KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POLİMER BİLİMİ VE TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOAKTİF VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİĞE SAHİP NANO/ MİKRO FİBER YAPILI YARA ÖRTÜLERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

EKİN ALİCAN ERGÜVEN

KOCAELİ 2019

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POLİMER BİLİMİ VE TEKNOLOJİSİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOAKTİF VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİĞE SAHİP NANO/ MİKRO FİBER YAPILI YARA ÖRTÜLERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

EKİN ALİCAN ERGÜVEN

Doç. Dr. Halime KENAR Danışman,	Kocaeli Üniversitesi	.....
Doç. Dr. Ayşe AYTAÇ Jüri Üyesi,	Kocaeli Üniversitesi	.....
Dr. Öğr. Üyesi Deniz YÜCEL Jüri Üyesi,	Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Ü.	.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 17.07.2019

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Biyomalzemeler; vücut içine yerleştirilebildiği gibi vücut dışında sıvılarla da etkileşebilen malzemelerdir. Kaza ya da hastalık gibi durumlar sonucunda vücudumuzda hasar gören bir organ görevini yapamadığında biyomalzeme eksiklikleri gidermek amacıyla kullanım alanı bulmaktadır.

İnsan vücudundaki organ veya canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılmakta olan biyomalzemelerin uygulama alanı ve önemi günden güne artmaktadır. Bu tez kapsamında, "PLA çözeltisine propolis ve boyacı sumağı eklenerek polimerik malzemenin elektro-eğirme yöntemi ile üretimi üzerinde çalışılmıştır. Bu tez çalışmamın fikri; biyoaktif ve antimikrobiyal özelliğe sahip nano/mikro fiber yapılı yara örtüsü geliştirilmesi ihtiyacından doğmuştur.

Yüksek Lisans Tez Danışmanlığımı üstlenen, tez çalışmamda duruşu ve kişiliği ile her zaman kendime örnek aldığım, bana yol gösteren, emeğini esirgemeyen, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Halime KENAR'a akademik kariyerime yaptığı katkılardan dolayı minnet ve şükranlarımı sunarım.

Tezimdeki deneysel çalışmalardaki yardımlarından dolayı Dr. Candan Yılmaz ÖZDOĞAN, Araş. Gör. Hüseyin UYGUNER, Prof. Dr. Aynur KARADENİZLİ, yüksek lisans tez yazım aşamasındaki motivasyon ve desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Meltem YILDIZ ve Dr. Yasemin TABAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Sevgili eşim Nergis ERGÜVEN ve ailem Sevda ERGÜVEN, Akif ERGÜVEN ve Başak ERGÜVEN'e her zaman yanımda en güçlü destekçilerim oldukları, bana ve işime duydukları güven, sabır, saygı ve takdirleri için sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Temmuz-2019 Ekin Alican ERGÜVEN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iiv
TABLOLAR DİZİNİ vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ vii
ÖZET ix
ABSTRACT x
GİRİŞ 1
1. GENEL BİLGİLER 2
1.1. Biyomalzemeler 2
1.2. İmplantların Sınıflandırılması 3
1.2.1. Metal implantlar 3
1.2.2. Seramik implantlar 3
1.2.3. Kompozit malzemeler 4
1.2.4. Polimer implantlar 4
1.3. Yara ve İyileşme Süreçleri 6
1.3.1. Yara 6
1.3.2. Yara bakımı 7
1.3.3. Cerrahi yara tipleri 7
1.3.4. Yaranın iyileşme süreci 8
1.4. Yara Örtüleri 9
1.4.1. Yara örtülerinin özellikleri 9
1.4.2. Tıkayıcı (oklusif) yara örtüleri 11
1.4.2.1. İnce filmler 11
1.4.2.2. Hidrokolloid örtüler 12
1.4.2.3. Köpük örtüler 12
1.4.3. Hidrojeller 13
1.4.4. Hidrofilik / emici yara örtüleri 14
1.4.4.1. Alginat örtüler 14
1.4.4.2. Dekstranomer hidrofilik granül 15
1.4.4.3. Aktif kömürlü yara örtüleri 15
1.4.5. Nanolif bazlı yara örtüleri 18
1.5. Elektro-Çekim 21
1.5.1. Tarihçe 21
1.5.2. Elektro-çekim teorisi ve süreci 25
1.5.2.1. Jet başlatma 26
1.5.2.2. Bending kararsızlığı 27
1.5.3. Elektroçekim işleminde nanolif özelliklerini ekileyen faktörler 29
1.5.3.1. Çözeltiye Ait Unsurlar 29
1.5.3.2. İşleme ait unsurlar 29
1.5.3.3. Ortam koşulları 30
1.6. Boyacı Sumağı (Cotinus coggygria) 32

1.6.1. Botanik tanımı ve geleneksel kullanımı 33
1.6.2. Fitokimyasal çalışmalar 33
1.6.3. Farmakolojik aktiviteler 35
1.6.3.1. Antioksidan aktivitesi 35
1.6.3.2. Antikanser aktivitesi 36
1.6.3.3. Antimikrobiyal aktivite 36
1.6.3.4. Antiviral aktivite 37
1.7. Propolis 37
1.7.1. Propolisin fiziksel özellikleri 38
1.7.2. Propolisin kimyasal özellikleri 39
1.7.3. Propolisin biyolojik özellikleri 41
2. MALZEME VE YÖNTEM 43
2.1. Boyacı Sumağı (Cotinus Coggygria) Özütünün Hazırlanması 43
2.2. Yara Örtülerinin Elektro-Çekim Yöntemi ile Elde Edilmesi 43
2.3. Yara Örtülerinin Karekterizasyonu 45
2.3.1. Morfolojik analiz (taramalı elektron mikroskobisi) 45
2.3.2.Yara örtülerinin mekanik analizi 45
2.3.3.Yara örtülerinin su temas açısının belirlenmesi 46
2.3.4.Yara örtüsü bileşenlerinin fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometrisi (FT-IR) ile analizi 46
2.3.5. Yara örtülerinden propolis salımının belirlenmesi 47
2.3.6. Yara örtülerinin biyouyumluluğunun değerlendirilmesi 47
2.3.6.1. Metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı sitotoksisite testi 47
2.3.6.2. Canlı-ölü hücre boyama testi 48
2.3.6.3. Yara örtülerinden salınan propolisin hücre canlılığına etkisi 48
2.3.7. Mikrobiyolojik testler 48
2.3.7.1. Propolisin antibakteriyel etkisinin belirlenmesi 49
2.3.7.2. Yara örtülerinden salınan propolisin antimikrobiyal etkisi 49
3. BULGULAR VE TARTIŞMA 51
3.1. Yara Örtülerinin Morfolojik Özellikleri 51
3.2. Yara Örtülerinin Mekanik Özellikleri 52
3.3. Yara Örtülerinin Su Temas Açısı Sonuçları 53
3.4. Yara Örtüsü Bileşenlerinin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometrisi (FT-IR) sonuçları 55
3.5. Yara Örtülerinden Propolis Salımı 56
3.6. Yara Örtülerinin Biyouyumluluk Analiz Sonuçları 57
3.6.1. Sitotoksisite bulguları 57
3.6.2. Canlı-ölü hücre boyama sonuçları 58
3.6.3. Yara örtülerinden salınan propolisin hücre canlılığına etkisi 61
3.7. Mikrobiyolojik Test Sonuçları 62
3.7.1. Propolisin antibakteriyel etkisinin belirlenmesi 62
3.7.2. Yara örtülerinden salınan propolisin antimikrobiyal etkisi 62
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 64
KAYNAKLAR 66
EKLER 74
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 76
ÖZGEÇMİŞ 77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. İmplantların insan vücundaki kullanım alanları 2
Şekil 1.2. Temiz dikişli ameliyat yarasını kaplayan film örtü 11
Şekil 1.3. Cilt ülseri üzerine yerleştirilmiş hidrokolloid örtü 12
Şekil 1.4. Köpük yara örtüsü 13
Şekil 1.5. Tabaka formunda alginat yara örtüsü 15
Şekil 1.6. Gümüş emdirilmiş aktif kömürlü yara örtüsü 16
Şekil 1.7. Elektro-çekme işleminin şematik gösterimi 26
Şekil 1.8. Boyacı sumağı *(Cotinus coggygria)* 32
Şekil 1.9. Cotinus coggygria bitkisinden izole edilen bazı biyoaktif bileşenlerin kimyasal yapısı 34
Şekil 1.10. Ham propolis 38
Şekil 1.11. Arıların flavonoid kaynakları 41
Şekil 2.1. Pelet halinde PLA 43
Şekil 2.2. İnovenso nanospinner 44
Şekil 2.3. JEOL JSM 6335F model Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 45
Şekil 2.4. INSTRON marka 3345 model Universal dikey çekme cihazı 46
Şekil 2.5. Temas açısı ölçme cihazı 46
Şekil 2.6. Perkin Elmer Spectrum 100 marka FT-IR cihazı 46
Şekil 2.7. Multi mod mikroplaka okuyucu (FlexStation 3, Molecular devices) 47
Şekil 3.1. Yara örtülerinin ağsı yapılarını kanıtlayan 1000x büyütmedeki SEM görüntüleri. A) PLA B) PLA-%5 Propolis C) PLA-%10 Propolis D) PLA-%15 Propolis E) PLA-%15 Propolis-Boyacı Sumağı 52
Şekil 3.2. Yara örtüsünde propolis miktarındaki değişimin boncuk oluşumuna etkisinin ışık mikroskobu görüntüleri. Büyütme: 100X 52
Şekil 3.3. Farklı yüzeylere ait sıvı temas açıları 54
Şekil 3.4. Yara örtülerinin FTIR spektrumu 55
Şekil 3.5. Yara örtülerinin 1500-100 cm^{-1} dalga sayısındaki FT-IR spektrumu 55
Şekil 3.6. %15 propolis içeren yara örtüsünün numune ağırlığına bağlı propolis salım grafiği. Numuneler PBS içinde 37 ^{o}C 24 saat süre ile bekletilmiş, PBS içine salınan propolis miktarı 400 nm'deki abzorbans değerinden belirlendi 56
Şekil 3.7. Farklı oranlarda propolis içeren yara örtülerinin zamana bağlı propolis salım grafikleri 56
Şekil 3.8. Farklı oranlarda propolis içeren yara örtülerine ekilen hücrelerin 24 saat sonundaki mitokondiyel aktivitesi (wst-1 testi). TCP: Hücre kültürü polistireni 57
Şekil 3.9. Yüzeyine L929 fibroblast hücresi ekilmiş, PLA, %5, %10 + Boyacı sumağı ve %10 propolis içeren yara örtülerinin 24 ve 48. inkübasyon saatindeki canlı-ölü hücre boyamasının floresan mikroskopisi görüntüleri 58

Şekil 3.10. Yüzeyine L929 fibroblast hücresi ekilmiş, %15 propolis ve boyacı sumağı içeren yara örtülerinin 24 ve 48. inkübasyon saatindeki canlı-ölü hücre boyamasının floresan mikroskopisi görüntüleri 59
Şekil 3.11. Yüzeyine L929 fibroblast hücresi ekilmiş, %15 propolis içeren yara örtülerinin 48. inkübasyon saatindeki canlı-ölü hücre boyamasının floresan mikroskopisi görüntüleri Yeşil: canlı hücre, Kırmızı: ölü hücre 59
Şekil 3.12. Yüzeyine L929 fibroblast hücresi ekilmiş, %15 propolis ve boyacı sumağı içeren yara örtülerinin 48. inkübasyon saatindeki canlı-ölü hücre boyamasının floresan mikroskopisi görüntüleri Yeşil: canlı hücre, Kırmızı: ölü hücre 60
Şekil 3.13. Yara örtülerinden 12 saatte gerçekleşen salımın L929 fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerine etkisi. 24 saatlik kültür sonunda elde edilen MTT testi 61
Şekil 3.14. Propolisin sıvı mikrodilüsyon sonuçları. (1) 96 kuyucuklu plakanın önden görünümü, (2) 96 kuyucuklu plakanın arkadan görünümü. MİK değeri, yani üremenin olmadığı en düşük propolis konsantrasyonu, 0,75 mg/mL olarak belirlendi 62
Şekil 3.15. Yara örtülerinden 6 ve 12 saatte gerçekleşen salımın *C.albicans* canlılığı üzerine etkisi. 24 saatlik kültür sonunda elde edilen MTT testi sonuçları 63
Şekil A.1. PBS' te çözünmüş propolis kalibrasyon eğrisi 75

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Yara örtüsü çeşitleri 17
Tablo 1.2. Hidrojel ve alginat örtü çeşitleri.....18
Tablo 1.3. Yanık yaralar için geliştirilen nanolif destekli ticari yara örtüleri ve üreticileri.....20
Tablo 1.4. Nanolif teknolojisi ile ilgilenen ticari firmalar.....24
Tablo 1.5. Literatürde yer alan elektro-çekilmiş polimerler 30
Tablo 1.6. C. coggygria bitkisinin çeşitli yerlerinden izole edilen bileşikler.....34
Tablo 1.7. Cotinus coggygria bitki kısımlarındaki total fenolik, flavanoid ve tanin içerikleri.....35
Tablo 3.1. Üretilen yara örtülerinin ortalama fiber çapları 51
Tablo 3.2. Yara örtülerinin çekme test değerleri.....53
Tablo 3.3. Yara örtülerinin su temas açıları.....54
Tablo 3.4. 24. ve 48. saat sonunda yara örtülerindeki ölü hücre yüzdesi 61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

g. : Gram
kV. : Kilo volt
L. : Litre
s. : Zaman, (saniye)
ms. : Zaman, (milisaniye)
mm. : Milimetre
nm. : Nanometre
mM. : Milimolar
mL. : Mililitre
µm. : Mikrometre
µg. : Mikrogram
µL. : Mikrolitre
°C. : Santigrat derece

Kısaltmalar

AC : Alternating Current (Alternatif Akım)
C. albicans : Candida albicans
C. coggygria : Boyacı sumağı
CFU : Colony-Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)
CoCr : Cobalt-Chromium (Kobalt-Krom)
DMF : Dimethylformamide (Dimetilformamid)
DPPH : 2,2-dipenyl-1-picrylhydrazyl (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)
DMEM : Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Hücre kültürü besi ortamı)
DSC : Differential Scannig Calorimetry (Diferansiyel Termal Analiz)
ECM : Extracellular Matrix (Hücre Dışı Matriks)
E. feacalis : Enterococcus feacalis
FT-IR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi)
FDA : Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç İdaresi)
GSH : Glutathione (Glutatyon)
HeLa : Henrietta Lacks
IC 50 : Inhibitory Concentration 50 (İnhibisyon Konsantrasyonu 50)
LS 174 : İnsan Kolon Karsinoması
MIC : Minumum İnhibisyon Konsantrasyonu
OD : Optical density (Optik Yoğonluk)
PE : Polyethylene (Polietilen)
PEEK : Polyether Ether Ketone (Polieter Eter Keton)
PET : Polyethylene Terephthalate) (Polietilen Tereftalat)
PGA : Polyglycolic Acid (Poli Glikolik Asit)
PLA : Poly(Lactic Acid) (Poli(Laktikasit))
PMMA : Poly(methyl methacrylate) (Poli(metil metakrilat))
PTFE : Polytetrafluoroethylene (Politetrafloroetilen)
PU : Polyurethane (Poliüretan)
PVC : Polyvinyl Chloride (Polivinil Klorür)

PAN : Poliakrilonitril
PCL : Polycaprolactone (Polikaprolakton)
PP : Polipropilen
PA : Poliamid
PC : Polycarbonate (Polikarbonat)
PDMS : Polidimetilsiloksan
PHEMA : Polihihroksietilmetakrilat
PBS : Phosphate Buffer Saline (Fosfat Tampon Çözeltisi)
S. aureus : Staphylococcus aureus
S. E. : Staphylococcus epidermidis
SOD : Süperoksit Dismutaz
SEM : Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
SR : Silicone Rubber (Silikon Kauçuk)
Ti : Titanyum
TCP : Tricalcium Phosphate (Tri Kalsiyum Fosfat)
TEM : Transmission Electron Microscopy (Geçirgenlik Electron Mikroskopisi)
TMV : Tütün mozaik virüsü
UHMWPE : Ultra High Molecular Weight Polyethylene (Ultra Yüksek Moleküler Ağırlıklı Polietilen)
WAXD : Wide-Angle X-Ray Diffraction (Geniş Açılı X-Işını Difraksiyonu)

BİYOAKTİF VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİĞE SAHİP NANO/MİKRO FİBER YAPILI YARA ÖRTÜLERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, propolis ve Boyacı sumağı özütü içeren nano/mikro fiber yapılı yara örtüleri üreterek fiziksel, mekanik, antimikrobiyal özelliklerin incelenmesi ve biyouyumluluklarının belirlenmesidir.

Propolis arıların çeşitli bitkilerden topladıkları bileşikleri ağızlarındaki enzimlerle birleştirerek pelet haline getirdikleri, içeriğinde 300 den fazla molekül bulunan zamksı, antimikrobiyal bir maddedir. Ülkemizde yetişen bazı bitkilerin özütünün de antifungal ve yara iyileştirici özellikleri mevcuttur ki boyacı sumağı (Cotinus coggygria) da bunlardan biridir. Bu tez çalışmasında üretilen ve bu iki biyoaktif maddeyi içeren nano/mikro fiber yapıların dışarıdan yara içerisine mikroorganizmaların girişini engellerken, içeriğindeki propolis ve boyacı sumağı ile yara içerisinde antibakteriyel ve antifungal etki göstererek boyacı sumağı içeriğiyle yara iyileşmesini hızlandırması beklenmektedir.

Tez çalışması kapsamında biyouyumlu bir polimer olan PLA çözeltisi içerisine farklı oranlarda (ağırlıkça % 5, 10 ve 15) propolis eklenerek, diğer bir gruba da hem propolis hem de boyacı sumağı özütü eklenerek elektro-çekim yöntemi ile ortalama 0,5 µm çapında nano/mikro fiber yapılı yara örtüleri elde edildi. Fiber yapılar FTIR ve su temas açısı testi ile karakterize edildi ve fosfat tampon çözeltisi içinde 37°C'de gerçekleştirilen salım çalışmalarında bu yara örtülerinden propolis salımının gerçekleştiği belirlendi. Fiber yapıların mekanik ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla çekme testi ve taramalı elektron mikroskopi (SEM) analizi gerçekleştirildi. Yara örtülerinin biyouyumluluğu ve antimikrobiyal özellikleri *in vitro* testlerle belirlendi. Yara örtülerinin yapısal, mekanik, biyouyumluluk ve antimikrobiyal özellikleri karşılaştırıldığında en uygun yara örtüsünün %10 propolis ve Boyacı sumağı içeren örtü olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Boyacı Sumağı, Elektro-çekme, Nano/mikro Fiber, Propolis, Yara Örtüsü.

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF NANO / MICRO FIBER WOUND DRESSING WITH BIOACTIVE AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES

ABSTRACT

The aim of this study is investigate the physical and mechanical properties of nano / micro fiber wound dressings containing propolis and smoke tree extract (Cotinus coggygria) and to determine their antimicrobial properties and biocompatibility.

Propolis is a gum substance containing more than 300 molecules in it which bees combine pelleted compounds with various enzymes in their mouth and shows antimicrobial properties. The extracts of some plants grown in our country also have antifungal and wound healing properties such as the smoke tree (Cotinus coggygria). It is expected that the nano / micro fiber structures which contains these two bioactive substances produced in this thesis will prevent the entrance of microorganisms into the wound from the outside, propolis and smoke tree extract in the wound dressing will show antibacterial and antifungal effect and also accelerate wound healing with smoke tree content.

Within the scope of the thesis; by adding propolis in different proportions (%5, %10 and %15 by weight) into PLA solution which is a biocompatible polymer, and both propolis and smoke tree extract were added in another group and electro-spinning method was used to obtain nano / microfibre wound dressings with an average diameter of 0,5 µm. Fiber structures were characterized by FT-IR and propolis was released from these wound dressings during release studies at 37 °C in phosphate buffer solution. In order to determine the mechanical and morphological properties of the fiber structures, tensile test, scanning electron microscopy (SEM) analysis were performed respectively.

Keywords: Smoke Tree, Electrospining, Nano/micro Fiber, Propolis, Wound Dressing.

GİRİŞ

Biyomalzemeler, polimerler, metaller, seramikler, ve kompozitler olmak üzere 4 ana gruba ayrılırlar. Biyolojik ortamda işlevini yerine getirmeyen dokuları, hasar görmüş organları tedavi etmek ya da onlara destek vermek amacıyla vücutta kullanılan malzemelerin hepsine “biyomalzeme” denir ve bunlar sürekli olarak ya da belli aralıklarla vücut sıvılarıyla temas ederler [1].

Biyouygulamalarda son yıllarda polimerik malzemelerin giderek daha fazla tercih edildiği görülmektedir. Cerrahlar, yıllardır hastalarının tedavileri sırasında elde ettikleri klinik sonuçları değerlendirerek, yeni biyomalzemelere ve tasarımlara olan ihtiyaçları belirlemektedirler.

Bilindiği üzere yara; biyolojik, tıbbi, fizyolojik, mekanik, termal, elektriksel, kimyasal rahatsızlıklar sonucu deri ve doku bütünlüğünün kaybolmasıdır.

Nano/mikro fiberler, yüksek gözenekli yapıları, küçük gözenek boyutları, spesifik yüzey alanları, hafif olmaları gibi vücuttaki birçok yapıyı taklit edebilme özellikleri ile bilinir. Bu özellikleri sayesinde doku iskeleleri, ilaç taşıyıcı sistemler, yara örtü malzemeleri olarak biyomedikal alanlarda büyük bir potansiyele sahiptir. Nano-fiberlerin doğal olarak sahip oldukları bu özelliklerine, yara örtülerinin de taşıması gereken biyouyumluluk, biyobozunurluk, antibakteriyel, antiviral, yüksek emicilik, mekanik dayanıklılık vb. özelliklerin eklenmesi ile bu fiberlerin yeni jenerasyon yara örtü malzemesi olarak kullanılması mümkün olmuştur [2].

Bu çalışmada, propolis ve boyacı sumağı özütü içeren nano/mikro fiber yapılı yara örtüleri geliştirilmiş fiziksel ve mekanik özelliklerinin incelenmesine ek olarak antimikrobiyal özellikleri ve biyouyumlulukları belirlenmiştir.

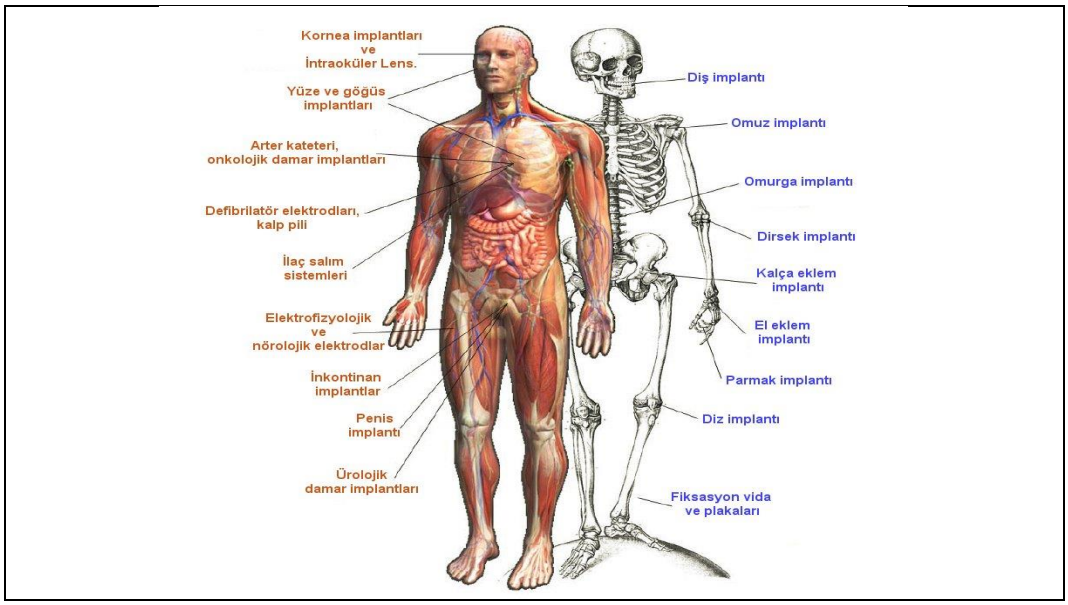
1. GENEL BİLGİLER

1.1. Biyomalzemeler

Biyomalzemeler, insan vücudundaki organ ya da dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılan malzemeler olup, metaller, seramikler, polimerler ve kompozitler olmak üzere 4 ana gruba ayrılırlar.

Biyomalzemeler, insan vücudundaki dokuların veya organların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılan malzemeler olup vücut içerisinde çeşitli fizyolojik ve mekanik etkilere maruz kalmaktadırlar. Uygun biyomalzemenin seçimi ve tasarımı, planlanan medikal uygulamanın türüne göre belirlenmektedir. Yeni malzemelerin tasarımı, malzeme bilimi ve mühendisleri, biyomedikal mühendisleri, patoloji uzmanlarının ve klinik tedavi uzmanlarının işbirliği ile gerçekleştirilir. Yapay biyomalzemeler; insan vücudunun farklı bölgelerinde, yapay kalp kapakları, kan damarlarında stent, omuz, diz, kalça, bilek, kulak, dental protez olarak kullanılabilmektedir [3].

İnsan vücudu incelendiğinde implantların vücuttaki kullanım alanlarının oldukça geniş olduğu görülmektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. İmplanların insan vücudundaki kullanım alanları [4-6]

Vücut dokularının bir kısmının fonksiyonlarını yerine getiremez duruma gelmesi insanlar tarafından yapay olarak geliştirilen malzemelerin kullanımını gündeme getirmiştir. İmplant malzemeler geçici veya daimi, dahili veya harici olarak, tedavi ve onarım gibi amaçlarla vücuda dahil edilen malzemelerdir. İmplant kullanımı ilk olarak 1937' de polimetilmetakrilat (PMMA) ve yüksek molekül ağırlıklı polietilen (PE) kalça kemiği protezi olarak kullanılmaya başlanmıştır. II. Dünya Savaşı'ndan sonra paraşüt bezi, vinyon N adıyla bilinen poliamid (PA) damar protezlerinde kullanılmıştır. İlk başarılı implantlar, iskeletteki kırıkların tedavisinde kullanılan kemik plakalarıdır. Bunu 1950 lerde kan damarlarının değişimi ve yapay kalp kapaklarının geliştirilmesi, 1960 larda da kalça protezleri izlemiştir [7].

1.2. İmplantların Sınıflandırılması

1.2.1. Metal implantlar

Metalik biyomalzemeler kas-iskelet sistemimizin mekanik koşullarına en iyi uyum gösteren malzemelerin başında gelmekte olup, metalik biyomalzemeler belirli sınırlarda, ağır, uzun süreli, değişken ve ani yüklemelere karşı özelliklerini kaybetmeden dayanabilmeleri nedeniyle rağbet görmektedir. Metalik biyomalzemeler saf metal veya alaşım elemanlarına göre sınıflandırılmakta olup; paslanmaz çelikler, CoCr alaşımları, Ti alaşımlarıdır [8].

Metalik biyomalzemeler, yük taşıma özelliklerinin yanında uzun süreli kullanımlarda aşınma dayanımının iyi olmasından, ortopedik uygulamalarda eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak kullanılmakta ve diş, kalp kapakçıkları olarak ta sınırlı kullanılmakla birlikte teşhis ve tedavi amaçlı biyomedikal cihazların imalatında da tercih edilmektedir. Buna karşın biyouyumluluklarının düşük olması, çabuk kimyasal korozyona uğramaları kemiğe göre yüksek yoğunlukları ve alerjik doku reaksiyonlarına neden olabilecek metal iyonu salımı gibi dezavantajları vardır [9].

1.2.2. Seramik implantlar

"Biyoseramik" olarak adlandırılan seramikler, camlar ve cam-seramikler medikal uygulamalarda otuz yılı aşan bir süredir kullanılmaktadır. Bu malzemelere olan ilgi giderek artmakta ve bu malzemelerin bir kısmı vücut dokusu yerine kullanılabilecek biomalzemeler olarak kabul edilmektedir. Seramik malzemeler implant, biyoaktif ya da yarı inert ve biyoçözünür veya inert olmayan malzeme olarak implant amaçlı kullanılabilirmektedir [10].

İlk defa 1920 yılında trikalsiyum fosfat (TCP) kemik boşluklarını doldurmak amaçlı kullanılmıştır. Buna karşın TCP ve alçı gibi malzemeler yükleme altında zayıf seramiklerdir. Bu nedenle daha tok ve daha sağlam seramiklere gereksinim duyulmuştur. İleri teknoloji seramikleri günümüzde doku mühendisliği, diş implantları ve tamiri, kalça artoplastisi için femur başı, kalça eklem çukuru, iskelet için kemik dolguları gibi alanlarda kullanılmaktadır [11,12].

1.2.3. Kompozit malzemeler

"Kompozit", farklı kimyasal yapıdaki iki ya da daha fazla sayıda malzemenin, sınırlarını ve özelliklerini koruyarak oluşturduğu çok fazlı malzeme olarak tanımlanabilir. Dolayısıyla kompozit malzeme, kendisini oluşturan bileşenlerden birinin tek başına sahip olamadığı özelliklere sahip olur. Kompozitlerin sağlayabileceği diğer üstünlükler, korozyona dirençlilik, metal yorgunluğunun ve metal iyonlarının salımının görülmemesi ve kırılganlığın azalmasıdır. Metal iyonları örneğin nikel ve krom salımı implantı zayıflatmaktan başka, alerjik reaksiyonlara da neden olur. Kompozitler, ortopedi ve diş hekimliği uygulamaları, dışında yumuşak doku implantı olarak da kullanılırlar [13].

1.2.4. Polimer implantlar

Polimerlerin biyomalzeme olarak ortopedik cerrahide oldukça eski ve yaygın kullanım alanları vardır. Vücutta eriyebilen polimerlerin, kırık kaynaması oluştuktan sonra tekrar bir implant çıkartma cerrahisi gerektirmemesi gibi çok önemli bir avantajı vardır. Vücut zaman içinde bu materyalleri absorbe etmektedir. Ancak bu malzemeler henüz metal malzemeler kadar güven verici bir kemik tespiti olanağı verememektedir. Çok yüksek moleküler ağırlıklı polietilen eklem protezlerinin yük binen bölümlerinde çok uzun zamandan beri kullanılan en önemli polimerdir [14].

Polimer biyomalzemeler biyomedikalde en çok kullanılan malzemelerdir. Bu malzemeler kardiyovasküler veya yumuşak dokuların transplantasyonunda (değiştirilme uygulamaları), yapay kalplerde, yapay kalp kapakçıklarında, kontaklenslerde kullanılmaktadır. Polimerler, tekrarlı üniteler olan ve "monomer" adı verilen moleküllerin bir araya gelerek büyük molekülleri oluşturması ile meydana gelen organik malzemelerdir. Bu moleküller arasında kovalent bağ mevcuttur. Büyük moleküller ise çapraz bağlı olmadıkları durumlarda birbirlerine zayıf Van der Waals ile bağlıdır. Polimerler kovalent bağlı olmalarından dolayı zayıf ısı ve elektrik iletkenliklerine sahiptirler.

Moleküllerin molekül ağırlıkları, yapıdaki zincirlerin yapıları, kompozisyonları polimerlerin mekanik özelliklerini belirleyen en önemli etmenlerden bazılarıdır. Polimerler, metal ve seramiklere nazaran daha düşük dayanıma sahip malzemelerdir. Ancak polimerlerin kopmadan uzama kabiliyetleri diğer malzemelere göre daha iyidir. Polimer biyomalzemeler genel olarak vücutta yüke maruz kalacak uygulamalarda tercih edilmezler, ultra yüksek molekül ağırlıklı polietilen (UHMWPE) kalça ve diz implantlarında kullanılır. Bunlara rağmen polimer biyomalzemelerin mekanik özellikleri birçok implant uygulaması için kullanılmaya yeterlidir [15].

Polimerler fiziksel yapısı bakımından vücuttaki yumuşak dokulara benzer özellik gösterdiğinden cilt, kas, kıkırdak, damar ve lens gibi özel dokuya sahip bölgelerde; protez malzemesi olarak kullanılabildiği gibi diş hekimliği ve ilaç endüstrisinde de yoğun olarak kullanılmaktadır [13].

Günümüzde biyomedikal alanda çok sayıda sentetik polimer bulunmakta olup bunlara örnek olarak Polietilen (PE), poliüretan (PU), politetrafloroetilen (PTFE), poliamid (PA), polimetil metakrilat (PMMA), polietilen tereftalat (PET), silikon kauçuk (SR), polisülfon (PS), polieter eterketon (PEEK), poli(laktikasit) (PLA) ve poli (glikolik asit) (PGA) gibi çok sayıdaki polimeri verebiliriz [16].

Aşağıda ortopedide biyomalzeme olarak kullanılan bazı polimer çeşitleri ve kullanım alanları tanımlanmıştır [13].

- PMMA (Polimetilmetakrilat): doğrusal yapıda bir zincir polimeri olup hidrofobiktir. Genellikle (oda sıcaklığında) camsı halde bulunur. Işık geçirgenliği, sertliği ve kararlılığı nedeniyle göz içi lensler ve sert kontakt lenslerde kullanımı yaygındır. Yumuşak kontakt lenslerse, aynı ailenin bir başka polimerinden hazırlanırlar.
- Polietilen (PE): Tıbbi uygulamalarda yüksek-yoğunluklu polietilen (PE) kullanılır. Çünkü düşük yoğunluklu PE sterilizasyon sıcaklığına dayanamadan erir. PE, tüp formundaki uygulamalarda ve kateterlerde, çok yüksek molekül ağırlıklı PE yapay kalça protezlerinde kullanılır.
- Polipropilen (PP): PE'e benzer, ancak daha sert olur. Kimyasal direnci yüksek ve çekme dayanımı iyidir. PE'nin yer aldığı uygulamalarda polipropilen de kullanılabilir.
- Hidrojeller: suda şişebilen, çapraz-bağlı polimerik yapılara denir. Tıbbi uygulamalar açısından sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle son yıllarda önemli bir yer edinmiştir. Tıbbi uygulamalarda en yaygın olarak kullanılan hidrojel, çapraz-bağlı PHEMA'dır.

- Polivinilklorür (PVC): tıbbi uygulamalarda tüp formunda kullanılır. Bu uygulamalar, kan nakli, diyaliz (kanın makineyle süzülmesi) ve beslenme amaçlı olabilir. PVC, sert ve kırılgan bir malzeme olmasına karşın, plastikleştirici ilavesiyle yumuşak ve esnek hale getirilebilir.
- Politetrafloroetilen (PTFE): Politetrafloroetilen (PTFE), Teflon ticari adıyla bilinir. Polietilen benzeri yapıda olup, polietilendeki hidrojenlerin, flor atomlarıyla yer değiştirmesi sonucu sentezlenir. Gore-Tex olarak bilinen hidrofobik formu, damar protezlerinde kullanılır.
- Naylon (Nylon): Du Pont tarafından poliamid ailesine verilen genel addır. Naylonlar, diaminlerin, dibazik asitlerle reaksiyonu sonucu oluşurlar, ya da laktomların halka açılması polimerizasyonuyla hazırlanırlar. Naylonlar cerrahide ameliyat ipliği olarak kullanılırlar.
- Polidimetilsiloksan (PDMS): yaygın olarak kullanılan bu polimer, karbon ana zinciri yerine silisyum-oksijen ana zincirine sahiptir. PDMS, drenaj borularında ve kateterlerde, bazı damar protezlerinde ve yüksek oksijen geçirgenliği nedeniyle membran oksijenatörlerde (solunum cihazları) kullanılır. Mükemmel esneklik ve kararlılığından dolayı parmak eklemleri, kan damarları, kalp kapakçıkları, göğüs implantları, diş, kulak, çene ve burun implantları gibi çok sayıda protezde kullanılır.
- Polilaktik asit (PLA): Yarı kristalin ya da amorf yapıda, rijit termoplastik ve alifatik polimerlerdir. Medikal uygulamalarda cerrahide yara iyileşme süresince yarayı bir arada tutmak ve gereken desteği sağlamak için kullanılır.
- Polikarbonat (PC): Bisfenol A ve fosgenin polimerizasyonu sonucu sert bir malzeme olan polikarbonat sentezlenir. Yüksek çarpma dayanımı nedeniyle gözlük camlarında ve emniyet camlarında, oksijenatörler ve kalpakciğer makinelerinde kullanılırlar.
- Poliüretanlar (PÜ): Poliüretanlar, “yumuşak” ve “sert” segmentlerden oluşan blok ko-polimerlere denir. Kanla uyumlulukları çok iyi olduğundan özellikle kalp-damar uygulamalarında tercih edilirler [13].

1.3. Yara ve İyileşme Süreçleri

1.3.1. Yara

Yara; doku devamlılığının bozulması, dokuların kesintiye uğraması veya tahrip olmasıdır [17].

Yara tedavisine MÖ 1700'lü yıllarda rastlanır. Simith Papirus tarafından tespit edilen belgede; Eski Mısır'da 48 hastadan 7 tanesinin yara tedavisi ile ilgili bilgileri yer almaktadır. MÖ 460-370 yılları arasında Hippocrates yara iyileşmesi ile ilgili bilgiler vermiştir. MS ilk yüzyılın yarısında Celcus yeni oluşan yaranın temizlenmesini, yabancı cisimlerden arındırılmasını, Galen yaralardaki kan pıhtısı ve yabancı materyallerin temizlenmesini önermişlerdir [18].

1.3.2. Yara bakımı

Yara bakımı; kirli ve infekte yaraları iyileştirmeye hazırlamak amacıyla temizlemek ve normal iyileşme gerçekleşinceye kadar yaranın temiz kalmasını sağlamaktadır. Yara bakımı ve pansuman tipi yaranın türü, genişliği ve özelliğine göre değişir. Primer iyileşen yaralarda insizyonun kuru steril bir pansumanla kapatılması yeterlidir. Cerrahi insizyonlar bazı koşullarda açık bırakılabilir. Sekonder iyileşmeye bırakılan yaranın bakımı ise kırmızı, sarı ve siyah yara olarak farklılık gösterir [19].

1.3.3. Cerrahi yara tipleri

Cerrahi yara tipleri primer, sekonder ve tersiyer olarak ayrılır. İyileşme planlanan yaraların bakımı, gözlemlenmesi, değerlendirilmesi ve tedavisini içerir.

Cerrahi yaraların sınıflandırılması;

- Temiz: Acil olmayan, inflamasyonsuz, primer olarak kapatılabilen ve solunum, sindirim, safra yolları, genital ve üriner sistemlerde açılma olmadan uygulanan girişimlerin yaraları
- Temiz-kontamine: acil ameliyatlar, temiz yaralarda belirtilen sistemlerde kontrollü açılma ve hafif bulaşma olan girişimlerin yararları
- Kontamine: yukarda belirtilen sistemlerde açılma ile enfekte veya enfekte olmayan materyalin anlamlı miktarda dökülmesi ile seyreden girişimler, penetran ve kronik yaralar
- Kirli: Pürülan inflamasyon (abse), yukarıdaki sistemlerde önceden gelişen bir perforasyon nedeniyle yapılan girişimler ve penetran yaralar olarak yapılmaktadır [20].

1.3.4. Yaranın iyileşme süreci

Yaranın iyileşme göstergeleri üzerinde bir fikir birliği bulunmamakla birlikte, kronik yaralarda yaranın büyüklüğü, kenarları, yara yatağı, eksuda/koku, tünel/sinüs oluşumu, enfeksiyon ve ağrı gibi göstergelerin değerlendirilmesi gerektiği görüşü yaygındır [21].

Yara iyileşme süreci birbirini takip eden ve iç içe geçen; hemostatik ve inflamatuar reaksiyonlar, proliferatif faz ve onu izleyen yeniden yapılanma ve olgunlaşma fazı olmak üzere 3 aşamadan oluşan bir süreçtir.

1. Hemostaz ve inflamasyon fazı: Şiddetli doku yaralanmaları kan damarlarının devamlılığının bozulmasına ve sonuç olarak kan bileşenlerinin damar dışına çıkmasına sebep olmaktadır. Bu faz damarlarda vazokonstrüksiyon ile kısa süreli hemostazın sağlanmasıyla başlamakta ve bunu damar lümeninde fibrin tıkaç oluşturup hücre migrasyonu amacıyla geçici bir iskelet yapı meydana getirmek üzere koagülasyon ve trombosit çökelmesi izlemektedir. Fibrinojen, fibronektin ve trombospondini de içeren koagülasyon mekanizmasını başlatmaktadır. Pıhtı ve yara çevresindeki dokulardan büyüme hormonları salınmaktadır [22].

İnflamasyon organizmayı kan kaybına karşı korumak, yabancı madde invazyonunu önlemek ve yarayı onarıma hazır hale getirmek için gelişen bir reaksiyondur. Hemostaz durumunda, inflamatuar hücreler yara alanına doğru hareket etmekte, apoptotik hücreleri ve bakterileri yaralanma alanından uzaklaştırmaya başlamaktadır. Yara alanında inflamasyonun klinik belirtileri olan lokalize ödem, ağrı, kızarıklık ve ısı artışı olmaktadır. İnflamasyonun erken fazında nötrofiller baskın hücrelerdir ancak proliferatif faza geçerken çoğalan makrofajlar ve T lenfositler, nötrofillerin sayılarını hızla düşürmektedir. İnflamasyonun uzamasına neden olabilecek herhangi bir faktör bulunmuyorsa bu faz 3 ile 5 gün içerisinde son bulmaktadır [22].

2. Proliferasyon fazı: Yaralanma sonrasında 3.günde başlayıp 3 hafta kadar devam etmektedir. Proliferatif faz epitel hücrelerinin proliferasyonu ve geçici matrikse göç etmesi durumudur. Bu fazın ana olayları; geçirgen bir bariyer oluşturulması, kan desteğinin sağlanması ve yaralanmış dokunun güçlendirilmesidir.

3. Yeniden yapılanma ve olgunlaşma fazı: Yara onarım sürecinin son basamağı ve en uzun süren aşamasıdır. Epitelizasyonun tamamlanması ile birlikte yara iyileşmesinin tamamlandığı varsayılır, ancak onarılan bölgede daha pek çok olay meydana gelmektedir. Bu evrede, yüksek miktarda damar ve hücresel oluşumlar içeren granülasyon dokusu yerini, daha az damar ve hücresel oluşumlar içeren

kabuk dokusuna bırakır. Fibroblastların sayısı azalır, kolajen üretimi dengeye ulaşır. Kolajen formları birbirleri ve diğer protein yapılar ile çapraz bağlar oluştururlar, doku sağlamlığı ve yara direnci artar. Yaranın rengi soluklaşır. Hücre dışı matris (ECM) olgunlaşır [23].

1.4. Yara Örtüleri

Son yıllarda birçok farklı amaç ve kullanım için değişik uygulama özellikleri gösteren yara örtüleri tasarlanmış ve üretilmiştir (Tablo 1.1.). Şu anda mevcut pansuman yöntemleri doktorun yara iyileşme sürecini daha iyi anlamasını, çeşitli yara örtüsü malzemeleri arasındaki farkı ayırt etmesini ve her yara örtüsü sınıfının hangi şartlarda kullanılması gerektiğini tanımlamasını talep etmektedir.

4 Kasım 1999 da Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından önerilen dört ana yara örtüsü çeşidi:

- Yeniden emilemeyen gazlı bez / sünger
- Hidrofilik/Emici
- Tıkayıcı
- Hidrojel şeklinde gruplanmıştır.

Yeniden emilemeyen gazlı bez / sünger örtüler dokuma veya dokuma olmayan pamuklu ağ-selüloz veya selüloz türevlerinden yapılır ve ped veya şerit formunda üretilebilir.

Bunlar, ileri düzeyde sargılar da dahil olmak üzere her tür sargılardan beklenen klasik rolleri yerine getiren temel yara örtüleridir. Yarayı dış enfeksiyondan koruyan ve yaradaki bakterilerin çevreyi kirletmesini önleyen, yara ve çevresini mekanik travmadan koruyan, gerekirse salgıları absorbe eden ve hasta konforu sağlayan örtülerdir. Gazlı bez / sünger yara örtüleri temel olarak topikal preparatların uygulanmasından sonra (antibakteriyel kremler) bir yara yüzey alanını kaplamak için kullanılır [24].

1.4.1. Yara örtülerinin özellikleri

Saydamlık; şeffaf bir yara örtüsü yaranın yüzey alanının görsel olarak izlenmesini sağlar. Şeffaf olmayan bir örtü ile kaplanmış olan bir yara, fark edilmeden kademeli olarak enfekte olabilir. Şeffaf olmayan yara örtüleri kullanıldığında, pansumanların sık sık sökülmesi ve değiştirilmesi gerekir.

Yapışkanlık; yapıştırıcılar, örtünün yara yüzeyine bağlanmasına neden olur. Yara örtüsü çıkarılırken yeni oluşturulan epiteli sıyırabilir. Öte yandan, örtü malzemesi ile yara yüzeyi arasına müdahale eden jelatinimsi bir maddenin oluşumu nedeniyle hidrojel veya hidrokolloid yara örtüsü kullanımıyla epitel yaralanması olasılığı nispeten düşüktür. Yapışkan yara örtüleri; yarayı çevreleyen alan yumuşadığında, çevre deri dermatitis tarafından etkilendiğinde, steroid tedavisi alan hastalarda olduğu gibi kolayca yaralanan atrofik ciltlerde kullanılmamalıdır. Yapışkan olmayan yara örtüleri yeni oluşan epitelde ve iyileşme granülasyon dokusunda sargının çıkarılmasıyla zarar görebilir [25].

Yara Örtüsü Formu; mevcut yara örtüsü malzemeleri tabaka formunda veya yayılabilir formda (macun, jel gibi.) olabilir. İp şeklinde pazarlanan aljinat yara örtüleri de farklı formlara bir örnektir. Tabaka formdaki yara örtüsü yara kenarının 2–3 cm ötesine yerleştirilmelidir. Yayılabilir formda örtü şekli kullanıldığında, yara yatağına iyi bir şekilde bağlanmasını sağlamak için ikincil bir pansuman gerekir.

Emici Kapasitesi; her pansuman tipinin emme kapasitesi, pansuman tipine ve üreticiye göre büyük ölçüde değişir.

Geçirgenlik/Tıkayıcılık(oklusif): sıvılar, gazlar, buhar ve bakterilere geçirgenlik düzeyi, örtü tipine ve üreticiye göre değişir. Salgı seviyesi arttıkça, daha geçirgen örtüler kullanılmalıdır.

Thomas ve diğ. bacak ülseri olan 100 hasta ve basınç yaraları olan 99 hastada nem buharına yüksek derecede geçirgen olan bir poliüretan köpüğün faydalı etkisini hidrokolloid sargılarla karşılaştırmıştır. İki grubun iyileşme oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilmemiştir. Bununla birlikte, köpük sargısının, sargı sızıntısını ve koku oluşumunu daha iyi kontrol ettiği bulunmuştur. Bu sonuçların sargı sınıfıyla (hidrokolloid ve köpük) ilgili olmadığı, aksine her sargının özel imalatına göre farklı geçirgenlik dereceleri ile ilgili olduğu varsayılabilmiştir [26]. Tıkayıcı örtüler, genel olarak ülser bölgesi içinde nemli bir ortamı korumak için kullanılır. Nemli ortamın, yara iyileşmesinin tüm karmaşık süreçleri için son derece önemlidir. Bu yaklaşım, tıkayıcı pansumanların cerrahi yaralar ve kronik kutanöz ülserler üzerindeki yararlı etkisini gösteren çeşitli araştırma çalışmaları ile doğrulanmıştır.

Bu çalışmaların çoğunda, daha etkili bir iyileşme, gelişmiş granülasyon dokusu oluşumu ve ayrıca gelişmiş epitelizasyon ortaya çıkmıştır. Ürettikleri nemli ortamın bir sonucu olarak tıkayıcı yara örtüleri kullanılarak bir miktar otolitik debridman elde edilebilmiştir [27].

Antimikrobiyal Etki: Antimikrobial etki cadexomer-iodine (Iodosorb®) ve aktif kömürlü gümüşle (Actisorb®) birleştiren yara örtüleri gibi ürünler için geçerlidir. Belli bir antimikrobiyal etki, örneğin, eksüdayı hidrofilik sargılarla emerek, böylece bakterilerin çoğalması için uygun olmayan bir ortam yaratarak başka yollarla da sağlanabilir [27].

1.4.2. Tıkayıcı (oklusif) yara örtüleri

1.4.2.1. İnce filmler

Filmler, nem buharına ve gazlara karşı geçirgen, ince bir poliüretan tabakasından oluşur ancak bakteri ve akışkanlara karşı sızdırmazdır (Şekil 1.2.). Yara çevresindeki nemi tutarlar fakat emici olmadıkları için ülser salgılamalarında kullanılmamalıdır. İlk ticari film örtü (Opsite®) yanık yaraları, donör bölgeleri, deri ülserleri ve cerrahi yaralar dahil olmak üzere çok çeşitli lezyonlarda kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Ders kitaplarına göre, filmler birçok ülser ve yara türü için kullanılabilir, filmler bakterilere geçirgen olmadığı için dikişli ameliyat yaraları için idealdir. Doktorlar kronik deri ülseri yaraları için film örtüleri az kullanmaktadır.Bunun yerine daha avantajlı modern yara örtülerini tercih etmektedir. Filmlerin çoğu yapışkandır, bu yüzden ikincil örtüler olarak lokal uygulanır. Bazı yara örtüleri poliüretan film ve diğer yara örtülerinin kombinasyonları olarak üretilir.(örneğin alginat, hidrojel) [26].



Şekil 1.2. Temiz dikişli ameliyat yarasını kaplayan film örtü

1.4.2.2. Hidrokolloid örtüler

Hidrokolloid yara örtüleri jel formunda hidrokolloidal hidrofilik parçacıklar (özellikle sodyum karboksi metil selüloz) içerir. Jelatin ve pektin gibi diğer maddeleri de içerebilir. Her bir bileşenin bileşimi ve miktarı, üreticiye göre değişir. Hidrokolloid malzemeler yayılabilir form veya tabaka halindedir (Şekil 1.3.). Tabaka formunun iç kısmı hidrokolloid astardan, dış kısmı ise bakteri, gaz ve suya karşı geçirimsiz dış hidrofobik kaplamadan (genellikle poliüretan) oluşur ve yapışkandır [28]. Hidrokolloid örtüler deri ülseri yüzeyine uygulandığında, hidrokolloid madde ülser sıvısı ile etkileşir ve ülser üzerinde karakteristik bir jelatinimsi sarı kütle ile sonuçlanır. Bu jelatin kütle nemli çevre oluşumuna katkıda bulunarak otolitik debridmanı, granülasyon dokusu oluşumunu ve epitelizasyonu kolaylaştırır. Hidrokolloid madde ülser çevresinden gelen nekrotik mataryeli ve deri sıvılarını emer. Kronik, uzun süredir devam eden ülser yara sıvılarının bileşiminde biriken maddeler keratinositlerin proliferatif kapasitesini azaltabilir. Jelatinimsi kütle ülser yatağı ve yara örtüsü arasında bulunur. Böylece yara örtüsü kaldırıldığı veya değiştirildiği zaman ülser içerisindeki yüzeysel dokulara (granülasyon dokusu ve yeni rejeneratif epitel gibi) zarar gelmez [29].



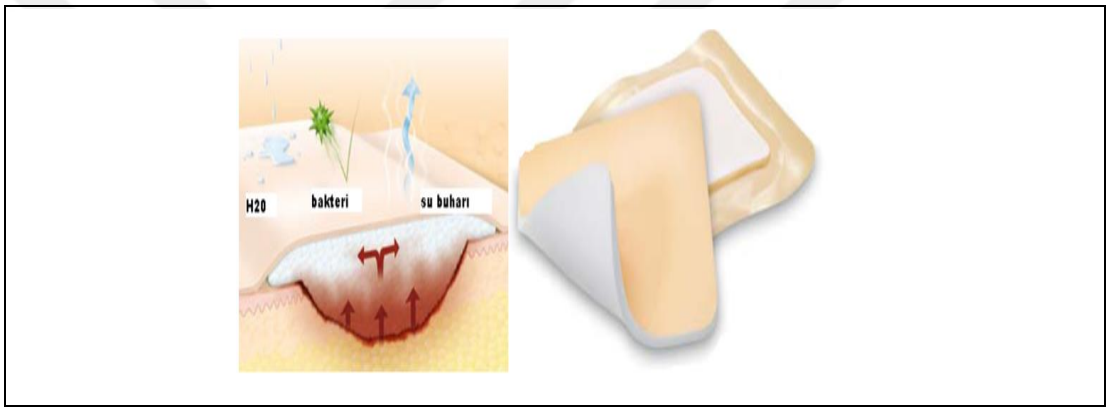
Şekil 1.3. Cilt ülseri üzerine yerleştirilmiş hidrokolloid örtü

1.4.2.3. Köpük örtüler

Köpük yara örtüleri poliüretan gibi polimerik malzemelerden oluşan ve hava kabarcıkları içeren örtülerdir. Örtü malzemesinin içine gömülü olan boşluklar, sıvıları emme eğilimindedir. Bu yara örtüleri genellikle tıkayıcı veya yarı tıkayıcıdır, gazlara ve su buharına karşı geçirgendir (Şekil 1.4.).

Emme kapasitesi, örtünün kalınlığına ve içinde emdirilmiş maddelere bağlıdır ve üreticiye göre değişir. Köpük örtüler genellikle opaktır ve yapışkan değildir.

Köpük örtüleri tabaka halinde veya yayılabilir köpükler halinde mevcuttur. Tabaka formunda olanların, yara yüzeyi ile temas halinde olan ve salgıları emen hidrofilik bir yanı vardır. Dış hidrofobik taraf nemli bir ortama katkıda bulunur. Sürülebilir köpükler oyuklar için kullanılır. Bu durumda, terkibi ülser yatağına yapıştırmak için ikincil bir örtü gerekir. Köpük örtülerinin çoğu tıkayıcı olduğundan, endikasyon ilkesi olarak hidrokolloidlere benzerdir. Emici kapasiteleri dikkate alındığında, ülser salgılarıyla uğraşırken kullanımı düşünülebilir. Bununla birlikte, belirli bir bulanıklık seviyesinin üstünde, diğer yöntemler önerilmektedir [30].



Şekil 1.4. Köpük yara örtüsü

1.4.3. Hidrojeller

Hidrojeller, yüksek (genellikle% 90'dan fazla) su içeriğiyle birleştirilen karboksi metilselüloz (Intrasite gel®) veya polietilen oksit (Vigilon®) gibi üç boyutlu bir hidrofilik polimer matrisinden oluşur. Hidrojel preparatları ayrıca gliserin ve pektin içerebilir. Diğer yara örtülerinde olduğu gibi, tabaka halinde veya yayılabilir bir viskoz jel halinde de temin edilebilirler.

Hidrojel yara örtüleri gaz ve su buharına karşı yarı geçirgendir. Bazı hidrojel örtüler poliüretan içerebileceğinden bir dereceye kadar tıkayıcı özelliklere sahip olabilir. Bununla birlikte, hidrojellerin benzersiz özelliği (diğer tıkayıcı sargı bezlerinden ayırt edildiği gibi), hidrofilik polimerlerin içeriklerinde bulunmasından kaynaklanmaktadır: Hidrojel sargıların oluşturduğu şekilsiz jel yara içinde nemli ve hidratlı bir ortam sağlar. Hidrojel yara örtüleri, su verme özellikleri nedeniyle siyah, kuru nekrotik

malzemenin yumuşatılması için de düşünülebilir. Ancak, yararlı bir etkinin (eğer varsa) nispeten yavaş gerçekleşmesi beklenir. Yara yatağındaki kuru, siyah nekrotik materyalle uğraşırken göz önünde bulundurulmalıdır. Hidrojellerin su verme özellikleri nedeniyle, yaranın ve çevresindeki sağlıklı dokunun yumuşatılmamasına özen gösterilmelidir. Hidrojel sargıları ile yapılan araştırma çalışmaları arasında Bale ve ark. hidrojel sargılarının basınç ülseri üzerine yararlı etkileri olduğunu göstermiştir [31].

Flanagan, herbiri canlı olmayan dokunun, ülserin yüzey alanının % 30'undan fazlasını kapladığı 47 hasta içeren bir araştırma çalışmasını belgelemiştir. Çalışmaya dahil edilen kutanöz ülserler bacak ülserleri ve basınç ülserlerinin yanı sıra travmatik yaralar gibi diğer lezyonlar olmuştur. Nekrotik malzemenin ülser yatağından verimli şekilde çıkarıldığı gözlenmiş. 21 günlük tedaviden sonra 10 ülserin (% 21) tamamen temiz olduğu gözlenmiştir. Diğer 20 ülserde, yaşamayan malzemelerin %50 veya daha fazlası uzaklaştırılmıştır [32].Diğer randomize kontrollü çalışmalar, hidrojellerin diyabetik ayak ülserleri üzerinde ki standart bakıma kıyasla yararlı etkisini göstermiştir [33].

1.4.4. Hidrofilik / emici yara örtüleri

1.4.4.1. Alginat örtüler

Alginat yara örtüleri, çeşitli deniz yosunu türlerinden elde edilen aljinik asitleri içeren polisakkarit elyafından yapılır (Şekil 1.5.).

Fiberler, yüksek derecede emici bir hidrofilik jel oluşumu ile yara eksüdasını emer. Bu etkileşim, otolitik debridman için uygun koşulları sağlayabilen nemli bir yara ortamı ile sonuçlanır. Alginat lifleri biyolojik olarak parçalanabilir.

Alginat yara örtüleri orta ila ağır eksüda kutanöz ülserler için endikedir. Günde en az bir kez değiştirilmeleri gerekir. Alginat yara örtüleri tabaka şeklinde mevcuttur. Ayrıca ip formları veya jel formlar boşluk ülserlerine yöneliktir [34]. Sayag ve diğ. alginat yara örtülerinin tam kalınlıktaki basınç ülserleri üzerindeki olumlu etkilerini belgelemiştir. Alginatların, yara iyileşmesine katkıda bulunan bazı farmakolojik özelliklere sahip olup olmadığına ilişkin soru, daha fazla araştırma yapılmasını gerektirmiştir [35]. Bowler ve diğ. kalsiyum alginat yara örtülerinin patojenik bakterilere karşı etkisini in vitro olarak belgelemiştir [36].



Şekil 1.5. Tabaka formunda alginat yara örtüsü

1.4.4.2. Dekstranomer hidrofilik granül

Dekstranomer hidrofilik bileşimleri, dekstranomer hidrofilik polisakaritinden oluşan 0,1-0,3 mm çapında kuru mikroküre granüllerinden oluşur. Granüller sıvı ile temas ettiğinde suyu emer ve doyana kadar şişer. Yara üzerine yerleştirildiğinde granüller sızıntı sıvısını emerek jel formunu alır. Moleküler ağırlığı 1000 g/mol den düşük olan küçük moleküller ve su granüller tarafından emilir. 1000 ile 5000 arasındaki moleküler ağırlıktaki partiküller sınırlı penetrasyona sahipken, bakteri veya küçük nekrotik doku parçaları gibi daha büyük parçacıklar granüller arasındaki boşluklarda kalır. Ozmotik akış, yara yüzeyinden granül tabakasına daha büyük partikülleri ve bakterileri taşır. Yara yüzeyi durulanırsa, daha büyük parçacıklar ve bakteriler, şişirici granüller arasında yara yatağından uzağa süpürülme eğilimindedir [37].

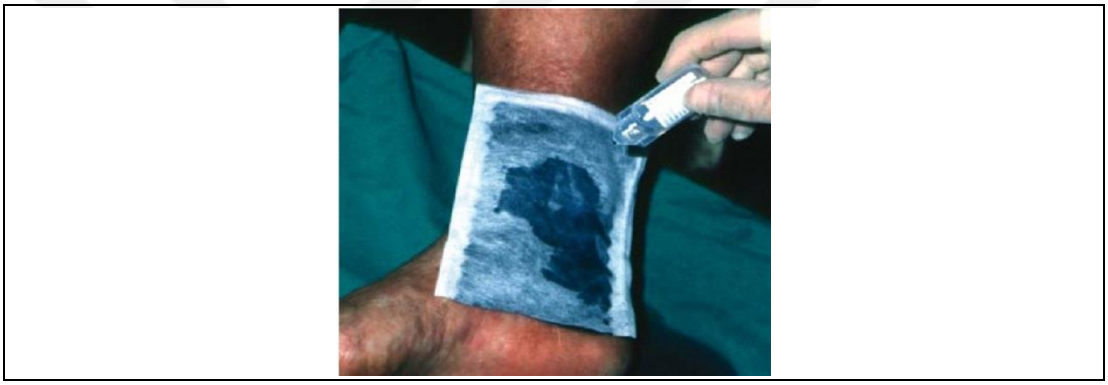
Piyasada bulunan hidrofilik granül içeren bileşimlere örnek olarak;
- Dextranomer granules: Debrisan® – Pharmacia & Upjohn verilebilir.

1.4.4.3. Aktif kömürlü yara örtüleri

Bu yara örtülerinde, aktif kömür yarı geçirgen bir zara bağlanır. Bu pansumanlar yarayı dış enfeksiyon ve travmadan korur. Yarı geçirgen yara örtüsü gelişmiş yara iyileşmesi için optimal nemli bir ortam oluşumunu sağlar.

Aktif kömürün iki ana benzersiz özelliği;
- Yara yatağında bulunan eksüdayı ve bakteriyi emer. Dolayısıyla, bir mekanik debridman şekli olarak kabul edilebilir. Aktif kömürün emici etkisi, in vitro çalışmalar ile kanıtlanmıştır [38].
- Aktif kömür, yaradan salınan kötü kokulu kimyasalları emen ve filtreleyen bir bariyer görevi görür.

Son zamanlarda aktif kömür ve gümüşü (% 0,15) birleştiren yara örtüleri geliştirilmiştir (Şekil 1.6.). Bunun arkasındaki mantık kombinasyon ile emme etkisine ek olarak, bir miktar antibakteriyel etki elde etmektir. Wunderlich ve Orfanos, venöz bacak ülseri olan 40 hastanın kontrollü randomize çalışmasını yapmıştır. Gümüş emdirilmiş aktif kömür yara örtüleri, granül haline getirilmiş merhemler veya çinko macunu gibi çeşitli geleneksel tedavilerle karşılaştırılmıştır ve konvansiyonel tedaviden daha üstün olduğu bulunmuştur. Gümüş emdirilmiş aktif kömür yara örtüleri ile tedavi edilen 19 hastanın altısı (% 31,6), geleneksel yöntemle tedavi edilen 19 hastanın ikisiyle (% 10,5) karşılaştırıldığında aktif kömür içeren yara örtülü hastalar tamamen iyileşmiştir. Epitelizasyonun artması ve yara boyutunun azalması gibi diğer parametreler incelenirken, diğer topikal tedavilere kıyasla gümüş-karbon yara örtüleri kullanılarak daha iyi sonuçlar elde edilmiştir [39].



Şekil 1.6. Gümüş emdirilmiş aktif kömürlü yara örtüsü

Aktif kömür içeren yara örtüsü örnekleri aşağıda belirtilmiştir;

- Aktif kömür içeren yara örtüleri: Carboflex® – Convatec, Carbonet® – Smith & Nephew, Clinisorb® – Clinimed Ltd., Kaltocarb® – Convatec
- Gümüş emdirilmiş aktif kömürlü yara örtüleri: Actisorb Plus® – Johnson & Johnson, Actisorb Silver 220® – Johnson & Johnson

Yara örtüsü çeşitlerinden ince filmler, hidrokolloid örtüler ve köpük örtüleri üreten piyasadaki bazı firmalar ve ürünlerin adları Tablo 1.1.' de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Yara örtüsü çeşitleri

İnce Filmler		Hidrokolloid Örtüler		Köpük Örtüler	
Ürün	Firma	Ürün	Firma	Ürün	Firma
Bioclusive transparent dressing®	Johnson & Johnson	Comfeel®	Coloplast	Allevyn®	Smith & Nephew
Blisterfilm transparent dressing®	Kendall	Cutinova®	Beiersdorf-Jobst	Carrasmart foam®	Carrington Lab
Carrafilm transparet film dressing®	Carrington Laborators	Dermacol®	Derma Sciences	Curafoam plus®	Kendall
Cutifilm	Beiersdorf-Jobst	Dermatell®	Gentell	Cutinova foam®	Beiersdorf-Jobst
Dermafilm intelligent film dressing®	Derma Sciences	Duoderm®	Convatec	Flexzan®	Bertek Pharmaceuticals
Epiview®	Convatec	Exuderm®	Medline Industries	Hydrasorb ®	Convatec
Mefilm®	Mölnlycke Health Care	Granuflex®	Convatec	Lyofoam®	Convatec
Opsite®	Smith & Nephew	Hydrocol®	Bertek Pharmaceuticals	Mepilex®	Mölnlycke Health Care
Orifilm transparent film dressing®	Orion Medical Products	Hydrocoll®	Hartmann	3M Foam®	3MHealth Care
Polyskin®	Kendall	Nu-derm hydrocolloid ®	Johnson & Johnson	Orifoam®	Orion Medical Products
3M Tegaderm transparent dressing®	3M Health Care	Oriderm®	Orion Medical Products	Sof-foam®	Johnson & Johnson
		Replicare®	Smith & Nephew	Reston foam®	3M Health Care
		Restore®	Hollister Incorporated	Tielle®	Johnson & Johnson
		Tegasorb®	3M Health Care	Vigifoam®	Bard Med. DivisioN
		Ultec®	Kendall		

Tablo 1.2. Hidrojel ve alginat örtü çeşitleri

Hidrojel Örtüler		Alginat örtüler	
Ürün	Firma	Ürün	Firma
Aquaflo®	Kendall	Algiderm®	Bard Med. Division
Aquasorb®	Deroyal	Algisite®	Smith & Nephew
Carrasyn gel wound dressing®	Sing® - Carrington Laboratories	Carrasorb®	Carrington Lab
Curafil®	Kendall	Curasorb®	Kendall
Cutinova gel®	Beiersdorf-Jobst	Cutinova alginate®	Beiersdorf-Jobst
Dermagran hydrogel zinc-saline wound dressing®	Derma Sciences	Fybron®	B. Braun Medical
Duoderm hydroactive gel®	Convatec	Hyperion®	Hyperion Medical
Granugel®	Convatec	Kalginate®	Deroyal
Hydrosorb®	Hartmann	Kaltostat®	Convatec
Hyfil wound gel®	B. Braun Medical	Maxorb®	Medline Industries
Hypergel®	Molnlycke Health Care	Melgisorb®	Molnlycke Health Care
Iamin hydrating gel®	CR Bard	Nu-derm®	Johnson & Johnson
Intrasite gel®	Smith & Nephew	Nutrastat®	Derma Sciences
Macropro gel®	Brennen Medical	Orisorb®	Orion Medical Products
MPM Excel gel®	MPM Medical	Restore Calcicare®	Hollister
Purilon gel®	Coloplas	Seasorb®	Coloplast
Sterigel®	Seton Scholl	Sorbalgon®	Hartmann
Vigilon®	Bard Med. Division	Sorbsan®	Bertek Pharmaceuticals
		Tegagen alginate dressing®	3M Health Care

1.4.5. Nanolif bazlı yara örtüleri

Son zamanlarda, doku mühendisliği alanında yaşanan gelişmeler sayesinde yara örtüsü uygulamalarında yenilikçi yaklaşımlar ortaya çıkmıştır (Tablo 1.3.). Doku mühendisliğinde, hücresel faaliyetlerin en iyi şekilde desteklendiği, ECM benzeri iskele (skafold) yapı oluşturmak hedeflenmektedir. Bununla birlikte nanoteknoloji

alanındaki gelişmeler nano ölçekte, üç boyutlu biyolojik yapıların tasarlanması ve üretilmesi açısından önemli fırsatlar sunmaktadır. Yapılan araştırmalar, Kronik ve Akut yaraların etkin tedavilerinde ECM benzeri fiziksel formun, nanoliflerden oluşan ağ yapılarla sağlanabileceğini göstermiştir. Nanoliflere, bazı yötemlerle biyoaktif moleküller, proteinler ve antibiyotik maddeler ilave edilerek sürekli salınım yapabilen sistemler meydana getirmek mükündür. Yara iyileşmesinde doku hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması, hücrelerin ECM'e ne kadar sağlıklı tutunabildikleri ile alakalıdır. Fibroblast, keratinosit ve diğer ilgili hücrelerin, kolajen, fibronektin, hyaluronik asit gibi bileşenlerle olan etkileşimleri, epitelizasyon ve onarım süreçlerinin etkin bir şekilde gerçekleşmesi açısından çok önemlidir. Dolayısıyla, ECM'in morfolojik özelliklerini taklit edebilen biyouyumlu nanoliflerin, bağışıklık sisteminin ters tepkisiyle karşılaşmadan uzun süreli kullanımları mümkün olmaktadır. Doğal ve sentetik esaslı polimerlerden nanolif üretimi çekim (drawing), şablon sentezi (template synthesis), faz ayırma (phase seperation) ve kendiliğinden dizilme (self assembley), meltblown, bikomponent lif üretimi yöntemi ve elektroçekim (electrospinning) gibi çeşitli nanofabrikasyon teknolojileri ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler içerisinde elektroçekim yönteminin, üretime uyarlanma açısından en kolay ve en ekonomik yöntem olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca, bu yöntem birçok farklı polimerle çalışma olanağı da sunmaktadır [40].

Elektroçekim yöntemiyle elde edilen nanoliflerden meydana gelen yara örtülerinin, geleneksel yöntemlerle elde edilen örtülere göre bazı önemli özellikleri ön plana çıkmaktadır. Bunlardan bir tanesi kanamayı dindirme (hemostasiz) özelliğidir. Zhang ve arkadaşları nanolif bazlı matris yapıların, sahip oldukları yüksek gözeneklilik miktarı, küçük gözenek boyutları ve geniş yüzey alanı sayesinde hemostatik katkı maddesi kullanılmadan hemostazisi hızlandırdığını bildirmişlerdir [41].

Bir başka özellik ise sıvı emme (absorpsiyon) kapasitesidir. Tıpkı hidrojel yara örtülerinde olduğu gibi, su tutma yeteneği yüksek (hidrofil) özellikteki polimerlerden üretilen nanolif bazlı malzemenin yüksek su emme kabiliyetine sahip olduğu ve bu durumun yara akıntılarının emilmesi açısından önemli bir özellik olduğu ifade edilmiştir. Yüksek yüzey alan sayesinde polimerik nanoliflerin sıvı emme yeteneğinin, polimerik filmlere göre çok daha iyi olduğu belirtilmiştir [42].

Gaz geçirgenliği (nefes alabilirlik) de önemli ve belirleyici özelliklerden bir tanesidir. Nanoliflerden oluşan yapının, yoğun ve küçük gözenekleri sayesinde oksijen geçişine imkân tanıması ve yaranın nefes alarak kurumasının önlenmesi iyileşme

açısından oldukça önemlidir. Khil ve arkadaşları, nanolif bazlı yapıların, küçük gözenekleri dolayısıyla gaz geçişine izin verirken, aynı zamanda bakteriyel enfeksiyonlara karşı engel teşkil ettiğini bildirmişlerdir [43].

Uygulanma rahatlığı (üç boyutlu yapı) da nanoliflerin önemli avantajlarından bir tanesidir. Lif inceliği mikro seviyelerden nano seviyelere indikçe, elde edilen örtünün, özellikle derin yaraların şekil olarak düzensizlikler gösteren iç yüzeyine daha iyi oturduğu belirtilmektedir. Böylelikle özellikle mikrop kapmalara karşı daha etkin bir mücadele söz konusu olmaktadır [44].

İşlevsellik, nanolif bazlı malzemelerde yara iyileşmesine katkı sağlayan bir başka önemli unsurdur. İyileştirmeyi hızlandıran terapötik bileşenler ortak çekim (co-spinning) işlemi ile nanolifler içerisine kolaylıkla yerleştirilmektedir. Böylelikle nanolifler çok işlevli biyoetken malzemelere dönüşmektedir. Ayrıca, farklı görevleri olan ve değişik kimyasal özellikler taşıyan nanolifler elektroçekim yöntemi ile tabakalar halinde birbirleri üzerine üretilerek katmanlı kompozit yara örtüleri de geliştirilebilmektedir [44].

Tablo 1.3. Yanık yaralar için geliştirilen nanolif destekli ticari yara örtüleri ve üreticileri [45]

Ürün	Açıklama	Üretici
IntegraTM	Kolajen Tip1/Glikozaminoglikans/ Polisil oksan karışımı nanolif bazlı dermal örtü	Integra Life Sciences http://www.integralife.com
NanocellTM	Nanolif bazlı mikrobiyal selüloz maskeler	Thai Nano Cellulose http://www.thainaocellulose
ApligrafTM	Fibroblast ve keratinosid içeren, sığır kolajeni bazlı nanolif yapılı sünger	Novartis http://www.apligraf.com
KerlixTM AMDTM	PHMB bazlı nanofibriler yapı	Kendall http://www.kendallhq.com
DermaFuseTM	Borat ve cam lifi içeren nanolif bazlı biyoaktif yara örtüsü	Mo-Sci. Corporation, USA http://www.mo-sci.com
TransCyteTM	Elektro-çekim ile elde edilmiş, allojenik fibroblastlarla desteklenmiş,Nylon/kolajen/silikon karışımı deri malzemesi	Advanced Tissue Sciences http://www.transcyte.com

Tablo 1.3. (Devam) Yanık yaralar için geliştirilen nanolif destekli ticari yara örtüleri ve üreticileri [45]

TegadermTM	Elektroçekim ile elde edilmiş polikaprolakton/jelatin/poliüretan bazlı skafold	3M Company http://www.3M.com
BiobraneTM	Kolajen/nylon/silikon karışımı nanolif bazlı yara örtüsü	Smith & Nephew http://wound.smithnephew.com
Dermagraft-TCTM	Üzerine fibroblast kültürü ekilmiş poliglaktin esaslı nanolif bazlı yara örtüsü	Advanced Tissue Sciences http://www.advancedtissue.com
ChitoFlexTM	Kitosan esaslı nanolif bazlı yara örtüsü	HemCon Med. Tech. Inc. http://www.hemcon.com
PermacolTM	Domuz dokusu içeren nanolif bazlı dermal matris	Covidien http://www.covidien.com
AllodermTM	Kadavra dokusu destekli nanolif bazlı yara örtüsü	LifeCell Corporation www.lifecell.com

1.5. Elektro-Çekim

1.5.1. Tarihçe

Bir sıvının elektrostatik çekiminin ilk kaydı İngiltere ve İrlanda Kraliçesi 1.Elizabeth döneminde Kıraliçenin kişisel fizikçisi William Gilbert tarafından gözlemlenmiştir. Çalışmalarında kuru bir yüzey üzerinde duran küresel bir su damlasına uygun mesafeden amber parçası yaklaştırdığında damlanın koni şeklini aldığını gözlemlemiş ve bu durum elektro-çekim yönteminin gelişmesindeki ilk adım olmuştur [46].

1665 de Robert Hook tanımlanmamış bir yapay yapışkan bileşim kullanarak ipek ipliğinin yapay olarak kopyalanmasının mümkün olabileceğini, ancak bileşimi çok küçük tellere dönüştürmenin çok hızlı bir metod kullanarak olabileceğini söylemiştir [47].

1882 yılında Lord Rayleigh, belli bir elektrik yüküne sahip olan damlalara elektrik alan içinde, damlaların sahip olduğu yüzey gerilimi ve elektrik alandan kaynaklanan yüzey gerilimine zıt olan elektrik kuvvetinin etki ettiğini söylemiştir. Elektrik kuvvetinin yüzey gerilimi kuvvetinden büyük olduğu durumda damlacığın kararsız bir hal alıp dağılacağını ve dağılan parçaların küçük jetlere ayrılarak hareket etmeye başlayacağını iddaa etmiştir.

Rayleigh jet oluşumu için gerekli maksimum yükün Denklem (1.1)'deki gibi;

$$q^2 = 64\pi^2\varepsilon_0\gamma a^3 \quad (1.1)$$

olduğunu formüle etmiş.

Yukarıdaki eşitlikte;
- q: damla üzerindeki yük,
- ε_0: serbest uzayın iletkenlik sabiti,
- γ: damlanın yüzey gerilimi,
- a: damlanın çapıdır [48].

1934 yılında, Formhals, elektrik yükleri kullanarak yapay filamentler üretmek için kullanılan işlem ve aparatla ilgili ilk patenti almıştır. Elektriksel alan kullanarak yapay iplik üretme yöntemi uzun zamandır denenmiş olmasına rağmen, daha önce eğirme yöntemlerindeki kurutma ve toplama gibi bazı teknik zorluklar nedeniyle, Formhals'ın buluşuna kadar önem kazanmamıştır. Formhals'ın eğirme işlemi, geleneksel iplikçilikteki eğirme tamburlarınınki gibi iplikleri gerilmiş bir durumda toplamak için hareketli bir iplik toplama cihazından oluşmuştur. Formhals'ın işlemi, yoplayıcı cihaza paralel olacak şekilde dizilmiş iplikler üretebilmiştir. Formhals ilk patentinde, selüloz asetat ipliklerini oluştururken asetonu çözücü olarak kullandığını raporlamıştır [49].

Formhals tarafından uygulanan ilk eğirme metodunun bazı dezavantajları olmuştur. Eğirme ve toplama bölgeleri arasındaki kısa mesafeden dolayı ipliklerin tamamen kuruması zor olmuştur, bu da daha az toplanmış bir ağ yapısına neden olmuştur. Bir sonraki patentte, Formhals yukarıda belirtilen dezavantajların üstesinden gelmek için önceki yaklaşımını yeniden tanımlamıştır [50]. Belirtilen süreçte, besleme nozulü ve toplama cihazı arasındaki mesafe daha fazla kuruma süresi verecek şekilde değiştirilmiştir. Daha sonra, 1940 yılında, Formhals, kompozit fiber ağlar üretmek üzere çoklu besleme ünitesine sahip olan bir cihazın patentini almıştır [51].

1960'lı yıllarda jet şekillendirme işlemiyle ilgili temel çalışmalar Taylor tarafından başlatılmıştır. 1969'da Taylor, iğnenin ucundaki polimer damlacığına elektrik alanı uygulandığındaki şeklini incelemiş ve bunun bir koni olduğunu ve jetleri koninin köşelerinden çıkardığını göstermiştir. Taylor, farklı viskoz sıvıların detaylı incelemesi sonucunda, polimerin yüzey gerilimini elektrostatik kuvvetlerle dengelemek için 49.3

derecelik bir açının gerekli olduğunu tespit etmiştir. Jetin konik şekli önemlidir, çünkü fiber oluşma sürecindeki ilk hız gradyenlerini tanımlar [52].

Sonraki yıllarda, nanofiberlerin morfolojik yapılarına odaklanılmıştır. Araştırmacılar fiberlerin yapısal karakterizasyonu ve üretimdeki parametrelerin ürünle olan ilişkisi üzerine uğraşmışlardır. Geniş açılı X-ışını difraksiyonu (WAXD), taramalı elektron mikroskobu (SEM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) araştırmacılar tarafından nanofiberleri karakterize etmek için kullanılmıştır. 1971'de Baumgarten, çapı 500 ila 1100 nm arasında değişen akrilik mikro fiberlerin elektro-çekimini bildirmiştir. Baumgarten, poliakrilonitril / dimetilformamid (PAN / DMF) çözeltisinin eğilebilirlik sınırlarını belirlemiş ve çözeltinin viskozitesinin fiber çapına etkili olduğunu gözlemlemiştir. Uygulanan elektrik alanın artışında jet çapında büyüme olduğunu göstermiştir [53]. 1981'de Larrondo ve Mandley polietilen ve polipropilen fiberleri eriyikten üretmiştir, çözücüden eğrilmiş fiberlerden daha büyük çapa sahip olduğunu gözlemlemiştir. Eriyik sıcaklığı ve fiber çapı arasındaki ilişkiyi gözlemlemişlerdir ve artan eryik sıcaklığı ile fiber çapının azaldığını göstermişlerdir. Onlara göre uygulanan voltaj 2 katına çıkarıldığında fiber çapı %50 azalmıştır ve böylece uygulanan voltajın fiber karakteristiğine etkisini göstermişlerdir [54].

1987 de Hayati ve ark. elektrik alanın etkileri, deneysel koşullar, fiber kararlılığı ve atomizasyonu etkileyen faktörler üzerine çalışmışlardır. Sıvı iletkenliğinin sıvı yüzeylerin elektrostatik bozulmasında önemli bir rol oynadığı sonucuna varmışlardır. Sonuçlar yüksek iletkenlikteki akışkanlara uygulanan yüksek gerilimin farklı yönlere dağılan dengesiz akışkanlar oluşturduğunu göstermişlerdir. Parafinik yağ gibi yarı iletken ve yalıtkan sıvılarla nispeten kararlı jetler üretilmiştir. Sonuçlar ayrıca, dengesiz jetlerin daha geniş çap dağılımlı fiber ürettiğini göstermiştir [55]. Warner ve ark. Elektro-çekim işleminin anlaşılması için çok önemli olan sıvı kararsızlıklarının deneysel karakterizasyonu ve değerlendirilmesi konusunda titiz bir çalışma yürütmüşlerdir [56]. Gibson ve diğ. elektroeğrilmiş elyaf tabakaların taşınım özelliklerini incelemiş ve nano-fiber tabakalarının nem buharı yayınımlı taşınımına çok daha az direnç gösterdiği sonucuna varmışlardır [57].

Son yıllarda, 'eSpin Technologies', 'KATO Tech', NanoTechnics', ve 'El Marco' gibi firmalar (Tablo 1.4.) elektro-çekim teknolojileri üzerine yaptıkları çalışmalar ve yatırımlarla gündeme gelmektedir. Freudenberg ve Donaldson Company gibi

şirketler de son yirmi yıldır elektroçekim ile üretmiş oldukları filtrasyon malzemelerini piyassaya sunmaktadır [58].

Tablo 1.4. Nanolif teknolojisi ile ilgilenen ticari firmalar [59]

Firmalar	**Ülke**	**Web Adresleri**
Donaldson Company Inc.	USA	www.donaldson.com
Finetex Technology	Güney Kore	www.finetextech.com
Ahlstrom Corporation	Finlandiya	www.ahlstrom.com
Espin Technologies Inc.	USA	www.espintechnologies.com
Hollingsworth Co. Ltd.	USA	www.hollingsworth-vose.com
US Global Nanospace	USA	www.usgn.com
KX Industries	USA	www.kxindustries.com
Engineering Research centre “SNIIP”	Rusya	www.sniip.ru
Helsa-automotive	Almanya	www.helsa-automotive.com
“NPP” Doza	Rusya	www.doza.ru
Teijin Fiber	Japonya	www.teijinfiber.com
Progress-Ecologia	Rusya	www.p-ecologia.obninsk.ru
KATO Tech	Japonya	www.keskato.co.jp
A.A.Gunyaev NW R&D Center	Rusya	www.psiz.com
Toray	Japonya	www.toray.com
Kimry’s factory	Rusya	www.fgsiz.ru
Japan Vilene Company Ltd.	Japonya	www.vilene.co.jp
Neorganika	Rusya	www.neorganika.ru
Nanoval GmbH & Co. KG	Almanya	www.nanoval.de
Electrostal Chemico-Mechanical	Rusya	www.ehmz.ru
Fraudenberg	Almanya	www.freudenberg.com

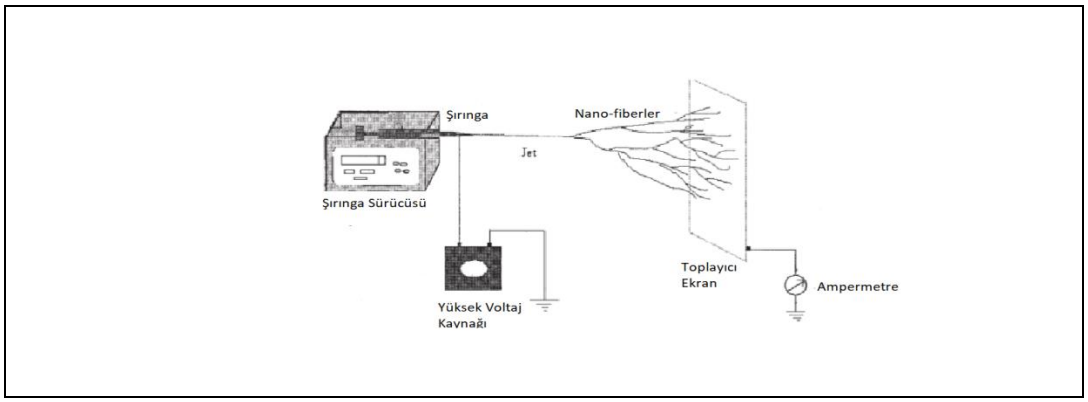
Tablo 1.4. (Devam) Nanolif teknolojisi ile ilgilenen ticari firmalar [59]

Sorbent	Rusya	www.sorbent.su
Hills Inc.	USA	www.hillsinc.net
Esfil Tehno	Estonya	www.esfiltehno.ee
Elmarco	Çek Cumhuriyeti	www.elmarco.cz
Hohns Manville Sales GmbH	Almanya	www.jmeurope.com

1.5.2. Elektro-çekim teorisi ve süreci

Elektro-çekme, elektrostatik kuvvetleri kullanarak düzgün bir fiber üretmek için eşsiz bir yaklaşımdır. Elektrostatik çökelticiler ve böcek ilacı püskürtücüler, elektro-çekme tekniğine benzer şekilde çalışan iyi bilinen uygulamalardan bazılarıdır. Elektro-çekilmiş fiberlerden oluşan tabakalar küçük gözenek boyutuna ve yüksek yüzey alanına sahiptir. Üç boyutlu yapılar üretmek için elektro-çekme yöntemi kullanılabilir [60]. Elektro-çekme, bir polimer çözeltisinin veya eriyiğinin, yüksek potansiyel bir elektrik alanı kullanılarak çok küçük çaplı fiberlere dönüştürülebildiği bir işlemdir. Bu genel açıklama mikron altı çapa sahip fiber üretimi için uygundur. Tekstil ve fiber bilimi ile ilgili bilimsel literatürde, 100 nm-500 nm aralığında çaplara sahip olan liflere genellikle nanofiberler denir.

Elektro-çekme işleminin avantajları teknik basitliği ve kolay uyarlanabilirliğidir. Elektro-çekme için kullanılan aparat, pozitif veya negatif polariteye sahip yüksek voltajlı bir elektrik kaynağından, çözeltiyi şırıngadan veya pipetten nozıla götürmek için kapilerli veya tüplü bir şırınga pompasından ve alüminyum gibi iletken bir kollektörden oluşan basit bir yapıya sahiptir. Kollektör ihtiyaca göre her şekilde dizayn edilebir. Örneğin düz plaka, döner silinir gibi. Elektro-çekme işleminin şematik gösterimi Şekil 1.7.'de gösterilmiştir. Polimer çözeltisi veya eriyiği şırınga pompası tarafından kapiler ucunda polimer damlası oluşturmak için itilir. Yüksek voltaj potansiyeli, şırınga ucuna tutturulmuş bir elektrot aracılığıyla şırınganın içindeki polimer çözeltisine uygulanır, böylece polimer çözeltisine serbest yükler verilir. Bu yüklü iyonlar, uygulanan elektriksel alana tepki olarak, ters kuvvetlerin polimer sıvısına aktarılmasıyla karşı polarite elektroduna doğru hareket eder [61]. Kılcalın ucundaki yarım küre şeklindeki polimer damlası, elektrik alanı mevcudiyetinde koni benzeri çıkıntı şeklini alır.



Şekil 1.7. Elektro-çekme işleminin şematik gösterimi

Uygulanan potansiyel sıvının yüzey gerilimini aşmak için gereken kritik bir değere ulaştığında, koni ucundan bir sıvı jeti çıkar [52]. Organik çözücülerde ve polimerlerde çoğu yük taşıyıcı düşük hareketliliğe sahiptir, ve bu nedenle, şarjın, yalnızca yeterli zaman verilirse, sıvı içinde daha büyük mesafelerde hareket etmesi beklenir.

Koninin oluşmasından sonra, jet kaotik bir harekete veya bükülme dengesizliğine maruz kalır ve yüklü olanları toplaycıya doğru yönlendirilir [62]. Jet atmosfere girerken, çözücü buharlaşarak toplayıcıda kuru fiberleri bırakır. Düşük viskoziteli çözeltilerde jet damlacıklara ayrılırken, yüksek viskoziteli çözeltilerde jet toplayıcıya fiber olarak gider [60].

1.5.2.1. Jet başlatma

Elektriksel hareket eden jetlerin davranışı, jet yüzeyinin şekli ve jet kararsızlığı, elektro-çekme işleminde daha fazla araştırma gerektiren kritik noktalardan bazılarıdır. Rayleigh ve Zeleny, sıvı jetlerin davranışlarının incelenmesiyle ilgili ilk bilgileri verdi, ardından Taylor tarafından izlendi. Taylor, 49.3 ° 'lik açıyla Taylor konisi olarak adlandırılan konik şekilli bir yüzeyin, kılcal uçtaki, yani başlangıç yüzeyindeki damlacık dengesini bozmak için kritik bir potansiyele ulaşıldığında oluştuğunu göstermiştir. Çözeltiye yüksek bir potansiyel uygulandığında, elektrik kuvvetleri ve yüzey gerilimi, yükün birriktiği noktada bir çıkıntı oluşturmuştur. Çıkıntıdaki birim alan başına yüksek yük, konik bir şekil oluşturmak için çözeltiyi daha da çekmiştir, bu da potansiyelde daha fazla artış olması durumunda, elektro-çekme işlemini püskürtme yoluyla başlatmıştır [61]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, Yarin ve ark. Taylor konisinin özbenzeş çözeltilerle ve bazı özel özbenzeş olmayan çözeltilerle uyumlu olduğunu göstermiştir [62]. Taylor'ın

çalışması, başlangıçtaki damlacık şekline küresel olarak yaklaşırken, Yarin ve arkadaşları özbenzer olmayan çözeltilerin elektriksel sıvı kütlelerinin hiperboloidal şekle sahip olduğunu düşünmüş ve Taylor'unkinden daha keskin bir koninin jetin başlangıcından önce gelebileceği sonucuna varılmıştır. Hem deneysel hem de teorik olarak, kritik elektrik potansiyelinin değerinin koni oluşturma açısının 33.5 ° 'lik bir açı ile yani 49.3 °' lik tipik Taylor koni açısından daha az bir açıyla konik şekli oluşturduğu gösterilmiştir [62].

1.5.2.2. Bending kararsızlığı

Koninin apeksinden çıkarılan jet, toplayıcıya doğru olan yol boyunca incelmeye devam eder ve püskürtme modu elektrohidrodinamik koni-jet olarak adlandırılır. Jetdeki yükler, polimer çözeltisini elektrik alan boyunca toplayıcıya doğru iter ve böylece elektrik devresini kapatır. Jetteki yüklü iyonlardan kaynaklanan itici kuvvetler nedeniyle kollektöre doğru hareket eden jet kaotik bir harekete veya bükülme(bending) dengesizliğine maruz kalır [62]. Yayılma olarak adlandırılan radyal yük itme nedeniyle bending kararsızlığının başlangıçta çoklu ince tabakalara bölünen tek bir jet tarafından gerçekleştiği düşünülüyordu. Doshi ve Reneker, artan şarj yoğunluğunun jeti daha küçük jetlere böldüğünü, jetin eşzamanlı gerilmesi ve çözücünün buharlaşması nedeniyle fiber çapının azaldığını savunmuştur. Bu bölünmenin tekrar tekrar gerçekleşmesi beklenir, bu da daha küçük çaplı fiberlerle sonuçlanır [63]. Bununla birlikte son yapılan gözlemler, simetrik olmayan eksenlerin hızlı büyümesi veya whipping kararsızlığı jetlerin gerilmesine ve bükülmesine neden olduğunu ileri sürmüştür. Warner ve arkadaşları, jetin dengesiz bölgesini doğrulamak için yüksek hızlı fotoğrafçılık (1 ms'ye kadar pozlama süresiyle) kullanarak çoklu bölündüğü iddaa edilen (gerçekte tek hızlı whipping jeti) jeti ters koni şeklinde görüntülemiştir. Whipping olayının çok hızlı olduğundan jetin daha küçük jetlere bölünmüş gibi göründüğü, sonuç olarak ultra ince fiber oluştuğunu iddaa etmişlerdir [56].

Jetlerin kararlı durum modelleri doğrusal olmayan güç yasası yapısal denklemleri (Oswald–de Waele modeli) kullanılarak Spivak ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir [64].

Reneker ve çalışma arkadaşları, istikrarsızlık davranışını gerekçelendirmek için önemli ölçüde katkıda bulunmuşlardır ve doğrusal elektrik jeti için matematiksel bir viskoelastik model geliştirmiştir. Çalışmalarında jet yolunu, jet yörüngesini ve hızını,

alan azaltma oranını ve jetlerin boyuna zorlanmalarını matematiksel olarak modellemişlerdir. Odak uzaklığı 86 mm lens ve "f" sayısı 1,0 olan bir görüntü ile zarf konisinin köşesinden püskürtme kararsızlığının başladığını gözlemlemişlerdir. Bu lens tarafından üretilen görüntü, 0,0125 ms pozlama süresi ve 2000 kare / sn kayıt hızı ile elektronik bir kamerada gözlenmiştir. Reneker ve arkadaşlarına göre, hafif eğriliğe sahip pürüzsüz bir yüzey aniden bir dizi kıvrım geliştirmiştir ve uzama üzerine kıvrımların dizisi, büyüyen çaplara sahip bir dizi kıvrımlı halka haline gelmiştir ve döngünün çevresi arttıkça, jetleri oluşturan döngüyü inceltmeye başlamıştır.

Birçok kararsızlık döngüsünün nano-fiber oluşturmak için tekrar ettiği sonucuna varmışlardır [61]. Shin ve diğ. elektriksel olarak zorlanmış jetlerin dengesizlik davranışını modelleme girişimlerinde yüklü iyonlar ile elektrik alanı arasındaki etkileşimler nedeniyle oluşabilecek farklı dengesizlikler arasındaki rekabeti vurgulamıştır. Bu kararsızlıkların, sıvı parametrelerine ve çalışma koşullarına bağlı olarak yol boyunca değiştiği gösterilmiştir. Çalışma, üç tür istikrarsızlık olasılığını ortaya koymuştur:

1- Klasik Rayleigh modu (eksenel simetrik) kararsızlığı
2- Elektrik alan kaynaklı eksenel simetrik iletken modu
3- Whipping iletken modu kararsızlığı

Farklı kararsızlık modlarını daha iyi anlayabilmek için sürecin tam olarak modellenmesi gerekmiştir. Shin ve diğ. viskozite ve iletkenlik gibi akışkan özelliklerin ve uygulanan elektriksel alan ve akış hızı gibi süreç değişkenlerinin bir fonksiyonu olarak jetlerin stabilitesini modellemek için bir yaklaşım sunmuştur. Eksenel simetrik kararsızlığın düşük şarj yoğunluğunda baskın olduğunu, whipping modundaki kararsızlığın jetlerde yüksek şarj yoğunluğu ile baskılandığını gözlemlemişlerdir [65].

Fridrikh ve diğ. jetlerin nihai çapını belirlemek için doğrusal olmayan whipping kararsızlığının son aşamasını hesaplayarak daha önce elde edilen hareket denklemlerini yeniden incelemiştir. Modelleri, yüklü sıvıyı Newtonian sıvı olarak kabul etmiş ve whipping jetinin terminal çapının ampirik bir modeli; akış oranının, elektrik akımının ve sıvının yüzey geriliminin bir fonksiyonu olarak elde edilmiştir. Model, değişken akış hızı için fiber çapındaki değişimleri $10^{2/3}$ kat olarak öngördü ve bu 2/3 ölçeklemesi, değişen konsantrasyonlarda polikaprolakton (PCL) çözeltisi için deneysel olarak doğrulanmıştır [66].

1.5.3. Elektro-çekim işleminde nanolif özelliklerini etkileyen faktörler

Thompson ve arkadaşları, elektroçekim yönteminde nihai nanolif özelliklerini etkileyen etkenleri araştırmak üzere çeşitli çalışmalar yürütmüşlerdir. Çalışma sonuçlarına göre nanolif özellikleri;

• Besleme ünitesinin toplayıcıya olan mesafesi,
• Polimerin cinsi, molekül ağırlığı,
• Kılcal borunun (besleme ünitesi) çapı,
• Çözücünün cinsi ve buharlaşma özellikleri,
• Polimer çözeltisinin beslenme miktarı,
• Polimer çözeltisinin konsantrasyonu, viskozitesi, yüzey gerilimi, iletkenliği,
• İşlemin elektriksel alan özellikleri,
• Polimer çözeltisine eklenen yardımcı kimyasallar,
• Ortam koşulları (sıcaklık ve nem) gibi unsurlardan etkilenmiştir.

Deneyler sonucu elde edilen bulgulara göre, lif karakteristiğini birincil derecede etkileyen unsurların; polimer çözeltisinin viskozitesi ve besleme ünitesi ile toplayıcı arasındaki mesafe olduğu belirtilmiştir [67].

1.5.3.1 Çözeltiye ait unsurlar

Viskozite; belli bir seviyeye kadar arttırılması halinde, bir hata çeşidi olan boncuk (bead) oluşumu azalır, lif çapı artar.

Polimer Konsantrasyonu; polimer konsantrasyonunun artması, nihai lif çapının artmasına neden olur.

Polimerin Moleküler Ağırlığı; moleküler ağırlıktaki artış, boncuk oluşumunu azaltır, viskozite ve lif çapını artırır.

İletkenlik; iletkenliğin artması, lif çapının azalmasına neden olur.

Yüzey Gerilimi; lif özelliklerine olan etkisi net olmamakla birlikte, aşırı artması işlemi olumsuz etkiler [67].

1.5.3.2. İşleme ait unsurlar

Uygulanan voltaj; voltajın arttırılması, lif çapının azalmasına neden olur. Voltajın çok fazla arttırılması sonucunda boncuk oluşumu meydana gelebilmektedir.

Besleyici Ünite-Toplayıcı Arası Mesafe; mesafenin çok az ya da fazla olması boncuk oluşumuna sebebiyet verir. Mesafe arttıkça lif incelir.

Besleme Miktarı/Oranı; besleme oranındaki azalma, lif çapının azalmasına neden olur. Yüksek besleme oranlarında boncuk oluşumu artar [67].

1.5.3.3. Ortam koşulları

Nem; yüksek nem miktarı, çözücünün buharlaşma derecesini etkileyebilir. Bazı polimerlerle yapılan çalışmalarda lifler üzerinde yuvarlak boşlukların oluştuğu belirtilmiştir.

Sıcaklık; sıcaklık artışı, lif çaplarının azalmasına sebep olur [67].

Tablo 1.5. Literatürde yer alan elektro-çekilmiş polimerler [68]

Polimer	Çözücü	Literatür
Selüloz asetat	Aseton	Formhals (1934)
Akrilik-resin(%96 akrilonitril)	DMF	Baumgarten (1971)
A) Polietilen oksit B) Polivinil alkol C) Selüloz asetat	A) Su/Kloroform B) Su C) Aseton	Jaeger ve ark. (1998)
A)Poly(2-hidroksi etil metakrilat) B) Polistiren C) Poli(eter amit)	A) Formik asit ve Etanol B) Dimetil formamit ve Dietil formamit C) Hekza floro 2-propanol ve su	Koomphongse ve ark. (2001)
Polietilen oksit (PEO)	Su	Doshi ve Reneker (1995)
Polietilen tereftalat (PET)	Diklora metan ve trifloroasetik asit karışımı	Reneker ve Chun (1996)
Polianilin / PEO blend	Kloroform	Norris ve ark. (2000)
Polieter üretan	Dimetil asetamid	Wilkes (2001)

Tablo 1.5 (Devam) Literatürde yer alan elektro-çekilmiş polimerler [68]

Poli-L-laktid, Polikarbonat, Polivinilkarbazol	Dikloro metan	Bognitzki ve ark. (2001)
Polistiten	Tetrahidrofuran (THF)	MacDiarmid ve ark. (2001)
Polibenzimidazole (PBI)	N,N-Dimetil asetamid(DMAc)	Kim ve Reneker (1999)
Nylon 6 and Nylon 6 +montmorillonite (NLS)	1,1,1,3,3,3-hexa fluoro-2Propanol (HFIP) ve DMF	Fong ve ark. (2002)
Polivinil klorit	THF, DMF	Lee ve ark. (2002)
A)Polietilen B)Polikarbonat (PC) C)Poliürethan (PU)	A)İzopropil alkol (IPA) B)DMF, THF C)DMF	Tsai ve ark. (2002)
PU	DMF	Demir ve ark. (2002)
PC	Aseton	Reneker ve ark. (2002)
Stiren-Bütadien-Stiren Triblok kopilemeri	%75 THF ve %25 DMF	Fong ve Reneker (1999)
Poli-L-Laktit	Diklorometan	Zeng Jun ve ark. (2003)
Poli(metilmetakrilat-random) PMMA-r-TAN	Toluen ve DMF karışımı	Dietzel ve ark. (2001)
Polietilen-co-vinilasetat (PEVA), Polilaktik asit (PLA) ve PEVA ve PLA blendi	Kloroform	Kenawy ve ark. (2002)
Poli(p-fenil terafitalamit) (PPTA) (Kevlar 49)	95-98 wt. % sülfirik asit	Srinivasan ve Reneker (1995)
SLPF	Formik asit / hekzafloro izopropanol	Buchko ve ark. (1999)
PU VE PEO	Tetrahidrofuran ve dimetilformamit	Subbiah ve Ramkumar (2004)

1.6. Boyacı Sumağı (Cotinus coggygria)

Dünyanın birçok yerinde geleneksel tedavi yöntemi olarak bitkiler ve doğal ürünler kullanılmaktadır. Bu ürünler, tedavi ettikleri hastalıklardan daha tehlikeli yan etkilere sahip olabilen sentetik ilaçlardan çok daha az yan etkilere sahiptirler. Gelişmekte olan ülkelerin kırsal alanlarında yaşayan insanlar doğal ürünleri birincil ilaç kaynağı olarak tercih etmektedir [69]. İkincil metabolitler olarak bitkiler tarafından üretilen doğal ürünlerin, farmasötikler için yeni kimyasal maddelerin geliştirilmesine temel olabilecek bol miktarda biyolojik olarak aktif bileşik kaynağı olduğu kanıtlanmıştır. Bitkiler, önemli farmakolojik özelliklere sahip oldukları tespit edilen taninler, terpenoidler, alkaloitler ve flavonoidler (Şekil 1.9.) gibi çok değerli ve elverişli kaynaklardan oluşan bir grup ikincil metabolit içerir [70].



Şekil 1.8. Boyacı Sumağı (*Cotinus coggygria*)

Genel olarak, bitki özü yağları ve birçok bitki türünün özleri fitotoksik olmayan bileşikler olarak kabul edilir ve bunların antimikrobiyal, anti-enflamatuar, antioksidan, antimutajenik ve kanseri önleyici etkileri kısmen tarif edilmiştir [71-72]. Aynı zamanda “duman ağacı” olarak da bilinen Cotinus coggygria (Şekil 1.8.), Anacardiaceae familyasının küçük bir cinsini oluşturan iki türden biridir, C. coggygria Scop. (Rhus cotinus L.) ve Cotinus obovatus (Amerikan Smoketree). Güney Avrupa, Akdeniz, Moldova ve Kafkasya'dan Orta Çin ve Himalayalara kadar geniş bir dağılıma sahiptir [73]. Bu bitki genellikle büyük çalılar veya küçük ağaçlar olarak kabul edilir. Yaprakları mat yeşil renkte, oval veya obovat şeklinde ve 3-8 cm uzunluğundadır. Çiçekleri pentamer yapıda, soluk sarı veya sarı-yeşil, hermafrodit veya bazıları abortif ve uzun saplıdır [74].

1.6.1. Botanik tanımı ve geleneksel kullanımı

Anacardiaceae 82 cins ve 700'den fazla türün ekonomik açıdan önemli bir ailesidir. Bu aile, subtropikal ve ılıman bölgelerde daha az sayıda türün bulunduğu Afrika, Asya ve Amerika'nın tropik bölgelerinde dağılmıştır [75]. Ailenin üyeleri, yenilebilir meyveler ve tohumlar, tıbbi bileşikler, değerli kereste ve lake bitkileri (Toxicodendron ve Gluta) ile tanınır.

Anacardiaceae familyasının bitkileri, tıbbi ve diğer amaçlar için çeşitli halklar tarafından uzun bir kullanım geçmişine sahiptir. Bu bitkilerin farklı kısımları, potansiyel antiseptik, anti-enflamatuar, antimikrobiyal, hepatoprotektif olarak farmakolojik değerlendirmeye tabi tutulmuştur [72]. Kanamayı durdurucu olarak doku iyileşmesinde [76] ayrıca ishal, paradontoz ve mide ve duodenum ülserlerine karşı koymada etkindir [77].

C. coggygria'nın özü aynı zamanda bir kolagog febrifüj ve göz hastalıkları için de kullanılır[78].
C. coggygria'nın kurutulmuş yaprağı ve dalları geleneksel Çin tıbbında “rutubeti” ve “ısıyı” antipiretik olarak ortadan kaldırmak için kullanılır [79]. Ayrıca, C. coggygria şurubu, karaciğeri kimyasal hasara karşı koruma, koledok sfinkterinin gerginliğini azaltma, safra akışını artırma ve vücut bağışıklığını arttırma etkisine sahiptir [80].

C. coggygria'nın yaprağından elde edilen sulu ekstre ve diğer ekstraktlar , hemoroit semptomlarının riskini ve şiddetini önlemek, azaltmak için etkilidir. Ayrıca, konsantre C.coggygria özü, lokal olarak uygulandığında (in vivo) saç büyümesini etkili bir şekilde tetikleyebilir [81].

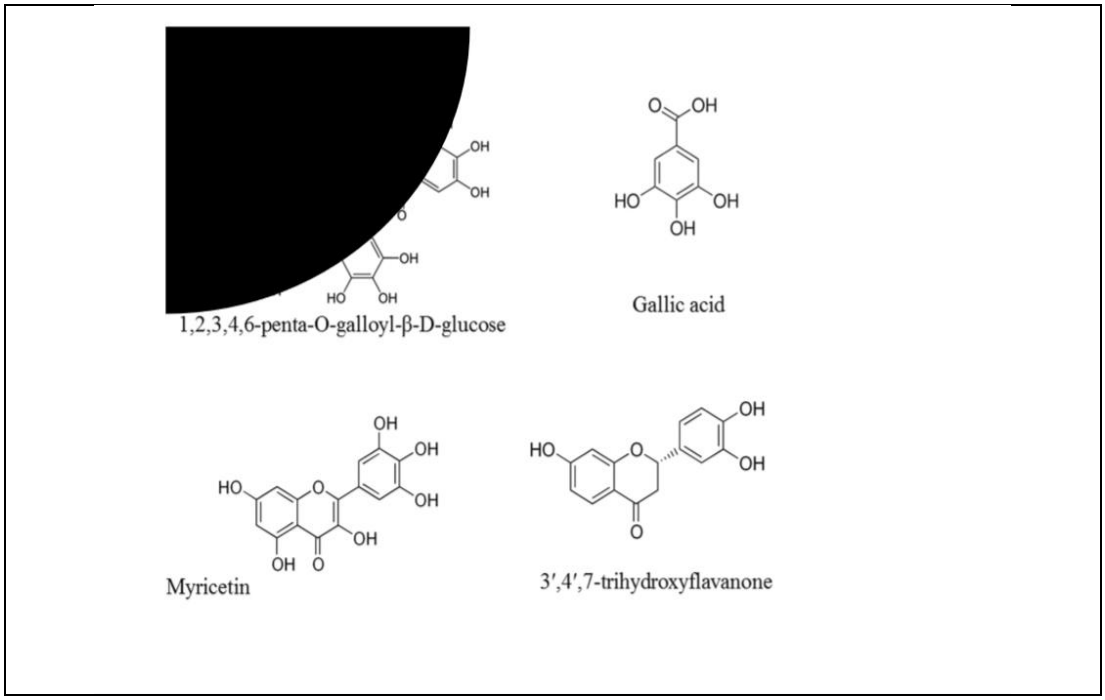
Doğal olarak büyüyen ağaçlardan gelen yapraklar ve genç dallar, çeşitli ülkelerde parfümeride kullanılmak üzere terpen kokulu bir uçucu yağ üretiminde kullanılır [76]. Kökler deri ve kumaşların sarımsı bir renge boyanmasında kullanılır [82]. Bitkinin öz odunları altın benzeri ve ışıltılı olup, deri ve kumaşın boyanmasında kullanılan sarı bir boya içerir [83].

1.6.2. Fitokimyasal çalışmalar

C. coggygria bitkisinin çeşitli yerlerinden izole edilen çok sayıda bileşik tanımlanmıştır (Tablo 1.6.).

Tablo 1.6. C. coggygria bitkisinin çeşitli yerlerinden izole edilen bileşikler

Kullanılan Çözücüler	Kullanılan Bitki Bölümü	Ana Bileşenler	Referanslar
Etanol	Dallar	1,2,3,4,6-Penta-O galloyl-b-D-glucose	Cha ve ark. (2009)
Metanol	Öz Odun	Sulfuretin, Fisetin, Dustin, Quercetin Taxifolin, Butin,	Valianou ve ark. (2009)
Metanol	Çiçek Yaprakları	Gallic acid	S˘ avikin ve ark. (2009)
Kaba Özüt	Öz Odun	30,40,7-Trihydroxyflavanone	Antal ve ark. (2010)
Etil Asetat	Tüm Bitki	Disulfuretin	Westenburg ve ark. (2000)
Metanol	Kök	Myricetin	Matic´ ve ark. (2013)
Etil Asetat	Filizler	Gallic acid	Simic´ ve ark. (2008)
Aseton	Filizler	Gallic acid	Marc˘ etic´ ve ark. (2013)



Şekil 1.9. Cotinus coggygria bitkisinden izole edilen bazı biyoaktif bileşenlerin kimyasal yapısı

Tablo 1.7. Cotinus coggygria bitki kısımlarındaki total fenolik, flavanoid ve tanin içerikleri

Kullanılan Çözücüler	Kullanılan Bitki Bölümü	Total Fenolikler	Flavanoidler	Taninler	Referanslar
Etil Asetat	Filizler	92.9%	3.5%	83.4%	Simic´ ve ark. (2008)
Metanol	Çiçek Yaprakları	/	76.5 *GA/g 515.5 GA/g	13.7 GA/g 18.5 GA/g	S˘ avikin ve ark. (2009)
Metanol	Kök	3.78 GA/g	8.2 **R/g	/	Matic´ ve ark. (2013)

*GA/g: Kuru bitkideki gram başına gallik asit miktarI
**R/g : Kuru bitkinin gram başına rutini

1.6.3. Farmakolojik aktiviteler

1.6.3.1. Antioksidan aktivitesi

Ekstraktların ve uçucu yağın antioksidan aktivitesi, gıdalardaki oksidanların toksik etkilerinden koruyabileceği için büyük ilgi çeken biyolojik bir özelliktir [84]. Matic ve diğ. , C. coggygria bitkisinin kökünden alınan örneğin metanol ekstraktının serbest radikal temizleme faaliyetlerini ve demir bağlama özelliğini incelemiştir. Sonuçlar, ekstraktın indirgeme gücünün konsantrasyona bağlı bir şekilde arttığını ve standart olarak kullanılan sisteininkinden daha büyük olduğunu göstermiştir. 60 µg / mL'de ekstrakt sisteinden neredeyse iki kat daha fazla indirgeme gücü sergilemiştir.

C. coggygria ekstresinin demir bağlama aktivitesi, 20 µg/ml'e kadar artan konsantrasyonda %78 demir bağlama oranına kadar yükselmiştir. Metanolik ekstraktın serbest radikallerden arındırıcı aktivitesi, DPPH radikal temizleyici tahlili ile kantitatif olarak belirlenmiştir. Ekstrenin DPPH radikalleri üzerindeki maksimum inhibe edici etkisi yaklaşık % 95 iken, maksimum inhibitör konsantrasyonu yaklaşık 125 µg / mL olarak bulunmuştur [72].

S˘avikin ve diğ. , C. coggygria'nın yapraklarının ekstraktlarının DPPH (IC50 = 2,6 ± 0,4 ve 3,8 ± 0,5 µg / mL) ile reaksiyonda güçlü bir antioksidan aktivite gösterdiğini ve lipit peroksidasyonun inhibe edildiğini bildirmiştir [85]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada Yarat ve ark. C. coggygria sulu ekstraktının klinik olarak sağlıklı

deneklerden elde edilen tükürük örneklerinde glutatyon seviyesi (GSH) ve süperoksit dismutaz aktivitesi üzerindeki in vitro etkisini değerlendirmişlerdir. Bulgulara göre, C. coggygria ile inkübe edilen GSH tükürük numunelerinin GSH seviyeleri muamele edilmemiş tükürük numunelerininkinden anlamlı derecede yüksekken, SOD aktivitesi muamele edilmemiş numunelerden anlamlı derecede düşük bulunmuştur [86].

1.6.3.2. Antikanser aktivitesi

Cerrahinin ve radyoterapinin sınırlandırılmasından ve kemoterapinin kanser tedavisi olarak yan etkilerinden dolayı, doğal ürünlerden antitümör ilaçların geliştirilmesine ilgi artmaktadır. C. coggygria'nın yaprakları ve çiçeklerinden elde edilen metanol ekstreleri, insan serviks karsinomu HeLa hücreleri ve insan kolon karsinoması LS174 hücrelerine karşı önemli sitotoksik etkiler sergilemiştir [85].

Marc˘etic´ ve diğ., C. coggygria'nın genç sürgünlerinin aseton ekstraktının etil asetat fraksiyonunun, HeLa hücreleri üzerinde güçlü bir doza bağımlı sitotoksik aktivite gösterdiğini göstermiştir. Etil asetat fraksiyonunun sitotoksik etkisi, tanenin (IC50 = 17,3 ± 6,9 µg / mL) aktivitesinden daha belirgin (IC50 = 17,6 ± 0,8 µg / mL), ancak gallik asidin sitotoksisitesinden daha zayıf bulunmuştur. (IC50 = 10,0 ± 0,5 µg / mL) [87].

1.6.3.3. Antimikrobiyal aktivite

Bitkiler, antimikrobiyal de dahil olmak üzere farklı biyolojik aktivitelere sahip çeşitli kimyasal bileşenler üretir ki bu bileşenler çeşitli mikroorganizmalara karşı aktif etkiye sahiptir.Çok sayıda çalışma, C. coggygria ekstresinin çok çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal özellikler göstermiştir. C. coggygria'nın metanol ekstraktının in vitro antimikrobiyal aktivitesi, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Micrococcus lysodeikticus ve Candida albicans kullanılarak farklı mikroorganizmalar üzerinde test edilmiştir [72].

Metanol ekstraktının en yüksek konsantrasyonu (500 µg/mL), incelenen tüm bakterilerde inhibisyon bölgeleri 9 ila 18 mm arasında aktif bulunmuştur. Bütün fitopatojenik bakteriler, ekstrakt varlığında 300 ila 500 lg miktarında duyarlıyken, C. albicans dirençli bulunmuştur.

IC değerlerine göre test edilen ekstre, testdeki tüm patojenik bakterilere karşı 125 ila 250 µg/mL arasında antibakteriyel aktivite göstermiştir. Metanol ekstraktları ile elde

edilen MIC'ler Amracin'le karşılaştırıldığında yüksek olsa da, genel olarak 125 ila 250 µg/mL arasındadır [72]. C. coggygria yaprak ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi, Türkiye'de doğal olarak yetişen ve çeşitli solventlerle hazırlanan ekstraktların disk difüzyon metodu ile belirlenmiştir. Distile sudaki ekstraktın Enterococcus faecalis'e karşı en etkili olduğu, 20 mm'lik bir inhibisyon çapına sahip olduğu, metanol ekstresinin ise S. aureus, S. epidermidis ve E. faecalis'e karşı en etkili olduğu gözlenmiştir [88].

1.6.3.4. Antiviral aktivite

Bitkiler böcek öldürücü, mantar öldürücü ve antiviral aktiviteye sahip zengin biyoaktif bileşen kaynaklarıdır. Esas olarak bitkilerden elde edilen doğal antiviral bileşiklerin raporları, son on yılda oldukça artmıştır[89]. Antiviral ajanların iki ana etki şekli vardır: biri enfeksiyonun inhibisyonu, diğeri viral replikasyonun inhibisyonudur.

C. coggygria ekstresinin enfeksiyon ve replikasyon üzerindeki etkinliği, lokal lezyon ve yaprak disk yöntemleri ile belirlenmiştir. C. coggygria'nın yapraklarından elde edilen etanol ekstresi, Tütün mozaik virüsü (TMV) enfeksiyonuna (% 93,52) karşı özellikle güçlü inhibe edici aktivite göstermiştir ve viral replikasyonu (% 38,17) büyük ölçüde inhibe etmiştir [90].

1.7. Propolis

Propolis, işçi arıların ayakları ve üst çenelerini kullanarak bitkilerin tomurcuk, yaprak, kabuk gibi kısımlarından topladıkları bileşikleri ağızlarında nemlendirip enzimler katıp pelet haline getirdikleri zamksı bir maddedir (Şekil 1.10.). Pelet bacak hareketleri ile arka bacaktaki polen sepetçiğine aktarılır ve kovana taşınır. İşçi arılar bir seferde 10 mg propolisi kovana taşıyıp 25-30 dakikada boşaltabilirler. Bir kovandaki propolis miktarı 50 gramdan 600 grama kadar çıkabilir [91]. Propolisin fiziksel özelliği ve rengi bölgenin bitki türlerine göre farklılıklar gösterebilir. Arılar propolisi inşaat malzemesi olarak; kovandaki yarık ve çatlakları onarmak, kovanın iç yüzey kaplaması, çerçevelerin bağlanması, kovanın dip tahtasında propolisi merdiven gibi kullanarak çerçevelere kadar çıkmak amacıyla, kovan giriş deliğini kolaylıkla savunulacak duruma getirilmesi için kullanılırlar. Temizlik malzemesi olarak, kraliçe arı yumurtlamadan önce petek gözlerinin temizlenip cilalanması, kovan içerisine giren taşıyamayacakları büyüklükteki canlıları propolis ile mumyalayarak enfeksiyonu önleme amaçlı kullanırlar. Kovan içerisinde kapalı bir ortamda 50.000-80.000 ergin arı, bir o kadar da yavru (yumurta, larva, pupa)

bulunmasına, kovan içi sıcaklığının (34 °C) ve rutubetin (%40-65) de virüsler, bakteriler ve funguslar için çok ideal bir ortam oluşturmasına rağmen propolis koruyucu özelliğinden dolayı bu hastalık etmenleri üreme imkanı bulamamaktadır [92]. Propolis kelimesi antik romadan, pro(ön savunma) ve polis(şehir) kelimelerinden gelmektedir. Kovanın savunması anlamını taşımaktadır. Arı ve arı ürünlerinin kullanıldığı tedavi biçimlerine apiterapi denilmektedir. Arıların zehri (hastadaki felçli bölümlere uygulanarak), bal, propolis, polen, arı sütü, kovan havası (kovanın içerisindeki hava astım tedavisi için hastaya belirli sürelerde solutulur) apiterapi yöntemlerindendir. İnsanlar propolisi uzun zamandır apiterapi olarak kullanmaktadır. 2000 yıl önce mısırda yazılan papirüslerde arı ürünlerinin tedavi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. Antik Yunan Yazıtları'ndan diş çürükleri ve iltihaplı yara tedavisinde propolis kullanıldığı anlaşılmaktadır. Romalılar propolisi lapa halindeki karışımın içerisine katarak yara üzerine uygulamışlardır.12. yy Avrupası kayıtlarında ağız ve yara enfeksiyonları tedavisi, diş sağlığı alanlarında kullanıldığı görülmüştür. Arılar milyonlarca yıldır, insanlar binlerce yıldır propolisi çeşitli amaçlar için kullanmaktadır. Günümüzde propolis oldukça önemli bir konu haline gelip detaylı araştırmalar yapılmış ve insanlar henüz propolis hakkında çok az bir bilgiye sahiptir [93].



Şekil 1.10. Ham propolis

1.7.1. Propolisin fiziksel özellikleri

Depolama süresi ve bölgenin flora özelliklerine göre açık sarıdan koyu kahverengine kadar renk çeşitliliği gösterebilmekte, reçineli ve yapışkan bir yapıya sahiptir. Esnek, yumuşak ve yapışkan halde bulunduğu sıcaklık 25-45 °C olup, 15 °C' den az

sıcaklıklarda donmuş veya donmaya yakın sert, kırılgan haldedir. 45 °C üzerinde yapışkanlık artar. Sıvı faz 60-70 °C'de iken bazı örneklerde 100 °C görülebilmektedir. Kloroform, eter, aseton gibi çözücülerde kısmen çözünebilen propolis, % 95'lik alkolde büyük oranda çözünebilmektedir. Suda çok az veya hiç çözünmemektedir. Etanol dışındaki çözücülerle birçok bileşeni izole edilememiş ve uygulamaların çoğunda etanol çözeltisi hazırlanmıştır. Tıbbi alanlarda kullanılmak üzere hazırlanan çözeltiler % 70'lik alkol içerir [94].

1.7.2. Propolisin kimyasal özellikleri

Propolisin içeriğinde 300 den fazla molekül bulunmaktadır. Propolisin % 45-55'ini flavonoidler ve fenolik maddeleri içeren reçine kısmı oluşturmaktadır. % 23-35'ini balmumu ve bitkisel elemanlar, % 10'unu esansiyel yağlar, % 5'ini mineraller, laktonlar, steroidler, ketonlar, diğer organik bileşikler ve çeşitli elementler, % 5'ini aminoasit ve protein içerikli polen oluşturmaktadır [95].

Flavanonlar; naringenin, sakuranetin, pinostrobin, pinobanksin, pinsembrin, alpinetin, isosakuranetin

Flavon ve flavonoller; kamferol, quersetin, rhamnetin, krisin, galangin, kaempferid, asasetin, apigenin

Aromatik asitler; benzoik asit, sinnamik asit, kumarik asit, ferulik asit, gentisik asit, dihidroksinnamik asit, salisilik asit, vanilik asit, veratrik asit, kafeik asit

Aromatik esterler; tüm aromatik asitlerin benzil, bütil, sinnamil, etil, metil, pentil, pentenil fenetil ester formları mevcuttur.

Terpenoidler; linalyl acetate, α ve γ-murolene, β-selinene, β-eudesmol, caryophillene, β-Bisabolol, γ ve δ-cadinene, limonene, calamenene, caryophillene, 3-carene

Asilik hidrokarbonlar ve esterler; dotriacontanil heksadekanoat, heneikosan, heptakosan, pentakosan, triakontil heksadekanoat, triakontil oktadecenoat, triosane, tripentakontan, tritriakontan

Alifatik asitler; sitrik asit, fumarik asit, 4-pentenoik asit, bütanoik asit, 2, 3, 4-trihidroksibutanoik asit, malik asit

Alkoller; benzil alkol, sinnamil alkol, isobütil alkol, frenil alkol, fenetil alkol

Aldehitler; benzaldehit, propiyonaldehit, vanillin, izovanillin, 3,4-dihidroksibenzaldehit

Chalcon ve dihidrochalconlar; sakuranetin chalcone, 2,6-dihidroksi -4,4 dimethoksidihidrochalcone, isosakuranetin chalcone, naringenin chalcone, alpinetin chalcone

Steroidler; chalinasterol asetate, β-dihidrofucosterol asetat, fukosterol asetat, stigmasterol asetat

Şekerler ve şeker alkolleri; fruktoz, glukoz, gliserol, inositol, salisin, sorbitol, sukroz

Aromatik hidrokarbonlar; 3,4-dihidroksistyrene, naphthalene, styrene asetofenonlar ve diğer ketonlar; Asetofenon, dihidroksiasetofenone, metilasetofenon

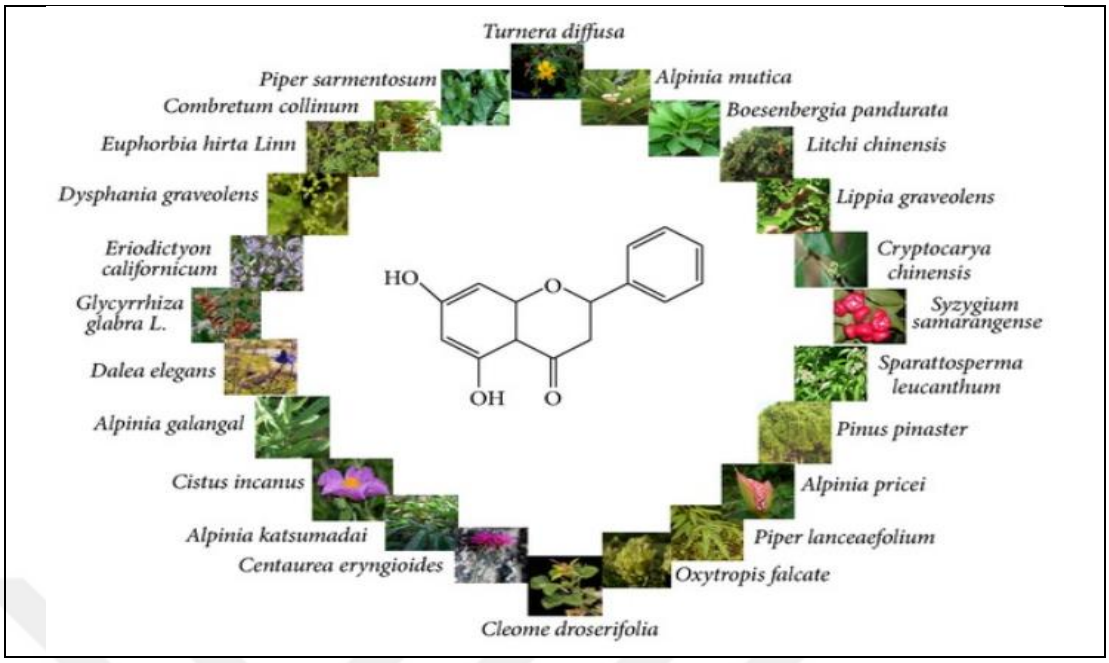
Alifatik yağ asitleri ve esterleri; araşidik asit, kerotik asit, laurik asit, linoleik asit, oleik asit, palmitik asit

Amino asitler; alanin, arginin, glutamik asit, lösin, metionin, fenilalanin, prolin, proglutamik asit, triptofan, tirozin

Alifatik esterler; alifatik asitlerin benzil, bütil, etil, isoamil, isobutil, metil ve fenetil esterleri

Ayrıca propolisin yapısında; magnezyum, kalsiyum, demir, nikel, çinko ve bakır gibi bazı elementler ve çeşitli vitaminler de bulunmaktadır [96-97].

Propolis bileşenleri arı kolonisinin bulunduğu bölgedeki bitki türlerine bağlı olduğu için karasal iklimde olan bir kovan ile ekvatoral iklime sahip böldeki kovanın içerisindeki propolis bileşenleri farklı kimyasal özelliğe sahip olabilirler (şekil 1.11.). Brezilya'da 12 farklı tipte propolis tanımlanırken Akdeniz Bölgesi'nden toplanan propolis tek tip özellik gösterip, temel bileşeni diterpenik asitlerdir [98]. Kavak bitkisi tomurcukları karasal iklime sahip bölgelerin propolis kaynağı olup, bu propolisin çeşitli flavonoidleri içeren fenolik bileşikler, aromatik asitler ve onların esterleri bakımından zengin olduğu bildirilmiştir [95]. Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış propolislerin ana bileşenlerinin naringenin, galangin, krisin, pinobaksin, kuarsetin gibi flavonoidler ve kafeik asit gibi fenolik asitlerden oluştuğu gösterilmiştir [99].



Şekil 1.11. Arıların flavonoid kaynakları

1.7.3. Propolisin biyolojik özellikleri

Propolis serbest radikalleri tutma, biyolojik polimerlere bağlanma eğilimi, elektron taşınmasının hızlandırılması, ağır metal iyonlara bağlanması gibi farmakolojik özelliklere sahiptir. Propolis içerisindeki flavonoidlerin; antimikrobiyal ve immünomodülatuar, antienflamatuar, antioksidan, antiülser, intestinal motilite ve sekresyon inhibisyonu, antitümoral, vasküloprotektif, antiosteoprotik, hepatoprotektif özellikleri rapor edilmiştir [100].

Propolis; prostaglandin sentezinin inhibisyonu, lipooksijenaz ve siklooksijenaz sentezinin baskılanması ve hidrofolat redüktaz inhibisyonu yoluyla antienflamatuar etki gösterebilmektedir [101].

Propolisin prostaglandinlerin sentezini inhibe eden, timus bezini aktive eden, fagositik aktiviteyi tetikleyerek savunma sistemine yardımcı olan, hücresel bağışıklığı stimüle eden ve epitelyal dokularda iyileşmeyi olumlu etkileyen özelliklere sahip olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur [102].

Antifungal etki; pinosembrin, pinobanksin, CAPE, benzil ester, sakuranetin ve pterostilben ile Antiviral etki CAPE, luteolin ve kuarsetin ile sağlanmaktadır [103].

Antibakteriyel etki; pinosembrin, galangin, kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve ferulik asit molekülleri ile olmaktadır [103].

Propolis içeriğindeki kuarsetin, luteolin, artepillin-C, kafeik asit ve kafeik asit fenetil ester gibi maddelerin anti tümöral etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir [104].

Propolisin kimyasal bileşenleri olan flavonoidlerin immün sistemi indüklediği ve oksijen radikallerinin temizlenmesini sağladığı düşünülmektedir. Ayrıca, trombosit agregasyonunu ve eikosanoid sentezini inhibe ederek immün sistem üzerinde düzenleyici etki göstermektedir [105].

Russo ve ark. yaptıkları çalışmanın sonucunda CAPE'in propolisin antioksidan etkinliğinde çok önemli bir role sahip olduğunu ifade etmişlerdir [102].

Kumazawa ve ark., kamferol ve fenetil kafeat gibi antioksidan içeriğinden dolayı propolisin güçlü antioksidan özelliğinin olduğunu tespit etmişlerdir [107].

Flavonoidlerin serbest radikal temizleme, lipit peroksidasyonu inhibisyonu ve metal şelat oluşturma özelliklerinden dolayı propolis içindeki en etkili ve bol bulunan antioksidan madde olduğu belirtilmiştir [108].

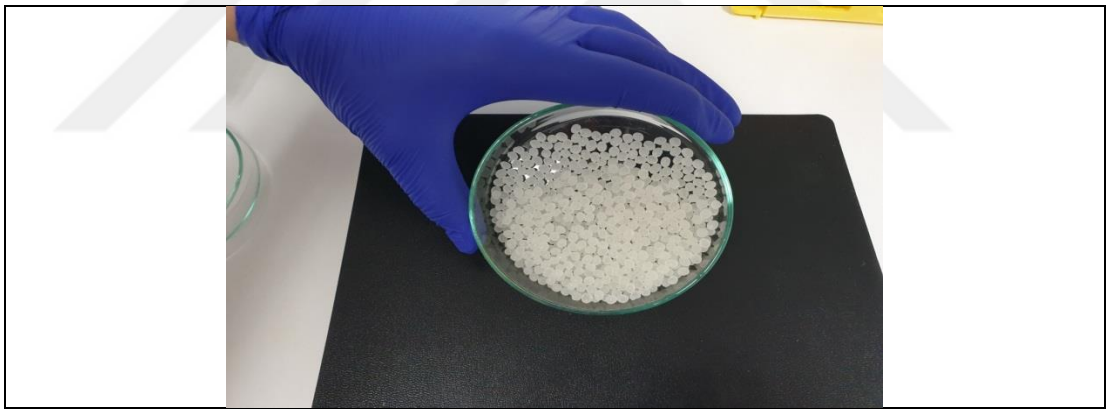
2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Boyacı Sumağı (Cotinus Coggygria) Özütünün Hazırlanması

Kuru bitkinin yaprakları 25g/L olacak şekilde distile suda 20 dakika kaynatılıp elde edilen özüt -20 °C'de dondurulup liyofilize edildi.

2.2 Yara Örtülerinin Elektro-Çekim Yöntemi ile Elde Edilmesi

Biyoaktif ve antimikrobiyal özelliğe sahip nano/mikro fiber yapılı yara örtüsü geliştirmek üzere biyouyumluluk özelliği olan polimerden yararlanıldı. Hazırlanan homojen polimer çözeltileri elektro-çekim işlemine tabi tutularak nano/mikro fiber eldesi gerçekleştirildi. Elektro-çekim işleminde kullanılan çözeltinin hazırlanması amacıyla PLA (Şekil 2.1.), NatureWorks® PLA Polymer 2002D olarak temin edildi.



Şekil 2.1. Pelet halinde PLA

Yine çözeltilerde katkı maddesi olarak kullanılmak üzere SBS Bilimsel Bio Çözümler San. Ve Tic. A.Ş.' den etanol çözeltisi içinde propolis ekstraktı temin edildi.

Katkı maddesi olarak kullanılan boyacı sumağı Ankara'dan temin edildi. Çözücü olarak Kloroform (Sigma-Aldrich) ve DMF' den (Merc) faydalanıldı. Firmalardan elde edilen kimyasallar herhangi bir kimyasal işleme tabi tutulmadan doğrudan kullanıldı.

PLA kloroform içinde oda sıcaklığında 24 saat boyunca manyetik karıştırıcı kullanılarak homojen bir şekilde çözüldü.

Bu çözelti kullanılarak her biri 10 mL olacak şekilde 6 farklı içerikte çözelti (A, B, C, D, E ve %10 propolis+boyacı sumağı) hazırlandı. Propolisin eklendiği örneklerde propolis çözeltisi DMF hacmini tamamlayacak şekilde eklendi.

A çözeltisi: %13,5 PLA, Kloroform:DMF (9:1) çözücüsünde olacak şekilde hazırlandı.

B çözeltisi: %5 Propolis içeren %12,2 PLA, Kloroform:DMF (8,5:1,5) çözücüsünde olacak şekilde hazırlandı.

C çözeltisi: %10 Propolis içeren %12,2 PLA, Kloroform:DMF (8,5:1,5) çözücüsünde olacak şekilde hazırlandı.

D çözeltisi:%15 Propolis içeren %10,8 PLA, Kloroform:DMF (8:2) çözücüsünde olacak şekilde hazırlandı.

E çözeltisi: %15 Propolis ve Boyacı Sumağı Özütü (0,5 mg/mL) içeren %10,8 PLA, Kloroform:DMF (8,5:1,5) çözücüsünde olacak şekilde hazırlandı.

%10 Propolis ve boyacı sumağı içeren çözelti: %10 Propolis ve Boyacı Sumağı Özütü (0,5 mg/mL) içeren %12,2 PLA, Kloroform:DMF (8:2) çözücüsünde olacak şekilde hazırlandı.

Elektro-çekim işlemi yatay çalışma prensibine göre tasarlanmış olan İnovenso Nanospinner marka laboratuvar tipi cihaz ile gerçekleştirildi (şekil 2.2.). Hazırlanan çözeltiler 10 mL hacme sahip şırıngalar içine aktarıldı. Çözelti, besleyici üniteden (standart 10 mL şırınga) küt uçlu iğne (20 gauge) vasıtası ile üzerinde alüminyum folyo sarılı olan toplayıcıya gönderildi.



Şekil 2.2. İnovenso nanospinner

Çözeltinin elektrik alana beslenme miktarı 30 µL/dk olarak belirlendi. Toplayıcının, besleyici üniteye olan uzaklığı ise 10 cm olmak üzere ayarlandı. Elektro-çekim işlemi, 18 kV elektrik alan şiddetleri altında gerçekleştirildi. Elektriksel alan oluşturulurken alternatif akımdan (AC) faydalanıldı.

2.3. Yara Örtülerinin Karekterizasyonu

2.3.1. Morfolojik analiz (taramalı elektron mikroskobisi)

Üretilen yara örtülerinin nano/mikro fiber yapı ve çapını belirleme çalışmaları TÜBİTAK MAM Malzeme Enstitüsü'nde bulunan JEOL JSM 6335F model Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile gerçekleştirildi (Şekil 2.3.). Polimerik numunelerden görüntü alınabilmesi için numuneler vakum altında platin ile kaplandı. Kaplama işlemi tamamlandıktan sonra, fiber yapıların 10 kV hızlandırma gerilimi altında 1.000, 2.000 ve 5.000 büyütmede (magnifikasyon) görüntüleri çekildi.



Şekil 2.3. JEOL JSM 6335F model Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

2.3.2.Yara örtülerinin mekanik analizi

Numuneler 7 cm boyunda 1 cm eninde kesilerek ASTM D883 standardında INSTRON marka 3345 model Universal dikey çekme cihazında çekildi (Şekil 2.4.). Çekme hızı 1cm/dk olarak ayarlandı.



Şekil 2.4. INSTRON marka 3345 model Universal dikey çekme cihazı

2.3.3.Yara örtülerinin su temas açısının belirlenmesi

Numunelere distile su damlatılarak saniyede 10 poz alacak şekilde attension BY KSV INSTRUMENTS marka temas açısı ölçme cihazı (Şekil 2.5.) ile görüntü alındı.



Şekil 2.5. Temas açısı ölçme cihazı

2.3.4.Yara örtüsü bileşenlerinin fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometrisi (FT-IR) ile analizi

Üretilen yara örtüleri Perkin Elmer Spectrum 100 marka FT-IR cihazı (Şekil 2.6.) kullanılarak karakterize edildi.



Şekil 2.6. Perkin Elmer Spectrum 100 marka FT-IR cihazı

2.3.5. Yara örtülerinden propolis salımının belirlenmesi

% 15 Propolis içeren gruptan farklı ağırlıkta numuneler hazırlanarak 1 mL PBS (Gibco) içine alındı ve 37 °C de 24 saat bekletildi. Süre sonunda PBS çözeltisinin 400 nm deki abzorbans değeri multi mod mikroplaka okuyucuda (FlexStation 3, Molecular Devices) belirlendi (Şekil 2.7.) ve propolis kalibrasyon eğrisi kullanılarak yara örtüsü ağırlığı ve propolis salım miktarı arasındaki bağıntı ortaya çıkarıldı.



Şekil 2.7. Multi mod mikroplaka okuyucu (FlexStation 3, Molecular Devices)

Aynı şekilde tüm çalışma gruplarından 0.015 g (n=3) numuneler tartılarak 1 mL PBS içine alındı ve 37 °C de 7 gün süre ile takip edildi. Her 24 saatte PBS çözeltisi alındı ve 400 nm deki abzorbans değeri multi mod mikroplaka okuyucuda (FlexStation 3,Molecular Devices) belirlendi (Şekil 2.7.). Numunelere her gün taze PBS eklendi. 400 nm'deki abzorbans değerleri kullanılarak yara örtülerinin zamana bağlı propolis salım grafikleri oluşturuldu.

2.3.6. Yara örtülerinin biyouyumluluğunun değerlendirilmesi

2.3.6.1.Metabolik aktivitenin ölçümüne dayalı sitotoksisite testi

Temel olarak çoğalan hücrelerin artan dehidrojenaz enzim aktivitesi ile tetrazolyumu kullanarak formazan boya üretmesi sonucu görülen renk değişiminin absorbans olarak, spektrofotometre ile ölçülmesine dayalıdır.

Çalışmamızda her gruptan hazırlanan numunelerin önce her iki yüzeyi 15 dk UV C sterilizasyonuna maruz bırakıldıktan sonra CellCrown (Scaffdex) plastik tutucularla gergin bir şekide sabitlenerek 24 kuyucuklu plakalara kuyucukta asılı kalacak şekilde yerleştirildi ve üzerlerine L929 fibroblast hücreleri ($6.4x10^4$/numune) ekilerek 24 saat sonunda WST-1 testi (Roche) ile numuneler üzerindeki canlı hücre sayısı belirlendi.

2.3.6.2 Canlı-ölü hücre boyama testi

24 ve 48 saatlik inkübasyon sonunda L929 hücrelerinin ekilmiş olduğu 6 mm çapındaki yara örtüleri fenol kırmızısı içermeyen low glucose DMEM besiyerinde 1 kez yıkandıktan sonra canlı/ölü hücre boyamasına (Molecular Probes Live/Dead Viability/Cytotoxicity Kit, for mammalian cells L3224) tabi tutuldu. Bunun için hücreli filmler ve doku kültürü polistireni yüzeyine ekilmiş hücreler (pozitif control) 2 mM ethidyum homodimer-1 ve 4 mM calcein-AM içeren, fenol kırmızısı içermeyen DMEM besiyeri içerisinde 30 dakika karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda örnek1er 1 kez besiyeri ile yıkanıp floresan mikroskopta (Olympus IX53) görüntüleri çekildi.

2.3.6.3. Yara örtülerinden salınan propolisin hücre canlılığına etkisi

Hücrelere sitotoksik etkisi olmadığı belirlenen en yüksek propolis oranına sahip olan %10 propolis içeren PLA grubundan, %10 propolis ve boyacı sumağı içeren PLA grubundan ve kontrol grubu olarak da PLA grubundan 0.015g ağırlığında (n=3) numuneler hazırlanarak UV C ile sterilizasyon sonrası 1 mL hücre kültürü besiyerine (%10 FBS ve %1 Pen/Strep/Am B içeren DMEM) alındı ve 12 saat süre ile 37 °C de inkübe edildi. Süre sonunda yara örtülerinden salınan propolisi (ve boyacı sumağını) içeren besiyerleri alınarak 96 kuyucuklu plakaya ekilmiş olan L929 fibroblast hücreleri (kuyucuk başına 2.0 x 10^4 hücre) üzerine aktarıldı ve 24 saat süre ile 37 °C'de CO_2 inkübatörde kültüre edildi. İnkübasyon süresi sonunda her kuyucuktaki canlı hücre sayısı MTT testi ile belirlendi.

2.3.7. Mikrobiyolojik testler

Çalışmada *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 standart suşu ve *Candida albicans* ATCC 90028 standart suşu kullanıldı.

Staphylococcus aureus ATCC 29213'ün üretilmesi:

Stoktan çıkarılan *S.aureus* koyun kanlı agar besiyerinde 37^{o}C'de 18-24 saat boyunca atmosferik şartlarda inkübe edilerek üretildi. Çalışma yapılmadan önce en az iki kere pasaj yapıldı.

Candida albicans ATCC 90028'in üretilmesi:

Sabouraud % 4 dextrose agar (SDA) besiyeri hazırlanması: Besiyeri üreticinin önerisi doğrultusunda 1 litre distile su içerisine 65 g toz besiyeri eklenerek hazırlandı. Hazırlanan besiyeri otoklavda (ALP) 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edildi. Yaklaşık 55^{o}C sıcaklığına geldiğinde aseptik şartlarda steril petrilere döküldü.

Stoktan çıkarılan *C. albicans* SDA besiyerine ekildi ve 37^{o}C'lik etüvde (Memmert) 24 saat inkübe edildi. *C. albicans* çalışmaya başlamadan önce en az 2 kere pasajlandı.

2.3.7.1. Propolisin antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

Sıvı mikrodilüsyon testi: Sıvı mikrodilüsyon yöntemi EUCAST standartlarına uygun şekilde yapıldı. Mueller-hinton sıvı besiyeri (Oxoid) kullanılarak Propolis'in farklı konsantrasyondaki dilüsyonları (6, 3, 1,5, 0,75, 0,375, 0,188, 0,094, 0,047 µg/mL) hazırlandı. *S. aureus* ATCC 29213 standart suşundan steril serum fizyolojik kullanılarak doğrudan koloni süspansiyon yöntemiyle 0,5 MacFarland bulanıklığına denk bulanıklık elde edildi. Bakteri sayısı spektrofotometrede 600 nm'de 0,08-0,1 OD değeri elde edilecek şekilde ayarlandı. Elde edilen bu solüsyondan her kuyuda 5 x 10^5 CFU / mL olacak şekilde bakteri kuyucuklara eklendi. Plaka 37^{o}C'de 18-24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) belirlendi.

2.3.7.2. Yara örtülerinden salınan propolisin antimikrobiyal etkisi

Hücrelere sitotoksik etkisi olmadığı belirlenen en yüksek propolis oranına sahip olan %10 propolis içeren PLA grubundan, %10 propolis ve boyacı sumağı içeren PLA grubundan ve kontrol grubu olarak da PLA grubundan 0.015g ağırlığında (n=3) numuneler hazırlanarak UV C ile sterilizasyon sonrası 1 mL hücre kültürü besiyerine (C. albicans için RPMI 1640 + %2 glukoz besiyeri kullanıldı, S. aureus için Mueller-hinton sıvı besiyeri kullanıldı) alındı ve 6 ve12 saat süre ile 37 °C de inkübe edildi.

Antibakteriyel duyarlılık testi:

Bir gün önceden pasajlanan *S. aureus* suşundan bir miktar alınıp MHB besiyeri içerisinde süspanse edildi. Süspansiyon içerisindeki bakteri miktarı spektrofotometrede (Shimadzu) 600 nm'de optikal dansite 0,08-0,1 arasında (0,5

McFarland) olacak şekilde ayarlandı. Oluşan bakteri süspansiyonu 1/10 oranında seyreltildi.

Hazırlanan yara örtüsü ekstraktlarından 100'er µL alınıp steril 96 kuyucuklu pleytin kuyucuklarına bırakıldı. Üzerlerine 1/10 oranında seyreltilen bakteri solüsyonundan 5'er µL eklendi. Sterilite kontrolü kuyucuğuna sadece 100 µL MHB besiyeri eklenirken, üreme kontrolü kuyucuğuna 100 µL MHB besiyeri ve 1/10 oranında seyreltilen maya solüsyonundan 5 µL eklendi. Tüm kuyular 3 tekrar şeklinde çalışıldı. Plaka 37^{o}C'lik etüvde 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tüm kuyular spketrofotometrede 600 nm'de okutuldu.

Antifungal duyarlılık testi:

RPMI 1640 + %2 glukoz besiyeri hazırlanması: Antifungal duyarlılık testinde kullanılmak üzere RPMI 1640 + %2 glukoz besiyeri hazırlandı. Bir litre besiyeri hazırlamak için 10,4 g RPMI 1640 (Sigma), 34,53 g MOPS (Sigma) ve 20 g anhidröz D-glukoz (Merck) tartıldı. Bunlar önceden 50^{o}C'ye ısıtılmış 1 litre distile su içerisinde tamamen çözülünceye kadar karıştırıldı. İyice çözüldükten sonra besiyeri pH'sı 7,0'a ayarlandı. Solüsyon 0,22µm filtreden geçirilerek sterilize edildi.

Bir gün önceden pasajlanan *C.albicans* suşundan bir miktar alınıp RPMI 1640 + %2 glukoz besiyeri içerisinde süspanse edildi. Süspansiyon içerisindeki maya miktarı spektrofotometrede (Shimadzu) 530 nm'de optikal dansite 0,11-0,14 arasında (0,5 McFarland) olacak şekilde ayarlandı. Oluşan maya süspansiyonu 1/100 oranında seyreltildi.

Hazırlanan yara örtüsü ekstraktlarından 90'ar µL alınıp steril 96 kuyucuklu plakanın kuyucuklarına bırakıldı. Üzerlerine 1/100 oranında seyreltilen maya solüsyonundan 10'ar µL eklendi. Sterilite kontrolü kuyucuğuna sadece 100 µL RPMI 1640 + %2 glukoz besiyeri eklenirken, üreme kontrolü kuyucuğuna 90 µL RPMI 1640 + %2 glukoz besiyeri ve 1/100 oranında seyreltilen maya solüsyonundan 10 µL eklendi. Tüm kuyular 3 tekrar şeklinde çalışıldı. Plaka 37^{o}C'lik etüvde 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tüm kuyular spketrofotometrede 530 nm'de okutuldu.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Yara Örtülerinin Morfolojik Özellikleri

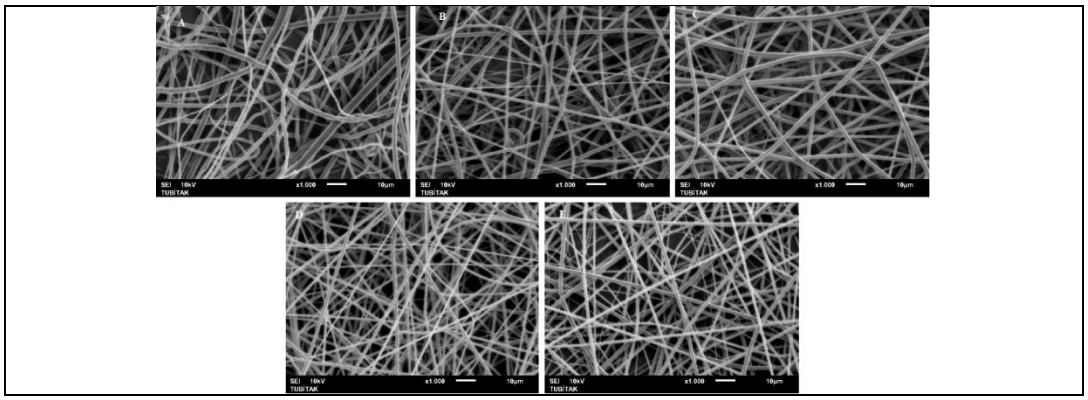
Optimizasyon çalışmaları sonucunda fiberlerin düzgünlüğü, ağ yapısı ve boncuk (bead) oluşumu taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak belirlendi (Şekil 3.1.). Elde edilen SEM görüntülerinden FibroQuant programı kullanılarak fiberlerin ortalama çapları belirlendi (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Üretilen yara örtülerinin ortalama fiber çapı

Yara Örtüsü	Alınan Ölçüm Sayısı	Ortalama fiber çapı
PLA	837	0,506 ± 0,217 µm
PLA-%5 Propolis	740	0,593 ± 0,199 µm
PLA-%10 Propolis	717	0,646 ± 0,199 µm
PLA-%15 Propolis	799	0,574 ± 0,182 µm
PLA-%15 Propolis + Boyacı Sumağı	904	0,537 ± 0,189 µm

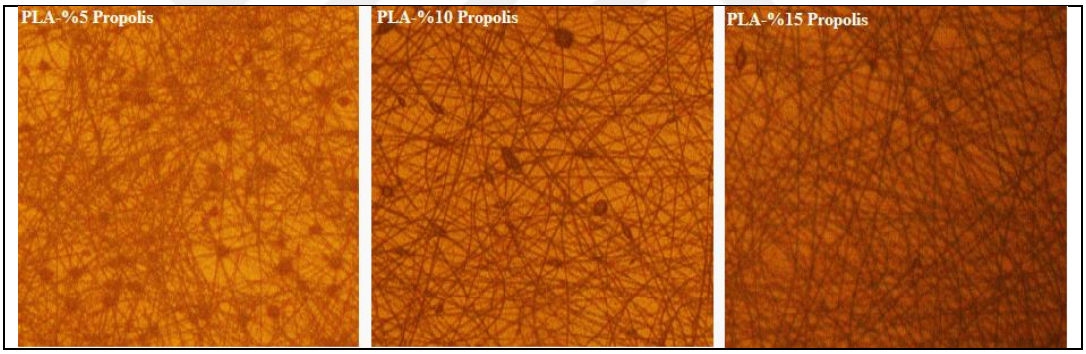
Temelde elde edilen fiber çapları birbirine yakın olmakla birlikte propolis içeren örneklerde polimer konsantrasyonu azaldıkça fiber çapı azalmıştır. Polimer konsantrasyonundaki azalış viskoziteyi düşürdüğünden nihai lif çapını da düşürmektedir. ImageJ programı kullanılarak yara örtülerinin gözenekliliği hesaplandı.

Sadece PLA içeren yara örtüsü gözenekliliği % 26,16, PLA-% 5 Propolis içeren yara örtüsü gözenekliliği % 28,67, % 10 Propolis içeren yara örtüsü gözenekliliği % 20,72, % 15 Propolis içeren yara örtüsü gözenekliliği % 17,27, % 15 Propolis + Boyacı Sumağı içeren yara örtüsü gözenekliliği % 21,95 olarak bulundu.



Şekil 3.1. Yara örtülerinin ağsı yapılarını kanıtlayan 1000x büyütmedeki SEM görüntüleri. A) PLA, B) PLA-%5 Propolis, C) PLA-%10 Propolis, D) PLA-%15 Propolis, E) PLA-%15 Propolis-Boyacı Sumağı

Yapılan optimizasyon çalışmaları esnasında çözeltideki ağırlıkça propolis miktarı arttıkça elektro-çekme işleminde bir hata türü olan boncuk oluşumunun azaldığı gözlendi (Şekil 3.2.). Propolis miktarındaki artış viskoziteyi arttırıp boncuk oluşumunu azaltmaktadır.



Şekil 3.2. Yara örtüsünde propolis miktarındaki değişimin boncuk oluşumuna etkisinin ışık mikroskobu görüntüleri. Büyütme: 100 X

3.2. Yara Örtülerinin Mekanik Özellikleri

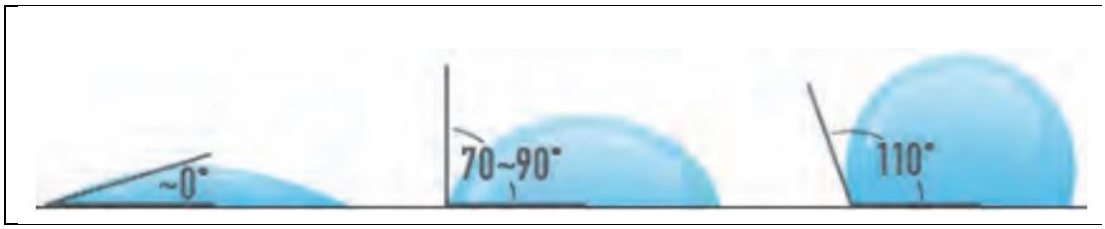
Çekme testi verileri incelendiğinde (her numuneden üç tane örnek hazırlanıp test uygulandıktan sonra verilerin ortalaması alındı) propolis miktarındaki artışın yara örtüsüne esneklik kazandırdığı görüldü, böylece yumuşak dokulara uyumlu olacağı düşünüldü (Tablo 3.2.). Yine yara örtüsündeki propolis miktarı arttıkça Young Modül'ü düşmektedir (Şekil 3.3). Böylece derinin Young Modul'üne yakın değerlere ulaşılmaktadır. Genç bireylerde derinin young modülü ortalama 20 MPa iken yaşlılarda 20-100 MPa' dır [109].

Tablo 3.2. Yara örtülerinin çekme testi değerleri

Numune Adı	Young Modülü (MPa)	Kopmadaki Uzama (%)	Maksimum Yükte Çekme Gerilmesi (MPa)
PLA (A)	316,5 ±10,6	15,0 ± 5,3	2,49 ± 1,09
PLA-%5 Propolis (B)	234,5 ± 37,4	15,0 ± 5,0	1,98 ± 0,27
PLA-%10 Propolis (C)	214,3 ± 4,1	27,0 ± 2,7	1,89 ±0,33
PLA-%15 Propolis (D)	233,9 ± 12,2	42,7 ± 15,0	2,67 ± 0,57
PLA- %15Propolis + Boyacı Sumağı (E)	107,0 ± 16,5	101,0 ± 6,4	1,61 ± 0,86

3.3. Yara Örtülerinin Su Temas Açısı Sonuçları

Yara örtülerinden beklenen özelliklerden biri de yara yatağındaki eksüdayı emme kabiliyetidir. Bu da yara örtüsünün hidrofilik (suyu seven) olmasıyla ilgilidir. Katı bir yüzey ile bu katı yüzey üzerindeki sıvı damlası arasında katı, sıvı ve hava (buhar) fazlarının kesiştiği noktadan sıvı damlaya teğet olarak çizilen doğrunun eğimi "temas açısı" olarak tanımlanmaktadır. Sıvının kendi molekülleri arasındaki çekim kuvvetlerinin (kohezyon kuvvetleri) büyüklüğü, sıvı-katı arası çekim kuvvetlerinin (adezyon kuvvetleri) büyüklüğünden ne kadar fazla ise, sıvı-katı arasındaki temas açısı da o kadar fazla olmaktadır. Temas açısı 0-50° arasında olan yüzeyler “süperhidrofil”, 50-90° arasında olan yüzeyler “hidrofil”, temas açısı 90°'den büyük olan yüzeyler ise “hidrofob” olarak nitelendirilir. Katı bir yüzey üzerinde su damlasının temas açısı 150°'den büyük olan yüzeyler “süperhidrofob”, söz konusu sıvı bir yağ (hidrokarbon) damlası olduğunda ve bu açı 150°'den büyük olduğunda ise “süperoleofob” olarak adlandırılır [110]. Şekil 3.3.'de farklı yüzeylere ait sıvı temas açıları gösterilmektedir.



Şekil 3.3. Farklı yüzeylere ait sıvı temas açıları [109]

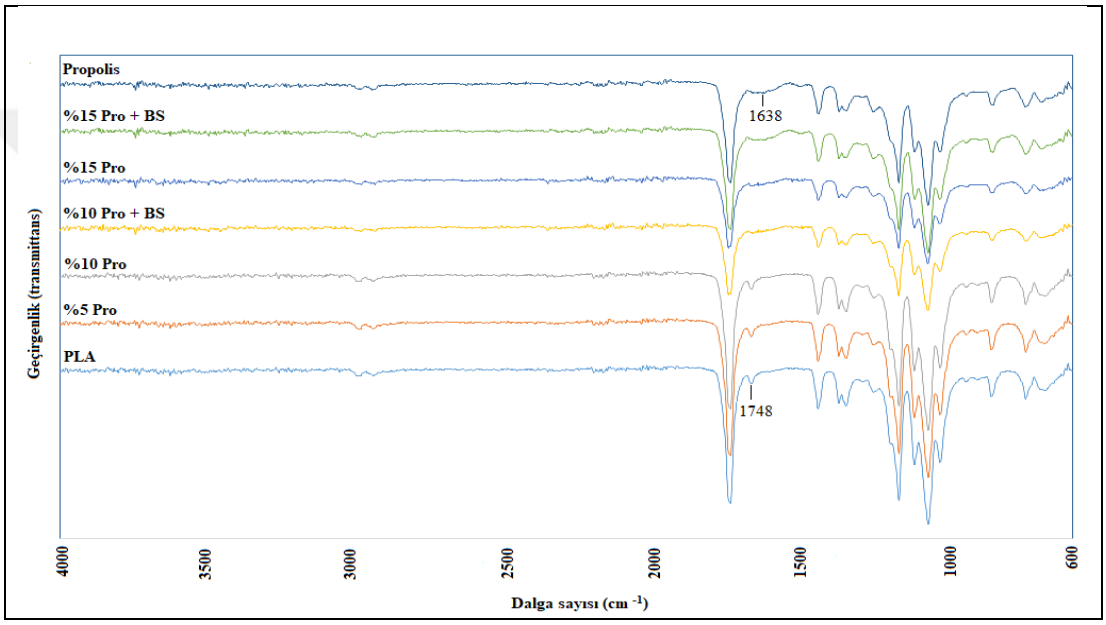
Tablo 3.3. incelendiğinde sadece PLA olan yara örtüsünün hidrofobik olduğu görülmektedir. Yara örtülerine yüklenen propolis miktarındaki artış yara örtülerinin hidrofilikliğini arttırmaktadır. Bu da yara örtülerine yüklenen propolis miktarındaki artışın yara örtülerinden beklenen emicilik özelliğini arttırdığını gösterir. Yine %10 propolis, %10 propolis ve boyacı sumağı içeren yara örtüleri kendi aralarında karşılaştırıldığında boyacı sumağının hidrofilikliği arttırdığı görülmektedir. Aynı durum %15 propolis ve %15 propolis ve Boyacı sumağı içeren yara örtülerinde de görülmektedir.

Tablo 3.3. Yara örtülerinin su temas açıları

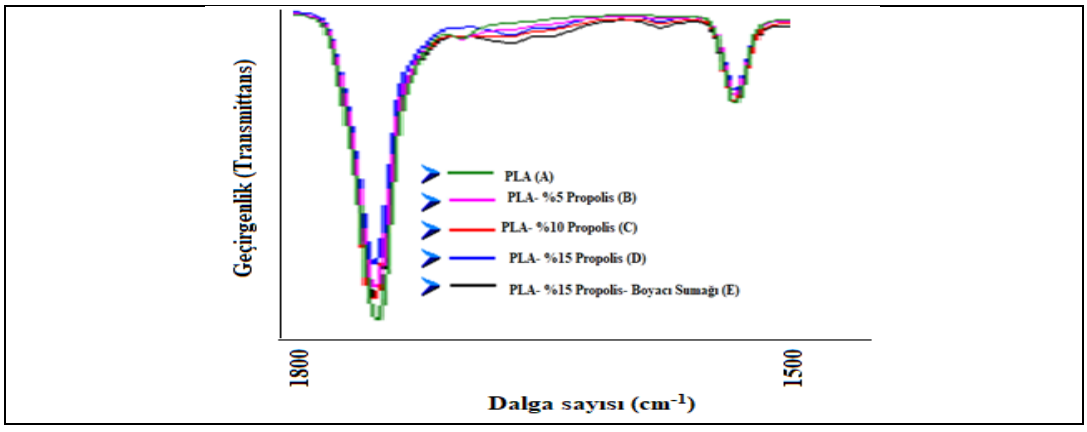
Numune Adı	**Su temas açısı (^{o})**
PLA	98 ± 9
PLA-%5 Propolis	88 ± 6
PLA-%10 Propolis	86 ± 1
PLA-%10 Propolis + Boyacı Sumağı	71 ± 12
PLA-%15 Propolis	48 ± 8
PLA- %15Propolis + Boyacı Sumağı	22 ± 13

3.4.Yara Örtüsü Bileşenlerinin Fourier DönüşümlüKızılötesi Spektrofotometrisi (FT-IR) Sonuçları

Şekil 3.4. ve Şekil 3.5. incelendiğinde propolis miktarındaki artış ile propolisin 1638 cm^{-1} deki karakteristik piki altında kalan alanda artış gözlenmektedir [111]. Bu sonuç hedef miktardaki propolisin elektro-çekme işlemiyle yara örtülerine yüklenebileceğini gösterir. 1683 cm^{-1}'de görülen C=O (karbonil) gerilimi propolis içindeki kafeik asit ve türevlerinden kaynaklıdır [111]. PLA 1748 cm^{-1}'de karakteristik C=O (karbonil) gerilimini göstermektedir [112].



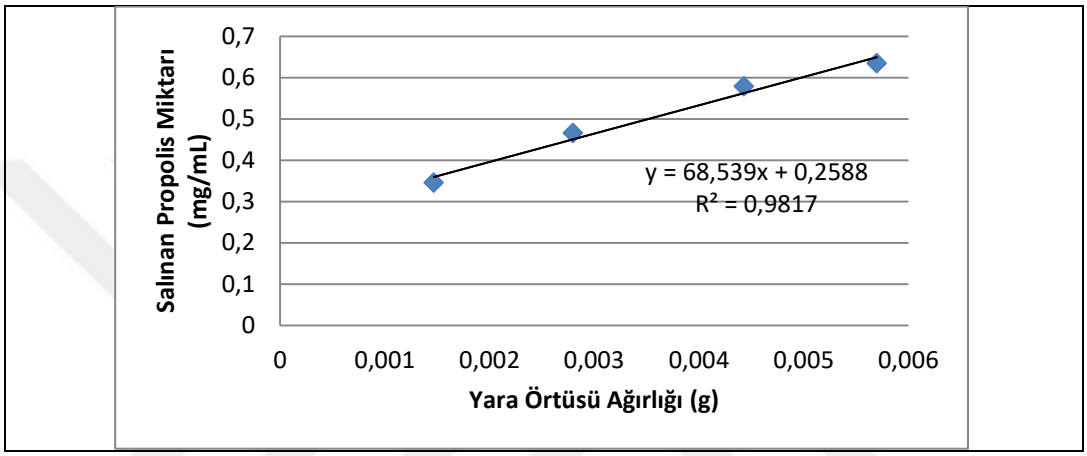
Şekil 3.4. Yara örtülerinin FT-IR spektrumu



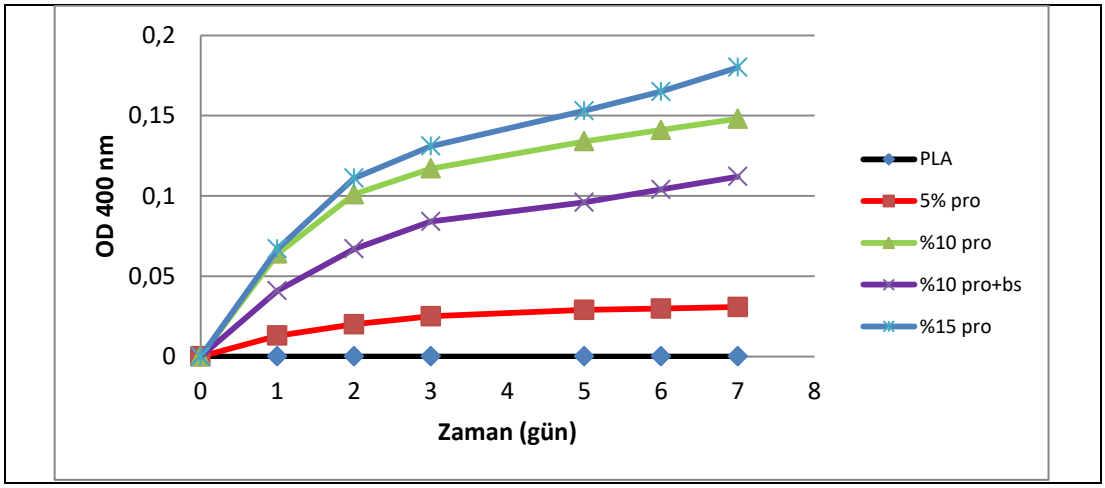
Şekil 3.5. Yara örtülerinin 1500-1800 cm^{-1} dalga sayısındaki FT-IR spektrumu

3.5. Yara Örtülerinden Propolis Salımı

Yara örtülerinden propolis salımını değerlendirmek amacıyla %15 propolis içeren yara örtüsünün farklı ağırlıklarda tartılan numunelerinin PBS içinde 24 saat sonundaki propolis salımı değerlendirildi ve yara örtüsü ağırlığı ile propolis salımı arasında doğru orantı olduğu tespit edildi (Şekil 3.6.). Bu sayede propolisin fiberlere elektroeğirme sırasında homojen dağıldığı ve fiberlerden salınabildiği kanıtlanmış oldu.



Şekil 3.6. %15 propolis içeren yara örtüsünün numune ağırlığına bağlı propolis salım grafiği. Numuneler PBS içinde 37 ^{o}C'de 24 saat süre ile bekletildi, PBS içine salınan propolis mikarı 400 nm'deki abzorbans değerlerinden belirlendi



Şekil 3.7. Farklı oranlarda propolis içeren yara örtülerinin zamana bağlı propolis salım grafikleri

Şekil 3.7. incelendiğinde %5 propolis içeren yara örtüsünün 5. günden sonra salımın neredeyse durduğu, %10 ve %15 propolis içeren yara örtüsünün 5. günden sonra salımın devam ettiği görülmektedir. %10 propolis ve %10 propolis + Boyacı sumağı

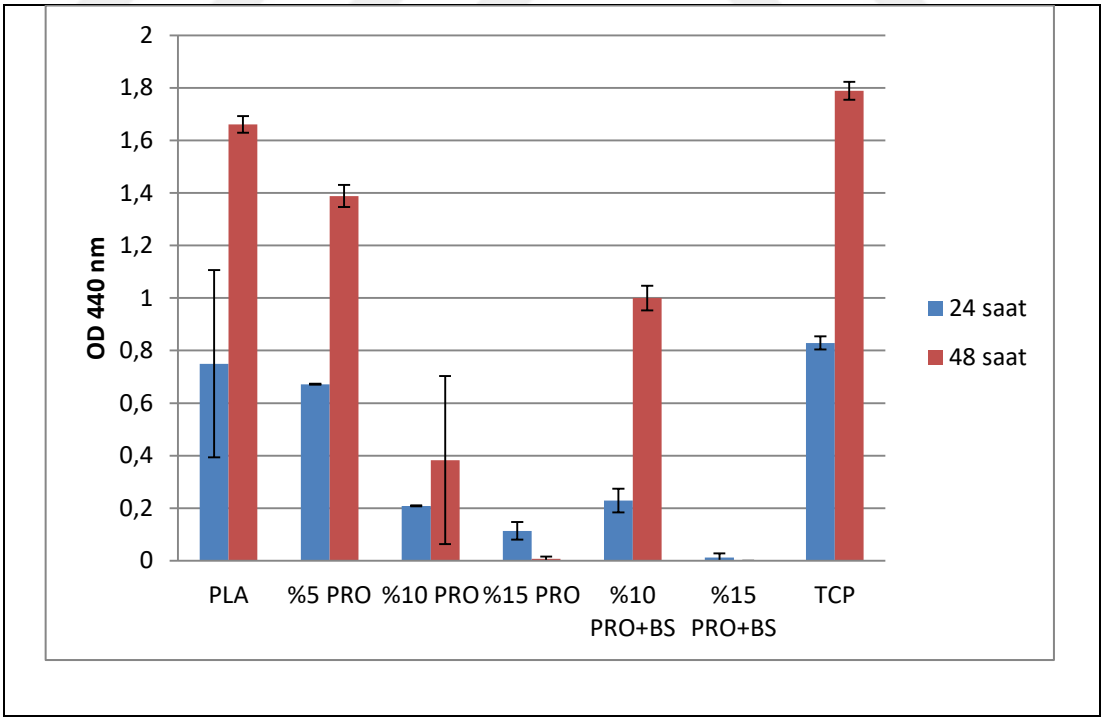
içeren yara örtüleri incelendiğinde %10 + Boyacı sumağı içeren yara örtüsünde propolis, Boyacı sumağı ile birlikte olmasından dolayı daha az salınmıştır.

7. günün sonunda yara örtülerinden salınan propolis oranları; %5 propolis içeren yara örtüsünde %16,53, %10 içeren yara örtüsünde %39,3, %10 propolis ve Boyacı sumağı içeren yara örtüsünde %29,9, %15 propolis içeren yara örtüsünde %32' dir. Boyacı sumağının görünür ışık dalga boylarında abzorbansı olmadığından dolayı salımı belirlenemedi, propolis ve Boyacı sumağı içeren numunenin 400 nm'deki abzorbansı sadece propolise aittir.

3.6. Yara Örtülerinin Biyouyumluluk Analiz Sonuçları

3.6.1. Sitotoksisite bulguları

L929 fibroblast hücrelerinin en çok PLA ve %5 propolis içeren PLA yara örtülerine tutunabildiği, propolis oranının %10'a yükselmesi ile yara örtüsü üzerine tutunan canlı hücre sayısında %60-70 civarında azalma olduğu görüldü. %15 propolis içeren PLA örtüleri üzerinde en az canlı hücre sayısı tesbit edildi ve boyacı sumağı varlığında canlı hücre sayısı daha da azaldı (Şekil 3.8).

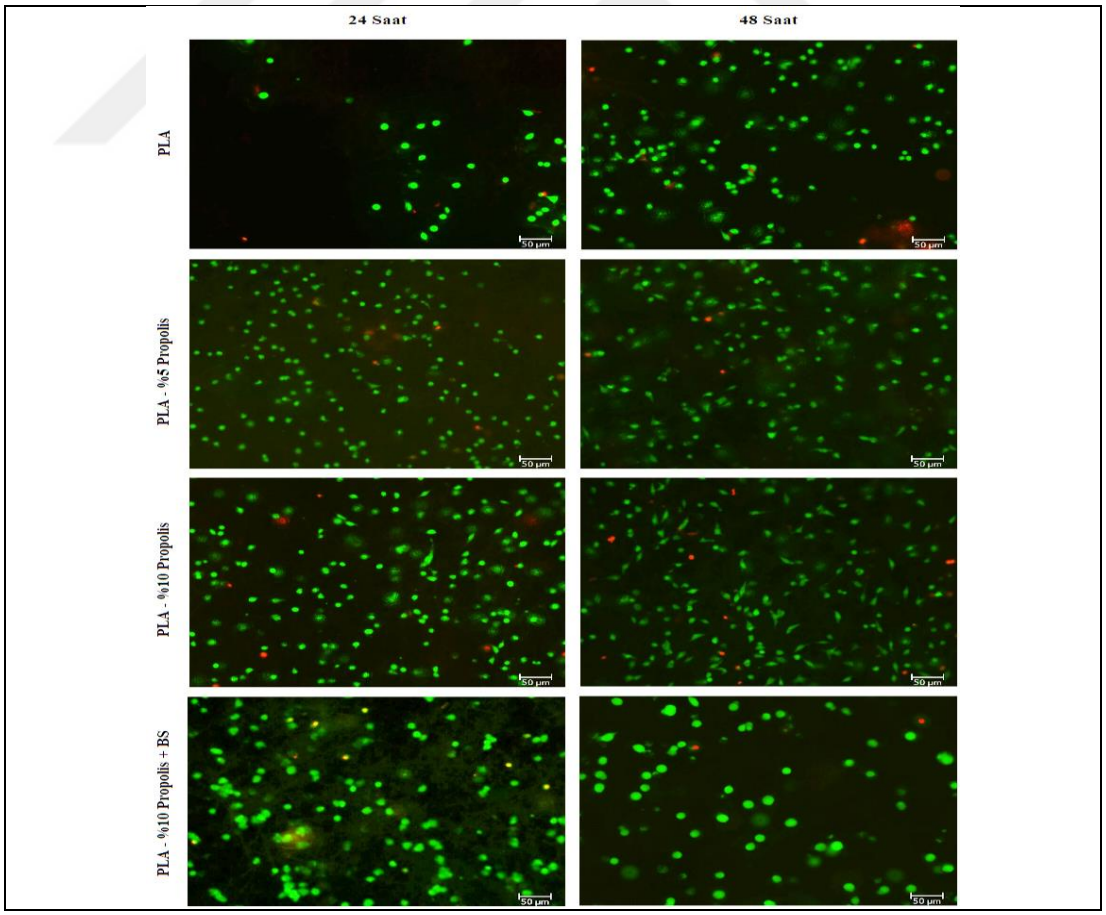


Şekil 3.8. Farklı oranlarda propolis içeren yara örtülerine ekilen hücrelerin 24 ve 48 saat sonundaki mitokondriyel aktivitesi (WST-1 testi). TCP: Hücre kültürü polistireni

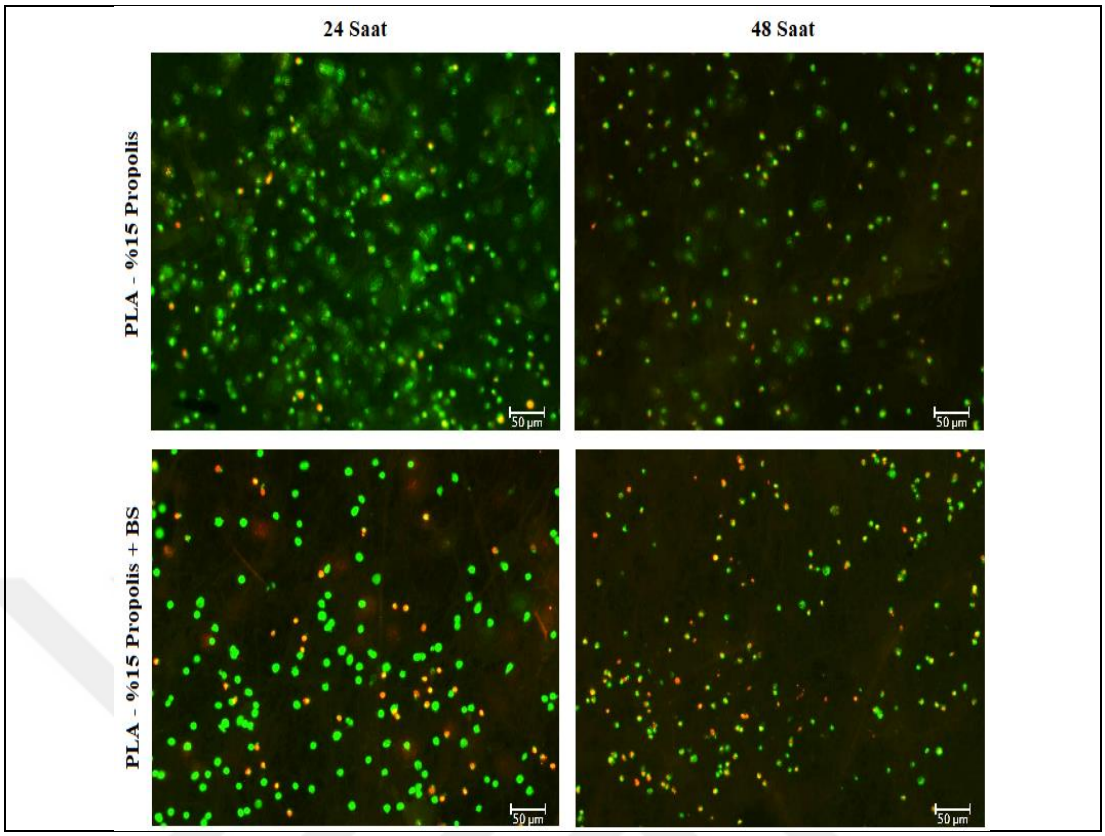
48. saat sonunda PLA, %5, %10 propolis içeren yara örtülerinin üzerindeki canlı hücre sayısında artış görülmüştür (Şekil 3.8.). Boyacı sumağı içeren ve içermeyen, kütlece %10 propolis içeren yara örtülerindeki 48. saat canlı hücre sayısı verileri kendi aralarında karşılaştırıldığında boyacı sumağının varlığı canlı hücre sayısında artışa neden olmuştur. Bu da boyacı sumağının biyoaktif özelliğinden kaynaklanmaktadır. 48. saatin sonunda %15 propolis ve %15 propolis + Boyacı sumağı içeren yara örtülerinin hücreleri öldürdüğü görülmektedir.

3.6.2. Canlı-ölü hücre boyama sonuçları

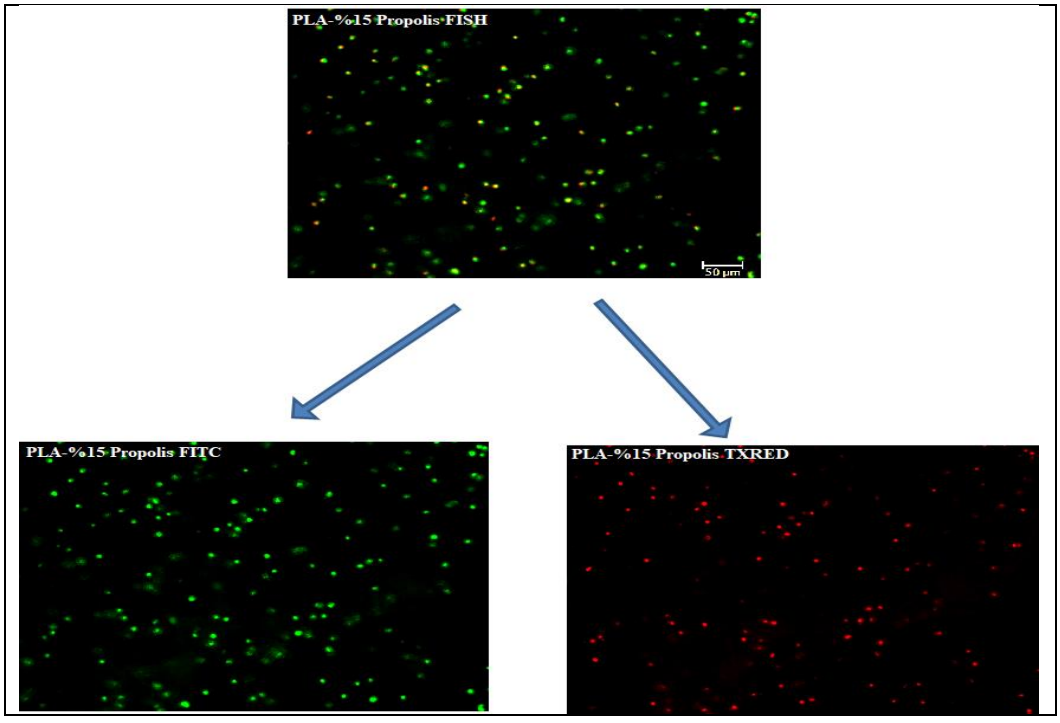
Canlı ölü hücre boyamasında yeşil renkteki hücreler canlı hücreleri kırmızı renkteki hücreler ölü hücreleri belirtmektedir. 24. ve 48. saatin sonundaki canlı- ölü boyama sonrası elde edilen mikroskopi görüntüleri incelendiğinde % 10 propolis oranına kadar yara örtüleri üzerinde minimal düzeyde ölü hücre gözlemlendi (Şekil 3.9.). Propolis oranı %15'e yükseldiğinde ise ölü hücre sayısında ciddi bir artış gözlemlendi (Şekil 3.10., 3.11., 3.12.).



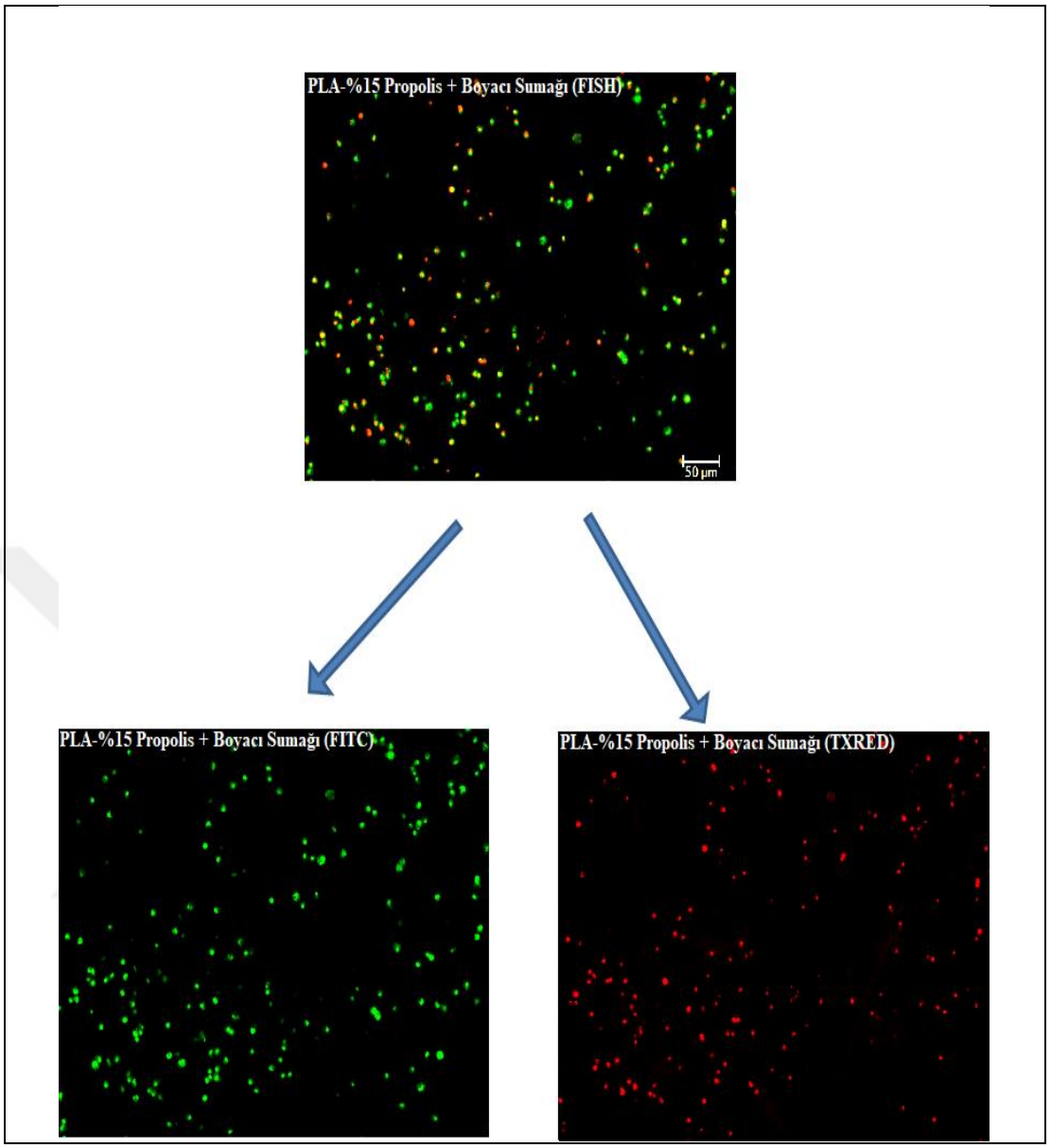
Şekil 3.9. Yüzeyine L929 fibroblast hücresi ekilmiş, PLA, %5, %10 propolis + Boyacı Sumağı ve %10 propolis içeren yara örtülerinin 24 ve 48. inkübasyon saatindeki canlı-ölü hücre boyamasının floresan mikroskopi görüntüleri



Şekil 3.10. Yüzeyine L929 fibroblast hücresi ekilmiş, %15 propolis ve boyacı sumağı içeren yara örtülerinin 24 ve 48. inkübasyon saatindeki canlı-ölü hücre boyamasının floresan mikroskopi görüntüleri



Şekil 3.11. Yüzeyine L929 fibroblast hücresi ekilmiş, %15 propolis içeren yara örtülerinin 48. inkübasyon saatindeki canlı-ölü hücre boyamasının floresan mikroskopi görüntüleri. Yeşil: canlı hücre, kırmızı: ölü hücre



Şekil 3.12. Yüzeyine L929 fibroblast hücresi ekilmiş, %15 propolis ve boyacı sumağı içeren yara örtülerinin 48. inkübasyon saatindeki canlı-ölü hücre boyamasının floresan mikroskopi görüntüleri. Yeşil: canlı hücre, kırmızı: ölü hücre

24. ve 48. saat sonundaki canlı kalan ve ölü olan hücreler ImageJ programı kullanılarak sayıldı. Tablo 3.4.' de görüldüğü gibi sadece PLA içeren yara örtüsünde % 27,56 oranında ölü hücre vardır.

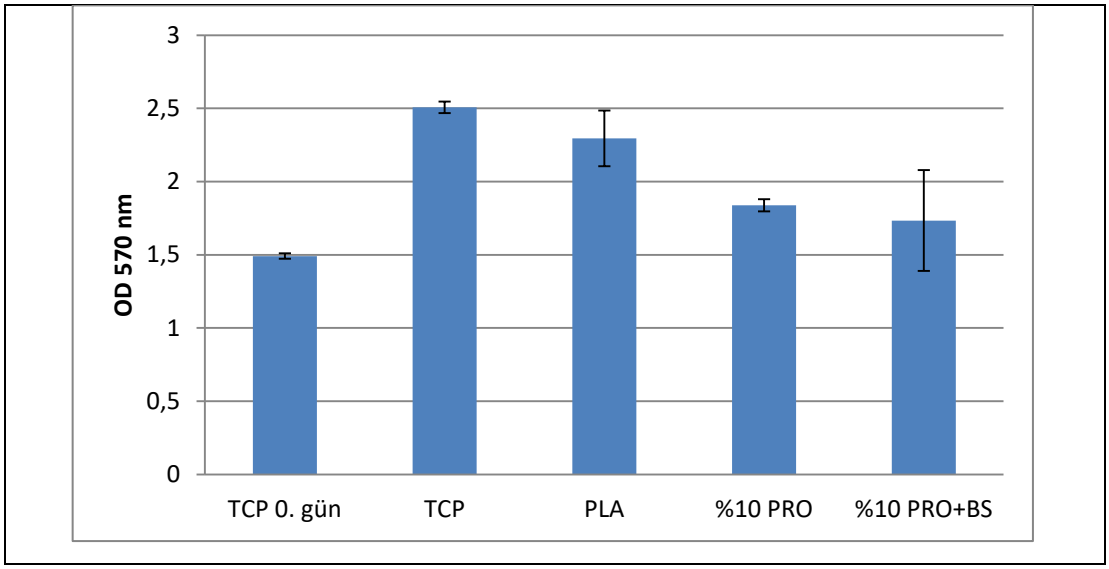
Buradan sadece PLA içeren yara örtüsünü kullanmanın uygun olmadığı görülmektedir. Tablo 3.4. incelendiğinde, yara örtüsüne kütlece %10 propolis yüklendiğinde tutunan hücrelerde en az ölüm oranı görülmektedir. Propolis miktarı kütlece %15 olduğunda yara örtüsü toksik etki sergilemektedir.

Tablo 3.4. 24. ve 48. Saat sonunda yara örtülerindeki ölü hücre yüzdesi

Yara Örtüleri	24. Saatdeki Ölü Hücre Yüzdesi	48. Saatdeki Ölü Hücre Yüzdesi
PLA	% 27,56	% 18,83
PLA-%5 Propolis	% 6,87	% 12,23
PLA-%10 Propolis	% 5,04	% 9, 84
PLA-%15 Propolis	% 41,32	% 56,66
PLA-%15 Propolis + Boyacı Sumağı	% 29,12	% 50,22

3.6.3. Yara örtülerinden salınan propolisin hücre canlılığına etkisi

Hücrelere sitotoksik etkisi olmadığı belirlenen en yüksek propolis oranına sahip olan %10 propolis içeren PLA grubundan, %10 propolis ve boyacı sumağı içeren PLA grubundan ve kontrol grubu olarak da PLA grubundan numunelerin hücre kültürü besiyerine 12 saatte saldığı özütün L929 fibroblast hücreleri üzerine etkisi incelendiğinde normal besiyeri uygulanmış hücrelere göre PLA özütünün daha yüksek bir standart sapmaya neden olmasına rağmen hücre çoğalmasını fazla etkilemediği görüldü (Şekil 3.13). %10 propolis içeren PLA yara örtüsü özütünün hücrelerin çoğalmasını yavaşlattığı, boyacı sumağı varlığında da benzer bir sonuca ulaşıldığı görüldü.

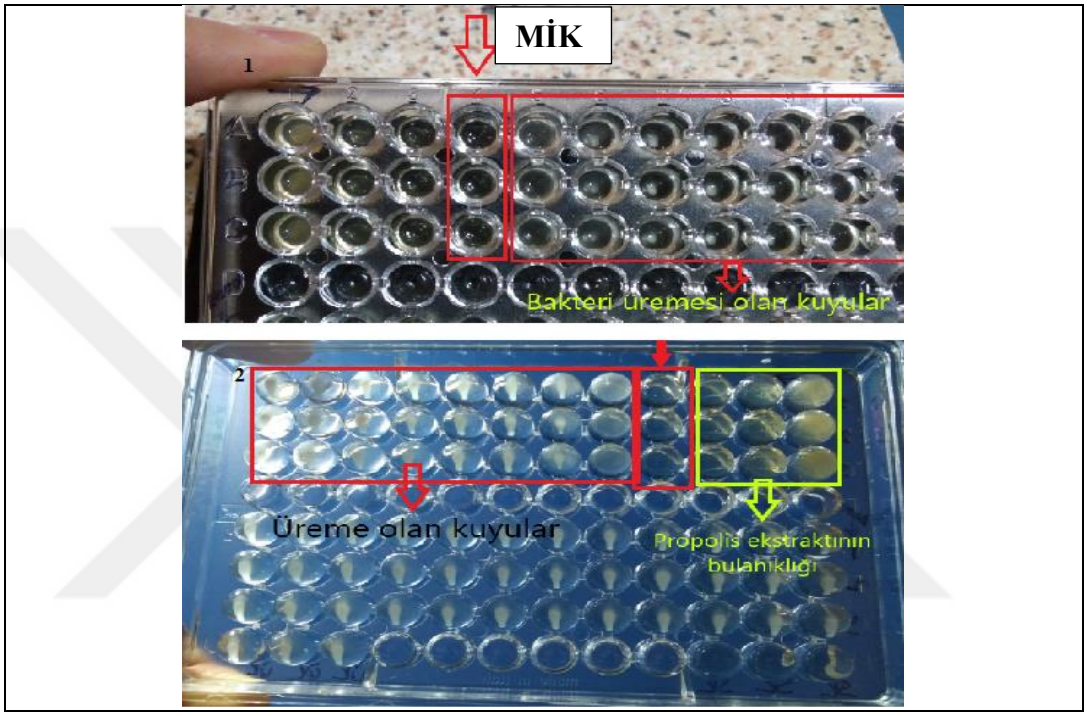


Şekil 3.13. Yara örtülerinden 12 saatte gerçekleşen aktif madde salımının L929 fibroblast hücrelerinin canlılığı üzerine etkisi. 24 saatlik kültür sonunda elde edilen MTT testi sonuçları

3.7. Mikrobiyolojik Test Sonuçları

3.7.1. Propolisin antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

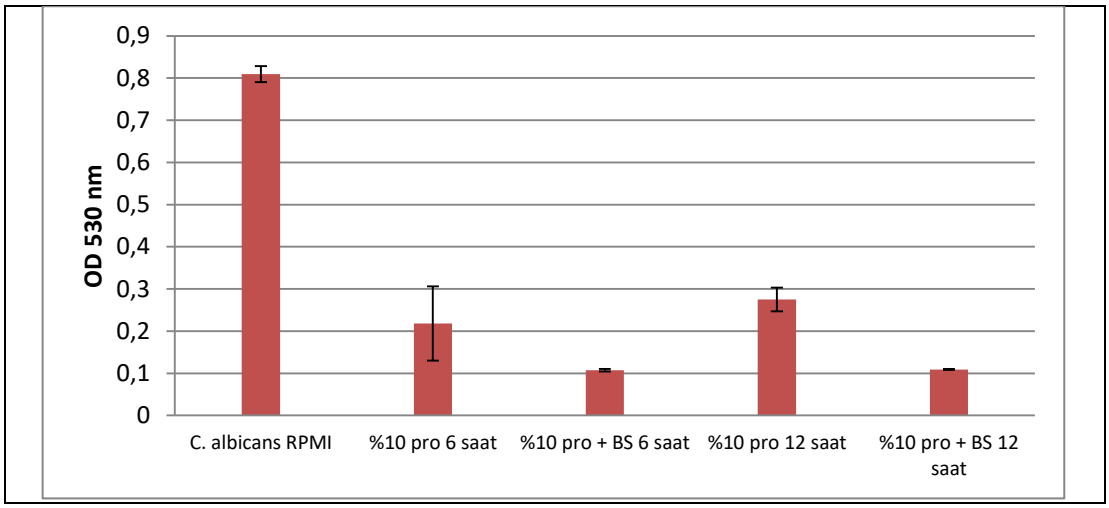
Sıvı mikrodilüsyon testi sonucunda propolisin *S. aureus* ATCC 29213 standart suşu üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği ve MİK değerinin de 0,75 mg/mL olduğu belirlendi (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Propolisin sıvı mikrodilüsyon testi sonuçları. (1) 96 kuyucuklu plakanın önden görünümü, (2) 96 kuyucuklu plakanın arkadan görünümü. MİK değeri, yani üremenin olmadığı en düşük propolis konsantrasyonu, 0,75 mg/mL olarak belirlendi

3.7.2. Yara örtülerinden salınan propolisin antimikrobiyal etkisi

Ağırlıkça 0.015g numunelerinin 6 ve 12 saatlik salım özütlerinin çalışıldığı %10 propolis içeren PLA, %10 propolis ve boyacı sumağı içeren PLA ve kontrol grubu olarak PLA gruplarının hiçbiri *S. aureus* üzerinde herhangi bir inhibisyona neden olmadı. Buna karşın aynı salım özütleri *C. albicans* üzerinde büyümeyi inhibe edici özellik gösterdi (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. Yara örtülerinden 6 ve12 saatte gerçekleşen salımın *C. albicans* canlılığı üzerine etkisi. 24 saatlik kültür sonunda elde edilen MTT testi sonuçları

%10 propolis içeren PLA yara örtüsünün *C. albicans* büyümesini % 75 inhibe ettiği, %10 propolis ve boyacı sumağı içeren PLA yara örtüsünün *C. albicans* büyümesini % 87,5 inhibe ettiği belirlendi.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada antimikrobiyal özelliğe sahip, biyouyumlu ve biyobozur, nano/mikro fiber yapıya sahip, açık yara iyileşmesine yardımcı olabilecek yara örtüsü üretmek amaçlandı. Yeni çalışmalar mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı dirençleri arttığından dolayı yara örtülerine yüklenen antibiyotikler yerine doğal ürünlere doğru kaymaktadır. Arılar milyonlarca yıldır kendi ürettiği propolisi antimikrobiyal amaçla kullandıklarından dolayı çalışmada propolis kullanmak uygun görüldü. Yine boyacı sumağı (*C. coggigria*) olarak bilinen bitki antifungal özelliği nedeniyle ve yara iyileşmesine olan olumlu etkileri nedeniyle yara örtüsüne eklendi. Yara örtüsünün ana malzemesi olarak biyouyumlu bir polimer olan PLA kullanıldı. Nano/mikro fiber üretimi için elektro-çekme işleminden faydalanıldı. Elektro-çekme işlemi sonucunda düzgün, pürüzsüz ve doku iskelesi için uygun olan ağsı (network) fiberler elde edildi. Optimizasyon çalışmaları esnasında düzgün fiber oluşturmak için gerekli olan PLA konsantrasyonunun % 13,5 olması gerektiğine karar verildi ve çözeltilere eklenen kütlece propolis miktarı artışının elektro-çekme işleminde bir hata türü olan boncuk oluşumunu azalttığı gözlemlendi. Elektro-çekilmiş yara örtülerine eklenen propolisin miktarındaki artışın Young Modül'ünde düşüşe ve kopmadaki uzama miktarında artışa neden olarak yara örtüsü özelliklerinin derinin özelliklerine yaklaşmasını desteklediği belirlenlendi. Üretilen yara örtülerinin su temas açısı analizleri sonucunda yara örtülerine yüklenen propolis miktarındaki artışın hidrofilikliği arttırdığı belirlendi. Bu da yara yatağında oluşan eksüdayı emmek için yara örtülerinde olması gereken özelliklerdendir. Yara örtülerine uygulanan sitotoksisite testleri sonucunda kütlece % 15 propolis içeren yara örtüsünün üzerine ekilen fibroblast hücrelerine bu orandaki propolisin sitotoksik etki yaptığı anlaşılıp, en uygun propolis miktarının kütlece %10 olduğuna karar verildi. Kütlece %10 propolis ve boyacı sumağı içeren yara örtüsünden salınan aktif madde fibroblast hücrelerine minimal düzeyde toksik etki yaparken, aynı yara örtüsü üzerine tutunan fibroblast hücrelerinin çoğalmasını destekledi, fibroblastik morfolojilerini almasına olanak sağladı.

Mikrobiyolojik testler sonucunda %10 propolis içeren PLA yara örtüsünden salınan aktif maddenin *C. albicans* büyümesini % 75 inhibe ettiği, %10 propolis ve boyacı sumağı içeren PLA yara örtüsünden salınan aktif maddenin ise *C. albicans* büyümesini % 87,5 inhibe ettiği belirlendi. Yara örtülerine eklenen propolis ve boyacı sumağının yüksek konsantrasyonda, hücrelere toksik olan dozda, *S.aereus* üzerinde inhibe edici etkisi olduğu belirlendi.

Piyasada olan benzer yara örtüleriyle karşılaştırıldığında çalışmamızda üretilen yara örtüsünün antibiyotik yerine doğal ürünleri içermesi, üretiminin maliyetli olmaması, üretim tekniğinin kolaylığı, yurtdışına bağımlılığı azaltması nedenleriyle avantajlı olduğu düşünülmektedir.

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar doğrultusunda gerekli iyileştirme ve geliştirmelerle birlikte umut vaad eden yara örtüleri geliştirildi. Yara örtüsü üretiminde kullanılan elektro-çekme tekniği ile yara örtüsü kalınlığının her bölgede sabit olmasını sağlamak zor olduğundan aktif madde salımının homojen olabilmesi için tekniğin optimize edilmesi ve yara örtülerinin daha dinamik ve fizyolojik bir ortam sağlayacak olan *in vivo* koşullarda test edilmesi yara örtüsünün biyoaktif özelliklerinin etkinliği konusunda daha net sonuçların alınmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

[1] Mistler R.E., Twiname E. R., *Tape Casting, Theory and Practise*, 2nd ed.,The American Seramic Society, Westerville, 2000

[2] Mutlu G., Doku Rejenerasyonunda Kullanılmak Üzere Etken Madde Yüklü Nanofibriler Yapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Nanotıp Anabilim Dalı, Ankara, 2014, 379619.

[3] Kalelioğlu D., Kemik Doku İmplant Malzemeleri, Osseointegrasyon ve Antibakteriyel Etkinlik, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2015, 415230.

[4] Williams D. F., Consensus and Definitions in Biomaterials, Editors: de Putter C., de Lange G. L., de Groot, K., Lee A. J. C., *Advances in Biomaterials*, Elsevier Science, Amsterdam, 11-16, 1988.

[5] Gümüş S., Peek Esaslı Spinal İmplantların Antibakteriyel Özelliklerinin ve Osteokondüktivitesinin Nano-Yapılı Kaplamalarla Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2017, 466642.

[6] Tabak Y., Silisyum Nitrür Esaslı Biyomalzemelerin Yapay Kemik Uygulamaları için Şerit Döküm Yöntemi İle Üretimi ve Karakterizasyonu, Doktora Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2018, 522124.

[7] Pekşen C., Doğan A., İmplant Dayanımı, *TOTBİD Dergisi,* 2011, **10**(2), 122-128.

[8] Gür A. K., Taşkın M., Metalik Biyomalzemeler ve Biyouyum, *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 2004, **2**(2), 106-113.

[9] Yalçın B., Toz Metalurjisi Yöntemi ile İmal Edilen Titanyum Alaşımı İmplantların Temel Özelliklerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 2007, 200076.

[10] Tüyel A. U., Production and Characterization of Bioceramic Nanopowders of Natural- Biological Origin, Yüksel Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2008, 233502.

[11] Chevalier J., Gremillard L., Ceramics for Medical Applications: A Picture for the Next 20 Years, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 2009, **29**(7), 1245-1255.

[12] Pasinli A., Aksoy R.S., Yapay Kemik Uygulamaları için Hidroksiapatit, *J. Biotechnol.*, 2010, **1**(1), 41-51.

[13] Özkan A., Şişik N., Öztürk U., Kompozit Malzemelerin Ağız, Yüz, Çene Cerrahisinde Kullanımı ve Malzeme Uygunluklarının Belirlenmesi, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2016, **4**(1), 227-242.

[14] Sevencan A., Seber S., Polimerler, *TOTBİD Derg*., 2011, **10**(2), 96-102.

[15] Gökçekaya Ö., Elektrostatik Sprey Yöntemi ile Hidroksiapatit Esaslı Saf ve Gümüş Katkılı Antibakteriyel Biyoseramik Gözenekli Kaplamaların Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2011, 327312.

[16] Ramakrishna S., Mayer J., Wintermantel E., Biomedical Applications of Polymer-Composite Materials : A Review, *Compos. Sci. Technol*., 2001, **61**(9), 1189-1224.

[17] Altındaş M., Yara-Açık Yara, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Cilt Hastalıkları ve Yara Bakımı Sempozyumu, İstanbul, Türkiye, 18-19 Ekim, 2001.

[18] Tayran N., Yara Enfeksiyonlarından Korunma ve Kontrol, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Cilt Hastalıkları ve Yara Bakımı Sempozyumu, İstanbul, Türkiye, 18-19 Ekim, 2001.

[19] Akyüz N., Yara İyileşme ve Bakımında Temel İlkeler, Yara Bakımı ve Tedavisi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyumu, İstanbul, Türkiye, 18-19 Ekim, 2001.

[20] Yüceyar S., Yara Bakımı ve Tedavisi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyumu, İstanbul, Türkiye, 18-19 Ekim, 2001.

[21] Yapucu Güneş Ü., Kronik Yaraların Değerlendirilmesi, *C.Ü. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 2007, **11**(3), 38-42.

[22] Yazar H., Karaca İ. R., Yumuşak Dokuda Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörlerve Skar Revizyonu*, Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Derg*isi, 2016, **15**, 152-161.

[23] Hanna J. R., Giacopelli J. A., A Review of Wound Healing and Wound Dressing Products, *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, 1997, **36**(1), 2-14.

[24] Winter G.D., Formation of the Scab and the Rate of Epithelization of SuperficialWounds in the Skin of the Young Domestic Pig., *The Journal of Nature*, 1962, **193**, 293-294.

[25] Phillips T. J., Dover J. S., Leg Ulcers, *The Journal of Am Acad Dermatol*, 1991, **25**(6), 965-987.

[26] Thomas S., Banks V., Fear M., A Study to Compare Two Film Dressings Used as Secondary Dressings, *The Journal of Wound Care*, 1997, **6**(7), 333-336.

[27] Madden M. R., Finkelstein J. L., Hefton J. M., Optimal Healing of Donor Site Wounds with Hydrocolloid Dressings, Editor: Ryan T. J., *An Environment for Healing: The Role of Occlusion*, 1st ed., Royal Society of Medicine, London, 133-137, 1985.

[28] Field C. K., Kerstein M. D., Overview of Wound Healing in a Moist Environment, *The Journal of Surgery*, 1994, **167**(1), 2-6.

[29] Manuel V. M. et al, The Proliferative Capacity of Neonatal Skin Fibroblasts is Reduced After Exposure to Venous Ulcer Wound Fluid: A Potential Mechanism for Senescense in Venous Ulcer, *Journal of Vascular Surgery*, 1999, **30**(4), 734-743.

[30] Ovington L. G., Cutaneous Wound Healing, Editors: Falanga V., *Wound Dressings: Their Evolution and Use*, 1st ed., Martin Dunitz, London, 221-232, 2001.

[31] Bale S., Banks V., Haglestein S., A Comparison of Two Amorphous Hydrogels in the Debridement of Pressure Sores, *The Journal of Wound Care*, 1998, **7**(2), 65-68.

[32] Flanagan M., The Efficacy of a Hydrogel in the Treatment of Wounds with Non Viable Tissue, *The Journal of Wound Care*, 1995, **4**(6), 264.

[33] Smith J., Debridement of Diabetic Foot Ulcers (Cochrane Review), *The Cochrane Library*, 2003, **14**(3), 1-10.

[34] Gilchrist T., Martin A. M., Wound Treatment with Sorbsan an Alginate Fibre Dressing, *The Journal of Biomaterials*, 1983, **4**(4), 317-320.

[35] Sayag J., Meaume S., Bohbot S., Healing Properties of Calcium Alginate Dressings, *The Journal of Wound Care*, 1996, **5**(8), 357-362.

[36] Bowler P. G., Jones S. A., Davies B. J., Infection Control Properties of Some Wound Dressings, *J. Wound Care*, 1999, **8**(10), 499-502.

[37] Jacobsson S., Rothman U., Arturson G., A New Principle for the Cleansing of Infected Wounds, *Scand J. Plast Reconstr Surg*., 1976, **10**(1), 65-72.

[38] Frost M. R., Jackson S. W., Stevens P. J., Adsorption of Bacteria on to Activated Charcoal Cloth: An Effect of Potential Importance in the Treatment of Infected Wounds, *The Journal of Microbios Letts,* 1980, **13**(1), 135-140.

[39] Wunderlich U., Orfanos C. E., Treatment of Venous Ulcera Cruris with Dry Wound Dressings, *J. Hautarzt,* 1991, **42**(7), 446-450.

[40] Le A., Hunter R. J., Preedy R., Drug Loaded Nanofiber Matrices as Diabetic Wound Dressings, *Journal Nanotechnology and Nanomedicine in Diabetes*, 2012, **8**(12), 325-344.

[41] Zhang, Y., Lim C. T., Ramakrishna S., Recent development of polymeric nanofibers for biomedical and biotechnological applications, *J. Mater. Sci. Mater in Medicine*, 2005, **16**(10), 933-946.

[42] Dabney S. E., The Use of Electrospinning Technology to Produce Wound Dressings, Ph.D Thesis, The University of Akron, 2002.

[43] Khil M. S. et al., Electrospun Nanofibrous Polyurethane Membrane as Wound Dressing, *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater*., 2003, **67**(2), 675-679.

[44] Zahedia P. et al., A Review on Wound Dressings with an Emphasis on Electrospun Nanofibrous Polymeric Bandages, *Polymers Advanced Tehnologies*, 2010, **21**(2), 77-98.

[45] http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=25577.php, (Ziyaret Tarihi: 07.Haziran.2019)

[46] Gilbert W., *De Magnete Magnetcisque Corporibus*, 1st ed., The Chiswick Press, London, 1600.

[47] Hooke R., *Micrographia - Some Physiological Descriptions of Minute Bodies Made by Magnifying Glasses with Observations and Inquiries Thereupon*, 1st ed., The Royal Society, London, 1665.

[48] Kozanoğlu G. S., Elektrospinning Yöntemiyle Nanolif Üretim Teknolojisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 2006, 222172.

[49] Formhals A., Process and Apparatus for Preparing Artificial Threads, 1934, U. S. Patent No. A1,975,504., U. S. Patent and Trademark Office.

[50] Formhals A., Method and Apparatus for Spinning, 1939, U. S. Patent No. A2,160,962., U. S. Patent and Trademark Office.

[51] Formhals A., Artificial Thread and Method of Producing Same, 1940, U. S. Patent No. A2,187,306., U. S. Patent and Trademark Office.

[52] Taylor G. I., Electrically Driven Jets, *THE ROYAL SOCİETY*, 1969, **313** (1515), 453.

[53] Baumgarten P. K., Electrostatic Spinning of Acrylic Microfibers, *Journal of Colloid and Interface Science*, 1971, **36**(1), 71-79.

[54] Larrondo L., Mandley R., Electrostatic Fiber Spinning From Polymer Melts. III. Electrostatic Deformation of a Pendant Drop of Polymer Melt, *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, 1981, **19**(6), 933-940.

[55] Hayati I., Bailey A. I., Tadros T. F., Investigations into the Mechanisms of Electrohydrodynamic Spraying of Liquids: I. Effect of Electric Field and the Environment on Pendant Drops and Factors Affecting the Formation of Stable Jets and Atomization, *Journal of Colloid and Interface Science*, 1987, **117**(1), 205-221.

[56] Warner S. B. et al., A Fundamental Investigation of the Formation and Properties of Electrospun Fibers, *National Textile Center*, M98-D01, 1-9,1998.

[57] Gibson P. W., Gibson H. L., Rivin D., Electrospun Fiber Mats: Transport Properties, *AIChe J*., 1999, **45**(1), 190-195.

[58] Bhardwaj N., Kundu S., Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique, *Biotechnology Advances*, 2010, **28**(3), 325-347.

[59] Balamurugan R., Sundarrajan S., Ramakrishna S., Recent Trends in Nanofibrous Membranes and Their Suitability for Air and Water Filtrations, *Membranes*, 2011, **1**(3), 232-248.

[60] Deitzel, J. M. et al., Generation of Polymer Nanofibers Through Electrospinning, *ARMY RESEARCH LAB. ABERDEEN PROVING GROUND MD*., ARL-TR-1989, 1-25, 1999.

[61] Reneker D. H., Chun I., Nanometre Diameter Fibres of Polymer, Produced by Electrospinning, *Nanotechnology*, 1996, **7**(3), 157-356.

[62] Yarin, A. L., Koombhongse S., Reneker D. H., Bending Instability in Electrospinning of Nanofibers, *J. Appl. Phys*., 2001, **89**(5), 3018-3026.

[63] Doshi J., Reneker D. H., Electrospinning Process and Applications of Electrospun Fibers, *Journal of Electrostatics*, 1995, **35**(2-3), 151-160.

[64] Spivak A. F., Dzenis Y. A., Reneker D. H., Model of Steady State Jet in the Electrospinning Process, *Mechanics Research Communications*, 2000, **27**(1), 37-42.

[65] Shin, Y. M. et al., Experimental Characterization of Electrospinning: the Electrically Forced Jet and Instabilities, *Polymer*, 2001, **42**(25), 9955-9967.

[66] Sergey V. et al., Controlling the Fiber Diameter During Electrospinning, *Physical Review Letters*, 2003, **90**(14), 144502.

[67] Thompson C. J. et al., Effects of Parameters on Nanofiber Diameter Determined from Electrospinning Model, *The Journal of Polymer*, 2007, **48**(23), 6913-6922.

[68] Subbiah T., Ramkumar S., High Performance Textiles and Apparels, *S. Proc. International Conf.*, India, July 2004.

[69] Ballabh B., Chaurasia O. P., Traditional Medicinal Plants of Cold Desert Ladakh Used in Treatment of Cold, Cough and Fever, *J. of Ethnopharmacol*, 2007, **112**(2), 341-349.

[70] Georgiev V., Ananga A., Tsolova V., Recent Advances and Uses of Grape Flavonoids as Nutraceuticals, *Nutrients*, 2014, **6**(1), 391-415.

[71] Giriraju A., Yunus G. Y., Assessment of Antimicrobial Potential of 10% Ginger Extract Against Streptococcus Mutans, Candida albicans, and Enterococcus faecalis: an In Vitro Study, *Indian J. Dent. Res*., 2013, **24**(4), 397–400.

[72] Matic´ S. et al., Methanol Extract from the Stem of Cotinus coggygria Scop. and It's Major Bioactive Phytochemical Constituent Myricetin Modulate Pyrogallol-Induced DNA Damage and Liver Injury, *Genet. Toxicol. Environ. Mutagen*, 2013, **755**(2), 81-89.

[73] Novakovic´ M. et al., Chemical Composition, Antibacterial and Antifungal Activity of the Essential Oils of Cotinus coggygria from Serbia, *J. Serb. Chem. Soc*., 2007, **72**(11), 1045-1051.

[74] Davis P.H., Coode M.J.E., Cullen J., Cotinus Adans, Editor: Davis, P.H.,*Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, 1st ed., Edinburgh University Press, Edinburgh, 543, 1982.

[75] Wannan B.S., Analysis of Generic Relationships in Anacardiaceae, *BLUMEA*, 2006, **51**(1), 165-195.

[76] Demirci B., Demirci F., Baser K.H.C., Composition of the Essential Oil of Cotinus coggygria Scop. from Turkey, *Flavour Frag. J*., 2003, **18**(1), 43-44.

[77] Ivanova D. et al., Polyphenols and Antioxidant Capacity of Bulgarian Medicinal Plants, *Journal Ethnopharmacol*, 2005, **96**(1-2), 145-150.

[78] Li T. S. C., Chinese and Related North American Herbs Phytopharmacology and Therapeutic Values, 2nd ed., CRC Press Taylor & Francis Group, New York, 2009.

[79] Huang K. C., The Pharmacology of Chinese Herbs, 1st ed., CRS Press, New York, 1999.

[80] Shen Q. et al., Pharmacological Study on Anti-Hepatitis Effect of Cotinus coggygria Scop. Syrup, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 1991, **16**(12), 746-763.

[81] Bruning E., Stone V.I., Zhao R., Compositions and Methods of Inducing Hair Growth Utilizing Cotinus coggygria, 2005, U. S. Patent No. 8163311 B2, *U.S. Patent and Trademark Office.*

[82] Tsankova E. T., Dyulgerov A. S., Milenkov B. K., Chemical Composition of the Bulgarian Sumac Oil, *J. Essent. Oil Res.,* 1993, **5**(2), 205-207.

[83] Arampatzis A., Shrubs and Trees in Greece, 3rd ed., Technological Institute of Kavala, Drama, 2001.

[84] Maestri D. M., Nepote V., Lamarque A. L., Natural Products as Antioxidants, Editor: Imperato F., *Phytochemistry: Advances in Research*, 2nd ed., Kerala, India, 105-135, 2006.

[85] S˘ avikin et al., In Vitro Cytotoxic and Antioxidative Activity of Cornus Mas and Cotinus coggygria, *Nat. Prod. Res.,* 2009, **23**(18), 1731-1739.

[86] Yarat A. et al, In Vitro Effect of Aqueous Plant Extracts on Antioxidant Parameters in Saliva Samples, *J. Med. Plants Res.,* 2013, **7**(3), 118-125.

[87] Marcˇ eticˊ M. et al., Antimicrobial, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Young Shoots of the Smoke Tree, Cotinus coggygria Scop., *Phytother Res*., 2013, **27**(11), 1658-1663.

[88] Tunç K., Hoş A., Güneş B., Investigation of Antibacterial Properties of Cotinus coggygria from Turkey, *Polish Journal of Environmental Studies.,* 2013, **22**(5), 1559-1561.

[89] Chen Q. J. et al., The Anti-TMV Activities of Extracts from 26 Plants, *J. Fujian Agric. Forestry Univ. (Natural Science Edition)*, 2004, **33**(3), 300-303.

[90] Jing B. et al., Evaluation of the Antiviral Activity of Extracts from Plants Grown in the Qinling Region of China Against Infection by Tobacco Mosaic Virus (TMV), *J. Phytopathol.,* 2012, **160**(4), 181-186.

[91] Cetin Ö., *Çiftçi Eğitim Serisi Yayınları*, İlk baskı, Tarım Ve Köyisleri Bakanlığı Yayın Dairesi Baskanlığı, Ankara, 2004.

[92] Basim E., Basim H., Özcan M., Antibacterial Activities of Turkish Polen and Propolis Extracts Against Plant Bacterial Pathogens, *Journal of Food Engineering*, 2006, **77**(4), 992-996.

[93] Castaldoa S., Capasso F., Propolis, an Old Remedy Used in Modern Medicine, *Fitoterapia*, 2002, **73**(1), 1-6.

[94] Groot A. C., Propolis: A Review of Properties, Applications, Chemical Composition, Contact Allergy, and Other Adverse Effects, *Dermatitis*, 2013, **24**(6), 263-282.

[95] Marcucci M. C., Propolis: Chemical Compolisition, Biological Properties and Therapeutic Acitivity, *Apidologie*, 1995, **26**(2), 83-99.

[96] Bankova V. S., Castro S. L., Marcucci M. C., Propolis: Recent Advances in Chemistry and Plant Origin, *Apidologie*, 2000, **31**(1), 3-15.

[97] Christov R., Trusheva B., Popova M., Chemical Composition of Propolis from Canada, It's Antiradical Activity and Plant Origin, *Nat. Prod. Res*., 2006, **20**(6), 531-536.

[98] Trusehva B., Popova M., Bankova V., Bioactive Constituents of Brazilian Red Propolis, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* 2006, **3**(2), 249-254.

[99] Koru O., Toksoy F., Acikel C. H., In Vitro Antimicrobial Activity of Propolis Samples from Different Geographical Origins Against Certain Oral Pathogens, *Anaerobe*, 2007, **13**(3-4), 140-145.

[100] Sforcin J. M., Bankova V., Propolis Is There a Potencial for the Development of the New Drugs, *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, **133**(2), 253–260.

[101] Mirzoeva O.K., Calder P.C., The Effect of Propolis and It's Components on Eicosanoid Production During the Iflammatory Response, *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 1996, **55**(6), 441-449.

[102] Russo R., Longo A., Antioxidant Activity of Propolis: Role of Caffeic Acid Phenethyl Ester and Galangin, *Fitoterapia*, 2002, **73**(1), 21-29.

[103] Banskota A. H., Tezuka Y., Kadota S., Recent Progress in Pharmacological Research of Propolis, *Phytother Res*., 2001, **15**(7), 561-571.

[104] Deschner E. E., Ruperto J., Wonk G., Quercetin and Rutin as Inhibitors of Azocy Methanol Induced Colonic Neoplasia, *Carcinogenesis*, 1991, **12**(7), 1193-1196.

[105] Harish Z. et al., Suppression of HIV-1 Replication by Propolis and It's Immunoregulatory Effect, *Drugs Exp. Clin. Res*., 1997, **23**(2), 89-96.

[106] Kumazawa S., Tamasaka T., Nakayama T., Antioxidant Acitivity of Propolis of Various Geographic Origins, *Food Chemistry*, 2004, **84**(3), 329-339.

[107] Scheller S., Wilczok T., Imielski S., Free Radical Scavenging by Ethanolic Extract of Propolis, *International Journal of Radiation Biology*, 1990, **57**(3), 461-465.

[108] Kalra A., Lowe A., Jumaily A. M., Mechanical Behaviour of Skin: A Review, *Journal of Material Science & Engineering*, 2016, **5**(4), 254.

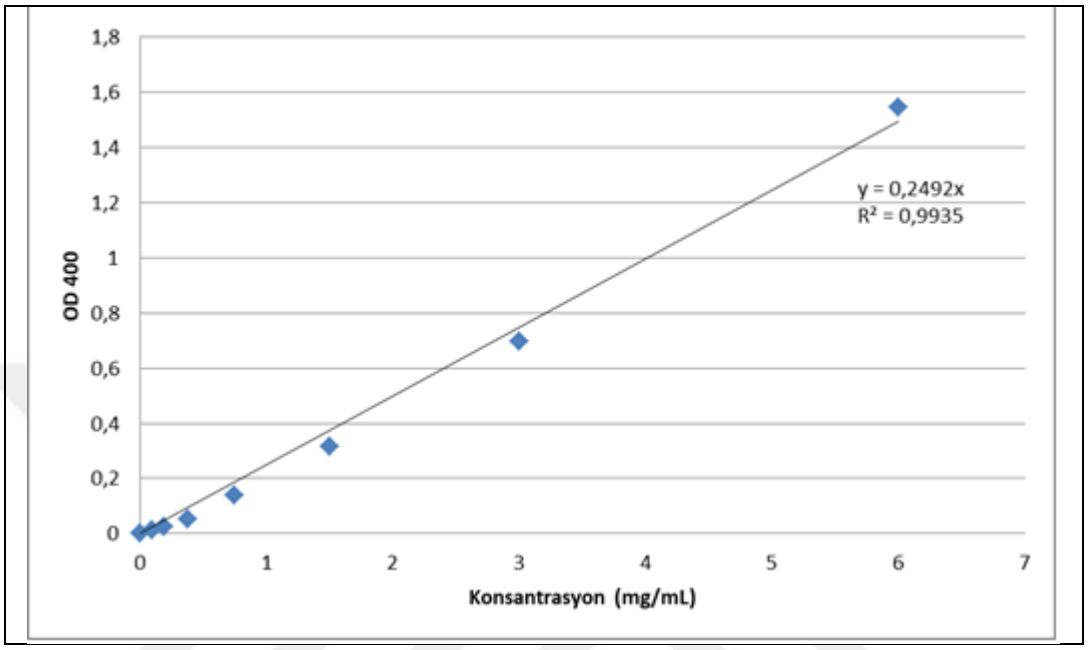
[109] https://dergipark.org.tr/downl/289756, (Ziyaret Tarihi: 19.Nisan.2019).

[110] S. Sharaf, A. Higazy, A Hebeish, Propolis Induced Antibacterial Activity and Other Technical Properties of Cotton Textiles, *International Journal of Biological-Macromolecules*,2013,**59**,408-416.

EKLER

Ek-A

Bölüm 3.5’ de kullanılan salım grafikleri aşağıdaki kalibrasyon eğrisi kullanılarak oluşturulmuştur.



Şekil A.1. PBS’ te çözünmüş propolis kalibrasyon eğrisi

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

[1] **Ergüven E. A.**, Yılmaz Özdoğan C., Uzuner H., Karadenizli A., Kenar H., Biyoaktif ve Antimikrobiyal Özelliğe Sahip Nano/Mikro Fiber Yapılı Yara Örtüleri, VI. Uluslararası Fen, Mühendislik ve Mimarlık Bilimlerinde Akademik Çalışmalar Sempozyumu (ISMS), Ankara, 13-15 Haziran, 2019.

ÖZGEÇMİŞ

Ekin Alican ERGÜVEN 1988 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlk, orta öğretimini ve lise eğitimini İzmit'te tamamladı. 2012 yılında Başkent Üniversitesi Mühendislik Fakültesi'nde başladığı Biyomedikal mühendisliği eğitimini başarı ile tamamlayıp 2017 yılında mezun oldu ve Biyomedikal Mühendisi ünvanını aldı. 2018 yılında Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Polimer Bilim ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.