

E VİTAMİNİ VE ÇÖREK OTU YAĞI İÇEREN POLİ-3-HİDROKSİBUTİRAT-KO-3-HİDROKSİHEKSAONAT-JELATİN MİKROFİBER TEKSTİL LİFLERİ: ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİK VE YARA İYİLEŞMESİNE KATKI

Emine KUTLU^{1*}, Fatih Mehmet EMEN¹, Naciye ERKAN², Cansu OLGUNER³, Ece KUTLU³, Kumar SUDESH⁴

E. Kutlu: 0000-0003-0211-1006, F. M. Emen: 0000-0002-4974-2940, N. Erkan: 0000-0001-9502-1696, C. Olguner: 0000-0001-7744-9015, E. Kutlu: 0009-0004-7001-3517, K. Sudesh: 0000-0003-4756-9192

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 15100, BURDUR

²Akdeniz Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Mülkiyet Koruma ve Güvenlik Bölümü, 07058 ANTALYA

³Antalya Bahçeşehir Koleji, Anadolu Lisesi, Parkorman Kampüsü, ANTALYA

⁴Sains Malezya Üniversitesi, Biyolojik Bilimler Okulu, 11800 Penang, MALEZYA

ÖZ

Mikrofiber tekstil lifleri ile yara bakımında avantaj sağlayabilen ürünler geliştirilebilmektedir. Bu çalışmada poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat-jelatin içeren mikrofiber tekstil lifleri (PJ) ile E vitamini ve çörek otu yağı içeren ve biyolojik olarak parçalanabilen poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat-jelatin mikrofiber tekstil lifleri (PJ-ÇE) elektrospinning yöntemi kullanılarak hazırlandı. Liflerin yapısal karakterizasyonları Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ile gerçekleştirildi. Mikrofiber tekstil liflerinin termal davranışları Termogravimetri (TG)/Diferansiyel Termal Analiz (DTA)/Diferansiyel Termogravimetri (DTG) kombine sistemiyle, yüzey morfolojileri ise Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) tekniği ile incelendi. PJ ve PJ-ÇE liflerinin antibakteriyel etkinlikleri, tekstillerin antibakteriyel aktivite test yöntemiyle (JIS L 1902: 2002) Escherichia coli ATCC 35150 ve Staphylococcus aureus ATCC 25923 suşlarına karşı araştırıldı. PJ ve PJ-ÇE liflerinin yara iyileşmesine in vitro etkisi L929 fibroblast hücreleri üzerinde incelendi. Elektrospinning tekniğiyle dayanıklı PJ ve PJ-ÇE lifleri elde edilebildiği yapısal testlerle gösterilmiştir. Antibakteriyel çalışma sonuçlarına göre PJ liflerinin E. coli üzerinde yüksek, S. aureus üzerinde ise düşük antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. PJ-ÇE liflerinin antibakteriyel etkinliği ise, PJ liflerine göre E. coli üzerinde daha düşük, S. aureus üzerinde daha yüksek bulunmuştur. PJ-ÇE liflerine maruz kalan L929 fibroblast hücrelerinde hasarın onarımında artış gözlenmiştir. PJ-ÇE liflerinin yeni kompozit yara örtülerinin geliştirilmesinde kullanım açısından umut vaat ettiği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: antibakteriyel aktivite, Elektrospinnig, jelatin, mikrofiber örtüler, poli(3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksanoat, yara iyileşmesi

ABSTRACT

Poly-3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyhexaonate-Gelatin Microfiber Textile Fibers Containing Vitamin E and Black Cumin Oil: Antibacterial Activity and Contribution to Wound Healing

Products that can provide advantages in wound care can be developed with microfiber textile fibers. In this study, microfiber textile fibers containing poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexaonate-gelatin (PJ) and biodegradable poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexaonate-gelatin microfiber textile fibers containing vitamin E and black cumin oil (PJ-ÇE) were prepared using electrospinning method. Structural characterization of the fibers was carried out by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). The thermal behavior of the microfiber textile fibers was investigated by Thermogravimetry (TG)/Differential Thermal Analysis (DTA)/Differential Thermogravimetry (DTG) combined system and their surface morphology was investigated by Scanning Electron Microscopy (SEM) technique. The antibacterial activities of PJ and PJ-ÇE fibers were investigated against Escherichia coli ATCC 35150 and Staphylococcus aureus ATCC 25923 strains by the textile antibacterial activity test method (JIS L

İletişim adresi: Emine Kutlu, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 15100, BURDUR
e.posta: emine1044@gmail.com

Received/Geliş: 29.04.2024 Accepted/Kabul: 03.07.2024 Published Online/Online Yayın: 30.08.2024

Atf/Cite as: Kutlu E, Emen FM, Erkan N, Olguner C, Kutlu E, Sudesh K. E vitamini ve çörek otu yağı içeren Poli-3-Hidroksibutirat-KO-3-Hidroksiheksaonat-Jelatin mikrofiber tekstil lifleri: Antibakteriyel etkinlik ve yara iyileşmesine katkı. ANKEM Derg. 2024;38(2):37-52.

1902: 2002). The *in vitro* effect of PJ and PJ-ÇE fibers on wound healing was investigated on L929 fibroblast cells. It was shown by structural tests that durable PJ and PJ-ÇE fibers can be obtained by electrospinning technique. According to the results of the antibacterial study, PJ fibers were found to have high antibacterial activity on *E. coli* and low antibacterial activity on *S. aureus*. The antibacterial activity of PJ-ÇE fibers was found to be lower on *E. coli* and higher on *S. aureus* compared to PJ fibers. An increase in damage repair was observed in L929 fibroblast cells exposed to PJ-ÇE fibers. PJ-ÇE fibers were thought to be promising for use in the development of new composite wound dressings.

Keywords: antibacterial activity, Electrospinning, gelatin, microfiber dressings, poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate), wound healing

GİRİŞ

Hasar görmüş dokuyu yenilemeyi, iyileştirmeyi veya işlevini sürdürmeyi amaçlayan çalışmalar doku mühendisliğinin ilgi alanına girmektedir ve bu bakımdan biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyobenzerlik ve antibakteriyel özelliklere sahip biyomalzemelerin kemik ve kırık dokular için doku mühendisliği ile yara iyileştirme uygulamaları bu alanın temel araştırma konularındandır. Dünya genelinde yaralanma, hastalık veya travmadan kaynaklanan doku kaybı ve hasarı, önemli sağlık sorunlarından biridir ve bu nedenle yoğun çalışmalara konu olmaktadır⁽⁸⁾.

Yara iyileşmesi, doku hasarının meydana geldiği andan itibaren başlayan bir süreçtir. Bu süreç; doku bütünlüğünü ve homeostaziyi yeniden oluşturmak, aktive etmek ve yeniden koordine etmek için çeşitli hücre tiplerini (bağışıklık hücreleri, endotel hücreler, keratinositler ve fibroblastlar) ve yolaklarını içerir⁽³⁰⁾. Etkili yara yönetiminin sağlanamadığı ya da sürecin gecikmesi, bozulması gibi durumlarda aşırı inflamasyon ve kalıcı enfeksiyonlar görülebildiği gibi; anormal yara iyileşmesi (keloid, hipertrofik skar oluşumu vb.) de görülebilir ve yara akut fazdan kronik faza geçebilir^(38,17).

Bu noktada dokuların yeniden yapılandırılması için kök hücreler, biyosinyaller, büyüme faktörleri, doku nakilleri, biyomedikal cihazların implantasyonu en yaygın kullanılan tedavi stratejileri içerisinde yer almaktadır⁽³⁵⁾. Ancak her ne kadar doku nakilleri umut verici ve etkili bir yöntem olsa da doku nakillerini sınırlandırıcı etmenler (uygun donör bulunabilirliği ve uyumluluğu, pahalı ve acı verici olması gibi) alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesini teşvik etmiştir^(9,11). Bu alternatif yöntemlerin içerisinde hasar görmüş bölgeye iskele kullanarak doku rejenerasyonunu iyileştirmeyi amaçlayan yaklaşımlar öne çıkmaya başlamıştır^(14,22,45). Özellikle son yaklaşımlarda, hücre-iskele yapıları, hücrelerin doğal dokularındaki gibi hücre çoğalması için uygun bir ortam sağlamak amacıyla yapay bir hücre dışı matriksi (HDM) üretilmesi oldukça önemli hale gelmiştir^(39,21). Son yıllarda karşılaşılan sorunları çözmek, biyolojik ve mekanik performansı arttırmak amacıyla maddelerin nano boyutlarda göstermiş oldukları çeşitli özelliklerinin kullanıldığı nanoteknoloji alanından yararlanılmaktadır⁽¹³⁾. Özellikle yara iyileştirme araştırmalarında yara filmlerinin (örtü) geliştirilmesi çığır açan çalışmalar içerisinde yer almaktadır⁽²⁰⁾.

Daha önceleri yara iyileşmesinde doğal ya da sentetik bandajlar, hidrofil pamuk, sargı bezleri ve gazlı bezler gibi malzemeler yara eksüdasının buharlaşmasına izin vererek yarayı kuru tutmak ve bakterilerin oluşturabileceği enfeksiyonlardan yara bölgesini korumak amacıyla yaygın olarak kullanılırlardı. Ancak; son yıllarda tercih edilen tedavilerde yara çevresini nemli tutan, epitel hücrelerinin hareket etmesine izin veren, bakteriyel yükü azaltan ve oksijen sirkülasyonunu izin veren interaktif ve biyoaktif yara örtüleri yer almaktadır⁽⁶⁾. Teknolojideki ilerlemeler, biyomalzemeler alanındaki gelişmeler ve artan bilgi; yeni nesil yara bakımında biyo-parçalanır, biyo-uyumlu, gelişmiş terapötik yara iyileştirme tasarımları ile fonksiyonlarını tamamladıktan sonra implantasyon bölgesinde *in vivo* olarak parçalanır ve rezorpsiyona uğrayarak biyolojik sistemden uzaklaştırılan polimerlerin biyomalzemelerde kullanılmasına imkan sağlayarak enfeksiyon gelişme riskini ortadan kaldırmaktadır^(2,25).

Kitosan, alginat, kolajen, dekstran, hyaluronik asit ve jelatin gibi polimerlerin yanı sıra poli(laktik asit) (PLA), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), poli(glikolik asit) (PGA), poli(ε-kaprolakton) (PCL) ve poliüretan gibi sentetik polimerler yara örtülerinin tasarımında yaygın olarak kullanılmaktadırlar^(25,28). Biyopolimerler arasında polihidroksialkanoatlar (PHA'lar) çevresel koşullar altında bozunabilirlikleri nedeniyle ilgi odağı haline gelirken; poli(3-hidroksibütirat) (PHB) ile PHA türlerine ait komonomerlerin kopolimerleri daha iyi işlenebilirlik, daha yüksek

esneklik ve dayanıklılık göstermeleri ile ön plana çıkmaktadır. Bunlar doğal biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerler ailesidir. Kopolimerleri olan poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksiheksanoat) (PHBH) ve poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksivaleerat) (PHBV) bu ailenin tipik örnekleridir⁽¹¹⁾. Bu örnekler arasında, yalnızca PHBV ticari olarak üretilmekte ve yara pansumanı, ilaç salımı, doku mühendisliği gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Poli(3-hidroksibütirat-co-3-hidroksiheksanoat) (PHBH), dokumasız kumaş ve fiber üretimi gibi işleme yöntemlerinde kullanılabilir. Ayrıca, PHBHx tabanlı materyallerin fibroblastlar, kondrositler, sinir hücreleri ve osteoblastlar için biyoyumluğa sahip olduğu gösterilmiştir^(34,5,16,10).

Jelatin, kolajenin asit ya da alkali hidrolizinden elde edilen tek sarmallı bir protein olup kolaylıkla degradasyona uğrayabilmektedir. B tipi jelatinin biyoyumlu olduğu, A tipi jelatinin ise viskoz çözeltiler oluşturduğu belirtilmiştir⁽²⁷⁾. Ayrıca jelatin düşük maliyet, biyolojik olarak parçalanabilirlik, düşük antijenite gibi sahip olduğu özelliklerden dolayı doku mühendisliği alanında araştırmacıların ilgisini üzerine çekmeyi başarmıştır. Bunun yanı sıra, jelatinde hücre tutunması bakımından öneme sahip olan hücrelerdeki integrin reseptörlerinin tanınmasına yönelik peptid dizileri bulunur. Tüm bu özelliklerinin yanında, jelatin cildin yenilenmesinde önem arz eden nanolifli yapılar oluşturma eğilimindedir. Bu nanolifli yapılar, yüksek gözeneklilik, geniş spesifik yüzey alanı ve iyi geçirgenliğe sahip olmaları sayesinde hücre tutunmasını, göçünü ve çoğalmasını destekleyen hücre dışı matrisi biyolojik olarak taklit edebilir⁽⁴⁶⁾. Bu sayede doku mühendisliğinde yapı iskele bileşeni olarak yaygın olarak kullanılan jelatin, iskelelerde hücrelerin migrasyonunu, yayılmasını ve proliferasyonunu önemli ölçüde iyileştirme özelliğine sahiptir⁽³⁷⁾.

Yara tedavisinde önemli bir diğer bileşik grubu ise mineral ve vitaminlerdir. A, C ve E vitaminleri iyileşme sürecinde çok gereklidir. Literatürde yara örtülerinden vitamin ve mineral salımı ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Vitamin ve mineraller daha çok oral takviye olarak kullanılmaktadır. Ancak, bazı çalışmalarda açık yanık yaralarında vitamin uygulamasının yaraların iyileşmesinde olumlu sonuçlar gösterdiği raporlanmıştır⁽²⁶⁾. Özellikle yara iyileşmesi performansının artırılması amacıyla nanokompozit yapıdaki yara örtülerinin içerisine yara iyileşmesi sürecini destekleyen aktif bileşenler katkı maddesi olarak ilave edilmektedir. Bunların arasında antimikrobiyal ajanlar, antibiyotikler, büyüme faktörleri, yara iyileşmesine katkı sağlayan bitkisel ekstraktlar sayılabilir⁽⁴⁾. Çörek otu yağı da bunlardan biridir. İçeriğindeki aktif bileşenler anti-inflamatuar, antioksidan, antimikrobiyal ve yara iyileştirici terapötik ve farmakolojik özelliklere sahiptir⁽³⁾.

Doku mühendisliğinde seçilen malzemenin yanı sıra iskele morfolojisi, doku rejenerasyon süreci için önemli bir faktördür. İskelelerin gereksinimleri arasında bulunan yüksek bağlantılı gözenekli yapı ve uygun yüzey özellikleri iskele morfolojisi ile ilişkilidir ve iskele yapısı kullanılan üretim teknikleri tarafından belirlenir⁽¹⁴⁾. Elektrospinnig, doğal ve sentetik polimerlerle gözenekli ve nanofibröz polimerik doku mühendisliği iskelelerinin üretiminde en yaygın tekniktir⁽⁴⁰⁾. Özellikle polimerik nanofiberler için oldukça basit ve etkili bir yöntemdir. Bu bakımdan elektrospinnig nanofiberleri, doğal HDM'i taklit eden benzer morfolojileri ve hücre-iskele etkileşimini iyileştiren yüksek yüzey alanı ve yüksek gözeneklilik gibi özelliklerinden dolayı doku mühendisliği iskeleleri için yaygın olarak kullanılmaktadır⁽³⁶⁾.

Bu çalışmada iki farklı mikrofiber tekstil lifi ile jel hazırlanarak yapısal ve antibakteriyel özellikleri incelenmiş, yara iyileşme testleri gerçekleştirilmiştir.

GEREÇLER VE YÖNTEM

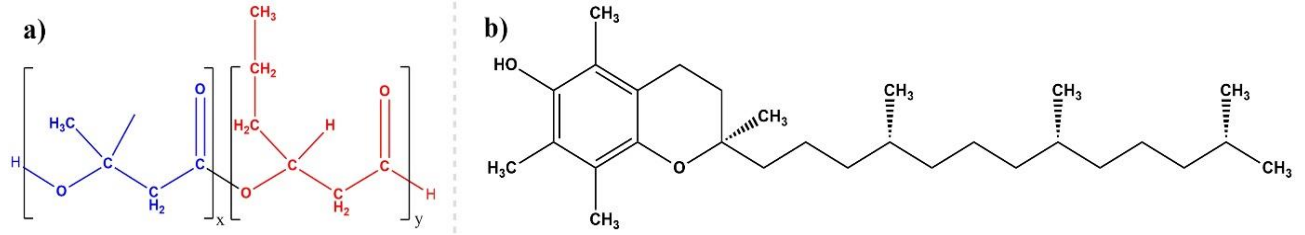
Polimer İçeren Jellerin hazırlanması

PJ ve PJ-ÇE jelleri literatüre uygun olarak hazırlandı⁽¹³⁾. PJ jeli için, poli-3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksiheksanoat (PHBH_x) kopolimeri Prof. Dr. Sudesh KUMAR'dan (Sains Üniversitesi, Malezya) temin edildi. 1.2 g poli-3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksiheksanoat kopolimeri 4 mL kloroform (Sigma-Aldrich, ABD) ve 1 mL diklorometan

(Sigma-Aldrich, ABD) çözücü karışımında 2 saat oda sıcaklığında karıştırılarak çözüldü. Bir başka beherde 1.2 g jelatin (Sigma-Aldrich, ABD) 5 mL distile suda 45°C'de 2 saat karıştırılarak çözüldü. Poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat çözeltisinden 4 mL ve jelatin çözeltisinden 1 mL alınarak ayrı bir beherde karıştırılarak PJ jeli elde edildi.

PJ-ÇE jeli için, 1.2 g poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat kopolimeri 4 mL kloroform ve 1 mL diklorometan çözücü karışımında 2 saat oda sıcaklığında karıştırılarak çözüldü. Ayrıca 1.2 g jelatin ise 5 mL distile suda 45 °C'de 2 saat karıştırılarak çözüldü. Poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat kopolimer çözeltisinden 4 mL ve jelatin çözeltisinden 1 mL alınarak ayrı bir beherde karıştırıldı ve bu karışımın üzerine 100 µL E vitamini (Arifoğlu, Türkiye), 100 µL çörek otu yağı (CYN LIFE, Türkiye) eklenerek 5 dakika daha karıştırılarak PJ-ÇE jeli elde edildi.

Poli-3-hidroksibutirat-ko-3-hidroksiheksaonat kopolimerinin ve E vitamini'nin genel yapısı Şekil 1'de gösterildi.



Şekil 1. Poli-3-hidroksibutirat-co-3-hidroksiheksaonat kopolimerinin (a) ve E vitamini'nin (b) yapısı

PJ ve PJ-ÇE Liflerinin Elektrospinning yöntemiyle Hazırlanması

PJ ve PJ-ÇE lifleri oda sıcaklığında elektrospinning sistemi kullanılarak elde edildi. PJ ve PJ-ÇE jelleri elektrospinning düzeneğine ayrı ayrı alınarak 1 mL/dk akış hızında, 15 cm mesafede, 19 kV voltaj uygulandı. Sonrasında toplama kollektöründe mikrofiber tekstil lifleri olarak toplandı^(13,41). Elektrospinning düzeneği (a) ile PJ (b) ve PJ-ÇE (c) mikrofiber örtülerinin görüntüsü Şekil 2'de verildi.



Şekil 2. (a) Elektrospinning düzeneği ile elde edilen (b) PJ ve (c) PJ-ÇE liflerinin görüntüsü.

Mikrofiber Tekstil Liflerinin Yapısal Karakterizasyonları

Elde edilen liflerin yapı aydınlatma çalışmaları için Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) tekniği (Shimadzu marka IR Affinity-1S model ATR -FT-IR spektrofotometre, Japonya) kullanıldı. Ölçümler 4000-800 cm^{-1} aralığında gerçekleştirildi. TG/DTG/DTA eğrileri ise SII TG/DTA 7200 (Seiko, Japonya) kullanılarak kaydedildi ve liflerin termal davranışlarının incelenmesi için kullanıldı. PJ ve PJ-ÇE liflerinin yüzey morfolojisi LEO 1430 taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Zeiss, Almanya) ile elde edilen görüntüler kullanılarak incelendi. Faz-kontrast hücre görüntüleri Soptop ICX41 (Sunny Instruments, Çin) inverted mikroskop ile alındı.

2.2. Antibakteriyel Aktivite

PJ ve PJ-ÇE lifleri için, tekstillerin antibakteriyel aktivite test yöntemiyle (JIS L 1902: 2002) *Escherichia coli* ATCC 35150 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı etkinlikleri araştırıldı^(12,32). Gram pozitif patojen temsilcisi olarak *S. aureus* ve Gram negatif patojen temsilcisi olarak ise *E. coli* referans bakteri suşları seçildi. PJ ve PJ-ÇE liflerinden 0.4 g alınarak 121°C sıcaklıkta 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Steril PJ ve PJ-ÇE lifleri steril test tüplerine yerleştirildi. Test tüplerine Mueller Hinton Broth II (OXOID, Almanya) içerisinde *E. coli* için 4.3×10^7 ve *S. aureus* için 3.8×10^7 cfu/mL'ye ayarlanmış 200 μL bakteri süspansiyonu eklenerek 37°C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her tüpe 10 mL steril nötralizasyon solüsyonu (%0.9 NaCl (Fluka, İsviçre) ve %0.2 Tween 20 (Merck, Almanya)) ilave edildi. Karıştırılan tüpten 1 mL alınarak Mueller Hinton besiyeri içeren tüplere aktarıldı ve 10^3 bakteri olacak düzeye kadar seri dilüsyon yapıldı. Her seyreltme tüpünden 100 μL alınarak Plate Count Agar (PCA, Merck, Almanya) besiyerine ekildi ve 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Her örnek, paralel olarak 3 kez incelendi ve inkübasyon sonunda her lif için ortamdaki ortalama bakteri sayısı belirlendi. Mikrofiber tekstil liflerinin antibakteriyel aktivitesi, test yönteminde önerilen ve aşağıda verilen formüle göre hesaplandı.

Bakterilerin azaltılması (Log cfu) = log cfu (negatif kontrol) - log cfu (mikrofiber tekstil lifi)

Üremedeki logaritmik azalma 0.5'ten küçük ise antibakteriyel aktivite yok, 0.5 – 1.0 arasında ise düşük aktivite, 1.0'dan büyük ise yüksek aktivite olarak değerlendirildi^(12,43).

L929 Hücre Kültürü ve Yara İyileşme Testi

PJ ve PJ-ÇE liflerinin yara iyileşmesi üzerine etkisi, L929 (Adheran özellikli fare fibroblastları) hücre hattında *in vitro* olarak test edildi. Bu hücre hattı, genel olarak ilaç metabolizması ve oksidatif kaynaklı sitotoksikite çalışmalarında sık kullanıldığı için tercih edildi. Hücreler için temel olarak "Dulbecco's Modified Eagle Medium" (DMEM) kullanıldı. Çoğalmayı desteklemek için DMEM son konsantrasyon %10 olacak şekilde "Fetal Bovine Serum" (FBS) ile takviye edildi. Ayrıca antimikrobiyal ajan olarak %1 oranında penisilin-streptomisin ve amfoterisin B eklendi. Hücreler 37°C'de %5 CO_2 içeren atmosferde üretildi ve %70-80 civarında yoğunluğa geldikten sonra 6 kuyucuklu plakalara 0.5×10^6 hücre/kuyucuk konsantrasyonunda ekilerek yara iyileştirme protokolüne tabi tutuldu.

PJ ve PJ-ÇE lifleri 1 hafta (7 gün boyunca) bir narin sallayıcı (gentle shaker) üzerinde besiyeri içerisinde bekletildi. Hücrelerin üreme durumları ekimden 24 saat sonra mikroskopta kontrol edilerek yara testi için çizik atılmasına uygunluklarına karar verildi. Ardından plakadaki her bir kuyucuğun tabanına 200 μL 'lik sarı pipet ucuyla plakanın üst kısmından alt kısmına doğru bir çizik atıldı ve bu noktada (0. saat) hücrelere ait görüntüler alındı. Her plaka PJ lifleri, PJ-ÇE lifleri ve kontrol olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Daha önceden ilgili liflerin içinde bekletilen besiyeri veya kontrol için boş besiyeri, 0.2 μm 'lik filtrelerden süzülerek çizilen kuyucuklara eklendi. Ardından 24, 48 ve 72 saat süreyle hücrelerdeki iyileşme süreci takip edildi⁽¹⁾. Ayrıca, 0. saat örneklerinde çizik oluşturulması sonucu meydana gelen boşluklarda 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sonrası eş yüzey alanı başına çoğalan hücrelerin mikroskop ile sayımı yapılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. İki paralel deneme ile gerçekleştirilen yara iyileşme testi sonucu elde edilen hücre sayım değerlerinin ortalaması alınarak sonuçlar ifade edilmiştir. Ortalama değerler arasında ve kontrol grubu örneklerine göre önemli farkları belirlemek için Duncan Çoklu Aralık testi kullanılmıştır ($\alpha = 0.05$).

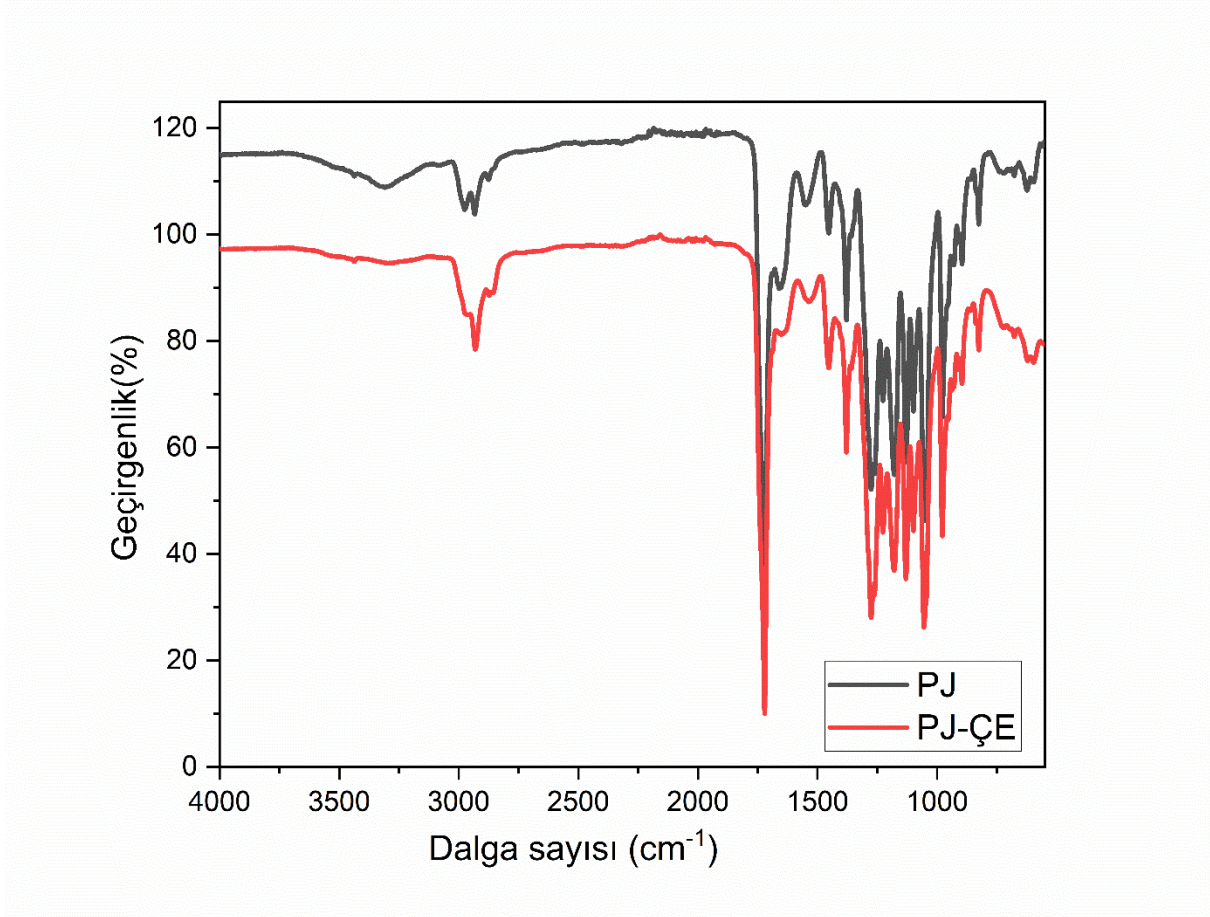
BULGULAR

Yapı Karakterizasyon Çalışmaları

FT-IR Sonuçları

PJ ve PJ-ÇE liflerine ait FT-IR spektrumları Şekil 3'te verilmiştir. PJ nin içerisinde bulunan jelatin %85-92 oranlarında protein içermektedir ve fonksiyonel grupları poli-3-hidroksibutirat-co-3-hidroksiheksaonat kopolimerinin fonksiyonel grupları ile benzerdir. PJ liflerinin FT-IR spektrumunda 3319 cm^{-1} 'de pik maksimumuna sahip yayvan absorpsiyon bandı O-H gerilme titreşimlerine aittir ve bu bölgede jelatinin yapısındaki N-H titreşim bantları ile örtülmektedir. $2970\text{-}2870\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen bantlar ise PJ liflerinin yapısında bulunan alifatik C-H gruplarının (metil ve metilen) simetrik ve asimetrik gerilme titreşimlerine aittir. 1739 cm^{-1} 'de gözlenen keskin bant karbonil grubunun (C=O) simetrik gerilme titreşimine, 1273 cm^{-1} 'de gözlenen zayıf bant ise C-O gerilme titreşimine aittir⁽³³⁾.

PJ-ÇE liflerinin FT-IR spektrumunda ise 3290 cm^{-1} 'de gözlenen zayıf bant PJ-ÇE nin yapısındaki O-H gerilme titreşimine aittir. Bu aralıkta jelatinin yapısındaki N-H gruplarına ait gerilme titreşimleri ve E vitamininin yapısındaki aromatik C-H ile O-H gerilme titreşim bantlarıyla örtüşmektedir. $2972\text{-}2862\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen bantlar alifatik C-H gruplarının simetrik ve asimetrik gerilme titreşimlerine aittir ve eklenen E vitamini ve çörek otu yağı yapıdaki alifatik zincir gruplarını arttırdığından alifatik C-H gruplarının simetrik ve asimetrik gerilme titreşimlerine ait piklerin şiddeti artmıştır. 1720 cm^{-1} 'de gözlenen keskin bant karbonil grubunun (C=O) simetrik gerilme titreşimine, 1270 cm^{-1} 'de gözlenen bant ise C-O gerilme titreşimine aittir. 1450 cm^{-1} 'deki gözlenen titreşim bandı aromatik C=C gerilme titreşimlerine atfedilir. 1379 cm^{-1} 'de gözlenen bant C-N gerilme titreşimine, $1224\text{-}1128\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen bant ise düzlem içi C-H bükülme titreşimine aittir. Ayrıca $1053\text{-}979\text{ cm}^{-1}$ 'de düzlem dışı C-H eğilme titreşimleri gözlenmektedir. C-H titreşimlerinin düzlem dışı bükülme titreşimleri 823 cm^{-1} 'de görülmektedir^(24,44). PJ liflerinin fonksiyonel gruplar ile PJ-ÇE liflerinin içerisinde bulunan çörekotu yağı ve E vitamininin yapısındaki fonksiyonel gruplar benzer olduğundan PJ-ÇE ve PJ liflerinin FT-IR spektrumları benzemektedir.



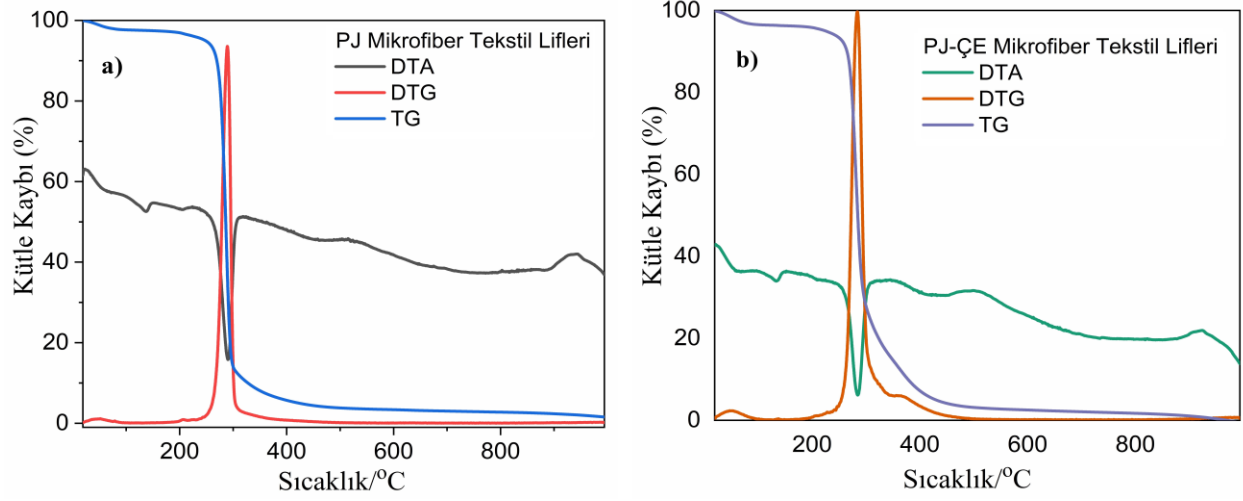
Şekil 3. PJ ve PJ-ÇE liflerinin FT-IR spektrumları.

PJ ve PJ-ÇE Liflerinin Termal Analizi

PJ ve PJ-ÇE liflerinin termal analiz çalışmaları için 25-900°C sıcaklık aralığında elde edilen TG/DTG/DTA eğrileri Şekil 4'te ve termal gravimetrik analiz sonuçları Tablo 1'de verilmektedir.

PJ liflerinin TG eğrisinde 25-100°C sıcaklık aralığında %2.35 kütle kaybı görülmektedir ve mikrofiber tekstil liflerinde adsorplanmış su buharlaşmaktadır. TG ve DTG eğrileri bozunmanın tek basamakta gerçekleştiğini göstermektedir. Birinci bozunma basamağı 180-395°C aralığında %91.81 kütle kaybı ile gerçekleşmiştir. DTA eğrisinde 194-318°C aralığında 288°C'de pik maksimumuna sahip birinci bozunma basamağına karşılık gelen keskin endotermik bir pik gözlenmektedir.

PJ-ÇE liflerinin TG eğrisinde 25-100°C sıcaklık aralığında liflerin yapısında nem olarak adsorplanmış suyun %2.35 kütle kaybı ile uzaklaştığı gözlenmektedir. PJ-ÇE liflerinin TG ve DTG eğrilerinde bozunmanın 190-490°C aralığında tek basamakta ve %93.27'lik kütle kaybı ile gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu basamakta, yapıda bulunan proteinlerin bozunduğu ve düşük enerjili moleküller arası bağların kopması anlaşılmaktadır^(19,42). DTA eğrisinde 210-345°C aralığında termal bozunmaya karşılık gelen ve 283°C'de pik minimumuna sahip keskin endotermik bir pik gözlenmektedir. İkinci aşama, 250-600°C sıcaklık aralığında protein bozunması ve düşük enerjili moleküller arası bağların kopması olarak gözlenmektedir⁽¹⁹⁾.



Şekil 4. (a) PJ ve (b) PJ-ÇE liflerinin termal analizi.

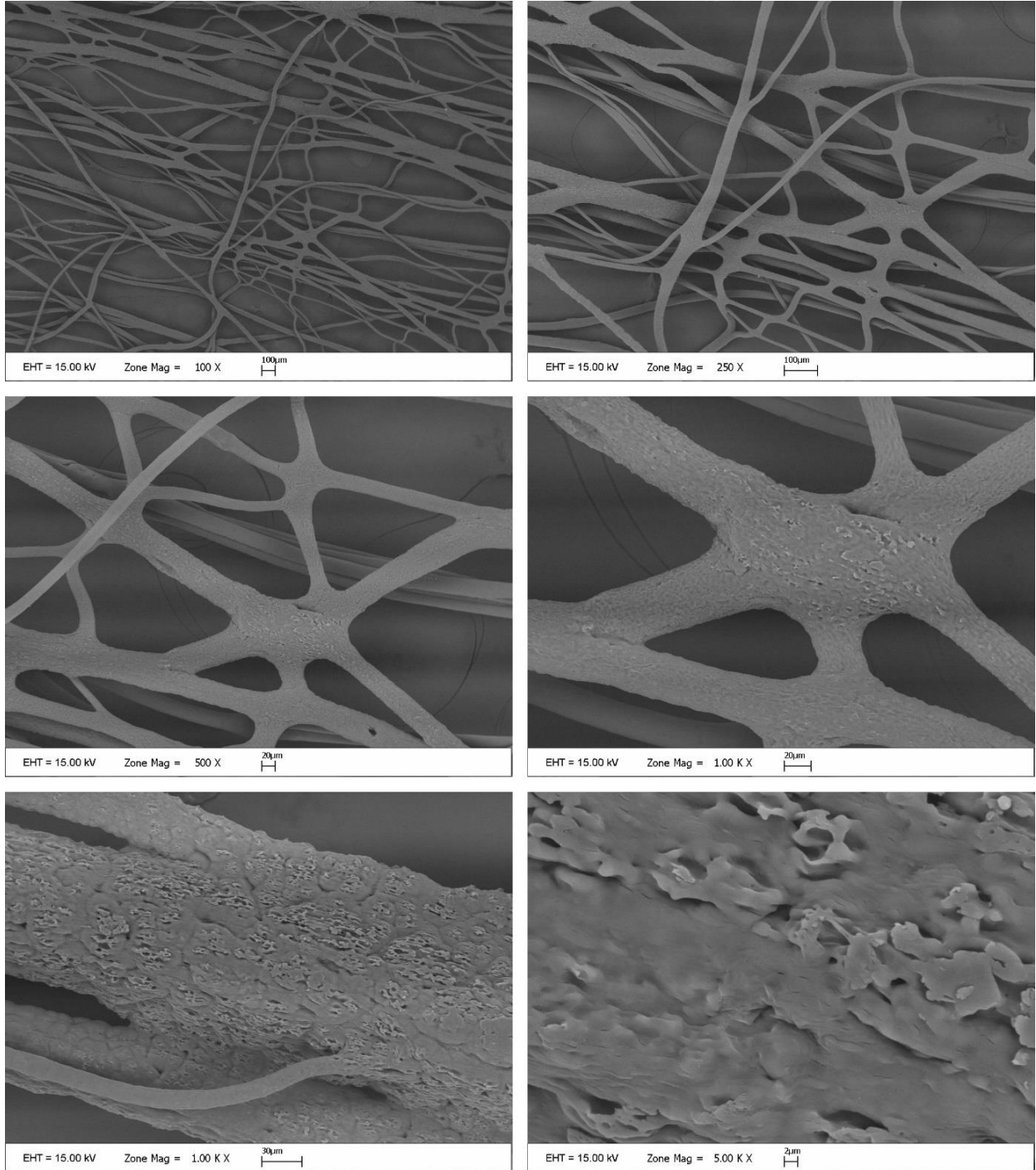
Tablo 1. PJ ve PJ-ÇE liflerinin termal gravimetrik analiz sonuçları.

Mikrofiber Tekstil Lifleri	Bozunma Basamağı	TG Sıcaklık Aralığı (°C)	Kütle Kaybı (%)	Kalan (%)
PJ	Nem	25-100	2.35	97.65
	I	180-395	91.81	5.84
PJ-ÇE	Nem	25-100	2.35	97.65
	I	190-490	93.27	4.38

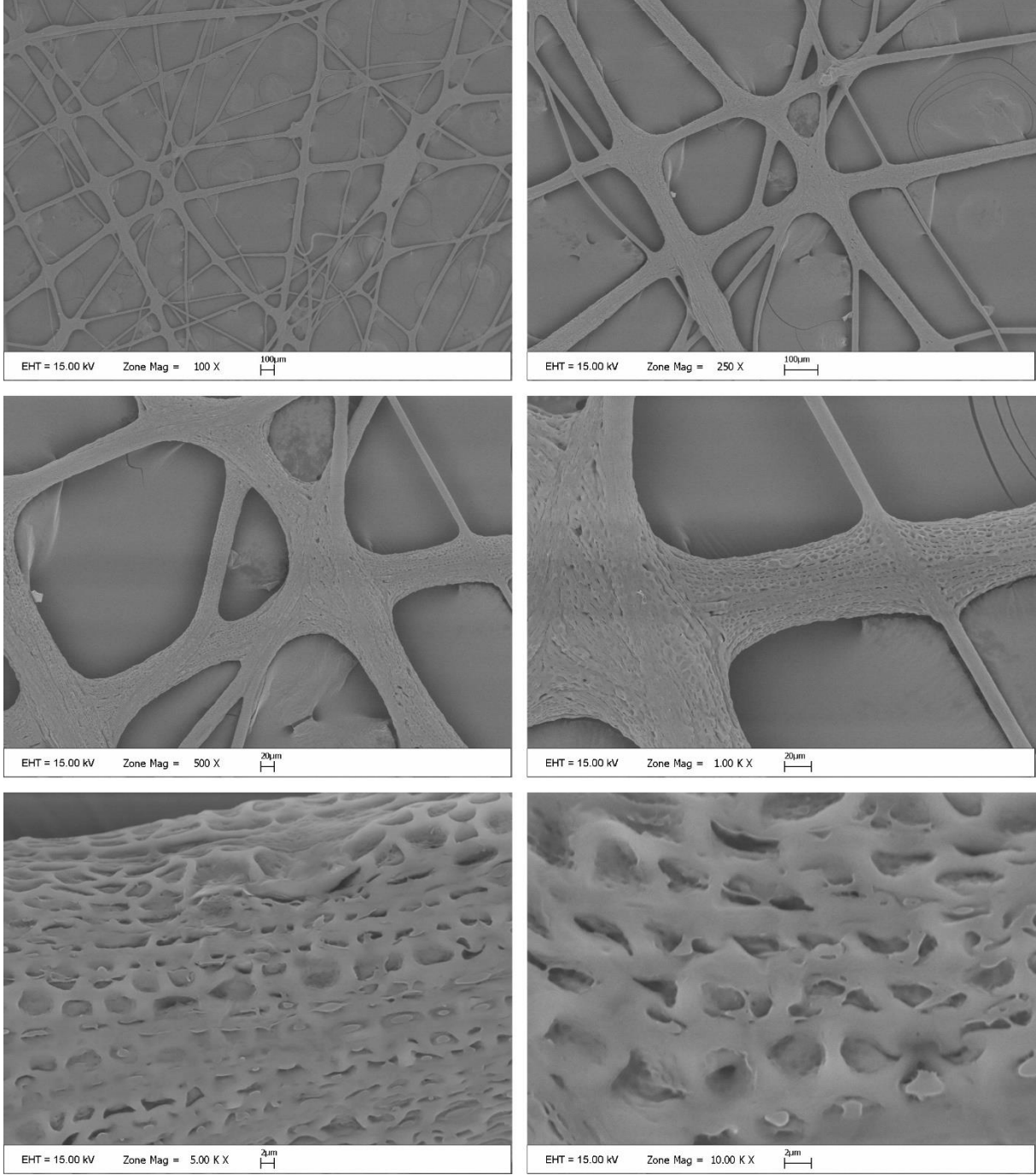
PJ ve PJ-ÇE Liflerinin SEM Analizi

PJ ve PJ-ÇE liflerinin yüzey morfolojisi SEM analizi ile incelenmiştir. SEM mikrograflarında, PJ liflerinin lif yüzeylerinin pürüzlü olduğu, gözeneklerin çok küçük ve az olduğu; PJ-ÇE liflerinin ise liflerin gözenek oranının arttığı görülmektedir. PJ liflerine ait SEM görüntüleri Şekil 5'te, PJ-ÇE liflerine ait SEM görüntüleri ise Şekil 6'da verilmiştir.

Emine Kutlu ve ark., E Vitamini Ve Çörek Otu Yağı İçeren Poli-3-Hidroksibutirat-KO-3-Hidroksiheksaonat-Jelatin Mikrofiber Tekstil Lifleri: Antibakteriyel Etkinlik ve Yara İyileşmesine Katkı



Şekil 5. PJ liflerine ait SEM görüntüleri.



Şekil 6. PJ-ÇE liflerine ait SEM görüntüleri.

Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

PJ ve PJ-ÇE liflerinin antibakteriyel etkinlikleri, tekstillerin antibakteriyel aktivite test yöntemine göre (JIS L 1902: 2002) araştırılmıştır^(12,31). Test sonucunda 24 saat sonunda gözlenen bakteri sayısı Tablo 2’de özetlenmiştir. Antibakteriyel analiz sonuçları PJ liflerinin *E. coli* üzerinde yüksek, *S. aureus* üzerinde ise düşük antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Çörekotu yağı ve E vitamini içeren PJ-ÇE liflerinin *E. coli* üzerinde yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu; ancak, bu aktivitenin PJ liflerinden az olduğu gözlenmiştir. Tersine, *S. aureus* üzerindeki antibakteriyel aktivite yine düşük olmakla birlikte PJ liflerinden fazla bulunmuştur.

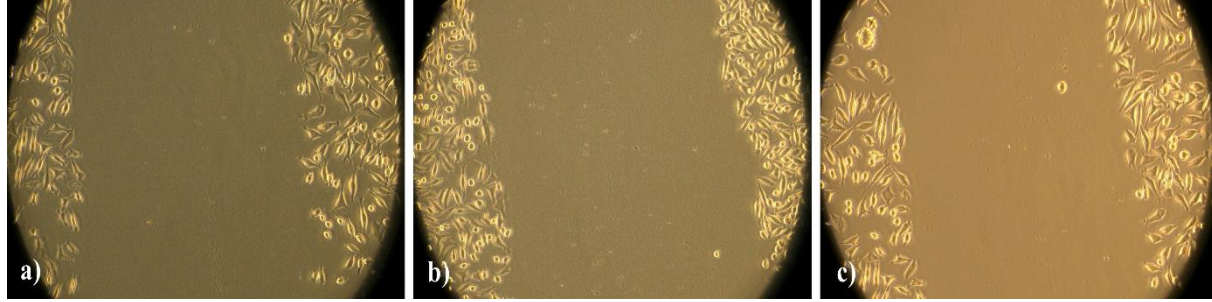
Tablo 2. PJ ve PJ-ÇE lifleri için JIS L 1902 yöntemine göre elde edilen antibakteriyel aktivite sonuçları.

Mikrofiber Tekstil Lifleri	Bakteri	Kontaminasyon Miktarı (KOB/ml)	Log	Son Sayım (KOB/ml)	Log	Log Farkı*
PJ	<i>E. coli</i>	4.3×10^7	7.63	3.2×10^5	5.50	2.13
	<i>S. aureus</i>	2.8×10^7	7.44	4.8×10^6	6.68	0.76
PJ-ÇE	<i>E. coli</i>	4.3×10^7	7.63	5.4×10^5	5.73	1.9
	<i>S. aureus</i>	2.8×10^7	7.44	3.8×10^6	6.59	0.85

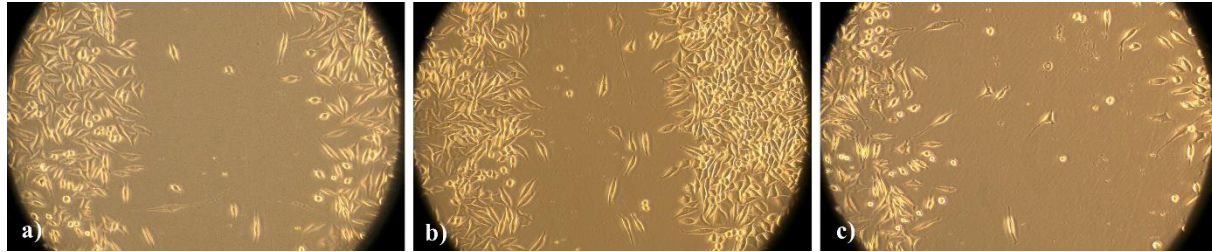
*Log farkı ≤ 0.5 ise antimikrobiyal aktivite yok; 0.5-1 ise düşük antimikrobiyal aktivite, >1 ise yüksek antimikrobiyal aktivite

Yara İyileştirme Testi Sonuçları

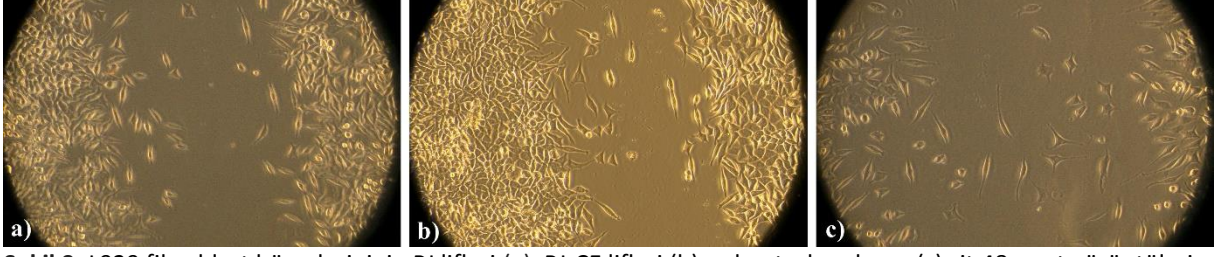
PJ liflerinin (a), PJ-ÇE liflerinin (b) ve kontrol grubunun (c) L929 fibroblast hücreleri üzerindeki 0. saat, 24. saat, 48. saat ve 72. saatteki yara iyileşmesine ait görüntüleri sırasıyla Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9 ve Şekil 10’da verilmiştir. SEM görüntülerinde, PJ liflerini içeren örneklerde hasarın kontrol grubuna göre 24, 48 ve 72 saat inkübasyon sonrasında benzer oranda kapandığı görülmüştür. Ancak, PJ-ÇE lifleri varlığında L929 hücrelerinin sayıca arttığı ve hücre hasarının daha hızlı olarak onarıldığı gözlenmiştir.



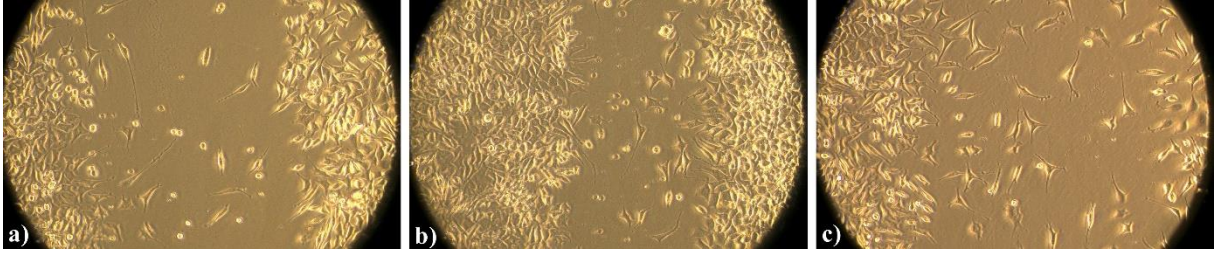
Şekil 7. L929 fibroblast hücrelerinin PJ lifleri (a), PJ-ÇE lifleri (b) ve kontrol grubuna (c) ait 0. saat görüntüleri.



Şekil 8. L929 fibroblast hücrelerinin PJ lifleri (a), PJ-ÇE lifleri (b) ve kontrol grubuna (c) ait 24. saat görüntüleri.

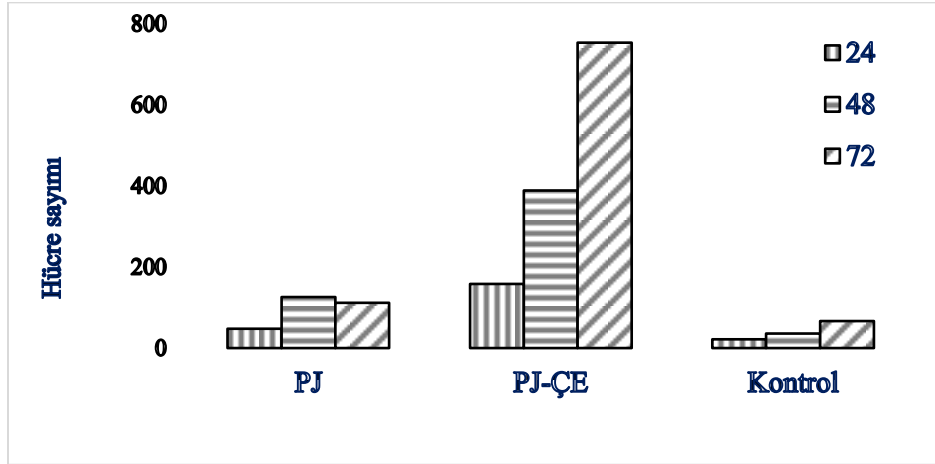


Şekil 9. L929 fibroblast hücrelerinin PJ lifleri (a), PJ-ÇE lifleri (b) ve kontrol grubuna (c) ait 48. saat görüntüleri.



Şekil 10. L929 fibroblast hücrelerinin PJ lifleri (a), PJ-ÇE lifleri (b) ve kontrol grubuna (c) ait 72. saat görüntüleri.

Hücre kültüründe oluşturulan hasarın PJ ve PJ-ÇE lifleri ile muamelesi sonrasında hasarlı kısımda çoğalan hücrelerin sayımları Şekil 11'de özetlenmiş, örneklerin hücreler üzerindeki yara iyileştirme potansiyeli buna göre değerlendirilmiştir. Grafikte görülen hücre sayım değerleri üç paralel denemenin ortalaması olarak sunulmuş, PJ-ÇE liflerine maruz kalan gruptaki hücre artışının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.01$).



Şekil 11. PJ ve PJ-ÇE lifleri ve kontrol grubunun 0. saatte çizik oluşturulan boşlukta 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonrasında çoğalan hücrelerin mikroskop sayım sonuçları.

(* ve ** işaretleri aynı koşullardaki kontrol örneğine göre sırası ile $\alpha = 0.01$ ve $\alpha = 0.05$ seviyesinde önemli farklar olduğunu ifade etmektedir).

TARTIŞMA

Bu alanda yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada poli(3-hidroksibutirat-co-3-hidroksiheksanoat) (PHBHHx)-Jelatin kopolimeri içeren nanolif yapılı nanokompozit yara örtüsü ilk kez hazırlanmıştır. Ayrıca çörek otu yağı ve E vitamini bu nanolif içerisine katılarak yeni nanokompozit bir yara örtüsü elde edilmiştir. Elde edilen nano-lifli yüzeyin yara örtüsü olarak kullanım performansı L929 fibroblast hücreleri üzerinde, antibakteriyel aktivitesi ise *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde *in vitro* ortamda değerlendirilmiştir. Bu yönüyle çalışmamız özgün bir çalışma niteliği taşımaktadır.

PHBHHx'ler, polihidroksialkanoat (PHA) ailesinin bir üyesidirler. Özellikle biyolojik olarak parçalanabilir olmaları, toksisitesinin olmaması, poli(3-hidroksibutirat)'a kıyasla sahip olduğu gelişmiş termal stabilite ve umut verici mekanik özellikleri nedeniyle sağlık alanında kullanılabilecek önemli bir biyopolimerdir. Jelatin ise, düşük antijenite, iyi biyo-bozunabilirlik ve fizyolojik ortamda biyoyoumluluk gibi özellikleri sayesinde biyomedikal uygulamalarda, yara bakımı ve doku mühendisliğinde yer alan bir biyopolimerdir. Gözenekli jelatin örtüler yaralarda meydana gelen sızıntılarını emer, nemi korur ve yara iyileşmesini destekler. İlaveten jelatin bazlı örtüler hücre göçü ve yeni doku gelişimi için mekanik ve yapısal desteklerdir. Jelatin, yara pansuman malzemesi olarak kullanılan umut verici bir biyopolimerdir. Ancak; jelatinin antibakteriyel etkinliğe sahip olmaması nedeniyle yara enfeksiyonlarını veya yaranın bakteriyel istilasını önleme konusunda yetersiz kalması, hızlı bozunma süresi ve oldukça hidrofilik yüzeye sahip olması nedeniyle yara örtülerinin geliştirilmesinde temel malzeme olarak tek başına kullanılmak için dezavantajlıdır. Bu nedenle, çalışmada jelatin diğer bir biyopolimer olan PHBHHx ile birleştirilerek hibrit bir mikrofiber örtü tasarlanmıştır. Bu örtüye yara iyileştirmesini hızlandırma ve antibakteriyel özellik kazandırma amacıyla çörekotu yağı ve E vitamini eklenmiştir. Literatürde yara örtülerinden yaraya vitamin ve mineral salımına ilişkin çalışmalar nadirdir ve genellikle bu ajanlar oral takviye olarak kullanılmaktadırlar. Yapılan bir çalışmada, açık yara üzerine lokal olarak A vitamini, C vitamini, glukoz ve gentamisin uygulanarak üzerine kolajen tabaka-biyolojik örtü (katman) ile kaplanmıştır. Ardından A vitamininin geri kalanı, C vitamini, glukoz ve gentamisin biyolojik örtünün üzerine de uygulanarak yara daha sonra beş katlı gazlı bezle kapatmıştır. Bu uygulama sonucunda yaraların daha iyi ve daha hızlı bir iyileşme süreci sağlandığını raporlanmıştır^(23,26). Diğer bir çalışmada, biyobozunur ve biyoyoumlu bir polimer olan polivinil alkol (PVA) ile cilt rahatsızlıklarında antibakteriyel, antioksidan ve antienflamatuar özellikleri ile bilinen sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) yağından elektrospinning yöntemi ile uçucu yağ yüklü nanolifli yara örtüleri elde edilmiştir. Ancak, herhangi bir antibakteriyel aktivite sonuçları raporlanmamıştır⁽²⁹⁾. Doğancı ve ark.⁽¹⁵⁾ polivinil alkol (PVA) ile farklı oranlarda ozon yağı kullanarak elektrospinnig tekniğiyle kompozit yara örtüleri elde etmişler, antibakteriyel etkinlik araştırması yapmamışlardır.

Polimerik yara örtülerinin en güncel olarak kabul edilen türü, elektrospinning yöntemiyle elde edilen nanofiber yapısındaki polimerik sistemlerdir. Nanofiberler, geleneksel örtülerle karşılaştırıldığında, üretim yönteminden kaynaklanan nano boyutta olmaları ve gözenekli yapıları sayesinde çok geniş yüzey alanına sahiptirler. Bu özellikleri sayesinde biyoaktif yara örtüsü olarak kullanılmaları bakımından ön plana çıkmaktadırlar. Farklı özellikteki polimerlerin bir araya getirilerek hazırlanan kompozit yara örtüleri, yara iyileşme sürecinin ihtiyaçlarını karşılayarak kısa sürede ve tam bir yara iyileşmesi sağlayabilir. Literatürde nanofiberlere antimikrobiyal etkinlik kazandırmaya çalışan denemeler de bulunmaktadır. Bir çalışmada, yara örtüsü uygulamaları için elektrospinning yöntemi kullanarak farklı oranlarda gentamisin yüklü polivinil alkol ve jelatin (PVA/JEL) nanofiberleri elde edilmiştir. Gentamisin içeren nanofiberlerin (*S. aureus* ATCC 29213 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853'ye karşı antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, malzemedeki gentamisin miktarı arttıkça nanofiberlerin mekanik mukavemetinin zayıfladığını ancak antibakteriyel özelliklerinin önemli ölçüde iyileştiğini göstermiştir⁽⁷⁾.

Polimerik yara örtüleri, daha çok cilt yaralarının tedavisinde kullanılan tıbbi ürünlerdir. Cilt yaraları yaşayan veya risk altında olan bireyler; özellikle ameliyat sonrası hastalar, diyabetik hastalar, basınç ülseri olan hastalar ve yanık hastaları, bu tür yaraların tedavisinde ve korunmasında polimerik yara örtülerinden fayda sağlayabilirler. Kompozit yara örtüleri, hasta veya hastalık türüne göre çeşitli ilaç ya da ajanlarla modifiye

edilebilir. Gelişen teknoloji yardımıyla kendine özgü, zor yara tipleri için özelleştirilmiş tedavi yaklaşımlarında kullanılacak malzemeler geliştirilebilir ve kronik yaraların iyileştirilmesinde yeni olanaklar yaratabilir. Bu çalışmada, E vitamini ve çörekotu ile geliştirilen PJ-ÇE liflerinin yara iyileşmesini destekleme konusunda umut verici olduğu sonucuna varılmıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Proje için herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Conflict of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Financial support: No financial support was received for the project.

KAYNAKLAR

1. Alkaya E. Farklı Tuzlardan Elde Edilen Hipokloröz Asitin Keratinosit Ve Fibroblast Hücrelerine Etkisi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, <https://hdl.handle.net/11499/45787> (erişim tarihi 30.05.2024).
2. Anju S, Prajitha N, Sukanya VS, Mohanan PV. Complicity of degradable polymers in health-care applications. *Mater Today Chem.* 2020;16:100236. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2019.100236>.
3. Aras C. Çörek Otu Yağı Katkılı Nanokompozit Poliüretan Nanolifli Yüzey Üretimi, Karakterizasyonu ve Yara Örtüsü Olarak Kullanım Performansının Araştırılması, <https://www.proquest.com/docview/2579336967>. (erişim tarihi 12.04.2024).
4. Balusamy B, Senthamizhan A, Uyar T. Electrospun Nanofibers for Wound Dressing and Tissue Engineering Applications. *Hacettepe J Biol Chem.* 2020;48(5):459-81. <https://doi.org/10.15671/hjbc.789186>.
5. Bian YZ, Wang Y, Aibaidoula G, Chen GQ, Wu Q. Evaluation of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) conduits for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials.* 2009;30(2):217-25. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.09.036>.
6. Boateng JS, Matthews KH, Stevens HNE, Eccleston GM. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. *J Pharm Sci.* 2008;97(8):2892-923. <https://doi.org/10.1002/jps.21210>.
7. Cesur S. Gentamisin Yüklü Poli(Vinil Alkol)/Jelatin Nanofiberlerin Elektroçirime Yöntemiyle Yara Örtüsü Malzemesi Olarak Üretilmesi. *Konya J Eng Sci.* 2022;10(4):878-88. <https://doi.org/10.36306/konjes.1124919>.
8. Chapekar MS. Tissue Engineering: Challenges and Opportunities. *J Biomed Mater Res - Part A.* 2000;53(6):617-20. <https://doi.org/10.1002/1097-4636>.
9. Chen G, Ushida T, Tateishi T. Scaffold Design for Tissue Engineering. *Macromol Biosci.* 2002;2(2):67-77. <https://doi.org/10.1002/1616-5195>.
10. Cheng ML, Chen PY, Lan CH, Sun YM. Structure, mechanical properties and degradation behaviors of the electrospun fibrous blends of PHBHHx/PDLLA. *Polymer (Guildf).* 2011;52(6):1391-401. <https://doi.org/10.1016/j.Polymer.2011.01.039>.
11. Çolpankan Güneş O. Production of antibacterial, biodegradable and biocompatible materials for tissue engineering applications. 2019. Doktora tezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>
12. Demirdogen RE, Kilic D, Emen FM, et al. Novel antibacterial cellulose acetate fibers modified with 2-fluoropyridine complexes. *J Mol Struct.* 2020;1204. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127537>.
13. Demirdogen RE, Yeşilkaynak T, Tishakova T, Emen FM. Antibacterial Cellulose Acetate Microfibers Containing Pyridine Derivative Complexes. 2021;15(2):217-25.
14. Dhandayuthapani B, Yoshida Y, Maekawa T, Kumar DS. Polymeric scaffolds in tissue engineering application: A review. *Int J Polym Sci.* 2011;2011. <https://doi.org/10.1155/2011/290602>.
15. Doganci E, Doganci MD, Bulus GS, Bulus E. Ozon Yağı İçeren Nanoteknolojik Yara Örtüsü Üretimi ve Karakterizasyonu. *Atatürk Üniversitesi Kim Derg.* 2022;2(1):1-5.
16. Eraslan K, Aversa C, Nofar M, et al. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBH): Synthesis, properties, and applications - A review. *Eur Polym J.* 2022;167:111044. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111044>.

17. Foulkes R, Man E, Thind J, Yeung S, Joy A, Hoskins C. The regulation of nanomaterials and nanomedicines for clinical application: current and future perspectives. *Biomater Sci.* 2020;8(17):4653-64. <https://doi.org/10.1039/d0bm00558d>.
18. Hasan A, Morshed M, Memic A, Hassan S, Webster TJ, Marei HES. Nanoparticles in tissue engineering: Applications, challenges and prospects. *Int J Nanomedicine.* 2018;13:5637-55. <https://doi.org/10.2147/ijn.s153758>.
19. Hoque MS, Benjakul S, Prodpran T. Effects of partial hydrolysis and plasticizer content on the properties of film from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin gelatin. *Food Hydrocoll.* 2011;25(1):82-90. <https://doi.org/10.1016/J.Foodhyd.2010.05.008>.
20. Kamoun EA, Kenawy ERS, Chen X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *J Adv Res.* 2017;8(3):217-33. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.005>.
21. Kim SH, Turnbull J, Guimond S. Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. *J Endocrinol.* 2011;209(2):139-51. <https://doi.org/10.1530/joe-10-0377>.
22. Kobolak J, Dinnyes A, Memic A, Khademhosseini A, Mobasheri A. Mesenchymal stem cells: Identification, phenotypic characterization, biological properties and potential for regenerative medicine through biomaterial micro-engineering of their niche. *Methods.* 2016;99:62-8. <https://doi.org/10.1016/J.ymeth.2015.09.016>.
23. Kurtoğlu AH, Karataş A. Current Approaches To Wound Therapy: Modern Wound Dressings. *Ankara Ecz Fak Derg J Fac Pharm. Ankara.* 2009;38(3):211-32. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000562.
24. Kutlu E, Emen FM, Yıldırım K, et al. Novel thiourea derivatives against Mycobacterium tuberculosis : synthesis, characterization and molecular docking studies Novel thiourea derivatives against Mycobacterium tuberculosis : synthesis,. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem.* 2023;0(0):1-10. <https://doi.org/10.1080/10426507.2023.2201503>.
25. Las Heras K, Igartua M, Santos-Vizcaino E, Hernandez RM. Chronic wounds: Current status, available strategies and emerging therapeutic solutions. *J Control Release.* 2020;328:532-50. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.09.039>.
26. Lazovic G, Colic M, Grubor M, Jovanovic M. The Application of Collagen Sheet in Open Wound Healing. *Ann Burns Fire Disasters.* 2005;18(3):151.
27. Maaz Arif M, Khan SM, Gull N, Tabish TA, Zia S, Ullah Khan R, et al. Polymer-based biomaterials for chronic wound management: Promises and challenges. *Int J Pharm.* 2021;598:120270. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120270>.
28. Mir SH, Nagahara LA, Thundat T, Mokarian-Tabari P, Furukawa H, Khosla A. Review-Organic-Inorganic Hybrid Functional Materials: An Integrated Platform for Applied Technologies. *J Electrochem Soc.* 2018;165(8):B3137-56. <https://doi.org/10.1149/2.0191808jes/xml>.
29. Pala N, Aral N, Nergis B. Sarı Kantaron Yağı Katkılı PVA Nanoliflerin Emülsiyon Elektroelime Yöntemi İle Üretimi. *J Text Eng.* 2022;29(128):267-71. <https://doi.org/10.7216/teksmuh.1222500>.
30. Pancur S, BiLensoy E, Çalış S. Use of Biodegradable Natural and Synthetic Polymers in Wound Dressing. *Fabad J Pharm Sci.* 2022;47(3):419-42. <https://doi.org/10.55262/fabadeccacilik.1185870>.
31. Pinho E, Magalhães L, Henriques M, Oliveira R. Antimicrobial activity assessment of textiles: Standard methods comparison. *Ann Microbiol.* 2011;61(3):493-8. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0163-8>.
32. Pinho E, Soares G, Henriques M, Grootveld M. Antibacterial activity of textiles for wound treatment. *AATCC J Res.* 2015;2(5):1-7. <https://doi.org/10.14504/ajr.2.5.1>.
33. Pulingam T, Appaturi JN, Gayathiri M, Sudesh K. TiO₂ loaded on glycidol functionalized poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) nanobiocomposite film for photocatalytic and antibacterial activities. *Int J Biol Macromol.* 2023;253(P6):127216.

34. Qu XH, Wu Q, Liang J, Zou B, Chen GQ. Effect of 3-hydroxyhexanoate content in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) on in vitro growth and differentiation of smooth muscle cells. *Biomaterials*. 2006;27(15):2944-50. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.013>.
35. Sahithi K, Swetha M, Ramasamy K, Srinivasan N, Selvamurugan N. Polymeric composites containing carbon nanotubes for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*. 2010;46(3):281-3. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.01.006>.
36. Smith LA, Liu X, Ma PX. Tissue engineering with nano-fibrous scaffolds. *Soft Matter*. 2008;4(11):2144-9. <https://doi.org/10.1039/B807088C>.
37. Su K, Wang C. Recent advances in the use of gelatin in biomedical research. *Biotechnol Lett*. 2015;37(11):2139-45. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1907-0>
38. Summa M, Russo D, Penna I, al. A biocompatible sodium alginate/povidone iodine film enhances wound healing. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;122:17-24. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.10.004>.
39. Top N, Gokce H. Artificial Bone Scaffold Design in Tissue Engineering. *Selçuk-Teknik Derg*. 2019;18(1302-6178):3.
40. Vasita R, Katti DS. Nanofibers and their applications in tissue engineering. *Int J Nanomedicine*. 2006;1(1):15-30. <https://doi.org/10.2147/nano.2006.1.1.15>.
41. Wagner A, Poursorkhabi V, Mohanty AK, Misra M. Analysis of porous electrospun fibers from poly(l-lactic acid)/poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) blends. *ACS Sustain Chem Eng*. 2014;2(8):1976-82. <https://doi.org/10.1021/sc5000495>
42. Wang P, Li Y, Zhang C, Feng F, Zhang H. Sequential electrospinning of multilayer ethylcellulose/gelatin/ethylcellulose nanofibrous film for sustained release of curcumin. *Food Chem*. 2020;308:125599. <https://doi.org/10.1016/J.Foodchem.2019.125599>.
43. Wiegand C, Abel M, Ruth P, Elsner P, Hipler UC. In vitro assessment of the antimicrobial activity of wound dressings: influence of the test method selected and impact of the pH. *J Mater Sci Mater Med*. 2015;26(1):18. <https://doi.org/10.1007/s10856-014-5343-9>.
44. Yeşilkaynak T, Özkömeç FN, Çeşme M, et al. Synthesis of new thiourea derivatives and metal complexes: Thermal behavior, biological evaluation, in silico ADMET profiling and molecular docking studies. *J Mol Struct*. 2022;1269:133758. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133758>
45. Yırtmaz T. Kemik doku rejenerasyonu için Ballıbaba ekstraktı ile kaplanmış gümüş nanopartikül katkılı Kitosan/PCL nanofiber üretimi ve karakterizasyonu. <https://www.proquest.com/docview/2787193124> (erişim tarihi 20.05.2024).
46. Zheng Y, Liang Y, Zhang D, et al. Gelatin-Based Hydrogels Blended with Gellan as an Injectable Wound Dressing. *ACS Omega*. 2018;3(5):4766-75. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00308>.