Göde F., *Nanokil Katkılı PVA/Kitosan Nanolif Sentezi ve Karakterizasyonu*. SDU Journal of Science (E-Journal), 2015,.10 (1):p. 118-128.
91. Partheniadis I, Stathakis G, Tsalavouti D, Heinämäki J and Nikolakakis I. *Essential Oil—Loaded Nanofibers for Pharmaceutical and Biomedical Applications: A Systematic Mini-Review*.Pharmaceutics, 2022.14(9):p.1799.
92. Kharazmi A, Faraji N, Mat Hussin R, Saion E, Yunus WM and Behzad K., *Structural, optical, opto-thermal and thermal properties of ZnS–PVA nanofluids*

*synthesized through a radiolytic approach.*Beilstein Journal nanatechnohol,2015.6.p:529-536.
93. Thiagarajan, P., et al., *Alumına Nanoparticle Incorporated Melaleuca Alternifolia Oil Formulatıon for Control of Streptococcus Mutans Isolated From Dental Caries.*Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences,2020. 9(1):p.44-52
94. Rytwo G, Zakai R and Wicklein B., *The Use of ATR-FTIR Spectroscopy for Quantification of Adsorbed Compounds*.Journal of Spectroscopy,2015.p:8.
95. Alven S and Aderibigbe BA., *Fabrication of Hybrid Nanofibers from Biopolymers and Poly (Vinyl Alcohol)/Poly (ε-Caprolactone) for Wound Dressing Applications*.Polymers (Basel), 2021.13(13):p.2104
96. Huang SM, Liu SM, Tseng HY and Chen WC., *Effect of Citric Acid on Swelling Resistance and Physicochemical Properties of Post-Crosslinked Electrospun Polyvinyl Alcohol Fibrous Membrane*.Polymers,2023.15(7):p.1238.
97. Khataei S, Musawi M, Asadi K, Ramezani S, Abbasian S and Ghorbani M., *Effect of molecular weight and content of polyvinylpyrrolidone on cell proliferation, loading capacity and properties of electrospun green tea essential oil-incorporated polyamide-6/polyvinylpyrrolidone nanofibers*.Journal of Drung Delivery Science and Technology,2023.82:p.1043010.
98. Chen M, Hu Y, Zhou J, Xie Y, Wu H, Yuan T and Yang Z., *Facile fabrication of tea tree oil-loaded antibacterial microcapsules by complex coacervation of sodium alginate/quaternary ammonium salt of chitosan*.RSC Adv.6 (16):p. 13032–13039.
99. Ferraz CA, Pastorinho MR, Palmeira-de-Oliveira A and Sousa ACA., *Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review.*Environ Pollut,2022.1:p.292.
100. Omar A, Wright JB,Schultz G, Burrel R and Nadworny P., *Microbial Biofilms and Chronic Wounds.* Microorganisms ,2017. 5(1):p. 9.
101. Topuz F, Abdulhamid MA, Holtzl T and Sezekly G., *Nanofiber engineering of microporous polyimides through electrospinning: Influence of electrospinning parameters and salt addition.*Materials & Design,2015.198.109280.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kübra GÖKYILDIRIM

Eğitim Bilgileri

Lisans : Pamukkale Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil ve Düzeyi : İngilizce-B2

Tezden Üretilmiş Yayın ve Bildiriler : Gökyıldırım K., Ateş S., "Elektro Eğirme Yöntemi İle Üretilen PVA İçerikli Nanofiberlerin Optimizasyonu",9.Bilim Günleri Kongresi (özet bildiri-sözlü sunum),MAYIS 2023,İstanbul.

Bilimsel Etkinlikleri (aldığı burslar, ödüller, projeleri) : TÜBİTAK 2210-C Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Bursu