İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANOLİF YARA ÖRTÜCÜ YÜZEYLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zarife DOĞAN

Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı

Tekstil Mühendisliği Programı

TEMMUZ 2012

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANOLİF YARA ÖRTÜCÜ YÜZEYLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zarife DOĞAN
(503101806)

Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı

Tekstil Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali DEMİR

TEMMUZ 2012

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 503101806 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Zarife DOĞAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı **"NANOLİF YARA ÖRTÜCÜ YÜZEYLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU"** başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı :	**Prof. Dr. Ali DEMİR** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
Jüri Üyeleri :	**Prof. Dr. Ali DEMİR** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
	Prof. Dr.Tuğrul OĞULATA Çukurova Üniversitesi	.....
	Doç. Dr. Gülay ÖZCAN İstanbul Teknik Üniversitesi	.....

Teslim Tarihi : **4 Mayıs 2012**
Savunma Tarihi : **23 Temmuz 2012**

Canım aileme,

ÖNSÖZ

Beni yüksek lisans eğitimine teşvik eden ve hayatım boyunca maddi-manevi desteklerini esirgemeyen; annem, babam ve kardeşime teşekkürü bir borç bilirim.

Tez konuma beni yönlendiren, ilminden ve tecrübelerinden faydalandığım, ahlaki değerleri ile örnek aldığım, sayın hocam Prof. Dr. Ali DEMİR'e, birlikte çalıştığımız TEMAG Laboratuvarı ve INOVENSO ekibine, tez çalışmamı destekleyen TUBİTAK ve İstanbul Teknik Üniversitesi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım boyunca sıkıntılı anlarımda yanımda olan, bana sıcak kalplerini açan ev arkadaşlarım Ezgi GÜR ve Yeşim DEMİR'e ve tüm dostlarıma manevi katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Temmuz 2012

Zarife DOĞAN
(Tekstil Mühendisi)

AÇIKLAMA:

Bu Yüksek Lisans tezi çalışması İTÜ, Tekstil Mühendisliği Bölümünde, Tez Danışmanı Prof. Dr. Ali Demir'in yürütücülüğünde tamamlanmış olan 108M045 numaralı **"Nano liflerden oluşan bir ağ (NanoWeb) üretimi için taşınabilir bir sistemin geliştirilmesi ve prototip imalatı"** başlıklı TÜBİTAK 1001 projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir. Projeden, Araştırmacı Öğrenci Bursu, malzeme alımı ve çalışma sonuçlarının ulusal ve uluslarası kongrelerde sunumu amaçlı seyahat ve katılım desteği alınmıştır.

Bu tezde yer alan veri, grafik ya da resimler projenin ara ve sonuç raporlarında yer almış ve bu karşılıklı alıntılarda kaynak gösterilmemiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **vii**
İÇİNDEKİLER ..... **xi**
KISALTMALAR ..... **xiii**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xv**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xvii**
ÖZET ..... **xix**
SUMMARY ..... **xxi**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Tezin Amacı 2
1.2 Yara ve Yara Tipleri 2
1.3 Derinin Histolojik Yapısı 3
1.3.1 Epidermis 4
1.3.2 Dermis 5
1.3.3 Hipodermis (Deri altı dokusu) 5
1.4 Yanık Yaraları 5
1.4.1 Birinci derece yanıklar (Yüzeyel yanıklar) 6
1.4.2 İkinci derece yanıklar 6
1.4.2.1 Yüzeyel ikinci derece yanık (Parsiyal yüzeyel tutunumlu yanıklar) 6
1.4.2.2 Derin ikinci derece yanık (Derin tutunumlu) 6
1.4.3 Üçüncü derece yanıklar (Tam kat yanıklar) 7
1.4.4 Dördüncü derece yanıklar (Daha derin yanıklar) 7
1.5 Yara İyileşmesi 7
1.5.1 İnflamasyon evresi 8
1.5.2 Proliferasyon evresi (Hücre çoğalması) 8
1.5.2.1 Fibroblast proliferasyonu 9
1.5.2.2 Angiogenezis 9
1.5.3 Maturasyon 9
1.6 Yara Örtüleri 10
1.7 Yara Bakımında Gümüş Kullanımı 13
1.7.1 Gümüş sülfadiazin 15
1.7.2 Gümüş nitrat 15
1.7.3 Mafenide asetat 15
1.7.4 Metalik gümüş 16
1.7.5 Gümüş nano partikülleri 16
1.7.6 Gümüş içerikli ticari yara örtüleri 17
1.8 Nanoliflerin Yara Örtücü Olarak Kullanımı 18
1.9 Geliştirilmekte Olan Nanolif Yara Örtücü Modeli 26
2. MATERYAL VE METOT **29**
2.1 Materyal 29
2.1.1 Polikaprolakton 29
2.1.2 Polietilenoksit 30
2.1.3 Gümüş sülfadiazin 30

2.1.4 Nanogümüş tozları 31
2.1.5 Aquacel® Ag 32
2.2 Metot 32
2.2.1 Elektroüretim işlemi 32
2.2.2 Nanolif geliştirme platformu (NGP) 34
2.2.2.1 Motorlar ve toplayıcıyı taşıyan mekanizma 35
2.2.2.2 Polimer yükleme ünitesi 35
2.2.2.3 Polimer besleme ünitesi 36
2.2.3 Taramalı elektron mikroskobu (SEM) 36
2.2.4 Su buharı geçirgenlik test düzeneği 36
2.2.5 Su geçirmezlik test cihazı 37
2.2.6 Hava geçirgenlik test cihazı 38
2.2.7 Porometre 38
2.2.8 Dinamik mekanik analizör (DMA) 39
2.2.9 Yüzey alanı ölçümü 39
2.2.10 Difereansiyel taramalı kalorimetre (DSC) 40
2.2.11 Sterilizasyon 40
2.2.12 Antibakteriyel etkinlik testi 40
2.2.13 İn vivo çalışmalar 41
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR 45
3.1 Elektroüretim prosesi 45
3.2 Nanoliflere Etkn Madde Katkısı 46
3.3 Deneysel Çalışma Planı 46
3.4 SEM Analizi 48
3.4.1 Etkin madde katkısı 51
3.4.1.1 Enerji saçınımlı X-ışınları analizi (EDX) 54
3.4.2 Toplayıcı hızı etkisi 54
3.5 Su Buharı Geçirgenliği Testi 56
3.6 Su Geçirmezlik Testi 60
3.7 Hava Geçirgenlik Testi 64
3.8 Por Çaplarının Hesaplanması 66
3.9 Mekanik Özelliklerin Tespiti 69
3.10 Yüzey Alanı Ölçümü 72
3.11 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile Termal Analiz (DSC) 73
3.12 Antibakteriyel Etkinlik Testi 74
3.13 In Vivo Çalışmalar 76
4. SONUÇ VE ÖNERİLER 81
KAYNAKLAR 85
ÖZGEÇMİŞ 101

KISALTMALAR

ATCC **:**American Type of Culture Collection
BET :Brunauer Emmett Teller
DMA :Dynamic Mechanical Analyzer
DMF :Dimetilformamid
DSC **:**Differantial Scanning Calorimetry
ECM :Extra Cellular Matrix
EDX : Energy Dispersive X-ray Analysis
MC **:**Metilenklorür
PCL **:** Polikaprolakton
PEO **:** Polietilenoksit
SEM **:** Scanning Electron Microscope

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Yara Örtü Tipleri (Url-12)..... 11
Çizelge 1.2 : Nanolif yara örtücü amaçlı çalışılan polimerler ve nanoliflere ilave edilen işlevsel moleküller (Heunis ve Dicks, 2010)..... 20
Çizelge 2.1 : Hayvan deneyi grupları. 41
Çizelge 3.1 : Nanolif yara örtücü için optimum elektroüretim parametreleri. 46
Çizelge 3.2 : Etkin madde katkı miktarı. 46
Çizelge 3.3 : Deneysel çalışma parametreleri..... 47
Çizelge 3.4 : Antibakteriyel etkinlik test sonuçları. 76
Çizelge 3.5 : Doku ve kan kültürlerinde Candida Albicans üremesi (koloni/gram). 79
Çizelge 3.6 : Doku ve kan kültürlerinde S.Aureus ve E.Coli üremesi (koloni/gram). 80

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: a)Akut yara b)Kronik yara. 3
Şekil 1.2: Derinin Yapısı (Url-4). 4
Şekil 1.3: Yara İyileşmesinin Evreleri (Zahedia ve diğ., 2009). 8
Şekil 1.4: Gümüş iyonlarının bakterilere karşı etki mekanizması (Url-13). 14
Şekil 1.5: Baker ve arkadaşlarının elektroüretim düzeneği (Baker ve diğ., 2008). ... 23
Şekil 1.6: Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücü modeli. 27
Şekil 2.1 : Polikaprolaktonun kimyasal formülü (Url-17). 30
Şekil 2.2 : Polietilenoksitin kimyasal formülü (Url-19). 30
Şekil 2.3 : Gümüş sülfadiazinin kimyasal yapısı (Url-20). 31
Şekil 2.4 : Elektroüretim düzeneği (Demir, 2012). 33
Şekil 2.5 : Elektroüretim işlemi sırasında hızlı kamera ile görülen jetin şekli (Kıyak, 2011). 34
Şekil 2.6 : Nanolif geliştirme platformu (Demir ve diğ., 2011). 34
Şekil 2.7 : Farklı toplayıcı tipleri (Demir, 2012). 35
Şekil 2.8 : Havuz tipi ve iğne tipi polimer yükleme ünitesi (Demir, 2012). 36
Şekil 2.9 : Su buharı geçirgenlik test düzeneği (Uğur, 2008). 37
Şekil 2.10 : Su geçirgenlik test cihazı. 37
Şekil 2.11 : Hava geçirgenliği test cihazı (Url-25). 38
Şekil 2.12 : Porometre cihazı (Url-26). 39
Şekil 2.13 : a)Tıraşlanmış Sıçan, b)Yanmış Sıçan. 42
Şekil 2.14 : Nanolif yara örtücü uygulaması. 42
Şekil 2.15 : Sıçanlardan doku kültürü alınırken. 43
Şekil 2.16 : Kan ve doku kültürleri. 43
Şekil 3.1 : PCL/PEO/PCL nanolif kesit (alt sıra) ve yüzey SEM görüntüleri (üst sıra). 48
Şekil 3.2 : PEO nanolif (kuru) SEM görüntüleri. 49
Şekil 3.3 : PEO nanolif kuru (sol) ve yaş (sağ) SEM görüntüleri. 50
Şekil 3.4 : PCL/PEO/PCL nanolif kuru (sol) ve yaş (sağ) SEM görüntüleri. 51
Şekil 3.5 : Farklı konsantrasyonlarda nanogümüş ilaveli nanoliflerin SEM görüntüleri. 52
Şekil 3.6 : Farklı konsantrasyonlarda gümüş sülfadiazin ilaveli nanoliflerin SEM görüntüleri. 53
Şekil 3.7 : EDX spektrumu. 54
Şekil 3.8 : %0,5 Gümüş sülfadiazin (Sol) ve nanogümüş (Sağ) ilaveli nanoliflerin farklı toplayıcı hızlarında SEM görüntüleri. 55
Şekil 3.9 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-1. 57
Şekil 3.10 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-2. 58
Şekil 3.11 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-3. 58
Şekil 3.12 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-4. 59
Şekil 3.13 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-5. 59
Şekil 3.14 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-6. 60

Şekil 3.15 : Su geçirmezlik testi sonuçları-1. 61
Şekil 3.16 : Su geçirmezlik testi sonuçları-2. 61
Şekil 3.17 : Su geçirmezlik testi sonuçları-3. 62
Şekil 3.18 : Su geçirmezlik testi sonuçları-4. 62
Şekil 3.19 : Su geçirmezlik test sonuçları-5. 63
Şekil 3.20 : Su geçirmezlik testi sonuçları-6. 63
Şekil 3.21 : Hava geçirgenlik test sonuçları-1. 65
Şekil 3.22 : Hava geçirgenlik test sonuçları-2. 65
Şekil 3.23 : Ortalama por çapı ölçümü sonuçları-1. 67
Şekil 3.24 : Ortalama por çapı ölçümü sonuçları-2. 67
Şekil 3.25 : Minimum ve maksimum por çapı değerleri-1. 68
Şekil 3.26 : Minimum ve maksimum por çapı değerleri-2. 68
Şekil 3.27 : Hava geçirgenliği ve porozite ölçümünde numunenin durumu..... 69
Şekil 3.28 : Gümüş sülfadiazin katkılı numunelerin elastik modülü. 71
Şekil 3.29 : Nanogümüş katkılı numunelerin elastik modülü..... 71
Şekil 3.30 : Nanolif yara örtücünün adsorpsiyon izotermi. 73
Şekil 3.31 : Nanolif yara örtücünün DSC termogramı. 73
Şekil 3.32 : Antibakteriyel etkinlik test fotoğrafları. 75

NANOLİF YARA ÖRTÜCÜ YÜZEYLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Yara örtüleri, yaralı bölgenin mikrop ve enfeksiyondan korunmasını sağlayan iyileşme sürecine yardımcı olan medikal tekstil ürünleridir. Günümüzde yeni nesil biyopolimerlerin bulunması ve yeni üretim tekniklerinin geliştirilmesiyle geleneksel yara örtülerine alternatif olarak modern yara örtücülerin üretilmesi mümkündür.

Nanolifler; yüksek gözeneklilik, spesifik yüzey alanları, doğal hücre dışı matris yapısını (Extra Cellular Matrix; ECM) taklit edebilme, ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilme, hücre çoğalmasına uygun ortam oluşturma gibi özelliklerinden dolayı doku iskeleleri, yara örtüleri, yapay damar gibi medikal alanlarda kullanım alanı bulmaktadır.

Elektroüretim yöntemi nanolif ve nanoağ (nanoweb) üretimi için en etkin yöntemdir. Bu yöntemde çözelti ya da eriyik haldeki polimer malzeme, küçük çaplı bir boru halindeki besleyicinin (iğne, düze) ucuna beslenir. Daha sonra polimer çözeltisi/eriyiği ve besleyicinin açık ucunun yakınındaki bir toplayıcı levhaya yüksek voltaj değerlerinde (5-80kV) gerilim uygulanır. Besleyici iğnenin veya düzenin ucunda asılı durumda duran polimer damlası kritik bir voltaj değerinden sonra, yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetleri yenerek, toplayıcıya doğru yüksek hızda hareket eder. Bu hareket esnasında polimer çözeltisinin çözücüsü buharlaşır ve lif üretimi gerçekleşir.

Yara örtücü, doku iskelesi gibi medikal uygulamalarda kullanılan polimerlerlerin biyouyumlu ve biyobozunur olmaları istenir. Elektroüretim yöntemi ile yapılan yara örtücü denemelerinde biyouyumlu ve biyobozunur olan polikaprolakton (PCL) ve polietilen oksit (PEO) polimerleri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan polimerlerden PCL hidrofobik, PEO ise hidrofilik yapıdadır. Yara örtücünün temel yapısını oluşturan PCL; esneklik ve mukavemet gibi mekanik özellikleriyle ön plana çıkması ayrıca endotel hücrelerin yaşayabilirlilik ve büyümesine karşı olumlu bir süreç gösterdiğinden yara örtücü uygulamalarında kullanılmaktadır. Polietilenoksit ise; hücre adhezyonuna uygun ortam oluşturur ve düşük toksisite gösterir. Hidrofilik özelliği nedeniyle vücut sıvısı ile etkileşerek hızlı bozulmaya uğradığı için ilaç taşıyıcı olarak, yara örtüleri ve doku iskeleleri gibi medikal uygulamalarda tercih edilmektedir.

Polimerlerin karışım ve katman olmak üzere iki şekilde yara örtücü denemeleri mevcuttur. Çalışmada seçilen ve geliştirilen model ise PCL/PEO+Etkin Madde/PCL şeklindeki üç katmanlı modeldir. Bu modelin seçilmesindeki amaç, hidrofilik karakterdeki PEO tabakasını hidrofob PCL tabakaları arasında muhafaza ederek ilaç salınımı yapabilmektir. Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün iyileştirmesi beklenen yara modeli üçüncü derece (tam kat) yanıklardır. Yanık yaralarının tedavisinde gümüşlü ürünler oldukça sık kullanılmaktadır. Bu nedenle, tasarlanan

yara örtücü modelinde etkin madde olarak, nanogümüş tozları ve gümüş sülfadiazin tercih edilmiştir.

Deneysel çalışmalarla önce elektroüretim parametreleri optimize edilerek nanolif yüzeylerin üretimi gerçekleştirilmiş ve geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. İkinci aşamada ise, nanolif yara örtülerinin in vitro ve in vivo çalışmalarla antifungan ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, ideal bir yara örtücüden beklenen fiziksel özelliklerin karşılanmasına büyük bir katkı sağlayacaktır.

Nanolif yara örtücü numunelerinin hava geçirgenlik ve su buhar geçirgenliği değerlerine bakıldığında, test sonuçları kabul edilebilir sınırlar içerisindedir. Su geçirgenlik test sonuçları ise, yara örtücüden istenen değerlerin biraz altında kaldığından, geliştirilmekte olan nanolif yara örtücülerin yüksek performansta su geçirmez olduklarından bahsedilemez. Su buhar geçirgenliği, hava geçirgenliği ve su geçirmezlik değerlerinin hepsi bir arada düşünüldüğünde, istenilen özellikteki malzeme yapısına yaklaşılmıştır.

Yapılan mekanik testler esnasında PCL polimerinin çok esnek yapıda olması nedeniyle numunelerde kopma gerçekleşememiştir. Bu sebeple, kopma mukavemeti ve kopma uzama değerleri hakkında net veriler elde edilemesede numunelerin kopmamış olması mukavemetli malzemeler olduğunun bir göstergesidir.

Nanolifli yüzeylerin gözenek boyutları incelendiğinde ortalama por çaplarının 1,1-2,5 μm aralığında olması büyük oranda bakteri geçişine engel olacağını göstermekte iken en büyük ve en küçük por çapı büyüklüğünün 1,5- 4,5 μm aralığında değişmesi tahmin edilen değerden daha fazla sayı ve türde bakteri geçişine izin vereceğinin göstergesidir. Ortalama por çapı değerleri ve en büyük-en küçük por çapı büyüklükleri aralığındaki rakamsal fark, gözenek büyüklükleri dağılımının homojen olmadığına işaret eder.

Yapılan antibakteriyel etkinlik testleri, ise gümüş sülfadiazin katkılı numunelerde olumlu sonuçlar vermiştir. Fakat nanogümüş tozları katkılı numunelerde ise sadece bakteri üremesini durdurucu etki (bakteriostatik) görülmüş asıl kıstas kabul edilen bakterileri öldürücü etki (bakterisidal) gözlemlenmemiştir. Dolayısıyla nanogümüş tozlarının bakterilere karşı direnci oldukça sınırlı kalmıştır.

Sıçanlar üzerine yanık yarası açılarak yapılan in vivo çalışmalarla geliştirilmekte olan nanolif yara örtücülerin bakteriyel ve fungal etkinlikleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda gümüş sülfadiazin içeren nanolif yara örtücünün; nanogümüş katkılı nanolif yara örtücü, Aquacel Ag ve gümüş sülfadiazin krem uygulamalarına göre daha etkili olduğu anlaşılmıştır.

Özetle, ilaç katkılı üç katmanlı nanolifli yara örtücü modeli başarı ile elde edilmiştir. İn vivo ve in vitro çalışmalarla desteklenen, fiziksel ve mekanik özellikleriyle gelecek vaad eden modern bir yara örtücü için ilk adımlar atılmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda ise nanolif yara örtücülerde kontrollü ilaç salınımı üzerine yoğunlaşılacaktır.

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF NANOFIBER WOUND DRESSINGS

SUMMARY

Materials having diameter less than 100 nanometers are regarded as nanomaterials. Among nanomaterials, fibrous materials are of great practical and fundamental importance. Nanofibers are solid state linear nanomaterials characterized by high aspect ratio, flexibility and superior directional strength. There have been many methods for producing nanofibers such as phase separation, vapor grown, template method and electrospinning. Electrospinning is the cheapest and most convenient mean to produce nanomaterials. Considering promising opportunities provided by nanofibers there is an increasing interest in nanofiber technology. Electrospun nanofibrous materials are of crucial importance for scientific and economic renewal of developing countries.

In this work, electrospinning is the process for fabricating the wound dressing. Electrospinning or electrostatic spinning is the most suitable and scalable way for nanofibrous material production. The technique is scaled up and previously used in production of industrial products such as barrier, air filter media and separation materials. Fibers having diameter from 50 nm to 800 nm can spun effortlessly into webs. Electrospun nanofibers are too small when compared to conventional natural and synthetic textile fibers. The unique combination of high specific surface area, flexibility and superior directional strength makes the nanofibers desired materials.

Electrospinning can be in the form of melt or solution. Most of the publication on electrospinning has been focused on solution based electrospinning process rather than on melt electrospinning owing to higher capital requirements and obstacles in generating submicron fibers by melt electrospinning. This is why solution based electrospinning was chosen as production technique. In this nonmechanical, electrostatic method, a high electric field is created between a polymer solution in syringe with capillary tip and a grounded collector. When the voltage reaches a critical value, the electric force overcomes the surface tension of the polymer solution. Then a jet is produced. The electrically charged jet undergoes much electrically induced bending instability during its passage to the grounded collector. This elongation process is associate with the rapid evaporation of the solvent molecules that reduces the diameter of the, in a cone-shaped area called “envelop cone”. The dry and solid fibers are accumulated on the surface of the collector resulting in a nonwoven arbitrary fiber mesh of nano to micron diameter fibers. The process can be adapted to control the fiber diameter by altering the material (concentration) or process parameters (voltage, flow rate, distance). Moreover, aligned fibers can be generated by precise control of the electrodes or high speed rotating drum.

Wound dressings are a therapy to fix the damage skin by ambustion and injury. Hitherto, nanofibrous membranes showed the promising potential in wound dressings area. Wound dressing attained by nanofibrous membrane can meet

requirements such as enough oxygen and water vapor permeation and protection of wound from infection and dehydration. A nanofibrous membrane gives porosity and good barrier for wound dressing. For this reason, material should be selected deliberately and the structure must be controlled to confirm that it is good barrier properties and oxygen permeability. The rate of epithelialization was increased and dermis was well organized in electrospun nanofibrous membrane and provided a good support for wound healing. The nanofibrous wound dressing should exhibit controlled evaporative water loss, excellent oxygen permeability and promoted fluid drainage ability owing to the nanofibers with porosity.

The nanofibrous mat enables skin growth, and if a convenient drug is integrated into the nanofibers, it can be released into the healing wound in a homogenous and controlled manner. Commonly, different drugs with antiseptic and antibiotic effects, as well as growth and clotting factors, are available for wound healing. PEO is also electrospun into fibers and used in wound dressings.

Several papers describe the electrospinning of silk and silk-like polymers, chiefly for biomedical applications. Chitin and chitosan could be electrospun as pure materials and as blends. Especially noteworthy is the antibacterial activity of fibers spun from chitosan/PVA blends. On the other hand, Biodegradable polycaprolactone (PCL) is potentially useful for replacement of implanted material by the repair of tissues by coating collagen and improves the mechanical integrity of the matrix the PCL and the collagen nanofiber structure provides a high level of surface area for cells to attach owing to its 3D feature and its high surface to volume ratio. Tissue engineering scaffolds are required to exhibit a dwell time but do not compromise complete space filling by new tissue at the wound site. Cell interaction study proves fibroblasts that migrated inside the collagen nano fibrous matrices showed morphologically similar to dermal substitute.

In this work, an advanced wound dressing material fabricated via electrospinning method. Fascinating properties of nanofibers such as mimicking extra cellular matrix, high porosity and drug delivery give great insight for producing nanofibrous wound dressing. Policaprolactone (PCL) and polyethylene oxide (PEO) was used as raw materials due to biocompatibility and biodegradability. While PEO is hydrophilic, PCL is hydrophobic. PCL which is fundamental structure of the wound dressing is used commonly in the biomedical applications because of the fact that PCL is flexible and rigid and contribute endothelial to grow. Moreover, PEO creates suitable conditions for cell adhesion and has low toxicity. Because PEO interact with the body fluid due to hydrophilicity quickly that result in degradation, it is used commonly in biomedical applications such as wound dressing and scaffolds.

Combination PEO and PCL is preferred in the wound dressing due their unique properties. Because many wound dressings are layered, model of the wound dressing consist of three layers which are PCL, PEO and PCL respectively. Furthermore, second layer which is produced by PEO consists of the drug. Hydrophilic PEO layer which is surrounded by PCL layers makes drug delivery. Third degree burns is desired to heal with the novel wound dressing. In addition, silver based materials are used in when burning healing is considered. For this reason, nanosilver powders and silver sulfadiazine were used as drug.

Firstly, electrospinning parameters optimized and nanofibrous membranes are fabricated and physical characterization of the nanofiber samples is analysed. At the second step, antibacterial and antifungal activity of the wound dressings are carried

out with in vitro and in vivo studies. Results indicated great insight for fabricating desired wound dressing which are mechanically appropriate. The designed material should be water vapor permeable and permits oxygen penetration. In other words, it should be breathable. For this reason, characterization methods of air permeability, water vapor permeability and water permeability were studied. Results showed that they were between acceptable limits. When mechanical properties of the wound dressing were investigated, results indicated that because PCL is so elastic, no sample was broken. However, they have enough strength for the goal. Pore diameters of nanofibrous membrane produced for the wound dressing material range from 1,1 to 2,5 μm. This porosity prevents the bacteria to penetrate into wounds easily. Moreover, difference between the maximum and minimum pore size showed that distributions of the pore size were not uniformly distributed over the whole structure.

Antibacterial activities of the silver sulfadiazine loaded wound dressing were positive. However, antibacterial activities of the nanosilver loaded wound dressing were not satisfactory. Nanosilver stopped the bacteria proliferation (bacteriostatic effect). The real issue was that drug should kill the bacteria (bactericidal). As a result, resistivity of the nanosilver loaded wound dressings was limited.

In vivo studies show that, silver sulfadiazine loaded nanofiber wound dressings are more effective on fungus and bacteria than nanosilver loaded wound dressing, silver sulfadiazine cream and Aquacel Ag.

As a consequence, silver sulfadiazine and nanosilver loaded wound dressings were fabricated successfully. The wound dressing were three layered which are PCL, PEO, and PCL respectively. The drug was loaded into second layer (PEO layer). Physical and mechanical properties of the wound dressing material showed that this material were suitable for wound healing.This work is going to be proven by the controlled drug release studies.

1. GİRİŞ

Nanolifler her hangi bir boyutu 1 mikronun altında olan lifler olarak tanımlanmaktadır. Nanoliflerin oldukça ince lifler olmasının sağladığı en önemli fayda birim malzemeden çok daha fazla lif ve yüzey alanı elde edilmesidir. Nanolifler metal, seramik gibi inorganik malzemelerden üretilebileceği gibi sentetik ya da doğal polimerler gibi organik maddelerden de imal edilebilir. Nanoliflerin bilinen diğer formlardaki materyallere göre çok yüksek yüzey alanı/hacim oranı, çok iyi mekanik performans (sertlik ve mekanik dayanım gibi) ve yüzey fonksiyonelliği gibi özellikleri, nanolifleri filtrasyon, kompozit, sensör, elektirik ve optik, koruyucu giysi, kozmetik ve medikal gibi pek çok önemli uygulama alanı için uygun aday haline getirmektedir.

Çok eski çağlardan itibaren iyi bir yara iyileşmesi ve yaranın enfeksiyon kapmasını önlemek için uygun malzemeler kullanılmaya çalışılmış ve buna yönelik malzemeler geliştirilmiştir. İlk çağlarda bal hamurları, bitkisel lifler ve hayvan yağları yara kapatma amacıyla kullanılmıştır. Günümüzde, yeni nesil biyopolimerlerin bulunması ve yeni üretim tekniklerinin geliştirilmesiyle yara örtücü malzemelere çok sıra dışı özellikler kazandırılarak yaranın tedavi süreci hızlandırılmakta ve yaranın iyileşmesi daha iyi sağlanabilmektedir (Majno, 1975). Fonksiyonel bir yara örtücü malzemenin tasarımı yaranın özellikleri, yaranın iyileşme süresi, yara örtücü malzemenin fiziksel, kimyasal ve mekanik özellikleri göz önünde bulundurularak yapılır. Nihai amaç en hızlı iyileşme süresini yakalamak ve yaranın mükemmel bir estetik yakalanarak iyileşmesini sağlamaktır (Thomas, 1990).

Vücudun en dıştaki organı olan deri çok farklı fonksiyonları gerçekleştirmektedir. Hasarlı derinin rejenerasyonu; hücreler, doğal ekstra hücresel matris molekülleri ve çözülebilir arabulucular arasındaki karmaşık doku etkileşimlerini içerir. Bu etkileşimler sonucunda doku yenilenebilir. Çeşitli yara örtüleri derinin yeniden oluşması için gerekli ortam koşullarını sağlamak için kullanılmaktadır. Yara çevresel tehditlerden ve bakteri nüfuziyetinden korunmalıdır. Son çeyrek yüzyıldır özellikle membran yara örtücüler yaranın dış etkenlerden korunması ve yaranın estetik bir

şekilde iyileştirilmesi bakımından iyi sonuçlar alınabilmiş malzemelerdir. Bu tip çok düşük gözeneğe sahip malzemeler değişik kompozisyonda yara örtücü malzeme olarak kullanılmaktadır.

Nanolif üretim yöntemleri arasında elektroüretim metoduyla elde edilen nanolif ağ yapısıyla lif inceliği, nanolif ağın yoğunluğu, nanolif ağın kalınlığı kontrol edilerek klasik membran yara örtücülere muadil bir yara örtücü malzeme elde edilebilmektedir (Ramakishna ve diğ., 2006).

1.1 Tezin Amacı

Bu çalışmanın amacı, medikal alanda gelecek vaad eden nanoliflerin ve yanık yaralarında yaygın kullanımı olan gümüşün avantajları birleştirilerek tasarlanan yara örtücü modelinin üçüncü derece yanıklarda (tam kat yanıklar) kullanımının araştırılmasıdır. Bu amaç doğrultusunda, elektroüretim yöntemi ile elde edilen PCL/PEO+Etkin Madde/PCL şeklindeki katmanlı nanolif modelinin fiziksel karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Ayrıca, antibakteriyel ajan olarak nanoliflere ilave edilen etkin maddelerin (nanogümüş ve gümüş sülfadiazin) in vitro-in vivo çalışmalarla bakteriyel ve fungal etkinliği incelenmiştir.

1.2 Yara ve Yara Tipleri

Yara, internal ya da eksternal kaynaklı patolojik bir olay nedeniyle doku ya da organın anatomik bütünlüğünün ve fonksiyonunun bozulmasıdır (Topalan ve Önel, 2010).

Yaralar yapılarına göre akut ve kronik olarak ikiye ayırılır. Ayrıca etken hastalık sebeplerinin vücuda giriş yollarına göre de yaralar sınıflandırılabilir.

Akut yaralar (Şekil 1.1a): Zamanında ve uygun şekilde iyileşme sürecinin tamamlanıp, anatomik ve fonksiyonel doku bütünlüğünün sağlandığı yaralardır (Url-1). Akut yaraya neden olan etken geçici olmasından muhakkak beklenen sürede iyileşirler. Bu tip yaralarda, iyileşmeyi engelleyen faktörler az sayıdadır (Url-2). Akut yaralar;

-Cerrahi yaralar

-Yanıklar

-Isırıklar

-Küçük kesik ve sıyrıklar

-Çeşitli travmatik yaralardır (lazer, silah yaralanmaları vs.)

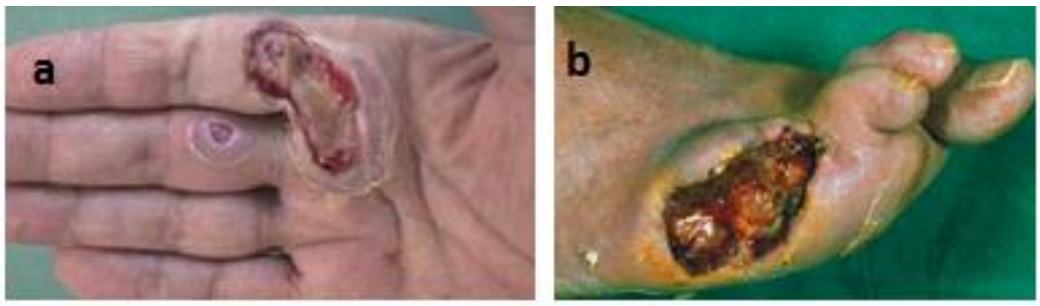
Kronik yaralar (Şekil 1.1b): Üç ay içinde iyileşmeyen yaradır. Kronik yaralarda, etken devamlı olduğundan yavaş iyileşen hatta duruma göre iyileşmeyen yaralardır. Bu tip yaralarda, yara sıklıkla tekrar eder ve iyileşmeyi engelleyen birçok faktör vardır (Url-1) Kronik yaralar;

-yatak yaraları

-diyabetik yaralar

-venöz yaralardır.

Şekil 1.1'de akut ve kronik yara örneği gösterilmiştir.



Şekil 1.1: a)Akut yara b)Kronik yara.

1.3 Derinin Histolojik Yapısı

Deri; ağrı, dokunma ve benzeri duyuları algılayan, vücut sıcaklığını ve su dengesini düzenleyen, iç organları yaralanmalardan koruyan, mikroorganizmaların iç organlara girişini engelleyen, salgı ve terleme ile boşaltıma yardımcı olan aktif bir organdır. (Url-3).

Kalınlığı vücudun çeşitli yerlerine göre farklı olmakla birlikte ortalama kalınlığı 1-2 milimetredir. Ayak ve avuç içi gibi yabancı cisimlerle en fazla temas eden bölgelerde en kalın halde bulunur.

Sağlıklı bir deri bütündür üzerinde sıyrık, kesik vb yara yoktur. Ayrıca dokunulduğunda ılıktır, rengi canlıdır, esnek ve yumuşaktır (Url-8).

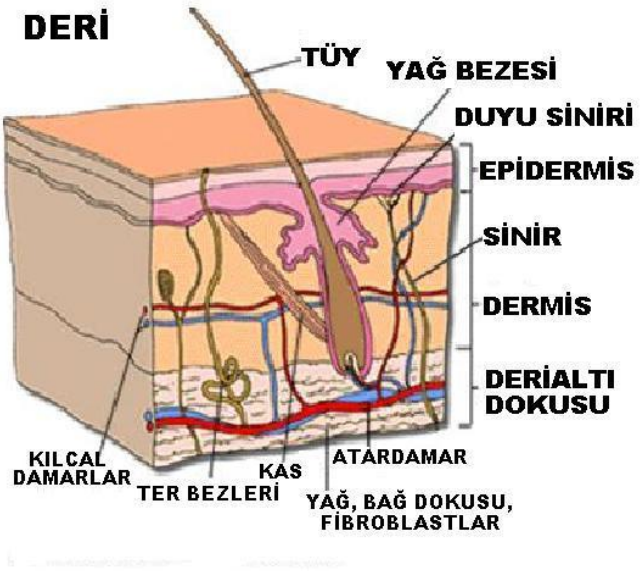
Deri histolojik olarak üç tabakadan oluşmuştur:

1- Epidermis

2- Dermis (Kutis-Korium)

3- Hipodermis (Deri altı tabaka, subkutan tabaka, pannikülus)

Şekil 1.2'de derinin histolojik yapısı gösterilmektedir.



Şekil 1.2: Derinin Yapısı (Url-4).

1.3.1 Epidermis

Çok katlı yassı epitel hücrelerden oluşmuş derinin en üst tabakasıdır. Vücudu sıcak ve soğuktan korur. Bulundurduğu malanosit pigmentler sayesinde deriye rengini verir. Epidermis dıştan içe doğru 5 katmandan meydana gelmiştir. En dışta stratum korneum bulunur; bu tabaka, yassılaşmış (skuamöz-pul), çekirdeklerini kaybetmiş ölü hücrelerden oluşur. Deri yüzeyinden sürekli kaybedilerek kepek oluşturan hücreler bunlardır. Bu tabakanın altında ise "Stratum lusidum" yer almaktadır. Stratum lusidum avuç içi ve ayak tabanı derisinde bulunur. Bunun altında stratum granulozum tabakası bulunur. Bu tabakadaki hücrelerde keratin partikülleri görülür. Stratum granülozumun altında ise "Stratum spinozum" denilen tabaka bulunur. Bunun da altında ise epidermisin en derin tabakası olan "Stratum bazale" bulunur. Stratum spinozum ve stratum bazale tabakalarının ikisine birden "Stratum germinativum" denir. Epidermisin hemen altında yer alan dermis tabakası, epidermisin stratum bazale tabakasına doğru eldiven parmakları biçimindeki dermis papillaları ile kontakt pozisyondadır. Bu iki katın birleşim yerinde bazal membran denilen bir bölge mevcuttur. Bu yapı epidermisin beslenmesini ve iki tabakanın sıkıca tutunmalarını sağlar (Url-5), (Url-6).

1.3.2 Dermis

Epidermisin altında bulunan, deriye kıvam ve elastikiyeti sağlayan katmandır. Esas yapıyı fibroblastlar tarafından salgılanan, substansiya fundamentalis (ground substance) olarak bilinen jelatinöz madde oluşturur. Hiyalüronik asit, kondroitin sülfat, heparan sülfat, dermatan sülfat ve diğer mukopolisakkaritlerden meydana gelir, çok yüksek oranda su tutma kapasitesine sahiptir.

Dermiste kan ve lenf damarları, yağ ve ter bezleri, kıl folikülleri, deri kasları ve çeşitli duyuları alan sinirler bulunur.

Dermis, papiller ve retiküler katman olmak üzere iki tabakadır. Papiller tabakada kapiller damarlar ve duyu alan sinir lifleri bulunur. Bu katta konnektif lifler deri yüzeyine dik pozisyondadır. Retiküler kat ise dermisin alt kısmıdır. Bu bölgedeki konnektif lifler deri yüzeyine paralel pozisyondadır (Url-7).

1.3.3 Hipodermis (Deri altı dokusu)

Dermisin altında bulunur ve derinin en alt tabakasıdır. Cildi altındaki organlara bağlar. Dermis ve hipodermis arasında net bir sınır bulunmayıp, her iki bölümün kalınlıkları ve geçiş özellikleri cinsiyet, yaş, beslenme, yaşam koşulları ve vücutta bulunduğu bölge gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir (Url-9).

Hipodermis, yağ ve bağ dokusundan oluşur. Dermiste paralel seyreden bağ dokusu lifleri bu tabakada deri yüzeyine dik olarak seyir gösterirler buna bağlı olarak bu tabaka, içerisinde yağ hücre topluluklarından zengin bölmelere (lobül) ayrılmıştır. Bu yağ topluluğuna pannikülus adipozus denir. Bu tabaka damar ve sinir yönünden çok zengindir (Url-7).

Hipodermis; yağ dokusu altındaki yapı ve organları darbelerden koruyarak mekanik tampon vazifesi yapar, sıcaklık değişimlerinden korur, derinin hareketli olmasını sağlar ve enerji depolar (Url-9).

1.4 Yanık Yaraları

Yanık ısı, elektrik, ışık, kimyasal maddeler, radyasyon etkisi ile vücutta oluşan doku hasarlarıdır (Url-10). Yanıklar derinliklerine göre birinci, ikinci, üçüncü derece ve daha derin yanıklar olmak üzere 4 gruba ayrılırlar. Bu sınıflandırmanın dışında yanığın kapladığı alanın genişliğine, yanığa neden olan etkenlere göre değişik

şekillerde sınıflandırmalar da mevcuttur. Fakat yaygın olan şekli yanığın deri katmanlarında yaptığı hasarın esas alındığı gruplandırmadır.

1.4.1 Birinci derece yanıklar (Yüzeyel yanıklar)

Hafif ve yüzeyel yanıklar olan birinci derece yanıklarda hasar sadece epidermisle sınırlıdır ve derinin bariyer fonksiyonlarında çok az kayıp vardır. Bu tip yanıklar genellikle 5-10 gün içinde epidermis oluşumuyla herhangi bir skar dokusu (yara izi) bırakmaksızın kendiliğinden iyileşirler. Bu yanıklar genellikle pansuman gerektirmezler. Ağrıyı azaltmak ve deriyi nemli tutmak için topikal koruyucular kullanılır. Güneş yanıkları bu gruptadır (Çetinkale, 2008).

1.4.2 İkinci derece yanıklar

İkinci derece yanıklarda epidermisin tamamı ve dermisin ise bir kısmını hasar görerek alt katmanları sağlam kalmıştır. İkinci derece yanıklarda, dermis içindeki kıl folikülü, ter bezlerindeki epidermal yapılardan epitelize olarak iyileşir. Bu yanıklar yüzeyel ve derin ikinci derece yanıklar olmak üzere ikiye ayrılır (Çetinkale, 2008).

1.4.2.1 Yüzeyel ikinci derece yanık (Parsiyal yüzeyel tutunumlu yanıklar)

Bu yanıklarda, hem epidermis hem de dermisin yüzeyel kısmı hasarlı olup, en karakteristik yapı bül (kabarcık) oluşumudur. Yüzey kırmızı ve ıslak olup, oldukça ağrılıdır ve dokununca yumuşak olarak hissedilir. Bunlar, sağlam kalmış dermisteki kıl folikülünün bazal hücreler yardımıyla epitelize olmasıyla, genellikle 10-15 gün içinde iyileşme gösterirler. Kendiliğinden iyileştikleri için günlük değişen pansumanlarla tedavi edilebilirler. Skar dokusu (yara izi) bırakmazlar fakat bazen pigmentasyon görülebilir (Çetinkale, 2008).

1.4.2.2 Derin ikinci derece yanık (Derin tutunumlu)

Derin ikinci derece yanıklarda hasar, epidermis ile birlikte dermisin alt sınırı retiküler dermise kadar inmiştir. Bu yanıklar da renk beyaz ve kırmızı arasında değişiklik gösterebilir. Büller çoğunlukla kendiliğinden patlar ve yanık alanı biraz sert ve ağrılıdır. Kıl folikülü ve ter bezlerindeki keratinositlerin re-epitelizasyonu ile 14-35günde iyileşir. Dermiste belli oranda kayıp olduğu için ciddi skar dokusu (yara izi) bırakarak iyileşirler (Öncül, 2008).

1.4.3 Üçüncü derece yanıklar (Tam kat yanıklar)

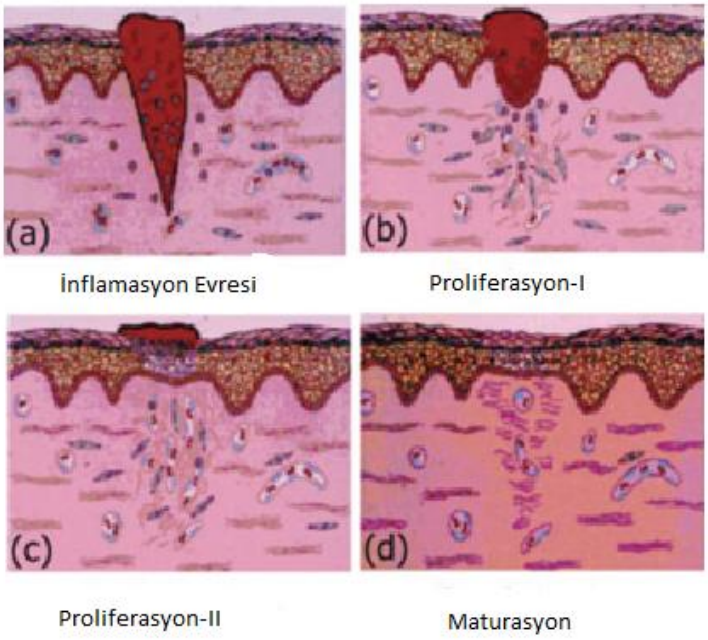
Üçüncü derece yanıklar, harabiyetin dermisin tüm tabakalarına kadar uzandığı, derinin tüm tabakalarının canlılığını yitirdiği tam kat yanıklardır. Yanık bölgesi ağrısız olup, deri görünümü soluk beyaz, gri, koyu kırmızı ve siyah renkte olabilir. Deri oldukça sert, kuru ve elastikiyetini yitirmiştir. Epitelizasyonu sağlayan, Stratum germinativum, kıl folikülü ve ter bezlerindeki keratinositler canlılığını kaybettiği için bu yaralar ancak yara kenarından re-epitelize olurlar. Bu nedenle geniş alanlı yanıklarda epitelizasyon aylarca sürebilir veya hiç bir zaman gerçekleşmez. Skar doku (yara izi) oluşumu kaçınılmazdır. Derin ikinci derece ve üçüncü derece yanıklarda tedavi cerrahi girişim ile sağlanır (Öncül, 2008).

1.4.4 Dördüncü derece yanıklar (Daha derin yanıklar)

Dördüncü derece harabiyet derinliği, dermisin altındaki fasya, kas ve kemik gibi diğer dokuları da kapsadığı için hayati tehlike arz eder. Genellikle elektirik kaynaklı yanıklardır. Tedavi için, canlılığını kaybetmiş tüm dokular debride edilir ve sonraki aşamada doku rekonstrüksiyonu gerçekleştirilir (Öncül, 2008).

1.5 Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, yeni hücrelerin üremesiyle doku bütünlüğünün yeniden sağlanması ve yaranın anatomik, fizyolojik ve histolojik yapısının yeniden kazanmasıyla oluşan, kompleks, dinamik biyokimyasal ve sitolojik olaylar zinciridir (Url-11). Yara iyileşme evrelerine Şekil 1.3'de yer verilmiştir.



Şekil 1.3: Yara İyileşmesinin Evreleri (Zahedia ve diğ., 2009).

1.5.1 İnflamasyon evresi

Yaralanmanın hemen ardından başlar ve ortalama 4 gün sürer. Bu fazın ilk amacı, kanamanın duldurulmasıdır. Yaralanmadan sonra kan damarlarının bütünlüğü bozulur ve kanama meydana gelir. Kanamayı durdurmak için önce vazokonstrüksiyon (damarların kasılması ve daralması), ardından yara yatağına hücre göçünü başlatmak için vazodilatasyon başlar. Yara yatağından, bakterilerden ve açığa çıkan hücrelerden kemotaktik ve büyüme faktörleri salınımıyla; kandaki inflamatuar hücreler damar duvarlarındaki boşluklardan yara yatağına göç etmeye başlar. Yara yatağına gerçekleşen hücre göçüyle, bir matriks (kafes) oluşturulduktan sonra, fibroblastlar yara yatağına gelir ve kollagen sentezine başlarlar. İnflamasyon evresinin ikinci amacı; bakterilerin, yabancı cisimlerin ve diğer enfekte edici maddeleri yaradan uzaklaştırmaktır. Bu işlem parçalı çekirdekli lökosit olarak bilinen nötrofiller tarafından gerçekleştirilir (Altay ve Başal, 2010).

1.5.2 Proliferasyon evresi (Hücre çoğalması)

İnflamasyon evresinin sonuna doğru başlamakta ve 3 hafta boyunca sürmektedir. Bu evredeki temel hücreler fibroblast ve endotel hücreleridir. 72. saatte makrofajlardan salgılanan TGF-b, fibroblastları yaraya doğru harekete geçirir ve proliferasyon evresinin başlangıç sinyalini oluşturur.

Proliferasyon evresi fibroblast proliferasyonu ve angiogenezis olmak üzere ikiye ayrılır (Url-1).

1.5.2.1 Fibroblast proliferasyonu

Fibroblastlar, makrofajlar tarafından TGF-b salgılanmasıyla yara alanına göç etmeye başlarlar. Fibroblastlar, yara yakınındaki konnektif doku hücrelerinden sağlanarak 7 gün sonunda, yara yerindeki predominant hücre olur. Fibroblastların yara yerine göç etmesi ve fonksiyonlarını yerine getirmesi yeterli oksijen seviyeleri ile ilişkilidir. Fibroblast, yara iyileşmesi için gerekli olan glikozaminoglikanlar ve kollojen liflerini üretir (Url-1).

1.5.2.2 Angiogenezis

Yaralanmanın 4. günde başlar. Makrofajlar tarafından salınan, endotel ve mezotel hücreleri için kemoatraktan moleküller olan, angiogenik faktörlerin uyarılmasıyla ile tetiklenir.

Endotel hücrelerinin proliferasyonu ile yara yüzeyinde kapiller tomurcuklar oluşur. Bu tomurcuklar ilerleyip, diğerleriyle aralarında yeni bağlantılar oluşturarak, yeni kapiller ağları ve kapiller yatakları meydana getirirler. Yaranın metabolik ihtiyaçlarına bağlı olarak, yeni kapillerlerde rekostrüksiyon ve regresyon olur, bu oluşum skar doku kızarıklığının azalması şeklinde gözlenir (Url-1).

1.5.3 Maturasyon

Yara iyileşme evresinin son ve en uzun fazıdır. Yaralanmadan 2-3 hafta sonra başlayıp yaklaşık bir yıl kadar sürer. Yaralanmanın ilk haftasında sentezlenen kollajen, maturasyon döneminde yerini daha çok stabil örgü halindeki kollajene bırakır. Kolojen lifler arasındaki kovalent bağlar artarak başlangıçta rastgele dizilmiş olan kollajen lifleri, tedrici olarak, mekanik güçlerin etkisiyle organize olur ve stabilizsyon sağlanır. Maturasyon evresinde kollajen sentezi devam etmekle birlikte, yıkımı da başladığı için net kollajen miktarı dengede kalır. Kollajen lifleri, mekanik kuvvetlerin oluşturduğu gerilim hattı boyunca dizilir ve yarada daha fazla gerilim kuvveti meydana gelir. Yaranın direnç kuvveti kollajen miktarından daha çok dizilimine bağlı olarak artar. Kollajen yıkımı kollajenaz enzimi tarafından gerçekleştirilir (Url-1).

Maturasyon evresinde sentezlenen kollajen lifleri diğer kollajen yapılar ve protein molekülleri arasında stabil çapraz bağlar kurarak kalıcı hale gelirler. Bu süreç yaraya direnç ve bütünlük kazandırır. Maturasyon evresinde diğer değişiklikler, ECM moleküllerinde olur. Hyaluronik asit, kondroidin-4-sülfat gibi GAG'ların ve proteoglikanların miktarı dermiste bulunan normal düzeylerine iner, dokulardaki su miktarı kademeli olarak azalarak normal düzeye ulaşır (Url-1).

Epitelizasyon, yaralanmadan birkaç saat sonra başlayıp, epitel hücrelerinin ayrılmasını, göç etmesini, çoğalmasını, organize ve keratinize olmasını kapsayan bir süreçtir. Oluşan yeni epitel hücreler, mikroplara karşı bariyer özelliği sağlamakta ve sıvı kaybını önlemeye yardımcı olmaktadır. Epitelin görevi vücut yüzeyi ve çevre arasında bir bariyer oluşturmaktır (Url-1).

1.6 Yara Örtüleri

Yara örtüleri, yaralı bölgenin mikrop ve enfeksiyondan korunmasını sağlayan, iyileşme sürecine yardımcı olan medikal teknik tekstil ürünleridir.

Çok eski çağlardan itibaren iyi bir yara iyileşmesi ve yaranın enfeksiyon kapmasını önlemek için uygun malzemeler kullanılmaya çalışılmış ve buna yönelik malzemeler geliştirilmiştir. İlk çağlarda bal hamurları, bitkisel lifler ve hayvan yağları yara kapatma amacıyla kullanılmıştır.

Yara iyileşmesinde, ilaç tedavisiyle birlikte uygun yara örtücülerin kullanımına da önem arz etmektedir. Bu materyallerin görevleri; enfeksiyona, mikroorganizmalara ve olası dış etkenlere karşı yaralı bölgeyi korumak, kan ve eksudayı absorblamak, ve istenen durumlarda yara üzerine ilaç salınımı yaparak yara iyileşmesini kolaylaştırmaktır. Ayrıca; yara örtüleri kolay uygulanabilir ve çıkarılabilir olmalı, nefes alabilir yapı sayesinde, yara iyileşmesi için optimal oksijen geçişini sağlamalı ve daha az örtü değiştirme sıklığı gerektirmelidir (Altay ve Başal, 2010).

Çizelge 1.1'de Türkiye Yara Bakımı Ürünleri Kodlama Sistemi'ne göre (TYBÜKS) hazırlanmış yara örtücü sınıflandırmasına yer verilmiştir.

Çizelge 1.1 : Yara Örtü Tipleri (Url-12)

<table>
<tr><td>1. Kompozit örtüler (A01)</td><td>15. Yara temas tabakaları (A15)</td></tr>
<tr><td>2. Transparan film örtüler (A02)</td><td>16. Yara temizlik ürünleri (A16)</td></tr>
<tr><td>3. Hidrokolloid örtüler (A03)</td><td>17. Deri greftleri ve greft eşdeğerleri (A17)</td></tr>
<tr><td>4. Hidrofiber örtüler (A04)</td><td rowspan="14">18. Diğerleri (A18)
a) Polisakkaritli örtüler (A18a)
b)Pate Bandajlar (A18b)
c) Ballı örtüler (A18c)
d) Parafin gaz yara örtüleri (A18d)
e) Bariyer krem ve örtüler (A18e)
f) Kollajenli örtüler (A18f)
g) Büyüme faktörlü örtüler (A18g)
h) Hyaluronik asitli örtüler (A18h)
i) Enzimatik debridman ürünleri (A18i)</td></tr>
<tr><td>5. Hidrokapiller örtüler (A05)</td></tr>
<tr><td>6. Köpük (foam) örtüler (A06)</td></tr>
<tr><td>7. Alginat örtüler (A07)</td></tr>
<tr><td>8. Yara doldurucuları (A08)</td></tr>
<tr><td>9. Silikon jel tabakalar (A09)</td></tr>
<tr><td>10. Antibakteriyel örtüler (A10)</td></tr>
<tr><td>11. Hidrojel örtüler (A11)</td></tr>
<tr><td>12. Kompresyon bandajları (A12)</td></tr>
<tr><td>13. Özel emici-yapışmaz yara örtüleri (A13)</td></tr>
<tr><td>14. Koku absorbe ediciler (A14)</td></tr>
</table>

Tüm yaralar için uygun tek bir yara örtücü yoktur. Fakat yara örtülerinden beklenen başlıca özellikler aşağıda özetlenmektedir (Altay ve Başal,2010), (Url-2):

1. Sıvı kontrolü: Yara örtücü, bakteri penetrasyon riskini azaltmak ve bandajdan yara sıvısının sızmasını önlemek için eksudayı absorblayabilmeli ve epidermal tabakanın kendini yenileyebilmesi için gerekli olan nemli ortamı sağlayabilmelidir.

2. Koku giderilmesi: Yaradan kaynaklı hoş olmayan kokuyu kontrol altına alabilmelidir.

3.Mikrobiyal kontrol: İltihaplı yaralarda, bakteriler uygun metotlarla kontrol altına alınmalıdır.

4. Fiziksel bariyer: Yara örtücü, dış ortamdan gelen bakterileri ve/veya yaraya zarar verecek herhangi bir sıvı, partikül geçişine izin vermezken, su buharı geçişini müsaade ederek yaralı bölgenin nefes almasını sağlamalıdır.

5. Ölü dokuların temizlenmesi (Debridman): Yara örtüleri uygun nem, pH, sıcaklık ve diğer ideal olan koşulları sağlayarak yaradaki yabancı maddelerin, hasarlı ve ölü dokuların tamamen uzaklaştırılmasını sağlayarak, yara iyileşme sürecine katkıda bulunmaktadır.

6. Kanama etkisi: Ağır cerrahi ve travmatik yaralarda, kan kaybının önlenmesi için kanamanın mümkün olduğunca çabuk durdurulması oldukça önemlidir. Uygun yara örtüleri kan pıhtılaşmasına yardımcı olarak kanamanın durdurulmasını hızlandırmaktadır.

7. Düşük yapışkanlık: Yara örtücünün tamamının veya bir kısmının yara yüzeyine yapışması gerek hasta konforu gerek yara iyileşmesi açısından önemli bir sorundur. Yara örtücünün yara yüzeyine yapışması, yara örtücünün çıkarılması esnasında travmaya neden olmaktadır. Düşük-yapışkan özellikteki malzemelerin tercih edilmesi, yara örtücünün yara yüzeyine yapışması sorununu giderebilmektedir.

8. Isı Yalıtımı: Yara örtücü, ısı kaybını önlemelidir.

9. Yara izinin giderilmesi: Yara izi oluşumu estetik açıdan önemli bir sorundur. Yara izi oluşumunu azaltabilen veya önleyebilen yara örtüleri son zamanlarda ön plana

çıkmıştır.

10. Maliyet: Düşük maliyetle malzeme ve bakım sağlamalıdır.

11. Pansuman-Zaman: En az sayıda örtü değişimi sağlamalıdır.

12. Olumsuz etkiler: Toksik ve alerjik olmamalıdır. Yara iyileşmesi esnasında yara örtücü yapısı bozulmaya uğramamalı ve herhangi bir olumsuz kimyasal reaksiyona girmemelidir.

13. Yerinde sabit durma: Hastanın günlük aktiviteler sırasında yerinde stabil durabilmelidir.

1.7 Yara Bakımında Gümüş Kullanımı

Gümüş; 1800'lü yıllardan itibaren; antiseptik, anti enflamatuar, antifungal özellikleri ile geniş spektrumlu bir antimikrobiyal madde olarak yanıkların, yaraların ve çok sayıda bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (Fong ve Wood, 2006).

Gümüş vücutta birikmez. Absorbe edilen gümüş %90-99 oranında gaita ve idrara ile 2-4 gün içinde vücuttan atılmaktadır (Aktaş, 2010). Gümüş metal olarak aktif değildir ancak, Ag^{+} veya Ag^{0} şeklinde çözünür formda olduğunda biyolojik olarak aktivite gösterir. Ag^{+}, gümüş nitrat, gümüş sülfadiazin ve diğer iyonik gümüş bileşimlerinde bulunan iyonik gümüş formudur. Ag^{0} ise nanokristal gümüşte bulunan metalik gümüşün yüksüz formudur (Rai ve diğ, 2009).

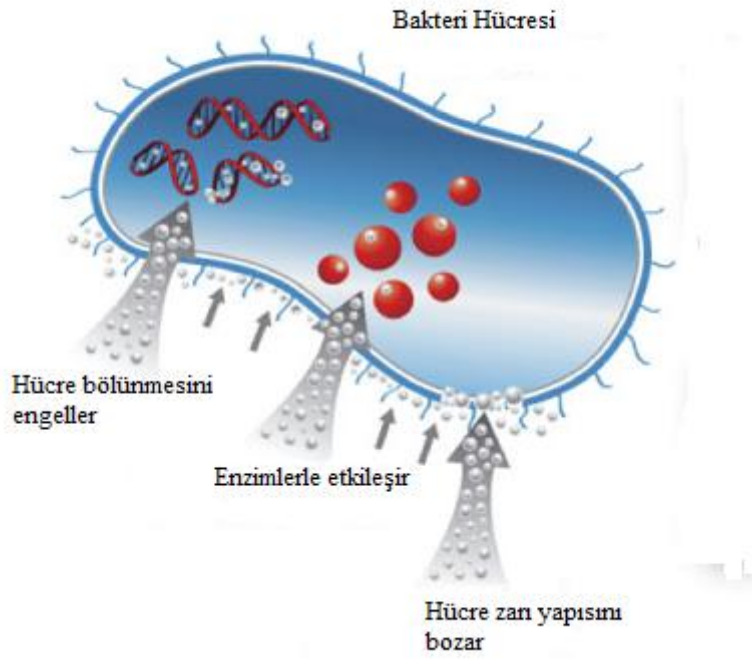
Gümüş iyonlarının bakterilere etkisi üç şekilde olmaktadır.

1-Gümüş iyonları bakteri enzimleriyle etkileşerek bakteri hücresinin içine ve hücreler arasına dağılır.

2-Ayrıca gümüş iyonları bakteri DNA'sına ve sporlarına bağlanıp DNA yapısını bozarak, hücre bölünmesini ve çoğalmasını engeller.

3-Gümüş iyonları, bakteri membranına tutunarak membran (hücre zarı) fonksiyonlarını bozar ve bakteriyi öldürür. (Url-2), (Çetinkale, 2008)

Gümüşün bakterilere karşı etki mekanizması Şekil 1.4'de gösterilmiştir.



Şekil 1.4: Gümüş iyonlarının bakterilere karşı etki mekanizması (Url-13).

Gümüş iyonu salan yara örtüleri 1968 yılında kullanıma girdiğinden bu yana birçok formda ve markada üretilmektedir. Bu yara örtülerinden düşük oranda ve uzun süre gümüş iyonu salınımı beklenir. Yapılan in vitro antibakteriyel çalışmalarda ve hayvan deneylerinde gümüş kullanımının mikroorganizma sayısını düşürdüğü ve yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir. Gümüşün ciltte renk değişikliğine neden olması, kaşıntı yapması, sistemik olarak emilimi, idrarda artmış gümüş miktarı gibi toksik etkiler daha çok gümüş nitrat ile görülmüştür. Son dönemlerde üretilen yara örtüleri için bu konuda bildirim yok gibidir.

Gümüşe karşı direnç konusu oldukça tartışmalıdır. Antibiyotikler bakteri hücre çeperinin belli bir bölgesinden yaklaştıkları için bakteriler antibiyotiklere karşı direnç geliştirirken gümüş iyonları hücre çepeperinin etrafını sardıkları için gümüş iyonlarına karşı direnç geliştiremezler. Fakat bazı yayınlarda gümüşe karşı direnç gelişimi bildirilse de, bu ihmal edilebilecek düzeydedir. Bu kadar geniş spektrumlu bir etkinlik, neredeyse yok denebilecek düzeyde toksisite ve direnç gümüşü antimikrobiyal ajan olarak seçkin kılmaktadır. (Aktaş, 2010).

1.7.1 Gümüş sülfadiazin

Gümüş sülfadiazin özellikle yanık yaralarına karşı tüm dünyada en fazla tercih edilen ve kullanılan topikal antibiyotikdir. Bakterilere karşı direnç gelişmediği için tercih edilen bu ajan, grampozitiflere, gram negatiflerin çoğunluğuna ve bazı fungal mikroorganizmalara karşı geniş spektrumda etkilidir (Çetinkale, 2008).

Yanık sonrası kısa sürede uygulanan gümüş sülfadiazin bakteriyel proliferasyonu baskılar ve infeksiyon gelişimini kontrol altında tutar. Erken dönemde uygulanması etkinliğini artırır ve uygulanması esnasında ağrı gelişmemektedir. Gümüş sülfadiazin başta Pseudomonas'lar olmak üzere, Entero bacter cinslerine karşı güçlü etkinlik oluşturur. Fakat sürekli uygulanımı sonrasında başta Pseudomonas bakterileri olmak üzere enterik gram-negatif bakterilerin bu ajana karşı direnç geliştiği bildirilmektedir. Gümüş sülfadiazinin mafenide asetat ile birlikte dönüşümlü kullanılması günümüzde yanık infeksiyonlarının kontrol altına alınması ve doku iyileşmesinin sağlanması açısından en uygun bulunan kombinasyonlardan biridir. Bu kombinasyon, hem mafenide asetatın olası yan etkilerini önlemek hem de gümüş sülfadiazine direnç gelişimini kontrol altında tutmak amacıyla tercih edilmektedir (Öncül,2008).

1.7.2 Gümüş nitrat

1800'lü yıllarda düşük konsantrasyonlarda (%0.2-2) yanık tedavisinde kullanılmıştır. Moyer ve arkadaşları 1900'lü yıllarda %0.5'lik solüsyonu yanık tedavisinde kullanmışlar ve gümüş nitrat o dönem için yanık tedavisinde mihenk taşı olmuştur. Avantajı çok geniş bir antibakteriyel spektruma sahip olmasıdır. Ancak epitelizasyonu yavaşlatması, hipotonisite nedeniyle hiponatremi ve hipovolemiye neden olması bununla birlikte temas ettiği şeyi siyaha boyaması gibi dezavantajlarından ötürü, diğer ürünlerin kullanıma girmesiyle yara bakımında gümüş nitrat kullanımı terk edilmiştir (Öncül, 2008), (Url-11).

1.7.3 Mafenide asetat

Geniş bir antibakteriel spekturumu olan mafenide asetat, İlk geniş kullanımı 2. Dünya Savaşında Almanya'da olmuştur. Fakat uygulama sırasında ağrı oluşumu, epitelizasyon inhibisyonu ve metabolik asidoza neden olan karbonik anhidraz enzim inhibisyonu, etraftaki tüm malzemeyi, yatak ve örtüleri gri ya da siyah renge

boyaması gibi dezavantajları vardır. Bununla birlikte, dezavantajlar antibakteriel etkinlik korunurken günde 3-4 defa %5'lik solusyonun kulllanımıyla en aza indirgenmiştir (Öncül, 2008), (Url-11).

1.7.4 Metalik gümüş

İnert madde olan metalik formdaki gümüş, ciltle temas ettiğinde, cilt üzerindeki nem ve yaranın sıvısıyla iyonize duruma geçer. Oldukça reaktift olan iyonik gümüşün, doku proteinlerine bağlanarak, bakteriyel hücre duvarında yapısal değişikler oluşturmasıyla mikroorganizmaların ölümü gerçekleşir. Ayrıca bakteri replikasyonunu denatüre ve inhibe ederek DNA ve RNA'sına bağlanır (Rai ve diğ., 2009).

1.7.5 Gümüş nano partikülleri

Gümüş nano partikülleri, diğer gümüş formlarıyla karşılaştırıldıklarında yüksek yüzey alanları sayesinde mikroorganizmalara karşı daha etkin antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Nano partiküller hücre zarına yapışarak bakteri içine penetre olmaktadır. Gümüş nanopartikülleri sülfür içerikli proteinler bulunan bakterial zardaki bu proteinlerle etkileşime geçer. Gümüş nano partikülleri bakteri hücresine girdiğinde, hücre, düşük moleküler ağırlıkta bir form alır ve bakteri ortasında kümeleşerek DNA'sını gümüş iyonlarından korur. Nano partiküller öncelikle solunum zincirine saldırır ve hücre bölünmesini engeller son olarak ise, hücre ölümü gerçekleşir. Nano partiküller bakteri hücreleri içinde gümüş iyonu salınımı yaparak baktersidal etki gösterirler (Rai ve diğ., 2009).

Li ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada gümüş nano partiküllerinin E.Coli bakterisi üzerinde etki mekanizması incelenmiştir. Bu çalışmada gümüş nano partiküllerinin öncelikle hücre zarının yapısını bozarak hücre içine girdikleri, daha sonra solunum enzimlerini inhibe ettikleri belirtilmiştir. Hücre zarı fonksiyonları bozulan ve solunum yapamayan bakterinin gelişmesi ve çoğalması durmaktadır (Can ve Körlü, 2011).

Gümüş nitrat, gümüş sülfadiazin krem ve nanogümüş içeren Acticoat yara örtücünün karşılaştırıldığı bir çalışmada, Acticoat'un gümüş nitrat ve gümüş sülfadiazinden daha etkili bir antibakteriel olduğu gösterilmiştir. Yin ve arkadaşlarının yaptıkları başka bir çalışmada ise, aslında tüm gümüş türevlerinin antibakteriyel etki

mekanizması aynı iken, Acticoat'un ilaç salınımının gümüş nitrat, gümüş sülfadiazin, mafenide asetattan daha hızlı olduğu ve bakterileri daha hızlı öldürdüğü rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalar nanogümüşün, diğer gümüş formalarından daha etkin ve hızlı olduğunu göstermektedir (Fong ve Wood, 2006).

Acticoat nanokristalin gümüş içermesi nedeniyle diğer gümüş içeren bileşiklerden ayrılır. Nanokristal yapı çok geniş bir yüzey alanı oluşturur. Gümüş iyonları ve yüksüz gümüş atomları salgıladığından metalik forma göre daha yüksek bir gümüş konsantrasyonu sağlar (Url-14).

1.7.6 Gümüş içerikli ticari yara örtüleri

Acticoat: Nanogümüş içeren ve nemli bir yara ortamı sağlayan bir pansuman malzemesidir. Acticoat'un, etkinliği uzun sürdüğü için sık pansuman değişimi gerektirmez. Nanokristal gümüş kaplama 30 dakika kadar kısa bir sürede geniş bir bakteri spekturumunu öldürür. Üç tabakadan oluşmaktadır: Gümüş kaplamalı, az yapışkan polyethylene ağdan yapılmış alt ve üst dış tabakalar arasına yerleştirilmiş emici bir iç tabaka. Nanokristal gümüş yara yerini bakteriyel komtaminasyondan korurken, orta tabaka yara ortamının nemini korumasını sağlar. Acticoat 7 pansuman malzemesi beş tabakadan oluşmaktadır ve 7 güne kadar etkilidir.

Kullanılmadan önce Akticoat'un suyla aktifleştirilmesi gereklidir. Akticoat nemlendirildiğinde gümüş salınımı olur. Salınan iyonlar bakteriler ve eksüda içindeki proteinlerle birleştiğinde dengeyi yeniden sağlayabilmek için yeniden gümüş salınımı olur. Gümüş bakteri hücre zarına tutunarak ve intraselüler protein ve enzimleri inaktive ederek etki eder (Url-14).

Nanokristalli Acticoat Absorbent, Acticoat'un bütün antimikrobiyal avantajlarını emme kapasitesi yüksek alginate ile birleştirerek nemli bir yara ortamını, yüksek emme gücünü ve pansuman içerisinden, yara yatağına doğru iletilen, gümüşün antimikrobiyal gücünü sağlar (Url-15).

Actisorb Plus (J&J): Poröz naylon bir örtü içerisinde aktif kömür ve gümüş içeren bir pansuman malzemesidir. Bakteriler, aktif kömürün bulunduğu ortama absorbe olup burada gümüşün antibakteriyel etkisiyle yok edilirler. İçerdiği aktif kömür sayesinde koku kontrolü sağlar. Diğer topikal ilaçlarla birlikte kullanılabilir. Antitoksin bağlama özelliği de vardır (Url-14).

Arglaes (Maersk): %10 oranında gümüş içeren ve sabit oranda gümüş salınımı yapan transparan bir filmdir (Url-14).

Avance A Avance Adhesive (SSL): Gümüş içeren ve aşırı eksüdalı yaralar için üretilmiş bir pansuman malzemesidir (Url-14).

Bunların dışında, gümüşlü pansuman ürünleri; Acticoat-7, Actisorb Silver 220, Physiotulle (Ag)-Altreet, PolyMem Ag, Atrauman Ag, Urgotul SSD, Silverlon, Silvercel, Bioactive, Aquacel Ag, Arglaes Silver, Contreet Hydrocolloid, Contreet Foam, Avance ticari isimleriyle piyasaya sürülmektedir (Çetinkale, 2008).

1.8 Nanoliflerin Yara Örtücü Olarak Kullanımı

Nanolifler; yüksek gözeneklilik, spesifik yüzey alanları, hücre dışı matris (Extra Cellular Matrix; ECM) yapısını taklit edebilme ve hafif malzemeler olma gibi özelliklerinden dolayı doku iskeleleri, yara örtüleri, yapay damar gibi medikal alanlarda kullanım alanı bulmaktadır.

Yeni nesil tıbbi tekstiller olarak nitelendirilebilecek nanolifler yara örtücü olarak kullanımda da büyük bir potansiyele sahiptir. Nanolifler yüksek yüzey alanları sayesinde kanamayı durdurucu özellikte olmakta, nanoboyutlarda ince lifler olduklarından doğal hücre dışı matris yapısını (Extra Cellular Matrix; ECM) taklit edebilmekte ve hücrelerin tutunması, gelişmesi, çoğalması için elverişli ortam sağlamaktadır (Kim ve diğ., 2007). 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 polimerik malzeme ile yara örtücüye biyouyumluluk, biyoçözünürlük kazandırılabilmesinin yanında, malzemenin fiziksel özellikleri de kontrol edilebilmektedir.

Elektroüretim yöntemiyle, farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip polimerlerden, farklı dayanımlara, farklı yüzey kimyalarına ve fiziksel özelliklere sahip nanolif doku iskeleleri üretmek mümkündür. Elektroüretim süreci aynı zamanda iki ve üç farklı polimerin birlikte eğrilmesine de olanak tanımakta ve oluşan iskelelerin özelliklerini kontrol etmenin yollarını arttırmaktadır. Elektroüretim yönteminin bir diğer avantajı da polimerik nanoliflerin içlerine çözünmeyen ilaç veya biyoaktif moleküllerin yerleştirilebilmesidir. Çalışmalar elektroüretim süreci sırasında liflerin içerisine

yerleştirilmiş biyomoleküllerin biyolojik etkinliklerinin korunmasında nanoliflerin önemli bir rolü olduğunu götermiştir. Çeşitli enzimlerin biyolojik aktivitelerini nanolif yapısı içinde korudukları görülmüştür (Gümüşderelioğlu ve diğ., 2007).

Hastalara yara iyileşmesi için ağızdan verilen bazı ilaçların (örneğin kurkumin) biyo yararlanımı düşüktür. Yani bu tip ilaçlar ağızdan verildiğinde yüksek kararlılıkta, çözünmesi azdır. Bu ilaçların biyo yararlanımı düşük olduğu için kanda nano molar düzeyde görülür. Bunun için vücüt içi kararlılığı ve biyo yararlanımı artıracak başka taşıyıcılar arayışına girilmiştir. Yapılan araştırmalar, nano liflerin bu tip ilaçları taşımada uygun taşıyıcılar olduğu ağızdan alınana göre iyileştirme etkisinin arttığı doğrultusundadır (Merrell ve diğ., 2009).

Literatürde çeşitli polimerlerden elektroüretim yöntemi ile elde edilmiş nanolifli membranların yara örtücü olarak değerlendirildiği çalışmalara rastlanmaktadır. Çizelge 1.2'de yara örtücü amaçlı çalışılan polimerler ve ilave edilen moleküllere yer verilmiştir.

Merrell ve arkadaşları PCL nanoliflerine yara iyileştirici uygulamalarda kullanılan kurkumin maddesini ilave ederek, PCL'nin ilaç taşıyıcı özelliğini diabetik fareler üzerinde incelemişlerdir. 10. gün sonunda kurkumin içeren lifler yaranın %80'nini kapatırken, kurkumin içermeyen PCL lifleri ise ancak %60'ını kapatabilmiştir. Kurkumin ilavesi ile boncuk lif oluşumu azaldığından daha düzgün bir lif morfolojisi elde edilmiştir. İn vivo ve in vitro çalışmalar ise kurkumin ilaveli PCL nanoliflerinin yara kapanma süresini hızlandırdığını, anti oksidant, biyoaktif ve anti enflamatuar özellik gösterdiğini kanıtlamıştır (Merrell ve diğ., 2009).

An ve arkadaşları ise yüksek antimikrobiyel etkisi ile bilinen nanogümüş partiküllerini PEO/Kitosan karışımına ilave ederek başarı ile elektroüretimini gerçekleştirmişlerdir. SEM görüntüleri, Gümüş nano partikülü içeren lifler nanogümüş içermeyen liflere göre daha düzgün ve boncuksuz yapıda olduğunu göstermiştir. TEM analizi ile nanogümüş partiküllerinin 5nm'den daha küçük boyutlarda lif içerisine homojen bir şekilde dağıldığı kanıtlanmıştır. Bu durum nanogümüş partiküllerinin elektroüretim sürecinde iyi stabilize edildiğinin bir göstergesidir. Yeterli stabilitede olan nanogümüş dispersiyonu yığışmayı (agregat oluşmasını) önleyerek antibakteriyel aktiviteyi olumlu yönde etkilemektedir. Yaptıkları XRD çalışmalarıyla ise, gümüş nanopartiküllerinin nanolifler içerisine

Çizelge 1.2 : Nanolif yara örtücü amaçlı çalışılan polimerler ve nanoliflere ilave edilen işlevsel moleküller (Heunis ve Dicks, 2010).

İlave Edilen Molekül	Polimer/Polimer Karışımı	Referans
Antibiyotikler		
Rifampin	PLLA	(Zeng ve diğ., 2003)
Doksorubisin Hidroklorit	PLLA	(Zeng ve diğ., 2003)
Paklitaksil	PLLA	(Zeng ve diğ., 2003)
Tetrasiklin Hidroklorit	PEVA	(Kenawy ve diğ,, 2002)
DNA		
pCMVb encoding a β-Galactosidase	PLGA ve PLA-PEG	(Kim ve diğ, 2004)
Büyüme Faktörleri		
İnsan β- sinir büyüme faktörü (NGF) P	CLEEP	(Luu ve diğ., 2003)
Human glialcell-derived neurotrophic factor (GDNF)	PCLEEP	(Chew ve diğ., 2005)
Kemik morfogenetik Proteini -2 (BMP-2)	PLGA-Hap	(Chew ve diğ., 2007)
Antimikrobiyel Bileşimler		
Gümüş Nano partükülleri	Selüloz Asetat PCL/Gümüşzirkonyum fosfat	(Fu ve diğ., 2008)
Proteinler		
BSA	PEO	(Sun ve diğ., 2003)
Lizozim	PCL/PEO	(Duan ve diğ., 2007)
Lizozim	PCL/PEG	**(**Kowalczyk ve diğ, 2008)
Saytokrom C	PLLA/PLL	(Kim ve diğ, 2007)
Bakteriler		
Staphylococcus albus	PVA	(Li ve diğ., 2008)
Eschericia coli	PEO	(Maretschek ve diğ., 2008)
Lactobacillus plantarum	PEO	(Salalha ve diğ., 2006)
Bakteriofajlar		
M13	PVP	(Gensheimer ve diğ., 2007)

başarılı bir şekilde kapsüllendiği anlaşılmaktadır. Kitosan/PEO liflerine nanogümüş ilavesi su absorbsiyon değerini artırmıştır. Bunun nedeni nanogümüş partiküllerinin yüksek yüzeysel enerjileridir. Yüksek yüzey enerjisinden dolayı gümüş nanopartikülleri oksijen ile birleşmekte sonrasında birleşmiş oksijen hidrojen ile bütünleşerek hidrojen bağı oluşturmakta ve böylece nanoliflerin hidrofilitesi artmaktadır. Yapılan antibakteriyel aktivite testi ile gümüş nano partikülleri içeren nanoliflerin E. coli bakterisine karşı etkinliğinin nanogümüş içermeyen liflere oranla daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır (An ve diğ., 2009).

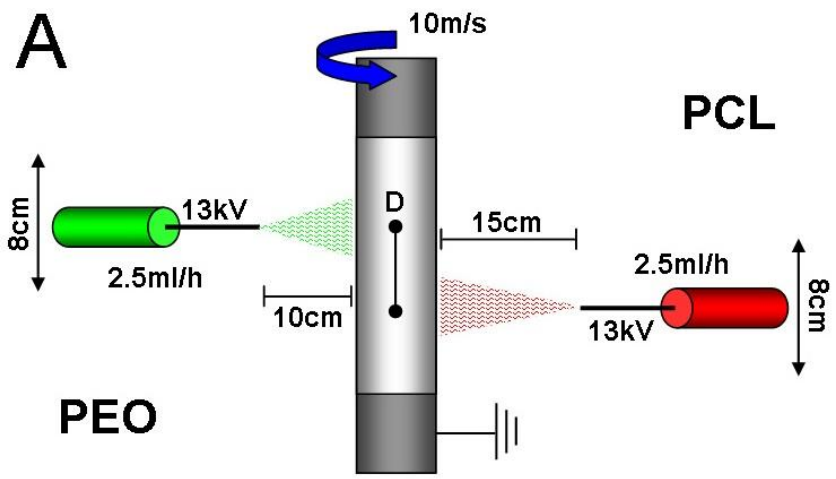
Hiep ve Lee, yaptıkları çalışmada PLGA/PCL polimerleri PCL ana bileşen olmak üzere (0/100), (10/90),(20/80), (30/70) oranlarında karışım olarak çalışılmıştır. PCL esnek ve stabil bir biyopolimerdir böylece PLGA (Poli Laktik ko Glikolik Asit)' nın kırılgan ve düşük uzama özellikleri iyileştirecektir. Ayrıca PCL hidrofobiktir bunun için fizyolojik aktif bölgesi yoktur bu durum PCL'yi canlı vücutla temas ettiğinde hücre çoğalmasında elverişsiz kılmaktadır. PCL nin hidrofilik özelliği düşük olduğu ve yüzeyin hücre tanıma bölgeleri eksik olduğu için, PCL'nin hücre affinitesi genellikle zayıftır. Buna rağmen Epitel hücre davranışları PCL membran üzerinde değerlendirildiğinde, PCL membranın epitel büyümesini arttırdığı gösterilmiştir. Elektroüretim yöntemiyle elde edilen PCL nanolifleri ECM'yi taklit edebilmelerine rağmen, hidrofilik özelliğinin düşük olması hücre adhezyonu, migrasyonu, üremesi ve farklılaşmasında azalmaya neden olmuştur. Fakat PLGA daha hidrofilik olduğu için, hücre adhezyonu ve üremesi bakımından PCLden daha iyidir. Farklı oranlardaki PLGA/PCL karışımlarının mekanik özellikleri incelendiğinde, PLGA ilavesi ile kopma mukavemetinde artış gerçekleşmiş, PLGA oranının artırılmasıyla kopma mukavemeti de yükselmiştir. Kopma mukavemetinin artmasında PLGA miktarının artması kadar lif inceliği ve uniformitesi de etkili olmuştur. Kopma uzama eğrisi incelendiğinde, karışımdaki PCL miktarının artmasıyla % kopma uzama değeri de artmıştır. Bu durum PCL nin esnek bir polimer olduğunu göstermiştir (Hiep ve Lee., 2010).

Kim ve arkadaşları 90/10, 70/30, 50/50 oranlarıdaki PEO/PCL karışımına lizozim proteini ilavesiyle oluşan çözeltinin elektroüretimini gerçekleştirerek, elde ettikleri nanoliflerin lizozim salınım mekanizmasını incelemişlerdir. Karışımdaki PEO miktarı arttıkça lizozimin salınımının kolaylaştığı görülmüştür. PEO'nun hidrofilik bir polimer olması dolayısıyla polimer erezyonunun daha hızlı gerçekleşmesi

nedeniyle ilaç salınım miktarını belirlemede PEO nanolifleri etkin olmuştur. 12 günlük yara iyileşme süreci için, lizozimin %87 oranında salınımı gerçekleştiğinden, en ideal oran 90/10 PEO/PCL olarak belirlenmiştir. Ayrıca lizozimin doğal biyolojik aktivitesi ile nanolif içerisindeki biyolojik aktivitesi arasında önemli bir fark görülmemiştir (Kim ve diğ., 2007).

Kim ve arkadaşları doku iskelesi uygulamalarına yönelik yaptıkları çalışmalarında, PCL nanoliflerinin hidrofilitesini artırmak için, hidrofilik PEO polimerini iki farklı şekilde yapıya dahil etmişlerdir. 1. modelde PCL ve PEO polimerlerinin karışımından oluşan çözeltinin, tek düzeli elektroüretim düzeneğinde nanolif üretimini gerçekleştirmişlerdir. 2. model olarak ise ayrı ayrı hazırlanan PCL ve PEO çözeltilerinin çift düzeli sistemde elektroüretim işleminin yapılmasıyla katmanlı olarak nanolifler elde edilmiştir. Her iki modelde PCL'nin tek başına elektroüretimine oranla hidrofilite artırılmıştır. İnsan dermal fibroblastları üzerinde yapılan hücre kültür testi ve SEM analizleri insan fibroblastı ve PCL/PEO nanolifleri arasındaki etkileşim ve biyoyapışmanın, saf PCL nano liflerine kıyasla arzu edilen düzeyde olduğunu göstermiştir (Kim ve diğ., 2007).

Baker ve arkadaşları, karşılıklı yerleştirdikleri iki farklı düzeden (Şekil 1.5) aynı toplayıcı üzerine lif birikmesi olacak şekilde tasarladıkları elektroüretim düzeneğinde, PEO ve PCL polimerlerinden nanolifli yüzeyler elde etmişlerdir. Elde ettikleri nanolifli yüzeyleri suya daldırarak yapıdaki PEO polimerinin uzaklaşmasıyla poroziteyi artırmayı ve hücre infiltrasyonu için daha uygun bir yapı oluşturmayı hedeflemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda, PEO'nun suda çözünmesiyle daha poroz bir morfoloji oluştuğunu ve porozitenin arttığını kanıtlamışlardır. Ayrıca nanolifli yüzeylere MSC (Mezenkimal Kök Hücreleri) hücreleri ekilerek hücre üremesi ve yayılmasını incelediklerinde, su da çözünerek yapıdan uzaklaştırılan PEO oranı %5'ten %80'e doğru arttıkça, nanolifler üzerine ekilen hücrelerin daha geniş bir alana yayıldığını ve optimum PEO uzaklaştırma oranının %80 olduğunu belirtmişlerdir (Baker ve diğ., 2008).



Şekil 1.5: Baker ve arkadaşlarının elektroüretim düzeneği (Baker ve diğ., 2008).

Luong -Van ve arkadaşları ise %8 lik PCL/ (DCM:Metanol, 7:3) çözeltisine ağırlıkça %0,5 ve %0,05 oranlarında heparin hormonu ilave ederek, vasküler greft uygulamaları için elektroüretim yöntemiyle nanolif ağlar elde etmişlerdir. Kontrollü ilaç salınımı çalışmaları sonucunda, heparinin %60 kadarının 14 günlük süreçte düzenli bir rejimde salınındığını ve %0,5 ile %0,05 heparin içeren nanolifli malzemelerin salınım davranışının benzer olduğunu göstermişlerdir. Yaptıkları fluorescent mikroskobi analiziyle heparinin nanolifler içerisine homojen olarak dağıldığını kanıtlamışlardır. Nanolifli yüzeyler herhangi bir enflamatuar etki göstermemiştir. Ayrıca heparin miktarının artmasının nanolif çapını azaltığını, lif morfolojisine olumlu etkisini vurgulamışlardır (Luong-Van ve diğ., 2006).

Ignatova ve arkadaşları, eczacılıkta geniş kullanım alanı olan PVP-iyodin kompleksi ile karıştırarak hazırladıkları polietilenoksit (PEO) sulu çözeltisinden elektroüretim yöntemiyle elde ettikleri nanolif yüzeylerin yara örtücü olarak kullanılabileceğini belirtmişleridir (Ignotava ve diğ., 2007).

Üstündağ ve arkadaşları yara örtücü olarak değerlendirilmek üzere, sodyum alginat ve poli(vinil alkol) polimerlerinin sulu çözeltilerinin 2/1 hacimsel karışımından elektroüretim yöntemi ile nanolifli yüzey elde etmişlerdir. Her iki polimer için de su, çözücü özelliği gösterdiğinden, nanolifli yüzeylerin suya dayanım özelliğini geliştirmek için, gluteraldehit/hidroklorik asit/aseton karışımı içerisinde çapraz bağlama işlemi uygulanmıştır. Çapraz bağlama işlemi öncesi ve sonrasında, nanolifli yüzeylere uygulanan su emicilik ve suya dayanım testleri sonucunda çapraz bağlama işlemi ile yüzeyin su emicilik özelliğinin azaldığı ancak, lifli yapının deformasyona

uğramadan nanolifli yüzeyin suya dayanıklı hale geldiği gösterilmiştir. Ayrıca çapraz bağlama sonrası ve öncesi SEM görüntüleri değerlendirildiğinde çapraz bağlanma sonrasında yüzeyin lifli yapısını kaybetmediğini ve nanoliflerde herhangi bir deformasyonun ve çap değişiminin gerçekleşmediği belirtilmiştir (Üstündağ ve diğ., 2010).

Kong ve Jang PMMA/Gümüş bileşiminden elektroüretimi yöntemiyle ürettikleri nanoliflerin antibakteriyel aktivitelerini ve ilaç salınımını incelemişlerdir. Nanonlif yüzeylerini, 3 gün, her 24 saatte UV-visible spestroskopisinde analiz ettiklerinde, spektrogramdaki gümüş pik şiddetinin her 24 saat sonunda azaldığını dolayısıyla nanolifli yüzeyin gümüş salınımı gerçekleştidiğini belirtmişlerdir. PMMA/Gümüş nanolifli yüzeyini, gümüş sülfadiazin ve gümüş nitrat ile karşılaştırarak E.Coli ve S.Aureus bakterileriyle yaptıkları antibakteriyel aktivite test sonucunda ise, nanolifli yüzeyin antibakteriyel etkinliğinin aynı miktardaki gümüş nitrattan 3 kat, gümüş sülfadiazinden ise 9 kat fazla olduğunu tespit etmişlerdir (Kong ve Jang, 2008).

Jeon ve arkadaşları PCL-PU kopolimerinini DMF/THF (7:3) karışımında çözerek hazırladıkları çözeltiye farklı konsantrasyonlarda gümüş nitrat ilave ederek, çözeltinin elektroüretimini başarıyla gerçekleştirmişlerdir. Nanolifteki, gümüş nitrat miktarının artmasıyla lifler incelmiştir. Mekanik özelikleri araştırıldığında, gümüş nitrat ilavesiyle kopma mukavemeti artarken kopma uzaması azalmıştır. Mekanik özelliklerdeki bu değişim gümüş nitrat miktarının %1'e kadar artırılmasıyla aynı eğilimi göstermiş %1'in üzerinde ise bir miktar azalış gerçekleşmiştir. Nanolifli yüzeyler 100°C'da 24 saat fırında bekletildikten sonra, TEM analizi yapıldığında gümüş patiküllerinin 4,5-11 nm boyut aralığında, homojen olarak liflere dağıldığı görülmüştür (Jeon ve diğ., 2008).

Duan ve arkadaşları yara örtücü uygulamaları için, PCL çözeltisine gümüş-zirkonyum fosfat ekleyerek elektroüretim işlemiyle nanolifli yüzeyler üretmişlerdir. SEM, EDX ve XRD analizleriyle gümüş zirkonyum fosfatın nanolifler içerisine homojen ve yığışma olmadan dağıldığını kanıtlamışlardır. Ayrıca yaptıkları antibakteriyel etkinlik çalışmalarıyla nanolif yara örtücüden salınan gümüş iyonlarının mikroorganizmalara karşı güçlü bakterisidal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca gümüş iyonlarının yara örtücü üzerinde herhangi bir lekeleme yapmadığını belirtmişlerdir. Taramalı elektron mikroskobu yardımıyla (SEM), İnsan dermal fibroblastları, nanolifler üzerine ekilerek hücre üremesi ve morfolojisi

incelendiğinde kültür hücrelerinin nanoliflere tutunarak herhangi bir morfolojik değişime uğramadan çoğaldığı bildirilmiştir (Duan ve diğ., 2007).

Son ve arkadaşları selüloz asetat ve gümüş nitratı aseton/su (8:2) karışımında çözerek hazırladıkları çözeltisinden elektroüretim işlemiyle antimikrobiyel CA/AgNO3 nanollifleri elde etmişlerdir. Yaptıkları TEM analiziyle gümüşün nanolif yüzeyine homojen biçiminde dağıldığını ve ortalama parçacık büyüklüklerinin 21 nm olduğunu göstermişlerdir. Yara örtücü amaçlı kullanılacak nanolifli yüzeylerin 18 saat bakteri kültürüyle inkübasyonu sonunda S.aureus, E.Coli, K.pneumoniae ve P.aeruginosa tipindeki bakterilerin %99,9'unu öldürmesiyle bakteri üremesini tamamen inhibe ettiği kanıtlanmıştır. Sonuçlar doğrultusunda gümüş nano partükülleri içeren selüloz asetat nanolidlerinin yara örtücü ve benzeri medikal uygulamalar için iyi bir aday olduğunu öne sürmüşlerdir (Son ve diğ., 2006).

Chen ve arkadaşları çalışmalarında, elektroüretim yöntemi ile kollajen ve kitosan karışımından nanolifli yüzeyler elde etmişler ve bunları yara örtücü olarak değerlendirmişlerdir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda; kollajen-kitosan nanolifli yüzeyler, yara iyileşmesini destekleyici, hücre migrasyonuna ve çoğalmasına olumlu etkileri bulunmuştur. Hayvanlar üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda kollojen/kitosan nanoliflerinin, yara iyileşmesinde, gazlı bez ve ticari kollajen süngerden daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir (Chen ve diğ., 2008).

Khil ve arkadaşları, PU polimerinin elektroüretiminden elde ettikleri nanolifli yüzeyleri yara örtücü olarak kullanmışlardır. Bu yara örtüleri, nanoliflerin gözenekli yapısı, geniş yüzey alanı ve poliüretanın spesifik özellikleri sayesinde kontrollü su kaybı, mükemmel oksijen geçirgenliği ve desteklenmiş sıvı drenaj kabiliyeti göstermişlerdir. Hücreler üzerine yapılan çalışmalarda PU nanolifli bu yüzeylerde toksisite ve dışarıdan mikro organizma geçişi görülmemiştir. Histolojik değerlendirmeler, bu nanolifli yüzeyle kapatılan yaranın epitalizasyon hızının arttığını ve akıntının daha iyi kontrol edilebildiğini göstermiştir. Sonuç olarak elektroüretim yöntemi ile elde edilen PU nanoliflerinin, yara örtücü olarak kullanılabilirliğini kanıtlamışlardır (Khil ve diğ., 2003).

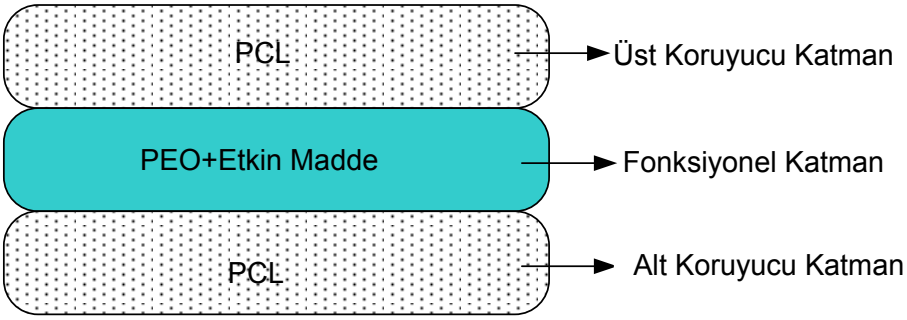
1.9 Geliştirilmekte Olan Nanolif Yara Örtücü Modeli

Yara örtücü, doku iskelesi gibi medikal uygulamalarda kullanılan polimerlerlerin biyouyumlu ve biyobozunur olmaları istenir. Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücü modelinde biyouyumlu ve biyobozunur özellikteki polikaprolakton (PCL) ve polietilen oksit (PEO) polimerleri kullanılmıştır.

Biyouyumluluk polimerin varlığı ile doku etrafında hiçbir şekilde olumsuz bir reaksiyon oluşmaması ve polimerin dokuda istenmeyen tepkilere (iltihaplanma, pıhtı oluşumu ve benzeri) sebebiyet vermemesi demektir (Özalp ve Özdemir, 2010). Biyouyumluluk yara örtülerinde aranan önemli bir özelliktir çünkü yara örtüleri yerleştirildikleri bölgede olumlu bağışıklık tepkileri almalı ve olumsuz fizyolojik tepkilere neden olmamalıdır (Laurencin ve Nair, 2008). Biyobozunurluk ise polimerin belli bir süre içinde vücutta doğal olarak gerçekleşen prosesler ile makromoleküler düzeye kadar bozunması ve vücuttan filtre edilerek veya metabolize olarak atılmasıdır (Doğan ve Başal, 2009). Fakat polimer bozunurken, biyouyumluluk özelliğini kaybetmemeli, toksik ürünler oluşturmamalı ve oluşan yeni doku için uygun ortamı sağlayacak mekanik özelliklere sahip olmalıdır(Sacholos ve Czernuszka, 2003). Ayrıca ilaç taşıyıcı malzemelerin, istenilen hızlarda kontrollü bir şekilde ilaç salınımı gerçekleştirmesi için kullanılan polimerin uygun parçalanma hızında olması da önem arz etmektedir. Günümüzde pek çok biyoparçalanabilir polimer ile başarılı ilaç salınım sistemleri tasarlanmış bulunmaktadır(Altay ve Başal, 2010).

Yara örtülerinde genellikle bir hidrofobik bir de hidrofilik yapı mevcuttur. Hidrofobik polimer, in vivo bozulmaya daha az eğilimde olduğu için yara örtücünün temel yapısını teşkil ederken hidrofilik polimer ise daha çabuk bozulduğu için ilaç salınımı için uygundur (Heunis ve Dicks, 2010). Tasarlanan yara örtücü modelinde kullanılan polimerlerden PCL hidrofobik, PEO ise hidrofilik yapıdadır. PCL; esneklik ve mukavemet gibi mekanik özellikleriyle ön plana çıkması, hidrofobik karakterde olması, ve parçalanması süresinin uzun olmasından ötürü yara örtücünün temel yapısını oluşturan koruyucu katman olarak kullanılmıştır. Elektroüretimle elde edilen nanolifler sayesinde nano boyuttaki gözenekler bakteri penetrasyonunu da engelleyebilmektedir. Ayrıca PCL endotel hücrelerin yaşayabilirlilik ve büyümesine karşı olumlu bir süreç gösterdiğinden yara örtücü uygulamalarında tercih

edilmektedir (Altay ve Başal, 2010). Polietilenoksit ise; hücre adhezyonuna uygun ortam oluşturur ve düşük toksisite gösterir. Hidrofilik özelliği nedeniyle vücut sıvısı ile etkileşerek hızlı bozulmaya uğradığı için ilaç taşıyıcı olarak, yara örtüleri, doku iskeleleri gibi medikal uygulamalarda kullanılmaktadır (Url-16).



Şekil 1.6: Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücü modeli.

Polimerlerin karışım ve katman olmak üzere iki şekilde yara örtücü denemeleri mevcuttur (Hiep ve Lee, 2010), (Kim ve diğ, 2007). Çalışmada seçilen model ise Şekil 1.6'da gösterilen PCL/PEO+Etkin Madde/PCL formülasyonundaki üç katmanlı sandviç yapıdır. Çünkü pek çok modern yara örtücü genellikle katmanlı yapıdadırlar (Altay ve Başal, 2010). Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün iskeletini oluşturan PCL, bahsedilen özelliklerinden dolayı koruyucu tabaka olarak alt ve üst tabakada kullanılmıştır. PEO ise polimer erezyonu kolay olması nedeniyle ilaç salınımını gerçekleştirmek için yara örtücünün ara katmanı olarak düşünülmüştür.

Özetle, PCL/PEO/PCL gibi bir katmanlı yapının seçilmesindeki amaç, hidrofilik karakterdeki PEO tabakasını hidrofob PCL tabakaları arasında muhafaza ederek ilaç salınımı yapabilmektir.

2. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde, yapılan çalışma boyunca kullanılan kimyasal malzemelere yer verilmiş ve geliştirilmekte olan nanolifli yüzeylerden oluşan yara örtücünün karakterizasyon metodları açıklanmıştır.

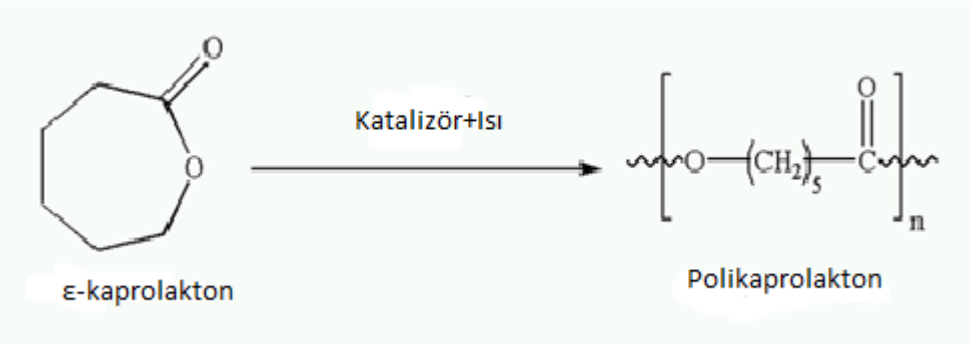
2.1 Materyal

2.1.1 Polikaprolakton

Poli (ε-kaprolakton) (P-ε-CL), ε-kaprolaktonun 170°C'de, azot atmosferinde dibutil kalay oksit katalizörü varlığında zincir açılması polimerizasyonu ile oluşan lineer, alifatik poliester gurubundandır. Biyobozunur ve biyouyumlu yapısından dolayı ameliyat ipliği, yara örtücü, doku iskelesi, doku mühendisliği vb medikal çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Şekil 2.1'de polikaprolaktonun kimyasal formülüne yer verilmiştir.

PCL yarı kristalin sentetik bir polimerdir. Camsı geçiş sıcaklığı -60°C, erime noktası ise yaklaşık 63°C'dir düşük camsı geçiş sıcaklığından ötürü oda sıcaklığında kauçuğumsu özellik gösterir (Laszlo, 2007). Bu özelliği birçok ilaca karşı olan yüksek geçirgenliğine katkıda bulunarak ilaç salınım sistemlerinde kullanımına olanak sağlamaktadır. PCL hidrofobik olması nedeniyle bozunması yavaş bir polimerdir. Nem alma kapasitesi %2'dir (Garcia ve diğ., 2009). Bozunma süresi 1-2 yıl arasında değişmektedir. Yavaş bozunmaya uğraması ve fiziksel özellikerini uzun süre koruyabilmesi nedeniyle uzun süreli ilaç salınım sistemlerinde ve vücut içi implantlarında tercih edilmektedir.

Poliglikolik asit ve poli(L-laktik asit)e (PLLA) kıyasla daha iyi elastik özellikler gösterdiği için doku iskelelerinde PCL daha çok tercih edilmektedir. PCL endotel hücrelere karşı çok iyi biyoyapışma ve tutunma özelliği göstererek, hücrelerin yaşayabilmeleri, büyümeleri ve çoğalmaları için uygun ortamı sağlar (Johanas, 2008). Bu özelliğiyle PCL özellikle yara örtücü ve doku mühendisliği uygulamaları için iyi bir adaydır.



Şekil 2.1 : Polikaprolaktonun kimyasal formülü (Url-17).

Çalışmada kullanılan polikaprolaktonun molekül ağırlığı M_w=50.000-70.000 aralığında olup Sigma-Aldrich (Url-18) firmasından tedarik edilmiştir.

2.1.2 Polietilenoksit

Polieter grubundan olan polietilen oksit, suda çözünen en basit yapılı polimerdir. Oligomer yapısında, kısa zincir uzunluğuna sahiptir. 20.000 g/mol molekül ağırlığının altında olan etilen oksit polimeri polietilen glikol (PEG), 20.000 g/mol üzeri molekül ağırğında olan etilen oksit polimeri ise polietilen oksit (PEO) olarak adlandırılmaktadır (Url-16). PEO yaygın kullanım özelliği nedeniyle en çok üzerinde bilimsel amaçlı çalışmalar yapılmış suda çözünen polimerdir. Polietilenoksidin kimyasal yapısı Şekil 2.2'de gösterildiği gibidir (Url-19).

Polietilen oksit, hücre adhezyonuna uygun ortam oluşturur ve düşük toksisite gösterir. Hidrofilik özelliği nedeniyle vücut sıvısı ile etkileşerek hızlı bozulmaya uğradığı için ilaç taşıyıcı olarak, yara örtüleri, doku iskeleleri ve cilt kremleri gibi medikal ve kozmetik uygulamalarda kullanılmaktadır (Url-14). Çalışmada kullanılan polietilenoksitin molekül ağırlığı 900.000 g/mol olup Sigma-Aldrich (Url-18) firmasından tedarik edilmiştir.

$$-[O-CH_2-CH_2]-$$

Şekil 2.2 : Polietilenoksitin kimyasal formülü (Url-19).

2.1.3 Gümüş sülfadiazin

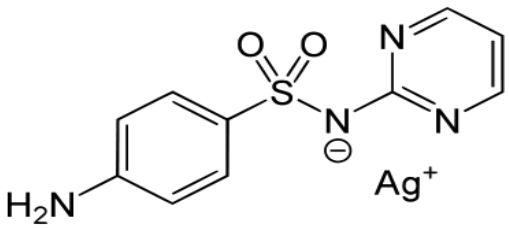
Gümüş sülfadiazin yanık tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ticari Silverex, Silvadene, Silvazine and Flamazine isimleriyle piyasaya sürülen yanık kremlerinin etkin maddesidir. Bu kremler %1 gümüş sülfadiazine içermektedirler. Şekil 2.3'de

kimyasal yapısı gösterilen gümüş sülfadiazin gümüş usülfadiazinin kombinasyonundan oluşmaktadır (Url-20).

Gümüş sülfadiazin geniş bir anti-bakteriyel spekturuma sahiptir. Gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı bakterisid etkisi olduğu gibi, funguslara karşı da etkilidir. gümüş sülfadiazinin ekili olduğu, yanıklarda ve yaralarda önemli sorun teşkil eden başlıca mikroorganizmalar: Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, Candida albicans ve Streptococcus cinsi mikroorganizmalardır. Gümüş sülfadiazinin bakteriler üzerindeki etki mekanizmasının, gümüş nitrat ve sodyum sulfadiazinden farklı olduğu; mikronize radyoaktif gümüş sülfadiazin kullanılan çalışmalarla, elektron mikroskopisi ve bio-kimyasal tekniklerle ortaya çıkmıştır. Gümüş sülfadiazin bakterisid özelliğini sadece hücre zarı ve hücre duvarına etki ederek gösterir.

Gümüş sülfadiazin eksuda ile temas ettiğinde yavaş yavaş sülfadiazine dönüşür. Sülfadiazinin yaklaşık %5-10'u absorbe edilir. Gümüş iyonlarının absorbsiyon miktarı ise %1'den daha azdır (Url-21).

Gümüş sülfadiazinin diğer antibakteriyel ajanlara göre bazı üstünlükleri vardır. Bu bileşik, içerdiği gümüşü yavaş saldığı için astrenjan etki oluşturmamanın yanında vücutta sodyum ve klorür kaybına neden olmaz. Bir başka özelliği ise, gümüş nitrat'ın aksine leke yapmamasıdır. Ayrıca yapılan muhtelif deneylerde yanık ve yaraları enfeksiyonlardan koruması, ağrı ve elektrolit kaybına yol açmadan enfeksiyonları iyileştirmesi gibi üstünlükler taşıdığı gösterilmiştir (Url-22).



Şekil 2.3 : Gümüş sülfadiazinin kimyasal yapısı (Url-20).

2.1.4 Nanogümüş tozları

Nanogümüş, diğer gümüş formlarıyla karşılaştırıldığında yüksek yüzey alanı sayesinde mikroorganizmalara karşı daha etkin antimikrobiyal etkinlik gösterir. Nanogümüş hücre zarına yapışarak bakteri içine penetre olur ve sülfür içerikli proteinler bulunan bakterial zardaki proteinlerle etkileşime geçer. Nanogümüş

bakteri hücreleri içinde gümüş iyonu salınımı yaparak baktersidal etki gösterir. Öncelikle solunum zincirine saldırır ve hücre bölünmesini engeller son olarak ise, hücre ölümü gerçekleşir(Rai ve diğ., 2009).

Çalışmada kullanılan nanogümüş tozlarının ortalama büyüklükleri 150-160 nm olup Nano Technology Inc. (Url-23) firmasından tedarik edilmiştir.

2.1.5 Aquacel® Ag

Aquacel® Ag, etkili yara eksuda yönetimi ve geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gereksinimini karşılamak üzere geliştirilmiş gümüş içerikli bir yara örtücüdür. Aquacel® Ag yanıklar, cerrahi yaralar, diyabetik ayak ülserleri, basınçlı ülserler ve bacak ülserleri gibi akut ve kronik yaralarda kullanılabilir. Aquacel® Ag yara örtücü %1,2 (w/w) gümüş katkılı saf hidrofiberlerden oluşan ileri teknoloji ürünü, steril, tek kullanımlık bir yara örtücüdür.

Başta Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus ve Enterococcus olmak üzere yara patojenlerine karşı acil ve kontrollü antimikrobiyal aktivite gösterir. Yara örtücü yapısındaki hidrofiberler, yara sıvısıyla temas esnasında jelleşerek yara örtücüye yüksek sıvı emme kapasitesi sağlar. Bununla birlikte, bakteriler yara yatağından alınarak jelleşmiş lifli yapıya hapsedilir. Aquacel® Ag yara örtücü yara türlerine uygun olarak farklı boyutlarda bulunabilmektedir (Url-24).

Çalışmanın hayvan deneylerin bölümünde geliştirilmekte olan nanolif yara örtücü ile karşılaştırmak amaçlı kullanılmıştır.

2.2 Metot

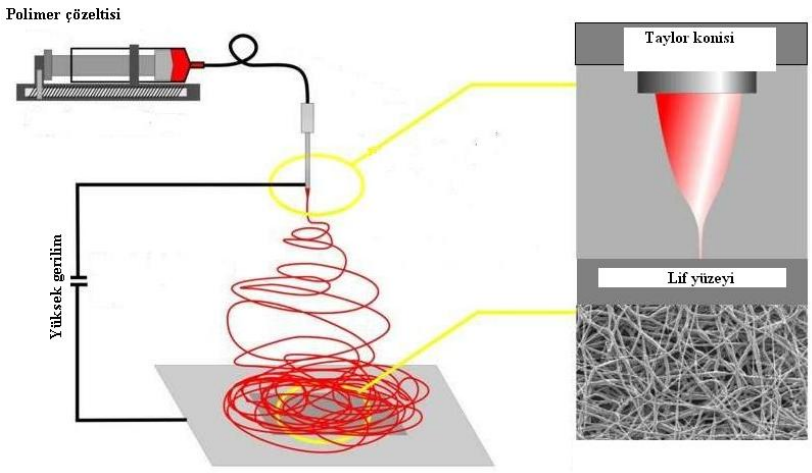
Çalışmanın en önemli kısmı olan elektroüretim işlemi Demir ve arkadaşlarının (Demir ve diğ., 2011) tasarladığı Nanolif Geliştirme Platformunda (NGP) yapılmıştır. Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün karakterizasyonu için kullanılan cihazlara ve test metodlarına bu bölümde yer verilmiştir.

2.2.1 Elektroüretim işlemi

Nanolif üretim yöntemleri arasında elektrostatik yöntemle elde edilen lifler istenilen tüm özellikleri sağlayabilmektedirler, lif inceliği kontrol altında tutulabilmektedir. Bu yöntemde, polimer çözeltisi veya lif eriyiğinden lif eldesi için elektrostatik kuvvet kullanılmaktadır (Demir, 2008).

Elektroüretim adı verilen bu yöntem son 20 yıldır üzerine yoğunlukla çalışılan bir konu olmasına rağmen yöntemin tarihi çok eskidir. 1934 yılında Formhals tarafından, elektrostatik kuvvetler kullanılmak suretiyle polimerlerden filament lif üretilmesi işleminin patenti alınmış ve kullanılan bu yöntem "elektroüretim" olarak tanımlanmıştır. Son dönemlerde, bu yöntem ile elde edilen polimer liflerin çaplarının mikrometre altında uzunluklarda olmaları ve bu ölçülerin filtreleme, kompozitleri güçlendirme ve biyomedikal cihazlar gibi önemli ölçüde geniş uygulama alanları için elverişli olmalarından dolayı bu yönteme olan ilgi hızla artmaktadır (Demir, 2008).

Elektroüretim, uzun zincirli polimerlerin eriyik ya da çözelti olarak akışkan hale getirilip, elektrik alana maruz bırakılmasıdır. Uygulanan voltaj ile viskoelastik akışkan karşıdaki topraklanmış yüzeye incelerek geçmektedir. Düze ucunda iken hemen hemen düzeyle aynı çapa sahip olan jet üzerinde yüksek derecede incelme olmakta ve karşıya nanometrik çapta lifler olarak düzensiz bir şekilde toplanmaktadır. Şekil 2.4'de işlem şematize edilmiştir (Demir, 2012).

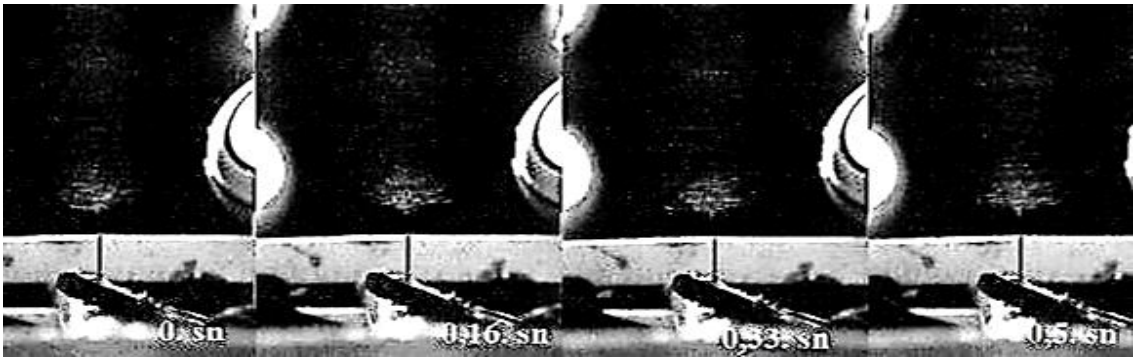


Şekil 2.4 : Elektroüretim düzeneği (Demir, 2012).

Elektroüretim işlemi sırasında polimer çözeltisi üzerine etki etmekte olan kuvvetler damlacığı bir jet haline getirip, yüksek bir ivmeyle toplayıcıya taşımaktadır.

Yüksek gerilim sağlayan güç kaynağının artı ucu düzenin metal olan ucuna bağlanırken, toplayıcı plaka da topraklanır. Böylece düze ve toplayıcı plaka arasında yüksek bir elektrik alan elde edilmiş olur. Güç kaynağı tarafından sağlanan gerilim arttırıldıkça, yeterince yüksek bir değere ulaşan elektrik alan kuvvetleri çözelti üzerindeki viskoelastik ve yüzey gerilimi kuvvetlerini yener ve polimer molekülleri bir jet halinde düzeden toplayıcıya doğru taşınır. Toplayıcıda biriken lifler

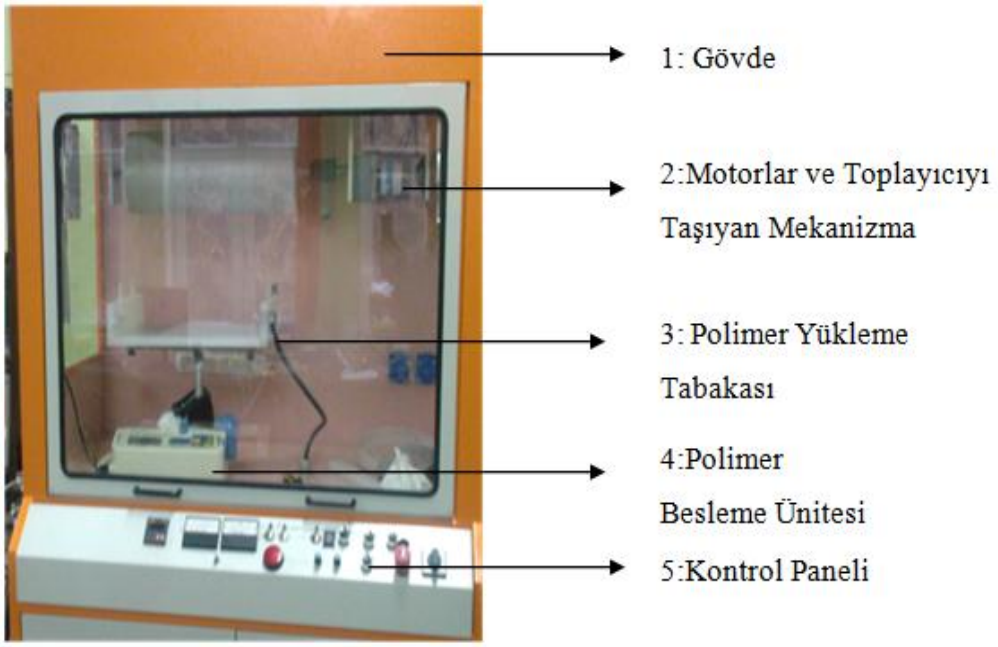
incelendiğinde, gözle görülemeyecek derecede hızlı bir şekilde gerçekleşen bu olayla mikron altı çaplara sahip liflerin üretildiği görülecektir. Elektroüretim olayı sırasında polimer uzun bir yörünge takip ederek incelerek bir jet oluşturur. Sonuçta toplayıcı plaka üzerinde nanoboyutta çaplara sahip lifleren oluşan bir ağ elde edilir. Bu incelme olayını çıplak gözle ayırt etmek olanaksızdır. Şekil 2.5'de söz konusu jetin yüksek hızlı kamera ile çalışılmış görüntüleri (Kıyak, 2011) verilmiştir.



Şekil 2.5 : Elektroüretim işlemi sırasında hızlı kamera ile görülen jetin şekli (Kıyak, 2011).

2.2.2 Nanolif geliştirme platformu (NGP)

Elektroüretim yöntemiyle elde edilen nanolifli yüzeyler Şekil 2.6'de gösterilen Demir ve arkadaşlarının tasarladığı Çok Fonksiyonlu Nanolif Geliştirme Platformu'nda üretilmiştir (Demir ve diğ., 2011).



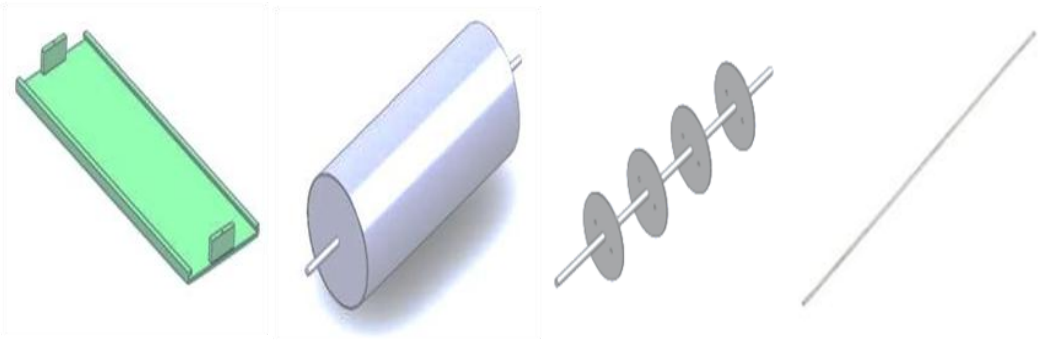
Şekil 2.6 : Nanolif geliştirme platformu (Demir ve diğ., 2011).

2.2.2.1 Motorlar ve toplayıcıyı taşıyan mekanizma

Toplayıcı, elektroüretim işleminin üç ana bileşeninden biridir. Toplayıcı üzerinde üretilen nanolif toplanır. Hareketsiz bir toplayıcıda toplanan nanolifin, homojen dağılımı çok zor olmaktadır. Bu nedenle toplayıcının hareket ettirilmesi gerekmektedir.

Sistemde toplayıcının kendi ekseni etrafında ve yatayda hareketini sağlayan iki motor bulunmaktadır. Bu motorlar, toplayıcının sağa sola hareketini ve dönmesini sağlayarak nanolifin homojen dağıtılması amaçlanmıştır.

Uygulamaya göre (filtrasyon, damar, yara örtücü gibi) toplayıcı tipi ve motor hızı değiştirilebilmektedir. Şekil 2.7'de gösterilen toplayıcılardan, silindir tipi toplayıcı seçilmiştir(Demir, 2012).

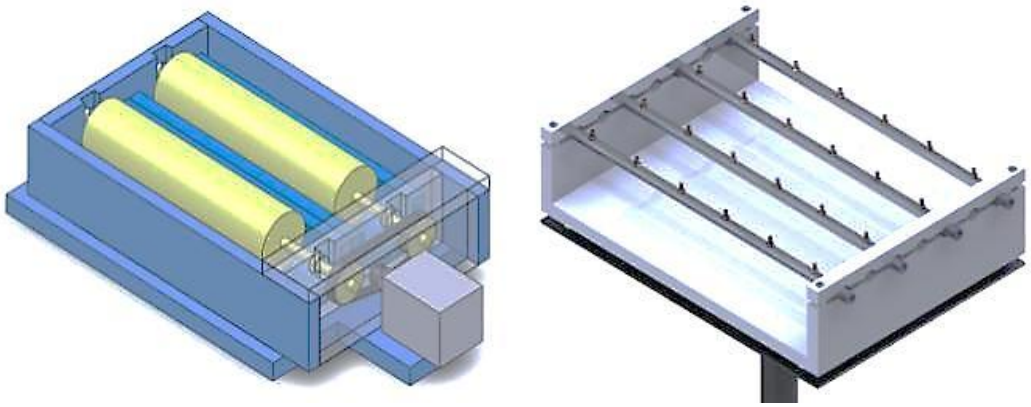


Şekil 2.7 : Farklı toplayıcı tipleri (Demir, 2012).

2.2.2.2 Polimer yükleme ünitesi

Elektroüretimin sürekli olarak gerçekleşebilmesi için polimeri sürekli olarak elektriksel olarak yükleyecek (charge edecek) bir ekipmana ihtiyaç vardır. Bu ekipman sayesinde polimer elektrik ile yüklenerek toplayıcı yüzeylere sürekli olarak iletilir.

Polimer, polimer besleme ünitesi tarafından polimer yükleme ünitesine aktarılır. Burada polimer elektriksel olarak yüklenerek topraklanmış olan toplayıcıya doğru yönelmeye başlar. Yükleme ünitesi yüzeyi, yüzey gerilimini yenebilmeyi etkilediği için çok önemlidir. Cihaz Şekil 2.8'de gösterilen 2 farklı yükleme ünitesi ile kullanılabilmektedir (Demir, 2012). Denemelerde iğne tipi yükleme ünitesi tercih edilmiştir.



Şekil 2.8 : Havuz tipi ve iğne tipi polimer yükleme ünitesi (Demir, 2012).

2.2.2.3 Polimer besleme ünitesi

Kullanılan polimerin polimer yükleme ünitesine polimer sevki iki şekilde gerçekleştirilebilir (Demir, 2012);

- Polimer, bir pompa vasıtası ile düşük bir sabit debi ile iğne tipi polimer yükleme ünitesine beslenir.
- Polimer, bir havuza boşaltılarak içine silindir kısmen daldırılır. Silindire yüksek gerilim beslenir. Silindirin dönmesiyle toplayıcı ve silindirin açıkta kalan yüzeyi ile toplayıcı yüzeyi arasında oluşan elektrik alanı ile elektroüretim gerçekleşir. Bu işlem, havuz tipi polimer yükleme ünitesi ile gerçekleştirilebilmektedir.

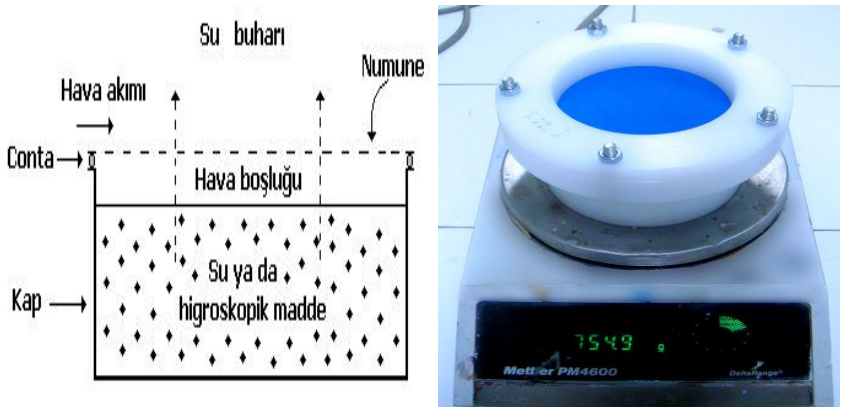
2.2.3 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Elektroüretim metodu ile elde edilen nanolifli yüzeylerin incelenmesi ve nanolif çaplarının tespit edilmesi için Gebze Tübitak Marmara Araştırma Merkezi (MAM) Malzeme Laboratuvarı'nda bulunan JEOL 840 model Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılmıştır.

2.2.4 Su buharı geçirgenlik test düzeneği

Elektroüretim yöntemiyle yara örtücü amaçlı üretilen nanolifli yüzeylerin su buharı geçirgenlik testleri ASTM E 96-80 test standardına uygun olarak yapılmıştır. Buharlaşma esasına dayalı olan bu test metoduna göre öncelikle çok derin olmayan ağız açıklık değeri 1 dm^2 olan bir kap alınarak üçte biri dolu olacak şekilde su eklenir. Numune test kabının ağzına vidalar ve contalı çerçeve ile sabitlenir. 24 saatlik zaman diliminde 1 dm^2 numuneden geçen nem miktarının gram cinsinden

değeri ölçülerek nefes alabilirlik performansı tayin edilir (Bulut, 2009). Su buharı geçirgenlik testi için kullanılan düzenek Şekil 2.9'da gösterilmiştir. Su buharı geçirgenliği ölçümleri 3'er tekrarlı yapılmış ve sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.



Şekil 2.9 : Su buharı geçirgenlik test düzeneği (Uğur, 2008).

2.2.5 Su geçirmezlik test cihazı

Elektroüretim yöntemiyle yara örtücü amaçlı üretilen nanolifli yüzeylerin su geçirmezlik testleri TS 257 EN 20811 "Kumaşların Su Geçirmezliklerinin Hidrostatik Basınç Metodu İle Tayini" standardına uygun olarak yapılmıştır. Kumaş örneğinin altından gittikçe artan su basıncına karşı dayanımı esas alınarak ölçümler yapılmaktadır. Bu standarda göre kumaş numunesi, 3 yerden su geçirinceye kadar, standart şartlar altında bir yüzeyinden sabit hızla artan su basıncına maruz bırakılır. Suyun kumaştan geçtiği üçüncü yerdeki su basıncı kaydedilir. Numune alanı 100 cm^2 ve 20 cm^2 olarak değiştirilebilir. Su geçirgenlik testi için kullanılan cihaz Şekil 2.10'de gösterilmiştir. Su geçirmezlik ölçümleri 2'şer tekrarlı olarak yapılmış ve sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.



Şekil 2.10 : Su geçirgenlik test cihazı.

2.2.6 Hava geçirgenlik test cihazı

Elektroüretim yöntemi ile elde edilen ve yara örtücü olarak değerlendirilecek nanolifli yüzeylerin hava geçirgenlik değerleri tayini için, Tübitak BUTAL Malzeme ve Tekstil Laboratuvarı'nda bulunan TEXTEST marka FX3300 model hava geçirgenlik test cihazından faydalanılmıştır. Hava geçirgenlik testleri ISO 9237 standardına göre 20 cm^2 alandan 200 Pa basınçta hava akımı geçirilerek yapılmıştır. Ölçümler 5'er tekrarlı yapılmış, sonuçların aritmetik ortalaması ve standart sapması hesaplanmıştır. Şekil 2.11'de hava geçirgenliği test cihazına yer verilmiştir.



Şekil 2.11 : Hava geçirgenliği test cihazı (Url-25).

2.2.7 Porometre

Elektroüretim yöntemiyle üretilen nanolifli yüzeylerin ortalama gözenek büyüklüklerinin tespiti için İTÜ Ulusal Membran Teknolojileri Araştırma Merkezi'nde bulunan Porometre cihazı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan cihaza Şekil 2.12'de yer verilmiştir.

Cihazın çalışma prensibi; numunenin, yüzey gerilimi düşük (ıslatımı yüksek) bir sıvıyla ıslatılmasıyla porların iç yüzeyine kadar nufuz etmiş sıvının gittikçe artan gaz basıncı etkisiyle numuneden uzaklaştırılması tekniğine dayanır. Cihaz maksimum 500 psi gaz basıncına kadar çıkarak 18 nm ile 500 µm aralığındaki porları ölçmektedir.



Şekil 2.12 : Porometre cihazı (Url-26).

2.2.8 Dinamik mekanik analizör (DMA)

DMA, polimerik malzemelerin üzerine belirlenen bir frekansta artıp azalan yük motoru kullanarak, malzemelerin elastik modülü, viskoz modülü, kopma mukavemeti, kopma uzaması gibi mekanik özelliklerini ölçer (Url-27). Bu analiz metodunun sık kullanılmasının nedeni hem sıvı hem de katı polimerlerle çalışmalarda kolaylıkla hazırlanabilir olmasıdır.

Elektroüretim yöntemiyle elde edilen nanolifli yüzeylerin başlangıç modüllerinin tayini için İTÜ Kimya Bölümü Elektropolimerizasyon Laboratuvarındaki DMA TA Q800 marka Dinamik Mekanik Analizör (DMA) kullanılmıştır. Ölçümler 2'şer tekrarlı olarak yapılmıştır.

2.2.9 Yüzey alanı ölçümü

Elektroüretim yöntemiyle üretilen nanolifli yüzeylerin gerçek yüzey alanlarının ölçümü için Ankara Üniversitesi Kimya Mühendisliği Laboratuvarında bulunan yüzey alanı ölçüm cihazı kullanılmıştır. Cihaz, numune yüzeyini tek bir moleküler tabaka kaplamak için gerekli gaz miktarını tayin etmekte ve Brunauer, Emmett ve Teller (BET) teorisini kullanarak yüzey alanını hesaplamaktadır.

BET yöntemi toz veya yığınsal numunelerde yüzey alanı ölçümleri ile nano, mezo boyutu ve por boyut dağılımı analizlerinde kullanılmaktadır. Ölçüm, katı maddelerin yüzey enerjileri nedeni ile atmosferdeki gaz moleküllerini adsorplama prensibi üzerine kuruludur. Genellikle N_2 gazı kullanılır.

2.2.10 Difereansiyel taramalı kalorimetre (DSC)

DSC analiz; numunenin ısıtılması, soğutulması ve eş sıcaklıkta tutulmasıyla oluşan enerji farklılıklarındaki değişimlerini analiz eder. Enerji farklılıklarıyla, numunede gözlenen hal değişimi sıcaklığının bulunmasını ve ayrıca erime sürecine bağlı olarak malzeme karekterizasyonunu ölçme ve analiz etme olanağı sağlar (Url-28).

Elektroüretim yöntemiyle üretilen nanolifli yüzeylerin erime sıcaklıklarının tespiti için, Tübitak BUTAL Malzeme ve Tekstil Laboratuvarı'nda bulunan diferansiyel taramalı kalorimetre cihazı kullanılmıştır.

2.2.11 Sterilizasyon

Geliştirilmekte olan nanolif yara örtüleri in vitro ve in vivo çalışmalarda kullanılmak üzere İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi'nde bulunan etilen oksit gaz sterilizasyon cihazı ile sterile edilmiştir. Sterilizasyon 37°C sıcaklıkta 24 saat sürede gerçekleştirilmiştir.

Etilen oksit, mikroorganizmaların hücre duvarı ile reaksiyona girerek irreversibl alkalileşmeye neden olur. Birçok medikal malzeme için kullanımı uygundur. Özellikle ısıya ve neme karşı hassas plastik malzemelerin sterilizasyonunda yaygın kullanımı olan bir yöntemdir **(**Zenciroğlu D., 2005).

2.2.12 Antibakteriyel etkinlik testi

Geliştirilmekte olan nanolif yara örtülerinin antibakteriyel etkinliklerini belirlemek için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında Agar Difüzyon testi yapılmıştır.

Agar difüzyon testi kolay ve kısa sürede sonuç veren kantitatif test metodudur. Mueller Hinton Agar (BD Difco^{TM}) distile su içinde çözüldükten sonra, 45-50 dk. 121°C'da otoklavda bekletilerek besi ortamı hazırlanır. Bakteriler hazırlanan besi ortamına ekildikten sonra, üzerlerine numuneler yerleştirilir. Hazırlanan test düzenekleri 37°C'de 18-24 saat etüvde inkübasyon sonunda numune etrafında oluşan inhibisyon zon çapları ölçülerek numunenin antibakteriyel etkinliği mm cinsinden belirlenir (Çakır ve Yıldırım, 2008), (Palamutçu ve diğ.).

Yapılan çalışmada antibakteriyel etkinliğin yaygınlığına yani inhibisyon zon çapına bakılmayıp sadece numune etrafında zon oluşup oluşmadığına bakılarak etkinlik var veya yok şeklinde değerlendirilmiştir.

2.2.13 İn vivo çalışmalar

Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün antifungal etkinliğini oldukça yaygın kullanılan gümüş sülfadiazin krem ve gümüş iyonları içeren Aquacel ticari yara örtücüyle karşılaştırmak için Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarında sıçanlar üzerine üçüncü derece yanık (tam kat yanık) açılarak in vivo çalışmalar yapılmıştır.

Çalışmada Sprague-Dawley cinsi ortalama ağırıkları 250-300 g aralığında olan 40 adet dişi sıçan kullanılarak her biri 8 sıçandan oluşan 5 grup oluşturulmuştur. Bu guruplara Çizelge 2.1'de yer verilmiştir.

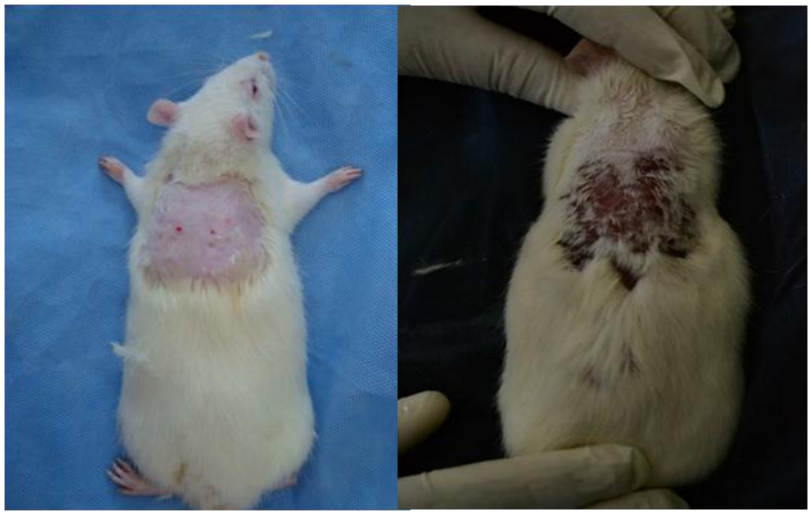
Çizelge 2.1 : Hayvan deneyi grupları.

Deney Grubu	Verilerin analizi için öngörülen hayvan sayısı
1. Grup: Kontrol grubu	8
2. Grup: %1 nanogümüş katkılı nanolif yara örtücü uygulanan grup	8
3. Grup: %1 gümüş sülfadiazin katkılı nanolif yara örtücü uygulanan grup	8
4. Grup: Gümüş sülfadiazin uygulanan grup	8
5. Grup: Aquacel yara örtücü uygulanan grup	8
Toplam:	40

Çalışmanın başında intraperitoneal ketamin anestezisi uygulanan sıçanların sırtı tıraş edildikten sonra 85°C suya 8 saniye temas ettirilerek takriben tüm vücut yüzeyinin %15'i olacak şekilde üçüncü derece yanık oluşturulmuştur. Yanık oluşturulduktan 10 dk sonra 10^8 CFU Candida albicans (ATCC 90028) içeren 0,5 ml'lik sıvı her bir sıçanın yanık sahasına ekilerek her sıçan ayrı steril kafeslere konulmuştur. 24 saat sonunda sıçanlar rastgele 5 gruba ayrılarak her bir gruba tabloda belirtilen farklı bir yara örtücü uygulanmıştır. Yara örtüleri yanık yaralarıyla eşit büyüklükte olacak şekilde kesilip üzerlerine steril gazlı bezler yerleştirilerek cilt stapleri yardımıyla uygulanmıştır. Şekil 2.13'de sırtı tıraşlanmış ve yanık yarası açılmış sıçan

fotoğraflarına Şekil 2.14'de ise yanığa yara örtücü uygulanırken çekilmiş fotoğraflara yer verilmiştir.

1. Grup olan kontrol grubuna herhangi bir topikal ajan uygulanmayıp, 2. 3.,4. ve 5. Gruplara sırasıyla %1 nanogümüş ve %1 gümüş sülfadiazin katkılı nanolif yara örtücü %1 gümüş sülfadiazin içeren krem ve gümüş içerikli ticari bir yara örtücü olan Aquacel uygulanmıştır. Tüm pansumanlar iki günde bir değiştirilmiş gümüş sülfadiazin krem ise steril dil basacağı ile günlük topikal olarak uygulanmıştır.



Şekil 2.13 : a)Tıraşlanmış Sıçan, b)Yanmış Sıçan.



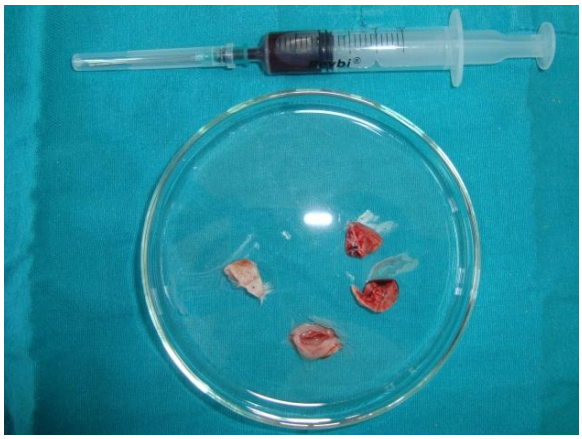
Şekil 2.14 : Nanolif yara örtücü uygulaması.

7. Günde tüm hayvanlara aşırı dozda ilaç verilerek sakrifiye edilmiştir. Eskarlardan (kantitatif), eskarın altındaki paravertebral kaslardan (kantitatif) doku kültürleri, torakotomi yapılarak sol ventrikülden kan kültürleri ve akciğerden doku kültürleri

(kantitatif) alınmıştır. İnkübasyon sonrası üremeler kantitatif olarak değerlendirilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Ülkür ve diğ, 2005), (Acar ve diğ, 2011). Şekil 2.15'de doku kültürü alınırken çekilmiş fotoğraflar, Şekil 2.16'de ise alınan kan ve doku kültürü fotoğrafları bulunmaktadır.



Şekil 2.15 : Sıçanlardan doku kültürü alınırken.



Şekil 2.16 : Kan ve doku kültürleri.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Elektroüretim prosesi

Bu çalışmada birinci ve üçüncü katı PCL, ikinci katı ise PEO olan üç tabakalı bir nanolif yara örtücü hedeflenmiştir. Bunun için PCL ve PEO polimerlerinin ön elekroüretim denemeleri yapılarak optimum elektroüretim parametreleri belirlenmiştir. Optimum değerler Çizelge 3.1'de gösterildiği gibidir.

%9'luk PCL/MC-DMF çözeltisi (w/w) hazırlanarak (MC/DMF oranı 4:1 (v/v)) çözelti 3 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve PCL'nin bu karışımda kolay bir şekilde çözüldüğü gözlemlenmiştir. Elektroüretim işlemi, toplayıcı iğne ucu arasındaki mesafe 18 cm olarak belirlenerek, 15 kV da, 1 ml/saat debide 160 dakika gerçekleştirilmiş ve lifler silindir plakaya toplanmıştır. Üretim esnasında uzun bir düz jet oluşmuş ve lif üretimi çok dağınık gerçekleşmiştir. Bundan ötürü lifleri toplamada güçlük çekilmiştir. Böylece nanolif yara örtücünün ilk katmanı elde edilmiştir.

PCL nano lifleri silindir plakaya toplandıktan sonra, PCL nanolif katmanının üzerine 2. katman olan PEO nanoliflerinin elektroüretimi yapılmıştır. %3,5'lik PEO/saf su çözeltisi (w/w) hazırlanarak, manyetik karıştırıcıda 40^0C da 24 saat karıştırılmıştır. Elektroüretim işlemi toplayıcı iğne ucu arasındaki mesafe 20 cm olarak belirlenerek, 12 kVda, 1 ml/saat debide 360 dakika gerçekleştirilmiş ve lifler silindir plakaya toplanmıştır. Böylelikle yara örtücünün 2. katmanı da tamamlanmış ve üzerine 1. katmanla aynı parametrelerde, 3. katman olan PCL nanoliflerinin elektroüretiminin gerçekleştirilmesiyle 3 katmanlı nanolif yara örtücü elde edilmiştir.

Çizelge 3.1 : Nanolif yara örtücü için optimum elektroüretim parametreleri.

ELEKTROÜRETİM İŞLEM PARAMETRELERİ	PEO (POLİETİLEN OKSİT) (2.Katman)	PCL (POLİ KAPROLAKTAN) (1. ve 3. Katman)
Voltaj (kv)	12	15
Mesafe (cm)	20	18
Debi (ml/saat)	1	1
Konsantrasyon (w/w)	%3,5	%9
Çözücü	Su	MC/DMF (4:1- v:v)
Çalışma Süresi	1,5 saat	1 saat (alt ve üst katman için ayrı ayrı)

3.2 Nanoliflere Etkn Madde Katkısı

Nanoliflere ilave edilecek etkin madde, iyileştirilmesi hedeflenen yaraya uygun olarak seçilmelidir. Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün, üçüncü derece yanıklarlar üzerine uygulanması düşünülmektedir. Bunun için etkin madde olarak, yanık tedavisinde geniş kullanım alanı olan gümüş sülfadiazin ve nanogümüş tozları kullanılmıştır.

PEO polimer çözeltisine belirli konsantrasyonlarda gümüş sülfadiazin ve nanogümüş ilaveleri yapılarak elektroüretim işlemi yapılmıştır. Etkin madde ilave miktarları Çizelge 3.2'de gösterildiği gibidir.

Çizelge 3.2 : Etkin madde katkı miktarı.

Nanogümüş Katkılı	Gümüş Sülfadiazin Katkılı
%0,5	%0,5
%1	%1
%1,25	%1,25
%1,5	%1,5

3.3 Deneysel Çalışma Planı

Bu çalışmada geliştirilmekte olan nanolif yaraörtücü için çalışma planı Çizelge 3.3'de gösterildiği gibidir.

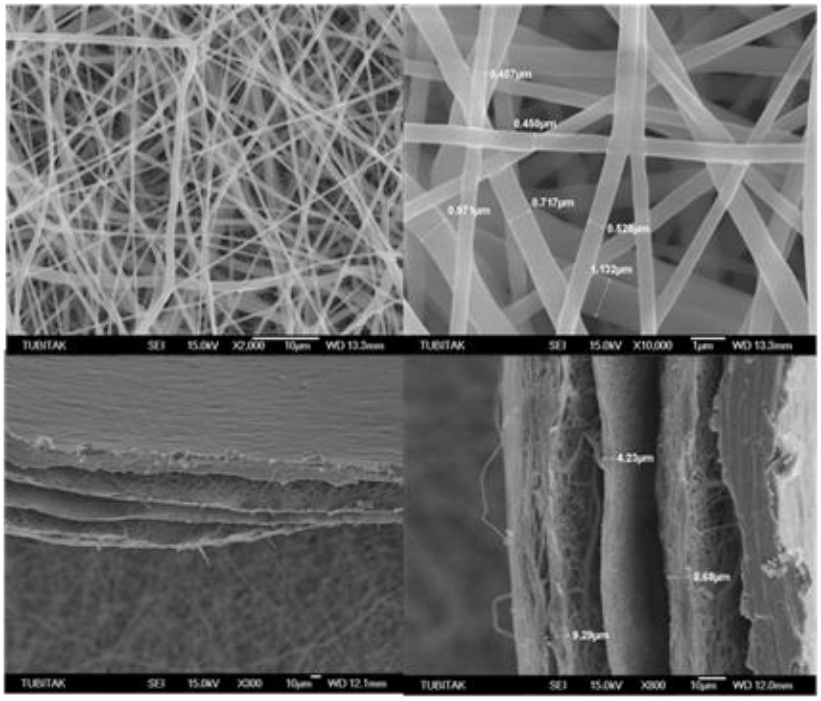
Çizelge 3.3 : Deneysel çalışma parametreleri.

Deneme No	Etkin Madde	Konsantrasyonu (%)	Çalışma Süresi (saat)		Yaklaşık PCL/PEO Oranı	Toplayıcı Silindir Dönme Hızı (devir/dakika)	Silindir Çapı (cm)
			PCL	PEO			
1*	Katkısız	0	2	1,5	2:1	100	15
2*	Gümüş Sülfadiazin	0,5	2	1,5	2:1	100	15
3	Gümüş Sülfadiazin	1	2	1,5	2:1	100	15
4	Gümüş Sülfadiazin	1,25	2	1,5	2:1	100	15
5	Gümüş Sülfadiazin	1,5	2	1,5	2:1	100	15
6*	Nanogümüş Tozları	0,5	2	1,5	2:1	100	15
7	Nanogümüş Tozları	1	2	1,5	2:1	100	15
8	Nanogümüş Tozları	1,25	2	1,5	2:1	100	15
9	Nanogümüş Tozları	1,5	2	1,5	2:1	100	15
10	Gümüş Sülfadiazin	0,5	1,25	1,5	3:2	100	15
11	Gümüş sülfadiazin	0,5	1	1,5	1:1	100	15
12	Nanogümüş Tozları	0,5	1,25	1,5	3:2	100	15
13	Nanogümüş Tozları	0,5	1	1,5	1:1	100	15
14*	Katkısız	0	1/3	0,5	2:1	100	6
15*	Gümüş Sülfadiazin	0,5	1/3	0,5	2:1	100	6
16	Gümüş Sülfadiazin	0,5	1/3	0,5	2:1	500	6
17	Gümüş Sülfadiazin	0,5	1/3	0,5	2:1	1000	6
18	Gümüş Sülfadiazin	0,5	1/3	0,5	2:1	2000	6
19*	Nanogümüş Tozları	0,5	1/3	0,5	2:1	100	6
20	Nanogümüş Tozları	0,5	1/3	0,5	2:1	500	6
21	Nanogümüş Tozları	0,5	1/3	0,5	2:1	1000	6
22	Nanogümüş Tozları	0,5	1/3	0,5	2:1	2000	6

Bu çalışma planına göre debi, voltaj ve mesafe sabit tutularak etkin madde türü ve konsantrasyonu, toplayıcı silindir hızı, toplayıcı silindir çapı ve PCL/PEO oranları değiştirilerek nanolifli yüzeylerler elde edilmiştir. Her bir denemeye bir numara verilmiştir. Her bir grup içerisinde bir referans değer alınıp, diğer parametreler referansa göre değiştirilmiştir.

3.4 SEM Analizi

Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücülerin yüzey ve kesit yapısını incelemek için SEM analizi yapılmıştır. Şekil 3.1'de, Çizelge 3.3'de üretim parametreleri verilen PCL/PEO/PCL yapısındaki etkin madde katkısız nanolifli yüzeyin (1.numune) SEM görüntülerine yer verilmiştir.

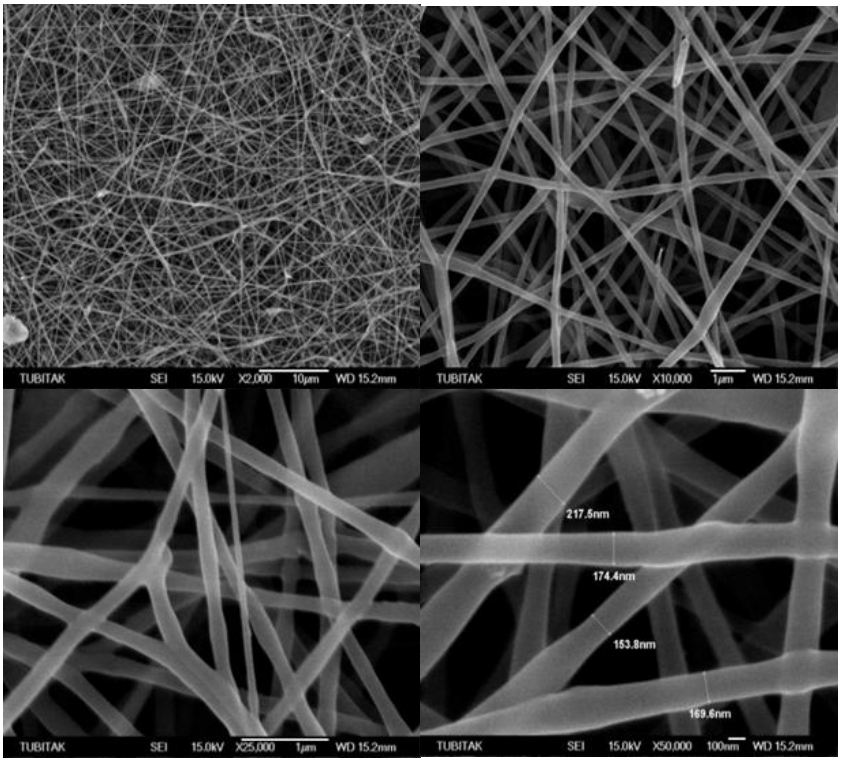


Şekil 3.1 : PCL/PEO/PCL nanolif kesit (alt sıra) ve yüzey SEM görüntüleri (üst sıra).

Şekil 3.1 incelendiğinde, nanolifli yüzeyin genel ağ görünümü oldukça düzgün ve sıkı bir yapıdadır. Yapıya üstten bakıldığı için PCL lifleri net olarak incelenebilmiştir. Ayrıca lifler uniformdur ve boncuklu yapılara rastlanmamaktadır. PEO nanolifleri ince olduğundan lif çapını düşürürken PCL nanolifleri 800-1000 nm arasında çap değerlerine sahip kalın lifler olduğu için nano lif yara örtücünün

ortalama lif çapını artırmaktadır. Yara örtücünün ortalama lif çapı 650-700 nm arasındadır.

Polietilenoksit nanolifleri yara örtücünün ara katmanını oluşturmaktadır. Şekil 3.2'deki PEO'nun SEM görüntülerine bakıldığında, PCL'ye oranla daha seyrek ve gözenek büyüklüğü daha fazla olan ağsı bir yapı elde edilmiştir. Genel ağ morfolojisi düzgündür ve lifler oldukça incedir fakat uniform değildir. Boncuklu yapılar çok az olmakla beraber lif uniformitesini olumsuz yönde etkilemiştir. Ortalama lif çapı 170-200 nm arasındadır.

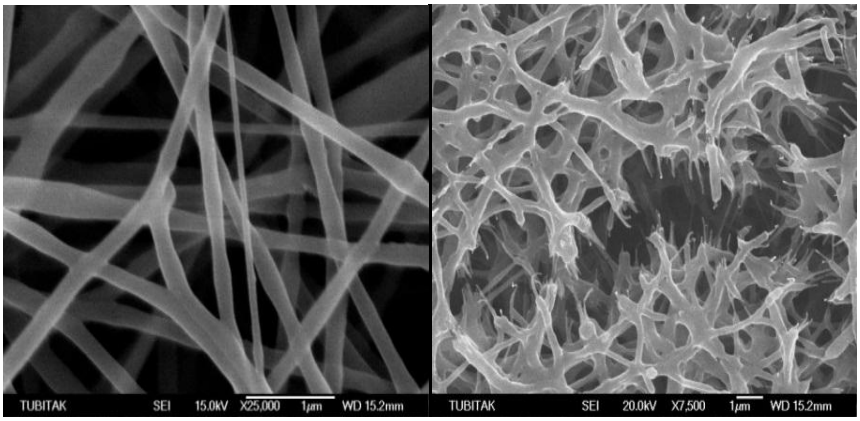


Şekil 3.2 : PEO nanolif (kuru) SEM görüntüleri.

Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'deki SEM görüntüleri genel olarak değerlendirildiğinde PCL lifleri PEO ya göre daha kalın olmakla beraber boncuk lif içermemekte ve bu yüzden daha uniform lif özelliği göstermektedir. PCL'nin bulunduğu tabaka daha kalın ve sıkı bir yapıyken PEO içeren yapı daha seyrek ve incedir. Bu durum PCL ve PEO'nun farklı lif morfolojisi özellikleri göstermesinden kaynaklanmaktadır. PEO süre olarak daha fazla çalışılmasına rağmen, PCL katmanları daha kalındır. Bunun nedeni ise PCL'nin elektroüretiminin daha kolay olması, toplayıcı üzerinde çok hızlı bir şekilde birikmesi ve PCL lif çaplarının yaklaşık 4 kat daha kalın olmasıdır.

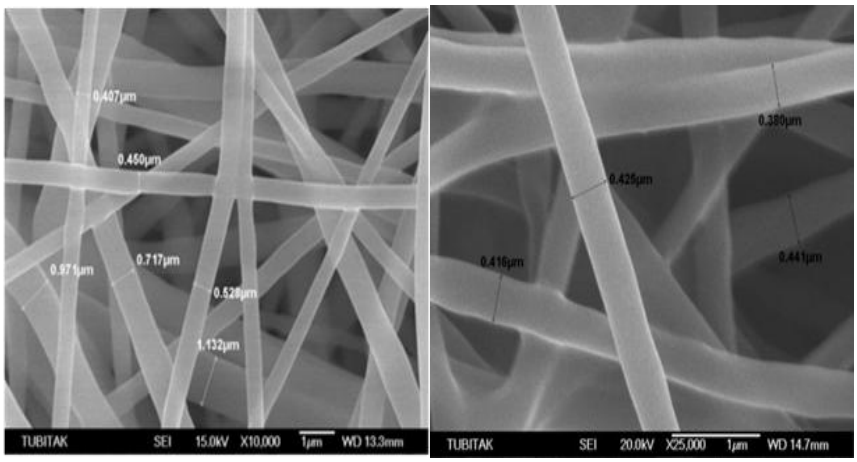
Şekil 3.1'deki kesit görüntülerine bakıldığında tabakalar net olarak görülebilmektedir. Dolayısıyla istenilen faklı katmanlar birbiri içinden herhangi bir erimeye,bozulmaya veya çözülmeye maruz kalmadan muhafaza edilmiştir. Bu lifli katmanlar ilaç kapsülleme için uygundur. Özellikle PEO'nun polimer erezyonunun kolaydır ve yara iyileşmesiyle uyumlu bir süreç gösterir. PEO nanoliflerinin gözenekliliği kapsülleme için, hidrofilik (suyu seven) karakterde ve polimer erezyonunun hızlı olması ise yara iyileşmesi için bir avantaj teşkil etmektedir. Bu nedenlerle, PEO ilaç salınımı için uygundur (Kim ve diğ., 2007). Fakat yaranın ihtiyacına göre PEO üzerinden ilaç salınımı yapılabileceği gibi her bir tabakadanda farkı ilaç, büyüme faktörü ve benzeri salınımı yapılabilir.

Şekil 3.3'de ise 10 sn saf suyla muamele edilmiş PEO liflerinin SEM görüntüleri mevcuttur. PEO lifleri hidrofilik olduğundan ıslatıldığında suyu absorbe ederek lifte şişme gerçekleşmiştir. Suyun etkisiyle lifler deformasyona uğramış, liflerde çözünme ve kopuşlar gözlemlenmiştir.



Şekil 3.3 : PEO nanolif kuru (sol) ve yaş (sağ) SEM görüntüleri.

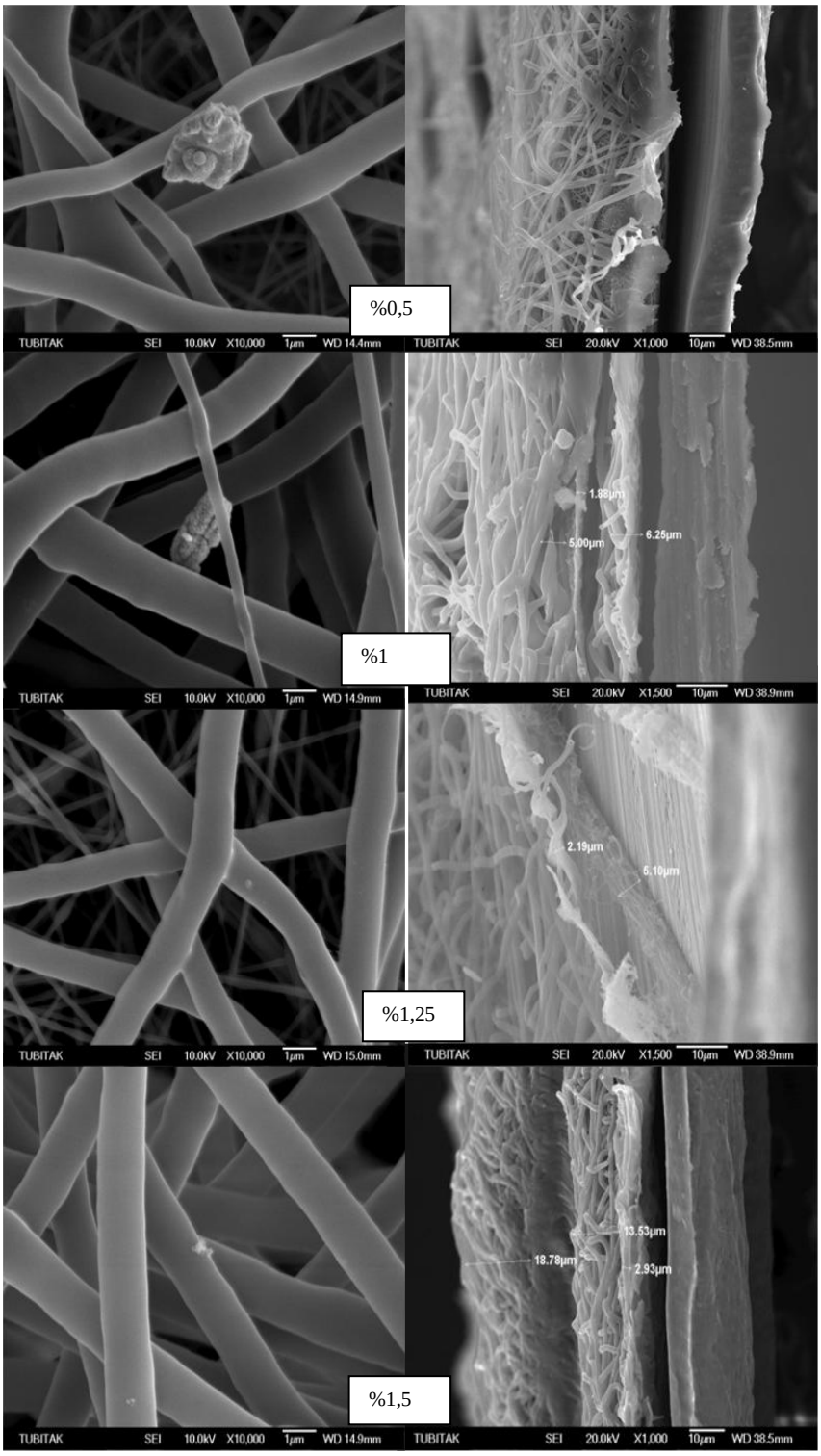
Şekil 3.4'deki kuru ve yaş nanolif SEM görüntülerinden; PCL nanolif tabakasının PEO'nun aksine hidrofobik karakter gösterdiği, lif morfolojisinin önemli bir deformasyona bozulmaya uğramadan muhafaza olduğu anlaşılmaktadır. Islatıldığında lif çapında yaklaşık 150 nm lik bir düşüş gerçekleşerek, nanolif yara örtücünün ortalama lif çapı 450-470 nm olmuştur. Bu durumun PEO liflerinin suda çözünmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



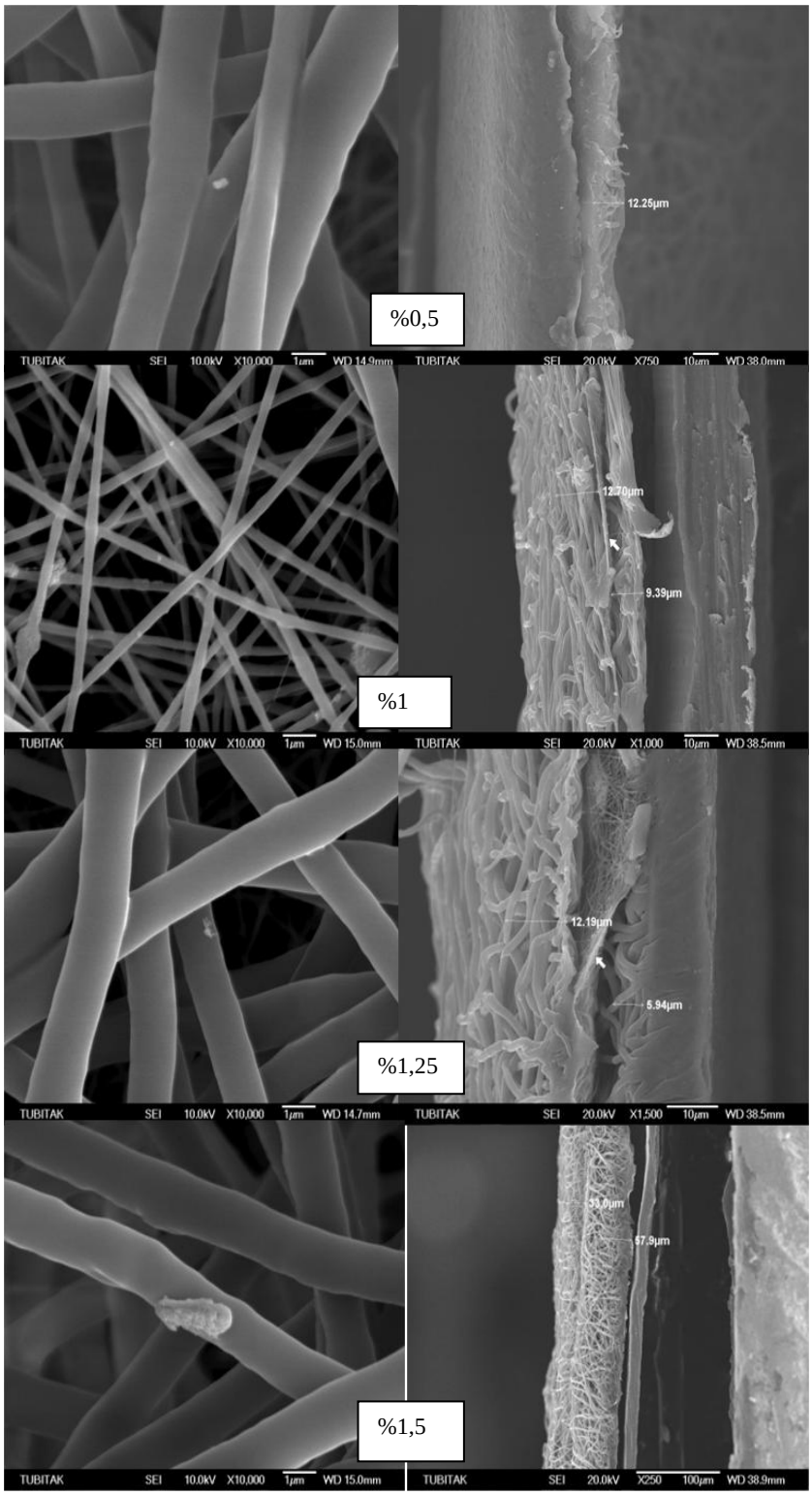
Şekil 3.4 : PCL/PEO/PCL nanolif kuru (sol) ve yaş (sağ) SEM görüntüleri.

3.4.1 Etkin madde katkısı

Polietilenoksit çözeltisine farklı konsantrasyonlarda nanogümüş ve gümüş sülfadiazin ilave edilerek elektroüretimi gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.5'de nanogümüş Şekil 3.6'da ise gümüş sülfadiazin içeren nanolif yara örtücülerin SEM görüntülerine yer verilmiştir.



Şekil 3.5 : Farklı konsantrasyonlarda nanogümüş ilaveli nanoliflerin SEM görüntüleri.



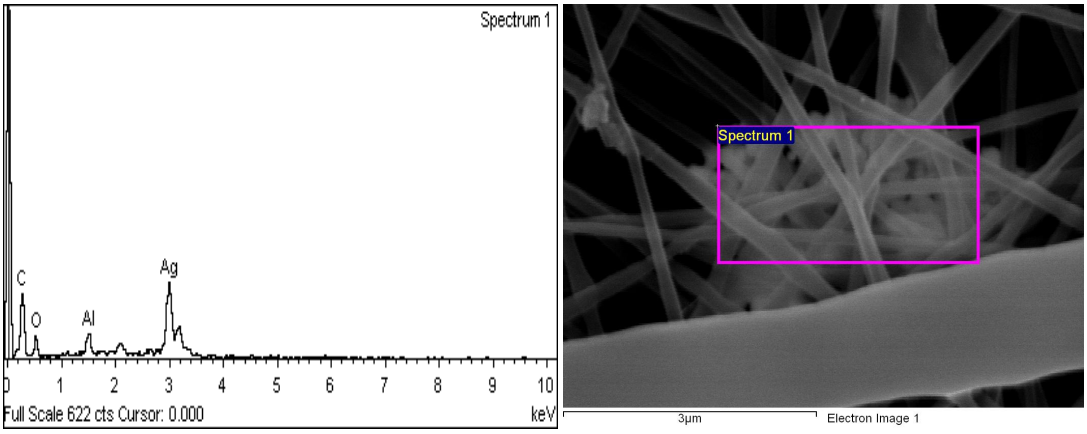
Şekil 3.6 : Farklı konsantrasyonlarda gümüş sülfadiazin ilaveli nanoliflerin SEM görüntüleri.

Nanogümüş (Şekil 3.5) ve gümüş sülfadiazin ilaveli (Şekil 3.6) nanoliflerin SEM görüntüleri incelendiğinde katkı maddelerinin nanoliflere eklenebildiği görülmektedir. Yalnız katkı maddelerinin nanolifler içerisindeki boyut dağılımı

farklılık göstermektedir. Katkı maddeleri bazı yerlerde birleşerek daha büyük parçacıklar oluşturmuştur.

3.4.1.1 Enerji saçınımlı X-ışınları analizi (EDX)

EDX analizi malzemelerin elementer analizininde kullanılan bir metoddur. Taramalı elektron mikroskobuna bağlı bir modüldür. Numunelerin gümüş içeriğini göstermek için SEM görüntülerinden yararlanılarak EDX analizi yapılmıştır. %1,25 nanogümüş içeren nanolifli numunenin EDX spekturumuna Şekil 3.7'de yer verilmiştir.

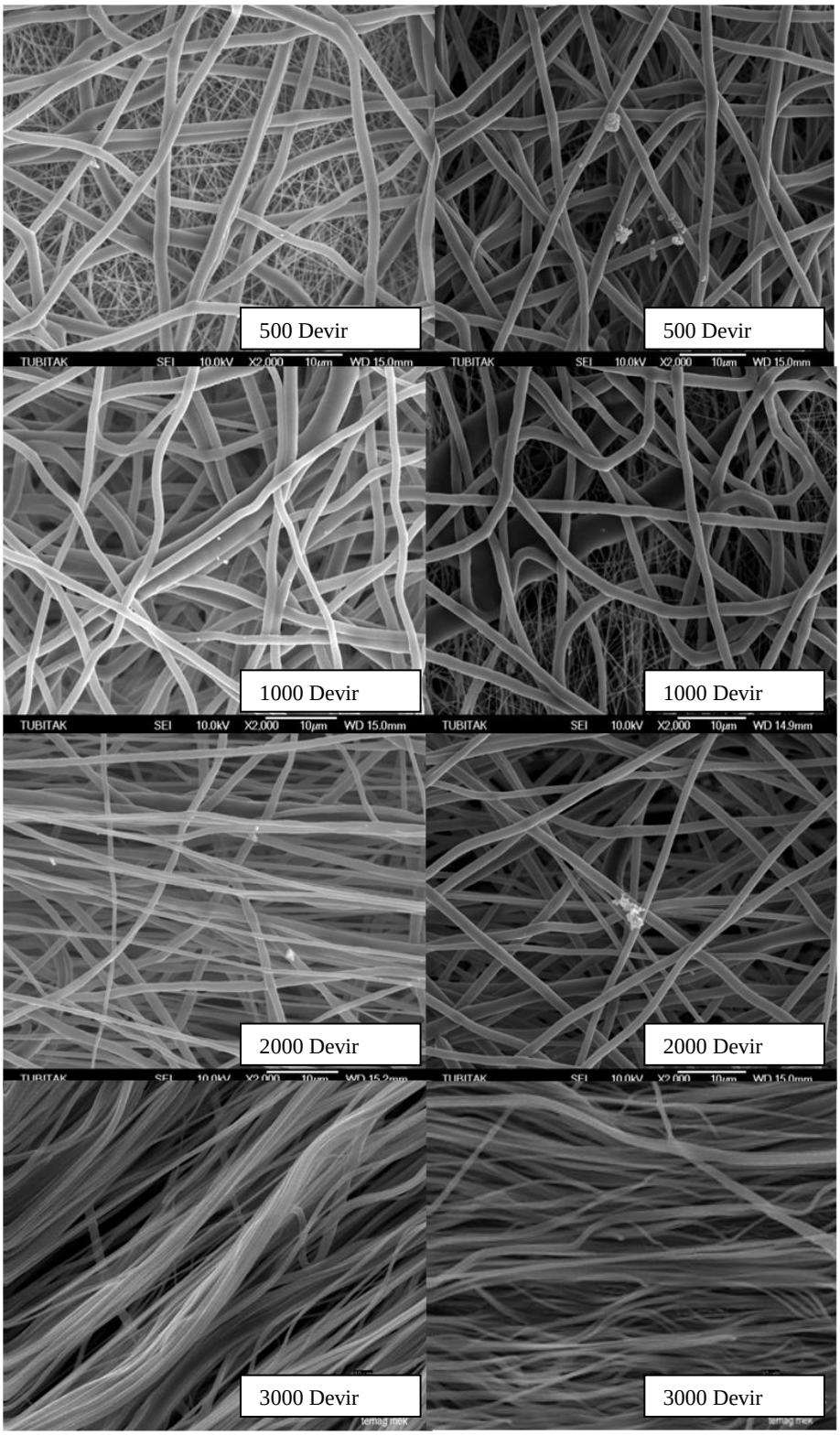


Şekil 3.7 : EDX spektrumu.

SEM görüntüsündeki çerçeveli alanın spekturumu incelendiğinde, gümüş (Ag) piki görülmektedir. Numunede gümüş pikinin bulunması etkin maddenin nanoliflere aktarılabildiğinin göstergesidir.

3.4.2 Toplayıcı hızı etkisi

Elektroüretim işleminde 500, 1000, 2000 ve 3000 devir/dakika toplayıcı silindir hızlarına çıkarılarak, nanoliflere yüksek devir/dakika etkisi incelenmiştir. Bir elektroüretim parametresi olarak değerlendirilen toplayı hızı etkisi değişimi; geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün su buharı geçirgenliği, su geçirmezlik değerlerini ve mekanik dayanımını etkileyebileceği için araştırılmıştır. %0,5 nanogümüş ve gümüş sülfadiazin ilaveli nanoliflerin SEM görüntüleri Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3.8 : %0,5 Gümüş sülfadiazin (Sol) ve nanogümüş (Sağ) ilaveli nanoliflerin farklı toplayıcı hızlarında SEM görüntüleri.

SEM görüntüleri incelendiğinde (Şekil 3.8) 500 ve 1000 devir/dakika toplayıcı hızlarında lif morfolojilerinde bir farklılık gözükmemektedir. 2000 devir/dakika

toplayıcı hızında ise nispeten daha düşük toplayıcı hızı kullanılan çalışmalara kıyasla lif oryantasyonu artmış, özellikle gümüş sülfadiazin ilaveli numunenin 2000 devir/dakika toplayıcı hızında nanolifler yüksek oranda birbirine paralel olarak uzanmıştır. 3000 devir/dakika toplayıcı hızına ulaşıldığında ise gümüş sülfadiazin ve nanogümüş katkılı iki numunede lifler birbirine paralel pozisyonda yüksek oranda oryante olmuştur. Gümüş sülfadiazin katkılı numunenin oryantasyonu 2000 devir/dakika'da başlarken nanogümüş katkılı numunenin 2000 devir/dakika'da düşük bir oryantasyon göstermesinin nedeni, numunenin üretimi sırasında silindirin kısa bir süre olsada durmuş olabileceğidir.

3.5 Su Buharı Geçirgenliği Testi

Su buharı geçirgenliği yara örtülerinde dikkat edilmesi gereken bir özelliktir. Bu değerin fazla olması yara yüzeyinin dehidrasyonuna ve yara örtücünün bozulmasına neden olacağı gibi belli bir değerin altında olması da eksuda sıvısının yara örtücü altında birikmesine ve yara örtücünün yara yatağından kalkmasına neden olur (Kweon ve diğ., 2000). Ayrıca ideal bir yara örtücü yarayı çok kuru tutmayacağı gibi gereken nemi de sağlaması açısından su buharı geçirgenliğinin optimum düzeyde tutulması gerekir. Normal derinin günlük su buharı geçirgenlik değeri 2,04 ± 0,12 g/dm^2/gün'dür bu değer deri hasar gördüğünde artar birinci derece yanıklar için 2,79± 0,26 g/dm^2/gün'den başlar çok ağır yaralarda ise 51,38 ±2,02 g/dm^2/gün değerine kadar ulaşır (Kweon ve diğ., 2000), (Mi-Long ve diğ., 2001). Ticari bir yara örtücü için bu değer 0,90-28,90 g/dm^2/gün aralığında olmalıdır (Kweon ve diğ., 2000). Genelde saatte su buharı geçiş oranı 3500 g/dm^2 altında olan pansumanlar yarada nemli bir ortam oluşturmak için yeterlidir (Kweon ve diğ., 2000). Yannas ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada yara örtülerinde optimum su buharı geçirgenliğinin yaklaşık olarak 12 g/dm^2/gün olduğunu ileri sürmüşlerdir (Yannas ve diğ, 1982).

Mi-Long ve arkadaşları kitosan membranını yara örtücü olarak değerlendirmişler ve su buhar geçirgenlik değerlerini ise 21,09-27,92 g/dm^2/gün olarak bulmuşlardır (Mi-Long ve diğ., 2001).

Gu ve arkadaşları yara örtücü amaçlı PLLA'nın elektroüretimini gerçekleştirerek elde ettikleri nanolif yara örtücünün su buharı geçirgenliğini 31,39 g/dm^2/gün olarak kaydetmişler daha sonra PLLA'ya jelatin ekleyerek jelatin/PLLA nanoliflerinin su

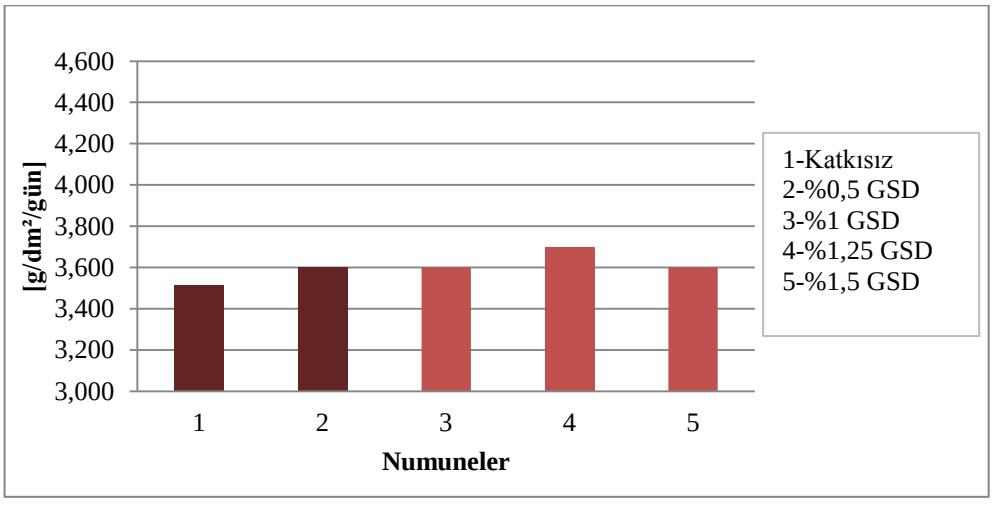
buhar geçirgenlik değerinin 25,69 g/dm^2/gün'e düştüğünü tespit etmişlerdir (Gu ve diğ., 2009).

Shelma ve arkadaşları yara örtücü karakterizasyonu üzerine yaptıkları çalışmada kitosan takviyeli kitin nanoliflerinin su buhar geçirgenliklerini 13,68-15,6 g/dm^2/gün arasında değişmektedir (Shelma ve diğ., 2008).

Gu ve arkadaşları PLLA ve PLGA nanoliflerini ve PLGA filmini yara örtücü olarak değerlendirdikleri çalışmalarında; PLGA filminin su buhar geçirgenliğini 0,54 g/dm^2/gün, PLGA ve PLLA nanoliflerinin su buhar geçirgenlik değerlerini ise sırasıyla 29,40 ve 31,39 g/dm^2/gün olarak bulmuşlar nanoliflerin üstün su buhar geçirgenliği özelliğini kanıtlayarak PLGA'nın yara örtücü için daha uygun olduğunu vurgulamışlardır (Gu ve diğ, 2008).

Bu çalışmada, 22 farklı numuneye 3'er kez tekrarlanan ölçümlerin aritmetik ortalaması alınarak nano lif yara örtücülerinin su buharı geçirgenlik değerleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, nanolif yara örtücü tipine bağlı olarak Şekil 3.9, 3.10,3.11, 3.12, 3.13 ve 3.14'de verilmiştir.

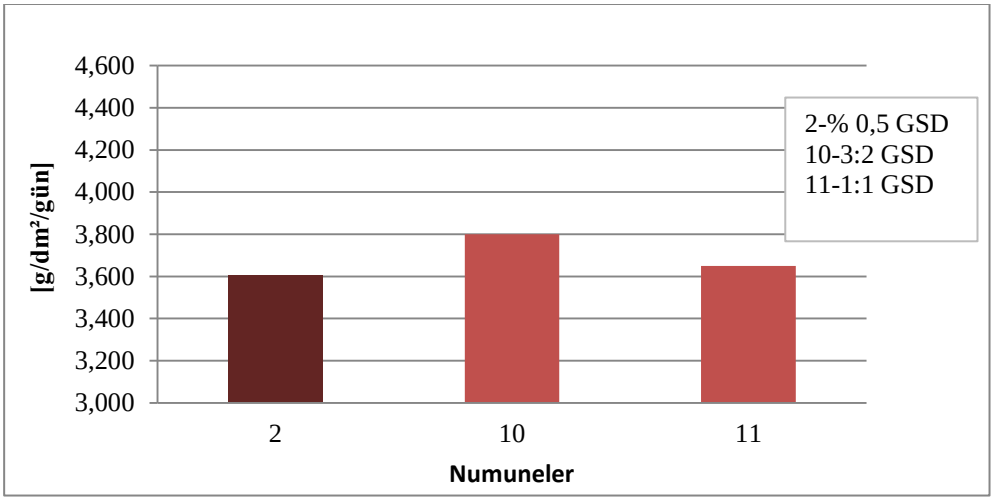
Şekil 3.9'daki grafik incelendiğinde gümüş sülfadiazin etkisiyle 2, 3, 4 ve 5. Numunelerin su buhar geçirgenliği değerlerinde bir miktar artış gerçekleşmiştir fakat bu artış konsantrasyon değişimlerine yansımamıştır. Gümüş sülfadiazin katkısının su buharı geçirgenliği üzerine ciddi bir etkisi olmamıştır.



Şekil 3.9 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-1.

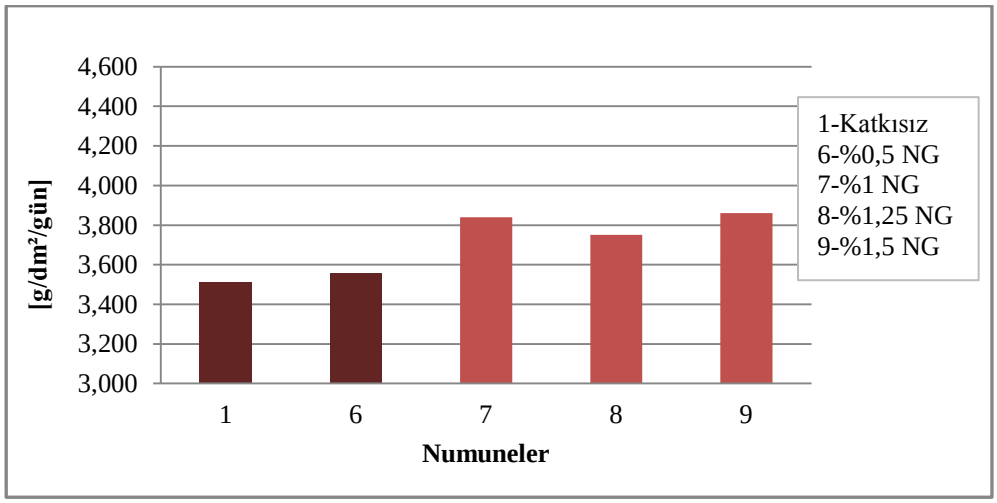
Şekil 3.10'da ise 10 ve 11. Numunelerde polikaprolakton miktarının azalmasıyla numunelerin referans numunelere göre su buharı geçirgenlik değerleri artmıştır.

Çünkü polikaprolakton polimerinin numunedeki miktarındaki azalışıyla numunenin inceliği de azalmış böylece birim alandan daha fazla su buharı geçişine izin verilmiştir. Ayrıca numuneni temel yapısını oluşturan hidrofob karakterdeki PCL'nin azalmasıyla yara örtücünün hidrofobluğuda azalmıştır.



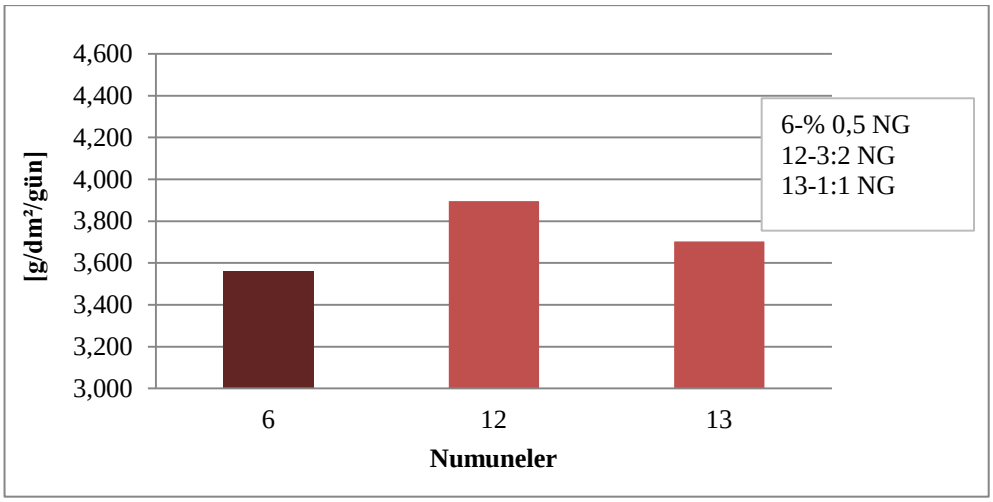
Şekil 3.10 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-2.

Şekil 3.11 incelendiğinde katkısız numuneye nanogümüş ilavesiyle başlangıçta bir miktar artış gerçekleşmiş, konsantrasyonun artmasıyla 7,8 ve 9. Numulerde bu değer genel olarak artmıştır. Nanogümüş katkısıyla numunelerin su buharı geçirgenliğinin artma eğiliminde olduğu anlaşılmaktadır.



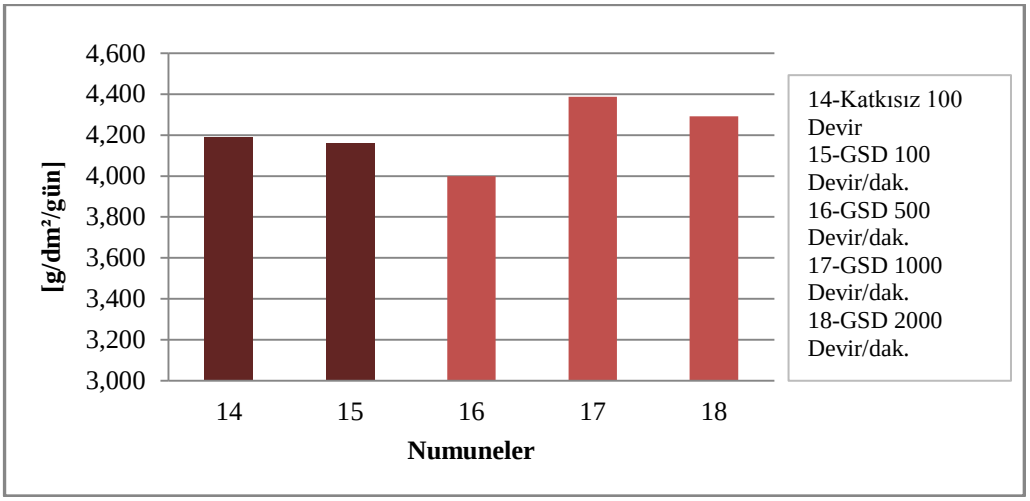
Şekil 3.11 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-3.

Şekil 3.12'de görüldüğü gibi 12 ve 13. Numunelerde Şekil 3.10'daki grafikte olduğu gibi polikaprolakton miktarının azalmasıyla su buharı geçirgenliği değeri artmıştır.



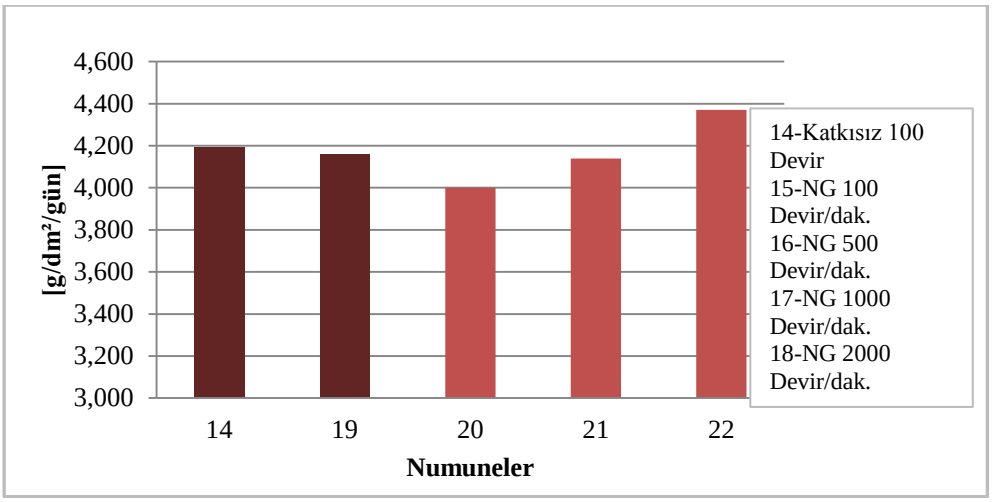
Şekil 3.12 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-4.

Şekil 3.13'deki verilerine bakıldığında gümüş sülfadiazin katkısıyla 100 devir/dakika'da çok az bir düşüş gerçekleşmiş, 500 devir/dakika'da ise bu fark açılarak 0,16 g/dm^2/gün olmuştur. 17 ve 18. Numunelerde ise 1000 ve 2000 devir/dakika etkisiyle su buhar geçirgeliğinde ciddi bir artış söz konusudur. Bunun nedeni yüksek hızlarda liflerin toplayıcı dışında da birikmesi, dolayısıyla toplayıcı üzerindeki lif miktarının azalmasıdır. Bu durumda daha ince numuneler elde edilmiş ve numunelerden daha fazla su buharı geçişi gerçekleşmiştir.



Şekil 3.13 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-5.

Şekil 3.14'deki verilere bakıldığında bir önceki çizelgede olduğu gibi nanogümüş katkısıyla çok az bir düşüş gerçekleşmiş, 500 devir/dakika'da ise bu fark açılarak 0,16 g/dm^2/gün olmuştur. 21 ve 22. Numunelerde ise 1000 ve 2000 devir/dakika etkisiyle su buhar geçirgenliğinde ciddi bir artış söz konusudur.



Şekil 3.14 : Su buharı geçirgenliği test sonuçları-6.

Şekil 3,9...3.14'deki sonuçlara bakıldığında geliştirilmekte olan yara örtücülerinin ortalama su bahar geçirgenlik değerleri 3,515-4,387g/dm^2/gün aralığında değişmektedir. Bu değerler literatür bilgileriyle kıyaslandığında (Gu ve diğ., 2008), (Kweon ve diğ., 2000) geliştirilmekte olan nanolif yara örtücülerinin su buhar geçirgenlik değerleri kabul edilebilir sınırlar içerisindedir.

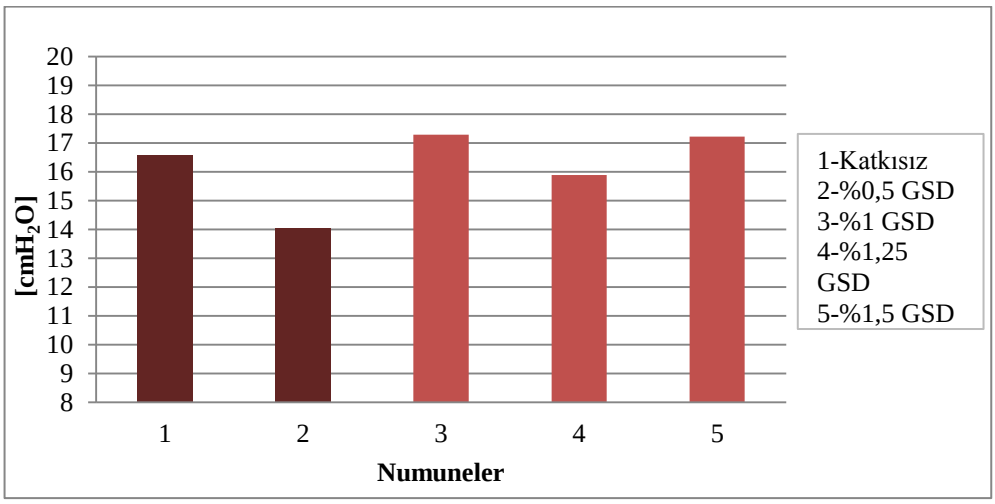
3.6 Su Geçirmezlik Testi

Yara örtüleri dış etkilere karşı bir bariyer görevi görür. Bariyer fonksiyonu sayesinde su kaybı önlenir. Vücuda zarar verebilecek kimyasal maddelerin bedene girişi engellenir. Yara örtülerinde nefes alabilen fakat buna karşı sıvı geçirmeyen yapılar tercih edilir. Sıvı geçirmez yapıda olduğundan dolayı nem oranını artırırlar, reepitelizasyonun hızlanmasını sağlarlar ve hastanın dış sıvılar ile kontaminasyonunu önleyerek yaralı bölgenin yıkanabilmesine (banyo yapabilmesi) dahi olanak sağlar.

Yara eksuda oluşturan yapıda ise kısa zaman içinde pansuman malzemesi altında koleksiyon oluşturması sonucunda yara örtücünün ayrılmasına sebep olabilir, bu amaçla eksuda enjektör ile boşaltılabilir ya da yara örtücü yüzeye ikinci bir sıvı absorbe kabiliyeti yüksek olan katman ilave edilebilir. Şekil 3.15...3.20'de geliştirilmekte olan nanolif yara örtücü numunelerin su geçirgenlik test sonuçlarına yer verilmiştir.

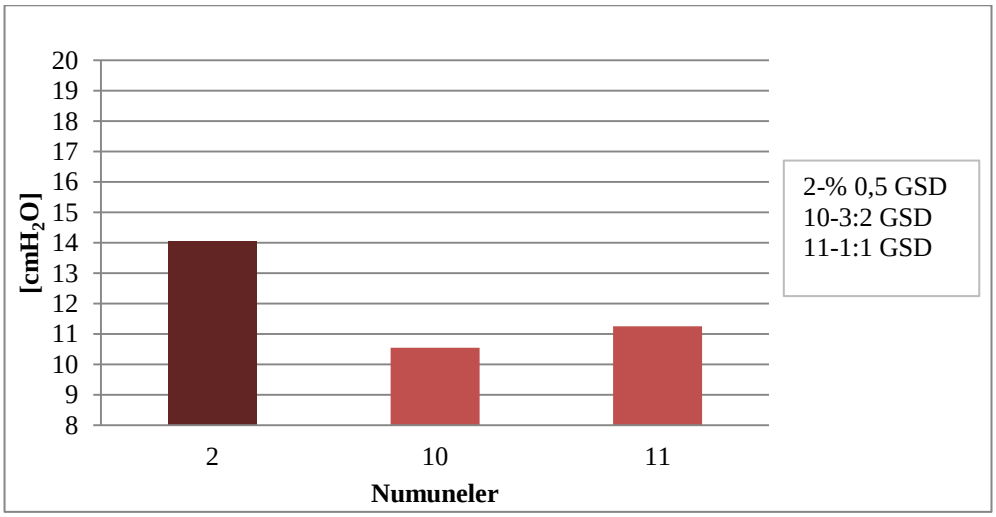
Şekil 3.15'deki sonuçlar incelendiğinde gümüş sülfadiazin katkısıyla başlangıçta bir düşüş gerçekleşmiş konsantrasyonun artması ile su geçirgenlik değerileri 2. Numuneye göre artış göstermiştir. Fakat konsantrasyondaki artışla su geçirgenlik

değerlerinde düzenli bir artış gerçekleşmemiştir. Sonuç olarak, gümüş sülfadiazin katkısıyla anlamlı bir değişim söz konusu olmamıştır.



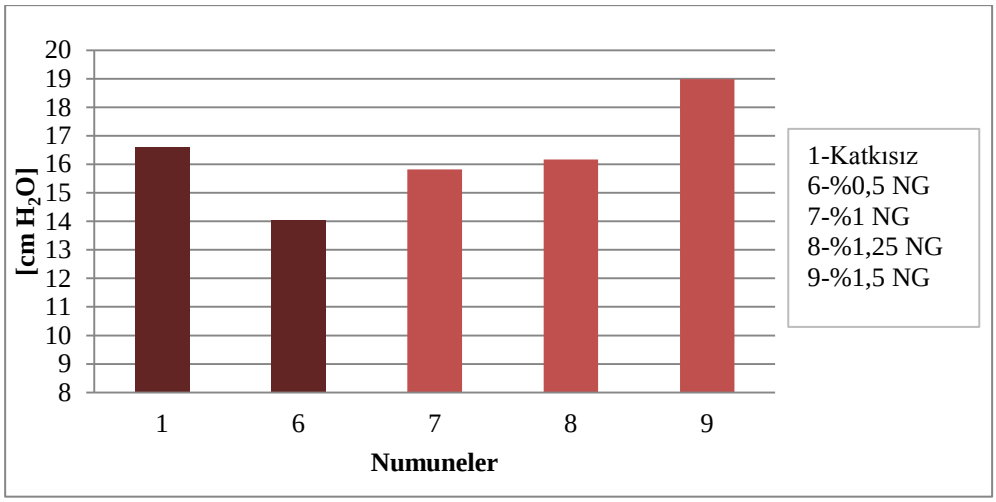
Şekil 3.15 : Su geçirmezlik testi sonuçları-1.

Şekil 3.16 incelendiğinde 10 ve 11. Numunelerde polikaprolakton miktarının azalmasıyla su geçirgenlik değerleri azalmıştır. Çünkü polikaprolakton polimerinin numunedeki miktarının azalmasıyla numunenin inceliği de azalmış böylece daha fazla su geçişine izin verilmiştir.



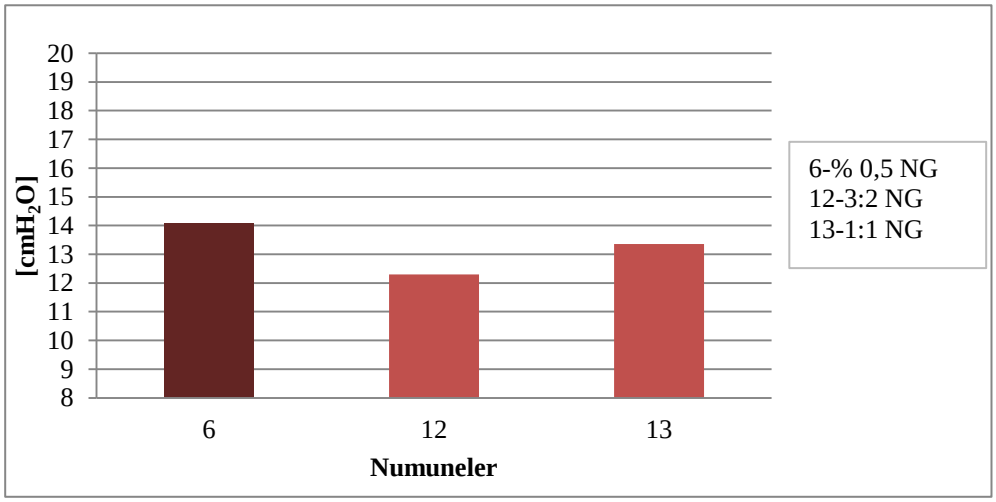
Şekil 3.16 : Su geçirmezlik testi sonuçları-2.

Şekil 3.17'deki sonuçlara bakıldığında nanogümüş ilavesiyle 6. Numunenin su geçirgenlik değerinde bir düşüş gerçekleşmiş, konsantrasyondaki artışla 7,8 ve 9.Numunelerin su geçirgenlik değerleri gittikçe artmıştır.



Şekil 3.17 : Su geçirmezlik testi sonuçları-3.

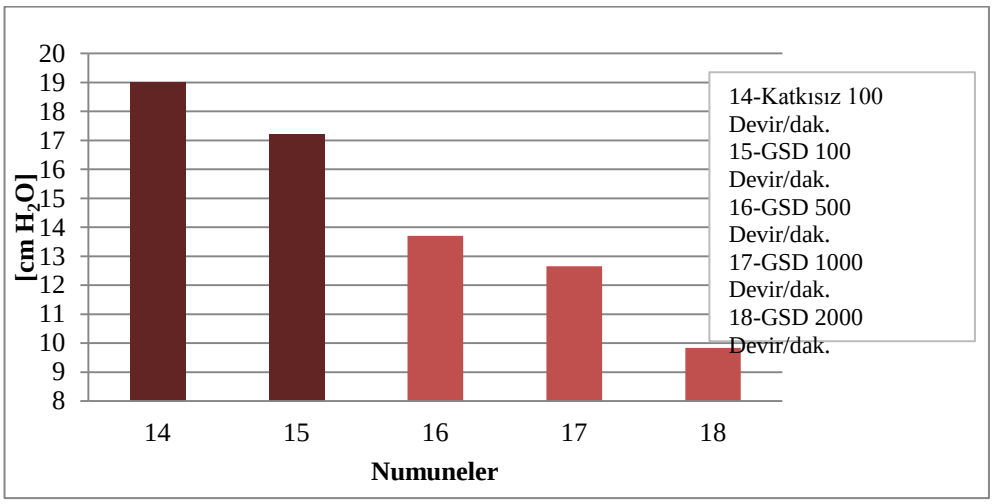
Şekil 3.18'deki sonuçlar incelendiğinde Şekil 3.16'daki duruma benzer bir eğilim söz konusudur. Hidrofob polikaprolakton miktarındaki azalmaya bağlı olarak referans numuneye (6.Numune) göre su geçirmezlik değeri azalmıştır. Fakat 12 ve 13. Numuneler kendi içlerinde değerlendirildiğinde 13. Numunenin su geçirmezlik değeri daha düşük olması beklenirken tersi bir durum görülmektedir. Bu durum 13. Numuneni test ya da üretimi esnasında bir hata olabileceğine işaret etmektedir.



Şekil 3.18 : Su geçirmezlik testi sonuçları-4.

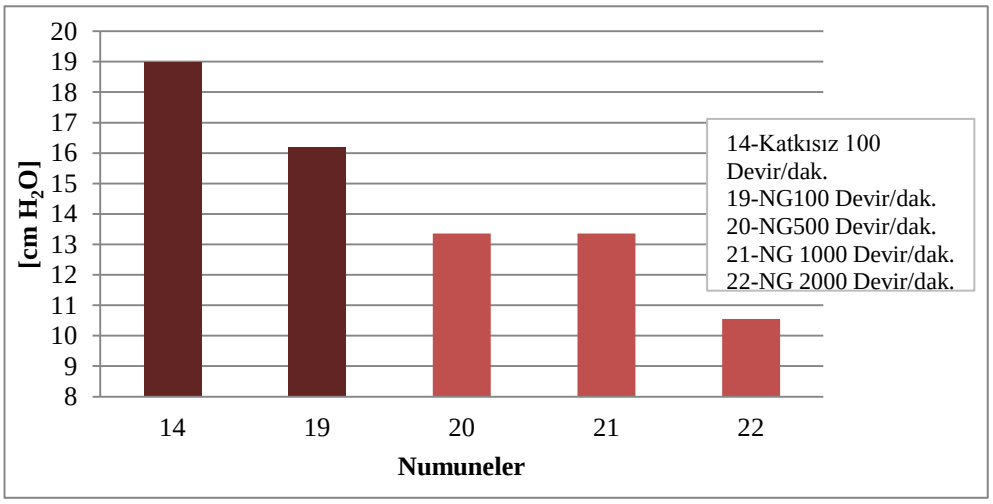
Şekil 3.19'daki sonuçlara göre, 15. Numuneye gümüş sülfadiazin katkısıyla su geçirgenlik değerinde bir düşüş gerçekleşmiş, toplayıcı silindir devrinin artmasıyla, su geçirgenlik değerleri giderek azalmıştır. Bunun nedeni yüksek hızlarda liflerin toplayıcı dışında da birikmesi dolayısıyla toplayıcı üzerindeki lif miktarının

azalmasıdır. Bu durumda daha ince numuneler elde edilmiş ve numunelerden daha fazla su buharı geçişi gerçekleşmiştir.



Şekil 3.19 : Su geçirmezlik test sonuçları-5.

Şekil 3.20'deki sonuçlara bakıldığında nanogümüş katkılı numunelere yüksek devir/dakika etkisinin su geçirgenlik değerleri üzerindeki etkisi bir önceki Şekil 3.19'daki gümüş sülfadiazin etkisine paraleldir. Yani toplayıcı silindir devri arttıkça su geçirmezlik değeri azalmıştır.



Şekil 3.20 : Su geçirmezlik testi sonuçları-6.

Şekil 3.15…3.20'deki sonuçlara genel olarak bakıldığında geliştirilmekte olan nanolif yara örtücülerinin ortalama su geçirgenlik değerleri 9,82-19,06 cmH_2O arasında değişmektedir. Gupta ve arkadaşarı ise yaptığı çalışmada, kitosan kaplı pamuk kumaşın su geçirgenlik değeri ise 18 cm su sütunu (0,25 psi) iken % 50 PEG ilavesiyle bu değer 38 cm H_2O (0,54 psi) olmuştur (Gupta ve diğ., 2009).

3.7 Hava Geçirgenlik Testi

Yara örtülerinde hava geçirgenlik değeri yaralı bölgeye oksijen geçişi açısından önemli bir özelliktir.

Üstündağ ve arkadaşları yaptıkları çalışmada PVA/Sodyum Aljinat (Na Alg) nanolif yara örtücünün hava geçirgenlik değerini 0,14±0.02 m^3/m^2/dakika olarak tespit etmişler, ancak bu değerin ticari bir yara örtücüye göre 1000 kat daha düşük olduğunu vurgulamışlardır (Üstündağ ve diğ., 2010).

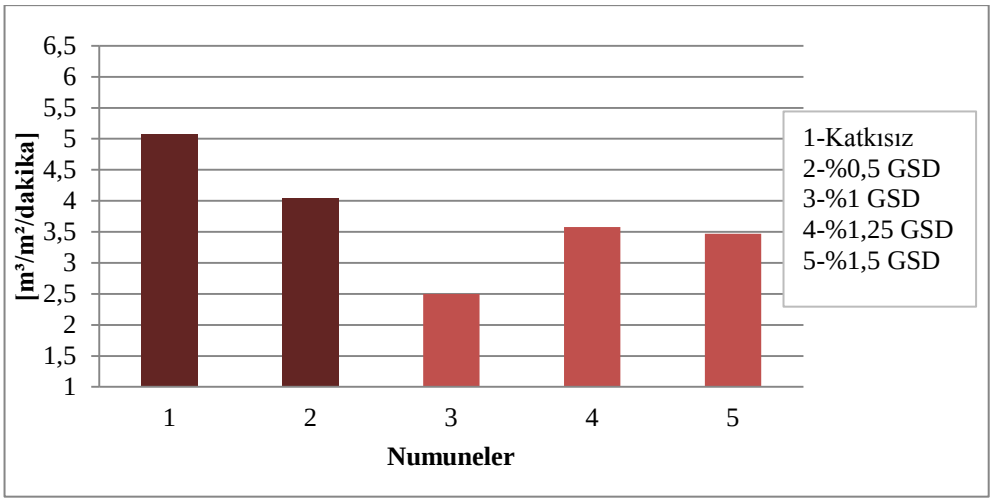
Liu ve arkadaşları yaptıkları nanolif yara örtücü çalışmasında, çaprazbağlı PVA nanolifinin hava geçirgenlik değeri, 0,3 PAN Nanolifinin 0,33 PCL nanolifinin ise 0,2 m^3/m^2/dakika olarak tespit edilmiştir (Liu ve diğ., 2008).

Uppal ve arkadaşları HA (Hyaluronik Asit) çözeltisnden elde ettikleri nanolifli yüzeylerin yara örtücü amaçlı kullanımını üzerine yaptıkları araştırmalarında HA nanolifli yüzeylerin hava geçirgenlik değerlerini 27,36-31,38 m^3/m^2/dakika aralığında bulmuşlar ve hava geçirgenlik değeri 5,1-5,5 m^3/m^2/dakika aralığında değişen vazelinli gaze bezine olan üstünlüğünü vurgulamışlardır (Uppal ve diğ., 2010).

Gupta ve arkadaşları pamuğun kitosan ve PEG (Polietilen glikol) ile kaplanması üzerine yaptıkları çalışmada ise, pamuklu kumaşın hava geçirgenlik değeri 14,4 m^3/m^2/dakika iken pamuklu kumaşın kitosan ile kaplaması sonucu bu değer 2,46 m^3/m^2/dakika olmuştur. Sonrasında ise kitosan kaplı pamuklu kumaşa %50 PEG ilavesiyle hava geçirgenlik değeri 2 kat artış göstererek 5,16 m^3/m^2/dakika değerine ulaşmıştır (Gupta ve diğ., 2009).

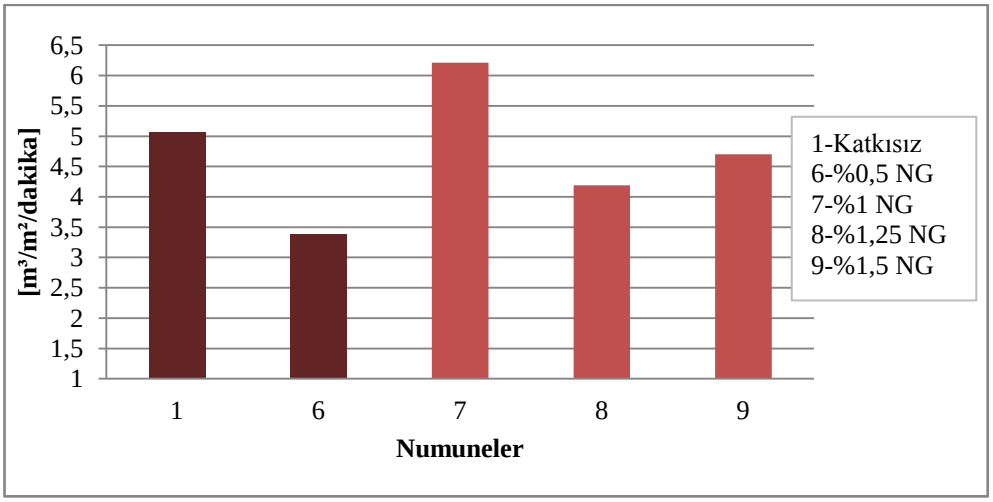
Hava geçirgenlik testi Çizelge3.3'deki 1-9 numaralı numunelere uygulanıp, test sonuçlarına Şekil 3.21 ve 3.22'de yer verilmiştir.

Şekil 3.21 incelendiğinde gümüş sülfadiazin katkısıyla 2, 3, 4 ve 5. Numunelerin hava geçirgenlik değerlerinde düşüş gerçekleşmiştir. Gümüş sülfadiazin konsantrasyonundaki artışla hava geçirgenlik değerlerinde 3. Numunede önce ciddi bir azalma sonrasında ise 4 ve 5. Numunelerde bir artış söz konusudur.



Şekil 3.21 : Hava geçirgenlik test sonuçları-1.

Şekil 3.22'deki sonuçlara bakıldığında nanogümüş katkısıyla 6, 8 ve 9 nolu numunelerin hava geçirgenlik değerlerinde bir azalma gerçekleşmiştir. Nanogümüş konsantrasyonundaki artışla beraber 8 ve 9. Numunelerin hava geçirgenlik değerleri artmıştır. 7. Numunenin ise hatalı olduğu düşünülmektedir.



Şekil 3.22 : Hava geçirgenlik test sonuçları-2.

Şekil 3.21 ve 3.22'deki sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde etkin madde ilavesinin hava geçirgenlik değerini düşürdüğü görülmektedir. Fakat nanogümüş katkılı numunelerin hava geçirgenlik değerleri gümüş sülfadiazin katkılı numunelere göre daha yüksektir. Hava geçirgenliği değerlerindeki değişimlere etkin madde ilavesinin etkisi olduğu gibi elektroüretim esnasında liflerin rastgele dağılmasından kaynaklı, numune kalınlığının homojen olmamasının da etkisi olduğu

düşünülmektedir. Geliştirilmekte olan yara örtücülerinin hava geçirgenliği değerleri 2,5-6,21 m^3/m^2/dakika arasında değişmektedir.

Şekil 3.21 ve 3.22'deki sonuçlar literatür bilgileriyle kıyaslandığında Uppal ve arkadaşlarının Hyaluronik Asit ile elde ettikleri hava geçirgenlik sonuçlarında düşük olsa da (Gupta ve diğ., 2009), (Üstündağ ve diğ., 2010), (Liu ve diğ., 2008) sonuçlarıyla kıyaslandığında oldukça başarılıdır. Özellikle Liu ve arkadaşlarının PCL hava geçirgenliği sonuçlarından ortalama 12-30 kat daha fazladır.

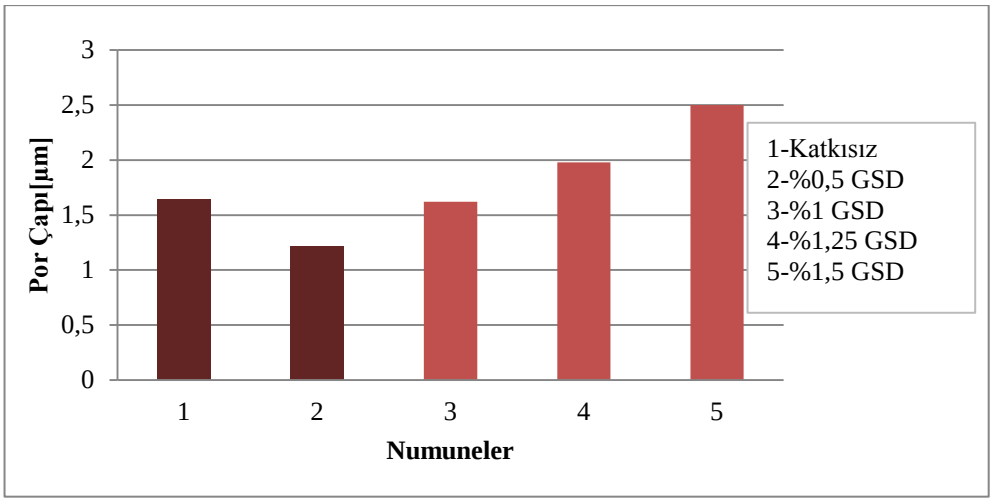
3.8 Por Çaplarının Hesaplanması

Bir yara örtücüden sahip olduğu gözeneklerin bakteri geçişini engelleyecek boyutlarda olması istenir. Bakterilerin boyutları morfolojilerine, ait oldukları cinslere ve çevresel koşullara göre 0,5-500 μm aralığında değişiklik gösterir. Bir çok türün genişliği 0,1-4 μm boyu ise 0,2-50 μm arasındadır.

Kim ve Yoon, PCL çözeltisinden elde ettikleri nanolifli yüzeyleri yara örtücü olarak değerlendirdikleri çalışmalarında, PCL nanolifli yüzeyin ortalama por çapının 53,4 nm olduğunu ve bu değerin tüm porların %70'ini ifade ettğini belirtmişlerdir. Ayrıca PCL nanolifli yüzeyin yaralı bölgeyi bakterilerden korumak için yeterli por çapına sahip olduğunu vurgulamışlardır (Kim ve Yoon, 2008).

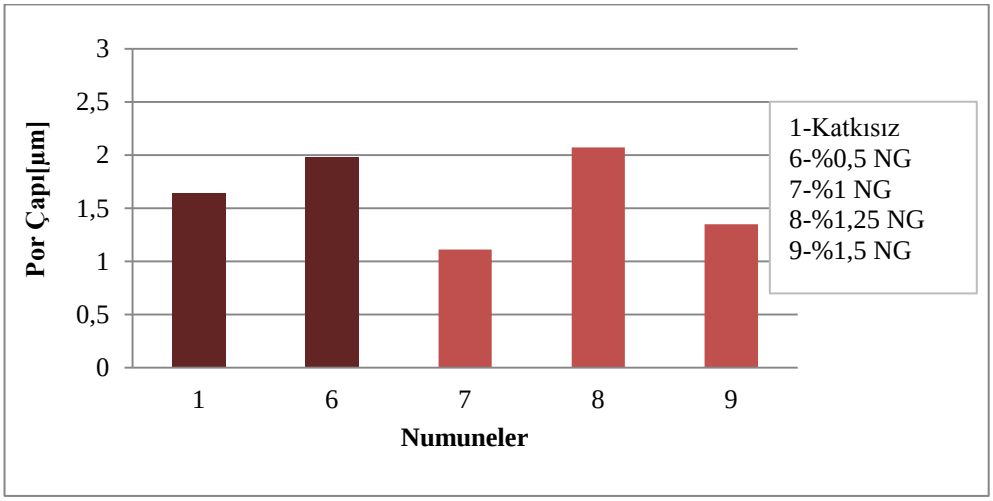
Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün porozimetre ile ortalama por çapları ile por çaplarının dağılımı, en büyük ve en küçük por çapları hesaplanmıştır. Bunun için Çizelge 3.3'de parametreleri belirtilen 1-9 numaralı numuneler test edilmiştir. Test sonuçlarına ait değerlere Şekil 3.23, 3.24, 3.25 ve 3.26'da yer verilmiştir.

Şekil 3.23'deki sonuçlara bakıldığında gümüş sülfadiazin katkısıyla 2. Numunenin por çapı düşmüş, sonrasında gümüş sülfadiazin konsantrasyonunun artmasıyla por çapları da artmıştır.



Şekil 3.23 : Ortalama por çapı ölçümü sonuçları-1.

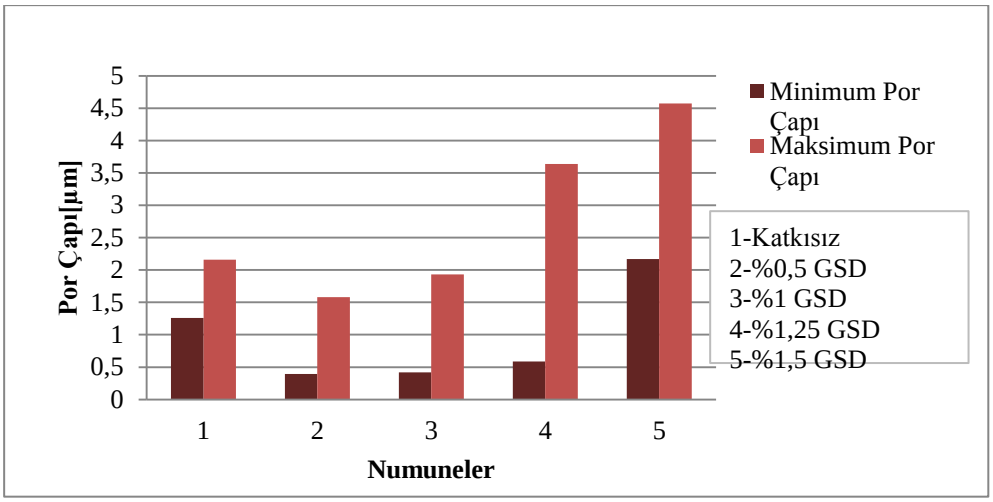
Şekil 3.24'deki sonuçlara bakıldığında nanogümüş katkısının por çapları üzerinde anlamlı bir etkisi görülmemektedir.



Şekil 3.24 : Ortalama por çapı ölçümü sonuçları-2.

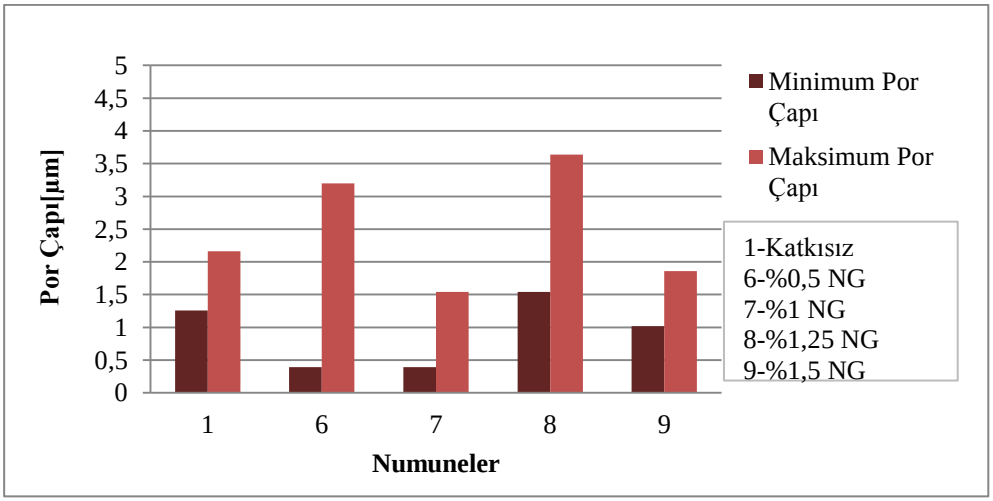
Şekil 3.23 ve 3.24'deki sonuçlar incelendiğinde geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün por çapları 1,11-2,5µm aralığında değişmektedir. Bu değerlere göre birçok bakteri türünün geçişi engellenebilir.

Şekil 3.25 incelendiğinde, gümüş sülfadiazin katkısıyla önce por çapında bir küçülme gerçekleşirken, gümüş sülfadiazin konsantrasyonunun artmasıyla 3., 4. ve 5. Numunelerin por çapları giderek artmıştır.



Şekil 3.25 : Minimum ve maksimum por çapı değerleri-1.

Şekil 3.26 incelendiğinde nanogümüş katkısının en küçük ve en büyük por çapları üzerine anlamlı bir etkisi görülmemektedir. Nanogümüş ve gümüş sülfadiazin katkısının minimum ve maksimum por çapının büyüklüğüne etkisi Şekil 3.24 ve Şekil 3.25'deki ortalama por çapına benzer davranıştadır.

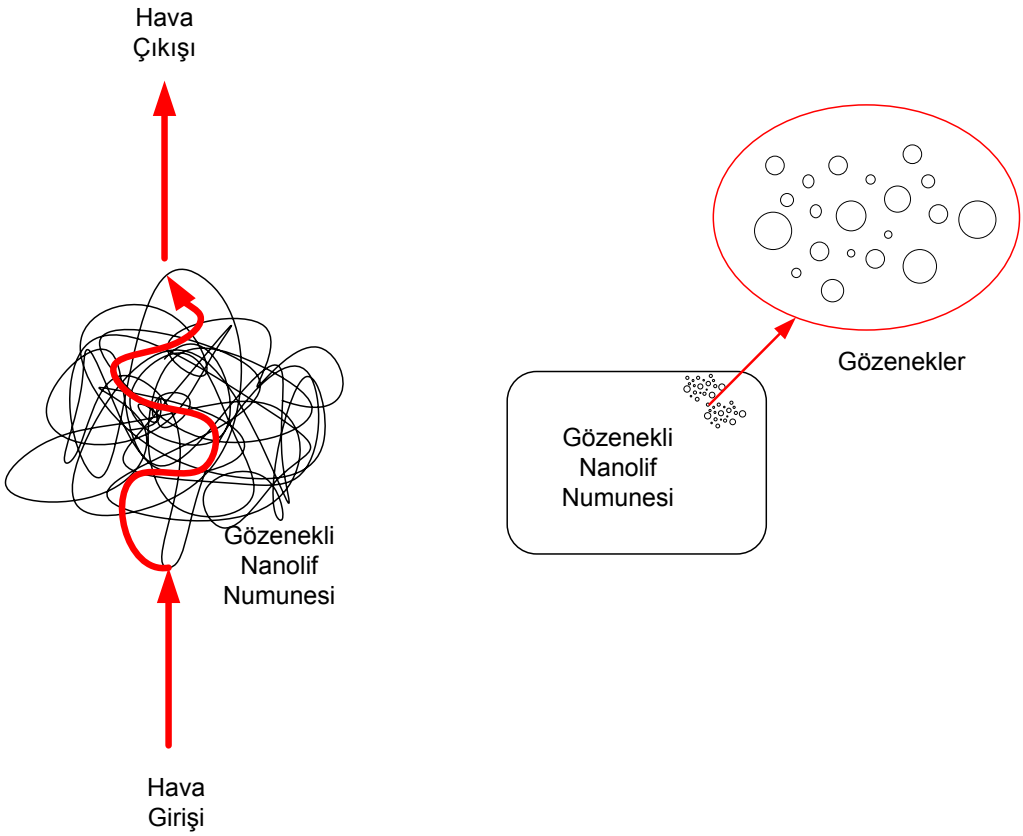


Şekil 3.26 : Minimum ve maksimum por çapı değerleri-2.

Şekil 3.23...3.26'daki sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, ortalama por çapları birçok bakteri geçişine engel olacak büyüklüktedir ancak en büyük por çaplarının 1,54-4,57 µm aralığında olması boyutları 4,57 µm altında olan bakterilerin geçişine izin vermektedir.

Hava geçirgenliği ve ortalama por çaplarının büyüklüğü arasında doğrusal bir ilişkinin varlığı beklenirken Şekil 3.21 ve Şekil 3.23 incelendiğinde por büyüklüklerindeki artışın hava geçirgenlik değerlerine yansımadığı anlaşılmaktadır.

Hava geçirgenliğinde, hava bir yüzeyden diğer yüzeye geçerken her zaman doğrusal bir yol izlemeyip, lifli yapının kendisine engel teşkil etmesinden ötürü yapı içerisinde helisel ve daha uzun bir yol da izleyebilmektedir. Por ölçümünde ise nunumeyi ıslatan sıvının artan gaz basıncı etkisiyle bir yüzeyden diğer yüzeye geçirilmesi esastır ve belli bir alandaki por büyüklükleri söz konusudur. Dolayısıyla por çapları ve hava geçirgenliği arasında direk bir ilişki yoktur. Şekil 3.27'de bu durum izah edilmiştir.



Şekil 3.27 : Hava geçirgenliği ve porozite ölçümünde numunenin durumu.

3.9 Mekanik Özelliklerin Tespiti

Yara örtüleri, doku iskeleleri, yapay deri vb medikal uygulamalar için kullanılacak malzemelerin dış ortamdan uygulanacak olası kuvvetlere, darbelere karşı mukavim göstermesi, yırtılmaması ve patlamaması gerekir. Bununla birlikte malzemelerin deri ve yaralı bölgenin formuna kolayca uyum sağlaması, gerek vücüt hareketi sırasında gerek dışarıdan gelebilecek bir kuvvet karşısında esneklik göstermesi beklenir.

İnsan derisinin kopma mukavemeti bulunduğu bölgeye göre 5-30 MPa arasında kopma uzaması ise %35-115 arasında değişmektedir. İnsan kıkırdağının kopma mukavemeti ise 19 MPa, kopma uzaması %20-120 arasındadır (Wen ve diğ., 2005).

Lee ve arkadaşları yaptıkları çalışmada PCL biyopolimerini DMF:MC (25/75) çözeltisinde çözüp elektroüretimini yapmışlardır. Elde ettikleri nanoliflerin kopma mukavemetini 1,7 MPa, kopma uzamasını ise %200'ün üzerinde bulmuşlardır (Lee ve diğ., 2003).

Hiep ve Lee ise PCL nanolifleri ile yaptıkları çalışmada kopma mukavemetini 1,8 MPa, kopma uzamasını ise %130 olarak tespit etmişler, PCL'ye %20 oranında PLGA ilave edildiğinde ise elde edilen nano liflerin kopma mukavemetinin 6,1 MPa'a çıktığını, kopma uzamasının ise %88'e düştüğünü görmüşlerdir (Hiep ve Lee, 2010).

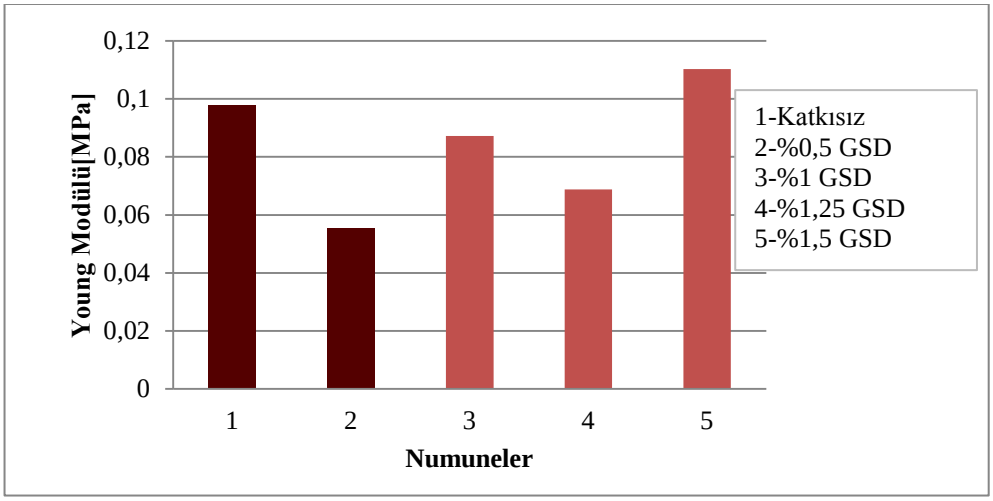
Wen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada PLA nanolif doku iskelesinin kopma mukavemetini 15 MPa kopma uzamasını ise %29 olarak belirlemişlerdir (Wen ve diğ., 2005).

Kang ve arkadaşları kitosan ve PVA ile yaptıkları çalışmada kitosan ile kaplanmış PVA nanoliflerinin kopma mukavemeti 8,3 MPa, kopma uzaması ise %47,2 iken ısıl işlem görmüş PVA'nın (150^{o}C) kopma mukavemetini 6,8 MPa, kopma uzamasını ise %80,5 olarak bulmuşlardır (Kang ve diğ., 2009).

McManus ve arkadaşları, yara örtücü amaçlı elde ettikleri fibrinojen nanolifli yüzeylerin kuru elastik modülleri 10-70 MPa aralığında, yaş elastik modülleri ise 0,35-0,6 aralığındadır (Mcmanus ve diğ, 2006). Almany ise PEG-fibrinojen hidrojelinin yaş elastik modülünü 0,0001 MPa olarak belirlemiştir (Almany ve diğ, 2005).

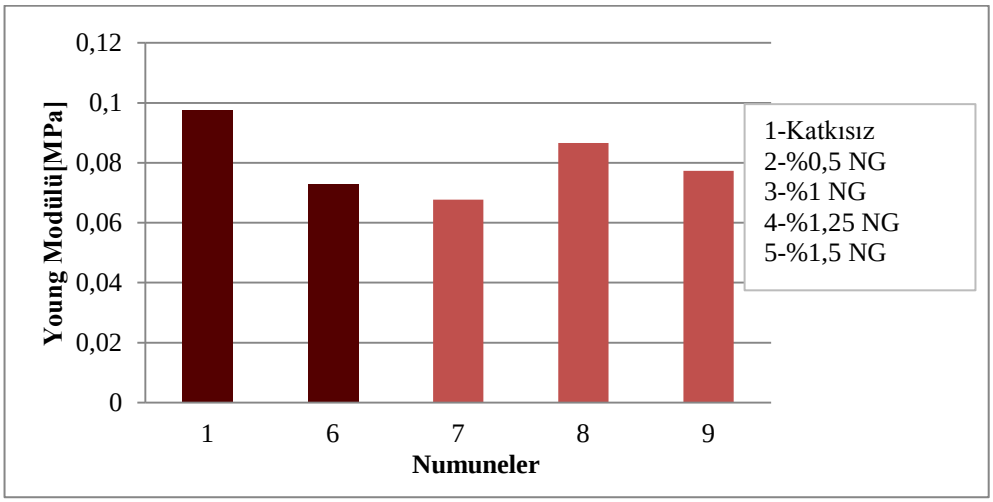
Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün 36°C'da kuvvet-uzama eğrileri elde edilmiştir. Fakat numunelerde herhangi bir kopma olmadığı için grafik eğiminden elastik modülleri hesaplanmıştır. 36°C normal vücut sıcaklığı değeri olduğu için çalışmada tercih edilmiştir. Yaralı bölgede bir sıcaklık artışı olsa da eksuda sıvısı ve dış etkenler sıcaklığı düşürür bu yüzden yaralı bölgenin maksimum sıcaklığı 36-38°C arasında değişmektedir. Çizelge 3.3'de parametreleri belirtilen 1-9 nolu numunelerin elastik modülleri 2'şer ölçüm yapılarak hesaplanmıştır. Test sonuçlarına ait değerlere Şekil 3.28 ve 3.29'da yer verilmiştir.

Şekil 3.28'deki grafik incelendiğinde gümüş sülfadiazin katkısı ile 2 nolu numunenin elastik modülünde bir azalma gerçekleşirken, nanolifli yüzeylerdeki gümüş sülfadiazin miktarının artırılmasıyla 3,4 ve 5 nolu numunelerin elastik modülü artmıştır.



Şekil 3.28 : Gümüş sülfadiazin katkılı numunelerin elastik modülü.

Şekil 3.29'deki grafik incelendiğinde nanogümüş katkısıyla numunelerin elastik modüllerinde bir miktar azalma görülmektedir. Nano lifli yüzeylerdeki nanogümüş katkı miktarının artmasıyla numunelerin elastik modülünde 0,073-0,086 MPa aralığında azalış-artış şeklinde küçük dalgalanmalar görülmektedir.



Şekil 3.29 : Nanogümüş katkılı numunelerin elastik modülü.

Sonuçlar genel olarak incelendiğinde, etkin madde katkısız nanolifli numunenin elastik modülü 0,097 MPa iken, gümüş sülfadiazin katkılı numunelerin elastik modülleri 0,055-0,110 MPa aralığında, nanogümüş katkılı numunelerin elastik

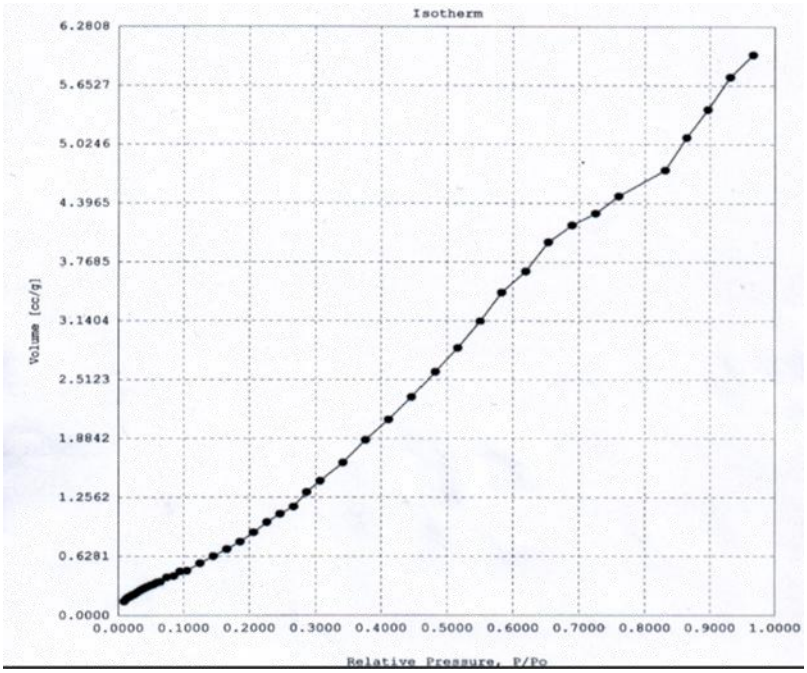
modülleri ise 0,073-0,086 MPa aralığında değişmektedir. Bu durum etkin maddelerin elastik modülünde azalmaya neden olduğunun bir göstergesidir. Çünkü gümüş sülfadiazin, nanogümüş katkı maddeleri PCL gibi kendilerinden daha mukavim bir malzemenin yapısına dâhil olarak, elastik modülünü düşürmüşlerdir. Fakat numunelerde kopma olmadığı için, nanolifli yüzeylerin tüm grafik karakteristiği incelenememiştir dolayısıyla bu durumda net ifadeler kullanmak zordur. Fakat net sonuçlar söylenemese de numunelerin kopmamış olduğu mukavim olduğuna bir delildir. Sonuçlar literatür bilgileriyle kıyaslandığında (Mcmanus ve diğ., 2006) 10-70 MPa değerinden 100-700 kat düşük olsa da (Almany ve diğ, 2005) 0,001 MPa değerinden yaklaşık 100 kat daha fazladır.

Geliştirilmekte olan nanolif yara örtücü yüzeylerin kopma uzaması, mukavemet gibi mekanik özellikleri hakkında kesin sonuçlara ulaşabilmek için daha detaylı araştırılması gerekmektedir.

3.10 Yüzey Alanı Ölçümü

Nanolifleri yara örtücü uygulamalarında seçkin kılan özelliklerden birisi de nanoliflerin yüksek yüzey alanına sahip olmasıdır. Çünkü nanolifler yüksek yüzey alanları sayesinde kanın pıhtılaşmasını sağlayarak yaranın kanama safhasını konvansiyonel yara örtücülerine göre daha hızlı sonlandırırlar.

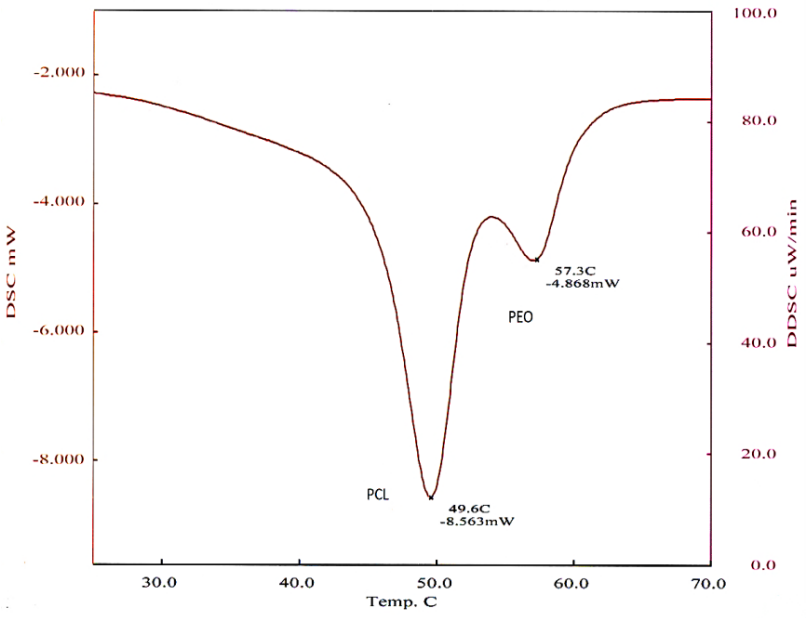
BET yöntemiyle elde edilen adsorpsiyon izoterminde, numunenin adsorpladığı azot gazı hacmine karşı bağıl basınç (P/Po) verilir buradan gerekli hesaplamalar yapılarak yüzey alanı değerine ulaşılır. Katkısız nanolifli yüzeyin, Şekil 3.30'da gösterilen adsorpsiyon izotermi üzerinden hesaplamalar yapılarak, yüzey alanı 6,01 m^2/g olarak bulunmuştur. İdeal bir yara örtücü için gerekli yüzey alanı 5-100 m^2/g aralığında olmalıdır (Kim ve diğ., 2008). Dolayısıyla mevcut nanolif çok yüksek yüzey alanına sahip olmasada yara örtücü için gereken değeri sağlamaktadır.



Şekil 3.30 : Nanolif yara örtücünün adsorpsiyon izotermi.

3.11 Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile Termal Analiz (DSC)

Bu çalışmada DSC taraması yapılmasındaki amaç malzemenin 35-38°C'da yaralı bölgenin sıcaklık aralığında erimeye, bozulmaya maruz kalmadan kendini muhafaza edip edemeyeceğini test etmektir. Şekil 3.31'de geliştirilmekte olan nanolif yara örtücünün DSC termogramı yer almaktadır.



Şekil 3.31 : Nanolif yara örtücünün DSC termogramı.

Termograma bakıldığında PCL nanolifleri 49,6°C' da erime piki verirken, PEO nanolifleri 57,3°C'da erime piki vermiştir. Yapılan test sonucu nanolif yara örtücünün 35-38°C sıcaklıkta herhangi bir hal değişimine, bozulmaya uğramadan kullanılabileceği aşikardır.

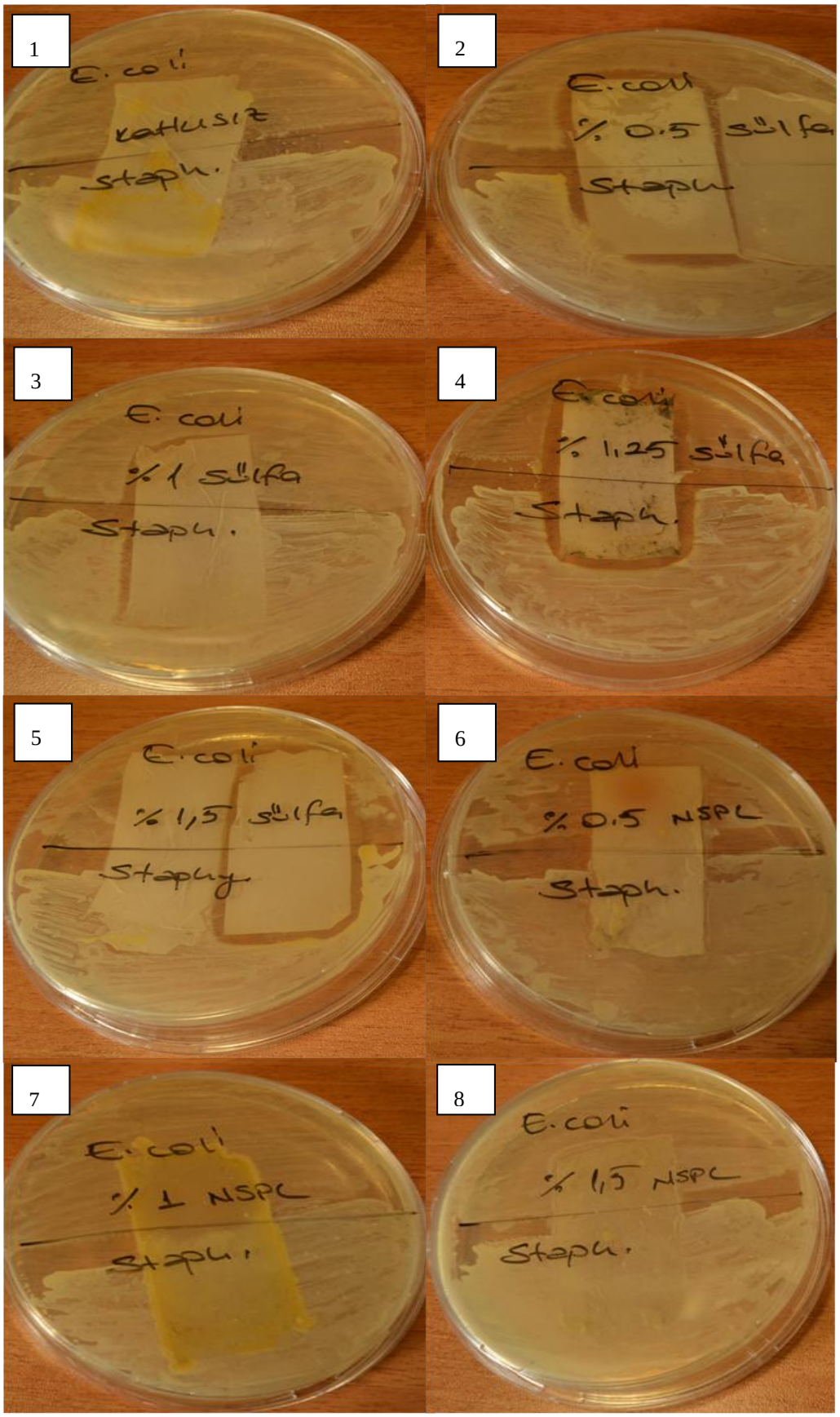
3.12 Antibakteriyel Etkinlik Testi

Medikal ve hijyenik tekstil malzemelerinin antibakteriyel özellikte olmaları gerekmektedir. Medikal tekstiller içerisinde önemli bir yer teşkil eden yara örtülerinin, yaralı bölgeyi bakterilerden koruyabilmek için çeşitli antibakteriyel ajanlar, etkin maddeler, kimyasal malzemeler ve benzeri yardımıyla bakteriostatik ve bakterisidal özellik göstermeleri beklenir. Bakterisidal özellik gösterenler, bakterileri öldürerek; bakteriyostatik özellik gösterenler ise, bakterilerin büyüme veya üremelerini yavaşlatarak etki ederler.

Antibakteriyel etkinlik testinde Escherichia Coli ve Staphylococcus aureus bakterileri kullanılmıştır. Escherichia Coli (ATCC 25922) (Gram negatif) kontamine olabilecek bakterileri temsil ederken Staphylococcus aureus (ATCC 29213) (Gram pozitif) ise cilt flora bakterilerini temsil etmektedir. Antibakteriyel etkinlik testlerinde kullanılan bakteriler, ATCC (American Type of Culture Collection) suşları olup, stabilize edilmiş yarı canlı mikroorganizmalardan oluşan standart kültürlerdir. Bakteri kültürleri -80°C özel soğutma dolaplarında saklanmaktadır.

Agar difüzyon testi 9 farklı nanolifli yüzeye uygulanmıştır. Geliştirilmekte olan nanolif yara örtülerinin antibakteriyel etkinliklerine, etrafında zon oluşup oluşmadığına, 24 saat sonunda nitel gözlemle karar verilmiştir.

Şekil 3.32'deki fotoğraflarda görüldüğü gibi, gümüş sülfadiazin katkılı nanolifli yüzeylerin etrafında bir zon oluşurken nanogümüş partükülü katkılı nanolifli yüzeylerin etrafında bir zon oluşmamış, sadece nanolifli yüzeyin altında zon oluşmuştur. Dolayısıyla Çizelge 3.4'te verildiği gibi gümüş sülfadiazin katkılı numuneler (2, 3, 4 ve 5) antibakteriyel etkinlik gösterirken, katkısız ve nanogümüş katkılı numuneler (1, 6, 7, 8, 9) sadece bakteriostatik yani bakteri üremesini engelleyici etki göstermiş fakat bakterisidal yani bakterileri öldürücü etki göstermemiştir.



Şekil 3.32 : Antibakteriyel etkinlik test fotoğrafları.

Çizelge 3.4 : Antibakteriyel etkinlik test sonuçları.

Numuneler	Bakteriostatik Etki	Bakterisidal Etki
1 (Etkin madde katkısız)	Var	Yok
2 (%0,5 Gümüş sülfadiazin katkılı)	Var	Var
3 (% 1 Gümüş sülfadiazin katkılı)	Var	Var
4 (%1,25 Gümüş sülfadiazin katkılı)	Var	Var
5 (%1,5 Gümüş sülfadiazin katkılı)	Var	Var
6 (%0,5 Nanogümüş katkılı)	Var	Yok
7 (% 1 Nanogümüş katkılı)	Var	Yok
8 (%1,25 Nanogümüş katkılı)	Var	Yok
9 (1,5 Nanogümüş katkılı)	Var	Yok

Sonuç olarak gümüş sülfadiazin katkılı numuneler antibakteriyel etkinlik gösterirken, nanogümüş katkılı numuneler ise sadece bakteriostatik etki düzeyinde sınırlı kalmıştır. Bunun nedeninin nanogümüş katkılı numunelerin kontrol edilemeyen ortam şartlarından ötürü oksitlenmiş olabileceği ve/veya yara örtücü modelinin temelini oluşturan Polikaprolakton (PCL)'nun hidrofob ve miktarının fazla olmasından ötürü ilaç salınımını geciktirdiği düşünülmektedir. Ayrıca farklı konsantrasyonlardaki gümüş sülfadiazin katkılı numunelerin oluşturduğu inhibisyon zon büyüklüklerinin birbirinden çok farklı olmadığı nitel olarak gözlemlenmiştir. Bu durumda etkin madde konsantrasyonundaki artışın antibakteriyel etkinlik derecesi üzerinde ciddi bir etkisi olmadığı söylenebilir. Bunun nedeninin, yara örtücünün yapı taşları olan nanoliflerin bir günlük zaman diliminde sınırlı ve sabit ilaç salınım kapasitesine sahip olduğu düşünülmektedir. Bu konuda kesin bir şey söyleyebilmek için kontrollü ilaç salınımı testleri yapmak gerekmektedir.

3.13 In Vivo Çalışmalar

Yanıklı hastalarda cilt bariyerinin bozulması ve eş zamanlı olarak lokal ve sistemik immün cevapların deprese olması enfeksiyöz komplikasyonların oluşmasına yol açar. Fungal patojenler; özellikle Candida suşları, geniş spektrumlu topikal ve sistemik ajanların kullanımıyla yanıklı hastalarda artan antifungal ilaç direnciyle birlikte fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilir. Yanıklı hastaların tedavisinde özellikle enfeksiyöz komplikasyonları önlemek amacıyla topikal ve sistemik antimikrobiyal

ajanlar kullanılmaktadır. Antiseptik, antibakteriyel, antiinflamatuar, antifungal özellikleriyle geniş spektrumlu bir ürün olan gümüş eski çağlardan itibaren bu amaçla kullanılmaktadır. Gümüş içeren topikal merhemler ve gümüşlü yara örtüleri antimikrobiyal ajanlar içerisinde önemli bir yere sahiptir.

In vivo sıçan deneyi, Candida albicans ile kontamine tam kalınlıkta sıçan yanık yaralarında 3 farklı gümüş içerikli yara örtücünün ve topikal gümüş sulfadiazin uygulamasının antibakteriyel ve antifungal etkinliklerini incelemek ve karşılaştırmak amacı ile yapılmıştır. Candida albicans yanıklarda oluşabilecek bir mantar cinsi olması ve yara örtüleriyle yapılan çalışmalarda çok fazla araştırılmamış olması nedeniyle tercih edilmiştir.

Yapılan çalışmada; eskarlardan, eskarın altındaki paravertebral kaslardan doku kültürleri, sol ventrikülden kan kültürleri ve akciğerden doku kültürleri alınmıştır. İnkübasyon sonrası üremeler kantitatif olarak değerlendirilemiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara SPSS programı kullanılarak istatiksel analiz yapılmıştır. Kruskal Wallis, Mann- Whitney U testleri kullanılarak grupların ortancaları karşılaştırılmış veKruskan Wallis için p değeri 0.05'in Mann-Whitney içinse p değeri 0,01' in altında olanlar anlamlı olarak kabul edilmiştir. Doku ve kan kültürlerinde gerçekleşen Candida Albicas üremelerine Çizelge 3.5'te S.aureus ve E.coli cinsi bakteri üremelerine ise Çizelge 3.6'da yer verilmiştir.

Çalışma sonucunda, kontrol grubunun tüm eskar kültürlerinde mantar ve bakteri ürerken, kas biyopsilerinin 3 ünde mantar ve 6 sında bakteri üremesi gerçekleşmemiştir. Tüm grupların akciğer kültürlerinde hiçbir üreme olmamıştır. Tüm grupların kan kültürlerinde Candida albicans üremesi olmazken, hepsinde bakteri üremesi görülmüştür.

%1'lik gümüş sülfadiazin uygulanan 2. grubun tüm eskar kültürlerinde bakteri ve Candida albicans üremesi olurken kas biyopsilerinden 2'sinde candida albicans üremesi ve 5'inde bakteri üremesi görülmüştür.

%1'lik nanogümüş katkılı nanolif yara örtücü uygulanan 3. grubun tüm eskar kültürlerinde kandida ürerken, yalnızca 1 eskar kültüründe bakteri üremesi olmamıştır. Ayrıca bu grubun kas doku kültürlerinin sadece 2'sinde kandida ürerken 5'inde bakteri üremesi gerçekleşmiştir.

%1'lik gümüş sülfadiazin katkılı nanolif yara örtücü uygulanan 4. grubun eskar kültürlerinin 7'sinde kandida üremesi, 6'sında bakteri üremesi gözlenirken; kas doku kültürlerinin yalnızca 2'sinde kandida ve 3'ünde bakteri üremesi görülmüştür.

Ticari Aquacel Ag yara örtücü uygulanan 5. grubun tüm eskar kültürlerinde Candida albicans üremesi olurken, 5'inde bakteri üremesi görüldü ve kas doku kültürlerinin 3'ünde Candida albicans üremesi olurken, 7'sinde bakteri üremesi belirlenmiştir.

Yapılan Kruskal –Wallis varyant analizine göre gruplar arasında yanık eskarında Candida albicans ve bakteri üremesi açısından ve eskar altındaki paravertebral kaslarda bakteri üremesi açısından anlamlı fark görülmüştür ($p<0,05$). Sonrasında yapılan Mann- Whitney U teste göre grupların ikili karşılaştırılması sonucunda kontrol grubuyla %1'lik gümüş sülfadiazin katkılı nanolif yara örtücü uygulanan grup arasında yanık eskarında kandida ve bakteri üremesi açısından ve eskar altındaki kaslarda bakteri üremesi açısından istatiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0,01$). Ayrıca yanık eskarında bakteri üremesi açısından kontrol grubuyla Aquacel Ag yara örtücü uygulanan grup arasında da istatiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0,01$).

Elde edilen verilere göre, yanık yaralarında hem bakteriyel hem fungal enfeksiyonu önlemek için gümüş sülfadiazin içeren nanolif yara örtücünün kullanılması çalışmadaki diğer yara örtülerine göre en etkili uygulamadır.

Çizelge 3.5 : Doku ve kan kültürlerinde Candida Albicans üremesi (koloni/gram).

Kontrol Grubu	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	Üreme yok	$1x10^6$	$1x10^4$	$1x10^4$	$1x10^4$	$1x10^4$	$1x10^4$	$1x10^4$
Sırt(kas doku)	Üreme yok	$2x10^3$	$1x10^3$	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	$1x10^3$
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Silverdin Krem	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$2x10^5$	$1x10^3$	$1x10^6$	$2x10^7$	$1x10^3$	$1x10^7$	$1x10^6$	$1x10^7$
Sırt (kas doku)	Üreme yok	$1x10^3$	Üreme yok	$1x10^3$	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	$2x10^5$
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Nanogümüş	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$1x10^4$	$1x10^6$	$1x10^3$	$2x10^7$	$1x10^3$	$1x10^5$	$3x10^5$	$5x10^5$
Sırt (kas doku)	Üreme yok	Üreme yok	$1x10^3$	$2x10^5$	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Gümüş sülfadiazin	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$1x10^3$	$1x10^3$	$1x10^3$	$1x10^2$	$1x10^5$	Üreme yok	$1x10^6$	$1x10^2$
Sırt (kas doku)	$1x10^3$	Üreme yok	Üreme yok	2x10	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Aquacel Ag	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$1x10^2$	$1x10^7$	$1x10^2$	$7x10^6$	$8x10^5$	$4x10^6$	$1x10^7$	$8x10^5$
Sırt (kas doku)	Üreme yok	$1x10^4$	Üreme yok	Üreme yok	$1x10^3$	Üreme yok	Üreme yok	$1x10^3$
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok

Çizelge 3.6 : Doku ve kan kültürlerinde S.Aureus ve E.Coli üremesi (koloni/gram).

Kontrol Grubu	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$
Sırt (kas doku)	Üreme yok	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	Üreme yok	$1x10^5$	$1x10^5$	$1x10^5$
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	Üreme yok	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$
Silverdin Krem	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^5$	$1x10^7$	$1x10^7$	$1x10^6$	$1x10^8$
Sırt (kas doku)	$1x10^8$	$1x10^6$	$1x10^5$	$1x10^5$	$1x10^5$	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$
Nanogümüş	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$1x10^5$	$1x10^8$	$1x10^8$	$2x10^7$	$1x10^8$	$1x10^6$	Üreme yok	$1x10^5$
Sırt (kas doku)	$1x10^5$	$1x10^5$	$1x10^5$	Üreme yok	Üreme yok	$1x10^3$	$1x10^5$	Üreme yok
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	$1x10^8$	$1x10^8$	Üreme yok	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$
Gümüş sülfadiazin	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$1x10^3$	$1x10^8$	$1x10^4$	$1x10^3$	Üreme yok	$1x10^5$	Üreme yok	$1x10^4$
Sırt (kas/doku)	$1x10^3$	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	$1x10^4$	Üreme yok	$1x10^4$
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$	$1x10^8$
Aquacel Ag	1	2	3	4	5	6	7	8
Yanık yarası (eskar)	$1x10^3$	Üreme yok	$1x10^4$	$1x10^5$	Üreme yok	Üreme yok	$1x10^8$	$1x10^4$
Sırt (kas doku)	$1x10^3$	$1x10^4$	$1x10^4$	$1x10^4$	$1x10^3$	Üreme yok	$1x10^3$	$1x10^4$
Akciğer	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok	Üreme yok
Kan kültürü	$1x10^8$	$1x10^8$	Üreme yok	$1x10^8$	$1x10^8$	Üreme yok	$1x10^8$	$1x10^8$

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tasarlanan nanolif yara örtücü modelinin elektroüretimi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Geliştirilmekte olan yara örtülerinin SEM görüntüleri incelendiğinde nanolifli tabakaların birbiri içinde herhangi bir deformasyona, fiziksel değişime uğramadan muhafaza edildiği ve ilave edilen etkin maddelerin nanolif yapısına aktarılabildiği anlaşılmaktadır. Fakat etkin maddelerin nanolif yüzeyine homojen olarak dağılmayıp, yer yer toplanma oluşturduğu görülmektedir. Bunun nedeni, yapıda bulunan gümüş sülfadiazin ve nanogümüş tozlarının, Polietilen oksit sulu çözeltisiyle karıştırılması esnasında yeterli homojenlikte bir çözelti elde edilememesidir. Bu sorunu gidermek için daha yüksek devir hızlarında çalışan mekanik karıştırıcılar veya ses dalgası prensibiyle çalışan ultrasonik karıştırıcılar kullanılmalıdır.

Nanolifli yüzeylerin su buhar geçirgenlik değerleri, literatür bilgileriyle kıyaslandığında bir yara örtücüden beklenen düzeydedir.

Nanolif yara örtücü numunelerinin hava geçirgenlik değerlerine bakıldığında, test sonuçları kabul edilebilir sınırlar içerisindedir.

Su geçirgenlik test sonuçları ise, yara örtücüden istenen değerlerin biraz altında kaldığından, geliştirilmekte olan nanolif yara örtücülerin yüksek performansta su geçirmez olduklarından bahsedilemez. Tasarlanan yara örtücü modelinden istenen, su geçirmeyen fakat su buharı ve oksijen geçişine izin vererek nefes alabilen özellik göstermesidir. Bu bağlamda, su buhar geçirgenliği, hava geçirgenliği ve su geçirmezlik değerlerinin hepsi bir arada düşünüldüğünde, istenilen özellikteki malzeme yapısına yaklaşılmıştır. Daha yüksek performansta su geçirmez bir yüzey elde etmek için su geçirmezlik değerinin artırılması yolunda çalışmalar yapılmalı ya da mevcut nanolif yara örtücüye yüksek su geçirmez başka bir katman ilave edilmelidir. Ayrıca çalışmada tasarlanan nanolif yara örtücü, yara temas tabakası olarak düşünülmüştür. Dolayısıyla geliştirilmekte nanolif yara örtücünün yoğun eksudalı yaralarda kullanılması durumunda hidrofiber, hidrojel ve benzeri süper emici bir yüzeyle kombine edilmesi gerekmektedir.

Yara örtücü yapısının temelini oluşturan PCL polimerinin oldukça esnek olması yara örtücüye kolayca uygulandığı bölgenin şeklini alabilme ve hastanın gündelik hareketlerine izin verme avantajı sunmaktadır. PCL'nin mukavemetli bir malzeme olması da, dış etkilere karşı formunu koruyabilme özelliğini geliştirilmekte olan yara örtücüye kazandırmaktadır.

Yapılan mekanik testler esnasında numunelerde kopma olmadığı için, nanolifli yüzeylerin tüm grafik karakteristiği incelenememiştir. Dolayısıyla bu durumda net ifadeler kullanmak zordur. Fakat kopma mukavemeti ve kopma uzama değerleri hakkında net veriler elde edilemese de numunelerin kopmamış olması mukavemetli malzemeler olduğuna bir delildir. Bundan sonraki çalışmalarda kesin sonuçlara ulaşabilmek için, numunelerin kopma-uzama eğrisinin tüm aşamalarının incelenebileceği bir ölçme metodu ile mekanik özellikler analiz edilmeli ya da kopma-uzama testlerine daha yüksek başlangıç kuvveti ile başlanmalıdır.

Nanolifli yüzeylerin gözenek boyutları incelendiğinde ortalama por çaplarının 1,1-2,5µm aralığında olması büyük oranda bakteri geçişine engel olacağını göstermektedir. Fakat en büyük ve en küçük por çapı büyüklüğünün 1,5-4,5 µm aralığında değişmesi tahmin edilen değerden daha fazla sayı ve türde bakterilerin geçişine izin vereceğinin göstergesidir. Ortalama por çapı değerleri ve en büyük-en küçük por çapı büyüklükleri aralığındaki rakamsal fark, gözenek büyüklükleri dağılımının homojen olmadığına işaret etmektedir.

Yapılan testler sonucunda, hava geçirgenliği ve porozite arasında beklenenin tersine doğrudan bir ilişki görülmemiştir. Hava geçirgenliğinde, lifli yapı hava geçişine engel oluşturur ve hava bazı yerlerden geçerken daha fazla bir dirençle karşılaşır. Hava, karşılaştığı lif direncinden ötürü yapı içerisinde her zaman doğrusal bir yol izleyemez, helisel ve daha uzun bir yol da izleyebilir. Bu nedenle yapılan ölçümlerde, numunelerin por çapları artma eğilimi gösterse de hava geçirgenliği azalma eğilimi göstermektedir.

BET yöntemiyle katkısız nanolifli yüzeyin, yüzey alanı ölçülmüş ve 6,01 m^2/g değeri elde edilmiştir. İdeal bir yara örtücü için gerekli yüzey alanı 5-100 m^2/g aralığında olmalıdır. Dolayısıyla mevcut nanolif çok yüksek yüzey alanına sahip olmasada yara örtücü için gereken değeri sağlamaktadır.

DSC analizi ile PCL ve PEO nanoliflerinin erime noktaları sırası ile; 49,6°C ve 57,3°C olarak bulunmuştur. Yapılan termal analiz nanolif yara örtücünün 35-38°C sıcaklık değerlerinde herhangi bir hal değişimine, bozulmaya uğramadan kullanılabileceğini göstermektedir.

Yapılan antibakteriyel etkinlik testleri, ise gümüş sülfadiazin katkılı numunelerde olumlu sonuçlar vermiştir. Fakat nanogümüş tozları katkılı numunelerde ise sadece bakteri üremesini durdurucu etki görülmüş asıl kıstas kabul edilen bakterileri öldürücü etki gözlemlenmemiştir. Dolayısıyla nanogümüş tozlarının bakterilere karşı direnci oldukça sınırlı kalmış, antibakteriyel etkinlik testini geçememiştir. Bunun nedeni, elektroüretim sırasında dış etkenlerle nanogümüşün antimikrobiyel aktivitesini yitirmesi ve/veya nanogümüşün salınımının 24 saatten sonra başlaması ile açıklanabilir. Böyle bir durumda nanogümüşün salınımının gümüş sülfadiazinden daha yavaş olduğu söylenebilir fakat salınım mekanizması ile ilgili net bilgiler elde etmek için muhakkak kontrollü ilaç salınımı çalışmaları yapılmalıdır.

Bu çalışmanın yürütüldüğü İTÜ Bilimsel Araştırma Projesi kapsamında, sıçanların sırtına üçüncü derece yanık yarası açılarak in vivo çalışmalar yapılmıştır. Bununla ilgili Marmara Üniversitesi ile yeni bir proje hazırlanarak, etik kurul izni alınmış ve sıçanlar (ratlar) üzerine denemeler gerçekleştirilmiştir. Proje öneri başvuru formu ve etik kurul onay formu EK A1 ve A2'de sunulmuştur.

Sıçanlar üzerine yanık yarası açılarak yapılan in vivo çalışmalarla geliştirilmekte olan nanolif yara örtücülerin bakteriyel ve fungal etkinlikleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda gümüş sülfadiazin içeren nanolif yara örtücünün; nanogümüş katkılı nanolif yara örtücü, Aquacel Ag ve gümüş sülfadiazin krem uygulamalarına göre daha etkili olduğu anlaşılmıştır. Elektroüretim yöntemiyle elde edilen iki nanolif yara örtücü kıyaslandığında, in vitro antibakteriyel aktivite testinde olduğu gibi gümüş sülfadiazin katkılı nanolif yara örtülerinin nanogümüş katkılı yara örtülerinden daha etkin olduğu in vivo çalışmalarda da karşımıza çıkmıştır. Bu durum çalışma esnasında nanogümüşün oksitlenmiş olabileceği ihtimalini bir kez daha göstermektedir.

Özetle, ilaç katkılı üç katmanlı nanolif modeli başarı ile elde edilmiştir. İn vivo ve in vitro çalışmalarla desteklenen, fiziksel ve mekanik özellikleriyle gelecek vaad eden

modern bir yara örtücü için ilk adımlar atılmıştır. Bundan sonraki çalışmalarda ise yara örtülerinde kontrollü ilaç salınımı üzerine yoğunlaşılacaktır.

KAYNAKLAR

Acar, A., Uygur, F., Diktas, H., Evinç, R., Ülkür, E., Öncül, O. and Görenek, L. (2011). Comparison of silver-coated dressing (ActicoatW), chlorhexidine acetate 0.5% (BactigrassW) and nystatin for topical antifungal effect in Candida albicans-contaminated, full-skin-thickness rat burn wounds. *JBUR*-3456, 4.

Acar, M. H. ve Yılmaz, P. (1997). Effect of tetramethylthiuramdisulfide on the cationic poymerization of cylohexeneoxide, *The 2nd International Conferences on* Advanced *Polymers via Macromolecular Engineering,* Orlando, Florida, USA.

Aktaş, Ş. (2010). Farklı Bir Yara Bakım Ürünü Grubu: Kollajen, ORC+Kollajen, ORC+Ag+Kollajen, Güncel Yönleriyle Kronik Yara, İ. Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, s:223.

Almany, L., Seliktar, D. (2005). Biosynthetic hydrogel scaffolds made from fibrinogen and polyethylene glycol for 3D cell cultures. *Biomaterials* 26, 2467–2477.

Altay, P., Başal, G. (2010). Yara örtüleri, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4, 1, 109-121.

An, J., Zhang, H., Zhang, J. Zhao,Y. and Yuan, X. (2009). Preparation and antibacterial activity of electrospun chitosan/poly(ethylene oxide) membranes containing silver nanoparticles, *Colloid & Polymer Science*, 287, 12, 1425-1434.

Baker, M. B., Gee, O. A., Metter,B. R., Nathan S. A., Marklein,L.R., Burdick, A.J., and Mauck, L.R. (2008). The potential to ımprove cell ınfiltration in composite fiber- aligned electrospun scaffolds by the selective removal of sacrificial fibers, *Biomaterials*, 29, 15, 2348–2358.

Bulut, Y. (2009). Kaplama veya laminasyon teknikleri ile üretilen kumaşların genel özellikleri ve performans testleri, *Tekstil ve Mühendis*,70-71, 13.

Can, C., Körlü, A. (2011). Antibakteriyel Tekstil Üretiminde Sıkça Kullanılan Gümüşün Etki Mekanizması ve Toksisitesi, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5,3, 54-59.

Chen, J. P., Chang, G .Y., Chen, J. K. (2008). Electrospun collagen/chitosan nanofibrous membrane as wound dressing, *Colloids and Surfaces*, 313, 183-188.

Chew, S. Y., Mi, R., Hoke, A., and Leong, K. W. (2007). Aligned protein-polymer composite fibers enhance nerve regeneration: a potential tissue-engineering platform, *Advanced Functional Materials*, 17, 8, 1288–1296.

Chew, S. Y., Wen, J., Yim, E. K. F., and Leong, K.W. (2005). Sustained release of proteins from electrospun biodegradable fibers, *Biomacromolecules*, 6, 4, 2017–2024.

Çakır, A., Yıldırım, S. (2008). Dentin bağlayıcı sistemlerin antibakteriyel özelliklerinin değerlendirilmesi için kullanılan in vitro yöntemler, *Selçuk Üniversitesi Dişhek. Fak. Der.*, 17, 141-145.

Çetinkale, O., (2008). Yanık yarası tedavisi, *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi*, 67, 08-109.

Demir, A. (2008). Nanoteknoloji ve Nanolifler, Teknolojik Durum Raporu.

Demir, A., Gümüş, T., Gülşen S., Kıyak, Y., Erden, O., Öznergiz, E. (2011). Çok fonksiyonlu nanolif geliştirme platformu, 3. Bursa Uludağ İhracaçılar Birliği Proje Pazarı.

Demir, A. (2012). Nano Liflerden Oluşan Bir Ağ (nanoweb) Üretimi İçin Taşınabilir Bir Sistemin Geliştirilmesi ve Prototip İmalatı (Proje No:108M045), TUBİTAK Bilimsel Rapor (Sonuç Raporu), Ankara, Türkiye.

Doğan, G., Başal, G. (2009). Elektrolif yöntemine göre çekilen biyopolimernanoliflerin ilaç salınım sistemleri, yara örtüsüve doku iskelesi olarak kullanımı, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 2, 58-70.

Duan, Y., Jia J., Wang, S. H., Yan, W., Jin, L., and Wang, Z. Y. (2007). Preparation of antimicrobial poly(e-caprolactone) electrospun nanofibers containing silver-loaded zirconium phosphate nanoparticles, *Journal of Applied Polymer Science*, 106, 2, 1208–1214.

Fong, J. ve Wood, F. (2006). Nanocrystalline silver dressings in wound management: a review, *International Journal of Nanomedicine*, 1, 4, 441-449.

Fu, Y.C., Nie, H., Ho, M. L., Wang, C. K., and Wang, C. H. (2008). Optimized bone regeneration based on sustained release from three-dimensional fibrous plga/hap composite scaffolds loaded with BMP-2, *Biotechnology and Bioengineering*, 99, 4, 996–1006.

Garcia, S. D. M, Hoa, V. S. and Lagaron, M. J., Development and characterization of novel biocomposites of thermoplastic biopolymers reinforced with carbon nanofiber and carbon nanotubes, *The 17th International Conference on Composites*, 2009 Edinburgh, UK.

Gensheimer, M., Becker, M., Brandis, Heep, A., Wendorff, J. H., Thauer, R. K., and Greiner, A. (2007). Novel biohybrid materials by electrospinning: nanofibers of poly (ethylene oxide) and living bacteria, *Advanced Materials*, 19, 18, 2480– 2482.

Gu, S., Wang, Z., Ren, J., Zhang, C. (2008). Fabrication and characterization of electrospun poly (L-lactic acid) and poly (L-lactide -co -glycolide) mats as wound dressings, *Bioinformatics and Biomedical Engineering, The 2nd International Conference*, 1514 – 1517.

Gu, Y. S., Wang, M. Z., Ren, J., Zhang, Y.C. (2009). Electrospinning of gelatin and gelatin/poly(l-lactide) blend and its characteristics for wound dressing, *Materials Science and Engineering* C 29, 1822–1828.

Gupta, B., Saxena, S., Arora A., Alam, S. M. (2009). Preparation of chitosan polyethylene glycol coated cotton membranes for wound dressings: preparation and characterization, *Polym. Adv. Technol*. 20, 58–65.

Heunis, T. D. J., Dicks, L.M.T. (2010). Nanofibers offer alternative ways to the treatmen of skin ınfections, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 510682, 1-10.

Hiep, N. T. and Lee, B. T. (2010). Electro-spinning of PLGA/PCL blends for tissue engineering and their biocompability, *Journal of Material Science:Mater. Med*., 21, 6, 1969-1987.

Ignatova, M., Manolova, N., Rashkov, I. (2007). Electrospinning of poly(vinyl pyrrolidone)–iodine complex and poly(ethylene oxide)/poly(vinylpyrrolidone)–iodine complex – a prospective route to antimicrobial wound dressing materials, *European Polymer Journal*, 43, 5, 1609-1623.

Jeon, J. H., Kim, S. K., Kim, G.T., Kim, H. J., Yu, R. W., Youk, H. J. (2008). Preparation of poly(ε-caprolactone)-based poylurethane nanofibers, *Applied Surface Science*, 254, 5886-5890.

Johanas, J. T. (2008). Characterization of Silk Electrospun Tubes for Small Diameter Vascular Tissue Engineering, in Mechanical Engineering, Tufts University.

Kang, Y. O., Yoon, S. O. Lee, S. Y., Kim, D. D., Lee, J., Park, W. H. and Hunson, S. M. (2009). Chitosan-coated poly(vinyl alcohol) nanofibers for wound dressings, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 92B, 2, 568-576.

Kenawy, E. R., Bowlin, G. L., Mansfield, K., Layman, J., Simpson G. D., Sanders H. E. And Wnek E. G. (2002). Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethyleneco- vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend, *Journal of Controlled Release*, 81, 1-2, 57–64.

Kıyak, Y. E., (2011). Elektro Üretim İşleminin Modellenmesine Hızlı Kamera ile Katkılar, Yüksek Lisans Tezi, İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul

Khil, M. S., Cha, D.I., Kim, H. Y., Kim, I. S., Bhattarai, N. (2003). Electrospun nanofibrous poliurethane membrane as wound dressing, *J Biomed Mater Res Pt B Appl Biomater*., 67B, 2, 675-679.

Kim, G. H. and Yoon, H. (2008). A direct-electrospinnig process by combined electric field and air-blowing system for nanofibrous wound-dressings, *Applied Physics A Material Science&Processing*, 90, 3389-394.

Kim, G., Park J. ve Park, S. (2007). Surface-treated and multilayered poly(ε-caprolactone) nanofiber webs exhibiting enhanced hydrophilicity, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics* 45, 15, 2038-2046.

Kim, T. G., Lee D. S., and Park, T. G. (2007). Controlled protein release from electrospun biodegradable fibermesh composed of poly(ε-caprolactone) and poly(ethylene oxide), *International Journal of Pharmaceutics*, 338, 1-2, 276– 283.

Kim, K., Luu, Y. K., Chang, C., Fang, D., Hsiao, S. B., Chu, B. and Hadjiargyrou M. (2004). Incorporation and controlled release of a hydrophilic antibiotic using poly(lactideco- glycolide)-based electrospun nanofibrous scaffolds, *Journal of Controlled Release*, 98, 1, 47–56.

Kong, H. and Jang, J. (2008). Antibacterial properties of novel poly(methyl methacrylate) nanofiber containing silver nanoparticles, *Langmuir*, 24, 5, 2051-2056.

Kowalczyk, T., Nowicka, A., Elbaum, D., and Kowalewski, T. A. (2008). Electrospinning of bovine serum albumin optimization and the use for production of biosensors, *Biomacromolecules*, 9, 7, 2087–2090.

Kweon, H., Ha, C., H., Um, C., I. And Park, H. Y., (2000). Physical properties of silk fibroin/chitosan blend films, *Journal of Applied Polymer Science*, 80, 928–934.

Laszlo, O. (2007). Development of Polymer Based Implants, Ph.D. Thesis, Department of Polymer Engineering and Research Center, Budapest University of Technology and Economics, Müegyetem.

Laurencin C. T., Nair L. S., Nanotechnology and Tissue Engineering: The Scaffold, CRC Press., 2008, p: 359.

Lee, K. H, Kim, H., Khil, M., Ra, Y., Lee D. R. (2003). Characterization Of Nano Structured Poly(Caprolactone) Nonwoven Mats Via Electrospinning, *Polymer*, 44, 4, 1287–94.

Li, Y., Jiang, H., and Zhu, K. (2008). Encapsulation and controlled release of lysozyme from electrospun poly(ε-caprolactone)/poly(ethylene glycol) non-woven membranes by formation of lysozyme-oleate complexes, *Journal of Materials Science*, 19, 2, 827–832.

Liu, X., Lin, T., Fang, J., Yao, X. G. (2008). Electrospun nanofibre membranes as wound dressing materials, *Advances in Science and Technology*, 57, 125-130.

Luong-Vana, E., Grondahl, L., Chua, N. K., Leong, W. K., Nurcombe, V., Cool, M. S., (2006). Controlled release of heparin from poly(ε-caprolactone) electrospun fibers, *Biomaterials* 27, 2042–2050.

Luu, Y. K., Kim, K., Hsiao, B. S., Chu, B., and Hadjiargyrou, M. (2003). Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA-PEG block copolymers, *Journal of Controlled Release*, 89, 2, 341–353.

Majno, G. *The Healing Hand: Man and Wound in the Ancient World.* Cambridge : Harvard University Press, 1975.

Maretschek, S., Greiner A., and Kissel, T. (2008). Electrospun biodegradable nanofiber nonwovens for controlled release of proteins, *Journal of Controlled Release*, 127, 2, 180–187.

McManus, C. M., Boland, D. E., Koo, P. H., Barnes, P. C., Pawlowski, J. K., Wnek, E.G., Simpson,G.D., Bowlin, L.G. (2006). Mechanical properties of electrospun fibrinogen structures, *Acta Biomaterialia* 2, 19–28.

Merrell, J. G., McLaughlin S. W., Tie L., Laurencin, C. T., Chen, A. F. and Nair, L. S. (2009). Curcumin-loaded poly(epsilon-caprolactone) nanofibres: diabetic wound dressing with anti-oxidant and anti-inflammatory properties, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 36, 12, 1149-1156

Mi-Long, F., Shyu S.S, Wu YB, Lee S.T, Shyong J.Y, Huang R.N. (2001). Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing, *Biomaterials* 22, 2, 165-173.

Öncül, O., (2008). Yanık enfeksiyonları, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi, 67, 129-145.

Özalp Y., Özdemir N. (t.y.) Biyomateryaller ve biyouyumluluk, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 58-74.

Palamutçu S., Şengül M., Devrent N., Keskin R., (t.y.), Tekstil ürünlerinde antimikrobiyal etkinlik belirleme testleri, VII. Ulusal Ölçümbilim Kongresi, S:25-32.

Rai, M., Yadav, A. ve Gade A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials, *Biotechnology Advances*, 27, 76-83.

Ramakrishna, S., Fujihara K., Teo W. E., Yong, T., Ma, Z. and Ramaseshan, R. (2006). Electrospun nanofibers: solving global issues, *Materials Today.*, 9, 3, 40-50.

Sacholos, E, Czernuszka, J.T., (2003). Making tissue engineering scaffold work. Review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds, *Eur. Cell. Mater*. 5, 29–40.

Salalha, W., Kuhn, J., Dror, Y., and Zussman, E. (2006). Encapsulation of bacteria and viruses in electrospun nanofibres, *Nanotechnology*,17, 18, 4675–4681.

Shelma, R., Willi P. ve Sharma, C.P.(2008). Chitin nanofibre reinforced thin chitosan films for wound healing application, *Trends Biomater. Artif. Organs*, 22, 2, 111-115.

Son, K. W., Youk, H.J., Park, H.W. (2006). Antimicrobial cellulose acetate nanofibers containing silver nanoparticles, *Carbohydrate Polymers*, 65, 430-434.

Sun, Z., Zussman, E., Yarin, A. L., Wendorff, J. H., and Greiner, A. (2003). Compound core-shell polymer nanofibers by coelectrospinning, *Advanced Materials*, 15, 22, 1929–1932.

Thomas, S. *Wound Management and Dressing.* London : Pharmaceutical Press, 1990.

Topalan, M., ve Önel D. (2010). Güncel Yönleriyle Kronik Yara, *Yara İyileşmesi,* S:1, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi.

Uğur, S. S., Sivri, Ç. (2008). Tekstil materyallerinde su buharı geçirgenliği ölçüm metotlarının karşılaştırılması, *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 3, 13 -20

Uppal, R., Ramaswamy, N.G., Arnold, C., Goodband, R., Wang, Y. (2010). Hyaluronic acid nanofiber wound dressing production-characterization, and in vivo behavior, *Journal Of Biomedıcal Materials Research B: Applied Biomaterıals*, 97B,1, 20-28.

Ülkür, E., Öncül, O., Karagöz, H., Çeliköz, B., Çavuşlu, S. (2005). Comparison of silver coated dressing (Acticoat), chlorhexidine acetate 0.5% (Bactigrass), and silver sulfadiazine 1% (Silverdin) for topical antibacterial effect in Pseudomonas aeruginosa contaminated, full-skin thickness burn wounds in rats, *JBurn Care Rehabil*, 26, 430–3.

Üstündağ, C. G., Karaca, E., Özbek, S. and Çavuşoğlu, İ. (2010). In vivo evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)/sodium alginate nanofibrous mat as wound dressing, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 290-298.

Wen, T. X., Fan, H. S., Tan, Y. F., Cao, H. D., Li, H. Cai, B., Zhang, X. D. (2005). Preparation of electrospun PLA nanofiber scaffold and the evaluation in vitro, *Key Engineering Materials*, 288-289, 139-142.

Yannas, I. V., Burke, J. F., Warpehoski, M.; Stasikelis, P., Skrabut, E. M., Orgill, D. P. In Biomaterials: Interfacial Phenomena and Applications; Cooper, S. L., Peppas, N. A., Eds.; American Chemical Society: Washington DC, 1982, p 474.

Yuan, X., Zhang, Y., Dong, C., Sheng, J. (2004). Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning, *Polymer International*, 53, 11, 1704-1710.

Zahedia, P., Rezaeiana, I., Siadatb, R.O.S., Jafaria, H.S., ve Supapholc, P. (2009). A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polym. Adv. Technol*,21, 2, 77-95.

Zenciroğlu D. (2005). Etilen oksit ile sterilizasyon; nasıl çalışır? kullanılan cihazların özellikleri nelerdir? nasıl denetlenir? olumlu ve olumsuz yönleri nelerdir? formaldehid ve etilen oksit sterilizasyon yöntemini karşılaştırma, önlemler ve gaza maruz kalan personeleuygulanacak işlemler nelerdir? 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, İstabul.

Zeng, J., Xu, X., Chen, X.,Liang, Q.,Bian, X., Yang, L. And Jing, X. (2003). Biodegradable electrospun fibers for drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 92, 3, 227–231.

Url_1:<http://sem.mersin.edu.tr/uploads/304/files/Yara_iyile%C5%9Fmesi_ve_yara_bak%C4%B1m%C4%B1(D4-K%C3%96).pdf> Alındığı Tarih: 30.04.2012

Url-2:<http://www.anestezi.med.ege.edu.tr/sem/2009/14_yara.ppt>, Alındığı Tarih: 25.04.2012.

Url-3:<http:// http://tr.wikipedia.org/wiki/Deri >, Alındığı Tarih: 25.04.2012

Url-4:<http://www.bilimvesaglik.com/duyu-organlari/default.asp>, Alındığı Tarih: 01.04.2012

Url-5:<http://www.saglik.im/epidermis/>, Alındığı Tarih: 20.04.2012

Url-6: <http://tr.wikipedia.org/wiki/Epidermis>, Alındığı Tarih: 20.04.2012

Url-7:<http://web.inonu.edu.tr/~msenol/dosyalar/deriyapi.doc>, Alındığı Tarih: 28.04.2012

Url-8:<http://www.e-hemsire.com/deri-ve-deri-bakimi.html>, Alındığı Tarih: 28.04.2012

Url-9:<http://www.frmtr.com/tip-biyoloji-farmakoloji/4251288-derinin-yapisi-ve-deride-bulunan-reseptorler.html>, Alındığı Tarih:30.04.2012

Url-10:<http://tr.wikipedia.org/wiki/Yan%C4%B1k>, Alındığı Tarih: 28.04.2012

Url-11:<http://www.ctf.edu.tr/anabilimdallari/pdf/194/Yara_Iyilesmesi.pdf>, Alındığı Tarih: 25.05.2012

Url-12:<http://www.yaradernegi.net/90.html#73>, Alındığı Tarih: 25.05.2011

Url-13:<http://www.hirshfields.com/designresource/flooring/silverknight.html>, Alındığı Tarih: 25.07 2012

Url-14:<http://www.estetiks.com/pansuman+malzemeleri.html >, Alındığı Tarih: 25.05.2012

Url-15:<http://www.desifremedikal.com/?i=goster&id=24 >, Alındığı Tarih: 25.05.2012

Url-16:<http://en.wikipedia.org/wiki/Polyethylene_glycol>, Alındığı Tarih: 16.01.2012

Url-17:<http://en.wikipedia.org/wiki/Polycaprolactone >, Alındığı tarih:10.12.2011

Url-18:< http://www.sigmaaldrich.com/european-export.html>, Alındığı Tarih: 01.08.2012

Url-19:<http:// www.kimyaevi.org/TR/Yonlendir.aspx?...>, Alındığı Tarih: 10.12.2011

Url-20: <http://en.wikipedia.org/wiki/Silver_sulfadiazine>, Alındığı Tarih: 10.12.2011

Url-21:<http://www.ilacabak.com/prosp.php?Id=3883>, Alındığı Tarih: 10.12.2011

Url-22: <http://www.toprakilac.com.tr/tr/urunler/urun.asp?id=35&act=details&hl=>, Alındığı Tarih: 10.12.2011

Url-23:<http://nanocorp.en.ec21.com/Metal_Nano_Powder--649493.html>, Alındığı Tarih: 01.08.2012

Url-24:<http://www.convatec.com.tr/yara_bak_pro.html>, Alındığı Tarih: 25.05.2012

Url-25:<http://www.butal.tubitak.gov.tr/Hava_Gecirgenligi.htm>, Alındığı Tarih: 01.08.2012

Url-26:<http://www.quantachrome.com/porometer/porometer_3gzh.html>, Alındığı Tarih: 01.08.2012

Url-27:<http://www.kimyasanal.net/konugoster.php?yazi=0lbtsiqk5y>, Alındığı Tarih: 03.11.2011

Url-28:<http://www.polimernedir.com/polimer-fizigi/polimer karakterizasyonu/ diferansiyel-taramali-kalorimetri-dsc/>, Alındığı Tarih: 01.05.2012

EKLER

EK A.1: İntakt Omurgalı Hayvanlar Üzerinde Yapılacak Çalışmalar İçin Başvuru Formu

EK A. 2: Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Projesi Onay Formu

EK A.1: İntakt Omurgalı Hayvanlar Üzerinde Yapılacak Çalışmalar İçin Başvuru Formu

MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ ARAŞTIRMA ETİK KURULU
İntakt Omurgalı Hayvanlar Üzerinde Yapılacak Çalışmalar İçin Başvuru Formu

---

Önemli Not: Bu form ve eklerinde beyan ettiğiniz bilgiler, DAHL, DHAEK üyeleri tarafından, proje yürütücüsünün onayı olmadan 3. şahıslarla paylaşılmayacaktır.

- Protokol No:
- Etik Kurula Başvuru Tarihi:
- Onay Tarihi:
- Çalışmanın Başlığı: ***Nanolif yara örtücü, gümüş sülfadiazin ve Aquacel Ag gümüşlü yara örtülerinin tam kalınlıkta sıçan yanık yaraları üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırılması***

- Çalışmanın yürütücüsü ve anabilim dalı (adres, telefon, e-posta): ***Doç. Dr. Mustafa Tercan, Op. Dr. Serdar Toksoy –HNH- 2. Plastik Cerrahi Kliniği – 05052968381 serdar.toksoy@gmail.com***

- Çalışmada görev alan diğer araştırıcılar (anabilim dallarıyla beraber): ***Dr. Güray Yeşiladalı, Dr. Ayşe İrem Mert – HNH 2. Plastik Cerrahi Kliniği Doç. Dr. Sebahat Aksaray- HNH Mikrobiyoloji Kliniği, Dr. Simin Cevan- HNH Mikrobiyoloji Kliniğ***

Çalışmada görev alan araştırıcılardan *"Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı ile Yapılan Araştırmalar Atölye Çalışması"*na katılanlar veya başka bir kurumdan sertifikası olan araştırıcılar
Güray Yeşiladalı (Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu)

- Çalışmanın yürütüleceği laboratuvar: (Anabilim dalı, adres, telefon): ***Marmara Üniversitesi Hayvan Laboratuarı***
- Çalışmayı destekleyen kuruluş/ Proje adı, no, tarihi :
- Çalışma için uygun olan kutuyu veya kutuları işaretleyiniz:
  - □ Çalışma uzmanlık tezi olacaktır. □ Çalışma doktora tezi olacaktır.
  - □ Çalışma yüksek lisans tezi olacaktır. ***X Çalışma bilimsel bir araştırmadır.***
- *Çalışmada Kullanılacak Hayvanların:*

Türü: Sıçan Cinsi :Sprague-Dawley Suşu:
Cinsiyeti:Erkek

Yaşı: Ağırlık Aralığı: 250- 300 g Temin edilecek yer: Marmara Üniv. Hayvan Laboratuarı

- Çalışmanın Amacı:

Yanıklı hastalarda kullanılan pek çok gümüş içeren topikal antimikrobiyal ajanlar ve yara örtüleri mevcuttur. Bizim bu çalışmadaki amacımız, nanolif yara örtücünün antimikrobiyal etkinliğini diğer ürünlerle karşılaştırmaktır.

- Çalışmanın Yöntemi:

Çalışmada 40 sıçan üzerinde her biri 8 sıçandan oluşan 5 grup oluşturulacak. Bunlar; kontrol grubu, %1 nanogümüş ve %1 gümüş sülfadiazin katkılı nanolif yara örtücü kullanılan 2 ayrı grup, %1lik gümüş sülfadiazin uygulanan grup ve Aquacel Ag yara örtücü kullanılan grup. Sıçanların sırtı traş edildikten sonra 85 ^{0}C suya 8 saniye temas ettirilerek tüm vücut yüzeyinin %15'i olacak şekilde tam kalınlıkta yanık oluşturulacaktır. Sıçanlar rastgele 5 gruba ayrılarak her bir gruba farklı bir gümüşlü ürün kullanılacaktır. Bu ürünlerin antimikrobiyal etkinlikleri birbirleriyle ve kontrol grubuyla karşılaştırılacaktır.

- Çalışmanın protokolü:

Çalışmanın başında tüm sıçanların ağırlıkları kaydedilecek ve intraperitoneal ketamin anestezisinden sonra sırtları traş edilecektir. Takiben vücut yüzey alanlarının %15'ini oluşturacak şekilde 8 sn 85^{0}C suya maruz bırakılarak tam kat yanık oluşturulacaktır. Bu işlemden 10 dakika sonra her hayvana 1 x10^8 cfu C. Albicans (ATCC90028) içeren 0,5 ml suş ekilecek ve her sıçan ayrı steril kafeslere konulacaktır. 24 saat sonra sıçanlar rastgele 5 gruba ayrılacaktır. 1. Grup olan kontrol grubuna herhangi bir topikal ajan uygulanmayacak, 2. -3. Gruplara sırasıyla %1 nanogümüş ve %1 gümüş sülfadiazin katkılı nanolif yara örtücü günde 1 kez uygulanacak, 4. Gruba günde 1 kez %1 lik gümüş sülfadiazin içeren krem topikal olarak uygulanacak ve 5. Gruba gümüş içeren diğer bir yara örtücü olan Aquacel Ag günde 1 kez uygulanacaktır. 7. Günde tüm hayvanlara anestezi altında ötanazi uygulanıp tekrar ağırlıkları ölçülüp kaydedilecektir.%7,5'dan fazla kilo kaybı sistemik hastalık olarak değerlendirilecektir. Aseptik koşullarda torakotomi uygulanarak sol ventrikülden kan kültürü ve akciğer biyopsileri alınacaktır. Aynı zamanda yanık eskarının santral bölümünden punch biyopsi alınacak ve eskar uzaklaştırıldıktan sonra eskarın altındaki paravertebral kaslardan biyopsi alınacaktır. Alınan örnekler Loebel'in tarif ettiği metodla beyin-kalp infüzyon besiyeri ve Sabourad dekstroz agara ekilecek ve Miles ve Misra formülüyle koloni/gram miktarları ölçülecektir.

- Çalışma hakkında bilgi birikimi:

Yanıklı hastaların tedavisinde özellikle enfeksiyöz komplikasyonları önlemek amacıyla topikal ve sistemik antimikrobiyal ajanlar kullanılmakta ve bu hastaların izolasyonu sağlanmaktadır. Günümüzde bu amaçla çok çeşitli antimikrobiyal ajanlar geliştirilmiştir. Antiseptik, antimikrobiyal, antiinflamatuar ve geniş spektrumlu antibiyotik özellikleri ile gümüş de eski çağlardan itibaren bu amaçla kullanılmaktadır ve gümüş içeren topikal merhemler ve gümüşlü yara örtüleri bu antimikrobiyal ajanlar içerisinde yerlerini almıştır Biz çalışmamızda oldukça yaygın kullanılan gümüşlü topikal ajanlar ve geliştirilmiş yara örtülerinin etkinliklerini ölçmeyi ve karşılaştırmayı hedefledik.

- Çalışmanın planlanmasında kullanılmış literatürlerin listesi:

1. ***Comparison of silver-coated dressing (ActicoatW), chlorhexidine acetate 0.5% (BactigrassW) and nystatin for topical antifungal effect in Candida albicans-contaminated, full-skin-thickness rat burn wounds, JBUR-3456; 2011.01.024***
2. ***Nanocrystalline silver dressings in wound management: a review, international Journal of Nanomedicine 2006:1(4) 441– 449***
3. ***The effectiveness of silver-releasing dressings in the management of non-healing chronic wounds: a meta-analysis Journal of Clinical Nursing, 18, 716-728***

- Deney grupları

Deney Grubu (gruplara rakam vererek değil; kontrol grubu, yalancı opere, x tedavisi almış gibi tanımlayıcı isimler veriniz)	Verilerin analizi için öngörülen hayvan sayısı[1]
1. Grup: Kontrol grubu	***8***
2. Grup: %1 nanogümüş katkılı nanolif yara örtücü uygulanan grup	***8***
3. Grup: %1 gümüş sülfadiazin katkılı nanolif yara örtücü uygulanan grup	***8***
4. Grup: Gümüş sülfadiazin uygulanan grup	***8***
5. Grup: Aquacel Ag yara örtücü uygulanan grup	***8***
Toplam:	***40***

[1] Deneylerin kötü gitmesi halinde kullanmayı düşüneceğiniz yedek denekleri dahil etmeyiniz. Bunun için ayrıca dilekçe ile başvurmanız gerekmektedir.

- Deneylerde kullanılacak kimyasal/biyolojik maddeler ve farmakolojik ajanlar:

Ajan	*Doz*	*Uygulama yolu ve hacim*	*Veriliş sıklığı*	*Etki süresi*
Gümüş sülfadiazin	***%1lik***	***Topikal***	***1kez/gün***	
Aquacel Ag yara örtücü		***Topikal***	***1kez/gün***	
Nanolif yara örtücü		***Topikal***	***1kez/gün***	

- Anestezik, analjezik ve nöromüsküler bloke edici ajanlar

Ajan(lar)	*Doz*	*Uygulama yolu ve hacim*	*Veriliş sıklığı*	*Etki süresi*
Pre-anestezik				
1. Anestezik ***Ketamin***	İndüksiyon: ***75-100 mg/kg*** İdame:	***İntraperitoneal***		
2. Anestezik ***Klorpromazin***	İndüksiyon: ***0,5 mg/kg*** İdame:	***İntraperitoneal***		
3. Anestezik	İndüksiyon: İdame:			
Nöromüsküler bloke edici				
İşlemler sonrası analjezik: ***parasetamol***	200mg/kg/gün	***Oral***		
İşlem sonrası sıvı resüsitasyonu: ***Serum fizyolojik***	20 mg/kg/gün	***İntraperitoneal***		

- Anestezi derinliği nasıl izlenecek, belirtiniz:

□ Kuyruk kıstırma □ Parmak kıstırma ***X Ekstremite çekme yanıtı***
□ Kornea refleksi
□ Kan basıncı, kalp hızı vücut sıcaklığı, solunum hızı gibi fizyolojik fonksiyonlar (belirtiniz):

- Deney sırasında ortaya çıkabilecek tehlikeli madde ve/veya durumlar :
  X YOK □ VAR (Varsa açıklayınız, almanız gereken **<u>önlemleri</u>** tartışınız)
  - **<u>Mikrobiyolojik kontaminasyon</u>**:
  - Kanserojen maddeler:
  - Biyolojik toksinler:
  - Antineoplastik/sitotoksik ajanlar:
  - Radyoaktif emisyon yapan maddeler:
  - Diğer potansiyel tehlikeli maddeler:

- Deney öncesi, deney sırası veya sonrası barınma koşulları:
  - Ortamın fiziksel koşulları: ***22 ^{0}C sıcaklıkta 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortam***
  - Barınma kafeslerinde en fazla kaç hayvan bulunacak belirtiniz***. 1 hayvan***

- Deney öncesi ve deney süresince uygulanacak diyet: ***Standart su ve yem***

- Hayvanın maruz bırakılacağı kısıtlamaların türünü, süresini, kullanılacak cihazları, meydana gelebilecek postürel, davranışsal, sağlık değişikliklerini ayrıntılı olarak belirtiniz.

Bu soruda deney hayvanlarının bu kitabın ilgili bölümlerinde anlatıldığı gibi doğal yaşamlarını göz önünde bulundurarak deneyler sırasında meydana gelecek olan ıstırabı anlatınız. Bunlardan kaçınmak için sarfettiğiniz çabaları da açıklayınız.

- İzlenecek sağlık parametreleri:

Ölçümünü yaptığınız veya gözlediğiniz fizyolojik, patolojik veya davranışsal parametreler sorgulanmaktadır

X Vücut ağırlığında kayıp
X Ölüm
X Gıda ve su alımında azalma
X Davranış değişiklikleri
X Dehidratasyon
X Ataksi
X Güçsüzlük
Diyare
X Enfeksiyon
X Genel durum bozukluğu
X Paralizi

- Ötanazi yöntemi:

 Ötanazi uygulanmayacak.
X Yüksek doz anestezik (madde/doz/ uygulama yolu):İntraperitoneal 100 mg/kg Pentobarbital (Pentotal)
 Anestezik madde/Trankilizan ile dekapitasyon (madde/doz/ uygulama yolu):
 Aneztezik madde / Trankilizan ile servikal dislokasyon (madde/doz/ uygulama yolu):
 Diğer:

- Kadavraların imhası (belirtiniz): ***Poşetlenerek tıbbi atık olarak belediyeye teslim edilecek.***

Deney hayvanlarının ölmesi onlara karşı olan sorumluluğumuzun bitmesi anlamına gelmez. Ayrıca potansiyel mikrobiyolojik ve kimyasal zararlı maddeler içermelerinden dolayı kadavraların nasıl imha edileceğini yazınız.

- Bu çalışmanın hayvanlar üzerinde yapılmasının gerekçelerini belirtiniz
  Nanolif yara örtücünün diğer gümüş muhteva eden ajanlar ve yara örtüleriyle etkinliğini karşılaştıran bilimsel bir çalışma olmamasından ötürü hayvan çalışması ile etkinliğinin gösterilmesi gerekmektedir.
- Bu çalışmanın hayvanlarda yapılmasından beklenen bilimsel veya sosyal faydaları belirtiniz.

Eğer bu yara örtücünün antimikrobiyal etkisinin diğer yara örtüleri ve topikal ajanlardan üstün olduğu gösterilirse daha ucuz maliyetli, daha kolay ve etkin bir tedavi uygulama imkanı doğabilir

- Bu çalışmada deney hayvanlarının kullanılması haricinde mümkün olan diğer yöntemlerin *(insan çalışmaları, insan dokuları, bilgisayar programları gibi)* adlarını ve tercih edilmeme nedenlerini belirtiniz.
  Yanık yaralarında diğer ürünlere göre antimikrobiyal etkinlikte bir üstünlük yok ise enfeksiyon riski nedeniyle kullanım doğru olmayacaktır. Ayrıca histopatolojik inceleme açısından hayvan deneyi faydalı olacaktır.

- Deneylere son verme ölçütleriniz nelerdir?
  Deney hayvanlarında aşırı duyarlılık, aşırı kilo kaybı, dehidratasyon, ataksi, paralizi, gıda ve su alımında azalma, genel durum bozukluğu görülmesi veya hayvanlarda ciddi sayıda ölüme sebep vermesi

Deney yapılan hayvanda, veri toplamayı durduracak kadar önemli, istenmeyen durumlar nelerdir? Bu durumları deneyler planlanmadan önce düşününüz. Unutmamak gerektir ki burada göz önünde hayvanın çekeceği ıstırap en ön planda gelmektedir. Bu bölümde sorgulanan çalışmanın tamamlanması için gereken süre değildir.

Pilot çalışmalar için

- Çalışma için yeterli altyapı, sarf malzeme ve düzenek mevcut mu?
- Pilot çalışma için model validasyonu yapılmış mı?
- Pilot çalışmanın yapılma nedeni nedir?

- Yürütücü ve araştırıcıların imzaları:

Doç. Dr. Mustafa Tercan **Doç. Dr. Sebahat Aksaray**

Op. Dr. Serdar Toksoy **Dr. Simin Cevan**

Dr. Güray Yeşiladalı **Dr. Ayşe İrem Mert**

EK A.2: MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL PROJESİ ONAY FORMU

MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	41.2011.mar
	PROJE ADI	Nanolif yara örtücü, gümüş sülfadiyazin ve Acticoat gümüşlü yara örtülerinin tam kalınlıkta sıçan yanık yaraları üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırılması
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI,ADI	Doç. Dr. Mustafa Tercan
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	Marmara Üniversitesi Hayvan Laboratuarı
	DESTEKLEYİCİ	.....

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: Tarih:
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.
ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / Etik Üyeliği	Onaylanan Proje İle İlişkisi	Toplantıya katılım	İmza
Prof. Dr Berrak YEĞEN	Fizyoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Zafer GÖREN	Farmakoloji	Yürütücü Sekreteri	Var Yok	Evet Hayır	
Prof. Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü Diş Hekimliği Fakültesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof. Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü Eczacılık Fakültesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Halil TUĞTEPE	Çocuk CerrahisiABD Çocuk Ürolojisi BD	Sağlık Bakanlığı Marmara Üniv.Pendik Eğitim ve Araştırma hastanesi	Var Yok	EVET HAYIR	
Vet. Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü Tıp Fakültesi ve Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi Sorumlu Veterineri	Var Yok	Evet Hayır	
Öğr. Gör.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü Tıp Fakültesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	İstanbul Hıfzıssıhha Enstitüsü Müdürlüğü. Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Billur AYGÖR	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Zarife DOĞAN

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara, 21.07.1987

Adres: Mecidiyeköy Mahallesi, Kuyuçıkmazı Sok. Doruk Apt. D:13

Şişli/İSTANBUL

E-Posta: zadogan@itu.edu.tr

Lisans: Tekstil Mühendisliği

Ödüller: Uludağ Tekstil İhracatçıları Birliği (UTİB) 3. Uluslararası Ar-Ge Proje Pazarı, Teknik Tekstiller Alanında ikincilik ödülü, Bursa 2011

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

- **Doğan Z.,** Kıyak Y.E., Öznergiz E., Demir A., Fabrication and Characterization of Drug Carried Nanofibrous Wound Dressings, AMPT 2012, Wollongong, Australia
- Demir A., Öznergiz E., Gülşen S., Aşlamacı A., Kıyak Y.E.,**Doğan Z.,** "Elektroüretim İşlemi İçin Geliştirilen Taşınabilir Cihazlar", I.Makine ve Aksamları İmalat Teknolojileri Ar-Ge Proje Pazarı, Nisan 2012, İstanbul
- **Doğan Z.** Kıyak Y.E., Öznergiz E.,Demir A. **"**Improvements On Electrospun Nanofibers Wound Dressings", Icontex, 20-22 October 2011,Tekirdağ
- **Doğan Z.,** Kıyak Y.E., Öznergiz E., Demir A., **"**Silver Sulfadiazine Loaded Electrospun Nanofiber Wound Dressing", International Symposium On New Frontiers İn Fiber Materials Science Fiber Society, 11-13 October 2011, Charleston,South Carolina, USA
- **Doğan Z.,** Kıyak Y.E., Oznergız E., Demir A., **"**A Novel Silver Sulfadiazine Loaded Electrospun Nanofiber Wound Dressing", AMPT 2011, İstanbul
- **Doğan Z.,** Kıyak Y.E.,Oznergiz E., Demir A., "Electrospun Nanofiber Wound Dressings", European Wound Management Association (EWMA) Conference, May 2011,Brussels,Belgium
- **Doğan Z.,** Kıyak Y.E., Öznergiz E., Demir A., " Elektro-Üretim Yöntemiyle Nanolif Yara Örtücü Üretimi", 3. Uluslararası Ar-Ge Proje Pazarı, Bursa, 2011, s. 104-105. (Bu eser Teknik Tekstiller konusundaki yayınlar arasında ikincilik ödülü olarak 2000 USD kazanmıştır.)
- **Doğan Z.,** Gülşen S., Öznergiz E., Kıyak Y.E., Demir A., "Elektro Üretim İşlemi Ile Nanolif Yara Örtücü Malzeme Üreten Cihazın Tasarımı", 5. Ulusal Yara Bakım Kongresi, Gaziantep, Ekim 2010., s. 54
- Demir A., Öznergiz E., Gülşen S., Erden O., **Doğan Z.**, Baycular N., Gümüş T., Kozanoğlu G.S., Kıyak Y.E., "Nano Liflerden Oluşan Bir Ağ (Nanoweb)

Üretimi İçin Taşınabilir Bir Sistemin Gelistirilmesi Ve Prototip İmalatı", IITAS 2010 XII. Uluslararası İzmir Tekstil ve Hazır Giyim Sempozyumu 28-30 Ekim 2010 , s. 418-421

- Gülşen S., Erden O., **Doğan Z**.,Öznergiz, Demir A., "Design of a Novel Mobile Electrospining Device", Nano For The 3rd Millennium 2010 Conference, August 2010,Raleigh, North Carolina, USA.