

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

**KOLAJEN NANOFİBER BAZLI KATMANLI**  
**YARA ÖRTÜ TİPLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE**  
**KARAKTERİZASYONU**

**ONUR ARAS**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

**GEBZE**  
**2018**

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

**KOLAJEN NANOFİBER BAZLI**  
**KATMANLI YARA ÖRTÜ TİPLERİNİN**  
**GELİŞTİRİLMESİ VE**  
**KARAKTERİZASYONU**

**ONUR ARAS**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

DANIŞMANI  
PROF. DR. AZİZ TANRISEVEN  
II. DANIŞMANI  
DOÇ. DR. MURAT KAZANCI

**GEBZE**

**2018**

**T.R.**  
**GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY**  
**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**COLLAGEN NANOFIBER BASED**  
**MULTILAYER WOUND DRESSING**  
**DEVELOPMENT AND**  
**CHARACTERIZATION**

**ONUR ARAS**  
**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF**  
**MASTER OF SCIENCE**  
**DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

THESIS SUPERVISOR  
PROF. DR. AZİZ TANRISEVEN  
II. THESIS SUPERVISOR  
ASSOC.PROF. DR. MURAT KAZANCI

**GEBZE**  
**2018**

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 13/06/2018 tarih ve 2018/31 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 09/07/2018 tarihinde tez savunma sınavı yapılan ONUR ARAS' ın tez çalışması KİMYA Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

**JÜRİ**

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI)

: Prof. Dr. Aziz TANRISEVEN

*A. Tanriseven*

ÜYE

: Doç. Dr. Murat KAZANCI

*Murat Kazancı*

ÜYE

: Doç. Dr. Serdar DURDAĞI

*Serdar Durdağı*

ÜYE

: Doç. Dr. Barış BİNAY

*B. Binay*

ÜYE

:Dr. Öğr. Üyesi Zehra ÖLÇER

*Zehra Ölçer*

**ONAY**

Gebze Teknik Üniversitesi ..... Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararı.

## ÖZET

Diyabet hastalığı tüm dünyada 250 milyon kişide, ülkemizde ise ülke nüfusunun %7,2 'sinde görülmektedir. Bu hastaların %25'inde diyabetik ayak ülseri görülmektedir. Ülkemizde sağlıklı istatistiksel veriler olmasa da yaklaşık 1.000.000 kişi yanık nedeniyle hastanelere başvururken, bunların 12.000 – 13.000'i hospitalize edilmekte ve yaklaşık 2000 kişi yanık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu rakamlara bakıldığında diyabetik ayak ülselerinin ve yanıkların dünyada ve ülkemizde önemli vakalar olduğu görülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında, diyabetik ayak ülseleri gibi kapanmayan yaraların ve derin yanık yaralarının tedavisinde kullanılacak katmanlı kolajen yara örtüsü tasarlanmıştır. Bu yaklaşım ile, derinin epidermis ve dermis tabakalarının taklit edilmesi öngörülmektedir. Bu amaçla öncelikle, epidermis tabakasını taklit edebilecek yapı için, liyofilizasyon (dondurarak kurutma) yöntemiyle yüksek ve düzgün gözenekliliğe sahip aynı zamanda maliyet noktasında daha avantajlı olan ipek fibroin bazlı süngerler üretilmiştir. Dermis tabakasını temsilen ise ipek fibroin süngerlerin üzeri elektrospin yöntemiyle kolajen nanofiber tabakasıyla kaplanmıştır. Kolajen nanofiber yapı cildin orta katmanında, üzerinde yeni hücrelerin büyüebileceği bir elyaf ağı oluşturmuş olacaktır. Aynı zamanda yara iyileşmesinde, kolajen nanofiber yapıların yeni cilt hücrelerini yara bölgesine çekerek, iyileşmeyi hızlandıracığı öngörülmektedir. Bu nedenle, yara temas tabakası kolajen nanofiberden oluşmaktadır. Oluşan katmanlı doku iskeleleri SEM, TEM, FTIR, RAMAN ve DSC ile karakterize edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler: Kolajen, Kolajen Nanofiber, Katmanlı Yara Örtüsü, Nanoteknoloji, İpek Fibroin Sünger, Yara İyileşmesi.**

## SUMMARY

Diabetes mellitus is seen in 250 million people all over the world and 7,2% of the country population in our country. Diabetic foot ulcers are seen in 25% of these patients. Although there are no healthy statistical data in our country, approximately 1,000,000 people are hospitalized due to burns, 12,000 - 13,000 of them are hospitalized and approximately 2,000 people lose their lives because of burns. These figures show that diabetic foot ulcers and burns are important events in the world and in our country. Within the scope of this thesis, a layered collagen wound dressing is designed which can be used in the treatment of non-occlusive wounds such as diabetic foot ulcers and deep burn wounds. With this approach, deep epidermis and dermis layers are imitated. For this purpose, firstly, silk fibroin sponges have been produced which have a high and uniform porosity by means of lyophilization (freeze drying), which is also more advantageous at the cost point, in order to mimic the epidermis layer. Representative of the dermis layer is covered with silk fibroin sponges with a collagen nanofiber layer by electrospin method. The collagen nanofiber structure will form a fiber network on the middle layer of the skin, where new cells can grow. At the time of wound healing, collagen nanofiber structures are predicted to accelerate healing by attracting new skin cells to the wound area. For this reason, the wound contact layer is composed of collagen nanofiber. The resulting layered texture scaffolds are characterized by SEM, TEM, FTIR, RAMAN and DSC.

**Key Words: Collagen, Collagen Nanofiber, Multilayer Wound Dressing, Nanotechnology, Silk Fibroin Based Sponge, Wound Healing.**

## TEŞEKKÜR

Bu tez alıŐması Fen Fakóltesi Kimya bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Aziz TANRISEVEN'nin danıŐmanlıđında hazırlanarak Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne yüksek lisans tezi olarak sunulmuŐtur. Tez konunun yürütölmesinde bana destek veren sayđı değer hocam Prof. Dr. Aziz TANRISEVEN'e teŐekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimimde ve akademik hayatımda desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyip bilgisi ile bu çalışmanın oluşmasının yolunu açan eş danıŐmanım Doç. Dr. Murat Kazancı'ya, çalıŐmalarım boyunca benden maddi-manevi hiçbir desteğini esirgemeyen çok değerli aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa</u></b>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği	4
2. GENEL BİLGİ	6
2.1. Derinin Yapısı	6
2.1.1. Epidermis	6
2.1.2. Dermis	7
2.2. Derinin Görevleri	7
2.3. Yara Oluşum Sebepleri	8
2.4. Yara İyileşme Basamakları	9
2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	11
2.5.1. Dokunun Hasara Uğraması	11
2.5.2. Kanama Kontrolünün Sağlanması ve Yaranın Debridmanı	11
2.5.3. Dokunun Kanlanması	12
2.5.4. Diyabet	12
2.5.5. Bağışıklık Sistemi	13
2.5.6. Radyasyona Maruz Kalma	13
2.5.7. Hiperbarik Oksijen Terapisi	14
2.5.8. Yaş	14
2.5.9. Beslenme	14

2.6. Yara İyileşmesinde Kullanılan Modern Yara Örtüleri	15
2.7. Modern Yara Örtülerinin Sınıflandırılması	16
2.8. Modern Yara Örtülerinden Beklenen Özellikler	18
2.8.1. Sıvı Kontrolünün Sağlanması	18
2.8.2. Koku Giderilmesi	18
2.8.3. Mikrobiyal Kontrol	18
2.8.4. Fiziksel Bariyer	18
2.8.5. Boşluk Doldurucu	18
2.8.6. Yaradaki Yabancı Cisimlerin, Hasarlı ve Enfekte Olmuş Dokuların Tamamen Temizlenmesi (Debridman)	19
2.8.7. Kanama Etkisinin Sağlanması	19
2.8.8. Düşük Yapışkanlık Özelliği	19
2.8.9. Yara İzinin Giderilmesi	19
2.8.10. Metal İyon Metabolizması	19
2.8.11. Yara İyileşmesinin Hızlandırılması	20
2.9. Kolajenin Özellikleri	20
2.9.1. Kolajen Sentezi	21
2.9.2. Kolajen Tıbbi Kullanımı	22
2.9.2.1. Yara Sargıları	22
2.9.2.2. Osteoartit Tedavisi	22
2.9.2.3. Cilt Canlandırma	23
2.10. İpek Fibroinin Özellikleri	23
2.11. Doku İskelelerinde Beklenen Özellikler	26
2.11.1. Doku İskelelerinde Biyouyumluluk	26
2.11.2. Doku İskelelerinde Biyobozunurluk	26
2.11.3. Doku İle Uyumlu Mekanik Özelliklere Sahip Olma	27
2.11.4. Doku İskelelerinde Yapısal Özellikler	27
2.12. Nanoliflerin Yara Örtücü Olarak Kullanımı	28
2.13. Elektrospin Yöntemi	28
3. DENEYSEL KISIM	35
3.1. Elektrospin Cihazının Tasarlanması	37
3.2. Çözeltilerin Hazırlanması	38
3.2.1. İpek Fibroin Çözeltilerinin Hazırlanması	38

3.2.2. İpek Fibroin + PVA Çözeltisinden İpek Sünger Hazırlanması	39
3.2.4. Elektrospın Uygulama İçin Kolajen Çözeltisinin Hazırlanması ve Nanofiber Üretimi	42
3.2.5. Kolajen Nanofiberlerin Kararlı Hale Getirilmesi	44
3.2.6. İpek Süngerlerin Nanofiberle Kaplanması	44
3.3. Yapı Karakterizasyonu	45
3.3.1. Taramalı elektron mikroskop (SEM)analizi	45
3.3.2. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi	45
3.3.3. Fourier transform infrared (FT-IR) analizi	45
3.3.4. Raman Spectroscopy	45
3.3.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi	46
4. BULGU VE TARTIŞMALAR	47
4.1. Yara Örtü Katmanlarının Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi	47
4.1.1. Kompozit Süngerin Morfolojik Özellikleri	47
4.1.2.Kolajen Nanofiberlerin Morfolojik Özellikleri	51
4.1.2.1. Nanofiber Yapıların SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) Görüntüleri	53
4.1.2.2 Nanofiber Yapıların TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu) Görüntüleri	54
4.2. Yara Örtü Katmanlarının Yapısal Özelliklerinin İncelenmesi	56
4.2.1. Kompozit Süngerin Yapısal Özelliği	56
4.2.2. Kolajen Nanofiberlerin Yapısal Özelliği	60
4.3. Yara Örtü Katmanlarının Termal Davranışlarının İncelenmesi	63
4.3.1. Kompozit Sünger Yapının Termal Özellikleri	63
4.3.2. Kolajen Nanofiber Yapının Termal Özellikleri	66
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ	81
EKLER	82

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u> <u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
CaCl <sub>2</sub>	: Kalsiyum Klorür
dH <sub>2</sub> O	: Saf su
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
ECM	: Ekstraselüler Matris
FT-IR	: Infrared
HAc	: Asetik Asit
HFIP	: 1,1,1,3,3,3 Hexafluoro -2-Propanol
LiBr	: Lityum Bromür
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	: Sodyum Karbonat
PVA	: Polivinil Alkol
RAMAN	: Raman Spektroskopi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
TFE	: 2,2,2-Trifluoroethanol

# ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Sekil No:</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1: Kolajen Yapısı.	21
2.2: Farklı yaşlardaki kolajen yapı örnekleri.	21
2.3: Elektrospin metoduyla nanolif üretimi.	31
2.4: Kılcal boru ucundaki damlanın ilerleyerek artan voltaj etkisiyle Taylor Konisi ve jet oluşumu a)110 <sup>0</sup> C b)107 <sup>0</sup> C c)104 <sup>0</sup> C.	32
2.5: Elektrospinde Whipping Kararsızlığı ve Taylor Konisi.	33
2.6: Elektrik alan içine yüklenmiş polimer sıvı jetin modellenmesi.	34
2.7: 25 Fps'daki Whipping olayının fotoğrafı b) 4000 Fps'da Whipping olayının fotoğrafı.	35
3.1: Elektrospin cihazı.	38
3.2: Elektrospin güvenlik kutusu.	39
3.3: İpek kozasından ipek sünger elde edilmesi aşamaları	41
3.4: İpek Fibroin (LiBr) PVA Sünger Kompozit a) PVA/İpek: 0/10 , b) PVA/İpek: 3/7, c) PVA/İpek: 4/6, d) PVA/İpek: 5/5, e) PVA/İpek: 6/4 f) a) PVA/İpek: 7/3, g) PVA/İpek: 10/0.	41
3.5: İpek Fibroin (Ajiwa) PVA Sünger Kompozit a) PVA/İpek: 0/10 , b) PVA/İpek: 3/7, c) PVA/İpek: 4/6, d) PVA/İpek: 5/5, e) PVA/İpek: 6/4 f) a) PVA/İpek: 7/3, g) PVA/İpek: 10/0.	42
3.6: Kolajen nanofiber üretim aşamaları.	44
3.7: Katmanlı kolajen üretim aşamaları.	45
4.1: Elde edilen kompozit süngerler.	50
4.2: CaCl <sub>2</sub> elde edilen kompozit süngerlerin SEM görüntüsü a) PVA/İpek: 0/10 , b) PVA/İpek: 3/7, c) PVA/İpek: 4/6, d) PVA/İpek: 5/5, e) PVA/İpek: 6/4 f) a) PVA/İpek: 7/3, g) PVA/İpek: 10/0.	51
4.3: LiBr elde edilen kompozit süngerlerin SEM görüntüsü a) PVA/İpek: 0/10 , b) PVA/İpek: 3/7, c) PVA/İpek: 4/6, d) PVA/İpek: 5/5, e) PVA/İpek: 6/4 f) a) PVA/İpek: 7/3, g) PVA/İpek: 10/0.	52
4.4: 1) TFE'den elde edilen kompozit süngerlerin SEM görüntüleri	

a)%6 b)%8 c)%10 d)%12; 2)HFIP'den elde edilen kolajen nanofiberlerin SEM görüntüleri a)%6 b)%8 c)%10 d)%12;	
3) %40 Asetik Asit çözeltisinden elde edilen nanofiberlerin SEM görüntüsü a)%20 b)%30 c)%40.	54
4.5: Asetik Asit çözeltisi kullanarak elde edilen nanofiberlerin SEM görüntüsü).	55
4.6: TFE çözeltisi kullanılarak elde edilen nanofiberlerin SEM görüntüsü	56
4.7: Asetik Asit çözeltisi kullanılarak elde edilen nanofiberlerin TEM görüntüsü.	57
4.8: TFE çözeltisi kullanılarak elde nanofiberlerin TEM görüntüsü.	57
4.9: Katmanlı yara örtüsü (İpek sünger üzerine kolajen nanofiber kaplama).	58
4.10: CaCl <sub>2</sub> kullanılarak hazırlanan İpek/PVA kompozit FT-IR eğrilerinin karşılaştırılması.	59
4.11: LiBr kullanılarak hazırlanan İpek/PVA kompozit FT-IR eğrilerinin karşılaştırılması.	61
4.12: a) AMİD I-AMİD III aralığında doğal kolajen, TFE ve HAc elde edilen nanofibelerin Raman Spektrumları b) TFE ve HAc'den elde edilen nanofiberlerin Raman Spektrumlarının yakınlştırılmış görünümü (Amid I- Amid III Raman Spektrumlarının karşılaştırılması).	64
4.13: CaCl <sub>2</sub> kullanılarak hazırlanan İpek/PVA kompozit DSC eğrilerinin karşılaştırılması A.1-A.2 (İPEK-PVA Sırasıyla 10/0, 7/3, 6/4, 5/5, 4/6, 3/7, 0/10) B.1-B.2. ( İPEK-PVA Sırasıyla 10/0, 7/3, 3/7, 0/10).	65
4.14: LiBr kullanılarak hazırlanan İpek/PVA kompozit DSC eğrilerinin karşılaştırılması A.1-A.2 (İPEK-PVA Sırasıyla 10/0, 7/3, 6/4, 5/5, 4/6, 3/7, 0/10) B.1-B.2 ( İPEK-PVA Sırasıyla 10/0, 7/3, 3/7, 0/10).	67
4.15: Farklı çözücülerden elde edilen İPEK-PVA sünger kompozitlerin DSC eğrilerinin Karşılaştırılması (A.1-A.2).	68
4.16: Doğal kolajen, TFE ve HAc'den elde edilen DSC eğrilerinin Karşılaştırılması.	68

# TABLolar DİZİNİ

<b><u>Tablo No:</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
2.1: Modern Yara Örtülerinin Sınıflandırılması.	17
2.2: Yara İyileşme Evreleri ve Bu Evrelerde Kullanılacak Yara Örtü Tipleri.	17
3.1: Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler.	35
3.2: Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar.	36
3.3: İpek Fibroin (LiBr) PVA Sünger Kompozit Derişim Oranları ve Optimizasyon Şartları.	41
3.4: İpek Fibroin (Ajiwa) PVA Sünger Kompozit Derişim Oranları ve Optimizasyon Şartları.	42
3.5: Elektrospin Uygulama İçin Kolajen Çözelti Parametreleri.	44

# 1.GİRİŞ

Yara tedavisinde yara yüzeyini örtmenin yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği çok eski yıllardan beri bilinmektedir. Yara yüzeyinin açıkta kalması ile oluşan sıvı/ısı/protein kayıplarının iyileşmeyi olumsuz etkilediği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Ağaç kabuğu ve yapraklarıyla başlayan yara örtüsü uygulamaları, yaranın korunmasının yanında iyileştirilmesine yönelik yapılan çalışmalar ile devam etmiştir. Çin ve Mısır'da yapılan arkeolojik kazılarda yara iyileşmesine yönelik bitki, palmye lifleri ve bal hamurlarının kullanıldığı görülmüştür [1].

Modern çağda yara iyileşmesi için yeni bir anlayış ortaya çıkmıştır. Bu anlayış; iyi bir yara iyileşmesi için uygun nemli bir ortam, yeterli bir oksijen sirkülasyonu ve bakteriyel kontaminasyondan korunmayı savunmaktadır. Bu uygun şartları sağlamak için çeşitli yara örtüleri geliştirilmiştir. Yara bölgelerini koruma amaçlı kullanılan gazlı bezler, doğal ya da sentetik bandajlar gibi pasif koruyucular yerine yara bölgesinde optimum koşulları sağlayan, aktif içerikler salan veya yara bölgesindeki hücrelerle doğrudan etkileşip yaranın iyileşmesini hızlandıran film, hidrokolloid ya da jel gibi malzemelerin üretimi büyük önem kazanmıştır [2].

Günümüzde ise yeni nesil biyopolimerlerin bulunması ve farklı üretim yöntemlerinin geliştirilmesiyle, yara örtüleri çok farklı özellikler kazandırılarak yaranın tedavi sürecini hızlandırmaktadır. Ayrıca yara çevresinde oluşturulan ılık ve nemli bir ortam sayesinde daha hızlı ve başarılı bir yara iyileşmesi sağlanmaktadır. Bu modern anlayış, yara iyileşme sürecinde epitel hücrelerin hareketine izin verecek ideal ortam koşullarının oluşturulmasına dayanmaktadır. Yara tedavisi için gerekli ideal koşullar, yara etrafında hücre ve dokuların rejenerasyonuna izin verecek kadar nemli bir ortam, etkin oksijen geçişi, düşük bakteriyel kontaminasyon ve hücre dışı matris yapısını taklit edebilme olarak özetlenebilir. Tüm bu ihtiyaçları sağlayabilmek için tek tip yara örtüsü yeterli olamayacağından modern yara örtüleri ön plana çıkmıştır [2].

Yara örtüsü olarak kullanılan polimerlerin başında kitin, kolajen, kitosan ve jelatin (kolajenden türetilen bir protein) gelmektedir. Özellikle kolajen, bağ dokusunun yapı taşıdır ve vücutta yirmiden fazla türü vardır. Bunlardan ikisi, Tip 1 ve Tip 3, yara iyileşmesinin çeşitli aşamalarında görev alır. Ayrıca, yara iyileşmesini bozan matriks metalloproteinazları bağlayarak da iyileşmeye katkı sağladığı yönünde bulgular vardır. Bununla birlikte bu örtüler, at, sığır, tavuk gibi hayvanlardan elde edilen Tip 1

kolajenden üretilmektedir. Absorpsiyon özelliği yüksektir; ağırlığının 10 katına kadar eksudayı tutabilir fakat antimikrobiyal etkinliği ve debridman özelliği yoktur. Eksudalı, enfekte olmayan yaralar için kullanılabilir. Şekli kolay değiştirilebilir olduğundan, her türlü yaraya kolaylıkla uygulanabilir. İlk kullanımda hemostatik etkisi vardır; küçük kanamalarda kontrol de sağlar [3]. Piyasada, ped, jel ve toz halinde bulunabilir. Kolajenin oksidize rejenere selüloz (ORC) ile kombine edilip, etkisinin artırılmış ve gümüş eklenerek antibakteriyel özellik katılmış formları da vardır [4]. Kolajen içerikli örtülerin, yanıklar ve diğer kronik yaralarda etkin olduğunu gösterir çalışmalar olsada, diyabetik ülserlerde etkinliği ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Kolajen + ORC içerikli örtüler ile yapılan çalışmalarda ise, çeşitli yaralarda daha hızlı iyileşme gözlenmiştir [5],[6].

Modern anlayışta yara örtülerinin üretiminde elektrospin yöntemi ile nanofiber yapısındaki yara örtülerinin üretimi önem kazanmıştır. Çünkü bu yöntemle hazırlanan yara örtüleri diğer yöntemlerle hazırlanan ürünlere göre birçok üstünlük sağlamaktadır. Nanolifler oluşumlarına bağlı olarak geniş yüzey alanına sahiptirler. Nanolifler, nanometre boyutunda olmaları ve rastgele yerleşimli yapılarıyla ekstraselüler matris (ECM) yapısını taklit edebilmektedir. Yarayı bakteriyel penetrasyondan ve dehidratasyondan korumaktadırlar. Nanofiberlerin elde edilmesinde İngilizcede “electrospinning” olarak adlandırılan elektro-spin ya da elektro-eğirme metodu, polimer çözeltilerinden nanofiber üretmek için geliştirilmiş bir metottur. Gerekli yüksek voltaj, yüksek gerilim güç kaynağından 10-40 kV mertebelerinde uygun hazırlanmış polimer çözeltisine verilir. Yüksek voltajın oluşturduğu elektrik alan içerisinde yüklenen polimer çözeltisi karşı kutup olarak topraklanmış veya zıt kutup ile yüklenmiş bir metal yüzey üzerine doğru spin hareketi ile incelerek nanometre mertebelerinde lifler oluşturur ve nanofiber membran yüzey oluşumunu sağlar [4], [7],[8].

Elektrospin yöntemiyle farklı fiziksel özellikteki polimerlerden farklı özelliklere sahip nanofiber yapılar üretilebilmektedir. Literatürde çeşitli elektrospin yöntemleriyle elde edilmiş nanofiberli membranlar yara örtücü olarak kullanılmaktadır [4].

An ve arkadaşları [9] gümüş nano-partikülleri PEO-Kitosan karışımına ekleyerek elektrospini gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada yer alan SEM görüntülerinde gümüş nanopartiküllü nanofiberlerin daha düzgün dağılıma sahip olduğu gözlenmiştir.

TEM görüntüsünde ise gümüş partiküllerinin homojen olarak dağıldığı görülmekte ve bu sayede antibakteriyel aktivite olumlu yönde etkilenmektedir.

Chen J. ve arkadaşları [10] kolajen-kitosan nanofiber yüzeyleri elektrosprin yöntemiyle elde edilmişlerdir. Yapılan değerlendirmelerde kolajen yapı sayesinde yara iyileşmesinin desteklendiği görülmüş ve kolajen yapı hücre çoğalmasını desteklemiştir.

Aktürk ve arkadaşlarının [11] yapmış olduğu çalışmada 2:1 1:1 1:2 ve 0:1 derişim oranlarında serisin/kolajen kullanılmıştır. En iyi şişme oranı 1:1’de elde edilmiştir. Fakat artan kolajen veya serisin oranı membranın etkisini azaltmıştır. En yüksek su buharı transmisyonu 1:2’de elde edilmiştir. Artan serisin miktarı kırılmalılığı artırmasına rağmen yara örtüsü için uygun bir ortam oluşmuştur. Sonuç olarak serisin/kolajen bileşimi eşit veya serisin az olduğunda yara için ideal ortam oluşmamıştır.

Beppu ve arkadaşları [12] fibroin filmlerin yaranın iyileşme süresinde yarayı dış etkilerden ve mikroorganizmalardan koruduğunu ve gözenekli ipek filmlerin vaskülarizasyonu sağladığını bildirilmiştir. Bu özellikleri ile ipek, yara iyileşmesi uygulamaları için uygun bir biyomalzemedir.

Sung Eun ve arkadaşları [13] farklı oranlarda poliüretan-jelatin nanofiber üretimini elektrosprin yöntemiyle gerçekleştirmişler ve üretilen nanofiber çaplarının 0.4 ile 2.1 mikron arasında değiştiğini göstermişlerdir. Mekanik testler, artan poliüretan miktarının malzeme elastisitesini olumlu yönde etkilediğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte jelatin miktarının artması hücre çoğalmasını pozitif yönde etkilediğinden yara örtüsü kullanımı için uygun ortam oluşturulabileceği düşünülmüştür.

H. Maleki ve arkadaşları [14] Poli (vinil alkol) / Bal (100/0, 90/10, 80/20, 70/30, 60/40) karışımını belli oranlarda kullanıp nanofiber elde etmişler ve yapılan çalışmalarda bal oranı %40’dan fazla olduğunda nanofiber yapısında boncuk oluşumuna sebep olduğu görülmüştür. İlaç salınım modeli olarak PVA ve PVA/Bal (80/20) kullanılmış ve antiinflamatuvar ilaç (dexamethasone) yüklenerek elektrosprin yapılmıştır. Bu çalışmada balın doğal antibiyotik özelliklerinden faydalanılmıştır.

Aras ve Kazancı’nın yaptıkları çalışmada [7] nanofiber üretimi için iki yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemlerden birincisi elektrosprin metottur; farklı çözücülerle (THF, HAc) kolajen çözeltileri hazırlanıp elektrosprin cihazında nanofiber çekimi gerçekleştirilmiştir. İkinci metotta ise iki farklı şırınga sisteminden oluşan ‘self-

assembly' metot kullanılmıştır. SEM resimlerinden yola çıkarak "self assembly" metotla kolajenin üçlü yapısının korunduğu gözlenmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda, kolajenin üçlü yapısının ilaç taşıma sistemlerine ışık tutacağı ve yara iyileşmesine olumlu yönde katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

Literatür çalışmaları kolajenin ideal yara örtüsü oluşturulmasında kullanılabilecek en avantajlı polimer olduğunu göstermektedir.

Yara tedavisinde kolajenin avantajları aşağıda verilmiştir [15];

- Biyolojik uyumluluk
- Parçalanabilir ve emilebilir
- Hücrelerin çoğalmasını destekler
- Yumuşak doku tabanı – Biyolojik yönden parçalanabilir
- Emilme kapasitesi
- Geçirgenlik
- Osteokondüktivite
- Anjiyokondüktivite
- Düşük antijenisite

## **1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği**

Yaralar akut, kronik, eksüdalı kuru veya enfekte olabildiği gibi birkaç özelliği birlikte de bulundurabilir. Bu sebeple yaraların bakımı için tek tip yara örtüsü en iyi seçenek olmamaktadır. Yara iyileşme süreci birbirini izleyen farklı aşamalardan oluşmaktadır ve tüm bu aşamaların tedavi ihtiyacı tek tip yara örtüsüyle sağlanamamaktadır [16]. Örneğin yara sıvısı miktarının değişiklik göstermesi, her yaraya uygun olan ideal tek tip bir yara örtüsünün geliştirilmesindeki en önemli zorluktur. Güncel polimerik malzemelerden farklı özellikte olanları bir araya getirilerek hazırlanan ipek kolajen kompozit yara örtüleri bu sorunu aşabilecek bir yöntem olarak görülmektedir. Bu yaklaşım yara iyileşme sürecinin ihtiyaçlarını karşılayarak kısa sürede ve tam bir yara iyileşmesi sağlayabilir. Elbette yeni yaklaşımların klinik olarak pratiğe geçmesi zaman ve maliyet gerektirmektedir. Bu sebeple bu tez çalışmasıyla sonraki çalışmalarda yara üzerinde etkili sürekli etken

madde salınımı yapabilecek ideal özelliklere sahip polimerik sistem yeni nesil yara örtülerinin geliştirilmesi için alt yapı oluşturmuştur.

Yaraya temas tabakasının yara iyileşmesini hızlandırıcı bileşenleri içermesi çok önemlidir. Derinin yapısında olmasından dolayı, kolajenin ideal yara örtüsü oluşturulmasında kullanılabilmesi düşünülebilir.

Bu tez çalışmasında kolajenin özellikleri göz önünde bulundurularak ve etkin yara tedavisi amacıyla, epitel hücrelerin bağımsız hareket etmesine izin veren optimum koşulları sağlamak üzere yara temas tabakası kolajen bazlı tasarlanmıştır. Tasarlanan yara örtüsü hastaya en az rahatsızlık vererek en kısa sürede yara iyileşmesini gerçekleştirecek, hücrelerin yenilenmesine olanak sağlayacak ve etkin oksijen sirkülasyonuna izin verecektir. Ayrıca dengelenmiş neme sahip bu ortam, hücreler matriste hücresel büyümeyi kolaylaştıracaktır. Bunlara ek olarak nanofiber yapının yüksek gözeneklilik, spesifik yüzey alanları, hücre dışı matriksi taklit edebilme özellikleri göz önünde bulundurularak kolajen üretimi nanoboyutta elektrospun metoduyla gerçekleştirilmiştir [7].

Bu tez çalışmasının amacı derinin dermis ve epidermis tabakalarına benzer kolajen bazlı biyonanotekstillere yara örtüsü modeli olarak geliştirilmesidir. Bu amaçla öncelikle, epidermis tabakasına benzer, ipek fibroin bazlı süngerler üretilmiştir. İpek fibroin filmlerin ıslak haldeyken tıpkı insan derisi gibi yüksek oksijen geçirgenliğine sahiptir. Bu filmler yaralı bölgeyi enfeksiyona karşı korur ve vaskülarizasyonu sağlar [10]. Bu özellikleri dolayısıyla ipek, doku mühendisliğinde ve yara iyileşmesi uygulamalarına oldukça uygun bir biyomalzemedir.

Epidermis tabakasını benzeyecek şekilde ipek süngerlerin üzeri elektrospun yöntemiyle kolajen nanofiber tabakasıyla kaplanmıştır. Kolajen nanofiber, üzerine yeni hücrelerin büyüebileceği bir elyaf ağı oluşturmaya yardımcı olacaktır. Yara iyileşmesinde, nanofiber kolajen yapıların yeni cilt hücrelerini yara bölgesine çekerek, iyileşmeyi hızlandıracağı öngörülmektedir. Bu nedenle, yara temas tabakası kolajen nanofiberden oluşmaktadır. Oluşan katmanlı doku iskeleleri karakterize edilmiştir. Bu çalışmada gerçekleştirilecek olan ürünün ileride geliştirilecek yara örtülerinin temeli olması amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİ

### 2.1. Derinin Yapısı

Deri epidermis ve dermis katmanlarından oluşur.

#### 2.1.1.Epidermis

Derinin en dış tabakasıdır ve çoğunlukla keratinosit olarak isimlendirilen hücrelerden oluşmaktadır. Damarsal yapılar içermez. Vücut bölgesine göre değişmekle birlikte kalınlığı 0,5–100 mikron arasında değişmektedir (el ve ayakta kalınlığı 600 mikron). Epiderminin su içeriği kalınlığını değiştiren bir faktördür. Epidermiste keratinositler dışında Melanosit, Langerhans ve Merkel hücreleride bulunmaktadır. Keratinositler derinin %5 ini oluşturmaktadır ve hücre içinde protein yapısında keratin üretimini gerçekleştirir. En alt yani dermis ile komşu katmanda keratinositler bölünerek üst katmanlara atılmaktadır. Alt katmanlarda canlı keratinositler en üst katmanlarda ölmekte ve deriden dökülerek atılmaktadır. Bu sürece keratinizasyon döngüsü-(turnover) denilmektedir. Normal bir insanda bu süreç 28 gündür [17]. Epidermis 4 alt tabakadan oluşmaktadır;

- Stratum basale
- Stratum spinosum
- Stratum granulosum
- Stratum corneum

En alt tabaka stratum basale olarak tanımlanmaktadır. Dermisin tam üzerinde yer almaktadır. Bu tabaka derinin üst keratinositlerini yaptığı için doğurgan anlamında stratum germinativumda denilmektedir. Basal tabaka tek sıra basal hücreler (derinin kök hücreleri gibi davranmaktadır), nöral cresten kaynaklanan Merkel hücreleri (nöroendokrin hücreler olup derinin dokunma hissinin sinirlere taşımaktadır) ve bunların arasında melanositlerden oluşmaktadır.

Stratum spinosum bunlar düzensiz kenarlı keratinositlerden oluşmaktadır. Hücresel bölünme kapasiteleri sınırlıdır. Arada kemik iliği kökenli immün sistem hücreleri olan Langerhans hücreleri bulunmaktadır. Bunlar derinin ve vücudun

savunma sisemleridir. Langerhans hücreleri allerji ve ekzamların gelişiminde sorumludur.

Stratum granulosum artık bölünme yeteneği taşımayan düzleşmiş keratinositlerdir. İçlerinde keratohyalin granülleri barındırmaktadır. Bu granüllerin artması ile ilerleyen hücre dejenerasyonu ve hücre ölümü olmaktadır. Zamanla bu hücreler daha düzleşmekte ve alttaki hücrelerin çoğalma süreçleri ile derinin üst tabakalarına atılmaktadır [17].

Stratum corneum hücreleri ölü ancak biokimyasal olarak aktif hücrelerdir ve korneosit olarak tanımlanmıştır. Deriyi ve vücudumuzu dış ortamda korurken deriden su kaybını kontrol etmektedir.

### **2.1.2. Dermis**

Epidermanın altındadır ve girintili çıkıntılı bir görünüme sahiptir. “Papilla tabakası” denen bu bölüm, damarca çok zengindir. Burada ince damarlar ağ yaparlar. Çoğunlukla bağ doku hücreleri ve ekstraselüler matriks (ecm) elemanlarından oluşur. Bu elemanların başında da deriye esneklik mekanik özellik sağlayan kolajen ve elastin fiberler gelmektedir. Ayrıca deriyi besleyen kan damarlarında burada bulunur. Dermanın diğer katları dayanıklı olup içinde kıl kökleri, kılları dikleştiren kaşlar, yağ ve ter bezleri ile duyu cisimcikleri vardır [17].

## **2.2. Derinin Görevleri**

- Vücudu korumak

Koruyuculuğu, bedeni örtmesinden ve dayanıklı olmasından ileri gelir. Üzerindeki kıllar ve yağ tabakası ile sığa ve soğuga karşı korunma işini kolayca görür.

- Ter ve yağ atmak

Derinin derması içinde bulunan ve bir yumak şeklinde olan ter bezleri, içinde tuz ve üre bulunan teri salgı halinde dışarı göndermekle vücudun ısı düzeninde önemli rol oynarlar.

- Duyu organı olarak hissetmek

Deride bulunan duyu cisimleri dokunma, ısı, acı meydana getiren fiziki olayları duyu sinirlerine götürürler.

- Emici olmak

Derinin emici özelliği de vardır. Temizlenmiş bir deriye sürülen çeşitli ilaçlar, bir süre sonra kana geçerler [17].

### **2.3. Yara Oluşum Sebepleri**

İnsanların organlarında meydana gelen hasar ya da stres faktörüne bağlı olarak deride yaralar oluşur. Hasar dışında aşağıdaki sebeplerden dolayı yaralar oluşabilir.

- Şeker hastalığı

Şeker hastalığı hem beslenme şekli hem de deride çıkan yaralar sebebiyle zor bir rahatsızlıktır. Şeker hastalığında daha çok insanların kan seviyelerinde büyük bir farklılık görülür. Bu kan seviyesindeki farklılık nedeniyle deride hücre ölümü gerçekleşir. Hücre ölümünün yaşandığı alanlarda yaralar ortaya çıkar. Hastalık, damar yapısına zarar vermesi nedeniyle yara oluşmasını kolaylaştırır. Şeker hastalarında bakteri ve mantarlar daha kolay enfeksiyon oluşturdukları için yara iyileşmesi de gecikir. Bu yaralar kolay kolay kapanmaz ve tedaviye cevap vermez.

- Kullanılan İlaçlar

Çoğu insan farklı hastalıklar sebebiyle ortaya çıkan iz, leke ya da hastalığın görsel belirtilerini kapatmak için ilaçlar kullanır. Bu ilaçlar deride bazı yaraların ortaya çıkmasına neden olur.

- Alerjik Durumlar

Organlarda meydana gelen hasar ya da alerjik herhangi bir durum ilk olarak deriyi etkiler. Deride bazı yaraların ortaya çıkmasındaki başka bir sebep ise alerjik durumdur. Bunun birçok sebebi olabilir. Bazı insanların yiyeceklere, içeceklere ya da polenlere karşı alerjisi olabilir. Bu alerjik durum çok güçlü bir seviyeye geldiği zaman

deride yaraların oluşmasına neden olabilir. Alerjik durum ortaya çıktığı zaman ilk olarak alerji testinin kişiye uygulanması gerekir. Kişinin hangi maddeye karşı alerjisi varsa, onu tüketmemesi ya da önlem alması gerekir. Gerekli önlemler alındığı zaman derideki yaralar daha kısa sürede ve kolay bir şekilde ortadan kalkar.

- Cilt Kanseri

Deride yaraların çıkmasının bir diğer sebebi cilt kanseri gibi ciddi bir hastalık olabilir. Cilt kanseri belirtileri arasında deride ortaya çıkan yaralar yer alır. Günümüzde çok fazla artış yaşanan cilt kanseri iyi ya da kötü huylu olabilir. İyi huylu olan kanser daha çok birkaç ay içerisinde iyileşir ve ortaya çıkan yaralar yok olur [18].

## 2.4. Yara İyileşme Basamakları

Yara iyileşmesi, sadece yara bölgesiyle sınırlı değil, tüm sistemleri barındıran hücresel, fizyolojik ve biyokimyasal olaylar bütünüdür. Bütün yaralar aynı temel prensiplerle iyileşirler. Yara iyileşmesi temel olarak 3 safhada gerçekleşir.

- İnflamasyon
- Proliferasyon
- Maturasyon

- İnflamasyon (1-5 gün)

Doku zedelenmesi birçok kimyasal mediatör ve hücreler arası bilgi aktarımını sağlayan sitokinlerin salınımına neden olur. Bu maddeler aktivasyon ve inhibisyon yaparak birçok kompleks olayı başlatıp, hemostaz ve iyileşmeyi sağlarlar. Damar duvarı zedelendiğinde trombositler açılan damar duvarındaki kolajenle temas ederek aktive olurlar. Böylece hem damar duvarına hem de birbirlerine yapışırlar. Tromboksan A2'nin aktivasyonu ile bu trombositler geçici pıhtı oluşturarak başlangıçta kanamayı azaltırlar. Daha sonraki aşamada trombositlerden salınan serotonin ve diğer vazokonstriktör ajanlarla vazokonstriksiyon gelişerek kanama azalır [19]. Pıhtılaşma döngüsü trombositler, damar duvarı hasarı ve tromboplastin gibi koagülasyon faktörleri ile aktive olur. Bu döngüde her basamak sonunda oluşan son ürün bir sonraki basamağı aktive eder. Sonuçta fibrin oluşarak trombositlerle oluşan

gevşek pıhtı stabil hale gelir. Başlangıçta gelişen bu vazokonstriksiyon, prostaglandin ve kompleman sisteminin aktivasyonu ile yerini yaygın vazodilatasyon ve inflamasyona bırakır. Vazodilatasyonla birlikte vasküler permeabilite de artar ve hücreler arasında inflamatuvar eksuda toplanır. Birçok kemotaktik faktörün etkisiyle nötrofil ve monositler sahaya toplanırlar. Bu hücreler sahaya geldiğinde lokal çevresel faktörlerin etkisiyle aktive olurlar. Lökositler yaradaki bakterilerle savaşırken, monositler de makrofaja dönüşerek, çeşitli büyüme faktörlerini ve sitokinleri salgırlar. Makrofajlar bakterileri öldürüp fagosite ederken, ölü doku ve lökositleri de temizlerler. Yaralanmadan 72 saat sonra hâkim olan hücreler makrofajlardır. Bu arada anjiogenik büyüme faktörü salınımıyla yeni damar oluşumları başlar. Granülasyon dokusu gelişimi yeni damar oluşumuna bağlıdır. Yeni damarlar oluştuğça, oksijenli kan yara bölgesine ulaştıkça saha daha az hipoksik olur ve beslenmesi düzelir. Fibroblastlar yeni damarların etrafında kolajen yaparlarken, ürettikleri proteoglikanlarla kolajenlerin birbirine bağlanmasını ve daha esnek olmalarını sağlarlar. Ayrıca ürettikleri fibronektinle kolajen ve diğer hücreleri bir arada tutarlar. Granülasyon dokusu oluşumu yaklaşık 5. günde başlar. Bu aşamanın başlaması için iyi bir oksijenasyon ve beslenme şarttır. Bu aşamada vitamin C, prolinin hidroksiproline dönüşümü için şarttır [20].

- Proliferasyon ve Skar Gelişimi Safhası (5-14 günler)

Fibroblastlar kolajen liflerini üretirler. Kolajen de yaranın kontraksiyonunu ve gerilme kuvvetini oluşturur. Bu safhada epitelizasyon ve kontraksiyon gelişir. Doku hasarı çok büyük doku kaybı ile beraberse rejenerasyon yara kenarlarından başlar. Epitel granülasyon dokusunun üzerinden ilerler. Migrasyon epitellerin karşılıklı bir araya gelmesine kadar devam eder. Daha sonraki aşama kontraksiyondur. Yara kontraksiyonu ile yara büyüklüğü azalır. Bu olay çoğunlukla miyofibroblastlarca gerçekleşir. Granülasyon dokusu oluşup epitelizasyon tamamlanınca proliferasyon aşaması sona erer [20].

- Maturasyon Safhası (14. günden sonra):

Proliferasyon safhasından sonra başlar ve yıllarca sürer. Bu kolajen liflerinin yeniden şekillenmesidir (remodeling). Bu aşamada yumuşak ve jelatinöz yapıdaki tip III kolajen zamanla daha sıkı olan tip I kolajene dönüşür. Kontraksiyonun bir kısmı bu

aşamada gelişir. Yara yaklaşık 6 hafta sonra başlangıçtaki gücünün %95 ini kazanır [20], [21].

## **2.5. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

### **2.5.1. Dokunun Hasara Uğraması**

Cerrahi prosedürde insizyonun yapılmasından yaranın suture edilmesine kadar işlemin her aşamasında asıl göz önüne alınması gereken; dokuya uygulanan cerrahi travmanın en aza indirilmesinin daha hızlı bir yara iyileşmesini desteklediğidir.

### **2.5.2. Kanama Kontrolünün Sağlanması ve Yaranın Debridmanı**

Devamlılığı bozulan damarlardan ya da aşınan yüzeylelerden sızıntı şeklinde gelen kanamalar cerrahın alttaki dokuları görmesini engellemektedir. Yaranın kapatılmasından önce tam bir kanama kontrolü sağlanması işlem sonrası hematom oluşmasını engeller. Yara alanında kan ya da serum birikmesi mikroorganizmaların büyümesi için ideal bir ortam oluşturmakta ve ek olarak üzerinde bulunan dokuların nekroze olmasına sebep olabilmektedir. Kanama kontrolünü sağlamak amacıyla uygulanan teknikler sonraki dönemde yara iyileşmesinin süresinin uzamasına neden olacak şekilde agresif olmamalıdır. Ameliyat sonrasında yara içerisine dren yerleştirilmesi ya da yara alanı içinde ölü boşluk kalmasını önlemek amacıyla basınç uygulaması yapılabilmektedir. Devitalize dokular ya da yara içerisindeki yabancı cisimler bakteriler için barınak olurken aynı zamanda bakterilerin bağışıklık sisteminden korunmasını da sağlamaktadır. Nekrotik dokudaki ölü hücreler ve hücre artıkları konak savunmasını azaltmakta ve enfeksiyon oluşumunu desteklemektedir. Nekrotik doku varlığı uzamış inflamatuvar cevaba sebep olurken aynı zamanda yara iyileşmesinde mekanik bir engel teşkil ederek yara yüzeyinin epitelizasyonunu sınırlamaktadır. Bu yüzden cansız dokular ve yabancı cisimler yaradan uzaklaştırılarak, mikroorganizmaların, toksinlerin ve yara iyileşmesini engelleyen diğer içeriklerin sayıca azalması sağlanmalıdır [22].

### 2.5.3. Dokunun Kanlanması

Doku kanlanmasının zayıf olması, iyileşmenin önündeki ana engellerden birisidir. [23]. Oksijenin varlığı; prolin ve lizinin hidrosilasyonu, pro-kolajen lifler arasında çapraz bağların kurulması, kolajenin taşınması, fibroblast ve epitel hücrelerinin çoğalması, lökositlerin etkili bir şekilde işlev yapabilmesi, angiogenez ve diğer süreçler için zorunludur. Yara kenarlarındaki göreceli hipoksi fibroblastik cevabı arttırmakta, tamir için gerekli olan diğer hücresel elemanların da yara alanına göçüne yardım etmektedir. Bununla beraber dokuda çok düşük olan oksijen seviyesi enfekte edici bakteriler tarafından üretilen laktik asitin dokudaki pH'ı düşürmesi ile birlikte yara iyileşmesinin bozulmasına katkıda bulunmaktadır. Proteazlar ve glikozidazların salınımını hücre lizisi izlemekte ve hücre dışı matrikste yıkım gerçekleşmektedir [24].

Bozulan lokal dolaşım besinlerin, oksijenin ve antikorların yara alanına taşınmasını da aksatmaktadır. Yara gerilimi üzerinde etkili olan kolajenin sentezi yara alanındaki oksijen dağılımıyla ilişkilidir. Çoğu iyileşme problemi diyabet, radyasyona maruziyet, kılcal damarlardaki ateroskleroz, kronik enfeksiyonlar ve bozulmuş kardio-pulmoner duruma bağlı olarak lokal doku kanlanmasının bozulması sonucunda oluşmaktadır [22]. Cerrahi işlem sonrası yara dokusunun mikro dolaşımı bakteriyel kontaminasyona karşı direnci belirler. Kaba manüplasyon, koter ya da dokunun uzun süreyle hava ile kurutulması, dokudaki dolaşımın zayıflamaya eğilimli olması ve enfeksiyona yatkınlık dokuda iskemi meydana getirebilmektedir. Benzer şekilde, suturen sıkı olması ya da uygunsuz bir yerden atılması, flep tasarımının kötü olması, hipovolemi, anemi ve periferik damarsal hastalıklar da doku iskemisine neden olarak yara iyileşmesini olumsuz yönde etkilemektedir [25], [26].

### 2.5.4. Diyabet

Birçok araştırmada hipergliseminin diyabetli hastalarda yara enfeksiyonlarının daha sık görülmesine neden olduğu belirtilmiştir. Dokudaki hiperglisemi; kemotaksis ve fagositozu içeren nötrofil ve lenfosit fonksiyonlarını olumsuz etkileyerek yara iyileşmesinin bozulmasına yol açmaktadır [27]. Diyabeti kontrol altında olan hastaların yara enfeksiyon riski sağlıklı bireyler kadar olmaktadır. Kontrol altında olmayan kan glikoz seviyesi kırmızı kan hücrelerinin geçirgenliğini azaltarak ve yara yüzeyinde kritik öneme sahip kılcal damarlardaki kan akımını bozarak, iyileşen yarada

oksijen ve besin eksikliğine sebep olmaktadır. Kılcal damarlarda tıkanıklığa yol açan bu durum dokuda iskemi ve iyileşmenin bozulması ile sonuçlanmakta, yara enfeksiyonlara karşı korunmasız hale gelmektedir [22], [28].

### **2.5.5. Bağışıklık Sistemi**

İyileşme cevabını yöneten ve yarayı enfeksiyona karşı koruyan bağışıklık sistemi yara yeri iyileşmesini etkileyen önemli bir faktördür. Bağışıklık sistemini değerlendirmede önemli bir kriter total lenfosit sayısıdır. Hafif lenfosit eksikliğinde değer 1200-1800 hücre/ mm<sup>3</sup> arasında olmaktadır. Bu değer 800 hücre/mm<sup>3</sup> olduğunda ciddi bir total lenfosit eksikliği göz önünde bulundurulmalıdır. HIV ile enfekte hastalarda bağışıklık cevabında düşüş görülürken, hastalığın ilerleyen safhalarında hastalar bağışıklığı baskılayıcı tedavi olarak belli aralıklarla yüksek doz steroid kullanırlar [29]. Siklosporin gibi bağışıklık sistemini baskılayıcı yeni ajanlar olmasına rağmen; bu hastalarda yara iyileşmesine görünür bir etkisi olmamıştır. Diğer ilaçlar da iyileşme sürecini geriye çekebilir, bağışıklık sisteminin cevabını ve hücre metabolizmasını değiştirebilir. Dışarıdan verilen kortikosteroidler; prolil hidrosilaz ve lizil oksidaz aktivitesini azaltmakta, fibroplaziyi, kolajen ve yeni damarların oluşumunu baskılamaktadır. Ayrıca epitelizasyon ve yara kontraksiyonu da bozulmaktadır. Glikokortikoidlerin inhibitör etkisi eş zamanlı olarak A vitamini verilerek azaltılabilir [30].

### **2.5.6. Radyasyona Maruz Kalma**

Radyasyona maruz kalan bölgede cerrahiye veya travmatik bir yaralanmayı takiben iyileşmenin komplikasyonlu olması beklenmektedir. Bu tip durumlarda yaraların açılması ile sık karşılaşılmaktadır. Yaralar yavaş iyileşmekte veya tam iyileşmemektedir. Yaralanmadan bir hafta önce uygulanan radyoterapi, yara gerilim gücünü %50 civarında azaltmaktadır [31].

### **2.5.7. Hiperbarik Oksijen Terapisi**

Dokulardaki parsiyel oksijen basıncı 5 mm/Hg ile 20 mm/Hg arasında olup dokudaki düşük oksijen basıncının neden olduğu anaerobik hücrel metabolizma dokuda laktat artışına ve pH'da düşmeye neden olmakta ve yara iyileşmesini olumsuz etkilemektedir [32]. HBO terapisi, kanda çözülmüş oksijen miktarını ve doku içine oksijen difüzyonunu arttırmaktadır. Buna uygun olarak oksijen difüzyon aralığı 3-4 kat artarak, yaradaki parsiyel oksijen basıncı 800-1100 mm/Hg değerine ulaşmaktadır. Bu terapi; fibroblast ve damar endotel hücrelerinin büyümesini uyarmakta, dokudaki damarlanmayı ve lökositlerin öldürme yeteneklerini de arttırmaktadır [22].

### **2.5.8. Yaş**

Yara iyileşmesi genellikle gençlerde daha hızlı gerçekleşmekte, yaşlılarda daha uzun sürmektedir. Yaşlılarda iyileşme cevabındaki bu azalma; doku metabolizmasındaki yavaşlamanın sonucu olarak meydana gelmektedir. Serbest oksidatif radikaller birikmeye devam eder ve bu durum deri ya da mukozanın bütünlüğünden sorumlu olan dermal enzimler için zararlıdır. Ek olarak rejyonel damar desteğinin dışarıdan bir etki ile bozulması ya da dolaşım yetmezliği kanlanmanın zayıf olmasına neden olmaktadır [22].

### **2.5.9. Beslenme**

Yara iyileşmesi için enerjiye ve anabolik olaylara gereksinim vardır. Beslenme bozukluğu olan hastalarda yara iyileşmesi tam olmaz, gecikir ve bu kişilerde enfeksiyona karşı savunma mekanizmaları yeterli olmadığından yara yerinde enfeksiyon gelişme riski yüksektir [33]. Proteinlerin; RNA ve DNA sentezi, kolajen ve doku formasyonu, bağışıklık sistemi, epidermal büyüme ve keratinizasyondaki rolleri nedeniyle yara iyileşmesinin her aşamasında etkisi vardır. Bu nedenle yeterli protein alımı yara iyileşmesi için gereklidir [34]. Amino asitlerin de yara iyileşmesindeki rolleri çok önemlidir. Özellikle metionin, histidin ve arjinin gibi amino asitler hayati önem taşımaktadırlar [22]. Karbonhidratlar; yara iyileşmesindeki yüksek metabolik aktiviteyi sürdürmek için gereken enerjiyi sağlar. Fibroblast

proliferasyonu glikoz eksikliğine karşı duyarlıdır. Yağlar; hücre sentezinde, özellikle de hücre membranı sentezinde önemlidir. Proliferasyon ve diğer hücrel aktiviter için gereken enerjiyi sağlar. Bazı vitaminler ve mineraller yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır. Magnezyum, bakır, kalsiyum, demir ve çinko kolajen sentezinde etkilidir [35]. Vitamin A fibroblast oluşumunu, kolajen liflerin çapraz bağlanmasını, epitelizasyonu ve steroid kullanımı sebebiyle uzamış yara iyileşmesini tekrar uyarmaktadır. Vitamin C; demir ve oksijenle birlikte kolajen sentezi sırasında, lizin ve prolinin hidrolizasyonu ile nötrofillerdeki süperoksit radikalinin üretimi için gereklidir [31]. Eksikliği; kolajen sentezinde azalmaya, anjiogenezde düşmeye ve hemorajide artmaya yol açmaktadır. Bu sebeple C vitamini eksikliği olan kişiler yara iyileşmesinde enfeksiyona daha yatkındırlar. B vitaminleri grubu ve kobalt; antikor oluşumunda, beyaz kan hücrelerinin fonksiyonlarında ve bakteri direncinin sağlanmasında zorunlu kofaktörlerdir [36].

Yara iyileşmesini etkileyen birçok lokal ve sistemik faktör bulunmaktadır. Lokal faktörler; yara bölgesinde enfeksiyon, yetersiz kan dolaşımı, hipoksi, doku nekrozu, yabancı partiküllerin varlığı, tekrarlayan travmalar ve yara bölgesinin harekeliliği şeklinde sıralanabilir. Sistemik faktörler ise beslenme yetersizliği, diyabet, kronik renal yetmezlik, immün bağışıklık sendromu gibi hastalıklar, hastanın yaşı ve genetik yapısı gibi faktörler [37]-[39].

## **2.6. Yara İyileşmesinde Kullanılan Modern Yara Örtüleri**

Modern Yara Örtüleri hastaya ve çevre koşullarına bağılı olarak pek çok faktörden etkilenir ve her yara kendine özgü özellikler taşır. Bir yara akut ya da kronik gibi bir sınıfa dahil edilse bile ancak kendi gidişatı ile karakterizedir çünkü hem hastanın koşulları hem de yaralar değışkendir [39]. Bu sebeple tek tip bir yara örtüsü en iyi seçenek olmayabilir. Örneğın yara yoğun eksüdalıysa, drenajı emebilecek bir yara örtüsü kullanmak faydalı olacaktır. Eğer yara kuruyrsa, ortamın nemli kalmasını sağlayacak bir ürün seçmek daha anlamlıdır [40]. Modern yara bakımı anlayışında esas olan, yaranın doğru değılendirilmesi, gereksiniminin belirlenmesi ve yaranın nemli tutulmasıdır. Aynı zamanda yaranın bakteri ve yabancı maddelerden korunması, fazla sızıntının yarıdan uzaklaştırılması, yara bölgesinde gaz alışverişine izin verilmesi ve yara çevresindeki sağılıklı dokulara zarar verilmemesi de ideal yara bakım ürününden

beklenen özellikler arasındadır. Yaranın durumuna ve öncelikli ihtiyacına göre en uygun yara örtüsü seçilmelidir [21]. Yapılan çalışmalarda, yara iyileşmesinin geleneksel anlayışın aksine, nemli bir ortamda daha hızlı gerçekleştiği belirtilmektedir. Nemli ortamda yara iyileşmesi sağlayan örtücü özellikteki modern örtüler; yara dehidrasyonunu önleyerek dokunun canlılığını ve hücrelerin çoğalma yeteneğini korumakta, anjiogenez hızlandırmakta ve yara iyileşmesinde aktif rolü olan büyüme faktörlerinin etkinliğini artırmaktadır. En önemli avantajları ise enfeksiyon sıklığını ve ağrıyı azaltmalarıdır [38], [39].

## **2.7. Modern Yara Örtülerinin Sınıflandırılması**

Yara örtüleri değişik şekillerde sınıflandırılmaktadır. Bir kısım araştırmacıya göre yara örtülerini etkinliklerine göre sınıflandırma; pasif örtüler, interaktif örtüler ve biyoaktif örtüler şeklinde yapılmaktadır [41]. Pasif örtüler; bilinen gazlı bez ve sargı bezi şeklindeki yarayı sadece kapatarak koruyan ve iyileşme sürecinde aktif etkisi olmayan ürünlerdir. İnteraktif ürünler ise polimerik film ve köpükleri içeren, şeffaf görünümde, nem ve gazlara karşı geçirgen örtülerdir. Son grup biyoaktif ürünler, diğer bir deyişle aktif yara örtüleri ise hidrokolloidler, aljinatlar, kolajen ve kitozan gibi polimerlerden elde edilirler. Taşıdıkları biyoaktif maddeleri yaraya salarken kendi özellikleri sayesinde de yara iyileşmesinde aktif rol oynarlar [38], [41]. Geçmişte yara bakımı için değişik absorpsiyon kapasitesinde doğal ve sentetik bandajlar, hidrofil pamuk, sargı bezi ve gazlı bez gibi geleneksel yara örtücüleri kullanılmaktaydı. Bu örtülerin öngörülen işlevi yara eksüdasının buharlaşmasına olanak verecek şekilde yarayı kurutarak bakterilerin yara ortamında üremesini engellemektir [42]-[43]. Ancak günümüzde, yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin sitokinlerin ve ekstraselüler matriksin aktif rol oynadığı, iyileşmenin dinamik bir süreç olduğu ve geleneksel yara örtücülerinin, yaraların etkin olarak iyileşmesinde yeterli olmadığı anlaşılmıştır. Bu gibi sebeplerle modern yara örtüleri geliştirilmektedir. Yaranın fiziksel ve kimyasal koşullarına hızlı cevap verebilen bu yeni yara örtülerinin etkinlikleri farmasötik ve klinik çalışmalarla da desteklenmektedir [44]-[46].

Tablo 2.1: Modern Yara Örtülerinin Sınıflandırılması.

<i>YARA ÖRTÜLERİNİN SINIFLANDIRILMASI</i>	
Üretildikleri Materyale göre	Hidrokoloidler
	Aljinat Örtüler
	Hidrojeller
Fiziksel Şekillerine Göre	Köpükler
	Şeffaf Filmler
Etken Madde İçeriğine Göre	Antibakteriyel Etken Madde İçerenler
	Büyüme Faktörü İçerenler
	Vitamin ve Mineral İçerenler
En Güncel Yara Örtüleri	Bioaktif Yara Örtüleri
	Doku Mühendisliği Ürünleri
	Greft ve Greft Eşdeğerleri

Tablo 2.2: Yara İyileşme Evreleri ve Bu evrelerde Kullanılacak Yara Örtü Tipleri.

<b>Yara Evreleri</b>	<b>Yapılacak İşlemler</b>	<b>Kullanılacak Ürünler</b>
<b>İnflamasyon Evresi</b>	Ölü doku ve kirliliğin temizlenmesi Enfeksiyonun elimine edilmesi Ölü boşluğun minimuma indirilmesi Salgının Emilmesi	Salgı emiciler Aljinatlar Köpükler
<b>Çoğalma Evresi</b>	Ölü boşluğun minimuma inmesi Salgının emilmesi Ortam neminin kontrolü Isı izolasyonu Bakteri izolasyonu-koruma	Hidrokoloid Jeller Hidrojeller
<b>İyileşme Evresi</b>	Tedavi edilen yaranın travmadan korunması	Thin Hidrokoloid Köpükler Filmler
<b>Yara İyileşmesi</b>	Deri ve dokunun yeniden oluşumu	

## **2.8. Modern Yara Örtülerinden Beklenen Özellikler**

### **2.8.1. Sıvı Kontrolünün Sağlanması**

Yara örtüsü, bakteri penetrasyon riskini azaltmak ve bandajdan yara sıvısının sızmasını önlemek için yara salgısını absorblayabilmeli ve kuru yaraya gerekli nemi sağlayabilmelidir. Yaralı alanda epidermal tabakanın kendini hızla yenileyebilmesi için yaranın yeterince nemli olması gerekmektedir. Yeterli nem; yarada vaskülerizasyonu, makrofajların fagositik işlevini artırır [47], [48].

### **2.8.2. Koku Giderilmesi**

Yara çoğu zaman hoş olmayan bir koku üretir. Yara örtüsü bu kokuyu kontrol altına alabilmelidir.

### **2.8.3. Mikrobiyal Kontrol**

İltihaplı yaralar için, bakterilerin uygun metotlarla kontrol altına alınması önem taşır.

### **2.8.4. Fiziksel Bariyer**

Yara örtüsü, yara yüzeyinin atmosferden ayırarak bakteri bulaşmasını ve dokunun zarar görmesini engellemelidir. Ayrıca, yarayı travmalara karşı korumalıdır.

### **2.8.5. Boşluk Doldurucu**

Derin oyuklu yaralarda, yaranın dolgu materyalleriyle açık tutulması önemlidir. Böylece; yara iyileşme süreci dokunun altından üstüne doğru gerçekleşebilmekte ve tüm yara boşluğunun iyileşmeden yaranın gereksiz yere kapatılması önlenmektedir.

### **2.8.6. Yaradaki Yabancı Cisimler, Hasarlı Ve Enfekte Olmuş Dokuların Tamamen Temizlenmesi (Debridman)**

Ölü çürümüş dokuların uzaklaştırılması, normal yara iyileşme sürecini kolaylaştırmaktadır. Yara örtüleri uygun nem, pH, sıcaklık ve diğer ideal olan koşulları sağlayarak yaradaki yabancı cisimlerle, hasarlı ve enfekte olmuş dokuların tamamen temizlenmesini/çıkarılmasını hızlandırabilmektedir.

### **2.8.7. Kanama Etkisinin Sağlanması**

Ağır cerrahi yaralar ve travmatik yaralarda, kan kaybının önlenmesi için kanamanın mümkün olduğunca hızlı bir şekilde durdurulması önem taşır. Uygun yara örtüleri kan pıhtılaşmasına yardımcı olabilmektedir.

### **2.8.8. Düşük Yapışkanlık Özelliği**

Yara örtüsünün tamamının veya bir kısmının yara yüzeyine yapışması en önemli sorunlardan birisidir. Çoğunlukla yara örtüsünün yara yüzeyine yapışması, yara örtüsünün çıkarılması esnasında travmaya neden olmaktadır. Düşük yapışkanlık özelliği gösteren yara örtüleri, yara örtüsünün yara yüzeyine yapışmasını azaltabilmekte veya ortadan kaldırabilmektedir.

### **2.8.9. Yara İzinin Giderilmesi**

Büyük yaralarda, yara izi oluşumu hastalar için estetik bakımından önemli bir sorundur. Yara izi oluşumunu azaltabilen veya önleyebilen yara örtüleri, hastaya büyük yarar sağlayabilmektedir [50].

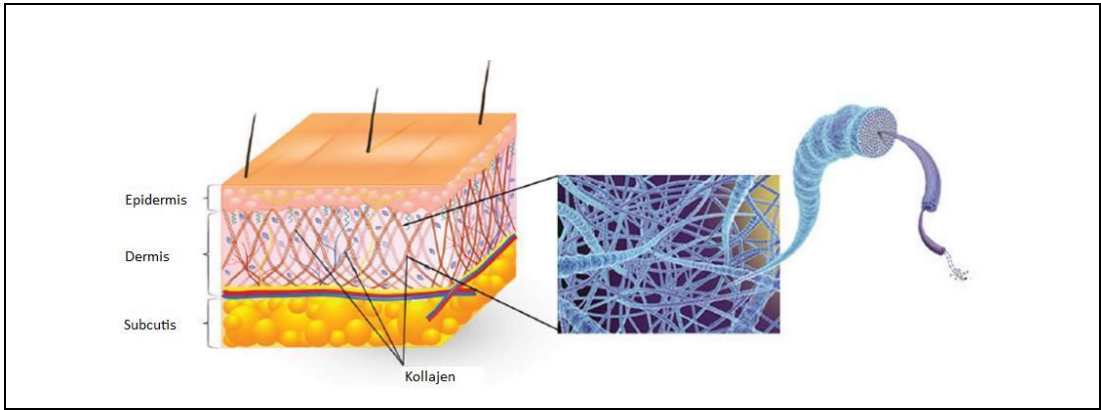
### **2.8.10. Metal İyon Metabolizması**

Demir, çinko, bakır, magnezyum ve selenyum gibi birtakım metal iyonları hücrel aktivitede önemli rol oynamaktadır. Herhangi bir metal iyonunun eksikliği, yara iyileşmesini geciktirmektedir. Sistemik olarak bu metal iyonlarının alınımından başka, uygun yara örtüleri kullanılarak da bu sorun giderilebilmektedir [50].

## 2.8.11. Yara İyileşmesinin Hızlandırılması

Yara iyileşmesi, kompleks fizyolojik bir süreçtir. Yara örtüleri, çoğunlukla yara iyileşme sürecinin hızı üzerinde küçük bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte; birtakım etkenlerle kombine edildiğinde uygun yara örtüsü kullanımı yara iyileşme sürecini hızlandırabilmektedir [49], [50].

## 2.9. Kolajenin Özellikleri

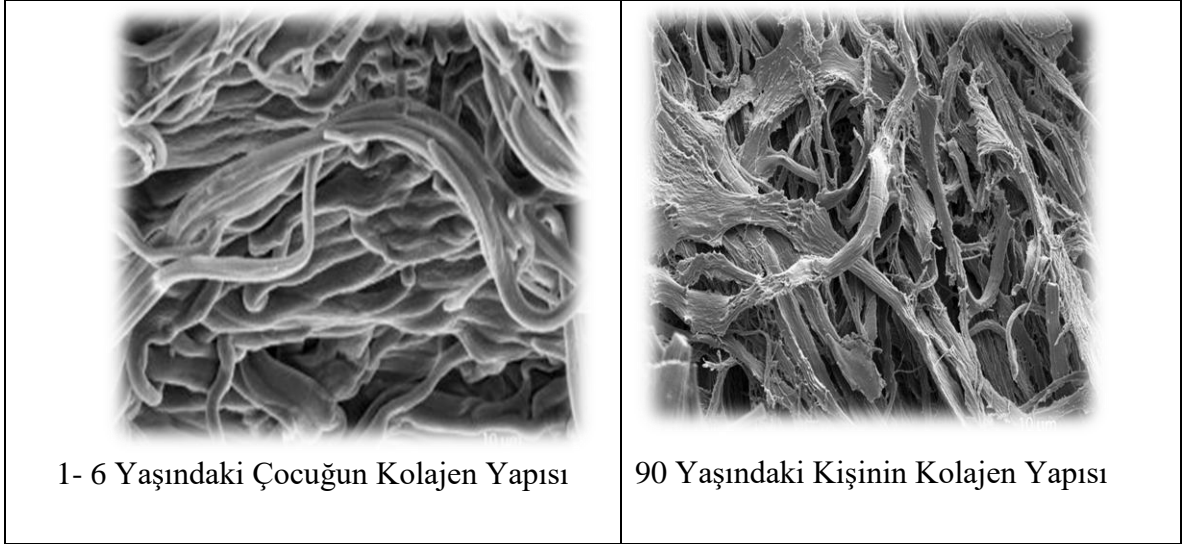


Şekil 2.1: Kolajen yapısı.

Kolajen, cilt, kemik ve vücuttaki bağ dokusunda bulunur. Yapısal destek, mukavemet ve elastin ile birlikte elastin derecesi sağlar. Özellikle, kolajenler, vücut dokularının fiziksel özelliklerini belirleyen karmaşık bir makromoleküller ağı olan hücre dışı matriste bulunur.

Cildin orta katmanında (dermis) kolajen, üzerine yeni hücrelerin büyüyebileceği bir elyaf ağı oluşturmaya yardımcı olur. Ölü cilt hücrelerinin yenilenmesi ve tamiri için kolajen gereklidir. Bazı kolajenler vücuttaki böbrekler gibi narin organlar için koruyucu örtüler olarak da işlev görürler.

Kolajen çeşitli hücreler tarafından salgılanır, ancak öncelikle bağ dokusu hücreleri tarafından salgılanır.



Şekil 2.2: Farklı yaşlardaki kolajen yapı örnekleri.

Kolajen sentezi 40 yaş civarında azalmaya başlar ve kadınlarda menopozdan sonra kolajen sentezinde dramatik bir düşüş görülür. 60 yaşına gelindiğinde tipik olarak kolajen üretiminde belirgin bir düşüş olur. Azalan kolajen sentezi, cildin yapısal bütünlüğünü azaltır. Ciltte sarkma, çizgi ve kırışıklık oluşumu ve eklemlerdeki kıkırdağın zayıflamasına yol açar.

### 2.9.1. Kolajen Sentezi

Tüm biyolojik moleküller gibi kolajen de hücre içinde sentezlenir. Ancak bu devasa protein, sentezden sonra pek çok aşamadan geçer ve değişime uğrar. Kolajen sentezlendikten sonra lif, ağ veya kullanılacağı diğer amaçlara göre yeniden düzenlenir. Fazlalıklar kesilir ve zincirlere yeniden şekil verilir. Ayrıca zincirler arası etkileşimi artırmak için bazı eklemeler de yapılır. Kolajen, mekanik olarak bilinen en dayanıklı biyolojik moleküldür. Sahip olduğu dayanıklılık yapısal organizasyonundan kaynaklanır. Kolajen zincirleri arasında kolajene özgü çapraz bağlar vardır. Bunlar kolajene ek dayanıklılık sağlar. Topuğun arkasında yer alan aşil tendonda olduğu gibi, gerilmeye karşı dirençli olan kolajen liflerinde zincirler arası çapraz bağ sayısı hayli fazladır. Bağların oluşumunu sağlayan özel biyolojik katalizörlerin (enzimler) çalışabilmesi için vitaminlere (C vitamini) ve eser elementlere (bakır) gerek vardır. C vitamini eksikliğinde kolajen sentezi baskılanır ve azalan kolajenin yerine yenisi yapılamaz. 18. yüzyıla kadar denizcilerin önemli hastalıklarından biri de diş eti

kanamasıyla kendini belli eden iskorbüt hastalığıydı. Ölümcül olan bu hastalıkta C vitamini eksikliği vardır. C vitamini eksik olunca kolajen liflerinin arasında ki çapraz bağlar oluşmaz ve sonuçta kolajen kendisinden beklenen yapısal işlevleri yerine getiremez. Damar duvarlarındaki en önemli yapılardan biri de kolajendir. C vitamini eksikliği nedeniyle yapısı bozulan damar duvarlarındaki sorunların kanamaya yol açması doğaldır. İskorbütte sadece damar duvarında değil, yara iyileşmesinde de sorunlar görülür ve kolajenin bulunduğu pek çok başka doku da etkilenir. İskorbüt, sağlıklı kolajen için sağlıklı beslenmenin ne kadar önemli olduğunu gösteren iyi bir örnektir.

## **2.9.2. Kolajen Tıbbi Kullanımı**

Kolajen rezorbe edilebilir (parçalanabilir ve vücut tarafından asimile edilebilir), işlevsel olarak çeşitlidir ve doğal olarak oluşur.

### **2.9.2.1.Yara Sargıları**

Yara iyileşmesinde, kolajen yeni cilt hücrelerini yara bölgesine çeker, iyileşmeyi hızlandırır ve yeni dokunun gelişimi için bir platform sağlar. Bu nedenle, kolajen sargılar, aşağıda belirtilen bazı yaraların iyileşmesine yardımcı olmak için kullanılır. Kronik iyileşmeyen yaralar, granülasyon veya nekrotik yaralar, kısmi ve tam yaralar, ikinci derece yanıklar. Kollajen enjeksiyonları aynı zamanda cildin dış hatlarını iyileştirebilir ve çöküntüleri doldurabilir. Kollajen, yüzdeki çeşitli çizgileri, kırışıklıkları ve keskin olmadığı sürece yara izlerini kaldırmak için kozmetik olarak da kullanılabilir.

### **2.9.2.2. Osteoartrit Tedavisi**

Kolajen takviyeleri veya formülasyonları, osteoartrit tedavisinde faydalı olabilir. Bazı hastalarda bir miktar ağrı azalması sağladığı tespit edilmiştir.

### 2.9.2.3. Cilt Canlandırma

Kremler ve tozlar dahil olmak üzere kolajen içeren birçok ürün, cildi canlandırmak için kullanılır. Ancak, bu ürünlerin vücuttaki kolajen seviyelerini yükseltmenin yolları olarak pazarlanmasına rağmen, kolajen molekülleri deriden absorbe edilemeyecek kadar büyüktür.

Bu ürünlerin, buldukları yerlerde sağladıkları faydalar, muhtemelen nemlendirici etkilere bağlı olabilir, ancak cildi güçlendirmez veya deride kolajen konsantrasyonunu doğrudan arttırmazlar [51]-[53].

## 2.10. İpek Fibroinin Özellikleri

İpek fibroin, ~ 350 kDa ağır zincir ve ~ 25 kDa hafif zincir polipeptitlerinden oluşan, yüksek düzeyde çözünmez bir proteindir. Bu zincirler disülfid bağları ile çapraz bağlanır. Mekanik stabilite, sulu veya organik çözücü işlenebilirliği, kimyasal modifikasyon yeteneği, vücuttaki yavaş degradasyon oranı ve üretim sürecinde çok yönlülük gibi benzersiz özelliklerinden dolayı çoğunlukla rejeneratif tıp ve doku mühendisliği uygulamalarında tercih edilmektedir [54], [55].

*Bombyx mori* en çok kullanılan ipek fibroin kaynağıdır. Kozalar suda çözünür küçük globüler protein serisin ve fibröz fibroin proteininden oluşur. Kozalar çoğunlukla fibroin proteininden oluşur. Fibroin koza formuna yapısal ve mekanik stabilite verir [56].

İpek fibroin, blok kopolimerleri ile benzer bir yapıya sahiptir, çünkü hidrofobik  $\beta$ -tabaka oluşturan ağır zincir, az hidrofilik hafif zincir ile polimerize edilir. İpek fibroin ağır zincirinin yaklaşık %90'ı alanin, glisin ve serin amino asit kalıntılarından oluşur. Bu amino asitler, antiparalel  $\beta$ -tabaka yapısına yol açmakta ve bu da proteine mekanik dayanıklılık ve sertlik kazandırmaktadır [54], [57], [58].

Eşsiz özellikler, ipek fibroini, kemik doku mühendisliği uygulamaları için çekici bir malzeme haline getirmektedir. Gözenekli 3D hücre kültür taşıyıcıları, tek başına ve kompozit olarak ipek fibroinden imal edilmiştir. İnsan mezenkimal kök hücrelerin (hMSC) yüklü fibroin bazlı taşıyıcıların, kök hücrelerin osteojenik farklılaşmasını ve *in vivo* kemik oluşumunu indüklediği gösterilmiştir [59], [60].

Doğal bir polimer olan ipek ipekböceğinde bulunan epitel hücreler tarafından sentezlenmektedir [54]. Eldesi en kolay ve en iyi karakterize edilmiş ipek evcil bir ipek böceği olan *Bombyx mori* tarafından üretilmektedir. *B. mori* tarafından sentezlenmiş olan ipek iki tip proteinden oluşmaktadır, serisin ve fibroin. Fibroin ipeğin yapısını oluşturan fibril yapıdaki proteindir ve saf ipeğin %70'ini oluşturmaktadır. Serisin ise suda çözünür yapışkanimsi bir protein olup fibroin liflerini çevreler ve birbirine bağlar. İpekten elde edilen biyouyumlu ve biyoçözünür fibroin proteinin farklı formlarda malzemeler (toz, film, köpük, fiber, vb.) olarak hazırlanması ve bu malzemelerin biyoteknoloji ve biyomedikal alanlardaki kullanımı üzerine odaklanılmaktadır.

*Bombyx mori* ipek böceğinden elde edilen fibroin, lif yapısında bir protein olup üstün malzeme özelliklerinin yanı sıra biyouyumluluğu, biyobozunurluğu, yüksek derecede dayanıklı ve tok oluşu, kolaylıkla işlenebilirliği ile öne çıkan bir malzemedir [61].

İpek fibroin popüler olarak tekstil endüstrisinin yanında hücre kültürü, yara örtüsü, ilaç salınımı, enzim immobilizasyonu ve kemik hücre mühendisliğinde iskelet olarak kullanım alanı bulmaktadır.

İpek; ipek böceği ve örümcekler tarafından özel epitel hücreleri içinde sentezlenen bir polimerdir. Yaygın olarak *Bombyx mori* ipek böceği, *Nephila calavipes* ve *Araneus diadematus* gibi bazı örümcek türlerinden elde edilir. *Bombyx mori* ipek böceğinin fibroin lifleri yaklaşık 10-25 mm çapında ve molekül ağırlığı 26 kDa olan hafif ve 390 kDa olan ağır zincirlerin 1:1 oranında disülfid bağları ile bağlanmasıyla oluşur. Bu proteinler hidrofilik polimer ailesinden olan serisin ile (20-310 kDa) örtülmüştür. Disülfid bağı ağır zincirin Cys-c20 (karbonil ucundan 20. amino asit kalıntısı) ile hafif zincirin Cys-172 arasında olur ve fibroini bir arada tutar. P25 olarak isimlendirilen bir glikoprotein kovalent olmayan bağ ile bu proteinlere bağlanmıştır [83]. Ağır ve hafif zincirler ile P25 proteinin molar oranları ise 6:6:1 şeklindedir. P25 proteininin yapının bütünlüğünü koruduğu düşünülmektedir. İpek kozasının kütlegece %25-30'unu serisin oluşturmaktadır. İpek; fibroin ve serisinin yanında yağ, wax (mum) boya ve bazı inorganik tuzlar da içerir [61], [74]-[76].

İpek fibroinde doğal bir protein olması sebebiyle proteinlerde bulunan birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılar görülür. Proteinlerdeki amino asit kalıntılarının sıralanışı proteinlerin birincil yapılarını oluşturur. Amino asit kalıntılarında farklı fonksiyonel gruplar bulunmaktadır. Bu gruplar polar, apolar, aromatik, anyonik ve katyonik olarak sınıflandırılabilirler. Protein molekülleri arası etkileşimler (amid

bağları arasındaki hidrojen bağları veya aromatik gruplar arasındaki  $\pi$  etkileşimleri) onların ikincil yapısı olarak bilinen konformasyonunu oluşturur. İkincil yapıya örnek olarak ipek fibroinde de bulunan  $\alpha$ -heliks,  $\beta$ -tabaka ve  $\beta$ -döngü verilebilir. Hidrojen bağları; bir peptidin azot atomuna bağlı hidrojen atomu ile 4. sıradaki amino asit kalıntısının karbonil oksijenleri arasında oluşur ve protein bir eksen etrafında dolanarak  $\alpha$ -heliks yapısını oluşturur. Heliksin her dönüşünde 3,6 amino asit kalıntısı bulunur ve her dönüşte gidilen uzaklık 0,54 nm'dir [75]. Zincirler arasındaki hidrojen bağları, yan yana olan polipeptid zincirinin  $\beta$ -tabaka olarak bilinen zikzak konformasyona sahip olmasına neden olur. Glisin ve alanin gibi amino asitler küçük yan zincirlerle  $\beta$ -tabakanın istiflenmesine imkân verirken kitleli amino asitler bu birleşmeyi engeller [76].  $\beta$ -tabakalar antiparalel ve paralel  $\beta$ -tabaka olmak üzere iki farklı şekilde bulunabilirler. Bitişik peptid zincirleri zıt yönlerde (azot atomu ucundan karbon atomu ucuna doğru) gittikleri takdirde bu yapıya antiparalel  $\beta$ -tabaka, zincirler aynı yönde giderse bu yapıya paralel  $\beta$ -tabaka adı verilir.

Heliks,  $\beta$ -tabaka veya  $\beta$ -döngü şeklinde düzenlenmemiş olan protein bölgelerinin rastgele yumak olarak düzenlendiği söylenir [77]. İpek fibroini büyük hidrofobik bloklar ile bunların aralarında ve zincir uçlarında bulunan daha küçük hidrofilik bloklardan ibaret çok-bloklu bir kopolimer mimarisine sahiptir [78].

Hidrofilik bloklar suda çözünürlüğü sağlarken, hidrofobik bloklar arası asosiyasyonlar, fibroinin rastgele yumak yapısından  $\beta$ -tabaka yapısına bir konformasyon geçişine neden olur. İpek fibroinin yapısındaki  $\beta$ -tabakaları malzemeye dayanıklılık ve sertlik kazandırırken, daha düzensiz olan hidrofilik bloklar tokluğu ve elastisiteyi artırır. Fibroin konsantrasyonu, pH, sıcaklık, metal iyonları, çözücünün dielektrik sabiti, elektriksel alan, eğirme ya da kesme kuvvetleri gibi çeşitli dış faktörler ipek fibroin yapısındaki konformasyon geçişlerini kolaylaştırır. Fibroin çözeltilerinde oluşan moleküller arası  $\beta$ -tabakaları, fiziksel çapraz bağ etkisi yaparak kararlı hidrojellerin oluşmasını sağlar [79]-[81].

*Bombyx mori* ipek böceğinden elde edilen fibroin, lif yapısında bir protein olup üstün malzeme özelliklerinin yanı sıra biyoyumluluğu, biyobozunurluğu, yüksek derecede dayanıklı ve tok oluşu, kolaylıkla işlenebilirliği ile öne çıkan bir malzemedir [61], [62].

İpek fibroin popüler olarak tekstil endüstrisinin yanında hücre kültürü, yara örtüsü, ilaç salınımı, enzim immobilizasyonu ve kemik hücre mühendisliğinde iskelet

olarak kullanım alanı bulmaktadır. Biyouyumluluğu, biyobozunurluluğunun yanında kolay ve ucuz elde edilebilen ipek fibroin mekanik özellikleri ile de dikkat çekmektedir.

## **2.11. Doku İskelelerinde Beklenen Özellikler**

### **2.11.1. Doku İskelelerinde Biyouyumluluk**

Biyoyumluluk; uygulama sırasında malzemenin vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneği olarak tanımlanmıştır. Biyouyumlu, yani ‘vücutla uyuşabilir’ bir biyomalzeme, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) meydana getirmeyen malzemedir [63].

Yani hücreler ve ev sahibi doku arasında geçen etkileşimler zarar görmemelidir. Sadece iskelenin veya ilaç salınım sisteminin sağlam haldeki durumu değil, parçalanma ürünleri de biyouyumlu olmalıdır. Özellikle asidik pH’a neden olan parçalanma ürünleri çok tehlikelidir [64]. Bu sebeple; iskelelerin, ilaç salınım sistemlerinin ve yara örtülerinin üretiminde biyopolimerler seçilmektedir.

### **2.11.2. Doku İskelelerinde Biyobozunurluk**

Yapılarına ve bileşenlerinin molekül ağırlıklarına göre parçalanma hızları değişen iskeleler, implant bölgesinden derece derece parçalanarak yok olurlar. İskele üretiminde kullanılan polimerlerin biyobozunurluklarını etkileyen faktörler arasında kimyasal yapı ve kompozisyon, iyonik grupların varlığı, molekül ağırlığı ve dağılımı, morfoloji (amorf/ yarı kristalin, mikroyapılar), işlem koşulları, implantasyon bölgesi, fizikokimyasal faktörler (iyon değişimi, iyonik güç vb.), fiziksel faktörler (şekil ve boyut değişiklikleri, difüzyon katsayısı varyasyonları, mekanik mukavemet vb), hidroliz mekanizması gibi daha pek çok faktör sayılabilir. Uygun parçalanma hızı: çok önemli ve gerçekleştirilmesi güç bir konudur. İskele yüklenen kuvveti karşılamak ve yeni oluşan dokuyu desteklemek zorundadır. Eğer yeni doku oluşurken iskeleler çok hızlı bir şekilde parçalanırsa, yeni doku uygulanan kuvvetleri karşılayamayacak kadar güçsüz olduğundan ters bir etki yapacaktır. Diğer taraftan parçalanma çok yavaş

gerçekleşirse, büyüyen doku üzerinde gerilim artışı olur ve esasen dokunun taşınması gereken yükü iskele taşıdığından gelişim sırasında yeni doku yeterince güçlenemez. Bu sebeple mekanik mukavemet, molekül ağırlığı, bozunma türü gibi pek çok parametre çok dikkatli seçilmelidir [63], [65].

### **2.11.3. Doku İle Uyumlu Mekanik Özelliklere Sahip Olma**

İskelenin (mukavemet, modül, dayanıklılık, sertlik ve yumuşaklık gibi) mekanik özellikleri ev sahibi dokunun mekanik özellikleri ile uyumlu olmalıdır [66]. Böylece doku iyileşmesi gerçekleşene kadar implantın parçalanması ile riske atılmış olmayacaktır. Mekanik özelliklerin kontrol edilmesi oldukça zordur. İmplantasyon bölgesinde stabil mekanik özelliklerin başarılması, hücre ve doku yeniden modellenmesi için önemlidir [63].

### **2.11.4. Doku İskelelerinde Yapısal Özellikler**

İskeleler; hücre bağlanmasına, büyümesine, çoğalmasına ve farklılaşmasına, ayrıca ekstra hücrel matriks oluşumuna izin veren yapısal özelliklere sahip olmalıdır. Gözenek boyutları ve şekilleri, gözeneklilikleri, gözeneklerin bağlanabilirlikleri, geçirgenlikleri iskelenin implante edileceği bölgeye uygun formda olmalıdır. İskelenin tamamen katı olması istenmez. Hücrelerin gözeneklerde tohumlanabilmesi için, gözenek boyutunun hücre boyutunun en az birkaç katı olması gerekir. Ayrıca besinlerin ve atığın giriş çıkışına, damarlaşmanın oluşumuna izin verilmelidir. Düzgün doku büyümesini gerçekleştirebilmek için yeterli gözenekliliği bulunmalıdır [63], [64].

Yara örtülerinin; biyouyumluluk, biyobozunabilirlik ve yeterli mekanik mukavemeti sağlama özelliklerinin dışında; toksinleri, atıkları uzaklaştırma yara ara yüzünde yüksek nem sağlama gaz giriş çıkışına izin verme termal yalıtım sağlama ikincil enfeksiyonlara karşı yarayı koruma uzaklaştırıldığında travmatik etki yapmama partiküllerden ve toksik bileşenlerden arındırılmış olma gibi özellikleri olmalıdır [67].

## 2.12. Nanoliflerin Yara Örtücü Olarak Kullanımı

Nanolifler; yüksek gözeneklilik, yüksek yüzey alanları, hücre dışı matris yapısını taklit edebilme ve hafif malzemeler olma gibi özelliklerinden dolayı doku iskeleleri, yara örtüleri, yapay damar gibi medikal alanlarda kullanım alanı bulmaktadır. Nanolifler yüksek yüzey alanları sayesinde kanamayı durdurucu özellikte olmakta, nanoboyutlarda ince lifler olduklarından doğal hücre dışı matris yapısını taklit edebilmekte ve hücrelerin tutunması, gelişmesi, çoğalması için elverişli ortam sağlamaktadır.

Nanolif malzemelerin, düşük gözenek çapları ve gözenekliliklerinin çok yüksek olması malzemeye bakteri ve enfeksiyona neden olabilecek maddelerin geçişi engelleyen ve nefes alabilen bir yapı kazandırır. Kullanılan malzeme ile yara örtücüye biyouyumluluk, biyoçözünürlük kazandırılabilmesinin yanında, malzemenin fiziksel özellikleri de kontrol edilebilmektedir. Elektrospın yöntemiyle, farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip polimerlerden, farklı dayanımda, kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip nanolif doku iskeleleri üretmek mümkündür.

Elektrospın süreciyle aynı anda iki ve üç farklı polimerin birlikte eğrilmesine de olanak tanımakta ve istenilen özellikte iskeleler üretilebilmektedir. Bu yöntemle polimerik nanoliflerin içlerine çözünmeyen ilaç veya biyoaktif molekülleri ilave edilebilmektedir. Nanoliflerin içine konulan bu biyoaktif maddelerin biyolojik aktivitelerini koruduğu bulunmuştur [68].

## 2.13. Elektrospın Yöntemi

Elektrik alan kuvvetlerinin bir sıvı üzerine etki ettirilerek lif oluşturulabileceği ilk olarak Formhals tarafından 1934'te ifade edilmiştir [69]. Bu yöntem Norton tarafından geliştirilmiş ve bu yönteme dayalı olarak çalışan ilk cihaz tasarımını yapmıştır [70]. Elektrik alan ile lif çekim işlemi elektriksel ve hidrodinamik kuvvetler altında malzemeyi küçülterek şekil verme yöntemi olarak tanımlanan elektrohıdrodinamik atomizasyon (EHDA) işlemidir. Elektrik alan ile lif çekim işleminde, çok küçük debilerde viskoz sıvılara kilovolt boyutunda gerilim vererek, akışkan nano boyutlu liflere dönüştürülür. Uygulanan voltaj ile viskoelastik akışkan karşıdaki topraklanmış yüzeye inceler geçmektedir. Düzenek ucunda iken hemen

hemen düzeyle aynı çapa sahip olan jet üzerinde yüksek derecede incelme olmakta, bu esnada çözücü buharlaşmakta ve karşıya nanometrik çapta lifler olarak düzensiz bir şekilde toplanmaktadır [71], [72].

Çoğunlukla dokusuz nanolif mat oluşumu elektrot toplayıcı üzerine rastgele toplanır. Konvansiyonel iplik çekim sistemlerinde, polimer eriyik veya çözeltisi üzerinde mekanik kuvvetler etkilidir. Bu etkiler altında elde edilen liflerin çapları 10 – 500 µm aralığında değişmektedir [71], [73]. Elektrik alan ile lif çekim sisteminde ise mekanik kuvvetlerden farklı olarak elektrik alan kuvveti etkilidir. Yüksek elektrik alanda elektrik alan kuvvetleri ile Coulombic kuvvetlerin birleşimi etkili olmaktadır. Bir elektrik alan ile lif çekim düzeneği aşağıda gösterilen kısımlardan oluşur;

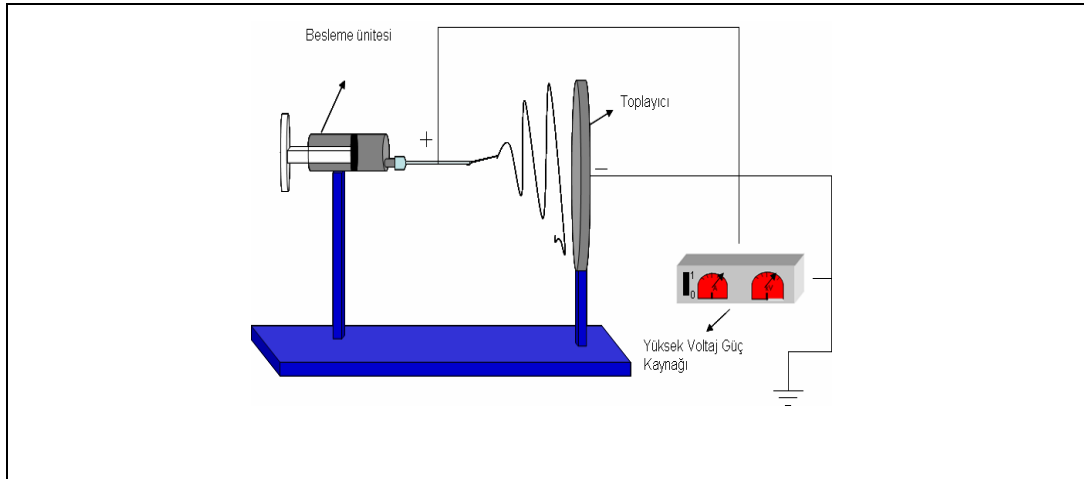
- Polimer çözelti ile dolu kapılar tüp olan bir şırınga,
- Gerekli elektrik alan kuvvetini oluşturacak yüksek gerilim güç kaynağı,
- Toplayıcı metal levha,

Elektrik alan ile lif çekimde nanoliflerin istenilen boyutlarda üretilmesi için önemli temel parametreler 3 grupta incelenmektedir. Bunlar:

- Çözelti veya eriyik parametreleri; moleküler ağırlık, moleküler ağırlık dağılımı, polimerin yapısı (lineer, dallı, ağsı), çözelti özellikleri (viskozite, iletkenlik, yüzey gerilimi, elastiklik, pH),
- İşlem parametreleri; uygulanan gerilim, düzede ki hidrostatik basınç, debi, düzenek ile toplama plakası arasındaki mesafe, toplama plakasının biçimi ve hareketi [72],[73].
- Çevresel parametreler; sıcaklık (eriyik sıcaklığı, çözelti sıcaklığı, çevre sıcaklığı), bağıl nem, vakumdur.

Elektrik alan ile lif çekim yöntemi ile elde edilen yüzeyler düşük lif çapı, yüksek özgül yüzey alanı ve boşluklu yapısı sayesinde, filtre, membran, sargı bezi, doku iskeleleri, koruyucu giysiler, ilaç taşınması, sensörler ve opto-elektronik uygulamaları gibi birçok kullanım alanı bulmuştur [82],[83]. Elektrik alan ile lif çekim tekniği ile elde edilen doku iskeleleri, ekstrasellüler matrikse (ECM) yapısal benzerliğinden dolayı doku mühendisliği uygulamaları için tercih edilen bir yöntemdir. Kollektörün

mesafesi, uygulanan gerilimin büyüklüğü ya da çözeltinin akış hızı gibi değişkenler, hücrelerin yapışma, çoğalma ve göç gibi hücre fonksiyonlarını etkilemek için değiştirilebilir. Elektrik alan ile lif çekimi yapılmış polimer nanolifler gelişmiş protein adsorpsiyonu, yüksek yapısal bütünlük ve iyi mekanik özellikleri, biyo-benzer yapısı, geniş özgül yüzey alanları gibi birçok mükemmel özelliğe sahiptir [84]-[86]. Elektrik alan ile lif çekim yöntemiyle; kolajen, kitosan, kitin, ipek fibroin ve polietilenoksit, poli (DL-laktid-ko-glikolid), poli (L-laktit) ve polikaprolakton gibi doğal ve sentetik polimerden biyobozunur nanolif yapıları üretilir [85], [87]. Polimer esaslı nanoliflerin üretimi için en etkin yöntem electrospinning yöntemidir. Electrospinning, akışkanlar dinamiği, polimer kimyası, temel fizik, elektrik fiziği, makine ve tekstil mühendisliği disiplinlerini barındıran multi disiplinler bir yöntemdir. Electrospinning için deney düzeneği Şekil 2.3’de gösterilmiştir.

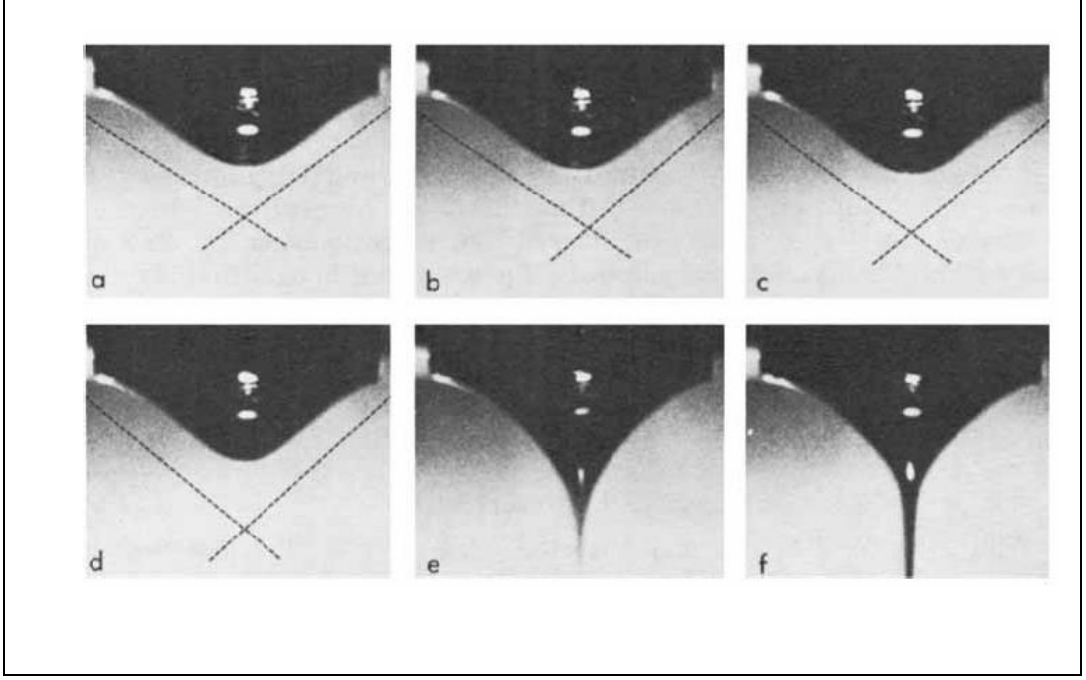


Şekil 2.3: Electrospinning yöntemiyle nanolif üretimi.

Bu teknikte, polimer uygun bir çözücüde çözülür, şırınganın içine yerleştirilir. Daha sonra çözelti ile şırınganın açık ucunun karşısındaki bir toplayıcı levha arasına 18 kV-50 kV arasında gerilim uygulanır. Besleyici ünite üzerindeki iğnenin ucunda asılı durumda duran çözelti damlası kritik bir voltaj değerine kadar, küresel bir biçimde bulunur. Uygulanan potansiyel fark bir kritik değere ulaştığında, elektrostatik kuvvetler yüzey gerilimi kuvvetlerine eşitlenir. Bu noktada çözelti damlası şekil değiştirerek koni (Taylor konisi) biçimini alır. Şekil 2.4’de polimer damlasının artan voltaj etkisiyle yarı küresel damladan (a), Taylor konisine geçişi (b, c), Taylor konisindeki şekli (d) ve Taylor konisinden bir jet halinde çıkışı verilmiştir. Taylor’ın

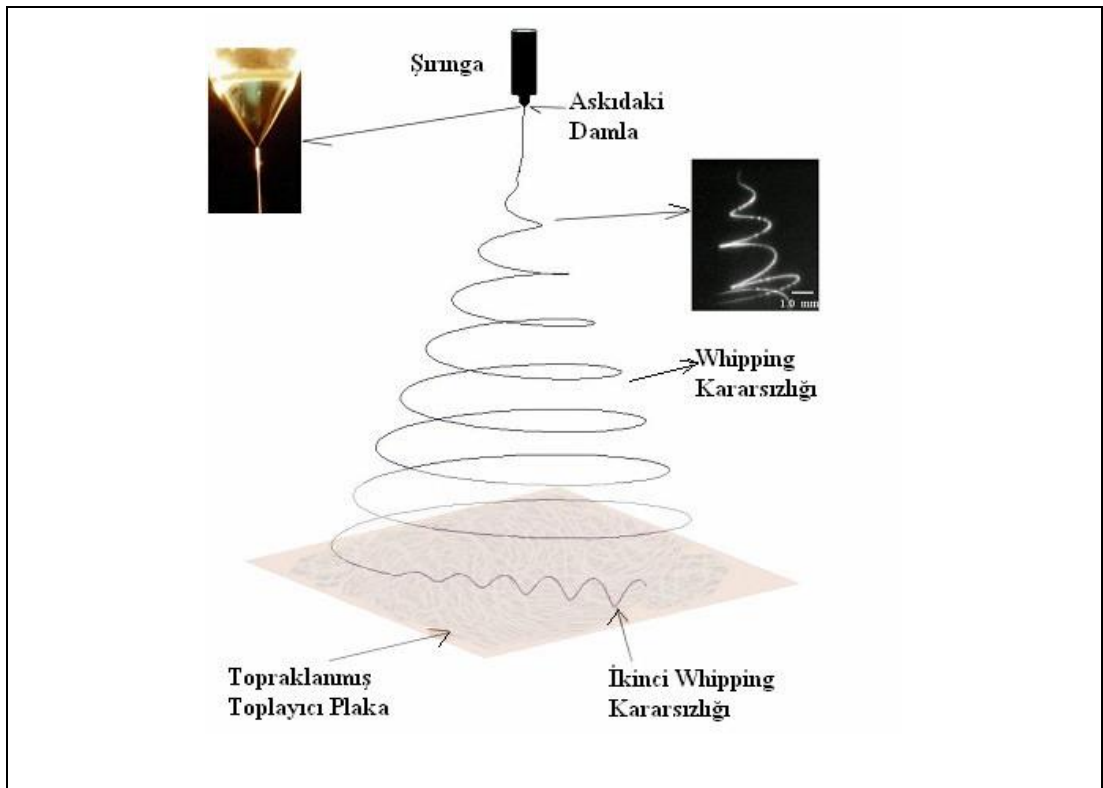
[88] koni üzerine yaptığı çalışmada bulduğu kritik voltaj değerindeki yarı koni açısı  $49.3^\circ$  'dir.

Çözelti damlası Taylor konisi halini aldıktan sonra voltajdaki artışla birlikte koni ucundan bir jet fışkırır (e). Jet toplayıcı levha ile metal iğne ucu arasında ilerlerken farklı yollar izler. Yüklenen jet Taylor konisinden çıktıktan sonra belli bir mesafede kararlı bir şekilde hareket eder. Daha sonra jette kararsızlık hali belirir. Kullanılan polimerin çözeltisi veya eriyiğinin özelliğine ve sistem değişkenlerine bağlı olarak değişebilir [89].



Şekil 2.4: Kılcal boru ucundaki damlanın ilerleyerek artan voltaj etkisiyle Taylor Konisi ve jet oluşumu a)  $110^\circ\text{C}$  b)  $107^\circ\text{C}$  c)  $104^\circ\text{C}$  d)  $100^\circ\text{C}$ .

Elektrospinin en çok görülen kararsızlık hali whippingdir. Whipping oluşumunun nedeni, jet yüzeyindeki yüklerin karşılıklı olarak birbirlerini itmesi ile meydana gelen ve yüklerin bir arada olamamalarından dolayı jette merkezden radyal bir şekilde tork oluşmasıdır. Jet toplayıcı plakaya yaklaştığında ise ana jetten ayrılan küçük jetler meydana gelir. Bu küçük jetlerin oluşmasının nedeni ise radyal yüklerin birbirini itmesi sonucu ana jetten ayrılmasıdır [90]. Jet yeterince incelindiğinde ve viskoelastik kuvvetler yeterince sönümlendiğinde yeni whipping kararsızlıkları oluşur. Bu kararsızlık haline ikinci whipping kararsızlığı denir. Bu olay Şekil 2.5. 'de gösterilmiştir.

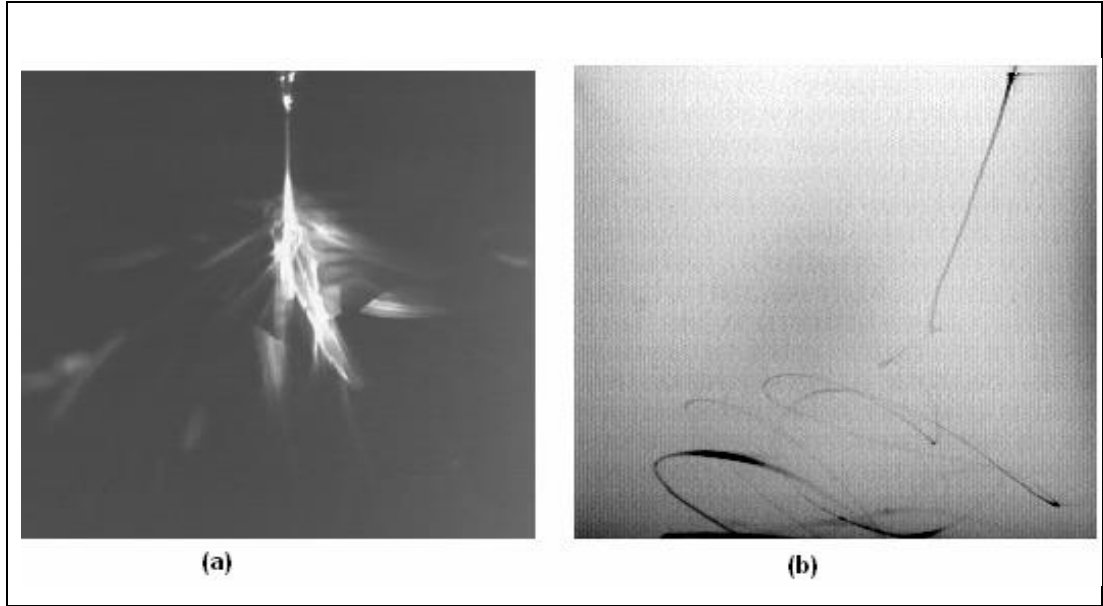


Şekil 2.5: Elektrospinde Whipping Kararsızlığı ve Taylor Konisi.

Elektrospinin işlemini ilgilendiren iki kuvvet dengesi mevcuttur. İlk prosesin sürdürülmesi için gerekli olan kuvvet sistemi, ikincisi ise işlemin önünde engel teşkil eden kuvvet sistemidir. İlk kuvvet sistemi, damlanın kararlılığını bozarak damlanın deformasyona uğrayıp, damladan ince bir jet oluşmasına yardım eder. İkinci kuvvet sistemi ise sıvının uzayıp akmasına engel olarak damlayı sabitleme eğilimine sürükler [91], [92].



Geçmişte whipping olayı, çoğu araştırmacı tarafından gözlemlenemediğinden dolayı jetlerin parçalanarak toplayıcıya doğru ilerleyip böylelikle nanoliflerin oluştuğunu ifade edilmiştir. Esasında whipping olayı çok hızlı gerçekleştiği için yüksek hızlı fotoğrafı tekniği olmaksızın gözlemlenemez. Şekil 2.7. 'de aynı olayın hem 25 fps (frame per second: saniyede çekilen resim sayısı) hem de 4000 fps'de çekilmiş fotoğrafları gösterilmiş olup, fark açıkça ortaya çıkmıştır [93].



Şekil 2.7: 25 Fps'daki Whipping olayının fotoğrafı b) 4000 Fps'da Whipping olayının fotoğrafı.

Şırıngadan çıkan jet birinci ve ikinci whipping kararsızlık bölgelerinden sonra lifler toplayıcı plaka üzerine rasgele bir şekilde nonwoven olarak toplanırlar. Toplayıcı levhada oluşan ağımsı yüzeyde çapları 3 nm'den 1 mikronun üzerindeki değerlere kadar değişen lifler bulunabilmektedir. Elektrospin prosesi ile elde edilmiş lifler elektrostatik olarak yüklenmiş olabilirler veya yük üretebilirler [94], [95].

### 3.DENEYSEL KISIM

Bu tez çalışması dört adımdan oluşmaktadır. Çalışmanın ilk adımında, ipek kozalar serisinden ayrılarak ipek fibroin çözelti haline getirilmiştir. İkinci adımda, belirli oranlarda kalıplarda kurutma işlemi yapılarak sünger İpek-PVA kompozit yapılar elde edilmiştir. Üçüncü adımda, üretilen bu köpük yapıların üzerine kaplanacak kolajen nanofiberlerin elektrospin optimum şartları belirlenmiştir. Çalışmanın son adımında, büyük ölçüde gözenekli yapıya sahip ipek süngerler üzerine kolajen nanofiber kaplanarak katmanlı yapı elde edilmiştir.

Çözelti hazırlama işlemlerinde, nanofiber üretimi ve sünger üretiminde kullanılan kimyasal maddeler ve cihazlar sırasıyla Tablo 3.1. 'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler.

Adı	Üretici Firma	Katalog No
İpek Kozası	Bursa Koza Birlik	-
Asetik Asit	Merck	36248
Etanol	Merck	M5852
Genipin	Sigma Aldrich	G4796
HFIP	Sigma Aldrich	105228
EDC	Sigma Aldrich	E7750
TFE	Sigma Aldrich	T8132
CaCl <sub>2</sub>	Sigma Aldrich	12022
Na <sub>2</sub> HCO <sub>3</sub>	Sigma Aldrich	13418
LiBr	Sigma Aldrich	105669.1000
PVA (72000)	Merck	S37667
Formik Asit	Merck	K195633663

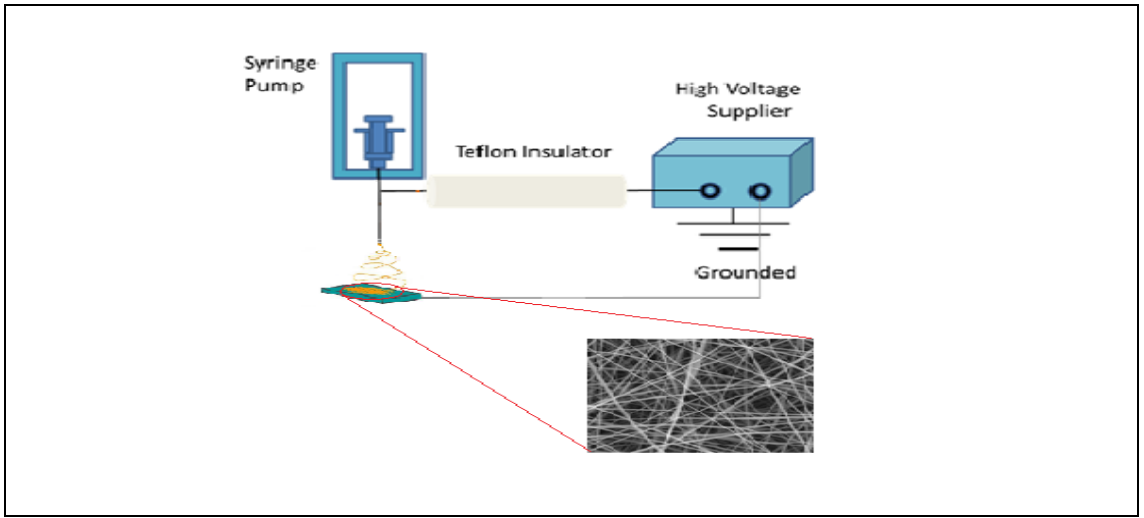
Tablo 3.2: Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar.

<b>Adı</b>	<b>Modeli</b>	<b>Bulunduğu Yer</b>
FT-Infrared Spektrofotometresi	Perkin Elmer 100	Gebze Teknik Üniversitesi
Electrospin Cihazı	Starter Kit	Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi
DSC-Diferansiyel Taramalı Kalorimetre	DSC-60 Shimadzu	Gebze Teknik Üniversitesi
SEM-Taramalı Elektron Mikroskop	Philips XL 30 SFEG	Gebze Teknik Üniversitesi
TEM-Geçirimli Elektron Mikroskobu	Zeiss LEO 922 Omega mikroskobu	Physik Instrumente, Karlsruhe, Almanya
Liyafilizatör	Telstar Cryodos (scanvac cool safe)	Gebze Teknik Üniversitesi
Vorteks	Vortex Genie 2 Scientific Industries	Gebze Teknik Üniversitesi
Hassas Terazi	Sartorius Basic	Gebze Teknik Üniversitesi
Raman Spektroskopisi	Alfa300, WITec, Ulm,	Physik Instrumente, Karlsruhe, Almanya
Manyetik Karıştırıcı	Heidolph MR3001	Gebze Teknik Üniversitesi

### 3.1. Elektrospin Cihazının Tasarlanması

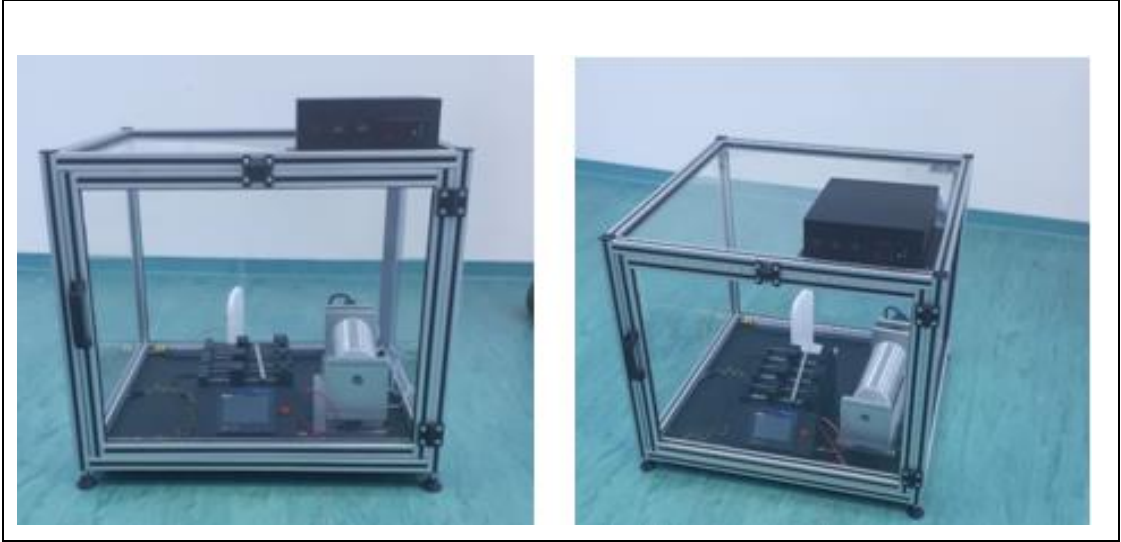
Elektrospin yöntemi için gerekli deney düzeneği (Şekil 3.1) temel olarak önemli üç ana parçadan oluşmaktadır.

- Yüksek Voltaj kaynağı
- Çift Kanallı Şırınga Pompası
- Toplayıcı Bakır Plaka



Şekil 3.1: Elektrospin cihazı.

Hazırlanan çözelti pompa yardımıyla şırıngadan metal iğneye sabit hızla gönderilir. Metal iğnenin ucunda damlacık taylor konisi şeklini aldığı anda yüksek voltaj kaynağı açılır. Polimer damlacığı elektriklenir ve indüklenmiş olan yük damlacık toplayıcı yüzeyine eşit olarak dağılır. İşlem sırasında iğne ağzından çıkan damlacığa etki eden kuvvetler; yer çekimi, yüzey gerilmesi, viskozite ve elektriksel gerilme kuvvetleridir. Bu kuvvetler birbirini dengeleyerek iğne ucunda Taylor Konisi oluşturur ve tüm kuvvetlerin birbirinin dengelenmesine bağlı damla veya sıvı jet meydana gelir. Bu elektriklenmiş jet hızla uzayarak uzun ve ince ipliksi yapı oluşur. Sıvı jetin devamlı uzaması ve çözücünün buharlaşması sonucunda lif çapı mikrometre seviyesinden nanometre mertebesine düşer. Böylece sürekli nanolifler elde edilir.



Şekil 3.2: Elektroselin güvenlik kutusu.

## 3.2. Çözeltilerin Hazırlanması

### 3.2.1. İpek Fibroin zeltilerinin Hazırlanması

İpek kozalaklarından fibroin protein elde edilme aşamaları aşağıdaki gibidir [96].

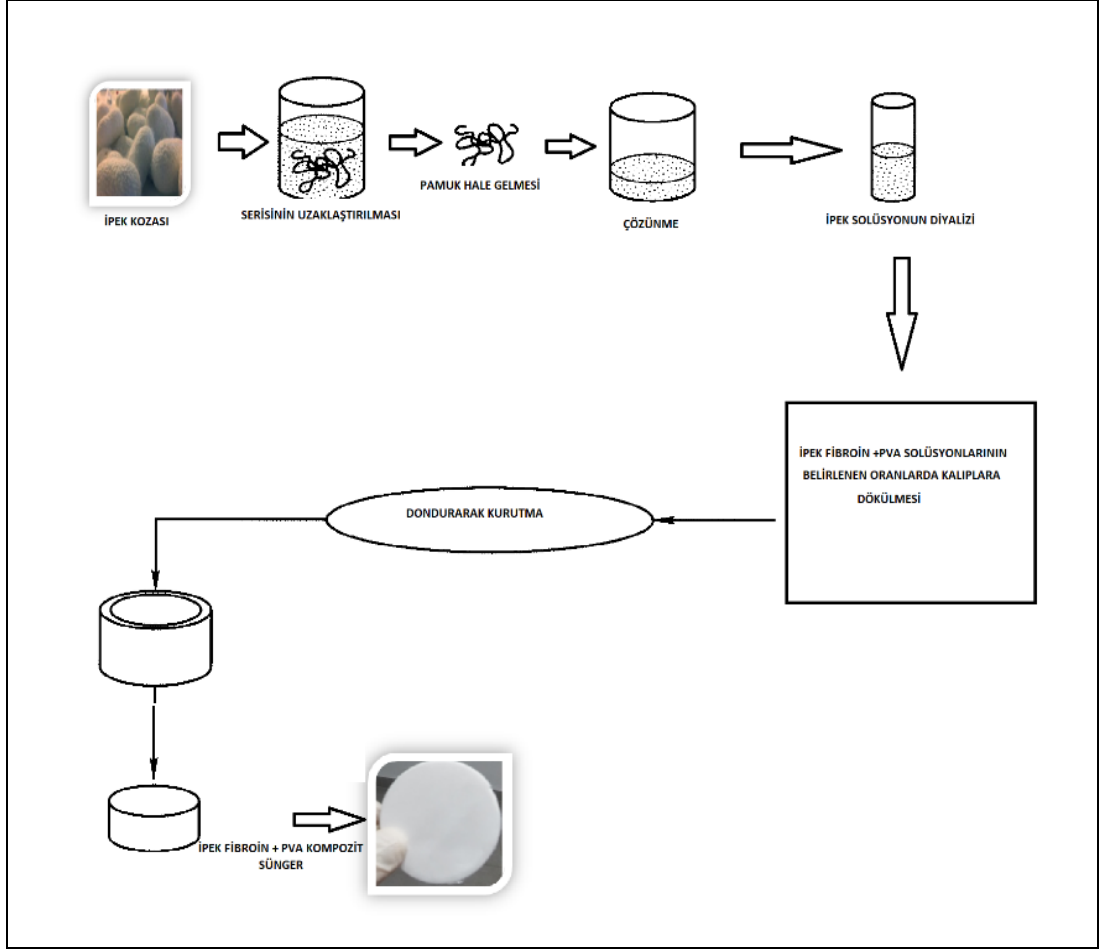
- Kozalar dört eşit parçaya ayrıldı ve ölü güve temizlendi.
- Serisini uzaklaştırmak için, 12 g temizlenen koza,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisinde (1L, 0,05 M) 100 °C de 1 saat manyetik karıştırıcı kullanılarak ısıtıldı. Fibroin karışımdan süzülerek ayrıldı.
- Fibroinin tamamen saflaştırılması için, fibroin 1 L saf suda 20 dakika 70°C’de karıştırılarak ısıtıldı ve süzld. Bu işlem 5 kez tekrarlandı. Elde edilen fibroin oda sıcaklığında kurutuldu. 10 gram fibroin elde edildi.
- Fibroin aşağıda gösterilen tuzlar ile muamele edilerek çözünür hale getirildi.
  - i) 10 g fibroin Lityum bromür çözeltisinde (30ml ,9,3 M) 1 saat 60°C de karıştırıldı. Elde edilen çözelti 2 saat buzdolabında (+4°C) bekletildikten sonra çözeltinin üst kısmındaki safsızlıklar spatül ile uzaklaştırıldı.
  - ii) 14,7 g  $\text{CaCl}_2$ , 11,6 ml Etanol, 10,8 ml ultra saf su çözeltisi hazırlandı. Çözelti içerisinde 1,2 g ipek fibroin fiberler 2 saat 150 rpmde 70 °C de karıştırıldı. Elde edilen çözelti filtre edilerek saflaştırıldı.

- Çözeltideki tuzlar selüloz diyaliz membranı (Sigma-MWCO 14000) kullanılarak 500 mL'lik bir beherde suya karşı 3 gün boyunca diyaliz işlemi uygulandı. Tuzun tamamen uzaklaşmasını sağlamak için saf su 1 saat aralıklarla değiştirildi. Fibroin çözeltisi elde edildi.
- Diyaliz işlemi sonunda elde edilen çözeltideki su 40 °C vakumlu etüv kullanılarak uzaklaştırılarak saf fibroin elde edildi. Elde edilen saf fibroin tartılarak çözelti yüzdesi belirlendi (1 ml içerisinde 1 g).

### **3.2.2. İpek Fibroin + PVA Çözeltisinden İpek Sünger Hazırlanması**

Hazırlanan iki farklı fibroin (%6) çözeltisi (+4 °C) saklamaya bırakıldı. Daha sonra PVA çözeltisi hazırlamak için, 0,6 g PVA tozu 100 ml saf su içerisinde 100°C'de karıştırıldı. Hazırlanan çözelti oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Tüm numuneler için toplam hacim oranı 10 ml olarak belirlendi. PVA/İpek: 7/3 kompozit hazırlamak için 7 ml %6'lık PVA çözeltisi ile 3 ml %6'lık Fibroin çözeltisi 2 saat karıştırıldı. Tüm PVA/İpek çözeltileri yukarıdaki örnekte olduğu gibi Tablo 3.3 ve Tablo 3.4 esas alınarak hazırlandı.

Çözeltiler (PVA/İpek) plastik petri kablarına döküldü. Oda sıcaklığında 24 saat bekletildikten sonra, ilk olarak +4 °C'de 12 saat sonra -20 °C'de 12 saat tutuldu. Dondurulmuş halde olan PVA/İpek çözeltileri 18 saat boyunca liyofilize edilerek kompozit sünger (Şekil 3.3, Şekil 3.5) oluşumu sağlandı. Tüm aşamalar ayrıntılı biçimde Şekil 3.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3: İpek kozasından ipek sünger elde edilmesi aşamaları.



Şekil 3.4: İpek Fibroin (LiBr) PVA Sünger Kompozit a) PVA/İpek: 0/10, b) PVA/İpek: 3/7, c) PVA/İpek: 4/6, d) PVA/İpek: 5/5, e) PVA/İpek: 6/4, f) PVA/İpek: 7/3, g) PVA/İpek: 10/0.

Tablo 3.3: İpek Fibroin (LiBr) PVA sünger kompozit derişim oranları ve optimizasyon şartları.

Sünger Kompozit	PVA (ml) (%6)	İPEK Fibroin Çözeltisi (LiBr) ml	Bekleme süresi (Saat)	Liyofilizasyon süresi (Saat)
a	0	10	12	18
b	3	7	12	18
c	4	6	12	18
d	5	5	12	18
e	6	4	12	18
f	7	3	12	18
g	10	0	12	18



Şekil 3.5: İpek Fibroin (CaCl<sub>2</sub>) PVA Sünger Kompozit a) PVA/İpek: 0/10, b) PVA/İpek: 3/7, c) PVA/İpek: 4/6, d) PVA/İpek: 5/5, e) PVA/İpek: 6/4, f) PVA/İpek: 7/3, g) PVA/İpek: 10/0.

Tablo 3.4: İpek Fibroin (CaCl<sub>2</sub>) PVA sünger kompozit derişim oranları ve optimizasyon şartları.

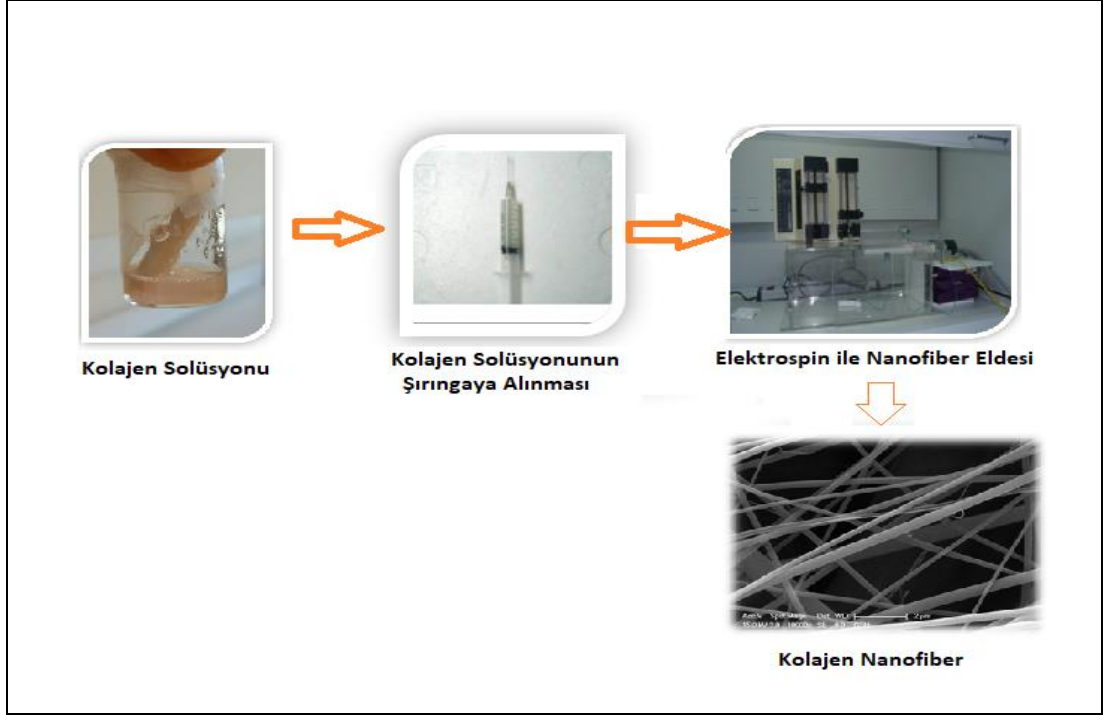
Sünger Kompozit	PVA (ml) (%6)	İPEK Fibroin Çözeltisi (CaCl <sub>2</sub> ) ml	Bekleme süresi (saat)	Liyofilizasyon süresi (saat)
a	0	10	12	18
b	3	7	12	18
c	4	6	12	18
d	5	5	12	18
e	6	4	12	18
f	7	3	12	18
g	10	0	12	18

### 3.2.4. Elektrospin Uygulama İçin Kolajen Çözeltilerinin Hazırlanması ve Nanofiber Üretimi

Kolajenin farklı formlarda elde edilmesi için çözelti seçiminin yanında asıl yapısı olan triple helix yapısının korunmasında önem arz etmektedir. Kolajen çözeltisi hazırlamak için üç farklı çözücü kullanılmıştır.

- 1ml (60 µm saf su + 40 µm (%40(w/v)) asetik asit çözelti içerisinde %0,4 g kolajen çözüldü ve 12 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve %40'lık asetik asit çözeltisi elde edildi.
- 1ml TFE içerisinde sırasıyla 0,06 g, 0,08 g, 0,1 g, 0,12 g kolajen tozu çözüldü. 12 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve sırasıyla %6-8-10-12 (w/v) TFE çözeltileri elde edildi.
- 1ml HFIP içerisinde sırasıyla 0,06 g, 0,08 g, 0,1 g, 0,12 g kolajen tozu çözüldü.12 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Sırasıyla %6-8-10-12 HFIP çözeltileri elde edildi.

Elde edilen çözeltiler şırıngaya alınarak, şırınga elektrospin iğne pompasına yerleştirildi. Elektrospin uygulama için parametreler ayarlandı (Toplayıcı iğne ucu mesafe 15 cm, voltaj 17 kV, akış hızı 1 µl/dk). Daha sonra yüksek voltaj verilerek plaka üzerinde kolajen nanolifler toplandı. Karakterizasyon sonrası uygun olan nanofiber seçildi ve yara örtüsü için ilk katman üretildi.



Şekil 3.6: Kolajen nanofiber üretim aşamaları.

Tablo 3.5: Elektroselin Uygulama İçin Kolajen Çözelti Parametreleri.

Çözücü	Kolajen Çözelti Derişimi %	Karışım Saati	Mesafe (cm)	Uygulanan voltaj kV	Akış Hızı $\mu\text{L}/\text{dk}$	Nanofiber Oluşumu
<b>TFE</b>	%6	12	15	17	1-0.5	Kısmen Boncuklanma
	%8	12	15	17	1-0.5	Düzgün Nanofiber
	%10	12	15	17	1-0.5	Düzgün Nanofiber
	%12	12	15	17	1-0.5	Düzgün Nanofiber
<b>HFIP</b>	%6	12	15	17	1-0.5	Kısmen Boncuklanma
	%8	12	15	17	1-0.5	Düzgün Nanofiber
	%10	12	15	17	1-0.5	Düzgün Nanofiber
	%12	12	15	17	1-0.5	Düzgün Nanofiber
<b>%40 HAc</b>	%20	12	15	17	1-0.5	Boncuklanma
	%30	12	15	17	1-0.5	Boncuklanma
	%40	12	15	17	1-0.5	Düzgün Nanofiber

### 3.2.5. Elde Edilen Kolajen Nanofiberlerin Kararlı Hale Getirilmesi

- Ultraviolet (UV) Işık Crosslinking:

Elektrospun işlemi ile elde edilen Nanofiberler 254 nm aralığında 5 cm mesafede UV ışık altında belirli süreyle tutularak crosslink işlemi gözlendi.

- Dehydrothermal Crosslinking:

Elektrospun kolajen nanofibers vacuum fırınında 24 saat bırakıldı. İlk olarak vakum açılarak ortamın havası alındı sonra sıcaklık 110<sup>0</sup> C kadar yükseltilerek 12 saat fırında bekletildi. Bir gün sonra sıcaklık kapatıldı ve fırın oda sıcaklığına gelene kadar numune vacuum fırınında bekletildi. Daha sonra vacuum kapatılarak numune alındı.

### 3.2.6. İpek Süngerlerin Nanofiberle Kaplanması

Elde edilen İpek Fibroin/PVA sünger kompozitler elektrospun cihazının ilk olarak toplayıcı kısmına yerleştirildi. Daha sonrasında nanofiber uygulama ile belirlenen optimizasyonlarda kompozit köpük üzerinde nanofiber oluşumu sağlandı (Şekil 3.7.).



Şekil 3.7: Katmanlı kolajen üretim aşamaları.

### **3.3. Yapısal Karakterizasyon**

#### **3.3.1. Taramalı elektron mikroskop (SEM) Analizi**

İpek fibroin/PVA kompozit köpüklerin ve kolajen nanofiberlerin morfolojisi SEM ile incelenmiştir. (GTÜ- Philips XL 30 SFEG marka taramalı elektron mikroskobu). Sıçratma cihazı ile numuneler altın kaplanarak iletken olmayan protein yapıların analizinin yapılması sağlanmıştır.

#### **3.3.2. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi**

Kolajen nanofiberlerin morfolojisi TEM ile incelenmiştir. (Zeiss LEO 922 Omega mikroskobu, Almanya) Sıçratma cihazı ile kolajen nanofiber numuneler altın kaplanarak analiz yapılmıştır.

Geçirimli Elektron Mikroskobu, görüntüleme ve kırınım tekniklerini birlikte kullanarak malzemelerin mikro yapısal incelemesini ve kristal yapılarının belirlenmesini birlikte sağlayabilen çok özel bir malzeme karakterizasyon cihazıdır. Bir başka deyişle, nanometre mertebesinde çok küçük ve ince alanlardan, milyon katı büyütmelede malzemenin kristalografik ve morfolojik bilgilerine aynı anda ulaşılmasını olanaklı kılan bir tekniktir.

#### **3.3.3. Fourier Transform İnfrared (FT-IR) Analizi**

İpek-PVA kompozit süngerlerin yapısal analizleri için Fourier Transform İnfrared (FT-IR) Spektroskopisi (Perkin Elmer Spectrum 100 -GTÜ) kullanılarak saptanmıştır.

#### **3.3.4. Raman Spectroscopy**

Raman kolajen örneklerinin (native kolajen, TFE ve HAc'den elde edilen elektrospun kolajen nanofiber) spektroskopik karakterizasyonu için, bir çift frekanslı Raman mikroskobu (alfa300, WITec, Ulm, Almanya), frekans ikiye katlanmış Nd: YAG lazerle (532 nm) birlikte kullanılmıştır, lazer uyarma ve piezoscanner (P-500,

Physik Instrumente, Karlsruhe, Almanya). Spektrumlar  $3 \text{ cm}^{-1}$  spektral çözünürlüğe sahip bir ızgara ( $600 \text{ g mm}^{-1}$ ) spektrografın (UHTS 300; WITec, Ulm, Almanya) arkasına yerleştirilmiş bir termoelektrikle soğutulmuş CCD detektörü (DU401A-BV, Andor, UK) ile toplanmıştır. Lazer ışını, sayısal diyafram  $\text{NA} = 0.4$  ve nokta boyutu  $0.61 \lambda / \text{NA}$  olan bir mikroskop objesi (20X, Nikon Instruments, Amstelveen, Hollanda) ile odaklanmıştır. Ölçüm için ScanCtrlSpectroscopyPlus yazılımı (versiyon 1.38, Witec) ve spektrum işleme için WITec Project Plus (sürüm 2.10, Witec) kullanılmıştır.

### **3.3.5. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) Analizi**

Kolajen nanofiberlerin ve kompozit süngerlerin DSC analizleri (DSC-60 Shimadzu) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kolajen nanofiberler için analiz tarama hızı  $10 \text{ }^\circ\text{C/dk.}$  ve sıcaklık aralığı  $200^\circ\text{C}$  olarak kullanılmıştır. Kompozit süngerlerin DSC analiz tarama hızı  $10^\circ\text{C/dk.}$  ve sıcaklık aralığı  $300^\circ \text{C}$  olarak kullanılmıştır.

DSC-60 Shimadzu (Japonya) üzerinde örneklerin kalorimetrik ölçümleri (native kolajen tozu, TFE ve HAC'den elde edilen elektrospun kolajen nanofiberler, Sünger Kompozitler) gerçekleştirilmiştir. Veri analizi, cihazla birlikte verilen Ta60 yazılımı (versiyon 2.21) kullanılarak yapılmıştır.

## 4. BULGU VE TARTIŞMALAR

Bu kısımda tez çalışması kapsamında elde edilen katmanlı yara örtüsünün yara temas tabakası olan nanofiber katmanı ve destek tabakası olarak ipek fibroin/PVA kompozit sünger yapının bulgularına yer verilmiştir.

Elde edilen katmanlı yara örtüsünün derinin epidermis ve dermis tabakalarını taklit etmesi öngörülmektedir. Bu amaçla öncelikle, epidermis tabakasını temsilen, dondurarak kurutma yöntemiyle yüksek gözenekliliğe sahip ipek fibroin bazlı süngerler üretilmiştir. İpek fibron flexibilitate katmak için PVA belli oranlarda karıştırılarak düzgün por dağılımlı ve yara oyuğunu doldurabilecek flexbilitede sünger elde edilmesi sağlanmıştır. Birçok farklı çözeltide süngerler hazırlanarak mekanik ve por yapıları değerlendirilerek en doğru çözelti ve oran seçilmiştir. Bu süngerlerin analizi SEM ile yapılmıştır. Yara örtüsü dermis tabakasını temsilen ipek sünger üzerine çeşitli derişimlerde nanofiberler kaplanarak elde edilmiştir. Sünger yüzeye kaplanacak kolajen nanofiber üretimi için temel sistem parametreleri; akış hızı, uygulanan voltaj ve polimer derişimi optimize edilmiş, bu şartlarda üretilen nanofiberler, biyonanotekstillere olarak kullanılmak üzere ileriki çalışmalar için seçilmiştir.

Genel olarak düşük çözelti derişimlerinde kolajenin nanofiber üretimi hedef alınmıştır. (%1-5) homojen ve düzgün nanofiberler elde edilememiş, Taylor konisi oluşumu gözlenmemiştir. Çözelti derişimi %8-10 arasında ise düzgün yapıda, homojen, çapları 100 nm ile 222 nm arasında değişen nanofiber ağlarının oluştuğu gözlenmiştir. Detaylar aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

### 4.1. Yara Örtü Katmanlarının Morfolojik Özelliklerinin İncelenmesi

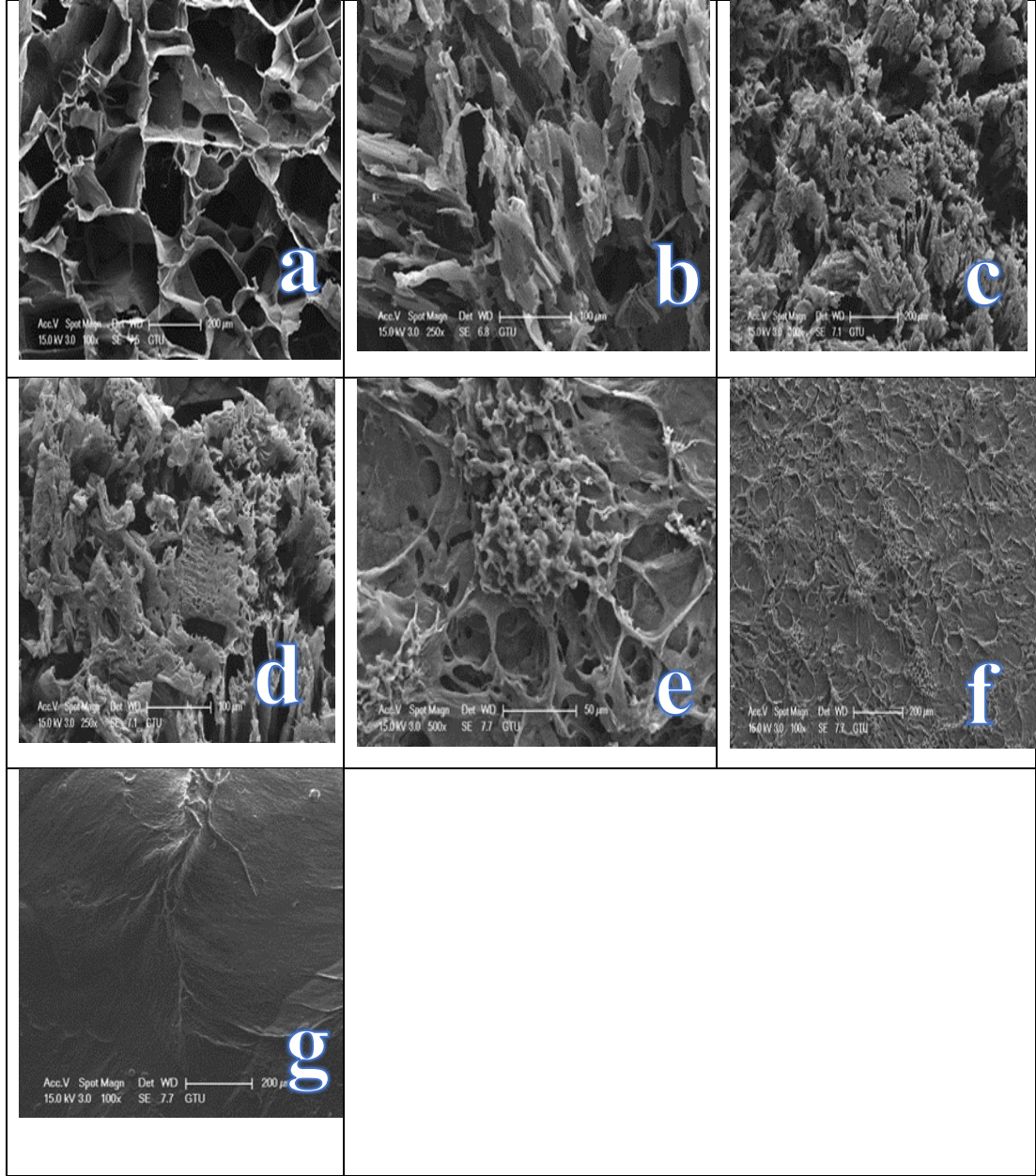
#### 4.1.1. Kompozit Süngerin Morfolojik Özellikleri

Çözünme, ipek fibroini filmlere, jellere, gözenekli iskele malzemelerine ve elektrostatik iplikli ipek liflerine dönüştürmenin tek yoludur. Çözmek için kullanılan çeşitli çözünme sistemleri vardır. Bununla birlikte, birkaç çalışma bu farklı çözücü sistemleri arasındaki farklılıklara odaklanmıştır. Yapılan birçok çalışmada kozadan serisinin uzaklaştırılması ile elde edilen degumming ipeği çözmek için kullanılan

Çözücünün önemi vurgulanmıştır. İki farklı çözücüden elde edilen ipek fibroin çözeltisi ile %6 'lık PVA karıştırılarak elde edilmiştir. İpek fibroin ve PVA çözücülerinden hazırlanan numuneler yüzeydeki gözenek büyüklüğü, iç bölümden daha küçük gözenekli ipek iskeleleri hazırlamak için basit ve çevre dostu bir yöntem olan dondurarak kurutma yöntemi kullanılmıştır (şekil 4.1.).



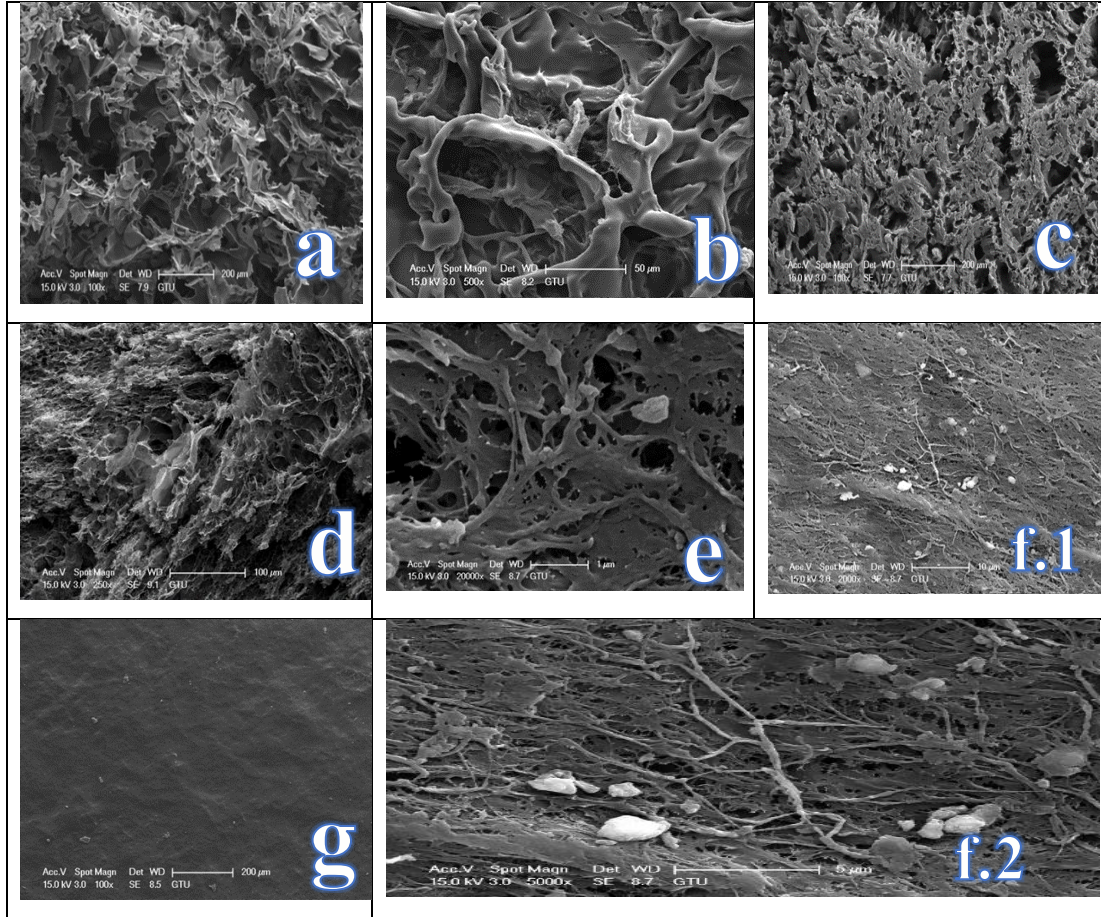
şekil 4.1: Elde edilen kompozit süngerler.



Şekil 4.2:  $\text{CaCl}_2$  elde edilen Kompozit Süngerlerin SEM görüntüsü a) PVA/İpek: 0/10, b) PVA/İpek: 3/7, c) PVA/İpek: 4/6, d) PVA/İpek: 5/5, e) PVA/İpek: 6/4, f) PVA/İpek: 7/3, g) PVA/İpek: 10/0.

$\text{CaCl}_2$ /Etanol/ $\text{H}_2\text{O}$  (Ajiwa) çözücüsünden elde edilen ipek fibroin çözeltisi kullanılarak üretilen kompozit süngerlerin gözenek dağılımları SEM ile incelenmiştir. SEM sonuçları, İpek ve PVA'nın farklı oranlarına sahip tüm örneklerin (PVA/İpek 10:0 sünger hariç) üç boyutlu gözenekli yapılara sahip olduğu göstermektedir. Enine kesitlerin SEM görüntülerine (Şekil 4.2.) göre, gözenekli yapılar İpek/PVA oranlarına bağlı olarak değişmiştir. SEM görüntülerinden, örneklerin PVA/İpek oranı 7:3 olan gözenek boyut dağılımı diğerlerinden daha homojen gözükmektedir. Yüzeyde ki

gözenek büyüklüğü, iç bölümden daha küçük gözenek boyutuna sahiptir. Tüm bunlara ek olarak elde edilen sünger yapı yüzeyinin pürüzsüz olması yara örtü seçiminde önem arz etmektedir. Bu nedenle epidermis tabakasını temsilen  $\text{CaCl}_2/\text{Ethanol}/\text{dH}_2\text{O}$ 'den elde edilen ipek fibroin çözeltileriyle hazırlanan süngerler kullanılmıştır.



Şekil 4.3: LiBr elde edilen kompozit süngerlerin SEM görüntüsü a) PVA/İpek: 0/10, b) PVA/İpek: 3/7, c) PVA/İpek: 4/6, d) PVA/İpek: 5/5, e) PVA/İpek: 6/4, f) PVA/İpek: 7/3, g) PVA/İpek: 10/0.

LiBr çözücüsünden elde edilen ipek fibroin çözeltisi kullanılarak üretilen kompozit süngerlerin gözenek dağılımları SEM ile incelenmiştir. SEM sonuçları, İpek ve PVA'nın farklı oranlarına sahip tüm örneklerin (PVA/İpek 10:0 sünger hariç) üç boyutlu gözenekli yapılara sahip olduğu gözükmektedir. Enine kesitlerin SEM görüntülerine (Şekil 4.3.) göre, gözenekli yapılar İpek/PVA oranlarına bağlı olarak değişmiştir. SEM görüntülerinden, örneklerin PVA/İpek oranı 7:3 olan gözenek boyut dağılımı diğerlerinden daha homojen gözükmektedir. PVA/İpek oranı 7:3 kompozit oranında ise yüzeyde ki gözenek büyüklüğü, iç bölümden daha küçük gözeneğe sahip

olduğu görülmüştür. (Şekil 4.3.f.1-f.2). Bu özellik iskeleleri yara iyileşmesi için daha uygun hale getirecektir. Aynı zamanda nanofibröz yapılar da yüzeydeki gözeneklerin içinde gözükmektedir. Küçük gözeneklerin ve nano liflerin varlığı aynı zamanda ilaçların salım davranışını da düzenleyebilir [97]. Bu özellik ile yara için uygun sünger yapı olduğu gözüksede elde edilen sünger yüzeyin pürüz içeriyor olması yara için uygun olmayan ortam oluşturmaktadır.

#### **4.1.2.Kolajen Nanofiberlerin Morfolojik Özellikleri**

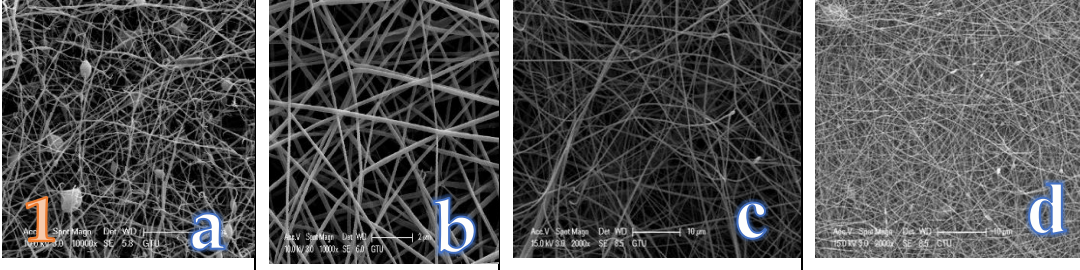
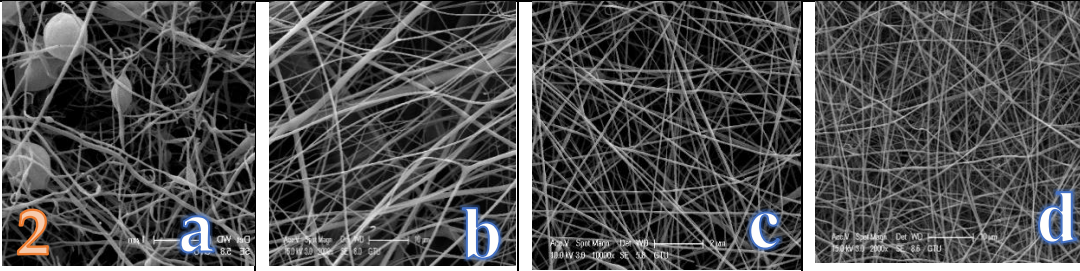
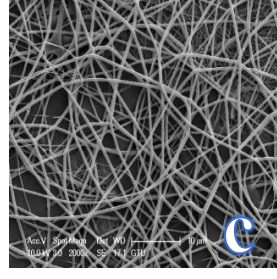
Nanoliflerin mevcut yüksek yüzey alanı kimyasal reaksiyonlar meydana getirebildiği için çok çok küçük ortamlar gerektiren yeni teknolojiler için oldukça uygundur. Esneklik, yüksek porozite, küçük gözenek boyutu, aksel mukavemet gibi özellikleri çok farklı ve geniş uygulama alanları bulmasına neden olur.

Kolajen nanofiber üretiminde belirlenen optimum şartlar altında üç farklı çözücü kullanılmıştır (%6-12 TFE / %6-12 HFIP / %40 -40% HAc). Kolajenin kendine has yapısının (triple helix) korunması amaçlanarak çeşitli çözeltiler denenmiştir. Genel olarak düşük çözelti derişimlerinde kolajenin nanofiber üretimi hedef alınmıştır.

Şekil 4.4 (1) TFE' den elde edilen kolajen nanofiberlerin SEM görüntülerini ifade etmektedir. a) %6 b) %8 c) %10 d) %12; oranlarında hazırlanarak elektrospin makinasında belirlenen optimizasyonlarda nanofiber oluşumları incelenmiştir. a) %6'lık kolajen çözeltisinde düzgün olmayan nanofiber dağılımı mevcuttur. Kolajen oranı artıkça düzgün nanofiber dağılımı elde edilmiştir. Düşük çözelti derişimleri hedef alınarak değerlendirilmiş ve c) %10 kolajen oranı seçilmiştir.

Şekil 4.4 (2)' de HFIP'den elde edilen kolajen nanofiberlerin SEM görüntüleri a) %6 b) %8 c) %10 d) %12; gözükmektedir. Kolajen oranı %6 olduğunda boncuk oluşumu gözlenmiş ve düzgün nanofiber oluşumu olmamıştır. Düzgün nanofiber dağılımı %10 kolajen oranında elde edilmiştir.

Şekil 4.4 (3)' de %40 Asetik Asit çözeltisinden elde edilen nanofiberlerin SEM görüntülerini ifade etmektedir. %40 lık çözelti içerisinde hazırlanan a) %20 kolajen oranında nanofiber oluşumu gerçekleşmemiştir. Kolajen oranı b) %30 olduğunda taylor konisi kısmen oluşmuş fakat nanofiber oluşumu sağlanamamıştır. Kolajen oranı c) %40 olduğunda düzgün nanofiber yapılar oluşmuştur. %40 kolajen oranı artırıldığında ise çözünme gerçekleşmemiştir.

			
TFE Çözeltilisinden elde edilen Kolajen nanofiberlerin SEM görüntüleri a) %6 b)%8 c) 10 d)%12			
			
HFIP Çözeltilisinden elde edilen nanofiberlerin sem görüntüleri a) %6 b) %8 c)%10 d) %12			
<p>Nanofiber oluşumu</p> <p><b>3</b> Yok <b>a</b></p>	<p>Nanofiber oluşumu yok</p> <p><b>b</b></p>		<p>Çözünme yok</p> <p><b>d</b></p>
%40 Asetik Asit çözeltisinden elde edilen nanofiberlerin SEM görüntüsü a) %20 b) %30 c) %40			

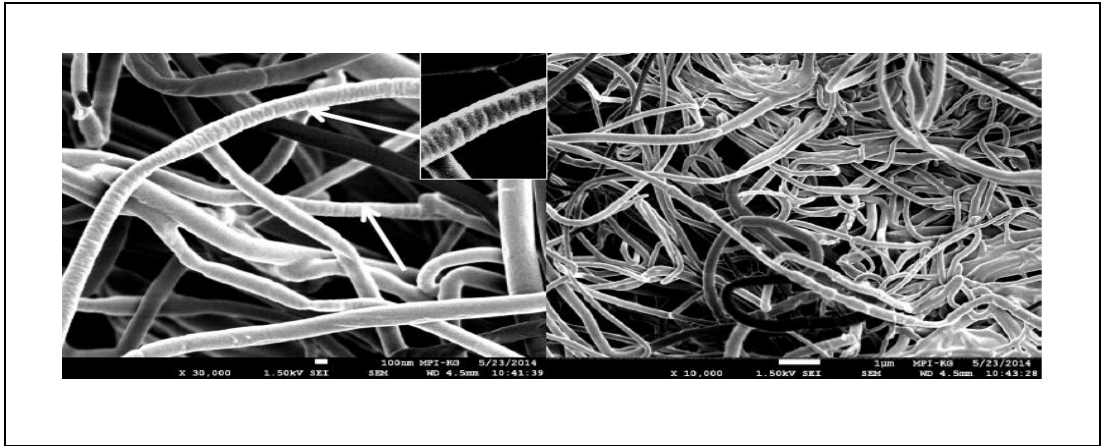
Şekil 4.4: (1) TFE’den elde edilen kolajen nanofiberlerin SEM görüntüleri a)%6 b)%8 c)%10 d)%12; 2) HFIP’den elde edilen kolajen nanofiberlerin SEM görüntüleri a)%6 b)%8 c)%10 d)%12 ; 3) %40 Asetik Asit çözeltisinden elde edilen nanofiberlerin SEM görüntüsü a) %20 b) %30 c) %40.

#### 4.1.2.1. Nanofiber Yapıların SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) Görüntüleri

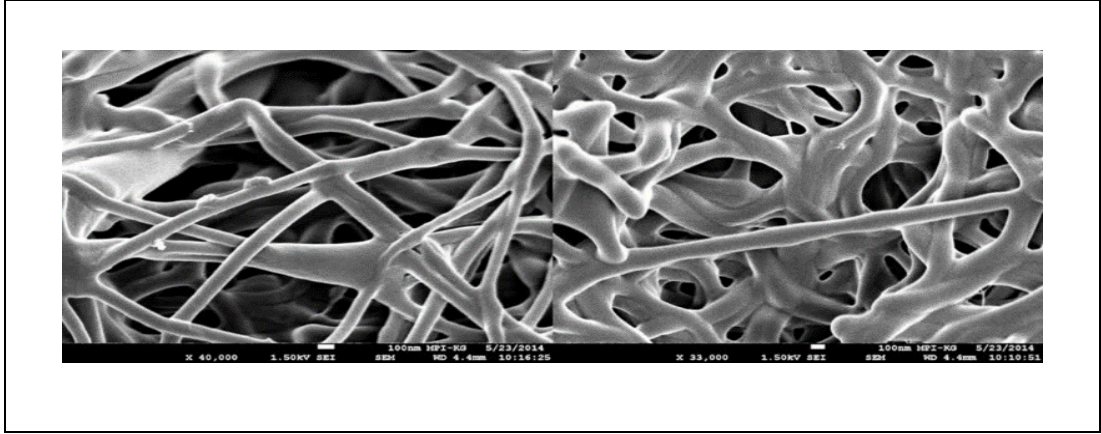
Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.'de, HAc ve TFE'den elde edilen elektrospun nanofiberlerin SEM görüntülerini göstermektedir. Elektrospun nanometre aralığında fiber çapı ile rastgele yönlendirilmiş ve birbirine bağlı lifli kafesler vermiştir. Elektrospun nanofiber çapları esas olarak kolajen konsantrasyonları ve elektrospun çözücüleri tarafından belirlendi. Örneğin, TFE içinde %10 kolajen çözeltisi ile 150 nm ila 200 nm arasında değişen lif çapıyla elektrospun nanofiber üretildi.

Şekil 4.5. 'de gösterilen HAc'den elde edilen nanofiberlerin SEM görüntüsü, lif eksenine dik ve doğal kolajenin D-periyodik modeline benzer bir motif (beyaz okla gösterildiği gibi) göstermiştir. Bunun aksine, Şekil 4.6.'da sunulan TFE'den elektrospun nanofiberlerin SEM görüntüsü herhangi bir motif göstermemiştir. Bunun yerine, kısmen erimiş ve bağlı gözenekli yapı gözlenmiştir.

SEM görüntüleri, bu motifin HAc'den elde edilen elektrospun nanofiberler için kısmen muhafaza edildiğini göstermiştir. D-periyodisitesinin mevcut olması, bu nanofiberlerde muhtemelen üçlü sarmalın belli bir dereceye kadar korunduğu sonucuna varılabilir. TFE'den elde edilen elektrospun nanofiberler için ise erime ve bağlama etkileri daha belirgindir [98].



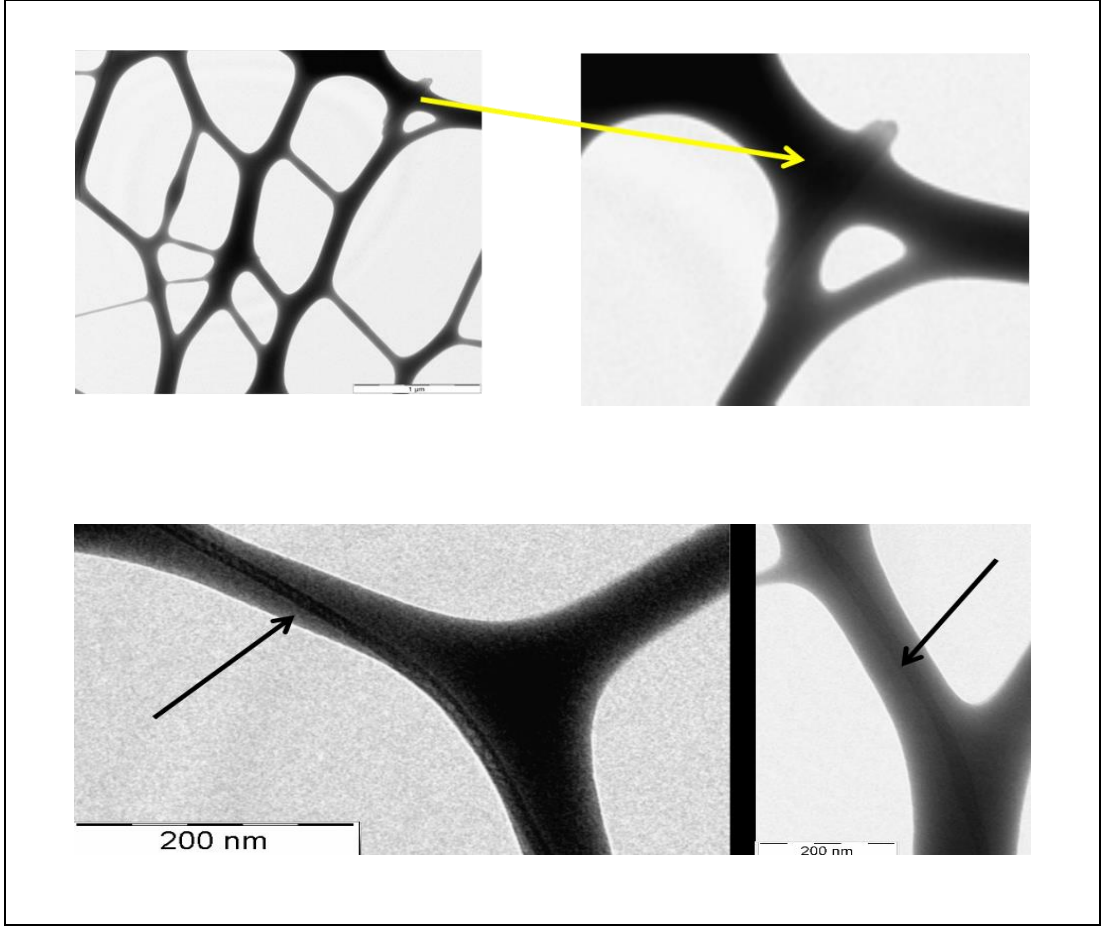
Şekil 4.5: Asetik Asit çözeltisi kullanılarak elde edilen nanofiberlerin SEM görüntüsü.



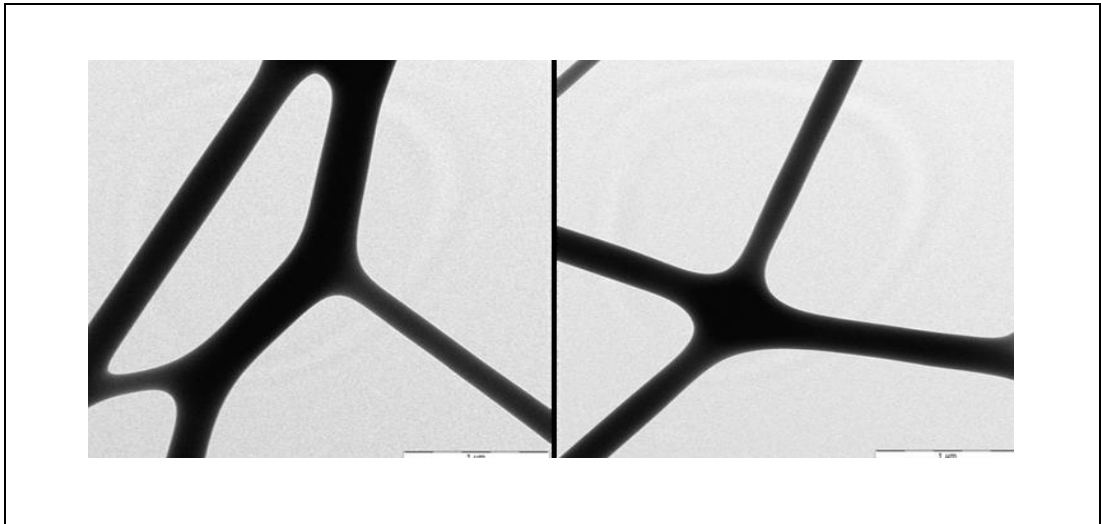
Şekil 4.6: TFE çözeltisi kullanılarak elde edilen nanofiberlerin SEM görüntüsü.

#### **4.1.2.2 Nanofiber Yapıların TEM (Geçirimli Elektron Mikroskobu) Görüntüleri**

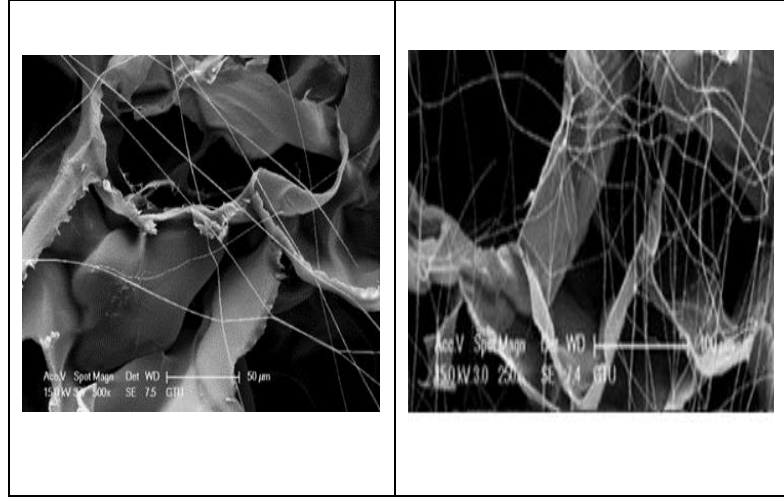
Elektrospun kolajen HAC ve TFE'den elde edilen nanofiber örnekler için TEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.7. ve Şekil 4.8. 'de verilmiştir. Doğal kolajenin karakteristik D-periyodisite kısmen gözlenmiştir. Şekil 4.7.'de gösterildiği gibi HAC'dan elde edilen ve ok ile gösterilen nanofiberler için TEM sonuçları SEM sonuçlarını doğruladı. Nanofiberlerde motif kısımları gözlemlendi. Şekil 4.8 'de TFE'den elde edilen nanofiberlerde SEM görüntülerinde olduğu gibi, TEM görüntüleri üzerinde de herhangi bir katlama etkisi gözlemlenmedi. Böylelikle kolajen konsantrasyonu ve çözücü tipi elektrospun kolajen nanofiberlerin oluşumda önemi ortaya konmuş oldu.



Şekil 4.7: Asetik Asit çözeltisi kullanılarak elde edilen nanofiberlerin TEM görüntüsü.



Şekil 4.8: TFE çözeltisi kullanılarak elde edilen Nanofiberlerin TEM görüntüsü.



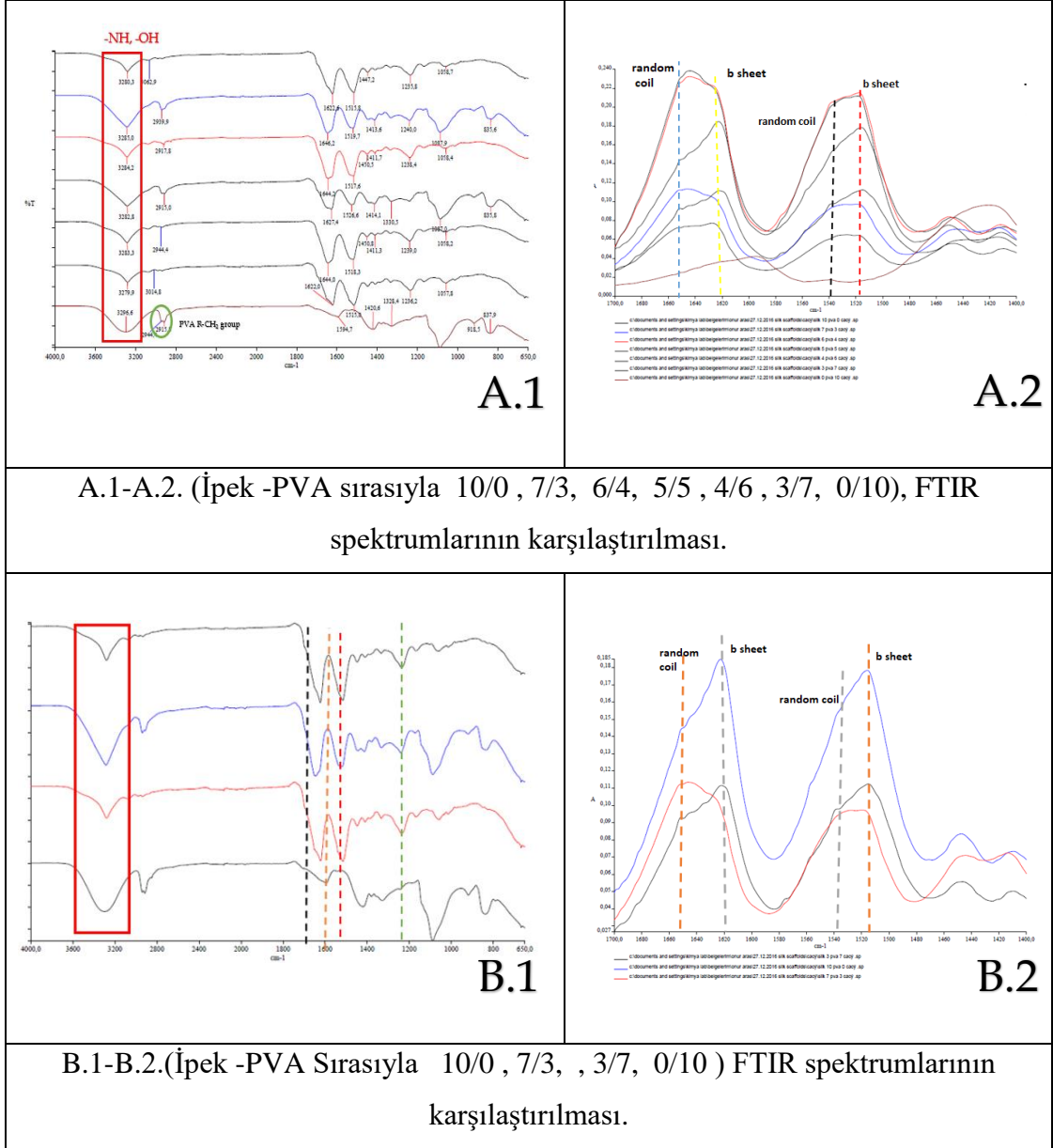
Şekil 4.9: Katmanlı yara örtüsü (İpek sünger üzerine kolajen nanofiber kaplama).

Elde edilen sünger yapılar (PVA/İpek: 7/3) optimizasyon şartlarında belirlenmiş Asetik asitten elde edilen kolajen nanofiberlerle kaplanarak SEM resimleri elde edilmiştir. SEM resimlerinde yüzeydeki nanofiber dağılımının düzgün bir yüzey oluşturduğu gözükmemektedir.

## 4.2. Yara Örtü Katmanlarının Yapısal Özelliklerinin İncelenmesi

### 4.2.1. Kompozit Süngerin Yapısal Özelliği

Farklı derişimlerde hazırlanan PVA-İpek sünger kompozitlerin yapısal değişiklikleri FTIR aracılığıyla açıklanmıştır. İpek FTIR spektrumlarında  $1700\text{ cm}^{-1}$   $1500\text{ cm}^{-1}$  infrared absorpsiyon bandı amid I ve amid II peptid iskeletlerini içine alan banttır. Fibroin bazlı malzemelerin ikincil yapısı silk II yapısının analizi bu aralıkta incelenir. Amid I  $1700\text{ cm}^{-1}$  -  $1500\text{ cm}^{-1}$ , Amid II  $1600\text{ cm}^{-1}$  -  $1500\text{ cm}^{-1}$  aralığını kapsar. Bu bölgedeki absorbans spektrumları, ipek fibroin dahil olmak üzere çeşitli proteinlerin ikincil yapı kompozisyonunu belirlemek için sıklıkla kullanılır [99], [101].



Şekil 4.10: CaCl<sub>2</sub> kullanılarak hazırlanan İpek/PVA kompozit FT-IR eğrilerinin karşılaştırılması.

İpek/PVA kompozit süngerlerin FTIR spektrumları, pikleri ve kimyasal etkileşimleri incelenmiştir. (Şekil 4.10.A.1) İpek/PVA kompozitlerin FTIR spektrumları, karışım içerisinde hem İpek hem de PVA absorpsiyon bantları sergilemiştir. (Şekil 4.10.A.1) de görüldüğü gibi İpek/ PVA kompozit süngerler benzer piklere sahip olduğu gözükmemektedir.

Yaklaşık 3280 cm<sup>-1</sup>'deki gruplar İpek ve PVA 'da hidroksil gruplarını , 2944 cm<sup>-1</sup> pik doymuş C-H gruplarını (-CH<sub>3</sub>) ifade etmektedir. 2939cm<sup>-1</sup> ve ~ 2915cm<sup>-1</sup>'deki bantlar ise C-H germe ile ilişkilendirildi. 1644 cm<sup>-1</sup> 'deki pik (-CH<sub>2</sub>) gruplarını, 1168 cm<sup>-1</sup> ve ~ 1173 cm<sup>-1</sup> 'deki bantlar ise C<sub>4</sub>O grupları ifade etmektedir. PVA'ya atanan

bu bantlar PVA içeriği arttıkça güçlendi. Ayrıca 796 cm<sup>-1</sup> pik C-H eğilme pikine atfedildi. Küçük 596 cm<sup>-1</sup>–605 cm<sup>-1</sup> de bantların NH<sub>2</sub> temsil ettiği öne görülmektedir.

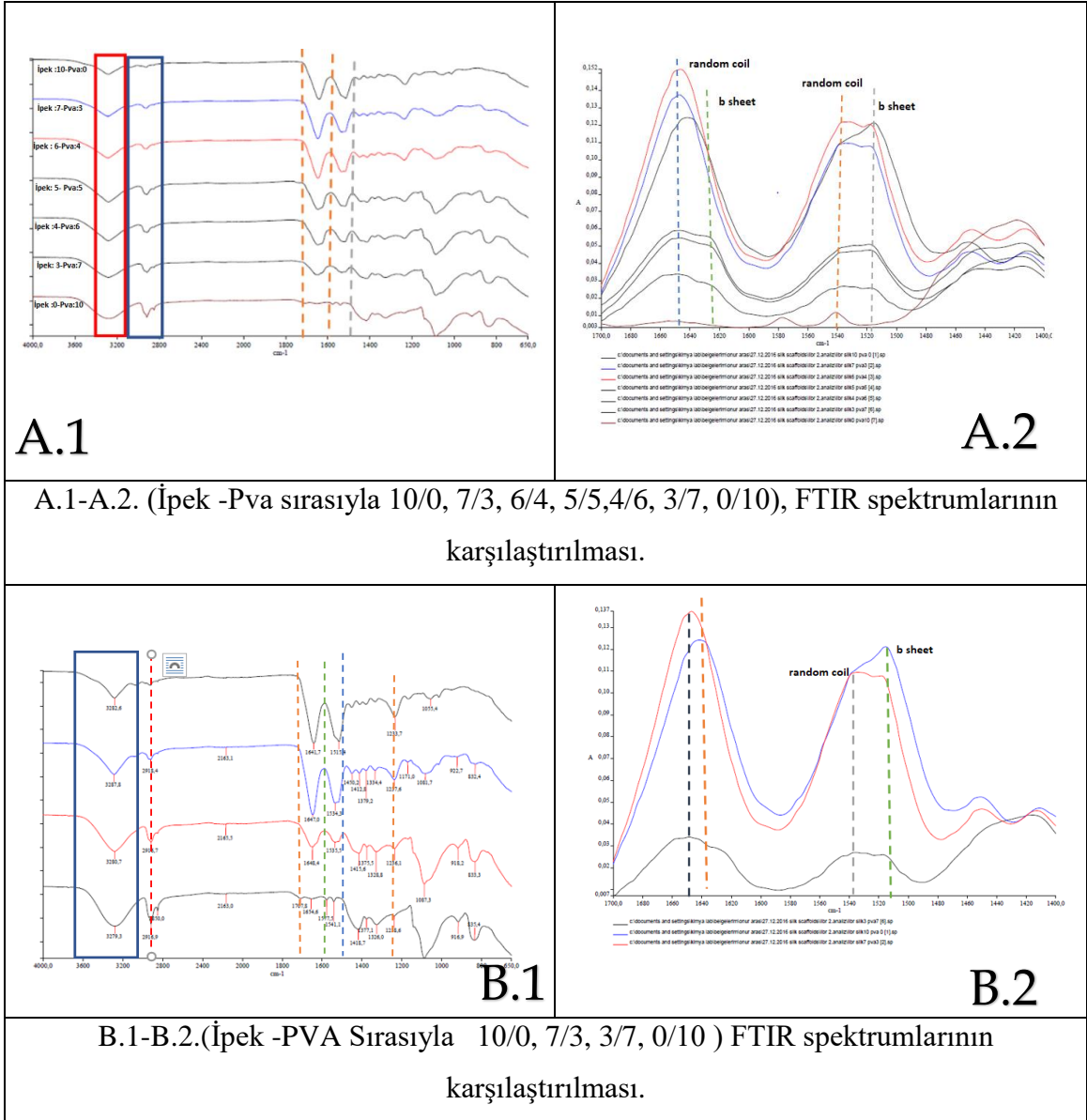
İpek FTIR spektrumlarında, Amid I (1622 cm<sup>-1</sup>–1650 cm<sup>-1</sup>) ve amid II'nin bantları (1515 cm<sup>-1</sup>-1526 cm<sup>-1</sup>) ve amid III (1236 cm<sup>-1</sup>–1240 cm<sup>-1</sup>) ipek fibroine ait pikleri ifade etmektedir. Sünger yapıdaki ipek fibroin, I, II ve III amidlerine karşılık gelen 1622 cm<sup>-1</sup>, 1515 cm<sup>-1</sup> ve 1235 cm<sup>-1</sup> pik değerlerinde β sheet yapı göstermiştir. Bu ikincil yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Spektrumlara bakıldığında amid I, II'nin pozisyonu ve III bantlar PVA ile harmanlandıktan sonra değişim göstermiştir. Bu ise İpek moleküllerinin PVA ile etkileşimleri olduğunu göstermektedir. Şekil 4.10. (A.2-B.2)'de İpek /PVA; 7:3 için 1646 cm<sup>-1</sup> ve İpek /PVA; 6:4 için 1644 cm<sup>-1</sup> deki pik random coil ve α chain yapıda olduğunu göstermektedir. Derişim oranı İpek/PVA; 3:7 olup PVA oranı artığında 1644 cm<sup>-1</sup> deki pik 1622 cm<sup>-1</sup> e kaymıştır. Pikteki bu değişim ise β sheet yapıya dönüşü göstermektedir.

Bir başka ifadeyle, liyofilizasyon yoluyla suyun çıkarılması, amid I absorbans spektrumunun görünümü üzerinde göz ardı edilebilir bir etkiye sahiptir. Kompozit oluşumu üzerine IR absorbansında daha düşük dalga sayısına geçiş gözlemlenmiştir. Amid I'de 1622 cm<sup>-1</sup>'de güçlü bir absorbans sinyali, amid II'nin düşük dalga sayısına geçiş ile birlikte, β sheet (ipek II) yapısında zengin bir örnek olduğunu gösterir.

Şekil.4.10.B.2 de absorbans pikleri verilmiş karışım oranları ile beraber ikincil yapıdaki değişiklikler gösterilmiştir. Değişen piklerde 1645 cm<sup>-1</sup>, 1526 cm<sup>-1</sup>, 1236 cm<sup>-1</sup>, 1233 cm<sup>-1</sup> amid PVA su moleküllerini absorbe ederek kompozit oluşumunda katlanmak için hidrofobik bölgeleri indüklediğin göstergesidir. Ayrılmış bu fazlarda artan PVA oranıyla beraber β Sheet oranı artarak daha sağlam yapıya dönüşmüştür. İpek çözeltilisine PVA eklenmesi, Random Coilden β-tabakalara uzanan ipek yapısal geçişleri desteklemiştir. Bu çalışmada PVA ipek ile karıştırıldığında PVA molekülleri çözelti içinde hızla dağılarak, ipek moleküllerini farklı fazlara ayırmıştır.

Elde edilen İpek/PVA; 3:7 oranındaki kompozitlerin liyofilizasyon işlemi ardından FTIR analizleri yapılmış olup, İpek Fibroin için 1644 cm<sup>-1</sup> de görülen karakteristik pikin, 1622 cm<sup>-1</sup> 'e kaydığı gözlemlenmiştir. 1644 cm<sup>-1</sup> dalga sayısındaki pik random coil, 1622 cm<sup>-1</sup> de bulunan pik ise β-tabakayı ifade etmektedir. Karakteristik pikin dalga sayısının değişimi donmuş fibroin çözeltisi içerisinde meydana gelen konformasyonel değişimlerin varlığını açıklamaktadır.

Hidrofilik bloklar suda çözünürlüğü sağlarken, hidrofobik bloklar arası asosiyasyonlar, fibroinin rastgele yumak yapısından  $\beta$ -tabaka yapısına bir konformasyon geçişine neden olur. İpek fibroinin yapısındaki  $\beta$ -tabakaları malzemeye dayanıklılık ve sertlik kazandırırken, daha düzensiz olan hidrofilik bloklar tokluğu ve elastisiteyi artırır. Fibroin çözeltilerinde oluşan moleküller arası  $\beta$ -tabakaları, fiziksel çapraz bağ etkisi yaparak kararlı süngerlerin oluşmasını sağlamaktadırlar [102]-[104].



Şekil 4.11: LiBr kullanılarak hazırlanan İpek/PVA kompozit FT-IR eğrilerinin karşılaştırılması.

Sekonder yapı değişikliklerinin daha iyi anlaşılması için, rasgele bobinlerin,  $\alpha$ -helislerin,  $\beta$ -tabakaların ve dönüşlerin içerikleri, İpek/PVA iskelelerinin harmanının her iki tarafı için amid I bölgesindeki ( $1600\text{ cm}^{-1}$  - $1700\text{ cm}^{-1}$ ) bantlar ve amid II ( $1500\text{ cm}^{-1}$  -  $1600\text{ cm}^{-1}$ ) tarafından absorbans pikleri belirlenmiştir. Amid I ( $1641\text{ cm}^{-1}$ - $1648\text{ cm}^{-1}$ ) -ve amid II ( $1515\text{ cm}^{-1}$ - $1535\text{ cm}^{-1}$ ) ve amid III ( $1233\text{ cm}^{-1}$ - $1236\text{ cm}^{-1}$ ) bantları ipek fibroine aittir.

Şekil 4.11.(A.2 ve B.2) , $1641\text{ cm}^{-1}$  ve  $1515\text{ cm}^{-1}$  pikleri ikincil yapı olan ipek II ( $\beta$  sheet) konformasyonu için karakteristik olan absorbsiyon pikleridir. Kompozit süngerdeki ipek fibroin, sırasıyla I, II ve III amidlerine karşılık gelen  $1648\text{ cm}^{-1}$ ,  $1535\text{ cm}^{-1}$  ve  $1236\text{ cm}^{-1}$  absorbsiyon pikleri amorf yapı olan ipek I konsantrasyonu için karakteristiktir.

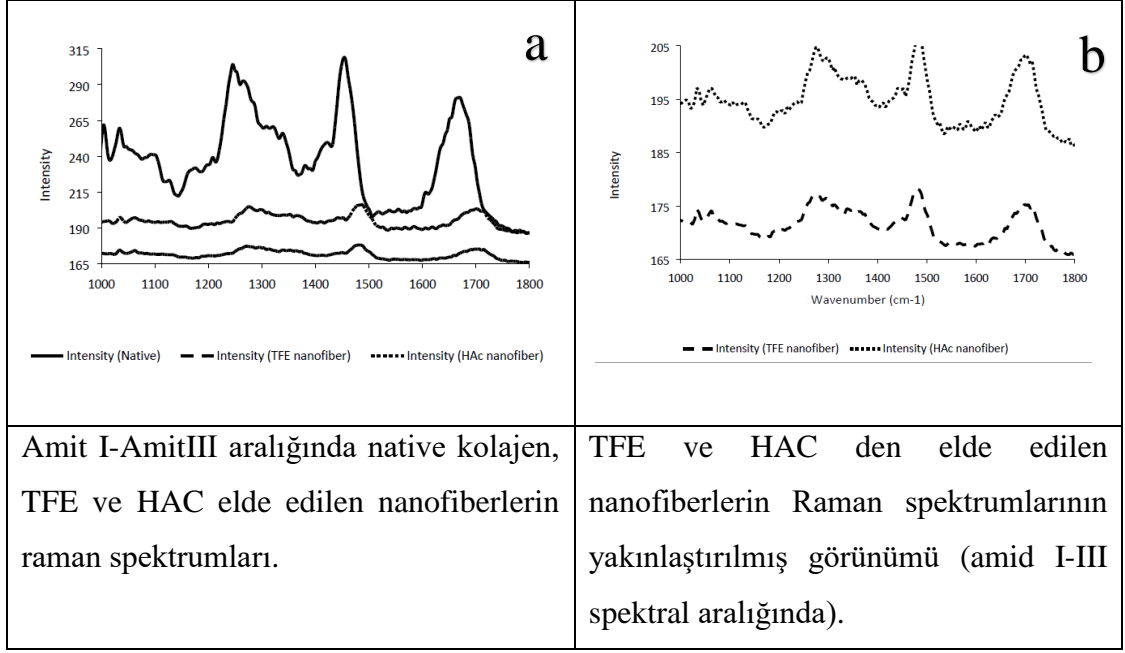
Farklı oranlarda değişen absorbans pikleri PVA ile İpek Fibroinin etkileşim içinde olduğunu kanıtıdır . Şekil 4.11.(A.2 ve B.2)' deki absorbans piklerine bakıldığında İpek/PVA 5: 5 ve 4: 6 , 3: 7 random coil yapının daha yoğun olduğu gözükmektedir İpek/PVA 6: 4, İpek/Pva 10: 0 ile benzer yapılar göstermiştir. Fakat artan PVA oranı ile birlikte  $\beta$  sheet oranının azaldığı gözükmektedir. Kompozit oranı İpek/PVA 3: 7 'ye geldiğinde ise numune absorbans pikleri yayvan bir dağılım göstererek hem random coil yapı hemde kısmen  $\beta$  sheet yapı oluşumunu desteklemektedir [100], [105]-[107].

## 4.2.2. Kolajen Nanofiberlerin Yapısal Özelliği

Doğal kolajen, TFE ve HAc'nin elektrospun kolajen nanofiberlerinin yapısını analiz etmek için Raman spektroskopisi kullanıldı. Bu optik teknik, katı kolajen materyallerde ikincil yapıdaki değişikliklerin karakterize edilmesi ve kısmen açılmış olan proteinlerin konformasyonel bileşenlerinin tanımlanması amacıyla kullanılmıştır. Şekil 4.12. a) TFE ve HAc'den elde edilen doğal ticari kolajen tozunun ve kolajen nanofiberlerinin spektrumlarını göstermektedir. Kolajen tozu için, Raman sinyallerinin çok daha yüksek bir yoğunluğu gözlenmiştir. Kolajen nanofiber malzemelerindeki aynı örnekleme hacmi ile karşılaştırıldığında, toz yoğunluğu çok yüksektir. Yüksek frekans bölgesinde gözlemlenen Raman bantları, kolajen tozu için amid III ( $1249\text{ cm}^{-1}$ ), CH bükme modu ( $1450\text{ cm}^{-1}$ ) ve amid I ( $1675\text{ cm}^{-1}$ ) 'dir [108], [109].

Şekil 4.12. b) TFE ve HAc'den elde edilen elektrospun kolajen nanofiberlerinin Raman bantları üzerinde yakınlaştırılmış bir görünümü göstermektedir. Yüksek frekans bölgesinde gözlemlenen geniş bantlar, amid III ( $1270\text{ cm}^{-1}$ ), C-H eğilme modu ( $1480\text{ cm}^{-1}$ ) ve amid I'dir ( $1700\text{ cm}^{-1}$ ). Genelde tüm Raman bant pozisyonları kolajen nanofiber yapıları için daha yüksek dalgacıklara geçmektedir. Yüksek frekans bölgesinde gözlemlenen Raman bantları, kolajen tozu için amid III ( $1249\text{ cm}^{-1}$ ), CH bükme modu ( $1450\text{ cm}^{-1}$ ) ve amid I ( $1675\text{ cm}^{-1}$ ) 'dir. Şekil 4.12.a, TFE ve HAc'den elde edilen elektrospun kolajen nanofiberlerinin Raman bantları üzerinde yakınlaştırılmış bir görünümü göstermektedir. Yüksek frekans bölgesinde gözlemlenen geniş bantlar, amid III ( $1270\text{ cm}^{-1}$ ), C-H eğilme modu ( $1480\text{ cm}^{-1}$ ) ve amid I'dir ( $1700\text{ cm}^{-1}$ ). Genel olarak, tüm Raman bant pozisyonları kolajen nanofiber yapıları için daha yüksek dalga boylarına geçer. Protein ikincil yapısı ile ilgili bilgiler Raman amide I bandında ( $1640\text{ cm}^{-1}$ -  $1740\text{ cm}^{-1}$ ) ve amid III bandında ( $1230\text{ cm}^{-1}$ -  $1300\text{ cm}^{-1}$ ) spektral aralığı yansıtmaktadır. Amid I bandının, C=O gerilmesinden önemli bir katkısı bulunurken, amid III bandı, düzlem deformasyonunda N-H'den bir katkı içerir. Sarmal proteinlerde ve peptitlerde, amid I bandı,  $1655\text{ cm}^{-1}$  'de merkezlenir. Raman spektroskopisinde bu, düzenli bir sarmalın katkısı için bir işaretleyici bant işlevi görmüştür. Bu bant sıralı yapılar için sıkıdır ve heliks ortaya çıktığında ve sırasız hale geldiğinde daha geniş ve özelliksiz hale gelir.

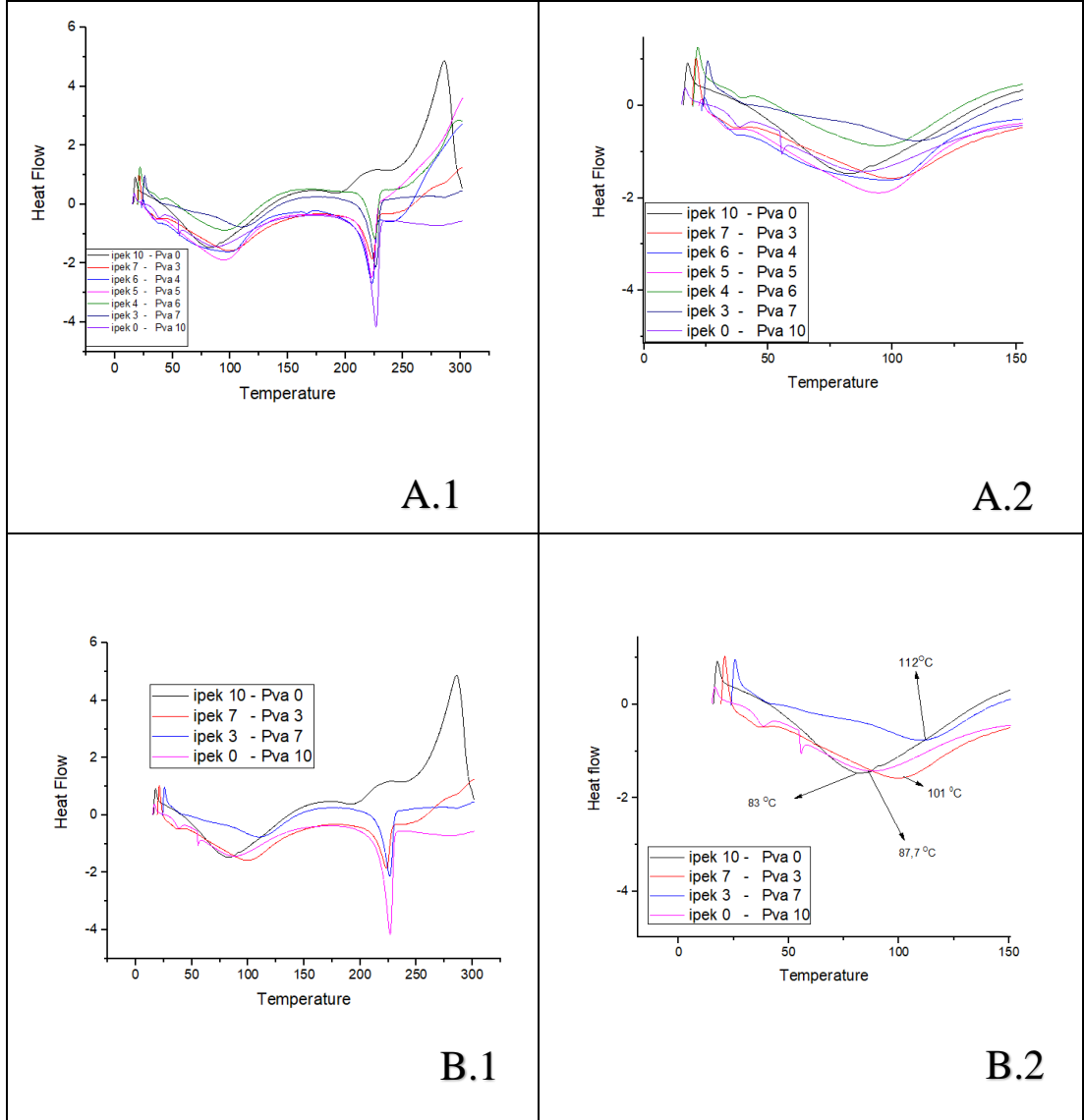
Kolajenin termal denatürasyonu üzerindeki en çarpıcı fark, Polipeptidlerin ve proteinlerin Raman spektrumlarının uyumlu olarak hassas bölgesi olan amid III bölgesinde görülebilir. Şekil 4.12.b de  $1270\text{ cm}^{-1}$ 'de TFE solventinden üretilen nanofiberler çok zayıf bir Raman sinyaline sahiptir. Bu ise amid III bandının kolajen için neredeyse tamamen çöktüğünü göstermektedir [98].



Şekil 4.12: a) AMİD I-AMİD III aralığında native kolajen, TFE ve HAC elde edilen nanofiberlerin raman spektrumları b) TFE ve HAC'den elde edilen nanofiberlerin Raman spektrumlarının yakınlştırılmış görünümü (Amid I-Amid III Raman spektrumlarının karşılaştırılması).

## 4.3. Yara Örtü Katmanlarının Termal Davranışlarının İncelenmesi

### 4.3.1. Kompozit Sünger Yapının Termal Özellikleri



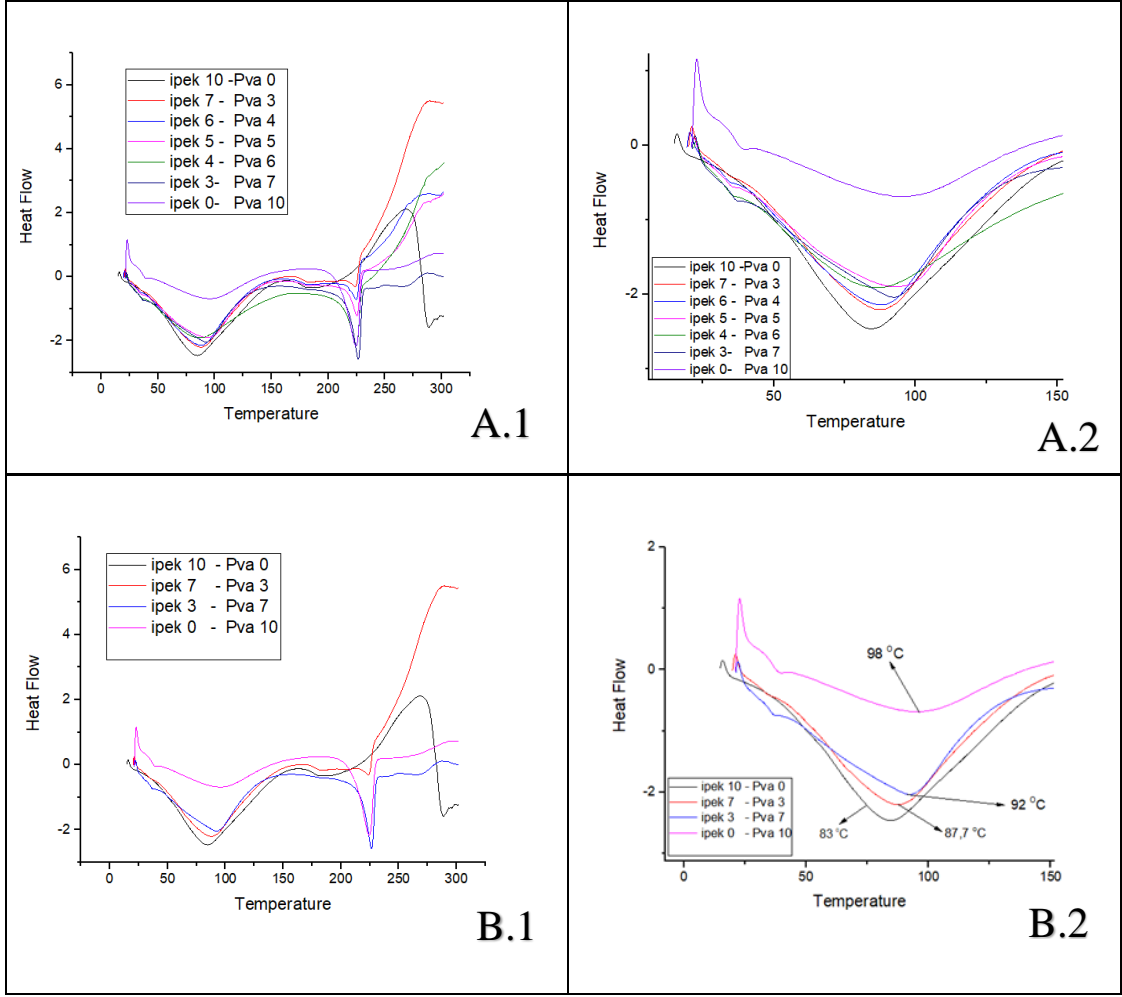
Şekil 4.13: CaCl<sub>2</sub> kullanılarak hazırlanan İpek/PVA kompozit DSC eğrilerinin karşılaştırılması A.1-A.2 (İpek -PVA sırasıyla 10/0 , 7/3, 6/4, 5/5 , 4/6 , 3/7, 0/10) B.1-B.2 (İpek -PVA Sırasıyla 10/0 , 7/3, 3/7, 0/10 ).

İlk olarak suyun uzaklaşması kaynaklı endotermik bir pik göstermiştir. Diğer endotermik pik yaklaşık 98 °C civarında gözükmiştir. Bu sıcaklık amorf yapıdaki fiberlerin termal bozunma sıcaklığıdır.

Amorf yapıdaki fiberlerin camsı geçiş sıcaklığı ( $t_g$ )  $55^\circ\text{C}$ deki zayıf endotermik pik ile gözlemlenmiştir.  $225^\circ\text{C}$ 'deki kuvvetli endotermik pik ipek II (B kristalin) yapıdaki sünger için termal bozunma sıcaklığıdır. Diğer endotermik pik yaklaşık  $83^\circ\text{C}$  civarında gözükmiştir. Bu sıcaklık amorf yapıdaki fiberlerin termal bozunma sıcaklığıdır.

PVA eklenmesiyle, lifli iskelelerin cam geçiş sıcaklığı (İpek: PVA 7/3 ( $101^\circ\text{C}$ ), 3/7 ( $112^\circ\text{C}$ )) artan bir eğilime sahip olmaktadır. Bu ise yapının ( $\beta$  sheet) kararlı hale gelmesinden kaynaklanmaktadır.  $225^\circ\text{C}$  deki kuvvetli endotermik pik ipek II ( $\beta$  kristalin) yapıdaki ipek fibroin için termal bozunma sıcaklığıdır.  $\text{CaCl}_2$  den elde edilen İpek/Pva 3:7,  $225^\circ\text{C}$  de termal bozunma sıcaklığında benzer pik göstermiştir. Bu ise ipek II yapısından oluştuğunu göstergesidir.

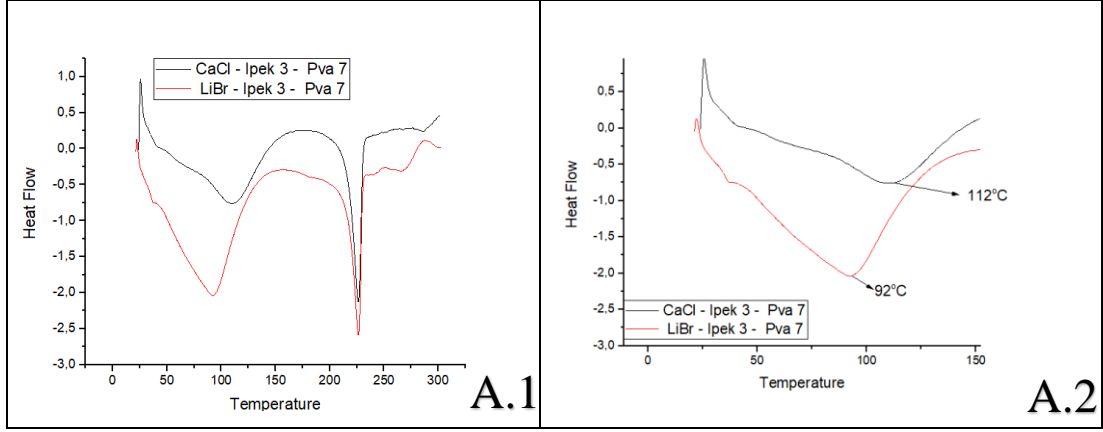
İpek/PVA; 7:3 ve İpek/PVA; 3:7 karışımlarındaki Pva bileşeninin camsı geçiş sıcaklığı, sırasıyla bileşenler arasında karıştırma olduğunu gösteren  $101^\circ\text{C}$  ve  $112^\circ\text{C}$ 'ye kaymıştır (Şekil 4.13.(B.2)). Ayrıca karışımlardaki fibroin oranının artmasıyla camsı geçiş noktasında bir düşüşe neden olmaktadır [100], [101], [104], [110].



Şekil 4.14: LiBr kullanılarak hazırlanan İpek/PVA kompozit DSC eğrilerinin karşılaştırılması A.1-A.2. (İpek -PVA sırasıyla 10/0 , 7/3 , 6/4 , 5/5 , 4/6 , 3/7 , 0/10) B.1-B.2.(İpek -PVA Sırasıyla 10/0 , 7/3 , 3/7 , 0/10 ).

İpek liflerin LiBr’de çözünmesinden elde edilen ipek fibroinlerin cam geçiş sıcaklığı 83 °C’ye kaymıştır. Amorf yapıdaki fiberlerin camsı geçiş sıcaklığı (T<sub>g</sub>) 58 °C deki zayıf endotermik pik gösterir. PVA eklenmesiyle, lifli iskelelerin cam geçiş sıcaklığı (İpek: PVA 7/3 (87,7 °C), 3/ 7 (92 °C) 0/ 10 (98°C)) artan bir eğilime sahip olmaktadır. PVA ve ipek arasındaki hidrojen bağı ile sabitlenmiş, bu da ipek moleküllerinin kristalleştirilmesinde ve sıcaklıklarının arttırılmasında yardımcı olmuştur.

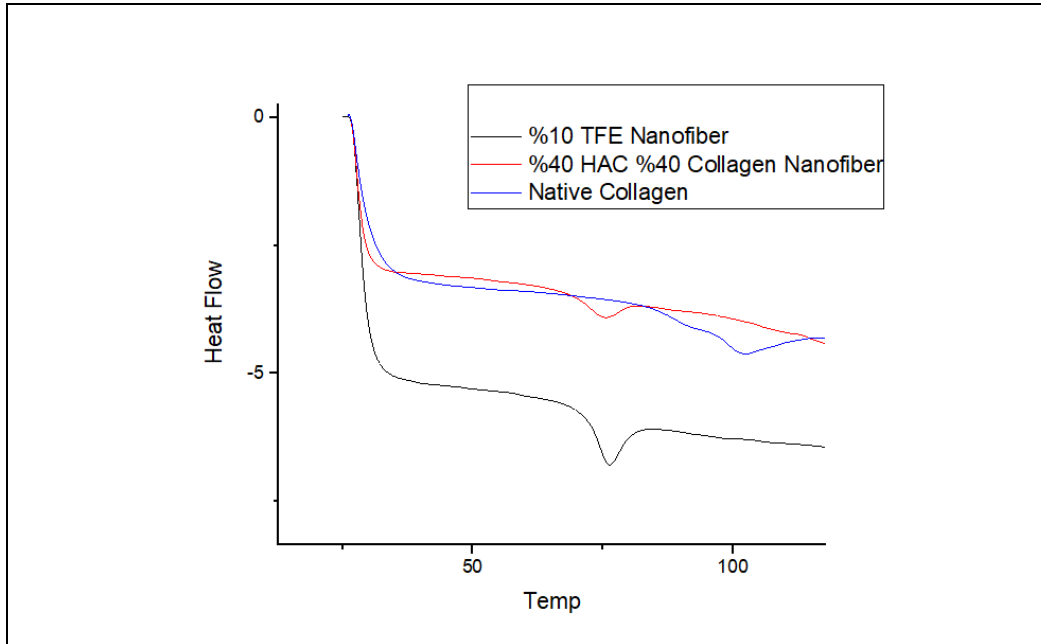
225 °C deki kuvvetli endotermik pik silk II (β kristalin) yapıdaki ipek fibroin için termal bozunma sıcaklığıdır. Fakat LiBr den elde edilen İpek-PVA 3:7, 225 °C de termal bozunma sıcaklığında zayıf pik göstermiştir. Karışımın termal davranışındaki değişiklik, muhtemelen fibroinin amorf doğasının karışımlardaki kristallerin uygun gelişimini bozmasından kaynaklanmaktadır [100], [101], [104], [110].



Şekil 4.15: Farklı çözücülerden elde edilen İpek-PVA sünger kompozitlerin DSC eğrilerinin karşılaştırılması (A.1-A.2).

Şekil A.1-B.1 İpek LiBr Örnekler en düşük ipek I (random coil) yapısına sahipken, CaCl<sub>2</sub> numuneler en yüksek ipek II ( $\beta$  sheet) yapısına ve termal stabiliteye sahiptir. (İpek/PVA :7/3 (112 °C, CaCl<sub>2</sub>), 7/3 (92 °C (LiBr),). CaCl<sub>2</sub>'den elde edilen sünger yapının termal olarak kararlı olduğu gözükmektedir, bu ipek II yapısının yüksek yoğunluğundan kaynaklandığı öngörülmektedir.

#### 4.3.2. Kolajen Nanofiber Yapının Termal Özellikleri



Şekil 4.16: Doğal kolajen, TFE ve HAC'den elde edilen DSC eğrilerinin karşılaştırılması.

Şekil 4.16, TFE ve HAc'den hazırlanan doğal kolajen ve iki farklı elektrospun kolajen nanofiberlerinin DSC sonuçlarını göstermektedir. Karakteristik endotermik pik, her iki elektrospun lifleri için daha düşük sıcaklıklara kaymıştır. Bu bant pozisyonu, esas olarak, kolajenin üçlü yapısının açılması ve kolajen yapılarından gelen bağlı suyun uzaklaşması ile ilgilidir. Pik kayma, florlanmış çözücülerden elde edilen kolajen nanofiberler için daha belirgindir. Native kolajen için en yüksek pik 95 °C civarında iken, HAc ve TFE'den elde edilen nanofiberler için sırasıyla 75 °C ve 70 °C civarındadır. Kolajen-kolajen ve kolajen-su etkileşimleri entalpi etkilerine neden olur. Elektrospun kolajen nanofiberlerde daha az hidrojen bağının, kolajenin sağ eli üçlü sarmal yapısının zincirler arası hidrojen bağları ile dengelendiği native yapıya göre var olduğu sonucuna varılabilir. Isıtmaya tabi tutulduğunda, florlanmış çözücü sisteminden elde edilen nanofiberlerin çoğunda kolajen moleküllerinin orijinal üçlü sarmal yapısı bozulur. Ayrıca bu yapıyı parçalamak için çok az enerji gerektiği söylenebilir [98].

## 5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Diyabet hastalığı tüm dünyada 250 milyon kişide, ülkemizde ise ülke nüfusunun %7,2 'sinde görülmektedir. Bu hastaların %25'inde diyabetik ayak ülseri görülmektedir. AB'de her yıl 2.400.000 kişi yanık nedeniyle hastanelere başvurmaktadır. Bunların 130.000'i hospitalize edilmekte, 10.000 – 12.000 kişi yanık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Ülkemizde sağlıklı istatistiksel veriler olmasa da yaklaşık 1.000.000 kişi yanık nedeniyle hastanelere başvururken, bunların 12.000 – 13.000'i tedavi edilmekte ve yaklaşık 2000 kişi yanık nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Bu rakamlara bakıldığında diyabetik ayak ülserlerinin ve yanıkların dünyada ve ülkemizde önemli vakalar olduğu görülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında, diyabetik ayak ülserleri gibi kapanmayan yaraların ve derin yanık yaralarının tedavisinde kullanılabilecek katmanlı kolajen yara örtüsü üretilmiştir. İlk katmanda ipek kozasından, derinin epidermis tabakasının taklit edilmesi amacıyla gözenekli ipek fibroin sünger elde edilmiştir. Elde edilen İpek fibroinin/PVA çözeltilerinin dondurarak kurutma işleminde yapısal geçişlerin olması, yapıda homojenliğin sağlanabilmesi önem arz etmektedir. Bu sebeple tez çalışmasında ipek pamukları solüsyon haline getirmede çözeltili seçiminin önemini ortaya çıkarmıştır. Burada kozadan sericinin uzaklaştırılması ile elde edilen pamuk ipeklerin çözünmesinde ipeğin ikincil yapısını korumak adına 2 farklı çözeltili denenmiştir (CaCl<sub>2</sub>-Etanol-dH<sub>2</sub>O ve LiBr). Daha sonra süngerde yapısal kararlılık, sağlamlık, elastisite sağlamak amacıyla belli oranlarda PVA eklenmiştir. İpek-PVA kompozit yapılar elde edilerek, yapısal olarak homejen gözenek dağılımının sağlanması amaçlanmıştır. Yapısal kararlılıktaki değişim, ipeğin ikinci yapısının karakterize edilmesiyle ortaya konmuştur. Artan pva hidrofilik etkileşime bu ise termal kararlılığa sebep olmuştur. İlk olarak sünger kompozitlerin SEM resimleri incelenerek gözenek dağılımları gözlenmiştir. PVA/İpek oranı 7:3 olan gözenek boyut dağılımı diğerlerinden daha homojen gözükmektedir. PVA/İpek oranı 7:3 kompozit oranında ise yüzeyde ki gözenek büyüklüğü, iç bölümden daha küçük gözeneğe sahip olduğu görülmüştür. (Şekil 4.2. f.). Bu özellik iskeleleri yara iyileşmesi için daha uygun hale getirecektir.

CaCl<sub>2</sub> den elde edilen ipek fibroinle üretilmiş İpek/PVA; 3/7 kompozit süngerin alt ve üst yüzeyden alınan örneklerde benzer  $\beta$ -sheet yapıların olması ,artan PVA ile

konformasyonel değişime sebep olduğu fakat çözelti olarak LiBr kullanıldığında konformasyonel değişimin random coil olduğu gözükmeğdir. Guotao Cheng ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada LiBr-H<sub>2</sub>O ile çözünen ipek pamukların konformasyonel değişimi desteklemediğini kanıtlamışlardır [111]. SEM analizleriyle süngerin, epidermis tabakasındaki fibroblast hücre büyümesi ve yayılmasını sağlayabilecek gözenekli yapıya sahip olduğu gösterilmiştir.

Dermisin yapısının taklit edilebilmesi için ipek süngerlerin üzeri elektrospon yöntemiyle nano boyuttaki kolajen fiberler ile kaplanmıştır. Bu fiber tabakayla dermisin bariyer ve oksijen/nem dengesini sağlama görevini gerçekleştirebilecek gözenekli yapı elde edilmiştir. Bu gözenekli yapı fibroblastların büyümesi için yeterlidir. Kolajenden nanofiber üretimi gerçekleştirilirken kolajenin öz yapısı olan triple helix yapısının korunması amaçlanmıştır. Kolajen nanofiber yapıların yeni cilt hücrelerini yara bölgesine çekerek, iyileşmeyi hızlandıracağı öngörülmektedir. Aynı zamanda epitel hücrelerin bağımsız hareket etmesine izin veren optimum koşulları sağlayacak ve hücrelerin yenilenmesine olanak sağlayacak etkin oksijen sirkülasyonunu da sağlayacaktır.

Katmanlı kolajen bazlı yara örtüsünün derinin yapısı ve işlevini taklit etmesinden dolayı, piyasadaki mevcut yara örtü malzemelerine göre üstünlük göstereceği buna bağlı olarakda, üretilen bu katmanlı doku iskelesinin hem bilime hem de ticarileşme potansiyeliyle ekonomiye katkısının büyük olacağı düşünölmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Maria B., Witt M.D., Barbul A., (1997), ‘‘ General Principles of Wound Healing’’, Surgical Clinics of North America, 77 (3), 509-528.
- [2] Mendez E. S., (2005), ‘‘Wound Dressing Categories’’ Plastic Surg. Nurs., 25 (2), 95-99.
- [3] Chattopadhyay S., Raines R. T.,(2014), ‘‘Review Collagenbased Biomaterials For Wound Healing’’, Biopolymers, 101 (8), 821–33.
- [4] Singh O., Gupta S. S., Soni M., Moses S., Shukla S., Mathur R. K., (2011), ‘‘Collagen Dressing Versus Conventional Dressings İn Burn And Chronic Wounds’’ A Retrospective Study, 4 (1), 12–6.
- [5] Kloeters O., Unglaub F., Laat E., Abeelen M., Ulrich D., (2016), ‘‘Prospective and randomised evaluation of the proteasemodulating effect of oxidised regenerated cellulose/collagen matrix treatment in pressure sore ulcers ’’ Int Wound J., 13(6).1231-1236.
- [6] Gottrup F., Cullen B. M., Karlsmark T., Bischoff M. M., Nisbet L., Gibson M. C., (2013), Randomized Controlled Trial On Collagen/Oxidized Regenerated Cellulose/Silver Treatment. Wound Repair Regen’’, 21 (2), 216–25.
- [7] Aras O., Kazanci M., (2015), ‘‘Production Of Collagen Micro- And Nanofibers For Potential Drug-Carrier Systems’’, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 30 (6), 1-4.
- [8] Web 1, (2014.), <http://www.nanodev.com.tr/elektro-spin-cihazı-ve-nanolif/>, (Erişim Tarihi:12/09/2017)
- [9] An J., Zhang H., Zhang J., Zhao Y., Yuan X., (2009), ‘‘Preparation And Antibacteril Activity Of Electrospun Chitosan / PEO Membranes Containing Silver Nanoparticles’’, Colloid & Polymer Science, 287 (12),1424-1434.
- [10] Chen J. P., Chang G .Y., Chen J. K. (2008), ‘‘Electrospun Collagen/Chitosan Nanofibrous Membrane As Wound Dressing’’, Colloids and Surfaces, 313 (32), 183-188.
- [11] Akturk O., Tezcaner A., Bilgili H., Deveci M. S., Gecit R., Keskin D., (2011), ‘‘Evaluation Of Sericin/Collagen Membranes As Prospective Wound Dressing Biomaterial, Journal Of Bioscience And Bioengineering’’, 112 (3), 279-288.
- [12] Grinia M. N., Raquel F. W., Wellington C. V., Andrea C. D. R., Olga Z. H., Marisa M. B., (2009), ‘‘A New Method To Prepare Porous Silk Fibroin Membranes Suitable For Tissue Scaffolding Applications’’, Journal of Applied Polymer Science,114 (1), 617-623.

- [13] Kim S. E., Heo D. N., Lee J. B., Kim J. R. , Park S. H., (2009), ‘‘Electrospun Gelatin/Polyurethane Blended Nanofibers For Wound Healing’’, Biomedical Materials, 4(4),044106
- [14] Maleki H., Gharehaghaji A. A., Dijkstra P. J. (2013), ‘‘A Novel Honey-Based Nanofibrous Scaffold For Wound Dressing Application’’, Journal of Applied Polymer Science, 127 (5), 4086-4092.
- [15] Web 2, (2014),), <http://www.eonsaglik.com/uploads/documents/kollagen.pdf>, (Erişim Tarihi:12/09/2017)
- [16] Soos A., Granick M., Tomaselli N.,(2014), ‘‘Wound Dressing and Comparative Effectiveness Data’’, Advances in Wound Care, 3 (8), 511-529.
- [17] Web 3, (2014),), <https://www.hakanbuzoglu.com/deri-ve-derinin-yapisi>, (Erişim Tarihi:12/09/2017)
- [18] Web 4, (2014),), <https://evdesifa.com/deride-yaralar>, (Erişim Tarihi:12/09/2017)
- [19] Sherris D. A., Kern E. B., (1999), ‘‘The Wound. In Basic Surgical Skills, Mayo Foundation For Medical Education And Research’’, Rochester, 8-12.
- [20] George Han and Roger Ceilley., (2017), ‘‘Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments ’’,Advances in Therapy,34(3):599-610
- [21] Zbigniew, R., Schwartz, R. A., (2000), ‘‘Modern aspects of wound healing: An update’’, Dermatol Surg. 26(3), 219–229.
- [22] Shettys V., Bertolami C. N., (2004), ‘‘Peteron’s Principles of Oral and Maxillofacial Surgery’’,2th Edition, Ontario.
- [23] Bowler P. G., (2002), ‘‘Wound Pathophysiology, Infection and Therapeutic Options’’Annals of Medicine, 34 (15), 27-419.
- [24] Hunt T. K., Conolly W. B., Aronson S. B., (1978), ‘‘Anaerobic Metabolism And Wound Healing: A Hypotesis For The Initiation And Cessation Of Collagen Synthesis İn Wounds. The American Journal of Surgery.’’, 135 (27), 32-328.
- [25] Gottrup F., (2002), ‘‘Oxygen, Wound Healing and the Development of Infection’’, European Journal Surgery, 168(5), 260-263
- [26] Krueger J. K., Rohrich R. J., (2001), ‘‘Clearing The Smoke: The Scientific Rationale For Tobacco Abstention With Plastic Surgery’’, Plastic and Reconstructive Surgery, 108(4), 1063-1074.
- [27] Greenhalgh D. G., (2003), ‘‘Wound Healing and Diabetes Mellitus’’, Clinics in Plastic Surgery, 30(1), 37-45.

- [28] Beauchamp R. D., Evers B M., Mattox K.,(2016), ‘‘Sabiston Textbook of Surgery’’,20th Edition, Courtney Townsend.
- [29] Burns J, P., (2000), ‘‘HIV/AIDS Impact on Healing’’, *Osteotomy Wound Manage* ,46(3), 30-40.
- [30] Anstead G. M., (1998), ‘‘Steroids, Retinoids and Wound Healing’’, *Advance Wound Care*, 11(6), 277–85. .
- [31] Köklü A. H., (2013), ‘‘ L-Karnitinin Oral Mukozada Yara İyileşmesi Üzerine Etkisinin Farklı Yöntemlerle İncelenmesi’’, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi.
- [32] Broussard C. L., (2003) ‘‘Hyperbaric Oxygenation and Wound Healing’’, *Journal of Wound Ostomy and Continence Nursing*, 30(4), 210–216.
- [33] Perez R., Davis S. C., (2008), ‘‘Relevance of Animal Models for Wound Healing’’, *Wounds*, 20(1), 169-76.
- [34] Brown K. L., Phillips T. J., (2010), ‘‘Nutrition and Wound Healing’’, *Clinics in Dermatology*’’, 28(4), 432-9.
- [35] Grant P. J., (1997), ‘‘Nutrition and Metabolism in the Surgical Patient’’, *Annals of Surgery*,226(5),663.
- [36] Scholl D., Langkamp H. B., (2001), ‘‘Nutrient Recommendations for Wound Healing’’, *Journal of Intravenous Nursing*, 24(2), 124–132.
- [37] Robson M.C., Steed D.L., Franz, M. G., (2001), ‘‘Wound Healing: Biologic Features and Approaches to Maximize Healing Trajectories’’, *Current Problems in Surgery*, 38 (2), 71-141
- [38] Hanna J.R., Giacobelli J.A., (1997), ‘‘A Review of Wound Healing and Wound Dressing Products’’, *The Journal of Foot and Ankle Surgery* ,36(1) ,2-14
- [39] Kumar S., Wong P.F., Leaper D.J., (2004), ‘‘What Is New In Wound Healing’’ *Turkish Journal of Medical Sciences*, 34(3), 147-160.
- [40] Schultz G. S., Sibbald R. G., Falanga V., Ayello E. A., Dowsett, C., Harding, K., (2003), ‘‘Wound Bed Preparation: A Systematic Approach To Wound Management’’, *Wound Repair and Regeneration*, 11(1), 1-28.
- [41] Paul, W., Sharma, C.P. (2004), ‘‘Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review’’, *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, 18 (1), 18-23.
- [42] Boateng, J. S., Matthew K. H., Stevens H. N. E., Eccleston G. M. (2007), ‘‘Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review’’, *J. Pharmaceutical Sciences*, 97 (8), 2892-2923.

- [43] Kapoor, M., Nomiya, T., Bruemmer, D., Kojima, F., Crofford, L. J. (2006), "Growth Factors And Cytokines: Emphasis On Their Role In Wound Healing And Atherosclerosis", *Current Anaesthesia & Critical Care*, 17, 13–20.
- [44] Singer, A. J., Clark, R. A., (1999), "Cutaneous wound healing", *The New England Journal of Medicine*, 341 (10), 738-46.
- [45] Christgau M., Caffesse R.G., Schmalz G., D'Souza, R.N. (2007), "Extracellular Matrix Expression And Periodontal Wound-Healing Dynamics Following Guided Tissue Regeneration Therapy In Canine Furcation Defects", *Journal of Clinical Periodontology*, 34 (8), 691-708.
- [46] Young A., McNaught E. C., (2011), "The Physiology Of Wound Healing", *Surgery*, 29(10), 475-479.
- [47] Langenhove L. V., (2007), "Smart Textiles For Medicine and Healthcare", 1th Edition, Woodhead.
- [48] Aygün G., (2008), "Yara Enfeksiyonları ve Tanılama", 1th Edition, Aksu Basın Yayın.
- [49] Web 5, (2017), <https://www.advancedtissue.com/promising-new-innovations-in-wound-dressings>, (Erişim Tarihi: 15/10/2017).
- [50] Altay P., Başal G. *Teknolojik Araştırmalar: TTED 2010* (1) 109-121 115
- [51] Web 6, (2017), <https://www.livestrong.com/article/121952-collagen-rich-foods/>, (Erişim Tarihi: 05/12/2017).
- [52] Heino J., (2007), "The collagen family members as cell adhesion proteins", *Bioessays*, 29(10), 1001–1010.
- [53] Heino J., Huhtala M., Käpylä J., Johnson MS., (2009), "Evolution of collagen-based adhesion systems", *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41(2), 341–348.
- [54] Altman G. H., Diaz F., Jakuba C., Calabro T., Horan R. L., Chen. J., (2003), "Silk-Based Biomaterials", *Biomaterials*, 24 (16), 401–16.
- [55] Rockwood D. N., Preda R. C., Yücel T., Wang X., Lovett M. L., Kaplan D. L., (2011), "Materials Fabrication From Bombyx Mori Silk Fibroin", *Nature Protocols*, 6 (8), 1612–31.
- [56] Murphy A. R., Kaplan D. L., (2009), "Biomedical Applications Of Chemically-Modified Silk Fibroin", *Journal of Materials Chemistry*, 19 (26), 6443–50.
- [57] Correlo V. M., Oliveira J. M., Mano J. F., Neves N. M., Reis R. L., (2011), "Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering – Properties, Processing, and Performance", 2th Edition, Elsevier Inc.

- [58] Amini A. R., Laurencin C. T., Nukavarapu S. T., (2013), "Bone Tissue Engineering: Recent Advances and Challenges. Critical Reviews in Biomedical Engineering", 40(5),363–408.
- [59] Gomes M., Azevedo H., Malafaya P., Silva S., Oliveira J., Silva G., (2008), "Natural Polymers in Tissue Engineering Applications", 1st Edition, Elsevier Inc.
- [60] Kim H. J., Kim U. J., Kim H. S., Li C., Wada M., Leisk G. G., (2008), "Bone Tissue Engineering With Premineralized Silk Scaffolds", Bone, 42(6), 1226–1234.
- [61] Vepari C., Kaplan D. L., (2007), "Silk As A Biomaterial" Progress in Polymer Science 32(8-9), 991-1007.
- [62] Vollrath F., Porter D., (2009), "Silks as Ancient Models for Modern Polymers", Polymer,50(24), 5623-5632.
- [63] Laurencin C. T., Nair L.S., (2008), "Nanotechnology and Tissue Engineering: The Scaffold", 1st Edition, Crc.
- [64] Webster T. J., (2007), "Nanotechnology for the Regeneration of the Soft and Hard Tissues", 1st Edition, World Scientific Publishing.
- [65] Maretschek S., Greiner A., Kissel T., (2008), "Electrospun Biodegradable Nanofiber Nonwovens For Controlled Release Of Proteins", Journal of Controlled Release, 127 (38), 180–187.
- [66] Carlisle C.R., Coulais C., Namboothiry M., Carroll D.L., Hantgan R.R., Guthold M., (2009), "The mechanical properties of individual, electrospun fibrinogen fibers", Biomaterials, 30 (7), 1205–1213.
- [67] Jordan E. I., Jacob G. U., Rod J. R.,(2013), "The Role of Wound Healing and Its Everyday Application in Plastic Surgery; A Practical Perspective and Systematic Review", Plastic and Reconstructive Surgery,1(1),10-19.
- [68] Jayakumar R., Prabakaran M., Nair S. V., & Tamura H., (2010), "Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications", Biotechnology Advances, 28(1), 142–150.
- [69] Formhals A., (1934), "Process and apparatus for preparing artificial threads", US patent, 1,975,504.
- [70] Norton C.L., (1936), "Method Of And Apparatus For Producing Fibrous or Filamentary Material", US patent, 2,048,651.
- [71] Lin T.(Ed.), (2011), "Nanofibers-Production, Properties and Functional Applications", Chapter 14., InTech. Open Access Publisher.

- [72] Kılıc A., Oruc F., Demir A., (2008), ‘‘Effects of Polarity on Electrospinning Process’’, *Textile Research Journal*, 78(6), 532-539.
- [73] Ju Y. M., Choi J. S., Atala A., Yoo J. J., Lee S. J., (2010), ‘‘Bilayered Scaffold For Engineering Cellularized Blood Vessels’’, *Biomaterials*, 31 (15), 4313–4321.
- [74] Mondal, M., Trivedy, K., Kumar S.N. (2007), ‘‘The Silk Proteins, Sericin And Fibroin In Silkworm’’, *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 5(14), 63-76.
- [75] John G. H., Lin M. R., Thomas R. S., (2008), ‘‘Polymeric Materials Based On Silk Proteins’’, *Polymer*, 49(20),4309-4327.
- [76] Sashina E. S., Bochek A. M., Novoselov N. P., Kirichenko D. A. (2006), ‘‘Structure And Solubility Of Natural Silk Fibroin’’, *Russian Journal of Applied Chemistry*, 79(6), 869-876.
- [77] Murray R. K., Mayes P. A., Granner D. K., Rodwell V. W., (1993), 26th Edition, *Harper’s Biochemistry*.
- [78] Zhou C. Z., Confalonieri F., Medina N., Zivanovic Y., Esnault C., Yang T., Jacquet M., Janin J., Duguet M., Perasso R., Li Z.G., (2000), ‘‘Fine Organization Of Bombyx Mori Fibroin Heavy Chain Gene’’, *Nucleic Acids Res.*, 28(12), 2413-2419.
- [79] Jin H. J., Kaplan D. L., (2003), ‘‘Mechanism Of Silk Processing In Insects And Spiders’’, *Nature*, 424(1), 1057-1061.
- [80] Kim U. J., Park J., Li C., Jin H. J., Valluzzi R., Kaplan D. L., (2004), ‘‘Structure And Properties Of Silk Hydrogels’’, *Biomacromolecules*, 5(3), 786-792.
- [81] Winkler S., Kaplan D. L., (2000), ‘‘Molecular Biology Of Spider Silk’’, *Reviews in Molecular Biotechnology*, 74(2), 85-93.
- [82] Huang Z. M., Zhang Y. Z., Kotaki M., Ramakrishna S., ‘‘A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites’’, (2003), ‘‘Composites Science and Technology’’, 63 (25), 2223-2253.
- [83] Shin Y. M., Hohman M. M., Brenner M. P., Rutledge G. C., (2001), ‘‘Experimental Characterization Of Electrospinning: The Electrically Forced Jet And Instabilities’’, *Polymer*, 42 (25), 9955-9967
- [84] John M. J., Thomas S., (2008), ‘‘Biofibres and biocomposites, Carbohydrate’’, *Polymers*, 71 (3), 343–364
- [85] Ravichandran R., Sundarrajan S., Venugopal J. R., Mukherjee S., Ramakrishna S., (2012), ‘‘Advances in Polymeric Systems for Tissue Engineering and Biomedical Applications’’, *Macromolecular Bioscience*, 12 (3), 286–311.

- [86] Kim T. G., Shin H., Lim D. W., (2012), ‘‘Biomimetic Scaffolds for Tissue Engineering’’, *Advanced Functional Materials*, 22 (12), 2446–2468.
- [87] Khan N., (2012), Applications of electrospun nanofibers in the biomedical field, *Studies by Undergraduate Researchers at Guelph*, 5 (2), 63-73.
- [88] Yarin A.L., Koombhongse S., Reneker D. H., (2001), ‘‘Taylor Cone And Jetting From Liquid Droplets In Electrospinning Of Nanofibers’’, *Journal of Applied Physics*, 90 (9), 4837-4846.
- [89] Larrondo L., Manley, J., (1981), ‘‘Electrostatic Fiber Spinning from Polymer Melts. III. Electrostatic Deformation of a Pendant Drop of Polymer Melt’’, *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 19(6), 933- 940.
- [90] Bhardwaj N, Kundu SC., (2010), ‘‘Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique ’’, *Biotechnology Advances*, 28(3), 325-347.
- [91] Chun I., (2005), *Finer Fibers Spun By Electrospinning Process From Polymer Solutions and Polymer Melts in Air and Vacuum: Characterization of Structure and Morphology on Electrospun Fibers and Developing a New Process Model*, Doctoral Thesis, Akron University.
- [92] Reneker D. H., Yarin, A. L., Koombhongse S., Fong, H., (2000), ‘‘Bending Instability Of Electrical Charged Liquid Jets Of Polymer Solutions In Electrospinning’’, *Journal of Applied Physics*, 87 (9), 4531-4547
- [93] Kim C., Park, S. H., Lee, W. J., Yang K. S., (2004), ‘‘Characteristics of Supercapacitor Electrodes of PBI-Based Carbon Nanofiber Web Prepared by Electrospinning’’, *Electrochimica Acta*, 50(3) 877-881.
- [94] Min B.M., Lee, S. W., Lim, J. N., Youb Y., Lee, T. S., Kang, P. H., Park W. H., (2004), ‘‘Chitin and Chitosan Nanofibers: Electrospinning of Chitin And Deacetylation of Chitin Nanofibers’’, *Polymer*, 45(21), 7137- 7142
- [95] Şenol F., Tayyar E., Doğan G. Yaman N., (2005), ‘‘Nanolifler ve Uygulama Alanları’’, *Tekstil Maraton*, 3(1), 20-25.
- [96] Iridag Y., Kazancı M., (2006), ‘‘Preparation And Characterization Of Bombyx Mori Silk Fibroin And Wool Keratin’’, *Journal of Applied Polymer Science* 100 (5), 4260-4264.
- [97] Balakrishnan B., MOHANTY M., (2005), ‘‘Evaluation of an in situ forming hydrogel wound dressing based on oxidized alginate and gelatin’’, *Biomaterials*, 26(32), 6335-42.
- [98] Bürck J., Aras O., Bertinetti L., İlhan C., Ermeydan M., Schneider R., Ulrich A., Kazancı M., (2017), ‘‘Observation of Triple Helix Motif on Elektrospun Collagen Nanofibers and Its Effect on the Physical and Structural Properties’’, *Journal of Molecular Structure*, 1151(5), 73-80.

- [99] Guziewicz N., Best A., Perez Ramirez N., (2011), ‘‘Lyophilized silk fibroin hydrogels for the sustained local delivery of therapeutic monoclonal antibodies’’, *Biomaterials*, 32(10),2642-50.
- [100] Li X., Qin J., Ma J., (2015), ‘‘Silk Fibroin/Poly (vinyl alcohol) Blend Scaffolds for Controlled Delivery of Curcumin’’, *Regenerative Biomaterials Advance*, 2(2),97-105.
- [101] Lu., Zhang B., Li M., Zuo B., Kaplan D., Huang Y., Zhu H., (2011), ‘‘Degradation Mechanism and Control of Silk Fibroin’’, *Regenerative Biomaterials Advance*, 12(4), 1080-1086.
- [102] Miyazawa T., Blout E., (1961), ‘‘The Infrared Spectra of Polypeptides in Various Conformation: Amide I and II Bands’’, *Journal Of The American Chemical Society*,83(3),712-719.
- [103] Kong J., Yu S., (2007), ‘‘Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures’’, *Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai)*, 39(8),589-59.
- [104] Tsukada I., Freddi G., Crichton J., (1994), ‘‘Structure and Compatibility of Poly (vinyl Alcohol) Silk Fibroin (PVA/SF) Blend Films’’, *Journal Of Polymer Science*, 32(2):243-248.
- [105] Dong A., Huang P., Caughey WS., (1990), ‘‘Protein secondary structures in water from second-derivative amide I infrared spectra’’, *Biochemistry*, 29(13),3303-3308.
- [106] Dong A., Huang P., Caughey WS., (1990), ‘‘Infrared Spectroscopic Studies of Lyophilization and Temperature Induced Protein Aggregation’’, *Journal of Pharmaceutical Science*, 64(4),415-24.
- [107] Lu Q., Hu X., Wang X., Kluge JA., Lu S., Cebe P., (2010), ‘‘Water-insoluble silk films with silk I structure’’, *Acta Biomaterialia*, 6(4),1380-1387.
- [108] Kazanci M., Roschger, P. Paschalis, E. P., Klaushofer, K., Fratzl, P., (2006), ‘‘Bone osteonal tissues by Raman spectral mapping: orientation–composition’’, *Journal of Structural Biology*, 156(3),489-496.
- [109] Burrows M. C., Zamarion V. M., Filippin-Monteiro, F. B., Schuck, D. C., Toma, H. E., Campa, A., Garcia, C. R. S., Catalani, L. H., (2012), ‘‘Hybrid scaffolds built from PET and collagen as a model for vascular graft architecture’’, *Macromolecular Bioscience*, 12(12),1660-70.
- [110] Bhattacharjee P., Kundu B., Naskar D., Maiti TK., Bhattacharya D., Kundu SC., (2015), ‘‘Nanofibrous nonmulberry silk/PVA scaffold for osteoinduction and osseointegration’’, *Biopolymers*, 103(5),271-284.

- [111] Cheng G., Wang X., Tao S., Xia J., Xu S., (2015), ‘‘ Differences in regenerated silk fibroin prepared with different solvent systems: From structures to conformational changes’’, *Journal of Applied Polymer Science*, 132(2).

## ÖZGEÇMİŞ

Onur ARAS 1990 yılında Iğdır 'da doğdu. Üniversite eğitimine Cumhuriyet Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliğinde başladı. 2013 yılında mezun oldu. Aynı yıl içerisinde BAU TIP fakültesinde Doç.Dr. Murat Kazancı ile çalışmaya başladı. BAU TIP Fakültesi Biyofizik laboratuvarında proje kapsamında kolajen yapıdan nanofiber elde etti. Projedeki amacı Türkiye'de kısıtlı üretimi olan gelatinin yerli üretimini gerçekleştirmektir. Bu deneysel çalışmalar sonucunda hakemli dergilerde 2 adet makale yayınlandı.2015 yılının ara döneminde Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Çalışma alanı olarak nanofiber üretimi, sünger-kompozit yapılar eldesi, kolajen-ipek nanofiber gibi doğal kaynaklardan elde edilen ürünleri kullandı. Elde edilen tecrübeler ışığında ipek kozasından fikri kendisine ait olan 'biyoteknolojik koza yara örtüsü' isimli proje Tübitak (2170646) tarafından 150.000 TL destek almaya hak kazandı. Onur ARAS 2018 yılında Biogotech Sağlık Teknolojileri ismiyle şirket kurarak yara örtüsünün ticarileşmesi yönünde önemli adım attı. Biogotech, 28 Mayıs 2018 tarihinde Girişimci İş Adamları Vakfı tarafından Türkiye'nin Yeni Girişimci şirketi seçilmiştir. 2018 şubat ayı itibariyle 2170646 nolu Tübitak projesinde yürütücüsü olarak çalışmaktadır.

## **EKLER**

### **Ek A: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Yayınlar**

Bürck J., Aras O., Bertinetti L., İlhan C., Ermeýdan M., Schneider R., Ulrich A., Kazancı M., (2017), ‘‘Observation of Triple Helix Motif on Elektrospun Collagen Nanofibers and Its Effect on the Physical and Structural Properties’’, Journal of Molecular Structure, 1151(5), 73-80.

Aras O., Kazancı M., (2015), ‘‘Production Of Collagen Micro- And Nanofibers For Potential Drug-Carrier Systems’’, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 30 (6), 1-4.