

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YÖNLENDİRİLMİŞ DOKU REJENERASYONUNA YÖNELİK
PCL/KİTOSAN İÇEREN FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Merve DEMİR

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN

TEMMUZ 2019

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

.....
Prof. Dr. Osman EROĞUL
Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığını onaylarım.

.....
Prof. Dr. Osman EROĞUL
Anabilimdalı Başkanı

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 171711002 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Merve DEMİR**'in ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı **“YÖNLENDİRİLMİŞ DOKU REJENERASYONUNA YÖNELİK PCL/KİTOSAN İÇEREN FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ”** başlıklı tezi **26.07.2019** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN**
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Eş Danışman : **Doç. Dr. N. Selcan TÜRKER**
TÜBİTAK

Jüri Üyeleri : **Doç. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN (Başkan)**
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Prof. Dr. Osman EROĞUL
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Doç. Dr. Gökçen Birlik DEMİREL
Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Merve Demir

ÖZET

Yüksek Lisans

YÖNLENDİRİLMİŞ DOKU REJENERASYONUNA YÖNELİK PCL/KİTOSAN İÇEREN FORMÜLASYONLARIN GELİŞTİRİLMESİ

Merve Demir

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatih Büyükserin

Eş Danışman: Doç. Dr. N. Selcan Türker

Tarih: Temmuz 2019

Periodontitis, periodontal dokuların zarar görmesine neden olan ve diş kaybı ile sonuçlanan kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR), yıllardır periodontal rejenerasyon için altın standart olarak kabul edilmekte ve kronik periodontitis hastaların klinik parametrelerinin iyileştirilmesinde etkili olduğu bilimsel literatürde ifade edilmektedir. YDR'nin periodontoloji klinik uygulamaları; kemik ve dokunun yeniden büyümesini sağlamak ve kaybedilen periodontal yapıları yeniden oluşturmak için fiziksel bir bariyer sağlayacak olan membranın yerleştirilmesini kapsar. Bu çalışmada; cerrahi işlem sonrası oluşabilecek enflamasyonu engelleyecek ve lokal antienflamatuvar ilaç salımını sağlayacak kitosan kaplı PCL membranların elektroğirme yöntemi ile üretilmesi ve bu membranların periodontal yara iyileştirici potansiyellerinin in vitro olarak araştırılması amaçlanmıştır. YDR amaçlı PCL membranların elektroğirme yöntemi ile üretilmesi için optimizasyon çalışması yapılmış ve %20 PCL (a/h) optimum polimer konsantrasyonu olarak tercih edilmiştir. Optimize edilmiş olan %20 PCL (a/h)

fiberlere %5 ve %15 (a/h) Metronidazol yüklenmiş ve fiberler daha sonra kitosan %5 (a/h) ile kaplanmıştır. Üretilmiş olan membranların karakterizasyonu için viskozite analizi, optik mikroskop, FTIR, SEM, temas açısı analizi, mekanik, degradasyon ve in vitro salım testi yapılmıştır. Optik mikroskop, FTIR ve SEM analizi sonuçları PCL fiberlerin başarılı bir şekilde oluşturulduğunu göstermiştir. FTIR ve SEM analizi sonuçları ile Metronidazolün PCL fiberlere başarılı bir şekilde yüklendiğini ve kitosan ile kaplandığı görülmüştür. SEM sonuçları karşılaştırıldığında Metronidazol miktarının %0'dan %15'e yükseltilmesi ortalama çapı $2,0\pm0,29 \mu\text{m}$ 'den $0,494\pm0,22 \mu\text{m}$ 'ye, PCL'in kitosan ile kaplanması sonucu ise ortalama çapı $0,792\pm0,26 \mu\text{m}$ 'ye düşürmüştür. PCL'in temas açısı $114,51\pm2,10^\circ$ iken, kitosan kaplı PCL'in $71,29\pm0,29^\circ$, %5 ve %15 (a/h) Metronidazol yüklü PCL'in ise $76,02\pm4,46^\circ$ ve $52,55\pm1,69^\circ$ olarak hesaplanmıştır. Temas açısı sonuçları, PCL'in kitosan ile kaplanması ve Metronidazol yüklenmesinin, PCL'in hidrofilik özelliğini arttırdığını göstermektedir. Mekanik test analizi sonuçlarına göre PCL'in young modülü $25,56\pm3,99 \text{ MPa}$ ve çekme gerilim direnci $3,64\pm0,53 \text{ mm/mm}$ iken, kitosan eklenmesiyle mekanik direnci zayıflamış ve young modülü $5,04\pm1,16 \text{ MPa}$ ve çekme gerilim direnci $1,67\pm0,37 \text{ mm/mm}$ olarak ölçülmüştür. Yirmi sekiz gün boyunca yapılan degradasyon çalışması sonuçları, kitosan kaplı PCL'in 28. günün sonunda %93'ünün bozunduğunu ve bu süreç sonunda fiber yapısını hala koruyabildiğini göstermiştir. Membranlardan %5 ve %15 (a/h) Metronidazolün in vitro salım çalışmaları yirmisekiz gün boyunca 25° C ve 37° C 'de yapılmıştır. 28. günün sonunda Metronidazolün 25° C 'deki ilaç salımı $\%72,04\pm0,09$ iken, 37° C 'deki ilaç salımı $\%91,44\pm0,37$ bulunmuştur. Yapılan analizler sonrasında, hazırlanan Metronidazol yüklü membranların biyomedikal ve doku mühendisliği uygulamalarında YDR amacıyla kullanılabilme potansiyeli başarılı bir şekilde gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Periodontitis, Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu, PCL, Kitosan, Elektroegirme yöntemi, Metronidazol

ABSTRACT

Master of Science

DEVELOPMENT OF PCL/CHITOSAN CONTAINING FORMULATIONS FOR GUIDED TISSUE REGENERATION

Merve Demir

TOBB University of Economics and Technology
Institute of Natural and Applied Sciences
Biomedical Engineer Programme

Supervisor: Doç. Dr. Fatih Büyükserin

Co-Adviser: Doç. Dr. N. Selcan Türker

Date: July 2019

Periodontitis is a chronic inflammatory disease that causes periodontal tissue damage and results in tooth loss. Guided tissue regeneration (GTR) has been accepted as the gold standard for periodontal regeneration for many years and has been reported to be effective in improving the clinical parameters of patients with chronic periodontitis. Clinical applications of periodontology of GTR; encompassing the placement of a membrane that will provide a physical barrier to regenerate bone and tissue and to regenerate lost periodontal structures. In this study; The aim of this study was to produce chitosan coated PCL membranes by electrospinning method to prevent inflammation and local anti-inflammatory drug release and to investigate periodontal wound healing potential of these membranes in vitro. An optimization study was carried out to produce PCL membranes for GTR by electrospinning method and 20% PCL (w/v) was chosen as the optimum polymer concentration. The optimized 20% PCL (w/v) fibers were loaded with 5% and 15% (w/v) Metronidazole and the fibers were then coated with chitosan 5% (w/v). For the characterization of

produced membranes, viscosity analysis, optical microscope, FTIR, SEM, contact angle analysis, mechanical, degradation and in vitro release tests were performed. Optical microscope, FTIR and SEM analysis results showed that PCL fibers were successfully formed. Results of FTIR and SEM analysis showed that Metronidazole was successfully loaded into PCL fibers and coated with chitosan. When the SEM results were compared, increasing the amount of Metronidazole from 0% to 15% mean diameter was $2.0\pm 0.29\ \mu\text{m}$ to $0.494\pm 0.22\ \mu\text{m}$, and PCL was coated with chitosan with a mean diameter of $0.792\pm 0.26\ \mu\text{m}$. PCL had a contact angle of $114.51\pm 2.10^\circ$, while $71.29\pm 0.29^\circ$ 5%, and 15% (w/v) of PCL coated PCL had $76.02\pm 4.46^\circ$ and $52.55\pm 1.69^\circ$. Contact angle results show that PCL coating with chitosan and Metronidazole loading increase the hydrophilicity of PCL. According to the results of the mechanical test analysis, the young modulus of PCL was $25.56\pm 3.99\ \text{MPa}$ and the tensile strength was $3.64\pm 0.53\ \text{mm/mm}$. and tensile stress resistance was calculated as $1.67\pm 0.37\ \text{mm/mm}$. The results of the 28-day degradation study showed that 93% of chitosan-coated PCL decayed at the end of 28th day and still retain the fiber structure at the end of this process. In vitro release studies of 5% and 15% (w/v) Metronidazole from membranes were performed at $25^\circ\ \text{C}$ and $37^\circ\ \text{C}$ for 28 th day. At the end of the 28th day, drug release of metronidazole at $25^\circ\ \text{C}$ was $72.04\pm 0.09\%$, while drug release at $37^\circ\ \text{C}$ was $91.44\pm 0.37\%$. After the analyzes, the potential of the Metronidazole loaded membranes to be used in the biomedical and tissue engineering applications has been successfully demonstrated.

Keywords: Periodontitis, Guided tissue regeneration, PCL, Chitosan, Electrospinning method, Metronidazole

TEŞEKKÜR

Tanıştığımız süre boyunca her daim arkamda durup bana hep güvenen ve çok şey öğreten, yönlendiren, gurur duyduğum ve yalnızca çalışma disiplini değil aynı zamanda kişiliğiyle ideolum olan fedakâr canım kıymetli hocam Doç. Dr. Selcan TÜRKER'e, yanına her gittiğimde boş çevirmeyen ve hep yardımcı olan, çözüm odaklı yaklaşımlarını hep örnek aldığım kıymetli hocam Prof. Dr. Osman EROĞUL'a, danışmanlığımı kabul eden, her zaman yardımcı olan ve çok saygı duyduğum kıymetli hocam Doç. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN'e,

Yüksek Lisans hayatım boyunca hep yardımlaşarak çalıştığımız Pınar ER'e ve Gökhan KAFES'e, yardımlarını hiç esirgemeyen, benim için çok fedakarlık yapan ve çok sevdiğim değerli Ece BAYRAK'a, kendisiyle çalışmaktan büyük zevk aldığım, bana çok şey katan canım hocam ve arkadaşım Gözde KABAY'a, bana kattıkları, fedakarlıklarıyla gönlümde taht kuran ve her zaman arkamda durup her anımı paylaşan ve başarılarımla mutlu olan canım dostum Enes ÇELİK'e, her daim beni motive eden ve yardımlarını esirgemeyen Tuğba ÖZTÜRK'e, beni hep motive eden canım dostlarım Hanife PERTEK ve Oğuzhan PANATLI'ya, benim için en değerliler olan, benim şu hayatta var olduğumdan beri hep arkamda duran ve bütün isteklerimi hiç koşulsuz yerine getiren canım aileme,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana çok şey katan ve beni AR-GE burslusu olarak destekleyen TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi'ne

En içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
KISALTMALAR	xiv
SEMBOL LİSTESİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR	3
2.1 Periodontitis	3
2.1.1 Periodontitise sebep olan bakteriler	5
2.2 Rejeneratif Periodontal Tedavi	5
2.2.1 Kemik greftleri.....	6
2.2.1.1 Ototogreftler	7
2.2.1.2 Allogrefter	9
2.2.1.3 Zenogreftler	10
2.2.1.4 Alloplastik greftler	10
2.3 Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu.....	11
2.3.1 Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu membranları.....	15
2.3.1.1 Emilemeyen membranlar.....	15
2.3.1.2 Emilebilir membranlar	18
2.4 Membrana Antibakteriyel Özellikler Kazandırma.....	23
2.4.1 Metronidazol.....	23
2.5 Elektroğirme Yöntemi	25
2.5.1 Elektroğirme yönteminin çalışma prensibi	26
2.5.2 Elektroğirme yönteminin parametreleri	28
2.5.2.1 Çözelti parametreleri	29
2.5.2.2 İşlem parametreleri	30
2.5.2.3 Ortam parametreleri.....	32
3. DENEYSEL MALZEMELER VE YÖNTEMLER	35
3.1 Malzemeler	35
3.2 Yöntem.....	35
3.2.1 Solüsyonlarının hazırlanması	35
3.2.1.1 PCL (Poly ε-Caprolactone)	35
3.2.1.2 Kitosan.....	35
3.2.1.3 Metronidazol.....	35
3.2.1.4 Viskozite ölçümleri	36
3.2.2. Elektroğirme yöntemiyle üretilen fiberlerin optimizasyonu	36

3.2.2.1 PCL solüsyonundan fiber üretimi ve optimizasyonu	37
3.2.2.2 Metronidazol yüklü PCL fiberlerin optimizasyonu	37
3.2.3 Fiberlerin kitosan ile kaplanması ve optimizasyonu	37
3.3 Elektroçirime Yöntemiyle Üretilen Fiberlerin Karakterizasyonu	38
3.3.1 Optik (Işık) mikroskobu	39
3.3.2 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)	39
3.3.3 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	40
3.3.4 Temas açısı ölçümleri	42
3.3.5 Mekanik test	43
3.3.6 Degredasyon testi	44
3.3.7 İki farklı sıcaklık (25° C ve 37° C) ve pH (7.4)' te in vitro salım testleri. ...	45
3.3.8 İstatiksel analiz.	46
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA	47
4.1 Elektroçirime Solüsyonlarının Hazırlanması, Kitosan ile Kaplama ve Viskozite Ölçümleri	47
4.1.1 PCL (Poly ε-Caprolactone)	47
4.1.2 Kitosan ile kaplama	48
4.1.3 Viskozite ölçümleri	48
4.2 Elektroçirime Yöntemiyle Üretilen Fiberlerin Karakterizasyonu	49
4.2.1 Optik (Işık) mikroskobu	49
4.2.2 FTIR analizi	52
4.2.3 SEM analizi	55
4.2.4 Temas açısı analizi	58
4.2.5 Mekanik test analizi	61
4.2.6 Degredasyon testi	65
4.2.7 İki farklı sıcaklık (25° C ve 37° C) ve pH (7.4)' da in vitro salım testleri ...	71
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	77
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ	91

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Periodontiumu oluşturan temel bileşenler.	3
Şekil 2.2 : Periodontal rejenerasyonun gerçekleşmesi ile ilgili üç ana bileşenin şematik gösterimi.	6
Şekil 2.3 : Periodontal tedavide kullanılan kemik greftlerinin tablosu.....	8
Şekil 2.4 : Bariyer membran.....	12
Şekil 2.5 : Bariyer membran sayesinde; osteoblastlar, epitelyum hücrelerden önce göç etmesi ve kemik oluşumu meydana gelmesi	13
Şekil 2.6 : Defektli bölgeye emilebilir bariyer membran yerleştirilmesi	14
Şekil 2.7 : Periodontal uygulamalar için emilemeyen ve emilebilir membranlar	16
Şekil 2.8 : Titanyum mesh	17
Şekil 2.9 : PLGA membran	21
Şekil 2.10 : Fiberlerin biyomedikal mühendisliğinde uygulama alanları	25
Şekil 2.11 : Basit elektroğirme düzeneği.....	26
Şekil 2.12 : Elektroğirme yöntemiyle fiber oluşması.....	27
Şekil 2.13 : Elektroğirme tekniğinde kritik voltajın üretime etkisi	28
Şekil 3.1 : Viskozite cihazı fotoğrafı.	36
Şekil 3.2 : Basit elektroğirme düzeneği.....	36
Şekil 3.3 : Optik (Işık) mikroskobu fotoğrafı.....	39
Şekil 3.4 : FTIR cihazı fotoğrafı.....	40
Şekil 3.5 : SEM cihazı fotoğrafı	41
Şekil 3.6 : Temas Açısı ölçüm cihazı fotoğrafı.	42
Şekil 3.7 : Su damlacığının fiber üzerine damlatılma anı.....	43
Şekil 3.8 : Mekanik test cihazı fotoğrafı.....	44
Şekil 3.9 : pH:7.4'teki 25° C ve 37° C için degradasyon için fiber örnekleri.....	45
Şekil 3.10 : Ultraviyole Görünür Spektrofotometre cihazı fotoğrafı.....	45
Şekil 3.11 : 37° C ve 25° C 'de, in vitro salım analizi için pH:7.4'te hazırlanmış örnekler.	46
Şekil 4.1 : %20 (a/h) PCL fiberinin alüminyum folyo üzerindeki ve optik mikroskop görüntüsü.....	47
Şekil 4.2 : Fiberlerin kitosan ile kaplanması	48
Şekil 4.3 : Viskozite değerlerinin istatistiksel analizi görüntüsü.....	49
Şekil 4.4 : %15, %20, %25 PCL (a/h) 'den elde edilen fiberlerin optik mikroskop görüntüleri.....	50
Şekil 4.5 : %5 ve %15 (a/h) Metronidazol ile yüklenmiş PCL fiberler	50
Şekil 4.6 : Metronidazol ile yüklü ve Metronidazol ile yüklü olmayan fiberlerin optik mikroskop görüntüleri.....	51
Şekil 4.7 : Kitosan kaplı PCL'in FTIR spektrumu... ..	52
Şekil 4.8 : Metronidazol ile yüklenmiş PCL membranının FTIR spektrumu	53

Şekil 4.9 : PCL ve Metronidazol fiziksel etkileşimi ve aralarında oluşan bağ	54
Şekil 4.10 : Metronidazol ile yüklenmiş ve kitosan kaplı PCL fiberinin FTIR spektrumu.....	55
Şekil 4.11 : SEM fotoğrafları ve fiber çap dağılımları.....	56
Şekil 4.12 : %20 PCL, %20PCL-%5MET, %20PCL-%15 MET ve %20PCL-%5MET-%5Kitosan'ın SEM fotoğrafları	57
Şekil 4.13 : Ortalama fiber çap değerlerinin istatistiksel analiz görüntüsü.....	58
Şekil 4.14 : Temas açısı değerlerinin istatistiksel analiz görüntüsü....	60
Şekil 4.15 : Young Modülü (MPa) değerlerinin istatistiksel analiz görüntüsü. ...	64
Şekil 4.16 : Çekme Gerilim Dayanımı değerlerinin istatistiksel analiz görüntüsü.....	64
Şekil 4.17 : PCL (25° ve 37° C), PCL-Kitosan (25°) ve PCL-Kitosan (37° C)'in gün/kalan kütle (%) grafiği.	66
Şekil 4.18 : 25° C'deki Metronidazolün kalibrasyon eğrisi	71
Şekil 4.19 : 37° C'deki Metronidazolün kalibrasyon eğrisi	71
Şekil 4.20 : 25° C'deki kümülatif % ilaç salım grafikleri	73
Şekil 4.21 : 37° C'deki kümülatif % ilaç salım grafikleri..	73

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1 : Parametre değişiminin fiber morfolojisi üzerindeki etkileri.....	33
Çizelge 3.1 : Fiber üretimi için kullanılan solüsyonların parametreleri ve optimizasyonu	37
Çizelge 3.2 : Elektroegirme fiberlerinin karakterizasyonu için yapılan testler	38
Çizelge 3.3 : Işık mikroskobu ve elektron mikroskobunun karşılaştırılması.....	41
Çizelge 3.4 : Temas açısı ve özellikleri.	42
Çizelge 4.1 : Viskozite ölçümleri	48
Çizelge 4.2 : Gruplar ve temas açıları (°).....	59
Çizelge 4.3 : Grupların Çekme Gerilimi Dayanımı, Young Modülü değerleri ve Gerilim (MPa)/Gerinim (mm/mm) grafikleri	62
Çizelge 4.4 : 25° C’de PCL fiberlerinin ortalama ağırlığı ve kütle kaybı (%).....	67
Çizelge 4.5 : 25° C’de kitosan kaplı PCL fiberlerinin ortalama ağırlığı ve kütle kaybı (%).....	68
Çizelge 4.6 : 37° C’de PCL fiberlerinin ortalama ağırlığı ve kütle kaybı (%).....	69
Çizelge 4.7 : 37° C’de kitosan kaplı PCL fiberinin ortalama ağırlığı ve kütle kaybı (%).....	70
Çizelge 4.8 : 25° C’deki kümülatif % ilaç salımı miktarı.....	74
Çizelge 4.9 : 37° C’deki kümülatif % ilaç salımı miktarı.....	75

KISALTMALAR

cm	: santimetre
DCM	: Diklorometan
DMF	: Dimetil formamid
DMSO	: Dimetil sülfoksit
ESM	: Ekstrasellüler matriks
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
kDa	: kilodalton
kV	: kilovoltaj
MET	: Metronidazol
ml	: mililitre
mm	: milimetre
nm	: nanometre
PCL	: Polikapralakton
PDL	: Periodontal ligament
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
sa	: saat
SEM	: Taramalı electron mikroskobu
UV-Vis	: Ultraviyole görünür spektroskopi
YDR	: Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu
YKR	: Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu

SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

°

Temas Açısı

μ

Mikron

1.GİRİŞ

Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR), yıllardır periodontal rejenerasyon için altın standart olarak kabul edilmekte ve kronik periodontitis hastaların klinik ve radyografik parametrelerinin iyileştirilmesinde etkili olduğu düşünülmektedir [1]. YDR'nin periodontoloji klinik uygulamaları; kemik ve dokunun yeniden büyümesini sağlamak ve periodontal enfeksiyonu engellemek, kontrol etmek veya kaybedilen periodontal yapıları yeniden oluşturmak için fiziksel bir bariyer sağlayacak olan membranın yerleştirilmesini kapsar. YDR'ye yönelik bariyer olarak kullanılan membranlar kemik ve periodontal ligamentin olgunlaşmasına olanak sağlarlar [1,2].

YDR amaçlı kullanılan membranların büyük bir kısmı “resorbable” yani emilebilir özelliktedir ve ikinci bir cerrahi işlem gerektirmezler. Emilebilir membranların kullanımlarının kolay olması, kademeli degradasyon ve enfeksiyon riskini azaltma özellikleri nedeniyle YDR membran amaçlı olarak sıklıkla tercih edilirler [2].

Doğal ve sentetik biyomalzemeler arasında, kitosan ve PCL rejeneratif tedaviler için en sık kullanılan biyomalzemelerdir. Biyomalzemeler; insan vücudundaki canlı dokuları onarmak, yeniden yapılandırmak veya canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek için kullanılmaktadır. Son yıllarda, periodontolojide önemli bir klinik problem olan diş kusurlarının tedavisi için çeşitli rejeneratif biyomalzemeler ile çalışmalar yapılmıştır. Klinik kullanım için FDA onayına sahip olan Poli (3-kaprolakton) (PCL), biyoyumluluk, biyobozunurluk ve uygun mekanik özelliklere sahip olması nedeniyle biyomedikal mühendisliği uygulamalarında YDR amaçlı tercih edilen bir poliesterdir [3,4,5]. Kitosan ise; osteoindüksiyon ve osteokondüksiyon potansiyellerine sahip olması, biyoparçalanabilirliği ve antimikrobiyal (gram negatif hem de gram pozitif bakterileri inhibe etmesi) özelliği nedeniyle oldukça fazla tercih edilmektedir [6]. Kitosanın PCL ile kompozit yapılması, kitosanın mekanik stabilitesi ve yapısal dayanıklılığını iyileştirmesinin

yanı sıra PCL'in biyouyumluluğunu ve ıslanabilirliğini de önemli ölçüde arttırmaktadır [7,8].

PCL'den fiber oluşturmak için elektroğirme yöntemi kullanılmaktadır. Elektroğirme nano boyutta fiber çapı elde edilmesinin yanı sıra ve doku rejenerasyonu için gerekli olan gözenekli kompozitlerinin üretilmesinde de en etkin yöntemdir [1,8].

Çalışmanın amacı: Cerrahi işlem sonrası oluşabilecek enflamasyonu engelleyecek ve lokal antienflamatuar ilaç salımını sağlayacak kitosan kaplı PCL membranların elektroğirme yöntemi ile üretilmesi ve YDR'ye yönelik üretilen bu membranların periodontal yara iyileştirici potansiyellerin in vitro olarak araştırılmasıdır.

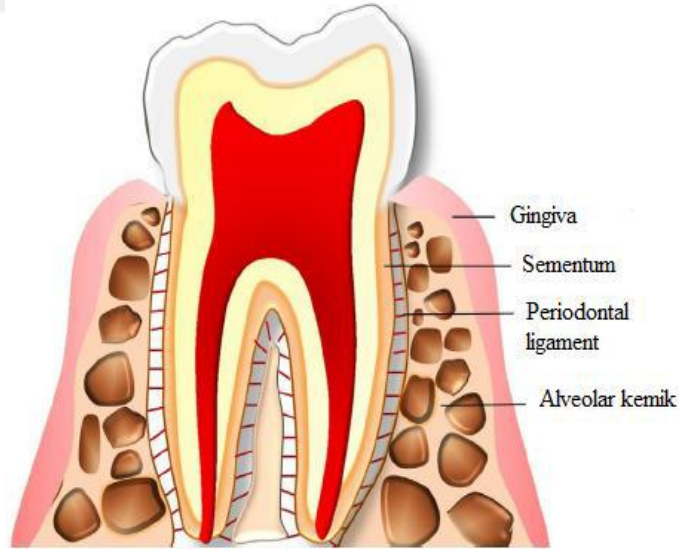
2. LİTERATÜR

2.1 Periodontitis

Periodontium tabakası dişi çevreleyen ve destekleyen mineralize ve fibröz dokulardan oluşmaktadır (Şekil 2.1). Alveolar kemik, sementum, periodontal ligament (PDL) ve gingiva periodontiumun temel bileşenleridir [9-12].

Periodontiumu oluşturan mineralize sert dokular alveolar kemik ve sementum iken, periodontiumu oluşturan fibröz ve yumuşak dokular ise PDL ve gingivadır [13].

Şekil 2.1’de görüldüğü gibi sementum, kök dentinini örter ve PDL liflerini tutar [11,14]. PDL bir tarafta kök sementum ile ve diğer tarafta alveolar kemiği ile etkileşime girer. Alveolar kemik ise; dişleri ve diş eti dokularını destekler. Periodontiumun performansı, bu yapısal bütünlüğe ve bileşenleri arasındaki etkileşime bağlıdır [11].



Şekil 2.1 : Periodontiumu oluşturan temel bileşenler [13].

Gingivitis, diş eti iltihabı rahatsızlığıdır ve gingivitisin ilerlemesiyle periodontitis meydana gelir [15].

Periodontitis, periodontal dokuların (alveoler kemik, sementum, periodontal ligament ve gingiva) zarar görmesine neden olan ve diş kaybı ile sonuçlanan kronik enflamatuvar bir hastalıktır [6,10,11,15,16,17,18,19].

Periodontal hastalık, periodontiumu kademeli olarak tahrip eder ve diş kaybına neden olur. Kronik bir enflamatuvar ve immün tepkinin bakteriyel uyarılmasıyla başlatılan ve sürdürülen doku bütünlüğü, kök yüzeyinde zayıf bağ dokusu oluşmasıyla tehlikeye girer. Alveolar kemiğin kaybı, anaerobik bakterilerin (örneğin, Porphyromonas gingivalis ve Prevotella intermedia) büyümesini sağlayan periodontal bir cep oluşumu ile sonuçlanır [11].

Periodontitis diş eti kızarıklığına ve şişmesine neden olur. Periodontal doku hasarı, derin dokuları etkileyerek alveoler kemiğin ve periodontal ligamentin zamanla hasar görmesine yol açar ve bu da diş eti ve diş kökü arasında yumuşak doku cepleri veya derin çatlaklar oluşması ile sonuçlanır [15,20]. Bunun sonucunda diş kaybı meydana gelir ve yetişkinlerde diş kaybının başlıca nedenini oluşturur [15]. Bu durum sadece diş kaybı problemlerine değil, aynı zamanda eksik dişler sonucunda estetik ve konuşma problemlerine de yol açar [21].

Ulusal Diş ve Kraniofasial Araştırma Enstitüsü (NIDCR, Ulusal Sağlık Enstitüleri, ABD) verilerine göre, 70 yaş üzeri tüm yetişkinlerin yaklaşık %90' ı orta düzeyde periodontal hastalığa sahiptir [9,11]. Amerika Birleşik Devletleri'nde son zamanlarda yapılan bir anket (2009–2010 Ulusal Sağlık ve Beslenme Muayene Anketi; NHANES), %47,2 ve %64,7 milyon 30 yaş ve üstü yetişkinin periodontitis rahatsızlığına sahip olduğunu ve bu oranların 65 ve 65 yaş üstünde ise % 70'e yükseldiğini ortaya koymuştur [10].

Yapılan araştırmalar, periodontitisin diyabet, kardiyovasküler ve solunum yolu hastalıkları gibi sistemik bozukluklarla ilişkisinin olduğunu göstermektedir [10,11]. Bu nedenle, iyileşmeden sonra periodontal dokuların oluşumunu ve sağlıklı olmasını yeniden sağlamak ve hem sistemik hem de ağız sağlığını korumak için periyodik hastalıkların önlenmesi önemlidir [10].

Cerrahi/cerrahi olmayan işlemlerden sonra uzun bir epitel meydana gelir, bu da zayıf bir yapısı olduğu için tekrar periodontitisin meydana gelmesini sağlayabilir [10]. Bu nedenle, oral ve periodontal doku rejenerasyonunu verimli bir şekilde sağlanması

için yeni rejeneratif stratejiler geliştirilmelidir. Rejeneratif periodontolojide uygulanan çeşitli tedavi stratejileri ile bakteriyel plakların neden olduğu doku iltihabının ortadan kaldırılması, hastalıktan kaynaklanan anatomik kusurları düzeltilmesi ve yeni periodontal dokuyu yeniden oluşturulması amaçlanır [9].

2.1.1 Periodontitise sebep olan bakteriler

Hastalık yapan bakterilere patojen bakteriler denir. Bu bakteriler virülans faktörlerine sahiptir ve bu virülans faktörleri sayesinde konak dokularında yıkım meydana gelmektedir [18]. Günümüzde, periodontitisin ana sebebinin, bakteri enfeksiyonları olduğu kabul edilmektedir [15]. Periodontal hastalıklara pek çok bakteri sebep olmasına rağmen; *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Camphylobacter rectus* ve *Treponema denticola*'nın periodontal hastalıklarla doğrudan ilişkili olduğu bulunmuştur [18].

2.2 Rejeneratif Periodontal Tedavi

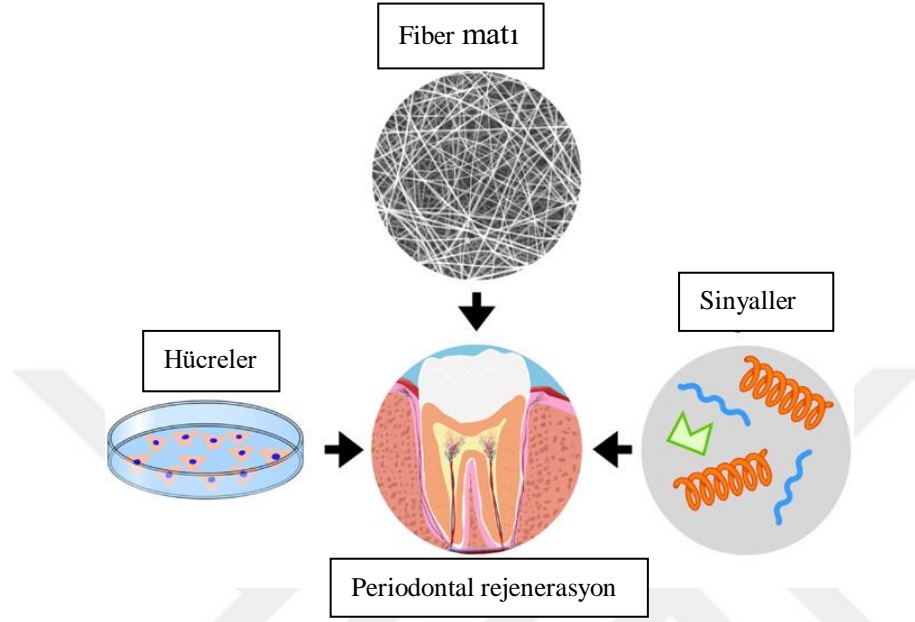
Rejenerasyon, yeni dokular oluşturmak için, hücrelerin ve hücreler arası maddelerin büyümesi ve farklılaşması olarak tanımlanmaktadır [22,23]. Periodontal rejenerasyon ise, cerrahi işlem sonrası periodontal iyileşme; yani periodontiumun (sementum, alveoler kemik ve periodontal ligament) geri kazandırılmasıdır [19,23].

Periodontal hastalığın tedavisinde amaçlanan, yalnızca mikroorganizmaları ortadan kaldırmak değil, aynı zamanda doku yıkımının ilerlemesini durdurmak ve yıkıma uğramış dokuları yeniden oluşturmaktır. Rejeneratif tekniklerin bazıları umut verici sonuçlar vermiş olsa da hiçbirinin % 100 etkili olduğu kanıtlanamamıştır [23]. Araştırmacılar tarafından son zamanlarda yapılan çalışmalar periodontal hastalık sonucu kaybedilen dokuların fonksiyonel ve morfolojik olarak yeniden kazandırılmasına yöneliktir [22].

Periodontal rejenerasyonda periodontal yıkım sonucu kaybedilen PDL, alveol kemiği ve sement dokusunun yeniden oluşturulabilmesi amaçlanmaktadır [11, 19].

Şekil 2.2'de verildiği gibi rejenerasyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesi için; kök hücreler, bu hücreleri bir arada tutacak iskele veya membranlar veya yer tutucu

görevini üstlenecek bir biyomalzeme ve meydana gelecek olan doku türünü hücelere iletecek olan biyolojik sinyal moleküllerini içerir [11].



Şekil 2.2 : Periodontal rejenerasyonun gerçekleşmesi ile ilgili üç ana bileşenin şematik gösterimi [11].

Araştırmacılar farklı tekniklere yönelerek epitelyum ve bağ dokusu hücrelerinin yara bölgesine girmesi engellendiğinde periodontal dokularda rejenerasyon gerçekleşebileceğini belirtmişlerdir. Bu da ancak Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu ile mümkündür. **Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu (YDR)**; bağ dokusunun hücre göçünün engellenmesi için bariyer oluşturulması ve yıkıma uğramış bu bölgede rejenerasyonun meydana gelmesidir [9, 22].

2.2.1 Kemik greftleri

Kemik rejenerasyonun oluşumu 3 mekanizma yoluyla (osteogenezis, osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon) gerçekleşmektedir [24].

Osteogenezis

Osteogenezis, kemik oluşumunu sağlayacak canlı osteoblastlara sahiptir ve canlı osteoprogenitör hücrelerin çoğalması ve ardından mezenkimal hücrelerin

osteoblastlara dönüştürülüp yeni kemik oluşumunun indüklenmesinin sağlanmasıdır [25].

Osteoindüksiyon

Greft materyallerinin içinde kemik büyüme faktörleri kullanılması sayesinde osteoprogenitör hücrelerin uyarılması ve kemik oluşumu ile sonuçlanmasıdır [24].

Osteokondüksiyon

Çatı görevini sağlayan osteokondüksiyon özelliğine sahip bu greftler, kemiğin hasarlı bölgesini onarmada en fazla kullanılan grefttir [25]. Allogreft, zenogreft ve sentetik greftler osteokondüksiyon sağlayan kemik greftlerine örnek verilebilir [24].

Greft, bir dokunun canlılığını sürdürebilmesi için hastanın kendi vücudundan ya da dışarıdan temin edilerek kullanılan ve çevre dokularla uyumsuzluğu giderecek şekilde hazırlanan malzemelerdir [25]. Şekil 2.3'de verildiği gibi greft uygulamalarında kullanılan materyaller immünolojik orijinlerine göre 4 şekilde sınıflandırılmaktadır [25]:

- 1) Ototreftler
- 2) Allogreftler
- 3) Zenogreftler
- 4) Alloplastikler

2.2.1.1 Ototreftler

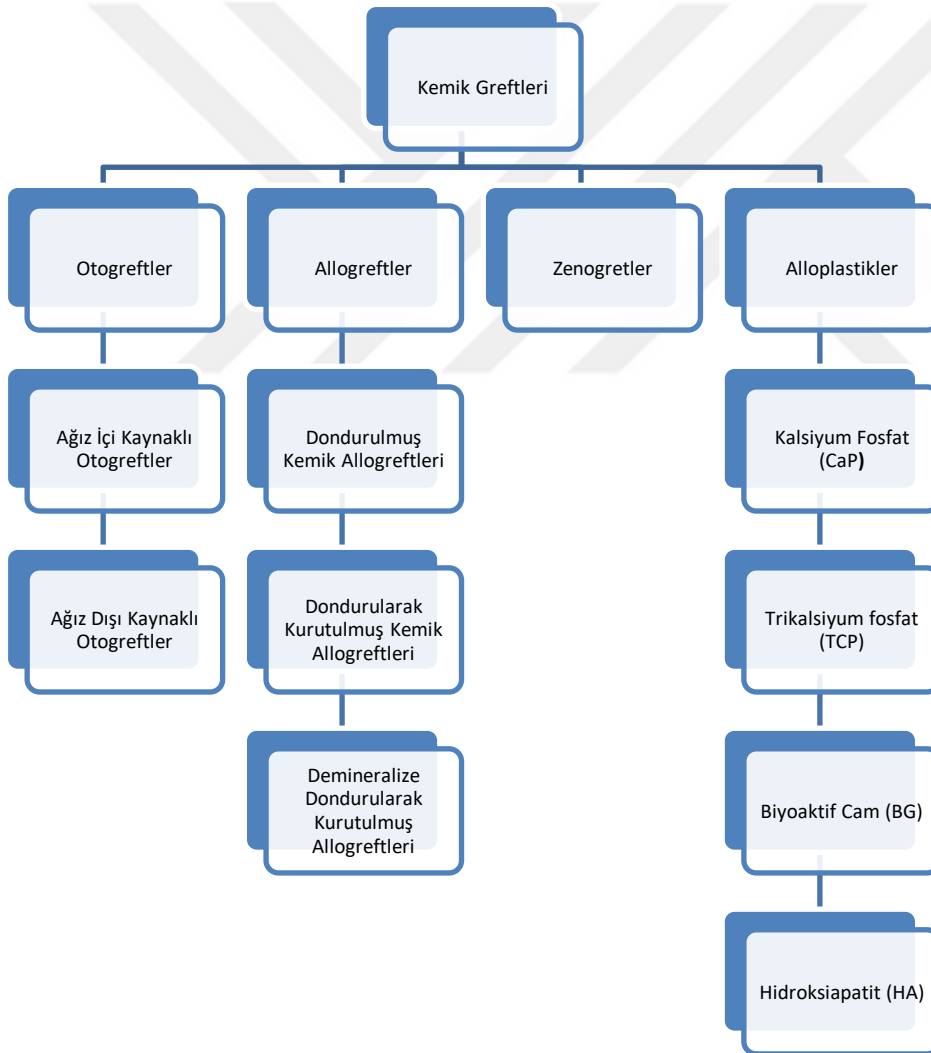
Osteogenez, osteoindüksiyon ve osteokondüksiyonu sağladığı için “**altın standart**” olarak kabul edilen bu greftler, bir canlıdan alınan doku parçasının yine aynı canlının vücudunun başka bir bölgesine yerleştirilerek kullanılır [24,25]. Ototreftlerin en büyük avantajı; immünolojik bir etkiye sahip olmaması ve kemik rejenerasyonunu başarıyla meydana getirmesidir [13,25].

Ancak bu greftler; çıkarılmaları için ikinci bir cerrahi işlem gerektirmesi, operasyon süresinin uzun olması, kronik ağrı gibi dezavantajlara sahiptir [13, 25].

Ağız içi kaynaklı otogreftler

Otojen kemik grefti Mandibuler Simfiz, Mandibuler Ramus, Maksiller, Maksilla bölgesini kapsar [24].

Ağız içinde partikül halindeki greftler sıklıkla tercih edilir; çünkü komplike ekstraoral girişimlere gerek duyulmadan kolay uygulanan bir yöntemdir. Cerrahi alana yakın bölgelerden elde edilebilmesi ve yapısında osteojenik hücreleri barındırması gibi avantajlara sahiptirler. Ancak bu greftler ikinci bir cerrahi operasyona ihtiyaç duyulması, bu bölgeden sınırlı miktarda greft alınabilmesi, greftlerin çene ucundan alınması sonucu diş köklerinde yaralanma meydana gelmesi gibi dezavantajlar kullanımı sınırlı kullanıma sahiptirler [25].



Şekil 2.3 : Periodontal tedavide kullanılan kemik greftlerinin tablosu.

Ağız dışı kaynaklı otogreftler

Komplike vakalarda ya da ağız içi alanlardan yeterli miktarda greft sağlanamadığı zaman, aynı bireyin vücudunun kafatası, tibia, kotsalar, iliak kemik gibi ağız dışı kaynaklı farklı bölgelerinden alınıp kullanılmasıdır [13,25]. Bu greftlerin istenilen mekanik desteği sağlayamaması kullanımını sınırlandırır.

2.2.1.2 Allogreftler

Allogreftler aynı türün farklı bireylerinden farklı yöntemlerle elde edilebilen greft türüdür. Taze, dondurulmuş, dondurulmuş kurutulmuş, mineralize ya da demineralize gibi çeşitleri mevcuttur [24].

İnsanlardan ve kadavralardan temin edilen kemikler belirli işlemlerden geçirildikten sonra kemik bankalarında saklanırlar [25]. Bu greftler kan kaybının azalması, donör bölge gereksinimini ortadan kaldırması morbiditenin azaltılması, operasyon süresinin kısaltılması, fazla sayıda mevcut olmaları gibi avantajlara sahip olmasından dolayı oldukça fazla kullanılmaktadır [24,25]. Donör kişilerin enfeksiyon ya da bulaşıcı hastalıklara sahip olması riski bu greftlerin kullanımındaki dezavantajlardır [25]. Allogreftlerin immünolojik komplikasyonları ve hastalık taşıma potansiyellerini ortadan kaldırmak için bazı teknikler kullanılarak hazırlanmıştır [26].

- Dondurulmuş kemik allogreftleri
- Dondurularak kurutulmuş kemik allogreftleri
- Demineralize dondurularak kurutulmuş kemik allogreftleri

Dondurulmuş kemik allogreftleri

Bu greftler kullanılırken donma hücre ölümüne ve doku hasarına yol açtığı için dokunun donma kontrolü iyi bir şekilde sağlanmalı ve soğutma kontrol altında gerçekleştirilmelidir [25].

Dondurularak kurutulmuş kemik allogreftleri

Dondurularak kurutulmuş kemik allogreftleri oluşturulurken önce kemik -76° C'de dondurulur ve çeşitli kurutma işlemlerinden geçirilir ve sonra suyu ortamdaki uzaklaştırılır [25].

Dondurulmuş kemik allogreftleri

Bu greftler kullanılırken donma hücre ölümüne ve doku hasarına yol açtığı için dokunun donma kontrolü iyi bir şekilde sağlanmalı ve soğutma kontrol altında gerçekleştirilmelidir [25].

Dondurularak kurutulmuş kemik allogreftleri

Dondurularak kurutulmuş kemik allogreftleri oluşturulurken önce kemik $-76^{\circ} C$ 'de dondurulur ve çeşitli kurutma işlemlerinden geçirilir ve sonra suyu ortamdaki uzaklaştırılır [25].

Deminerale dondurularak kurutulmuş kemik allogreftleri

Kemikte var olan minerallerin deminerale edilerek kullanılmasıdır. Dondurulmuş kurutulmuş allogreftin deminerale edilmesi kemik matriksi içerisindeki kemik proteinlerinin açığa çıkmasını sağlar ve bu sayede yeni allogreft, osteoindüktif özellik gösterir [25,27].

2.2.1.3 Zenogreftler

Periodontolojide yaygın şekilde kullanılan zenogreftler farklı türlerden alınarak elde edilir. Özellikle sığır kökenli olan bu greftler sadece inorganik komponenti bırakılarak kullanılır. Yapısal olarak insan süngerimsi kemiği ile benzerlik göstermesinden dolayı araştırmacılar YDR/YKR (Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu) yönteminde emilebilen ve emilemeyen membranlar ile birlikte kullanımının güzel sonuçlar verebileceğini söylemişlerdir [24].

2.2.1.4 Alloplastik greftler

Alloplastik greftler hidroksiapatit, kalsiyum sülfat ve biyoaktif camlar gibi sentetik materyallerden elde edilen greftlerdir [24].

Kalsiyum fosfat

Kalsiyum fosfat (CaP) iskeleleri biyouyumluluk, düşük immünojeniklik, güçlü kemik-CaP biyomateryal ara yüzünün oluşumuna yol açan hücresel fonksiyonu ve kemik mineraline benzer bir yapı nedeniyle kemik rejenerasyonu için oldukça fazla

kullanılmaktadır [19,28]. Ancak zayıf mekanik kuvvet, kırılabilirlik, yavaş bozulma oranı gibi özellikler kemik rejenerasyonun gerçekleşmesini sınırlar [28].

Trikalsiyum fosfat

Trikalsiyum fosfat (TCP) biyouyumlu ve osteokondüktif bir yapıya sahiptir [28]. TCP, insan klinik çalışmalarında periodontal defektleri ve alveoler kemik defektleri ortadan kaldırmak için kullanılmıştır. Ancak; bu materyalin uygulanması sonucu sementum, periodontal ligament veya kemik rejenerasyonu gözlenmemiştir [19].

Biyoaktif cam

Biyoaktif cam (BC) hem sert dokuların (yani sementum ve alveoler kemik) hem de yumuşak dokuların (yani, diş eti ve PDL) oluşumu için kullanılmıştır; bu yüzden de çok fazla ilgi görmüştür [29]. Yapılan çalışmalar BC'nin osteoindüktif bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir [19].

Nevins ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın klinik sonuçlarına göre, insan histolojik analizinde BC'nin sınırlı rejeneratif özelliğe sahip olduğu görülmüştür [30]. Bu yüzden de BC polimerlerle kompozit yapılarak kullanılmaktadır.

Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HA) doğal kemik mineraline benzer bir yapıya sahiptir [19,31]. HA, klinik çalışmalarda ve araştırmalarda oldukça yaygın kullanılır [19]. HA toksik değildir, enflamasyon oluşturmaz. Aynı zamanda implante edildiğinde doğrudan kemiğe bağlanır ve kemik ile implant arasında fibröz doku oluşturmaz [19,26]. Kemik rejenerasyonunun sınırlı olması kullanımını da sınırlandırmaktadır [19].

Kalsiyum sülfat

Kalsiyum sülfat (CS), periodontal rejenerasyonu arttırmak için bir bariyer malzemesi olarak uygulanır [31]. CS malzemesi kullanıldığı zaman kemik rejenerasyonu için daha uzun süre gerekmektedir, 90 gün gibi bir sürede kemik ve bağ dokularının rejenerasyonu tam olarak gerçekleşmemektedir [19].

2.3 Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu

Periodontal hastalık sırasında kaybedilen periodontal dokunun yenilenmesi sağlamak ve diş implantlarıyla ilişkili kemik ayrışmasını onarmak için kullanılan bir yöntemdir

[6,32,33,34]. YDR, yıllardır periodontal rejenerasyon için altın standart olarak kabul edilmekte ve kronik periodontitis hastaların klinik ve radyografik parametrelerinin iyileştirilmesinde etkili olduğu düşünülmektedir [1]. YDR' nin periodontoloji klinik uygulamaları; kemik ve dokunun yeniden büyümesini sağlamak ve periodontal enfeksiyonu engellemek, kontrol etmek veya kaybedilen periodontal yapıları yeniden oluşturmak için fiziksel bir bariyer sağlayacak olan membranın yerleştirilmesini kapsar. YDR'ye yönelik bariyer olarak kullanılan membranlar kemik ve periodontal ligamentin olgunlaşmasına olanak sağlarlar [1,2]. YDR/YKR membranları prensibi, sadece bariyer fonksiyonunu gerçekleştirmek için fibroblast hücrelerinin doku/kemik defekt bölgesine göç etmesini engellemekle kalmaz, aynı zamanda hücrelerin yapışmasını ve çoğalmasını destekleyerek doku/kemik rejenerasyonunu geliştirmesini sağlar [35,36].

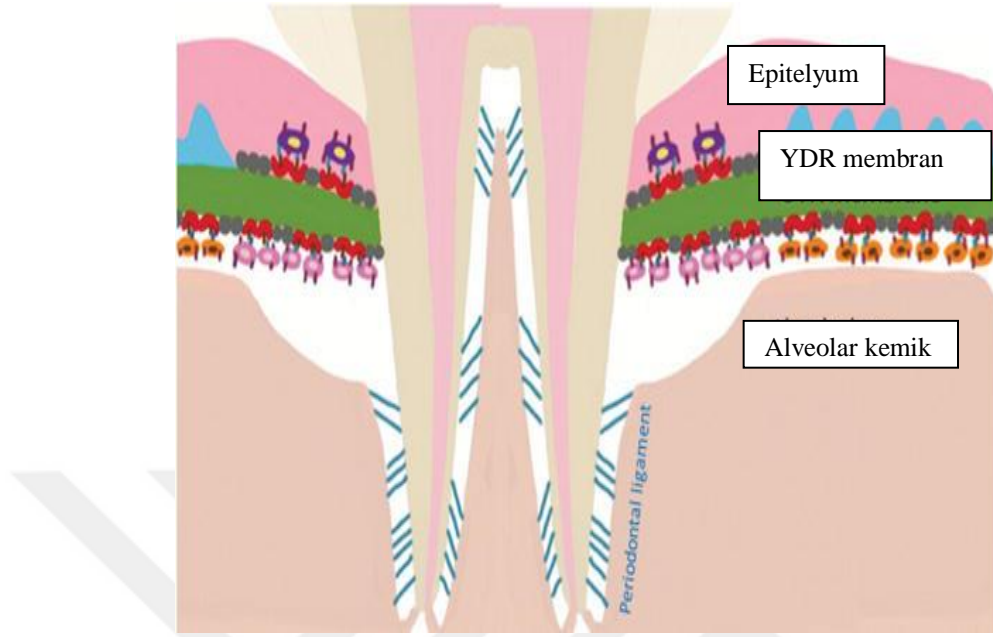
YDR teknikleri periodontal tedavide başarılı bir şekilde defektli bölgeye uygulanmıştır ve yeni kemik oluşumu meydana gelmiştir [1]. YDR tedavisi sonucunda yeni bağ dokusu oluşumunu gösteren ilk çalışmalar Nyman ve arkadaşları ile Gottlow ve arkadaşları tarafından yapılmıştır [37]. Buser ve arkadaşları ise çalışmalarında bariyer membran kullanarak klinik diş hekimliğinde uygulanan “**yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu**” ifadesini ortaya çıkarmıştır [38].



Şekil 2.4 : Bariyer membran [13].

Fibroblastların osteoblastlardan 10 kat daha hızlı bir göç oranına sahip olması nedeniyle hasarlı bölge uzun epitellerle kaplanır ve bu bağ ince ve zayıftır [6,23]. Peridontium tabakası en küçük bir mekanik kuvvete maruz kaldığında bu bağlar

kırılır ve hastalık tekrarlanır. Bu hücre göçünü engellemek için bariyer membran yerleştirilmelidir (Şekil 2.4).

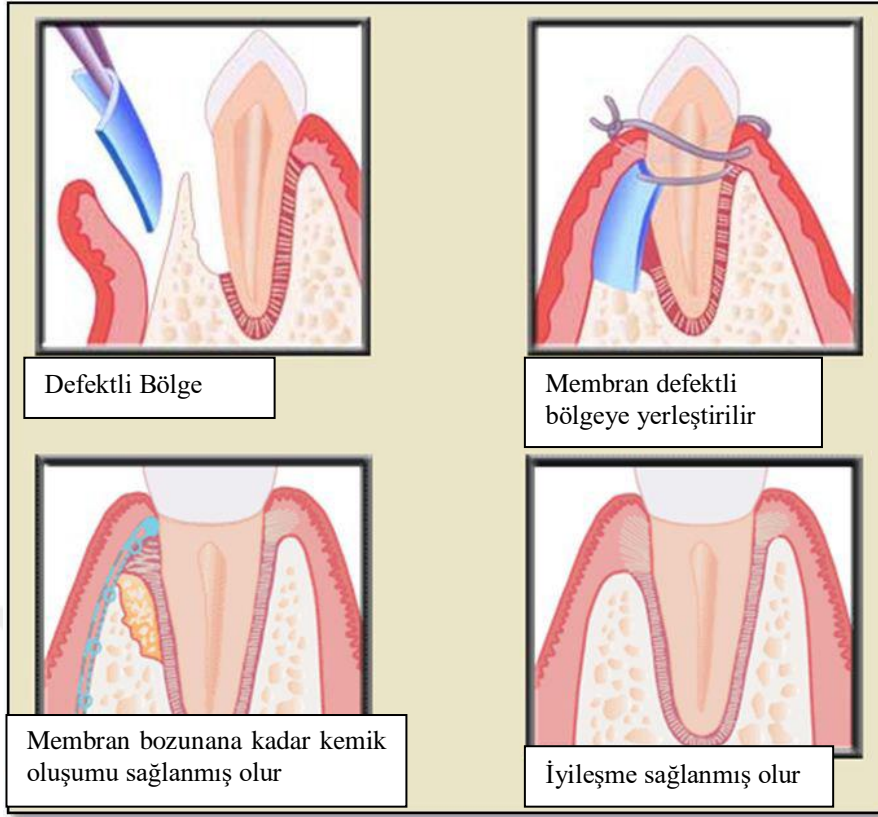


Şekil 2.5 : Bariyer membran sayesinde; osteoblastlar, epitelyum hücrelerden önce göç etmesi ve kemik oluşumu meydana gelmesi [32].

Şekil 2.5'te verilen bu bariyer membran dişeti dokularını ve epitelinin periodontal defektten ayıran fiziksel bir bariyer görevi görür ve böylece epitel ve gingival bağ dokusu hücrelerinin kök yüzeyindeki hasarlı bölgeye göç etmesini engeller [6,32,39]. Böylece kemik, periodontal ligament ve sementum oluşumu ve hücre çoğalması sağlanmış olur [32,40].

YDR membranının görevini yerine doğru bir şekilde getirebilmesi için; bakteriyel plağın neden olduğu iltihaplı dokuları azaltma veya ortadan kaldırma, biyoyumlu, hastalığa bağlı kusurları örtmek veya anatomik sorunları çözme, yeni doku oluşumu için uygun bozunma profili, membranın çökmesini önleme ve bariyer fonksiyonlarını yerine getirmek için yeterli dayanım gücü ve yeni periodontal dokuları oluşturmayı amaçlama gibi özelliklere sahip olması gerekir [2,11,38,41].

Şekil 2.6'da verilen bariyer membran ilk olarak hasarlı bölgeye yerleştirilir. Daha sonra membran hasarlı bölgeye ip yardımıyla izole edilir. Membran bozunana kadar yeni kemik oluşumu sağlanır ve böylece iyileşme meydana gelir.



Şekil 2.6 : Defektli bölgeye emilebilir bariyer membran yerleştirilmesi [23].

YDR/YKR yönteminde kullanılan membranların kusurlu bölgeyi korumak, bunun yanında kemik ve yumuşak doku rejenerasyonu için hayati önem taşıyan beslenme, oksijen ve biyoaktif maddelerin difüzyonunu sağlamak için uygun esnekliğe ve sertliğe sahip olması gerekir [42].

YDR membranlarının en önemli özelliklerinden biri de genel olarak “degrede olabilir” yani emilebilir olmasıdır; böylece vücut tarafından ikinci bir ameliyata gerek duymadan emilirler ve zamanla iyileşmeye izin verirler [2]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, YDR’de emilebilir membranlar başarıyla kullanılmıştır [23].

Günümüzde mevcut olarak kullanılan membranların özellikleri iyileştirmek için nano boyutta fiber özelliği kazandırılmaktadır. Nanofiber membranlar, hücre dışı matriks olan ekstraselüler matrikse (ESM) olan yüksek benzerlik ve yüksek gözeneklilik ve özgün yüzey alanı nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Bu ilgi araştırmacıları nanofiber tabanlı membran üretimine yöneltmiştir [43]. Klinik uygulamadaki YDR yetmezliği her zaman yaranın üzerinde bakteriyel kolonileşme veya implant malzemelerinden kaynaklanan yabancı malzemelere tepkilerinden kaynaklanan enfeksiyon nedeniyle

ortaya çıkar. Sistemik antibiyotik desteği etkili olmasına rağmen, uzun süreli antibiyotik kullanımı dirençli bakteri suşlarının gelişmesine yol açtığı için dişeti sıvısında etkili bir konsantrasyon elde etmek için yüksek oral dozlar gereklidir. Bu durum araştırmacıları, kontrollü salımı gerçekleştirmek için ilaç yüklü YDR membranlarının geliştirilmesine yönlendirmiştir [36,44].

2.3.1 Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu membranları

Periodontal defekte sahip bölgenin, gingival hücre istilasından korunması ve anti-enflamatuar özelliğe sahip fiziksel bir bariyer olarak işlev gösterebilmesi için YDR/YKR membranları kullanılmaktadır [11]. YDR membranlarını kullanırken aranan bazı özellikler vardır. Bunlardan en önemlileri bozunma özelliğine sahip olması ve bozunma ürünü, konak hücrede enflamatuar tepkiye neden olmamasıdır [32]. Aynı zamanda bozunma hızı yeni doku oluşum hızı ile eşleşmeli ve membranın çökmesini önlemek ve bariyer fonksiyonlarını yerine getirmek için yeterli dayanım gücüne sahip olmalıdır [11,32].

YDR membranı için malzemeler, bozunma özelliklerine göre, Şekil 2.7’de verildiği gibi emilebilir ve emilemeyen malzemeler olarak iki gruba ayrılabilir [24,32,45].

2.3.1.1 Emilemeyen membranlar

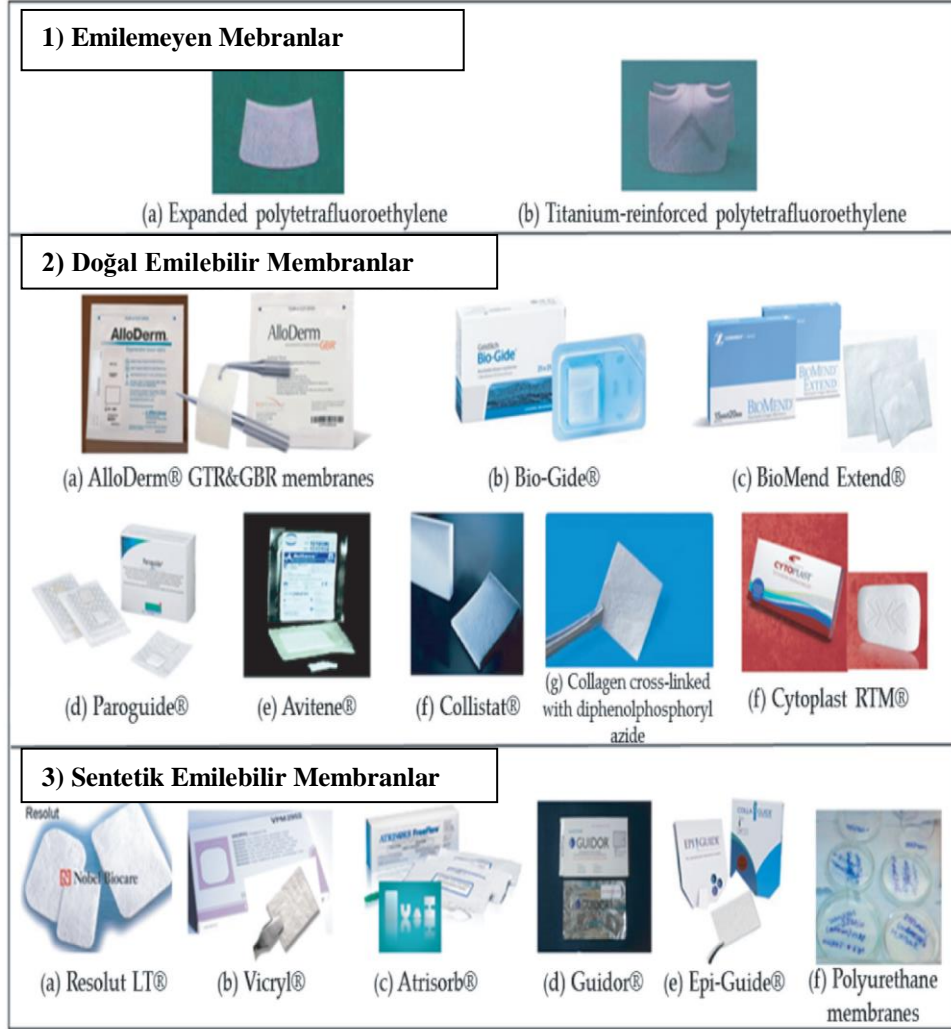
Emilemeyen membranlar, doku içerisinde ‘biyo-bozunur’ yani ‘emilebilir’ değildirler. Bunlara örnek olarak politetrafloretillen (e-PTFE ve d-PTFE) ve titanyum verilebilir [24]. Biyoyumlu bir yapıya sahiptirler, klinik olarak kullanımı basittir, membranın altındaki boşluğu koruyabilirler ve iyileşme sürecinde yeterli mekanik kuvveti sağlayabilirler [41,48].

PTFE (Politetrafloretillen) membranlar

Emilemeyen membranlar içerisinde en sık tercih edileni PTFE membranlardır. Bu membranlar inert ve biyoyumluluk özelliği ile bilinmektedir [24].

Ancak; buldukları yerden çıkarılmaları için ikinci bir cerrahi operasyon gerekir [24,32,48]. İkinci bir cerrahiye duyulan ihtiyaç yenilenmiş dokuyu zarar verir, böylece ağrıya ve enflamasyona sebep olur [32,41]. Ayrıca ikinci bir operasyon ekstra maliyet gerektirir [11].

PTFE yapısına göre iki türe ayrılabilir: genişletilmiş PTFE (e-PTFE) ve yüksek yoğunluklu PTFE (d-PTFE) [48]. Bu membranlar YDR/YKR prosedürleri için "altın standart" olarak kabul edilmektedir [11].



Şekil 2.7 : Periodontal uygulamalar için emilemeyen ve emilebilir membranlar [47].

e-PTFE (Genişletilmiş Politetrafloroetilen) membranlar

e-PTFE membranları klinik tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır. Doku/kemik rejenerasyonunda kullanılan membranlar arasında, e-PTFE'den oluşan Gore-Tex® membranı ilk tercih edilen membrandır [45-47]. e-PTFE, konak doku ara yüzünü oluşturan ve epitel hücrelerinin göçünü sınırlandıran çok sayıda küçük gözenek içermektedir [48]. In vivo implantasyon sonrası ortalama iyileşme süresi yaklaşık 3-6 aydır [41]. Bu membranların çıkarılmaları için ikinci bir cerrahi operasyon uygulanması gerekmektedir, bu da maliyeti ve cerrahi travmayı arttırır [49].

d-PTFE membranı

Yüksek yoğunluklu PTFE (d-PTFE) membranı (Cytoplast™ Regentex GBR-200) kemik ve doku rejenerasyonundaki başarısı yüksektir [48]. Bu membran 0,2 µm gözenek boyutuna sahip, yüksek yoğunluklu bir PTFE'den yapılmıştır [41,48]. Bu membranlar, e-PTFE ile karşılaştırıldığında; enfeksiyonları riskinin azaltılması ve kolay bir işlemlle çıkarılması gibi avantajlara sahiptir [41].

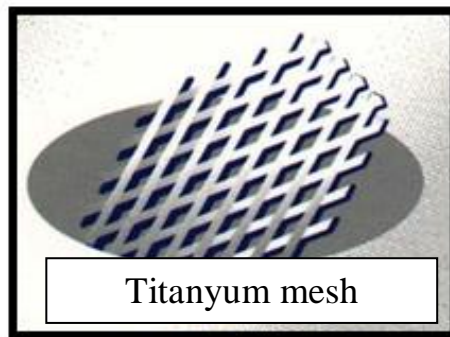
Titanyum Mesh

PTFE'yi güçlendirmek için yapıya titanyum eklenmiştir. Böylece hem mekanik olarak yeterli dayanım sağlamaları hem de rejenerasyon için daha fazla alan sağlamaları titanyum ile güçlendirilmiş e-PTFE membranları kullanılmıştır [41,49].

Titanyum mesh, membranın altındaki kemik greftlerinin stabilizasyonu için mükemmel mekanik özelliklere sahiptir. Yüksek sıcaklıklara dayanma kabiliyeti ve korozyona dayanıklılığı, yüksek mukavemet titanyum meshi e-PTFE ürünleri için emilemeyen membranlar olarak ideal hale getirir [41,48].

Titanyum mesh'in üstün özellikleri YDR/YKR için kullanımını arttırır [48]. Ancak, yumuşak doku büyümesinin meydana gelmesi, sertlikleri nedeniyle tahrişe sebep olabilme ve çıkarmak için daha karmaşık ikincil cerrahi operasyon gibi dezavantajlar kullanımı kısıtlar [41,48].

Yapılan çalışmalara göre; titanyum takviyesinin yapılması, sıkıştırma kuvvetlerine karşı titanyum çerçevesinin sağladığı ek mekanik destek nedeniyle, titanyum meshe genişletilmiş PTFE (e-PTFE) membranlara kıyasla daha fazla rejeneratif özellik kazandırılmıştır [11]. Şekil 2.8'de Titanyum meshin fotoğrafı verilmiştir.



Şekil 2.8 : Titanyum mesh [56].

2.3.1.2 Emilebilir membranlar

Emilebilir membranlar, ikinci bir cerrahiye gerek duyulmadan vücut tarafından emilme özelliğine sahiptir [48]. Böylece, emilebilir membranlar hem klinisyene hem de hastalara, doku hasarı riskini ve maliyeti azaltma açısından avantaj sağlar [41,48]. Aynı zamanda istenen fiziksel ve kimyasal özellikler basit yöntemlerle sağlanabilir ve üretimi kolaydır [32]. Emilebilir membranların dezavantajı ise öngörülemeyen bozunma süresidir. Çok hızlı bir şekilde bozunursa, rijitliği az olduğundan dolayı mekanik desteğe ihtiyaç duyulur. İdeal membran kemik oluşumunun gerçekleştiği hızda degradasyon veya emilim yapabilme hızına sahip olmalıdır [41].

Emilebilir membranlar doğal ve sentetik membranlar olmak üzere ikiye ayrılırlar [24].

➤ Doğal malzemelere dayalı membranlar

Doğal malzemelere dayalı membranlar insan derisinden, sığır tendonundan veya domuz derisinden elde edilir [41].

Kollajen membranlar

Kollajen, ESM'nin ana bileşenidir, yani periodontal dokuda bulunan proteindir [11,50]. İnsan derisinden (Alloderm®), sığır tendonundan (Cytoplast®) veya domuz derisinden (Bio-Gide®) kollajen bazlı membranlar mükemmel hücre afinitesi ve biyouyumlulukları nedeniyle, periodontal defektlerin tedavisini sağlamak için YDR/YKR uygulamalarında oldukça fazla kullanılmaktadır [11,51]. Biyouyumluluğu sebebiyle; hücresel göç ve hücre büyümesini destekler ve yüksek bir gerilme direncine sahip olduğu için istenen forma döndürülebilir [28]. Kollajen esaslı bariyer membranların antijenitesi düşüktür [47,50]. Ameliyat sonrası minimal komplikasyon ve bağışıklık tepkisi diğer avantajlarından [49]. Tüm bu biyolojik özellikler, kollajeni, yönlendirilmiş doku rejenerasyon uygulamaları için çekici yapar [47]. Ancak kollajenin kolay bozulma ve mekanik özelliklerinin yetersiz olması gibi özellikler kullanımını sınırlar [11].

Kollajen membranlara örneklerin bazıları aşağıdaki gibidir [47]:

AlloDerm®: Temel olarak kadavra insan derisinden elde edilen kollajen tip I'dir [47].

Bio-Gide®: Domuz derisinden elde edilir. Araştırmacılar, bu kollajen membranlarının rejenerasyon sırasında kaybolduğunu gözlemlemiştir. Bozulma süresi 4-6 haftadır [52].

BioMend Extend®: Bu GTR membranı, sığır tendonundan türetilmiş tip I kollajenden üretilir. Bu membranın yönlendirilmiş rejenerasyonda kullanımında başarısızlığın sebebi yetersiz alandan olduğu düşünölmektedir [47]. Bozulma süresi 4-8 haftadır [52].

Paroguide®: Kollajen tip I membrandır [47].

Avitene®: Kollajen tip I membrandır. Yapılan araştırma sonucunda histolojik değerlendirme, membranın çok etkili olmadığını göstermiştir [47].

Kitosan membranlar

Kitosan [poli (1,4), - b-D-glikopiranosamin], kitinin alkalın deasetilasyonu ile böcek, mantar, yengeç veya karides kabuğundan elde edilir [53,54]. Kitosan biyolojik olarak bozunabilen, biyoyumlu, toksik olmayan, hidrofilik bir malzeme olarak bol miktarda bulunan doğal polisakkarittir ve hücre dışı matristeki glikozaminoglikanlara çok benzeyen bir yapıya sahiptir [54,62]. Kitosan antimikrobiyal özelliği, kontrollü salımı ve biyoyapışkan özellikleri dikkate alınarak; kitosanın mantarların ve bakterilerin büyümesini inhibe etmesi amaçlanmıştır ve bunun sonucunda farmasötik uygulamalar için son zamanlarda oldukça fazla ilgi görmüştür [6,56,61,63,64].

Dai ve arkadaşları, kitosanın antimikrobiyal ve yara iyileştirici etkilerini ve ayrıca doku içerisindeki biyofarmasötikler, antimikrobiyaller ve büyüme faktörleri için kullanımını araştırmışlardır [65].

Kitosanın ayrıca rejeneratif tıpta ve doku mühendisliğinde membran yapımında ciddi anlamda kullanımı mevcuttur [6,66,67,68,69].

Xu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kitosan membranlarını periodontal rejeneratif tedavide kullanım için cazip kılan özellikleri ve kitosanın YDR/YKR membran materyali olarak kullanılması araştırılmıştır [6].

Seung-Yun ve arkadaşlarının yaptığı çalışma, kitosan nanofiber membranının biyoyumlu olduğunu ve biyolojik olarak bozunabilen yeni kitosan nanofiber membranının YKR için yararlı olabileceğini göstermiştir [70].

Sun ve arkadaşları, kitosan ve inorganik nanopartiküllerin karışımlarının yanı sıra; kitosan ve sentetik polimerlerin karışımlarını, kitosan ve protein karışımlarını kullanarak elektroğirme yöntemiyle nanofiberlerin hazırlanmasını ve özelliklerini araştırmışlardır [56].

Ancak; kitosanın biyobozunurluğunun az olması, yüksek yüzey gerilimi, düşük mekanik dirençe sahip olması ve zayıf işlenebilirlik elektroğirme işleminde kitosanın kullanımını kısıtlar [54,61]. Kitosanın elektroğirmesindeki zorluk, poli (etilen oksit), poli (vinil alkol), PCL vb. gibi sentetik polimerlerle kompozit yapılarak aşılabilir ya da zayıf mekanik özelliklerini ve biyolojik aktivitesi, elektroğirilmiş nanofiberlere hidrojel takviyesinin yapılmasıyla iyileştirilmesine dair bilimsel çalışmalar mevcuttur [54,71,72,73].

Lien Van Der ve arkadaşları, çözücü olarak asetik asit/formik asit karışımının kullanılmasının, PCL ve kitosan karışımından elektroğirme yöntemiyle nanofiber oluşturmak için mükemmel bir sistem olduğunu ve PCL/kitosan kompozitinin oluşturulması ile ultra ince nanofiber oluşturulabileceğini göstermişlerdir [68].

Lari ve arkadaşları ise, PCL ve HA tabanlı iskeleleri kitosan ile kaplayarak, hidrofobik olan PCL'e hidofilik özellik kazandırmışlardır [74].

➤ **Sentetik emilebilir polimerler**

Periodontal rejenerasyon için sentetik polimer emilebilir membranlar (poli (glikolik asit) (PGA), poli (laktik asit) (PLA), poli (p-kaprolakton) (PCL) biyoyumlu, biyobozunur ve doku entegrasyonuna izin verme gibi özelliklere sahiptir [11,32,41].

Periodontal rejenerasyonun başarılı bir şekilde gerçekleşmesini sağlamak için bariyer membran en az 4-6 hafta fonksiyon göstermelidir. Bu membranların klinik olarak kullanımını PTFE membranlarına kıyasla daha kolaydır [11].

PLA (Polilaktik asit)

Bariyer membran uygulamaları için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilk emilebilir bariyerdir [49].

Biyoyumlu ve uygun mekanik özelliklerine sahip olması nedeniyle en çok tercih edilen polimerlerden biridir [29]. Malzemenin emilim işlemi yavaş bir şekilde

gerçekleşir [49]. Yapılan bir çalışma ile PLA ve PGA minimum enflamatuar yanıt verdiği, hayvan deneyleriyle test edilmiş ve gösterilmiştir. Aynı zamanda, fiberlerin rastgele dizilimi bağ dokusunun büyümesini teşvik eder ve epitel hücre göçünü önler [49].

PGA (Poliglikolik asit)

Yapılan hayvan testleri sonuçlarına göre; PGA'nın uygun besin geçirgenliği, alan oluşturma kabiliyeti, biyouyumluluk gibi özelliklere sahip olduğu görülmüştür [19]. PGA, implante edildikten sonra 2-4 hafta boyunca mekanik dayanım sağlayabilir [29].

PLGA (Polilaktik-ko-glikolik asit)

Şekil 2.9'da verilen PLGA, çeşitli oranlarda PLA ve PGA'nın kombinasyonudur [19]. PLGA, istenen fiziksel ve mekanik özelliklere sahip bir kopolimerdir [28]. PLGA, PGA ve PLA bozunma ürünleri olarak sırasıyla piruvik asit ve laktik asit çıkarır [11]. PLA ve PLGA bozunma sırasında oligomerlerin bu asit yan ürünlerinin salınması, in vivo olarak enflamasyon reaksiyonlarını ve yabancı cisim tepkisini tetikleyebilir [29].



Şekil 2.9 : PLGA membran [49].

PCL

Günümüzde kullanılan YDR/YKR membranları, bozunma özelliklerine göre, biyobozunur ve biyobozunur olmayan olmak üzere iki gruba ayrılır [36].

PTFE gibi biyolojik olarak bozunmayan malzemelerin uzaklaştırılması için ikinci bir ameliyat yapılması gerekir. İkinci bir ameliyatın yapılması enflamasyona yol açtığı için, biyobozunur YDR/YKR membranları gittikçe daha fazla kabul görmeye başlamıştır [36]. Biyobozunur polimerler özellikle de doku mühendisliği ve rejeneratif tıpta çok geniş bir biyomedikal uygulama yelpazesine sahiptir. Bu polimerlerden; PLA, PGA ve PCL polimerler membran yapımında en çok kullanılanlarıdır [75]. Biyobozunur polimerlerden, PLA ve PGA bozduklarında asit yan ürünlerini oluşturduğundan, *in vivo* olarak önemli enflamasyon reaksiyonlarına neden olabilir [36,76]. PLA, PGA gibi yaygın olarak kullanılan biyobozunur polimerlerin aksine, PCL bozduğu zaman asidik yan ürün üretmez [39,77]. FDA tarafından biyomedikal uygulamalar için kullanımına izin verilen, kemik rejenerasyonu için iyi bir aday olan PCL, biyolojik olarak parçalanabilen, uygun mekanik özellikleri, yüksek biyoyumluluk ve iyi ilaç geçirgenliği gibi özelliklere sahip yarı kristal bir alifatik poliesterdir [3,4,42,43,75,77,78].

PCL'in kimyasal ve biyolojik özellikleri, fizikokimyasal durumu, bozunabilirliği ve mekanik dayanımı değiştirilebilir [75]. PCL, periodontal uygulamalardaki üstünmekanik özellikleri, biyoyumluluğu, biyobozunurluğu özelliği nedeniyle YDR amaçlı tercih edilmektedir [5]. PCL kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda da YDR'nin başarılı bir şekilde sağlandığı gözlemlenmiştir. Xue ve arkadaşları, antibiyotik yüklü PCL nanofiberi ile enfeksiyonu önlemek veya enfekte olmuş yaraları tedavi etmek için YDR/YKR membranı tasarlamışlardır [36]. Choet ve arkadaşları ise büyük iskelet kası defektlerinde kas hücre yenilenmesini kolaylaştırmak için PCL/Kollajen nanolifli bir yapı iskelesi oluşturmada başarılı olmuşlardır [78]. PCL ucuzdur ve düşük voltaj kullanılarak PCL'den elektroegirme yöntemiyle kolay bir şekilde fiber oluşturulabilir [61]. PCL'in biyoyumlu olması ve iyi mekanik özelliklerinden dolayı; kontrollü ilaç salımı ve doku mühendisliği uygulamaları için kapsamlı bir şekilde çalışılmaktadır, ancak çalışmalar genellikle biyobozunurluğunun ve hücre çoğalmasının az olması ile sonuçlanmaktadır [35,36].

Biyobozunma; doku mühendisliği uygulamalarını içeren iskele oluşturmak için kullanılan malzemeler için önemli bir özelliktir. Doku mühendisliğinde, malzemenin bozulma oranının doku yenilenme hızı ile aynı oranda olması beklenir. Eğer biyobozunma hızı doku yenilenme hızından daha yavaşsa, dokunun büyümesini engeller; daha hızlı olması ise doku ve iskele arasındaki bağlantının kaybına neden olur ve iyileşme sürecini geciktirir [75]. PCL'in tamamen degradasyonu 2-3 yıl gibi çok uzun süre devam eder [75,76,78]. Bu süre YDR/YKR'nin gerçekleşmesi çok uzundur. Bu nedenle, PCL başka polimerlerle kompozit yapılır veya kopolimerleştirilir [76]. PCL'in kitosan ile kompozit yapılması, PCL'in fiber çapını azaltmakta, biyoyumluluğunu ve ıslanabilirliğini ise arttırmaktadır [7,8].

2.4 Membranlara Antibakteriyel Özellikler Kazandırma

Periodontitis oluşumu ana sebebi bakterilerdir. Aynı zamanda YDR ve YKR membran uygulamalarındaki başarısızlığın ana nedeninin bakteriyel enfeksiyon olduğu düşünülmektedir [29]. Bu sebepten dolayı, birçok çalışma antibakteriyel özelliklere sahip membranların tasarımı üzerine odaklanmıştır [41]. Geleneksel sistemik ilaç uygulaması ile alınan antibiyotikler yeterli olmamaktadır, çok fazla alındığında ise dirençli bakteri suşlarının gelişimi ile sonuçlanmaktadır [76]. Bu olumsuzlukları ortadan kaldırılmak için antibiyotik yüklü membranlar ile lokal ilaç salımı amaçlanmaktadır. Bu amaçlar doğrultusunda kullanılan Metronidazol yüklü membranlar sayesinde periodontal tedavide ve kemik rejenerasyonunda önemli gelişmeler olmuştur [29].

2.4.1 Metronidazol

Periodontitis, yumuşak dokuya ve dişin destek yapısına zarar veren dişeti iltihabına karşılık gelir. Bu ayrıca dişleri çevreleyen alveol kemiğinin tahrip olmasına yol açar. Çok faktörlü bir hastalık olan hastalığın ilerlemesinde asıl rol oynayan faktör diş plağıdır [79]. Periodontitis ve YDR/YKR implantı ile ilişkili bu enfeksiyon, bakteriler ve protozoalar dahil olmak üzere anaerobik bakterilerden kaynaklanır [80]. Bu bakteriler periodontal rejenerasyonun başarısını olumsuz yönde etkilediği için hücre çoğalması istenilen oranda gerçekleşmez. Bu nedenle, periodontal rejenerasyonu arttırmak için periodontal defektin bakteriyel kontaminasyonunu kontrol etmek veya azaltmak çok önemlidir [76]. Metronidazol (MET), 45 yıldan

uzun bir süredir periodontal enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılmıştır ve anaerobik bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde hala başarıyla kullanılmaktadır [35,76,80]. Ayrıca ağız içerisinde 500 farklı bakteri çeşidi mevcuttur ve seçilecek olan ilacın geniş spektrumlu olması gerekmektedir. MET geniş spektrumlu olması ve hidrofilik özelliği sayesinde çok fazla kullanılmaktadır [13].

Her ne kadar sistemik olarak antibiyotik uygulaması faydalı olsa da, dişeti sıvısında etkili konsantrasyonlar elde etmek için yüksek oral dozlar gereklidir; ancak antibiyotiğin uzun süreli kullanım dirençli bakteri suşlarının gelişmesine yol açabilir. Bu sınırlamalar, araştırmacıları doğrudan hastalıklı bölgedeki antibiyotiğin kontrollü salımını sağlamaya yönelik çalışmalara yönlendirmiştir [76].

Rui ve arkadaşları, PCL nanofiberine MET yükleyerek hazırladıkları YDR/YKR membranının ilaç kapsülleme etkinliğinin yüksek olduğunu ve jelatin ve MET'in çalışmaya dahil edilmesi, hidrofilikliği büyük ölçüde iyileştirdiğini ve bunun da hücre biyouyumluluğunu geliştirdiğini yaptıkları çalışma ile göstermişlerdir [76].

Xue ve arkadaşları tarafından MET yüklü elektroğirme PCL nanofiber membrandan yapılan etkili bir antiinflamatuvar YDR/YKR membran geliştirilmiş ve in vitro salım ve antibakteriyel deneyler sonucunda geliştirilen nanofiber membranların, MET'i kontrollü bir şekilde saldığını ve anaerobik bakteri büyümesini önlediğini gözlemlenmiştir [36].

Xue ve arkadaşları (2014), MET yüklü elektroğirme PCL-jelatin mikro/nano fiberleri tarafından üretilen etkili, YDR/YKR membran geliştirmişlerdir. MET kontrollü bir şekilde salınmıştır ve elektroğirilmiş membranlar mükemmel bariyer işlevi görerek hücrelerin yapışmasına ve çoğalmasına izin vermiştir [80].

Zamani ve arkadaşları tarafından, MET yüklü nanofiberler elektroğirme yöntemi ile başarılı bir şekilde üretilmiştir ve nanofiberden yaklaşık 19 gün boyunca MET salımının Fick difüzyon yasasına göre gerçekleştiği gözlemlenmiştir ve bunun periodontal hastalıklar için ideal bir tedavi süresi olduğu düşünülmüştür [77].

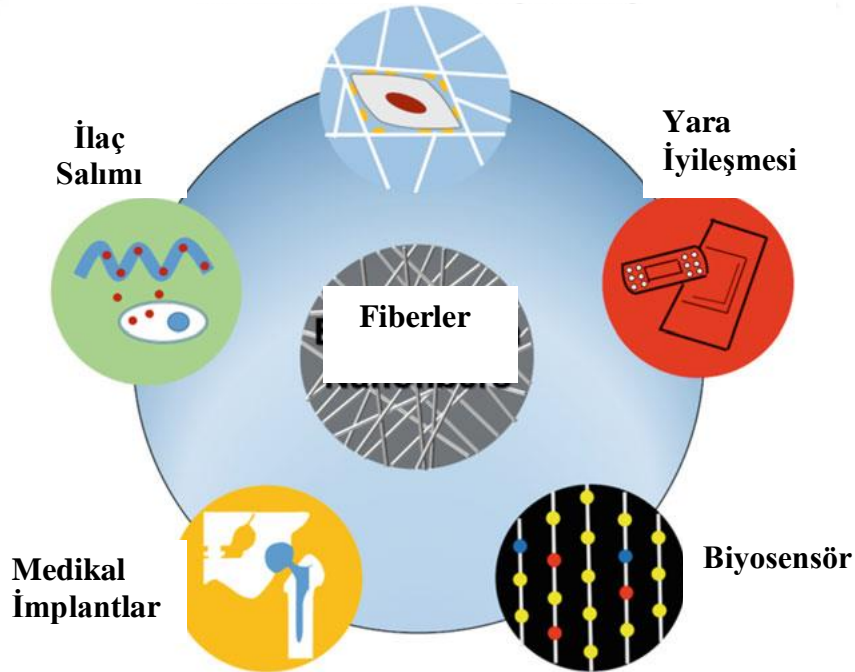
Şpela ve arkadaşları tarafından elektroğirme yöntemini kullanarak MET ile yüklü biyouyumlu ve biyobozunur kitosan/polietilenoksit nanofiberleri geliştirilmiştir [81].

2.5 Elektroğirme Yöntemi

Organlar, aşırı kullanımı ve yaşlanmanın kaçınılmaz etkileri ya da bir hastalık veya yaralanma nedeniyle beklenmedik bir şekilde zamanla işlevlerini kaybedebilir. Hasarlı dokular; ilaçlar, mekanik destekler ve rejeneratif tıp yardımı ile rejeneredilebilir. Rejeneratif tıp tedavileri son yıllarda çok fazla çalışılmaktadır ve tedavi genellikle doku ve hücre davranışına odaklanır, çünkü hücreler bir bütün olarak hareket etmezse aynı uyarılara farklı tepki verebilirler ve bunun sonucunda doku işlevini yerine getiremeyip, doku kaybı ile sonuçlanabilir. Hücre büyümesi için destek sunan ESM sentezi sayesinde hücrelerin bir bütün olarak hareket etmesi sağlanabilir. Yapılan çalışmalar ile nanofiberlerin ESM taklit etme özelliğinden dolayı hücre büyümesi için destek sağlayabilecek yeni malzeme olduğu gösterilmiştir [82]. Nanofiberleri üretmek için, fibrilasyon, meltblowing, bikomponent, spunbond ve elektroğirme yöntemleri kullanılmaktadır [83-84].

Elektroğirme yöntemi; nano seviyeden mikro seviyeye nanolif üretmeyi sağlayan bir tekniktir [48]. Elektroğirme yöntemiyle üretilen nanofiberler ise, nano ölçekli çapı olan ve ESM'yi taklit eden doku mühendisliği doku iskeleleridir [82,85].

Doku Mühendisliği İçin İskeleler



Şekil 2.10 : Fiberlerin biyomedikal mühendisliğinde uygulama alanları [95].

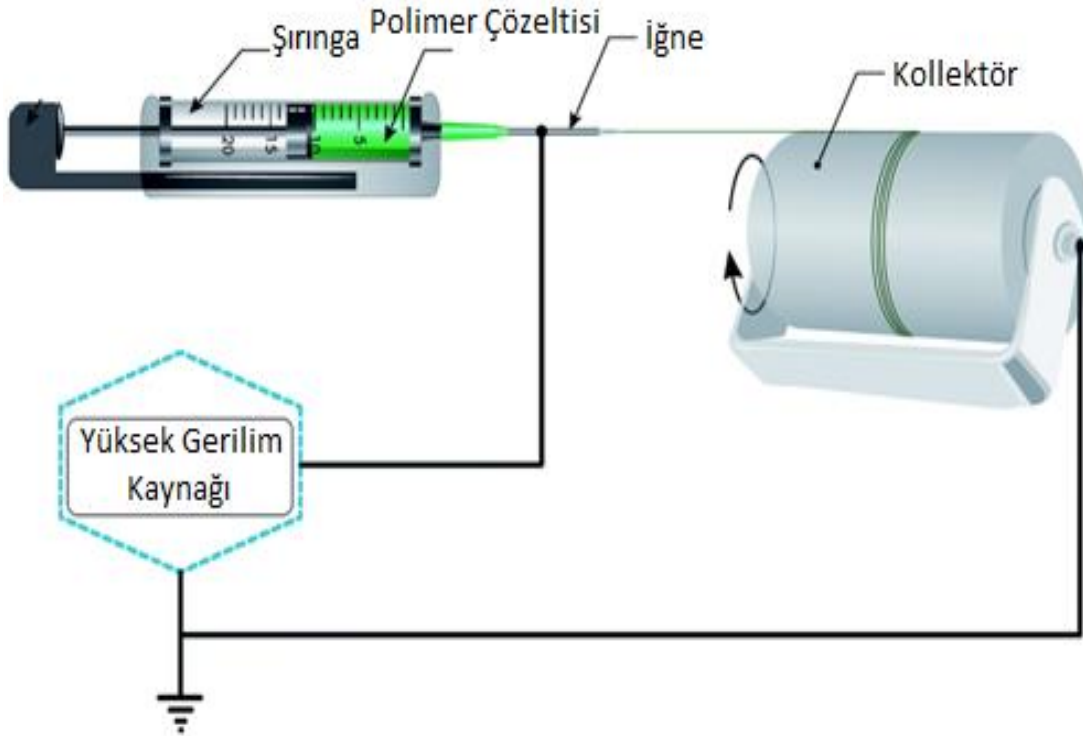
Şekil 2.10'da gösterildiği gibi nanofiberler, uygun yüzey morfolojisi, küçük çap, büyük yüzey alanı/hacim oranı, geniş gözenekli yapı, uygun mekanik özellikler sayesinde birçok alanda tercih edilmektedir [85-91]. Nanofiberler, bu özellikleri sayesinde yara örtüleri, antimikrobiyal malzemeler, ilaç salımı ve doku mühendisliği iskeleleri, kemik rejenerasyonu ve yapay organlar gibi alanlarda kullanılmak için mükemmel bir aday olarak kabul edilmektedir [82,85,90-94].

2.5.1 Elektroğirme yönteminin çalışma prensibi

Şekil 2.11' de gösterilen elektroğirme düzeneği üç temel bileşenden oluşmaktadır [82]:

- 1) Yüksek Gerilim Kaynağı
- 2) Besleme Ünitesi
- 3) Kollektör

Besleme ünitesinin şırınga, metal iğne, toplayıcı iletken plaka ve döner silindir gibi çeşitleri ihtiyaca göre kullanılmaktadır.



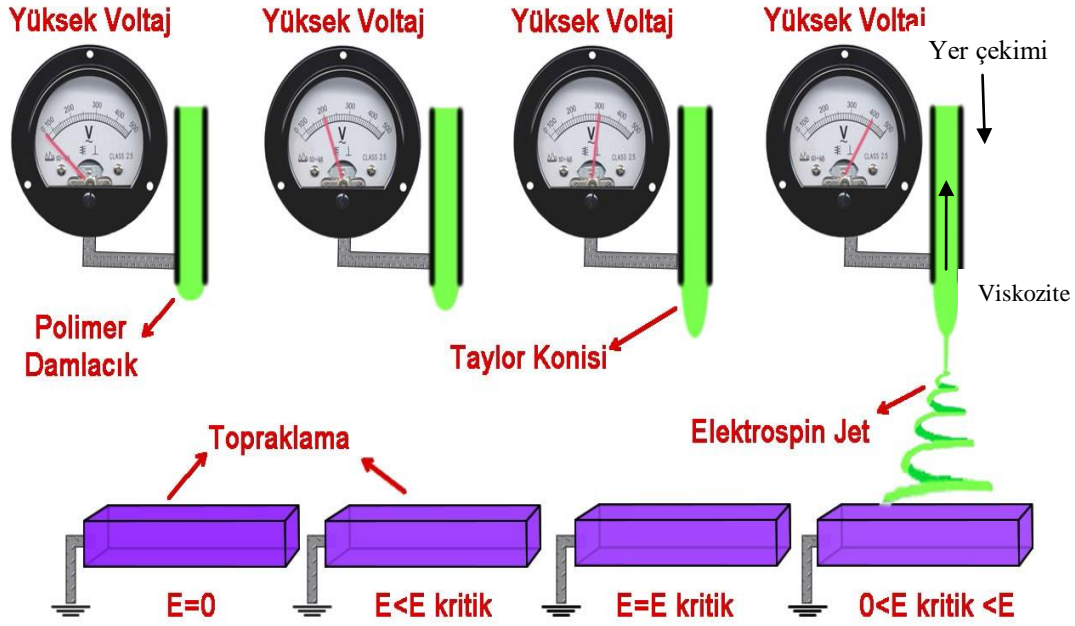
Şekil 2.11 : Basit elektroğirme düzeneği [96].

Elektroğirme tekniğinde polimer uygun bir çözücüde çözülür veya ısı ile eritilir. Daha sonra hazırlanan çözelti veya eriyik ucunda küçük bir delik bulunan pipet veya

şırınganın içerisine yerleştirilir. Şekil 2.12’de gösterildiği gibi polimer çözeltisi veya eriyiğinin çıktığı açık uç ile toplayıcı levha arasında 50 kV’a kadar gerilim uygulanır. Besleyici ünitedeki iğnenin ucundaki polimer damlası; kritik bir voltaj değerine ulaşıncaya kadar yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetler sebebiyle küresel bir biçimde bulunur. Uygulanan elektriksel potansiyel fark eşik değere ulaştığında elektrostatik kuvvetler yüzey gerilimi kuvvetine eşitlenir. Bu noktada polimer damlası şekil değiştirerek koni biçimini alır. Bu koni Taylor Konisi olarak adlandırılmaktadır [82]. Elektrik alanı artırılmasıyla, itici elektrik kuvvetinin yüzey gerilim kuvvetini aştığı kritik bir değere ulaştığında, jet koni oluşur. Jet havada hareket ederken, çözücü buharlaşarak, toplayıcı üzerinde fiber oluşumu meydana gelmektedir [90].



Şekil 2.12 : Elektroğirme yöntemiyle fiber oluşması.



Şekil 2.13: Elektroğirme tekniğinde kritik voltajın üretime etkisi [97].

Polimer çözeltisine yüksek voltaj uygulandığında damlanın yüzeyinde oluşan yükler itme kuvveti oluştururlar [97]. Bu kuvvetler birbirini dengelediğinde Taylor konisi meydana gelir (Şekil 2.13).

2.5.2 Elektroğirme yönteminin parametreleri

Elektroğirme parametreleri oluşacak olan fiberin, yüzey morfolojisinin (çap, gözeneklilik) ve geometrik şeklinin belirlenmesinde önemli etkindir. Örneğin; polimer çözeltisi, viskozitenin elektrik alanı tarafından indüklenen polimer hareketini önleyecek kadar yüksek olmayan bir konsantrasyona sahip olmalıdır. Çözelti ayrıca yeterince düşük yüzey gerilimine ve çözücünün buharlaşmasından önce jetin damlacıklara dönüşmesini engelleyecek kadar yeterli bir viskoziteye sahip olmalıdır. Şırınga iğnesi ve substrat arasındaki mesafe artırılarak veya elektrik alanın azaltılarak, çözeltideki polimer konsantrasyonundan boncuk oluşumu önlenmesi gerekmektedir [98].

2.5.2.1 Çözelti parametreleri

Çözücü buharlaşmadan önce, optimal yüzey gerilimine ve yeterince yüksek yük yoğunluğuna ve uygun bir viskoziteye sahip olmalıdır, bu şekilde ancak jetin damlacıklara dönüşmesi önlenir. Moleküler ağırlık, çözelti viskozitesi, yüzey gerilimi, çözelti iletkenliği ve çözeltinin dielektrik katsayısı gibi polimer özellikleri, nanofiber morfolojisini ve özelliklerini etkiler [94].

Molekül ağırlığı ve çözelti viskozitesi

Molekül ağırlığı ve viskozite birbirleriyle yakından ilişkili kavramlardır. Moleküler ağırlığı, polimer zincir uzunluğunu, yani polimer çözeltisinin iğne ucundan toplayıcı plakaya hareketi süresince, molekül zincirlerinin birbirine dolanmasını ifade eder. Elektroegirme esnasında polimer zincirlerinin dolanması sayesinde jet kırılmadan düzgün fiberlerin elde edilmesi sağlanır [82].

Yüksek molekül ağırlığı, düşük molekül ağırlığına kıyasla daha viskoz çözeltilerle sonuçlanır [94]. Yani; kullanılan polimerin molekül ağırlığı çözeltinin viskozitesini büyük ölçüde etkilemektedir. Yüksek molekül ağırlığına sahip polimerler molekül viskozitesinin de büyük olmasına neden olmaktadır. Fiber oluşumunun gerçekleşebilmesi için viskozitenin belirli aralıktaki değerlerde olması gerekir. Çözeltinin viskozitesinin yüksek olması iğne ucunun tıkanmasına neden olurken düşük olması ise çözeltinin yerçekimi etkisi ile iğne ucundan damlamasına ve fiber oluşumunun gerçekleşmemesine neden olur [94]. Bu sebeple; düşük viskozite liflerin boncuklanmasına neden olurken yüksek viskozite kalın liflerin oluşmasına bununla birlikte lif çaplarının kalın olmasına neden olmaktadır [82,94].

Yüzey gerilimi

Yüzey gerilimi, dış kuvvet nedeniyle değişime direnç gösteren ve çözücünün ve çözünenin özelliklerine bağlı olan oldukça önemli bir parametredir [82,83]. Ethanol ilave edilmesi sonucu daha düzgün nanofiberler oluşabilir [83]. Düşük yüzey gerilimi boncuksuz fiberlerin oluşmasını sağlar [82].

Çözelti İletkenliği

Çözelti İletkenliği; çözeltinin elektrik akımı taşıma kabiliyeti olarak tanımlanabilir. Yüksek iletkenlik, polimer çözeltilerinin düşük iletkenliğe kıyasla daha fazla yük

taşımasını sağlar. Bu nedenle, yüksek iletkenlik, uygulanan gerilim ve nanofiber çapındaki azalmaya karşılık gelen daha büyük çekme kuvvetlerini ifade eder. Düşük iletkenliği olan polimer çözeltiler ise, Taylor koni oluşumu için şırınganın ucundaki sıvı damlacık üzerinde gerekli olan bir yüzey yükü yani istenen gerilme olmaması nedeniyle boncuk oluşumu meydana gelmesini ifade eder [90]. Çözeltinin elektriksel iletkenliği iyonik tuzların eklenmesiyle değiştirilebilir [99].

Çözücünün dielektrik katsayısı

Çözücünün dielektrik sabitinin elektroğirme üzerinde önemli bir etkisi vardır. Dielektrik sabiti yüksek çözücüler kullanıldığında başarılı elektroğirmenin gerçekleştiği tespit edilmiştir ve böylece dielektrik sabiti yüksek olan çözücüler sayesinde boncuk oluşumu azalır ve nanofiber çapında azalma meydana gelir [82,89].

2.5.2.2 İşlem parametreleri

Volaj, akış hızı, toplayıcının etkisi, iğne çapı ve iğne ile kollektör arasındaki mesafe gibi işlem parametreleri elektroğirme için önemli parametrelerdir [94].

Voltaj

Elektroğirme işleminin gerçekleşmesi için 5 ile 40 kV arasında bir voltaj gereklidir [90]. Nanofiber oluşumu sırasında iğne ucunda duran polimer damlası kritik bir voltaj değerine kadar, yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetlerden dolayı, küresel bir biçimde bulunur.

Uygulanan potansiyel fark eşik değerine ulaştığında elektrostatik kuvvetler yüzey gerilimi kuvvetlerine eşitlenir ve artık koni şeklini alır. Bu koni **Taylor konisidir** [84]. Bu durumdan sonra artan potansiyel fark ile artan itici elektrostatik kuvvetlere neden olur ve bu da elektroğirme jetinin daha geniş bir şekilde gerilmesi ve iğne ucundan jet fişkırması ile sonuçlanır [90,94].

Voltajın çok yüksek olması; fiberin yalnızca fiziksel görünümünü değil polimer kristal yapısını da etkilediği ve fiberin saçılma olasılığı, Taylor koni kararsızlığı nedeniyle çok daha fazla olduğu gözlenmiştir [90,94].

Voltajın azaltılması, elektro eğirme jetinin uçuş süresini artmasına ve bu da istenmeyen sonuçlara sebep olduğu ifade edilmiştir [83]. Bundan dolayı da istenilen fiberin üretilmesi için voltajın kritik değerde bulunması şarttır.

Akış hızı

Akış hızı azalması basınca sebep olur, bu da Taylor konisinin kaybolmasına ve geçici olarak elektroegirme işleminin durmasına neden olur. Böylece; elektroegirme sürecinde daha az sayıda boncuk oluşumu ve daha küçük çap ile sonuçlanır [94].

Akış hızının artması ise, iğne ucunda çözelti biriktirebilir. Akış hızı arttıkça, yüzey yük yoğunluğu azalır, bu da çap ve gözeneklilikte değişikliklere sebep olur. Megelski ve arkadaşları polimer akış hızı arttıkça lif çapının ve gözenek çapının arttığını gözlemlemiştir [100]. Bu yüzden de; fiber oluşurken boncuk oluşumunu en aza indirmek için sabit ve istikrarlı bir akış hızı gereklidir.

Toplayıcının etkisi

Toplayıcı plaka; toplayıcı plakanın iletken oluşu, plaka ile iğne ucu arasında elektrik alan oluşmasını kolaylaştırır. Toplayıcının cinsi, elektrik alanın sağlanabilmesi açısından önemlidir. Bu elektrik alanın sağlanabilmesi için metal, alüminyum gibi iletken plakalar kullanılır. Böylece besleme ünitesi ve toplayıcı plaka arasında stabil bir potansiyel fark oluşmaktadır [101].

Kollektör tasarımındaki değişiklik ile fiber geometrisinin kontrolü veya istenen fiber desenlerinin elde edilmesi sağlanmaktadır [82,94].

İğne çapı

İğne çapı fiber çapının üzerinde etkisi olan önemli bir parametredir [82,83]. İğne çapı küçüldüğünde jetin çevreye daha az maruz kalması nedeniyle tıkanmayı azaltır.

İğne iç çapındaki, daha küçük damlacıklara karşılık gelen çözeltinin yüzey gerilimini arttırır [94]. Böylece oluşan jet yavaşladığı ve fiber oluşurken havada geçirdiği süre arttığı için lif çapı da azalmaktadır.

İğne çapı arttığında ise; tam tersi olarak fiber çapının artması meydana gelir [83]. Bunlara ek olarak iğne çapının artması çoklu Taylor Konisi oluşumuna da sebep olabilmektedir [82].

Toplayıcı ve iğne ucu arasındaki mesafe

Fiber çapını ve fiberin morfolojisini etkileyen önemli bir parametre olan toplayıcı ve iğne ucu arasındaki mesafenin artırılması ile jetin izleyeceği mesafe artacağı için fiber çapı azalır ve daha fazla buharlaşma meydana geldiği plakada daha kuru fiberlerin birikmesi ile sonuçlanmaktadır [83,100]. Mesafenin kısılması ile de elektrosatik kuvvetlerin etkisi artar ve jet hızlanır, bunun sonucunda çözücü uzaklaşması için yeterli zaman bulamayabilir. Mesafe ile çap ters orantılı değişmektedir [94].

2.5.2.3 Ortam parametreleri

Ortam parametreleri, elektroğirmeyi etkileyen parametreler arasında yaygın olarak düşünülmesine de, elektroğirme üzerinde önemli bir rol oynamaktadır.

Sıcaklık

Ortam sıcaklığı, çözücü buharlaşma hızını ve polimer çözeltilisinin viskozitesinin değişmesini sağlayabilir [82,83]. Yüksek sıcaklıklar daha düşük viskozite ve daha ince nanofiberlerin oluşumu ile sonuçlanır [82].

Nem

Nem, fiber çapını ve morfolojisini etkileyebilir. Düşük nem değerlerinde, çözücünün hızlı buharlaşmasını sağlar ve polimer çözeltilisinin iğneden çıktıktan hemen sonra katılaşp kurummasına neden olur ve daha kısa bir süre boyunca voltaj kaynaklı gerilime maruz kalır ve bu daha kalın nanofiberlerle sonuçlanır [82]. Parametre değişiminin fiber morfolojisi üzerindeki etkileri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1 : Parametre değişiminin fiber morfolojisi üzerindeki etkileri [102].

Elektroçirime Parametreleri		Parametrelerdeki Değişim	Fiber Morfolojisi Üzerindeki Etkileri
Çözelti Parametreleri	Yüzey gerilimi	↑	Boncuklu fiber oluşur
	Molekül Ağırlığı ve Çözelti Viskozitesi	↑	Viskozite ve fiber çapı artar
	Çözelti İletkenliği	↓	Fiber çapı azalır
	Çözücünün dielektrik katsayısı	↑	Boncuk oluşumu ve çap azalır
İşlem Parametreleri	Voltaj	↑	Fiber çapı azalır
	Akış Hızı	↑	Fiber çapı artar
	İğne Çapı	↓	Fiber çapı azalır
	Toplayıcı ve iğne ucu arasındaki mesafe	↑	Fiber çapı azalır
Ortam Parametreleri	Sıcaklık	↑	Fiber çapı azalır
	Nem	↑	Fiber çapı azalır



3. DENEYSEL MALZEMELER VE YÖNTEMLER

3.1 Malzemeler

Bariyer membran yapımında kullanılan ana malzeme PCL (80 kA molar kütleli) başta olmak üzere, kitosan (190-310 kDa molekül ağırlıklı, deasetilasyon derecesi 75-85%), DMF ve Asetik Asit Sigma'dan (Almanya), DCM Emsure'dan ve PBS (2455C085) VWR'den satın alınmıştır. Metronidazol ilaç şirketinden alınmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Solüsyonların hazırlanması

3.2.1.1 PCL (Poly ϵ -Caprolactone)

% 15, %20, %25 (a/h) PCL, 3:2 (h/h) oranında DMF:DCM çözücüleri kullanılarak hazırlanmıştır. İlk olarak DCM ve DMF karıştırıldı ve daha sonra çözücülerin üzerine PCL ilave edilmesiyle oluşan solüsyon homojen hale gelene kadar vortex yardımıyla 12 saat karıştırılmıştır.

3.2.1.2 Kitosan

%5 (a/h) kitosan çözeltisi hazırlanmıştır. Kitosan çözeltisi, 0.2 g kitosanın manyetik karıştırıcı yardımı (25° C, 400 rpm) ile 1 ml % 2 asetik asit içeren 50 ml saf su içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır [74].

3.2.1.3 Metronidazol

%5, %15 (a/h) MET solüsyonu, MET'in 2 ml DMF'te çözülmesi ile hazırlanmıştır. MET ilacından elektroegirme yöntemiyle fiber elde etmek için PCL ile karıştırılmıştır. Bu iki solüsyonun homojen olarak karışması için; ilk olarak 2 ml DMF içerisinde MET çözülmüş, daha sonra ilaç solüsyonu, PCL solüsyonunun içerisinde ilave edilerek vortex yardımıyla 8-10 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır.

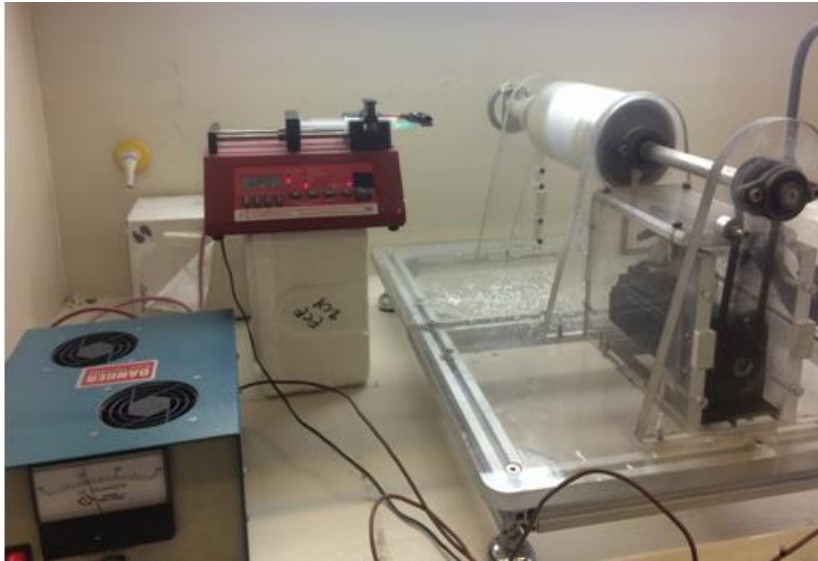
3.2.1.4 Viskozite ölçümleri

Viskozite fiberin çapını etkileyen önemli bir parametredir. Çalışmalar Şekil 3.1’de verilen TOBB Etü Teknoloji Merkezi Malzeme Mühendisliği bölümü laboratuvarında bulunan Brookfield marka viskozimetri cihazıyla 25° C’de ve 10 rpm’de gerçekleştirilmiştir. %20 PCL, %20 PCL-%5 MET, %20 PCL-%15 MET çözeltilerinin viskozitesine bakılmıştır.



Şekil 3.1 :Viskozite cihazı fotoğrafı.

3.2.2 Elektroğirme yöntemiyle üretilen fiberlerin optimizasyonu



Şekil 3.2 : Basit elektroğirme düzeneği.

Şekil 3.2’de verilen elektroğirme düzeneğinde, New Era Inc. (Massachussets, ABD) marka pompa, güç kaynağı ve döner kollektör (çap = 10 cm, dönme hızı = 1000 rpm) kullanılmıştır.

3.2.2.1 PCL solüsyonundan fiber üretimi ve optimizasyonu

Optimize edilen akış hızı, voltaj ve mesafe değerleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 : Fiber üretimi için kullanılan solüsyonların parametreleri ve optimizasyonu.

Solüsyonlar	Akış Hızı (mL/sa)	Voltaj (kV)	Zaman (sa)	Mesafe (cm)
%15 PCL	1.2	8-10	5-5.5	12
%20 PCL	1.2	8-10	5-5.5	12
%25 PCL	1.2	8-10	5-5.5	12

3.2.2.2 Metronidazol yüklü PCL fiberlerin optimizasyonu

Elektroğirme yöntemiyle hazırlanan MET hapsedilmiş fiber; %20 PCL (a/h) ve %5, %15 (a/h) MET solüsyonları karıştırılarak elde edilmiştir. Daha önceden %15, %20 ve %25 (a/h) PCL fiberleri üretirken optimize edilen (akış hızı: 1.2 mL/sa, voltaj: 8-10 kV, mesafe=12 cm) değerler kullanılarak MET yüklü fiberler elektroğirme yöntemiyle elde edilmiştir.

3.2.3 Fiberlerin kitosan ile kaplanması ve optimizasyonu

PCL ve PCL-MET fiberlerin kitosan ile kaplama işlemi yapılırken, fiberler %5 (a/h) kitosan çözeltisi içine *dip-coating* olacak şekilde 5 mm daldırılmış ve 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra solüsyonun içinden çıkarılan kitosanlı fiber oda sıcaklığında 4 saat bekletilmiş ve 24 saat bekletilmek üzere -85° C düşük sıcaklığındaki dondurucuya yerleştirilmiştir [74].

3.3 Elektroğirme Yöntemiyle Üretilen Fiberlerinin Karakterizasyonu

Çizelge 3.2’de verildiği gibi fiberlerin karakterizasyonu için MET yüklü (%5 ve %15 (a/h)) %20 PCL ve %20 PCL-%5 kitosan, MET yüklü olmayan %20 PCL ve %20 PCL-%5 Kitosan kullanılmıştır. Karakterizasyon çalışması yapılırken fiberlerin her birinden (n=3) olacak şekilde hazırlanmıştır.

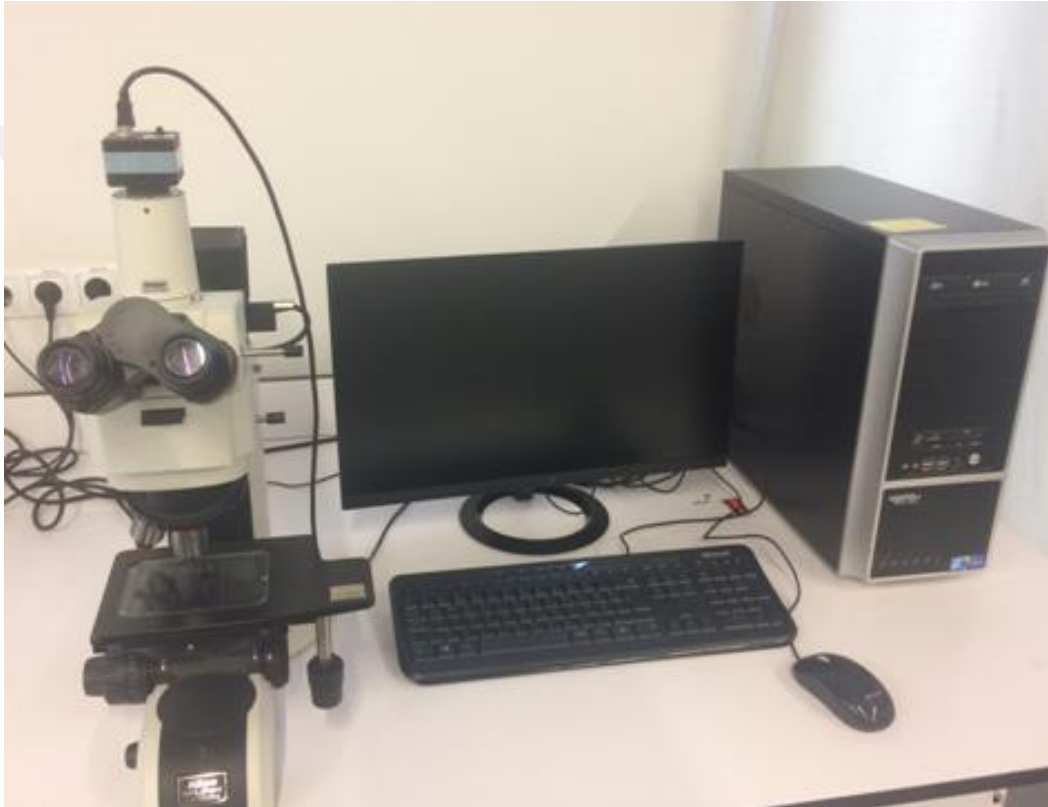
Çizelge 3.2 : Elektroğirme fiberlerinin karakterizasyonu için yapılan testler.

Testler	MET Yüklü (%5,%15)		Boş	
	%20 PCL	%20PCL -%5 Kitosan	%20 PCL	%20PCL -%5 Kitosan
Viskozite	+	-	+	-
Optik Mikroskop	+	-	+	-
Temas Açısı	+	+	+	+
FTIR	+	+	+	+
Mekanik Test	+	+	+	+
SEM	+	+	+	-
Degradasyon	-	-	+	+
In Vitro Salım	+	+	-	-

3.3.1 Optik (ışık) mikroskobu

Optik mikroskop ya da **ışık mikroskobu** merceklerden oluşan küçük nesnelere büyütme için kullanılan bir mikroskop türüdür. Çözünürlük ve görüntünün büyütülmesi ışık ve mikroskop lensleri sayesinde sağlanan bu mikroskopların lensleri 50x, 100x, 200x, 400x, 500x ve 1000x gibi oranda büyütme yapabilir.

Fiberlerin optik görüntüleri, TOBB Etü Teknoloji Merkezi'nde bulunan konfokal lazer tarama kafası ve Clemex Vision yazılımı ile donatılmış mikroskop (Nikon Eclipse LV150N, Japonya) ile elde edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 : Optik (Işık) mikroskobu fotoğrafı.

3.3.2 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

FTIR, fonksiyonel gruplar hakkında bilgi veren absorpsiyon spektroskopisidir. Düşük enerjili IR bölgesindeki ışınlar maruz kalan molekül veya atomların bağlarının eğilmesi, bükülmesi, gerilmesi, titreşimi veya dönme hareketleri sonucunda ortaya çıkan absorpsiyon spektrumunun değerlendirilmesi sonucu moleküllerin fonksiyonel yapısı hakkında bilgi veren sistemdir. IR ışınlarının dalga

sayıları 4000-650 cm^{-1} arasında, yani yaklaşık 15 μM ve 2.5 μM dalga boyu aralığında değişmektedir. Her maddenin bu aralıkta farklı bir spektrumu vardır.

TOBB Etü'deki Perkin Elmerspectrum 100 cihazı (Çin) kullanılarak fiberlerin FTIR analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 : FTIR cihazı fotoğrafı.

3.3.3 Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), odaklanmış bir elektron demeti ile numune yüzeyini tarayarak görüntü elde edilmesini sağlayan mikroskop türüdür. Çeşitli oranlarda büyütülebilme özelliğine sahiptir (Çizelge 3.3). SEM'de numune hakkında bilgiler edinirken, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması sağlanır ve bunun sonucunda oluşan sinyaller toplanır ve bu sinyallerin analizi yapılır.

SEM analizi yapılırken, kimyasal ve mekanik işlemlerden sonra liflerin yüzey morfoloji ve çapı gibi mikroyapı analizi için kullanılmak üzere numüneler, Ankara Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü'nde (SEM2 Emekech K550X, Fransa)

incelenmiştir (Şekil 3.5). Membranlar incelenirken altın ile kaplandı ve daha sonra elektron mikroskop altında bakıldı. Ortalama fiber çapı ve fiber çap dağılım değerleri ImageJ Launcher yazılım programı (Amerika) ile hesaplanmıştır [42,76].

Çizelge 3.3 : Işık mikroskobu ve elektron mikroskopunun karşılaştırılması.

	Işık Mikroskobu	Elektron Mikroskobu
Aydınlatma Kaynağı	Görünür Işıklar ($\lambda=550$ nm)	Elektron Demeti ($\lambda=0,005$ nm)
Çözünürlük	0,25 μ m	0,05 nm
Maximum Büyütme	1400X	300000X



Şekil 3.5 : SEM cihazı fotoğrafı.

3.3.4 Temas açısı ölçümleri

Pürüzlü yüzeylerin ıslanabilirliği, hem kimyasal bileşim hem de katı yüzeyin geometrik yapısı ile kontrol edilebilecek önemli bir özelliktir. Bir sıvı damlası pürüzlü bir yüzeye temas ettiğinde, damlacık ya yayılır ya da bırakıldığı gibi kalır, her iki durumda da sıvı ile yüzey arasında bir açı oluşmaktadır. Temas açısı ölçümleri pürüzlü yüzeyin ıslanabilirliğini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır [103].

Çizelge 3.4 : Temas açısı ve özellikleri [104].

Malzemenin Islanabilirliği	Temas Açısı Değerleri
Hidrofilik	0°-30°
Az Hidrofilik	31°-90°
Hidrofobik	> 90°

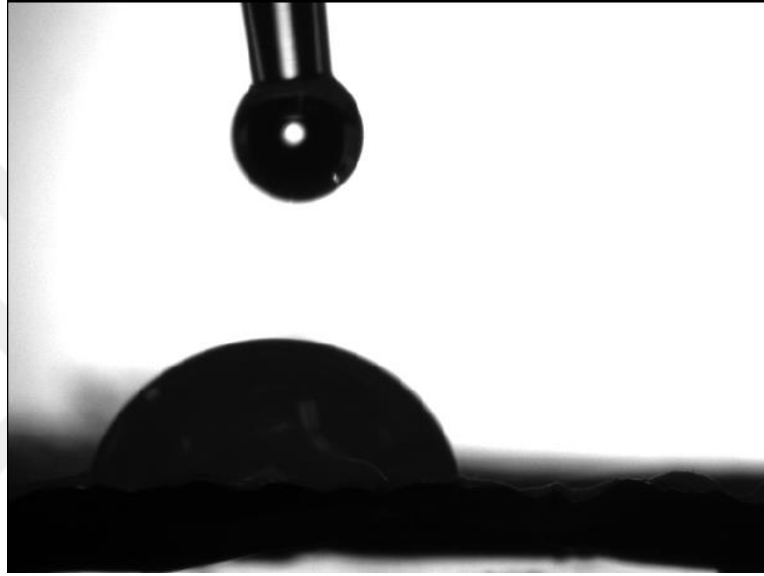
Çizelge 3.4'te gösterildiği gibi temas açısı 0° ve 30° arasında ise hidrofilik, 31° ve 90° arasında az hidrofilik, 90°'den büyük ise hidrofobiktir.



Şekil 3.6 : Temas Açısı ölçüm cihazı fotoğrafı.

Fiberlerin temas açısı hesaplanırken; hepsinin boyutu aynı olacak şekilde (1 cm x 1 cm) her birinden n=3 olacak şekilde hazırlanıp, TOBB Etü Teknoloji Merkezi'nde bulunan Perkin Elmer Spectrum 100 cihazı ile temas açısı ölçümleri hesaplanmıştır (Şekil 3.6).

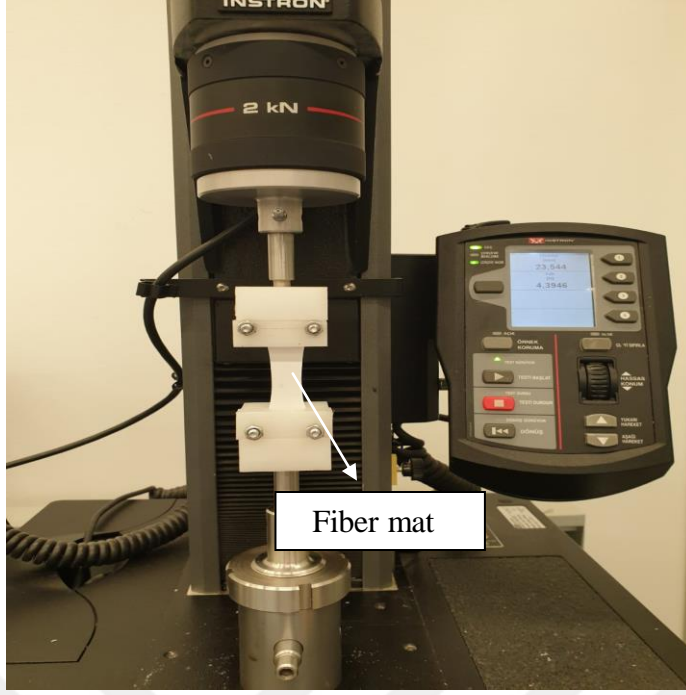
Su damlacıkları (5 µL), fiberlerin (%20 PCL, %20 PCL- %5 kitosan, %20 PCL-%5 MET, %20 PCL-%15 MET, %20 PCL-%5 MET-%5 Kitosan, %20PCL-%5 Kitosan-%15 MET) yüzeylerine dikkatlice damlatılmış ve temas açısı ölçülmüştür (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 : Su damlacığının fiber üzerine damlatılma anı.

3.3.5 Mekanik test

Çekme deneyi malzemelerin mekanik özelliklerini belirlemek amacıyla kullanılan en yaygın test yöntemidir. Çekme deneyinde bir malzemenin statik ve yavaş uygulanan bir yüke karşı dayanımı ölçülür. Uygun bir çekme test örneği cihaza yerleştirilir ve örneğe bir kuvvet uygulanır. Çekme deneyinde uygulanan kuvvet sonucu malzemedeki uzama miktarı ölçülür ve bu ölçüm sonucunda stress/strain (gerilim-gerinim) eğrisi elde edilir.



Şekil 3.8 : Mekanik test cihazı fotoğrafı.

Fiberler en küçük bir kuvvete bile hassasiyet gösterdiği için, herbirinden n=3 olacak şekilde 4cm x 2cm kesilerek hazırlanmış olan fiber örneklerinin, TOBB Etü Teknoloji Merkezi'nde bulunan Tek Eksenli Çekme Test Cihazı 5944 Test Çerçevesi (Instron, Norwood, MA, Amerika) ile mekanik testi yapılarak, gerilim-gerinim grafiği çizilmiş ve Young modülü hesaplanmıştır (Şekil 3.8).

3.3.6 Degredasyon testi

Degradasyon testi, bir malzemenin kütledeki değişim miktarını hesaplar. Degradasyon testi yapılırken bozunma ortamı olarak PBS belirlenmiştir. Degradasyon çalışmaları 25° C ve 37° C'de yapılmıştır. Her bir gündeki degradasyon çalışması için fiberler (1cm x 1cm) n=3 olacak şekilde hazırlanmıştır ve örnekler pH:7.4'te 2 ml PBS konulan ependorfların içerisine ayrı ayrı yerleştirilmiştir. 25° C PCL için 30 tane, 37° C PCL için 30 tane, 25° C PCL-kitosan için 30 tane ve 37° C PCL-kitosan için ise 30 tane olmak üzere toplam 120 tane örnek hazırlanmıştır (Şekil 3.9).

$$\text{Kütle Kaybı (\%)} = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100 \dots \dots \dots 3.1$$

(3.1)'de verilen denkleme göre, çalışma örnekleri ependorflara konulmadan önceki kütleleri (W_0) hesaplanıp not edildi ve daha 0.gün (1, 3, 6, 12. saat), 1, 4, 7, 10, 14 ve 28. günlerde PBS'ten çıkarılan örnekler kurutulduktan sonraki kütleleri (W_t) hesaplanmıştır. PBS içinden çıkarılıp kurutulan fiberlerin kütlesi ile ependorflara konulmadan önceki kütle arasındaki fark alınıp degradasyon miktarı hesaplanmıştır [11].



Şekil 3.9 : pH:7.4'teki 25° C ve 37 °C için degradasyon için fiber örnekleri.

In vitro salım testi TOBB Etü Teknoloji Merkezi'nde bulunan Ultraviyole Görünür Spektrofotometre (U-5100 Hitachi) ile yapılmıştır (Şekil 3.10).

3.3.7 İki farklı sıcaklık (25° C ve 37° C) ve pH (7,4)'da in vitro salım testleri



Şekil 3.10 : Ultraviyole Görünür Spektrofotometre cihazı fotoğrafı.

Bu çalışma yapılırken; oda sıcaklığı (25° C) ve insan vücut sıcaklığı (37° C) olmak üzere iki farklı sıcaklıkta ve periodontitis rahatsızlığının gerçekleştiği yer olan ağız bölgesinin pH (7.4)'ü düşünölmüştür. İlk olarak, 1cm x 1cm olacak şekilde her bir örnekten 3'er tane olmak üzere toplam 24 tane fiber kesilmiştir. Daha sonra ise bu örnekler 2 ml PBS ile dolu olan ependorfların içerisinde bırakılmışır (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 : 37° C ve 25° C 'de, in vitro salım analizi için pH:7.4'te hazırlanmış örnekler.

İlaç salımı çalışması yapılırken %5 MET, %15 MET, %5 MET-%5 Kitosan, %15 MET-%5 Kitosan olmak üzere 4 farklı örnek grubu oluşturulmuştur. Bu gruplar 0.gün (1, 3, 6, 12. Saat), 1, 3, 7, 14, 21 ve 28. günlerde olmak üzere toplam 28 gün ilaç salımına bakılmışır. Örnekleredeki mevcut ilaç miktarı 340 nm'de UV Görünür Spektrofotometre ile belirlenmiştir. Absorbans ölçümü yapılırken ependorflardan 1 mL alınmış ve ependorflara daha önce alınan hacim kadar (1 mL) PBS konulmuştur.

MET'in absorpsiyon piki olan 340 nm'de, aynı tampon çözeltisinde MET'in kalibrasyon eğrisi aracılığıyla ilaç konsantrasyonu bulunmuştur ve üçlü numunelerdeki yüklenen ilacın yüzdesi, fiber membranlarda bulunan ilacın başlangıç ağırlığına göre hesaplanmıştır.

3.3.8 İstatiksel Analiz

Deneyler sonucunda elde edilen verilerin sonuçları SPSS Statistics 20.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) programı ile yapılmıştır. Anova testi kullanılarak, ortalama çap, temas açısı, mekanik, in vitro salımı verilerdeki farklılığın anlamlı olup olmadığına bakılmış ve $p < 0.05$ olduğunda anlamlı fark kabul edilmiştir.

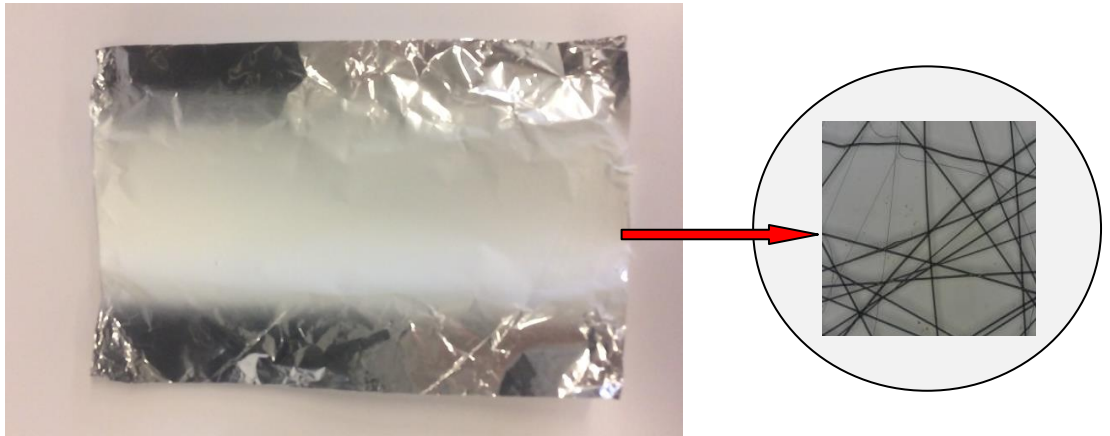
4. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Elektroğirme Solüsyonunun Hazırlanması, Kitosan ile Kaplama ve Viskozite Ölçümleri

4.1.1 PCL

PCL solüsyonları, çözücüleri DMF:DCM, 3:2 (h/h) oranında olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan PCL konsantrasyonlarından (%15, %20, %25 (a/h)) PCL) elektroğirme yöntemiyle fiber oluşturulmuştur. Elektroğirme yöntemiyle fiber oluşturma işlemi gerçekleşmesi esnasında en iyi konsantrasyon %20 PCL seçilmiştir. %20 PCL'in seçilme sebebi, %15 PCL viskozitesinin az olmasından dolayı şırınga ucundan çıkan damlacığınyere düşme eğiliminde olması ve %25 PCL viskozitesinin fazla olmasından dolayı iseşırınga ucunun tıkanmasından dolayı fiberin zor oluşmasıdır.

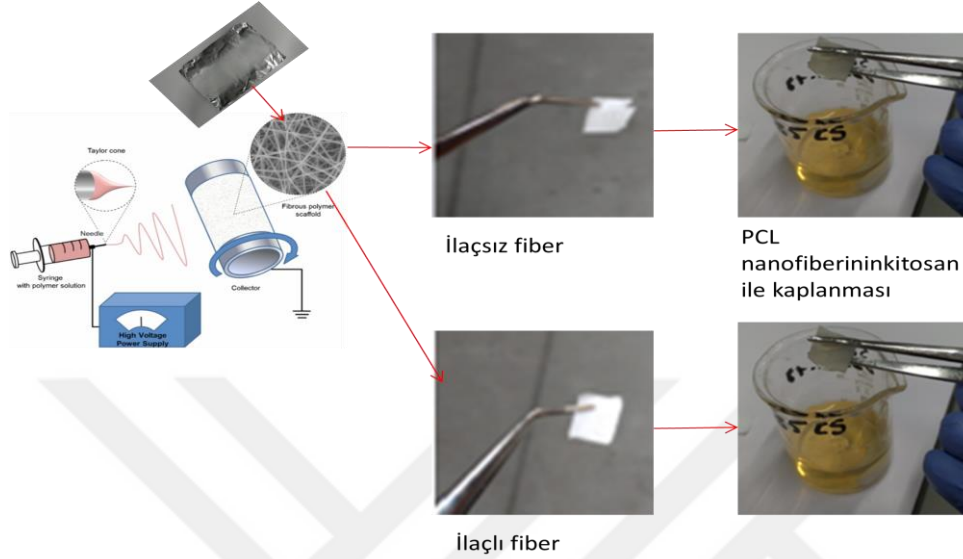
%20 PCL konsantrasyonu ile oluşturulan fiberde, şırınga ucunun tıkanmamasının yanı sıra fiber düz bir iplik şeklinde oluşmuştur. Şekil 4.1'de verilen %20 PCL deneysel gözlemlere ek olarak optik mikroskop görüntülerinde de en iyi görüntü seçilmiştir.



Şekil 4.1 : %20 PCL fiberinin aliminyum folyo üzerindeki ve optik mikroskop görüntüsü.

4.1.2 Kitosan ile kaplama

Şekil 4.2’de %5 (a/h) kitosan çözeltisi ile fiberlerin kaplandıktan sonraki görüntüsü verilmiştir. Fiberlerin kitosan ile başarılı bir şekilde kaplandığı FTIR, SEM ve in vitro salım çalışmalarıyla desteklenmiştir.



Şekil 4.2 : Fiberlerin kitosan ile kaplanması.

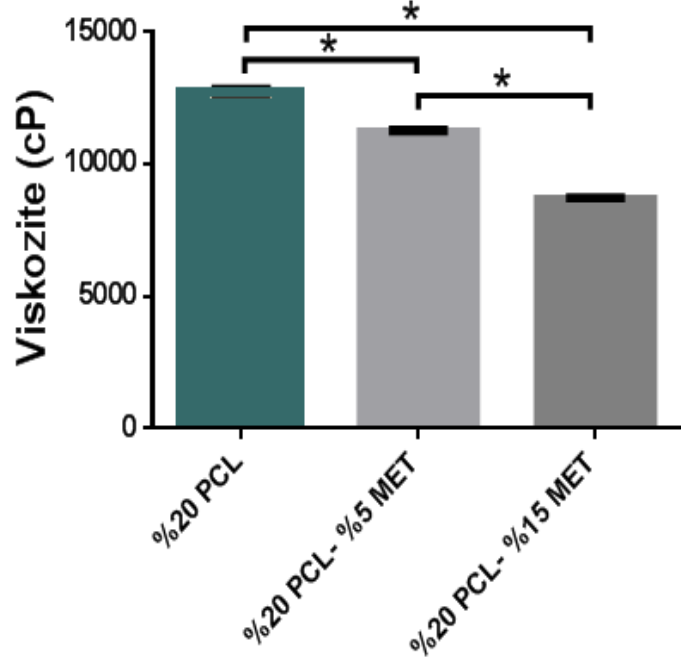
4.1.3 Viskozite ölçümleri

Viskozite ölçümleri her birinden en az 15 ml olacak şekilde %20 PCL, %5 ve % 15 (a/h) MET yüklü sölüsyonlar üzerinde yapılmıştır. Spindle olarak RV-05 seçildi ve viskozite 25 °C’de ve 10 rpm’de ölçülmüştür (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 : Viskozite ölçümleri.

Polimer	Viskozite (cP)	Tork (%)	rpm	Sıcaklık (°C)	Spindle
%20 PCL	12.760±144	31,2 %	10 rpm	25 °C	RV-05
%20 PCL- %5 MET	11.280±80	29,6 %	10 rpm	25 °C	RV-05
%20 PCL- %15 MET	8.733±61	21,7 %	10 rpm	25 °C	RV-05

Fiberler MET ile yüklendiğinde ve MET miktarı arttırıldığında viskozite (cP) değeri azalmıştır. Şekil 4.3'te elde edilen verilere göre viskozite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($p<0.05$)



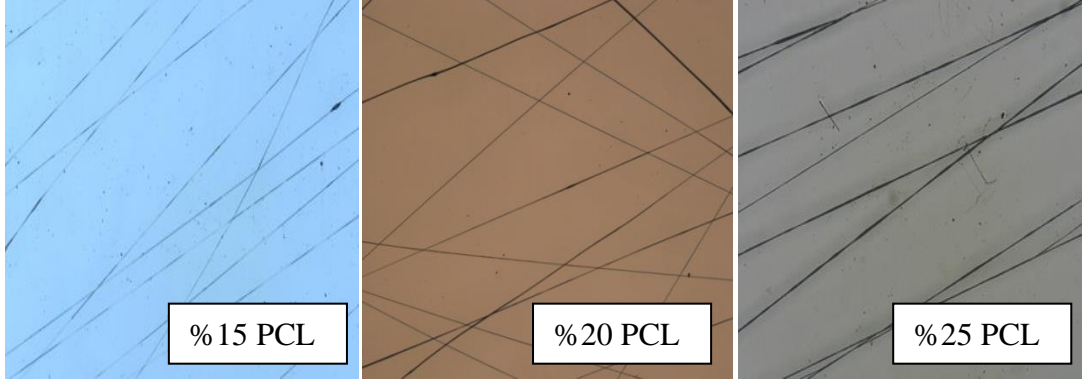
Şekil 4.3 : Viskozite değerlerinin istatistiksel analiz görüntüsü. * gruplar arasındaki anlamlı farklılığı belirtmektedir. ($p<0.05$)

Zamani ve arkadaşları yaptıkları çalışmada MET miktarı arttırıldığında, PCL çözeltisinin viskozitesinin azaldığını tespit etmişlerdir. MET ilave edildikten sonra viskozitedeki azalmanın sebebi, MET moleküllerinin mevcudiyetinin PCL zincirleri için bir plastikleştirici olarak işlev görmesi ve dolayısıyla viskoziteyi düşürmesidir [77].

4.2. Elektroğirme Yöntemiyle Üretilen Fiberlerin Karakterizasyonu

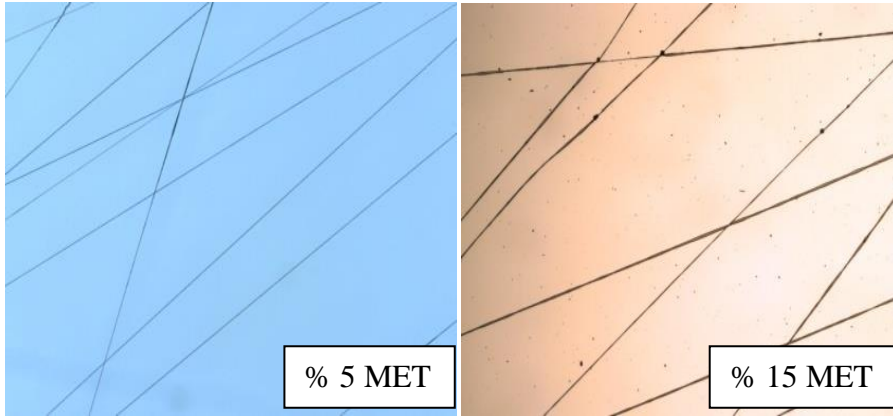
4.2.1 Optik (Işık) mikroskobu

Şekil 4.4'te verilen %15, %20, %25 PCL (a/h) solüsyonlarının elektroğirme yöntemiyle üretilen fiberlerin optik mikroskopta incelenmesi sonucu en iyi fiber %20 PCL'den elde edilmiştir.






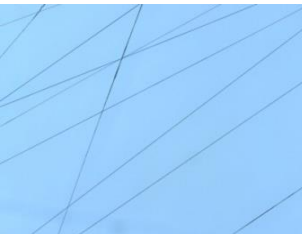
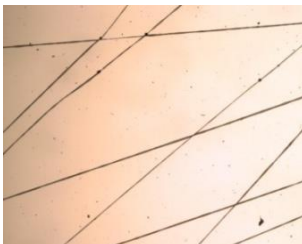
Şekil 4.4 : %15, %20, %25 PCL (a/h)'den elde edilen fiberlerin optik mikroskop görüntüleri.

MET ile yüklü PCL ve MET ile yüklü olmayan PCL olmak üzere iki ayrı şekilde optik mikroskop görüntüleri incelenmiştir. İlk olarak; MET yüklü olmayan PCL (%15, %20, %25 (a/h))'den fiber oluşurken lam üzerine fiberler toplanarak görüntüler incelenmiştir ve %15 PCL'in viskozitesinin az olmasından dolayı fiberlerin düz ipliksi bir şekilde oluşmaması ve %25 PCL'in viskozitesinin fazla olmasından dolayı fiber oluşumunun zor olması sonucu en iyi fiber oluşumu %20 PCL olarak optime edilmiştir. İkinci olarak; %5 ve %15 (a/h) MET yüklü PCL'in optik mikroskop görüntüleri incelenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 : %5 ve %15 MET ile yüklenmiş PCL fiberler.

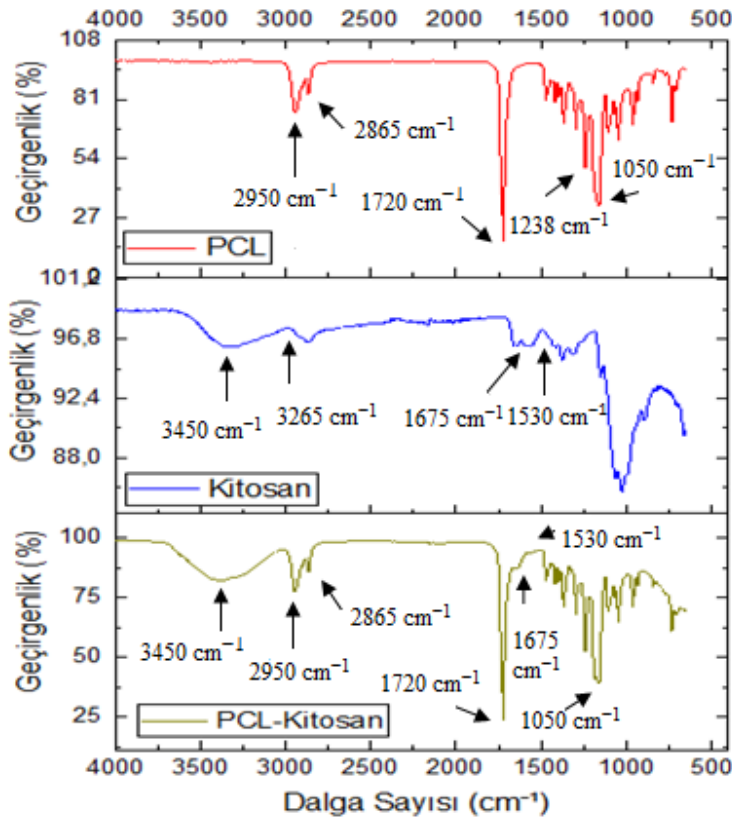
Şekil 4.6'da grupların optik mikroskop görüntüleri ve deneysel optimum değerleri (akış hızı: 1.2 ml/sa, voltaj: 8-10 kV, mesafe=13 cm) verilmiştir.

<u>Gruplar</u>	<u>Optik Mikroskop Görüntüleri</u>	<u>Optimum Değerler</u>
%15 PCL		Akış hızı: 1.2 ml/sa Voltaj: 8-10 kV Mesafe: 13 cm
%20 PCL		Akış hızı: 1.2 ml/sa Voltaj: 8-10 kV Mesafe: 13 cm
%25 PCL		Akış hızı: 1.2 ml/sa Voltaj: 8-10 kV Mesafe: 13 cm
%20 PCL-%5 Metronidazol		Akış hızı: 1.2 ml/sa Voltaj: 8-10 kV Mesafe: 13 cm
%20PCL-%15 Metronidazol		Akış hızı: 1.2 ml/sa Voltaj: 8-10 kV Mesafe: 13 cm

Şekil 4.6 : MET ile yüklü ve MET ile yüklü olmayan fiberlerin optik mikroskop görüntüleri.

4.2.2 FTIR analizi

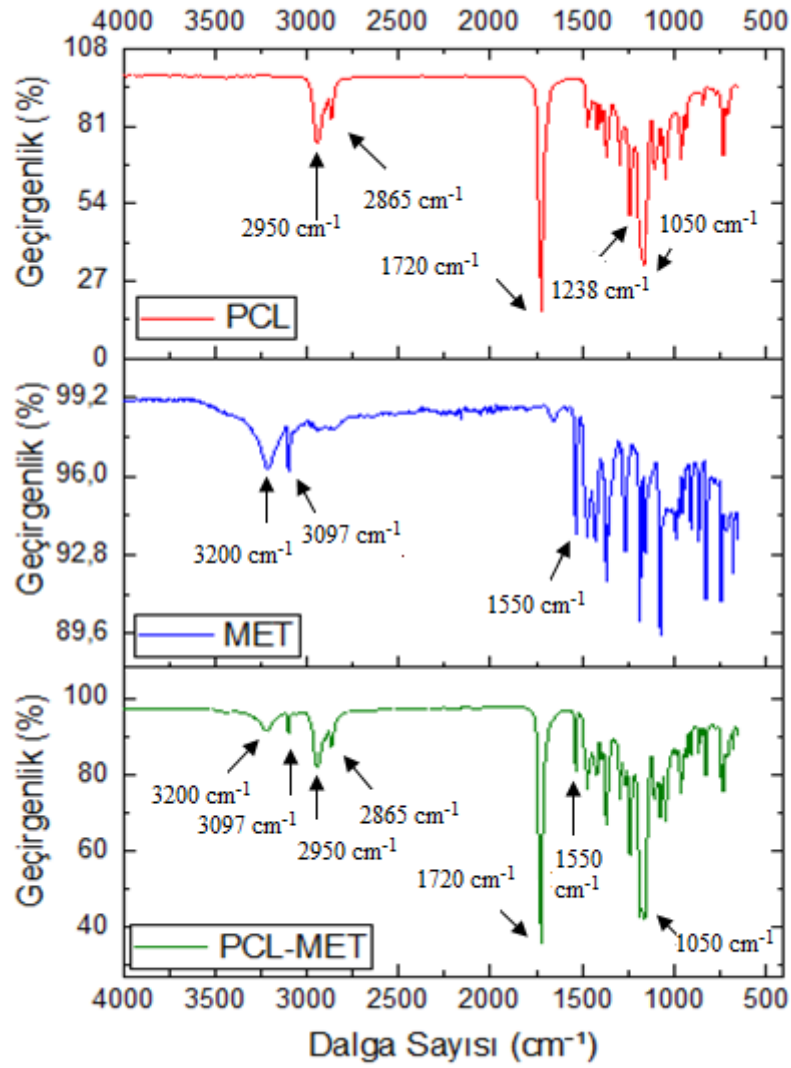
FTIR analizi yapılırken 6 farklı örnek (PCL, Kitosan, PCL-Kitosan, MET, PCL-MET, PCL-Kitosan-MET) incelenmiştir ve örneklerin frekans spektrumu başarılı bir şekilde gözlenmiştir. Her bir örnek için dalga sayısı (cm^{-1})/geçirgenlik (%) grafiği çizilmiştir. Şekil 4.7’de verilen PCL’in karakteristik piki 1720 cm^{-1} ’de karbonil (C=O), 2950 cm^{-1} ’de (asimetrik) ve 2865 cm^{-1} ’de (simetrik) CH_2 gerilimi, 1050 cm^{-1} ’de C–O gerilimi, 1238 cm^{-1} ’de C–O–C (asimetrik) gerilimi görülmektedir [59]. Kitosanın karakteristik pikleri 1675 cm^{-1} ’de amid ve 1530 cm^{-1} ’de protonlanmış amin gruplarına karşılık gelmektedir. Karakteristik piklerin en belirgin olan 3450 cm^{-1} ’deki pik, hidroksil ve moleküler içi hidrojen bağlarına karşılık gelmektedir [57,59]. PCL-Kitosan’da görülen 1675 ve 1530 cm^{-1} ’de gözlenen karakteristik absorpsiyon bantları, sırasıyla, amid ve protonlanmış amin grupları, kitosanın gerilmesine karşılık gelmektedir. 1720 cm^{-1} ’deki pik PCL’deki ester bağına (C=O), 2865 cm^{-1} ’deki pik CH_2 (simetrik), 2950 cm^{-1} ’deki pik CH_2 (asimetrik) bağına karşılık gelmektedir [59].



Şekil 4.7 : Kitosan kaplı PCL’in FTIR spektrumu.

Bu FTIR sonuçları, her iki bileşenin varlığının olduğu göstermektedir. PCL ve kitosanın piklerine ek olarak herhangi bir ilave pik olmaması, bu iki polimer arasında kovalent bağ bulunmadığını gösterir. Diğer bir yandan; kitosan, PCL'nin karbonil grupları ve kitosanın amin grupları arasında moleküller arası hidrojen bağlanması söz konusudur [59].

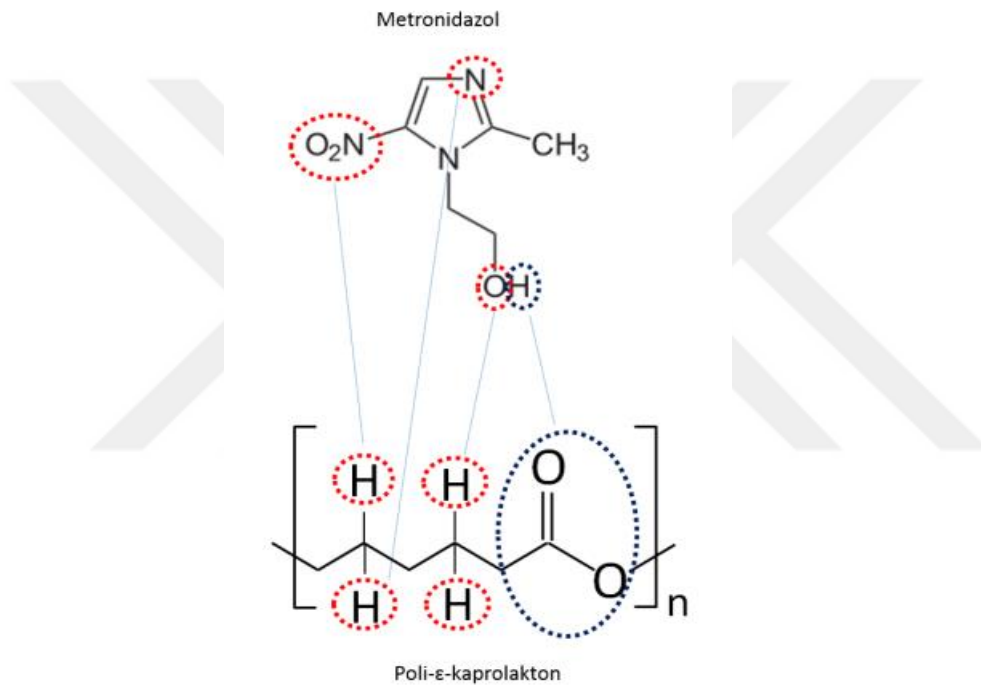
Şekil 4.8'deki MET ile ilişkili pikler; 3414 ve 3220 cm^{-1} 'de O-H gerilimi, 3097 cm^{-1} 'de CH gerilimi 1550 cm^{-1} 'de NO_2 asimetrik gerilimi görülmektedir [35,36].



Şekil 4.8 : MET ile yüklenmiş PCL membranının FTIR spektrumu.

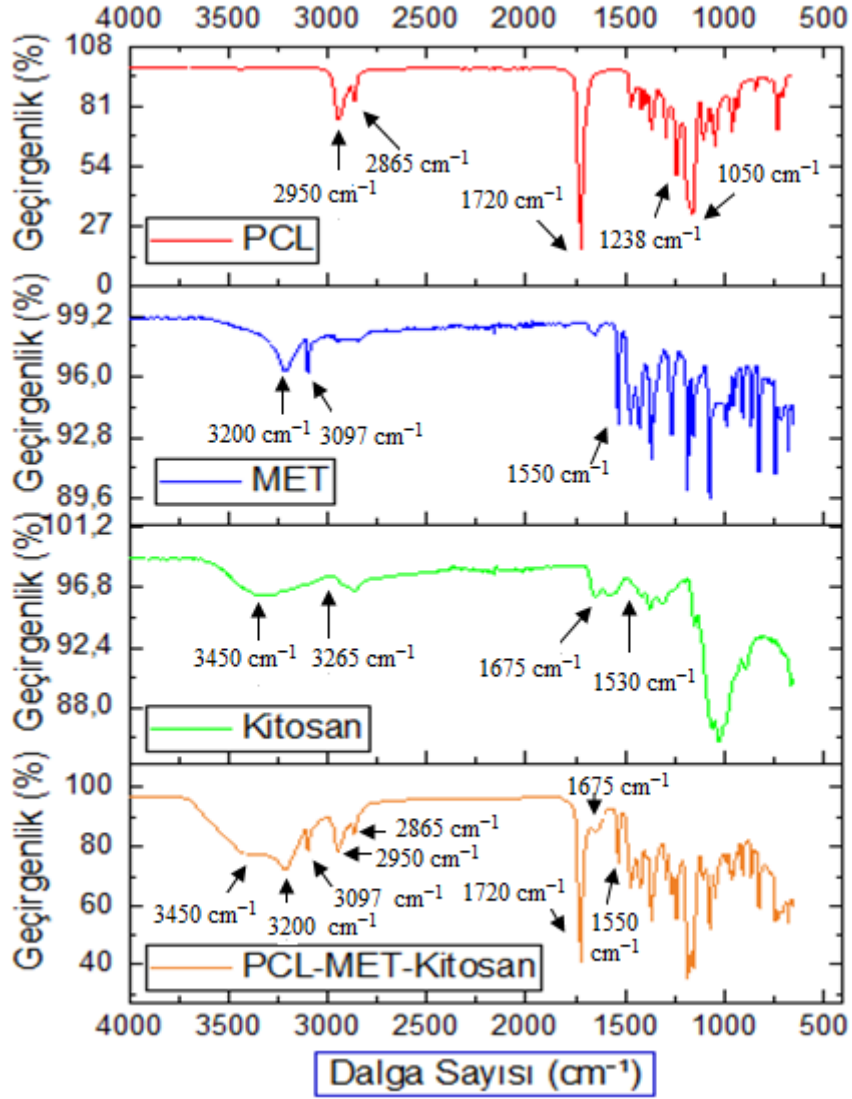
Şekil 4.8’de PCL’in 1720 cm^{-1} ’deki piki C=O bağına, 2865 cm^{-1} ’deki pik C-H bağına, 1050 cm^{-1} ’deki pik C-O bağına karşılık gelirken; MET’in 3097 cm^{-1} ’deki piki CH bağına ve 3200 cm^{-1} ’deki piki ise OH bağına karşılık gelmektedir.

Şekil 4.9’da gösterildiği gibi MET yapısında bulunan –OH, C=N ve –NO₂ gruplarındaki oksijen ve azot atomlarının PCL’in yapısında bulunan –CH grubundaki hidrojen atomu ile hidrojen bağı yapabileceğini ayrıca MET yapısındaki –NO₂ ve –OH gruplarındaki hidrojen atomunun PCL’in ester gruplarıyla hidrojen bağı yapabileceğini belirtilmiştir [76].



Şekil 4.9 : PCL ve MET’in fiziksel etkileşimi ve aralarında oluşan bağ [13].

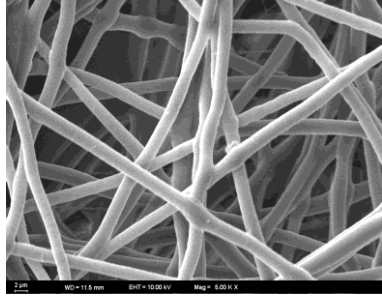
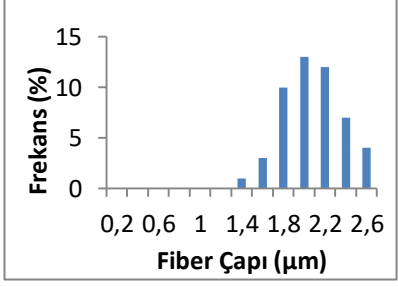
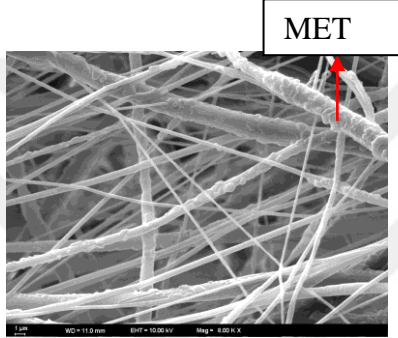
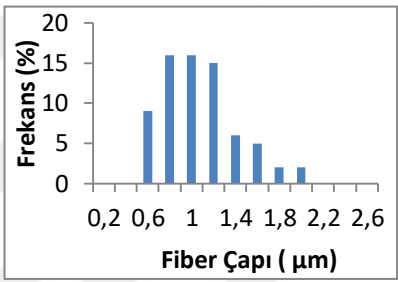
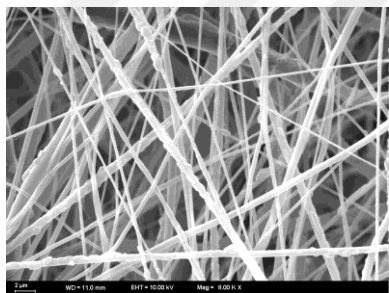
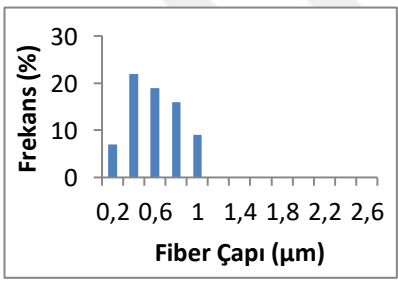
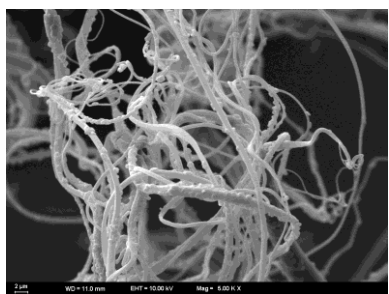
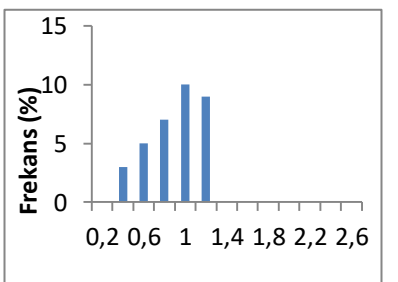
Şekil 4.10’da verildiği gibi 3450 cm^{-1} ’deki pik kitosanın OH bağına ve 1675 cm^{-1} ’deki pik ise yine kitosanın amid bağına, 3097 cm^{-1} ’deki pik MET’in C-H bağına, 3200 cm^{-1} ’deki pik O-H bağına karşılık gelmektedir. PCL’in karakteristik piklerine karşılık gelen bağlar ise 2865 cm^{-1} , 2950 cm^{-1} ’deki C-H ve 1720 cm^{-1} ’deki C=O bağıdır. FTIR analizi sonuçları; PCL’in içerisine MET’in yüklendiği (Şekil 4.8), PCL membranların kitosan ile başarılı bir şekilde kaplandığını göstermektedir (Şekil 4.7, Şekil 4.10).



Şekil 4.10 : MET ile yüklenmiş kitosan kaplı PCL membranının FTIR spektrumu.

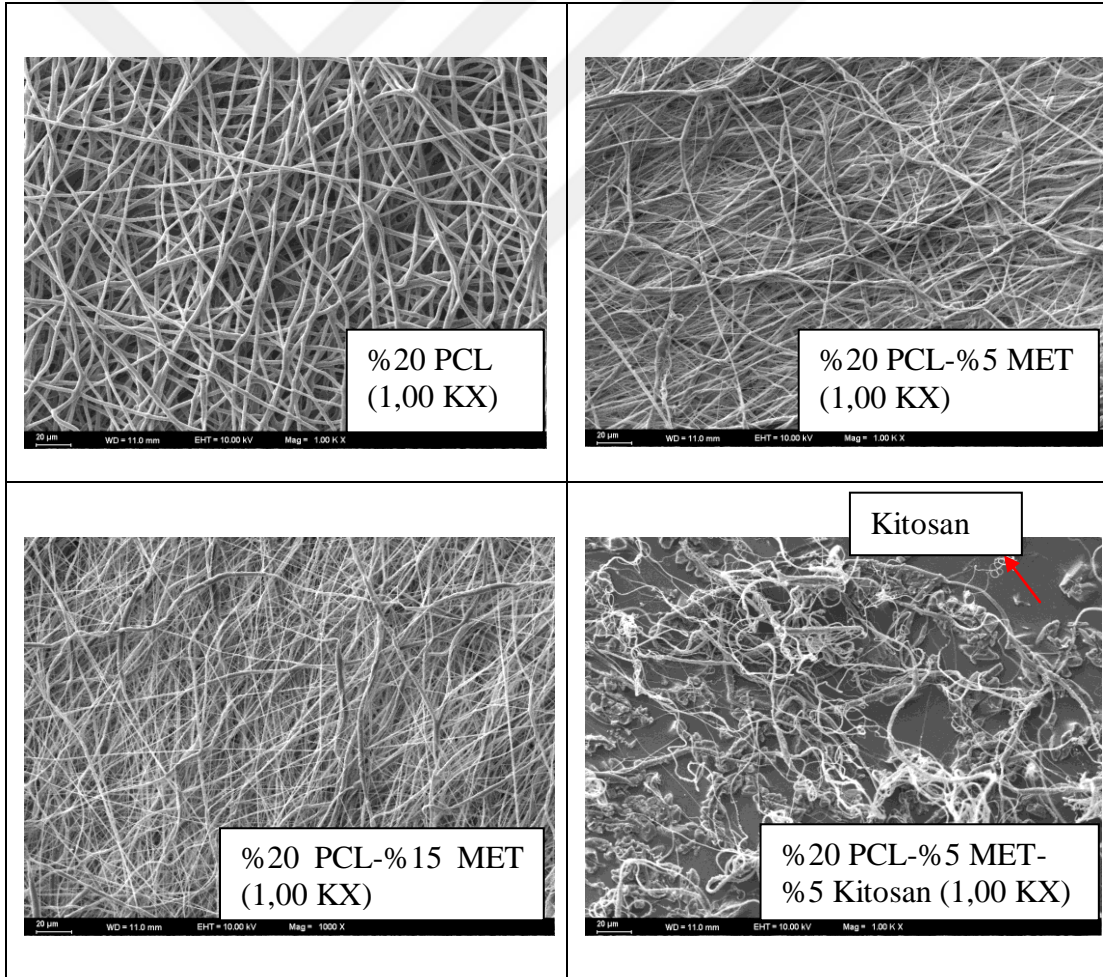
4.2.3 SEM analizi

Şekil 4.11’te 4 farklı grubun (%20 PCL, %20 PCL-%5 MET, %20 PCL-%15 MET, %20PCL-%5MET-%5Kitosan) SEM fotoğrafları ve fiber çap dağılımları verilmiştir. Grupların ortalama fiber çapı ve fiber çap dağılımları ImageJ programı ile hesaplanmıştır (Şekil 4.13). MET’in yüzdesinin %0’dan %15’e yükseltilmesi, ortalama çapı $2,0\pm 0,29 \mu\text{m}$ ’den $0,494\pm 0,22 \mu\text{m}$ ’e düşürmüştür. %20PCL-%5MET’in ortalama çapı $0,971\pm 0,34 \mu\text{m}$ iken, kitosan ile kaplanması sonucu $0,792\pm 0,26 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.11’de görüldüğü gibi PCL membranının MET ile yüklenmesi ve kitosan ile kaplanması, fiber ortalama çapını düşürerek daha ince fiberler elde edilmesi ile sonuçlanmıştır.

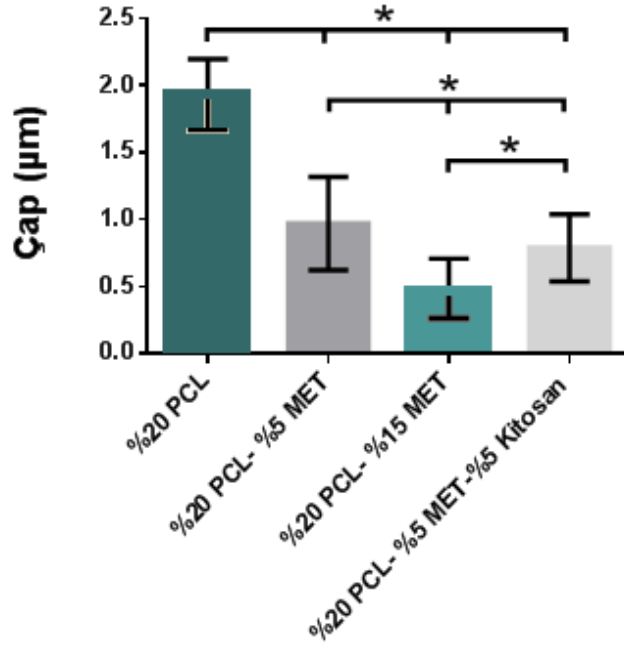
Gruplar	SEM Fotoğrafları	Fiber Çap Dağılımları																						
%20 PCL		 <table border="1"> <caption>Fiber Çap Dağılımları (%20 PCL)</caption> <thead> <tr> <th>Fiber Çapı (µm)</th> <th>Frekans (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0,2</td><td>0</td></tr> <tr><td>0,6</td><td>0</td></tr> <tr><td>1,0</td><td>0</td></tr> <tr><td>1,4</td><td>1</td></tr> <tr><td>1,8</td><td>3</td></tr> <tr><td>2,2</td><td>10</td></tr> <tr><td>2,4</td><td>13</td></tr> <tr><td>2,6</td><td>12</td></tr> <tr><td>2,8</td><td>7</td></tr> <tr><td>3,0</td><td>4</td></tr> </tbody> </table>	Fiber Çapı (µm)	Frekans (%)	0,2	0	0,6	0	1,0	0	1,4	1	1,8	3	2,2	10	2,4	13	2,6	12	2,8	7	3,0	4
Fiber Çapı (µm)	Frekans (%)																							
0,2	0																							
0,6	0																							
1,0	0																							
1,4	1																							
1,8	3																							
2,2	10																							
2,4	13																							
2,6	12																							
2,8	7																							
3,0	4																							
%20 PCL- %5 MET		 <table border="1"> <caption>Fiber Çap Dağılımları (%20 PCL-%5 MET)</caption> <thead> <tr> <th>Fiber Çapı (µm)</th> <th>Frekans (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0,2</td><td>0</td></tr> <tr><td>0,4</td><td>9</td></tr> <tr><td>0,6</td><td>16</td></tr> <tr><td>0,8</td><td>16</td></tr> <tr><td>1,0</td><td>15</td></tr> <tr><td>1,2</td><td>6</td></tr> <tr><td>1,4</td><td>5</td></tr> <tr><td>1,6</td><td>2</td></tr> <tr><td>1,8</td><td>2</td></tr> <tr><td>2,0</td><td>1</td></tr> </tbody> </table>	Fiber Çapı (µm)	Frekans (%)	0,2	0	0,4	9	0,6	16	0,8	16	1,0	15	1,2	6	1,4	5	1,6	2	1,8	2	2,0	1
Fiber Çapı (µm)	Frekans (%)																							
0,2	0																							
0,4	9																							
0,6	16																							
0,8	16																							
1,0	15																							
1,2	6																							
1,4	5																							
1,6	2																							
1,8	2																							
2,0	1																							
%20 PCL- %15 MET		 <table border="1"> <caption>Fiber Çap Dağılımları (%20 PCL-%15 MET)</caption> <thead> <tr> <th>Fiber Çapı (µm)</th> <th>Frekans (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0,2</td><td>7</td></tr> <tr><td>0,4</td><td>22</td></tr> <tr><td>0,6</td><td>19</td></tr> <tr><td>0,8</td><td>16</td></tr> <tr><td>1,0</td><td>10</td></tr> </tbody> </table>	Fiber Çapı (µm)	Frekans (%)	0,2	7	0,4	22	0,6	19	0,8	16	1,0	10										
Fiber Çapı (µm)	Frekans (%)																							
0,2	7																							
0,4	22																							
0,6	19																							
0,8	16																							
1,0	10																							
%20 PCL- %5MET-%5 Kitosan		 <table border="1"> <caption>Fiber Çap Dağılımları (%20 PCL-%5MET-%5 Kitosan)</caption> <thead> <tr> <th>Fiber Çapı (µm)</th> <th>Frekans (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0,2</td><td>3</td></tr> <tr><td>0,4</td><td>5</td></tr> <tr><td>0,6</td><td>7</td></tr> <tr><td>0,8</td><td>10</td></tr> <tr><td>1,0</td><td>9</td></tr> </tbody> </table>	Fiber Çapı (µm)	Frekans (%)	0,2	3	0,4	5	0,6	7	0,8	10	1,0	9										
Fiber Çapı (µm)	Frekans (%)																							
0,2	3																							
0,4	5																							
0,6	7																							
0,8	10																							
1,0	9																							

Şekil 4.11 : SEM fotoğrafları ve fiber çap dağılımları.

Şekil 4.12’de grupların (%20 PCL, %20 PCL-%5 MET, %20 PCL-%15 MET ve %20 PCL-%5 MET-%5 Kitosan) 1,00 KX’teki SEM fotoğrafları verilmiştir. Bu fotoğraflarda PCL fiberinin MET ile yülenmesi sonucu çapının azaldığı ve MET yüklü PCL’in kitosan ile başarılı bir şekilde kaplandığı görülmektedir. Şekil 4.13’de elde edilen verilere göre kitosan kaplı PCL ile MET yüklü kitosan kaplı PCL grupları arasında anlamlı fark bulunmuştur. Buna ek olarak MET miktarının değiştiği gruplar (%5 ve %15) arasında da anlamlı fark vardır ($p < 0.05$). Yapılan çalışmalar sonucunda MET miktarının artması sonucu fiber çapının azalması, viskozitenin azalması ile ilgili olduğu düşünülmektedir [44,76,77]. He ve arkadaşlarının ve Zamani ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MET’in yüzdesinin %0’dan %15’e artması ile fiberlerin ortalama çapı azalmıştır [44,77].



Şekil 4.12 : %20 PCL, %20 PCL - %5 MET, %20 PCL-%15 MET ve %20 PCL-%5 MET-%5 Kitosan’ın SEM fotoğrafları.



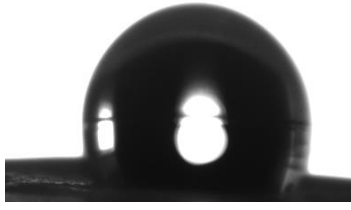





Şekil 4.13 : Ortalama çap değerlerinin istatistiksel analiz görüntüsü. * gruplar arasındaki anlamlı farklılığı belirtmektedir. ($p < 0.05$)

4.2.4. Temas açısı analizi

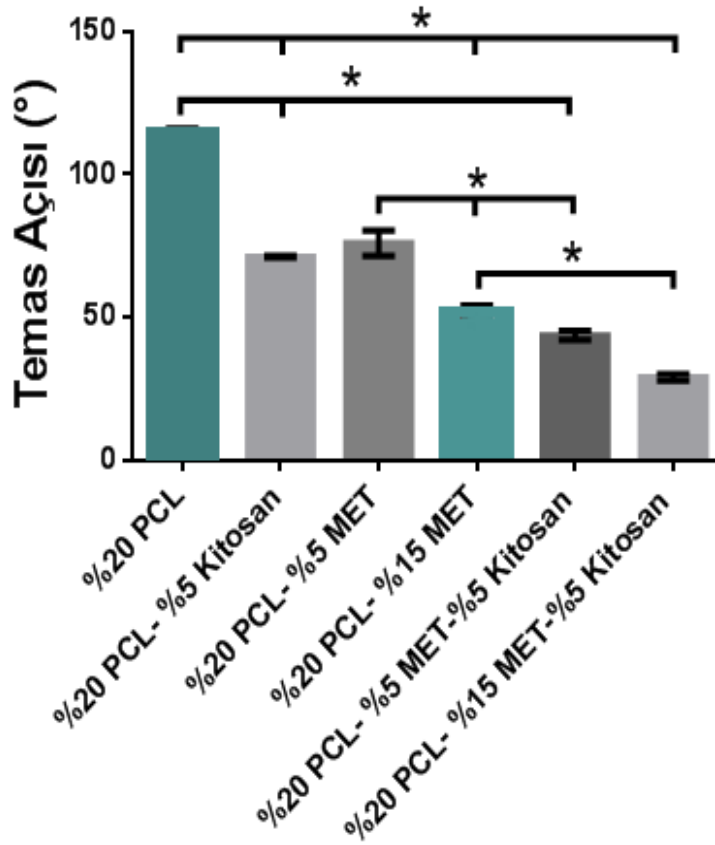
Çizelge 4.2’de fiberlerin (%20 PCL, %20 PCL-%5 Kitosan, %20 PCL-%5 MET, %20 PCL-%15 MET, %20PCL-%5 MET-%5 Kitosan, %20 PCL-%15 MET-%5 Kitosan temas açısı fotoğrafları ve temas açıları verilmiştir. PCL’in temas açısı $114,51 \pm 2,10^\circ$ iken, PCL-kitosan’ın temas açısı azalarak $71,29 \pm 0,29^\circ$ olarak ölçülmüştür. PCL’e %5 ve %15 MET hapsedildiğinde ise temas açısı $76,02 \pm 4,46^\circ$ ve $52,55 \pm 1,69^\circ$ olarak ölçülmüştür. MET yüklü fiberler (%5, %15 (a/h) kitosan ile kaplandığında ise temas açısı $43,79 \pm 1,62^\circ$ ve $29,02 \pm 1,24^\circ$ olarak ölçülmüştür.

Şekil 4.14’te elde edilen temas açısı verilerine göre PCL, kitosan kaplı olan PCL ve MET (%5) yüklü kitosan kaplı PCL arasında anlamlı fark vardır. Buna ek olarak MET miktarının değiştiği gruplar (%5 ve %15) arasında da anlamlı fark vardır ($p < 0.05$). Temas açısı sonuçları; PCL’in en büyük temas açısına sahip olduğunu göstermektedir. MET içeriği arttığında ve kitosan ile kaplandığında membranların su temas açısı azalmaktadır ve hidrofilik olduğu için fiber membranların hidrofilikliğini de arttırmaktadır.

Çizelge 4.2: Gruplar ve temas açıları (°).

<u>Gruplar</u>	<u>Temas Açısı Fotoğrafı</u>	<u>Temas Açısı (°)</u>
%20 PCL		114,51±2,10°
%20 PCL- %5 Kitosan		71,29±0,29°
%20 PCL- %5 MET		76,02±4,46°
%20 PCL- %5 MET- %5 Kitosan		43,79±1,62°
%20 PCL- %15 MET		52,55±1,69°
%20 PCL- %15 MET- %5 Kitosan		29,02±1,24°

Xue ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda MET'in PCL'in hidrofikliğini iyileştirmesinin sebebi, MET molekülü üzerindeki hidroksil ve polar imidazol halkası fonksiyonel grupları sayesinde olduğu düşünülmektedir [35,36]. Surucu ve arkadaşları ise kitosanın PCL'in temas açısını azaltmasının sebebinin; kitosan OH grubundaki bağından dolayı yüksek hidrofilik özellik göstermesi ve bunun sonucunda PCL ve kitosan, hidrojen bağlarıyla bağlandığından dolayı temas açısının azalması olduğu düşünmektedirler [105]. Yapılan çalışmalar sonucunda, membranların hidrofilik özelliğindeki gelişme doku yenilenmesini ve biyolojik olarak bozunma oranını arttıracığı düşünülmüştür [36,74].



Şekil 4.14: Temas açısı değerlerinin istatistiksel analiz görüntüsü. * gruplar arasındaki anlamlı farklılığı belirtmektedir. (p<0.05)

4.2.5 Mekanik test analizi

YDR/YKR membran uygulamaları için yüzey hidrofiliği, mekanik test ve degradasyon testi fiziksel özellikleri gösteren en önemli 3 testi oluşturur [76]. Membranların mekanik dayanımlarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çekme testi sonucunda elde edilen young modülü değerleri ve çekme gerilimi dayanımı değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çekme gerilimi dayanımı ve young modülü değerleri sırasıyla %20 PCL'in $3,64 \pm 0,53$ ve $25,56 \pm 3,99$ iken, PCL-%5Kitosan'ın $1,67 \pm 0,37$ ve $5,04 \pm 1,16$, %20PCL-%5MET'in $3,34 \pm 0,04$ ve $9,57 \pm 0,76$, %20PCL-%15MET'in $2,34 \pm 0,15$ ve $6,31 \pm 1,22$, %20PCL-%5MET-%5Kitosan'ın $1,09 \pm 0,27$ ve $1,57 \pm 0,21$, %20PCL-%15MET-%5Kitosan'ın ise $0,98 \pm 0,08$ ve $0,80 \pm 0,03$ olarak bulunmuştur. MET miktarının %0'dan %15'e yükseltilmesi sonucu hem young modülü hem de çekme gerilim direnci azalmıştır. Aynı şekilde PCL fiberlerin kitosanla kaplanması sonucunda fiber çapı azalmış ve bunun sonucunda young modülü ve çekme gerilimi direnci azalmıştır.

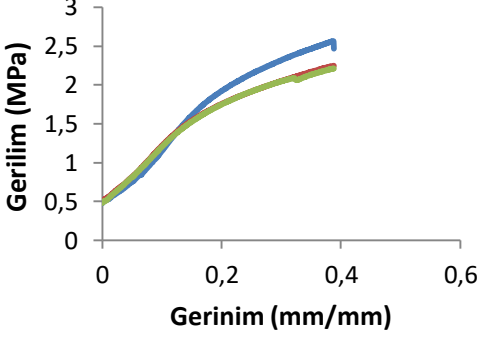
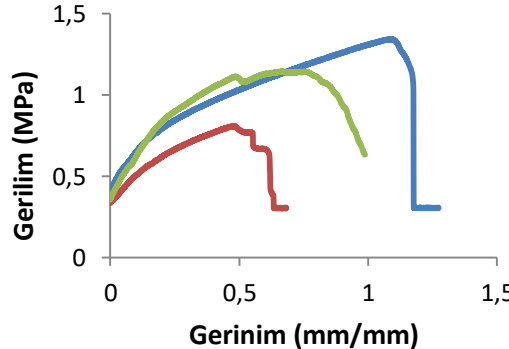
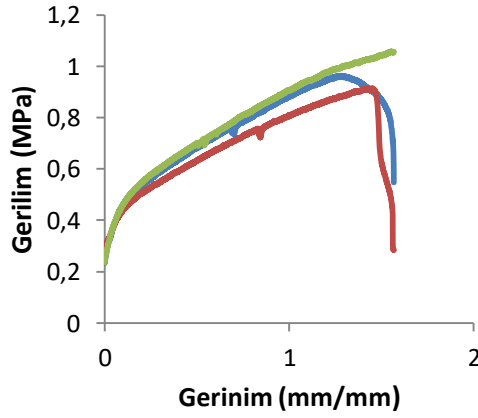
Şekil 4.15'te elden edilen young modülü verilerine göre kitosan kaplı ve kitosan kaplı olmayan gruplar arasında ve PCL ve MET yüklü PCL arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Şekil 4.16'da elden edilen çekme gerilim dayanımı verilerine göre PCL ve MET (%5 ve %15) yüklü PCL arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p < 0.05$). %20 PCL, %5 MET ve %15 MET, kitosan ile kaplandığında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$).

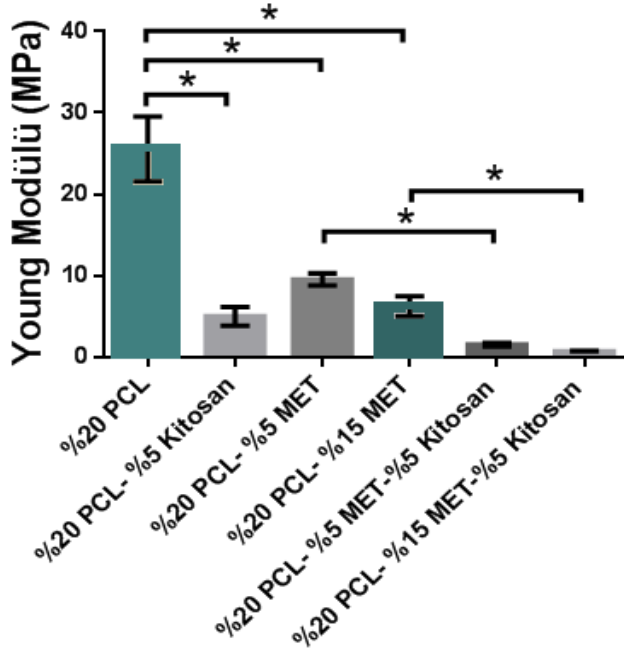
Rui ve arkadaşları ve Xue ve arkadaşları mekanik test analizi sonuçlarını değerlendirirken hem young modülü hem de çekme gerilimi dayanım sonuçlarına göre değerlendirmiştir [36, 76]. Xue ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, PCL'e MET'in yüklenmesi sonucu saf PCL'e göre çekme gerilim dayanımı ve young modülü azalmıştır [36]. Yine Xue ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında MET içeriğinin artması ile birlikte, daha ince fiberler elde edildiği için young modülü ve çekme gerilimi dayanımı azalmıştır [35].

Çizelge 4.3 : Grupların Çekme Gerilimi Dayanımı, Young Modülü değerleri ve Gerilim (MPa)/Gerinim (mm/mm) grafikleri.

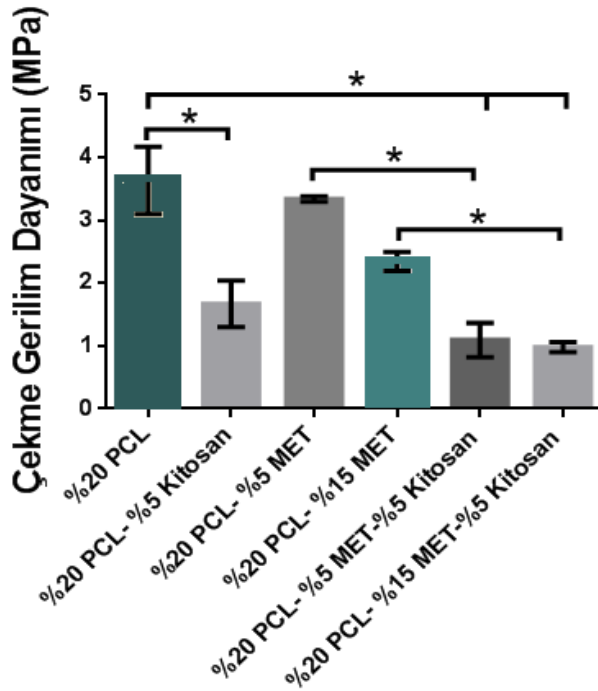
GRUPLAR	Gerilim (MPa)-Gerinim (mm/mm) Grafiği
Grup 1: %20 PCL	
Çekme Gerilimi Dayanımı: 3,64±0,53	
Young Modülü: 25,56±3,99	
Grup 2: %20 PCL-%5 Kitosan	
Çekme Gerilimi Dayanımı: 1,67±0,37	
Young Modülü: 5,04±1,16	
Grup 3: %20 PCL-%5 MET	
Çekme Gerilimi Dayanımı: 3,34±0,04	
Young Modülü: 9,57±0,76	

Çizelge 4.3 (devam): Grupların Çekme Gerilimi Dayanımı, Young Modülü değerleri ve Gerilim (MPa)/Gerinim (mm/mm) grafikleri.

GRUPLAR	Gerilim (MPa)-Gerinim (mm/mm) Grafiği
Grup 4: %20 PCL- %15 MET	
Çekme Gerilimi Dayanımı: $2,34 \pm 0,15$	
Young Modülü: $6,31 \pm 1,22$	
Grup 5: %20 PCL-%5 Kitosan-%5 MET	
Çekme Gerilimi Dayanımı: $1,09 \pm 0,27$	
Young Modülü: $1,57 \pm 0,21$	
Grup 6: %20 PCL-%5 Kitosan-%15 MET	
Çekme Gerilimi Dayanımı: $0,98 \pm 0,08$	
Young Modülü: $0,80 \pm 0,03$	



Şekil 4.15: Young Modülü (MPa) değerlerinin istatikselsel analiz görüntüsü. * gruplar arasındaki anlamlı farklılığı belirtmektedir. ($p < 0.05$)



Şekil 4.16 : Çekme Gerilimi Dayanımı değerlerinin istatikselsel analiz görüntüsü. * gruplar arasındaki anlamlı farklılığı belirtmektedir. ($p < 0.05$)

4.2.6 Degredasyon testi

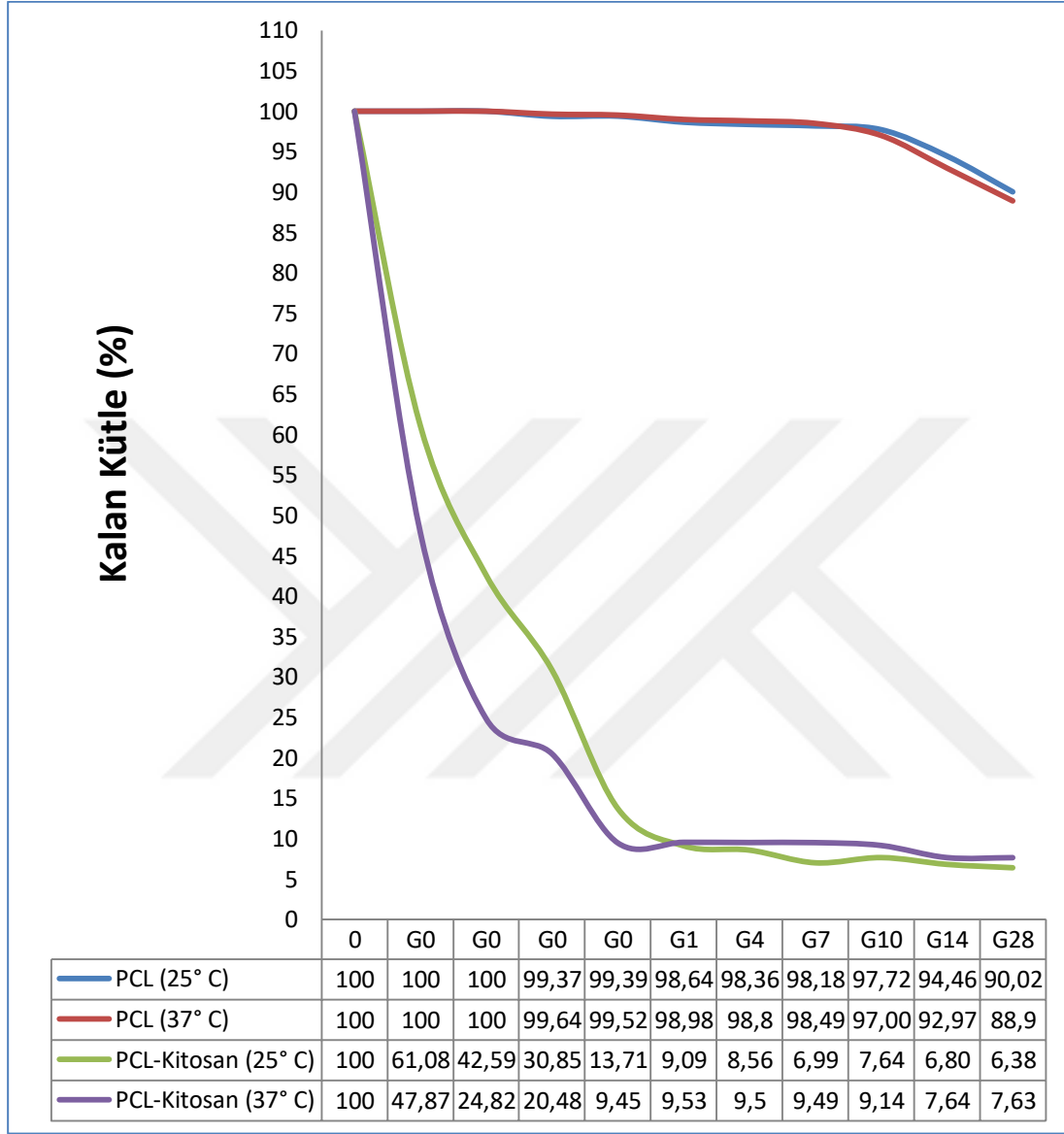
Kitosan ile kaplı olmayan PCL ve **kitosan ile kaplı PCL**'in pH:7.4'te, hem oda sıcaklığı (25° C) hem de vücut sıcaklığı (37° C) olmak üzere iki farklı sıcaklıkta yirmi sekiz gün boyunca kütesinin ne kadar bozunduğu incelenmiştir ve kütle kaybı (%) hesaplanmıştır. Kütle kaybı (%) hesaplanırken, n=3 olacak şekilde örneklerin başlangıçtaki (degredasyon öncesi) ortalama ağırlığı ve sonraki (degredasyon sonrası) ortalama ağırlığı hesaplanarak kaybolan kütle (bozunan kütle) bulunup, yüzdesi alınmıştır.

25°C'de PCL fiberlerin 1 günde toplam kütesinin %1'i, 7. günde %1,81'i, 28.günde ise %9,98'i degredasyona uğramıştır (Çizelge 4.4). 25° C'de kitosan kaplı PCL fiberlerin 1 günde toplam kütesinin %90,9'u, 7. günde %93,01'i, 28. günde %93,62'si degredasyona uğramıştır (Çizelge 4.5). 37° C'de PCL fiberlerin 1 günde toplam kütesinin %1,02'si, 7. günde %2'si, 28. günde %11,1'i degredasyona uğramıştır (Çizelge 4.6). 37° C'de kitosan kaplı PCL fiberlerin 1. gün toplam kütesinin %90,47'si, 7. günde %90,51'i, 28. günde %92.37'si degredasyona uğramıştır (Çizelge 4.7).

Degredasyon çalışması, ortalama çap ile mekanik özellikler arasında ilişki kurulacak olursa, fiberler ne kadar ince ve mekanik olarak ne kadar zayıf olursa degredasyon o kadar hızlı olduğu görülmüştür. Bu çalışmada PCL'in degredasyonunu ve ilaç salım hızını arttırmak için önce MET miktarı artırılıp daha sonra kitosan ile kaplanıp daha ince ve mekanik olarak daha zayıf membranlar oluşturulmuştur.

Ozkan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kitosan iskelesinin degredasyonu çok hızlı gerçekleşmiştir ve 7 günden sonra tamamı degredasyona uğramıştır. PCL'in 30.gün sonunda %7,3'ü degredasyona uğrarken, PCL-kitosan iskelelerin ise %27,5'i degredasyona uğramıştır. Kitosanın PCL ile kompozit yapılması, kitosanın PCL'in degredasyonunu hızlandırdığını göstermiştir [106].

Kitosan kaplı PCL'in degradasyona uğraması, yani 'emilebilir membran' özelliğine sahip olması ikinci bir cerrahi operasyona gerek kalmadan kullanabilmesini sağlamıştır.



Şekil 4.17 : PCL (25° C), PCL (37° C), PCL-Kitosan (25° C) ve PCL-Kitosan (37° C)'ın gün/kalan kütle (%) grafiği.

Çizelge 4.4 : 25° C’de %20 PCL fiberlerin ortalama ağırlığı ve kalan kütle (%).

Günler (Gi)	Degradasyon Öncesi Ortalama Ağırlık (mg)	Degradasyon Sonrası Ortalama Ağırlık (mg)	Kalan Kütle (%)
G0 (1. Saat)	53,77±3,76	53,77±3,76	100,00
G0 (3. Saat)	49,20±5,09	49,2±5,09	100,00
G0 (6. Saat)	48,37±2,18	48,07±2,27	99,37
G0 (12. Saat)	54,13±4,18	53,80±4,21	99,39
G1	43,27±1,95	42,83±1,89	98,98
G4	42,90±0,85	42,20±0,91	98,36
G7	55,03±5,98	54,03±6,16	98,18
G10	54,03±4,83	52,80±4,91	97,72
G14	52,43±5,70	49,43±5,16	94,46
G28	53,22±4,20	47,91±3,46	90,02

Çizelge 4.5 : 25° C’de kitosan kaplı PCL fiberlerin ortalama ağırlığı ve kalan kütle (%).

Günler (Gi)	Degradasyon Öncesi Ortalama Ağırlık (mg)	Degradasyon Sonrası Ortalama Ağırlık (mg)	Kalan Kütle (%)
G0 (1. Saat)	81,33±27,39	49,67±5,03	61,08
G0 (3. Saat)	69,67±2,31	29,67±14,57	42,59
G0 (6. Saat)	63,33±22,90	25,67±11,68	30,85
G0 (12. Saat)	82,67±18,61	11,33±3,51	13,71
G1	88,00±12,53	8,00±1,00	9,09
G3	89,67±14,57	7,67±2,52	8,56
G7	90,67±4,73	6,33±1,15	6,99
G10	105,00 ±19,16	8,00±2,00	7,64
G14	103,00±10,54	7,00±1,73	6,80
G28	104,67±5,77	6,67±2,08	6,38

Çizelge 4.6 : 37° C’de PCL fiberlerin ortalama ağırlığı ve kütle kütle (%).

Günler (Di)	Degradasyon Öncesi Ortalama Ağırlık (mg)	Degradasyon Sonrası Ortalama Ağırlık (mg)	Kalan Kütle (%)
G0 (1. Saat)	49,27±1,33	49,27±1,33	100,00
G0 (3. Saat)	43,87±2,84	43,87±2,84	100,00
G0 (6. Saat)	47,57±7,49	47,40±7,49	99,64
G0 (12. Saat)	42,00±3,05	41,80±2,95	99,52
G1	52,20±5,86	51,67±6,13	98,98
G3	44,33±3,15	43,77±3,09	98,80
G7	48,43±6,85	47,47±6,22	98,49
G10	44,03±1,81	42,73±1,26	97,00
G14	45,10±6,33	41,93±6,39	92,97
G28	43,20±5,37	38,40±5,12	88,90

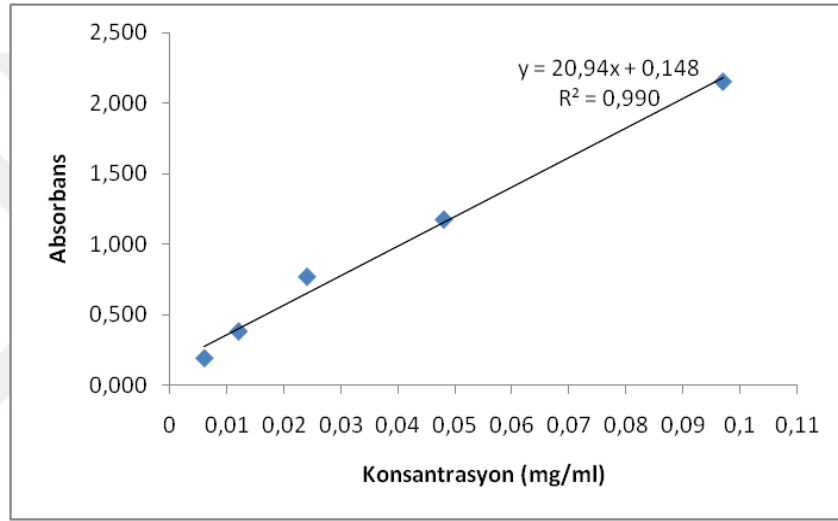
Çizelge 4.7 : 37° C’de kitosan kaplı PCL fiberlerin ortalama ağırlığı ve kütle kütle (%).

Günler (Gi)	Degradasyon Öncesi Ortalama Ağırlık (mg)	Degradasyon Sonrası Ortalama Ağırlık (mg)	Kalan Kütle (%)
G0 (1. Saat)	55±7,00	26,33±6,50	47,87
G0 (3. Saat)	94±13,89	23,33±8,50	24,82
G0 (6. Saat)	92±22,61	24,67±4,72	20,48
G0 (12. Saat)	84,67±13,32	8,00±1,00	9,45
G1	84±9,17	8,00±1,00	9,53
G3	85±7,00	9,00±1,00	9,50
G7	70,33±7,64	6,67±2,08	9,49
G10	69,33±6,03	6,33±1,52	9,14
G14	87,33±12,22	6,67±2,08	7,64
G28	74,33±18,01	5,67±0,57	7,63

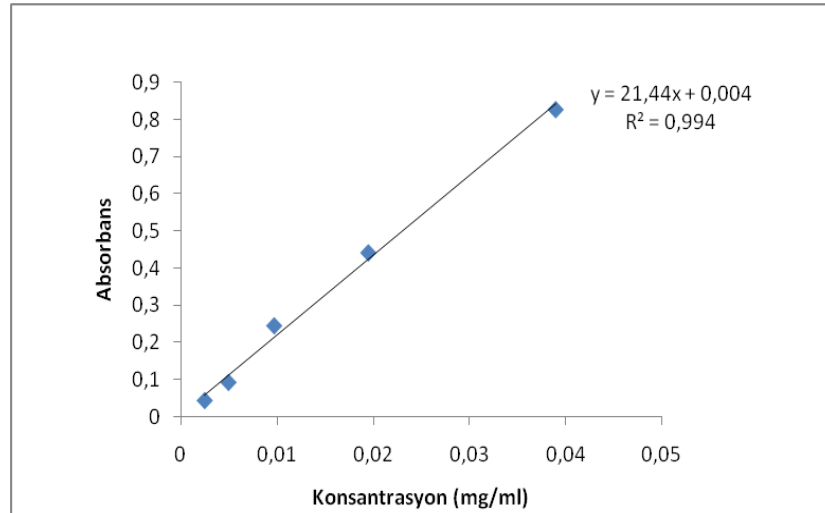
4.2.7 İki farklı sıcaklık (25° ve 37° C) ve pH (7,4)'de in vitro salım testleri

Şekil 4.18'de ve Şekil 4.19'de, 25° C'deki MET'in kalibrasyon eğrisi ve 37° C'deki MET'in kalibrasyon eğrisi verilmektedir. 25° C'deki ve 37° C'deki R² değerleri sırasıyla 0,990 ve 0,994 olarak bulunmuştur.

UV Görünür Spektrofotometrede görülen her bir gün için absorbans değeri (y), Şekil 4.18 ve Şekil 4.19'deki kalibrasyon eğrisi aracılığıyla MET'in absorpsiyon piki (340 nm) ile, MET'in ilaç konsantrasyon değeri (x) bulunmuştur ve üçlü numunelerdeki yüklenen ilacın yüzdesi, fiber membranlarda bulunan ilacın başlangıç ağırlığına göre hesaplanmıştır [44].



Şekil 4.18 : 25° C'deki Metronidazol'un kalibrasyon eğrisi.



Şekil 4.19 : 37° C'deki Metronidazol'un kalibrasyon eğrisi.

%5 ve %15 (a/h) MET fiberlere yüklenmiştir ve bu fiberler daha sonra kitosan ile kaplanmıştır. Yirmizsekiz gün boyunca in vitro ortamda, %5 ve %15 (a/h) membranların ilaç salım çalışmaları yapılmıştır. 25° C'de 28.günün sonunda %5 MET, %15MET, %5MET-%5Kitosan ve %15MET-%5Kitosan sırasıyla %39,44±0,12, %47,89±0,04, %43,18±0,01 ve %72,04±0,09 olarak bulunmuştur. 37° C'de 28.günün sonunda ise %41,89±0,13, %75,21±0,59, %57,08±0,18 ve %91,44±0,37 olarak bulunmuştur.

% 5 ve 15 (a/h) MET içeren PCL fiberler ile kaplı kitosan membranların 25° C ve 37° C'de yapılan Şekil 4.20 ve Şekil 4.21'deki in vitro ilaç salım grafikleri sonuçlarına göre;

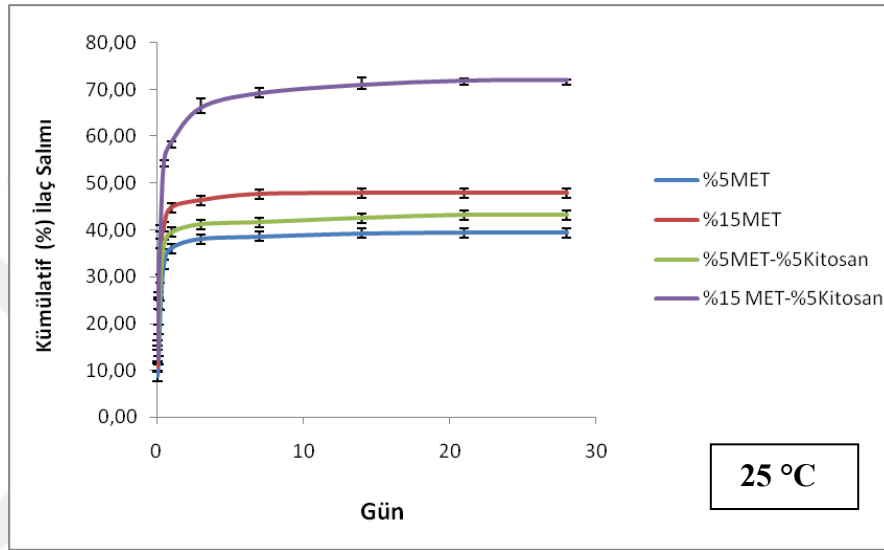
1. PCL fiberlerinden MET'in in vitro salımı başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.
2. MET'in salımı yirmi sekiz gün boyunca devam etmiştir.
3. İlk başta MET'in salımı burst şeklinde gerçekleşirken, daha sonra salım lineer bir şekilde devam etmiştir.
4. MET miktarı arttıkça MET hapsedilen fiberlerde ilaç salım hızı artmıştır.
5. MET hapsedilmiş fiberlerin kitosan ile kaplanması fiber çapını azalmasına ve ilaç salım hızının artmasına sebep olmuştur.

Reise ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, %1, 5, 10, 20, 30 ve 40 (a/h) MET içeren poli(l-laktid-ko-d/l-laktid) fiberler üretilmiştir. Küçük çapa sahip fiberler ilacın yüksek miktarını salarken, büyük çapa sahip fiberler ilacın az miktarını salmıştır. İlk iki gün hızlı bir salım profili sergileyen fiberler sonraki günler salım grafiği lineer bir şekilde devam etmiştir [107].

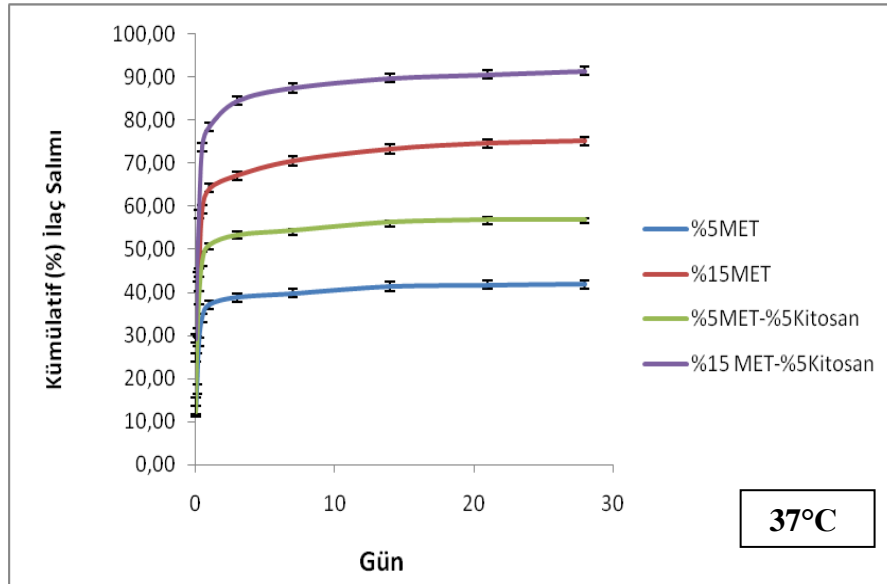
Zamani ve arkadaşları ise antibiyotik ilaç olan MET-benzoat'ı elektroçirme yöntemiyle PCL fiberlerinin içine hapsetmişlerdir ve antibiyotiğin PCL fiberlerden difüzyon yoluyla serbest bırakıldığını gözlemlemişlerdir [77]. Bu çalışmalar PCL'in ilaç salım mekanizması için kullanılabilir uygun bir malzeme olduğunu göstermektedir. Xue ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, MET ve polimer matrisi arasındaki etkileşim, ilk 7 gün hızlı (patlama) bir salımla ilacın serbest bırakılmasına

sebepler olmuştur; 7. günden sonra MET salımı fiberlerden sürekli bir şekilde devam etmiştir [35,76].

Xue ve arkadaşları, fiberlerin çapı ne kadar küçük olursa, ilaç difüzyon yolu o kadar kısa ve ilaç salımı da o kadar hızlı olduğunu ifade etmişlerdir [35,36]. Xue ve arkadaşları, He ve arkadaşları, Zamani ve arkadaşları ilaç yükleme miktarı ne kadar yüksek olursa, Fick difüzyon yasasına göre difüzyon da o kadar güçlü olduğunu ve bu da daha hızlı salıma yol açtığını söylemişlerdir [36,44,77].



Şekil 4.20: 25 °C' deki kümülatif % ilaç salım grafikleri.



Şekil 4.21 : 37 °C' deki kümülatif % ilaç salım grafikleri.

Çizelge 4.8 : 25° C'deki kümülatif (%) ilaç salımı miktarı.

Gün	%5MET	%15MET	%5MET- %5Kitosan	%15MET- %5Kitosan
G0 (1.saat)	8,75±4,12	10,84±2,62	15,39±0,09	12,40±2,85
G0 (3.saat)	12,12±1,37	24,13±0,92	18,76±0,36	26,54±0,17
G0 (6.saat)	23,80±2,57	37,01±1,17	29,60±2,77	40,72±0,22
G0 (12.saat)	32,70±2,89	40,78±1,49	36,83±0,95	54,45±0,49
G1	36,01±0,48	44,74±0,10	39,46±0,82	58,66±0,32
G3	38,01±0,66	46,33±0,89	41,18±1,20	66,07±2,13
G7	38,62±0,55	47,64±0,40	41,65±0,43	69,30±1,13
G14	39,26±0,42	47,88±0,45	42,55±0,32	71,12±1,38
G21	39,44±0,12	47,89±0,11	43,16±0,53	71,95±0,41
G28	39,44±0,12	47,89±0,04	43,18±0,01	72,04±0,09

Çizelge 4.9 : 37° C'deki kümülatif (%) ilaç salımı miktarı.

Gün	%5MET	%15MET	%5MET- %5Kitosan	%15MET- %5Kitosan
G0 (1.saat)	12,62±2,73	24,84±3,36	12,20±3,34	29,31±0,58
G0 (3.saat)	17,50±0,48	30,59±0,90	26,73±0,74	43,59±0,54
G0 (6.saat)	28,41±2,25	44,53±1,46	38,28±1,96	58,22±0,18
G0 (12.saat)	34,09±1,15	59,30±2,07	47,09±2,34	73,83±1,62
G1	37,16±0,31	64,24±0,34	50,98±0,28	78,49±0,77
G3	38,84±0,30	67,10±0,20	53,45±0,69	84,48±1,43
G7	39,80±0,17	70,57±2,66	54,46±2,38	87,48±0,87
G14	41,40±0,16	73,35±1,16	56,28±0,33	89,75±0,09
G21	41,73±0,12	74,58±1,08	56,85±0,57	90,68±0,36
G28	41,89±0,13	75,21±0,59	57,08±0,18	91,44±0,37



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada %15, %20 ve %25 PCL (a/h) konsantrasyonlarında polimer kullanılarak elektroğirme yöntemiyle fiber üretilmiştir ve en iyi düz iplikli fiber oluşumu %20 PCL (a/h)'den elde edilmiştir. Optimum polimer konsantrasyonu %20 PCL (a/h) seçildikten sonra, %20 PCL fiberlere %5 ve %15 (a/h) MET hapsedilmiştir. MET ile yüklenen bu fiberlerin özelliklerini iyileştirmek için kitosan ile kaplanmıştır. Üretilmiş olan membranların karakterizasyonu için viskozite analizi, optik mikroskop analizi, FTIR analizi, SEM analizi, temas açısı analizi, mekanik test, degradasyon testi ve in vitro salım testi yapılmıştır. Optik mikroskop, FTIR ve SEM analizi sonuçları PCL fiberlerin başarılı bir şekilde oluşturulduğunu ve Metronidazolün PCL fiberlere başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermiştir. FTIR analizi sonuçları MET'in PCL'in içerisine yüklendiği ve PCL membranların kitosan ile başarılı bir şekilde kaplandığını göstermiştir. SEM analizi sonuçlarına göre, MET miktarının %0'dan %15'e yükseltilmesi ortalama çapı, $2,0\pm 0,29 \mu\text{m}$ 'den $0,494\pm 0,22 \mu\text{m}$ 'e düşürmüştür. %20PCL-%5MET'in ortalama çapı $0,971\pm 0,34 \mu\text{m}$ iken, kitosan ile kaplanması sonucu $0,792\pm 0,26 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır. Temas açısı ölçüm sonuçları; PCL'in temas açısının en büyük olduğunu göstermiştir. MET oranı arttıkça, membranların su temas açısı azalır ve hidrofilik olduğu için fiber membranların hidrofilikliğini de arttırmıştır. PCL'in kitosan ile kaplanması PCL'in hidrofilik özelliğini iyileştirmiştir. Yapılan çalışma sonucunda temas açısı $114,51\pm 2,10^\circ$ iken, PCL-kitosan'ın temas açısı azalarak $71,29\pm 0,29^\circ$ olarak ölçülmüştür. Mekanik test analizi sonuçlarına göre, PCL'in young modülü $25,56\pm 3,99 \text{ MPa}$ ve çekme gerilim direnci $3,64\pm 0,53 \text{ mm/mm}$ iken, kitosan eklenmesiyle mekanik direnci zayıflamış ve young modülü, $5,04\pm 1,16 \text{ MPa}$ ve çekme gerilim direnci $1,67\pm 0,37 \text{ mm/mm}$ olarak hesaplanmıştır. Yirmi sekiz gün boyunca yapılan degradasyon çalışması sonuçları, kitosan kaplı PCL'in 28. günün sonunda %93'ünün bozunduğunu ve bu süreç sonunda fiber yapısını hala

koruyabildiğini göstermiştir. PCL'e %5 ve %15 MET hapsedildiğinde ise temas açısı $76.02 \pm 4.46^\circ$ ve $52.55 \pm 1.69^\circ$ olarak ölçülmüştür. Membranlardan %5 ve %15 (a/h) Metronidazolün in vitro salım çalışmaları yirmisekiz gün boyunca 25°C ve 37°C 'de yapılmıştır. 28. günün sonunda Metronidazolün 25°C 'deki ilaç salımı $\%72.04 \pm 0.09$ iken, 37°C 'deki ilaç salımı $\%91.44 \pm 0.37$ bulunmuştur.

Karakterizasyon sonuçları toparlanacak olursa, PCL'in kitosan ile kaplanması sonucu fiber çapı azalmış ve MET salımının daha da hızlandırmıştır. Kitosan PCL'in young modülü ve çekme gerilim direncini azaltmış, degradasyonunu ve ilaç salımını hızlandırmıştır. Yapılan analizler sonrasında, hazırlanan MET yüklü membranların biyomedikal ve doku mühendisliği uygulamalarında YDR amacıyla kullanılabilme potansiyeli başarılı bir şekilde gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasını geliştirmek için öneriler şu şekilde sıralanabilir:

- 1) Üretilen fiberlerin çaplarının amaca uygun optimize edilmesi için PCL'in çözücüsü ve elektroegirme parametreleri değiştirilebilir.
- 2) Dip-coating optimizasyonunun amaca uygun optimize edilmesi için,
 - Kaplama işlemini gerçekleştirilirken, elektroegirme yöntemi ile oluşturulan fiberlerin kitosanın çözücüsü olarak kullanılan asetik asitten zarar görmemesi için, kitosanın çözücüsü olarak asetik asit yerine dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılabilir.
 - -85°C 'de gerçekleştirilen kitosanın kaplama işlemi, membranların zarar görmemesi için daha uygun ortam şartlarında (-4°C gibi daha düşük sıcaklıklarda) gerçekleştirilebilir.
 - Dip-coating işlemi yapılırken, kitosanın fiberler üzerine aynı oranlarda dağılacak şekilde gerçekleştirilmesi için spin-coating yöntemi kullanılabilir.
 - Kaplama yapılırken daha düşük kitosan konsantrasyonları (%1, %2,5) denenebilir.

- Liyofilizatör kullanılarak kaplama işlemini düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilerek membranın moleküler ve fiziksel yapısına zarar vermeden kurutulabilir.

3) Degredasyon çalışmasında Metronidazol yüklü olan fiberler ile olmayan fiberlerin bozunma miktarı arasında karşılaştırma yapabilmek için, Metronidazol yüklü PCL'in degredasyon çalışması yapılabilir.

4) Periodontitis rahatsızlığının pH (6.2-7.6)' ı baz alınarak ilaç salım çalışmaları yapılabilir.

5) Hazırlanmış ve karakterizasyonu yapılmış Metronidazol yüklü membranlar; anti-mikrobiyal testler, hücre kültürü ve in vivo çalışmalar yapılarak geliştirilerek rejeneratif tıpa katkı sağlayabilir.



KAYNAKLAR

- [1] **Kuo, S. M., Chang, S. J., Chen, T. W., & Kuan, T. C.** (2006). Guided tissue regeneration for using a chitosan membrane: an experimental study in rats. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 76(2), 408-415.
- [2] **Türker, N. S., Özer, A. Y., Kutlu, B., Nohutcu, R., Sungur, A., Bilgili, H., ... & Özalp, M.** (2014). The effect of gamma radiation sterilization on dental biomaterials. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 11(5), 341-349.
- [3] **Batool, F., Morand, D. N., Thomas, L., Bugueno, I, Aragon, J., Irusta, S., ... & Huck, O.** (2018). Synthesis of a Novel Electrospun Polycaprolactone Scaffold Functionalized with Ibuprofen for Periodontal Regeneration: An In Vitro and In Vivo Study. *Materials*, 11(4), 580.
- [4] **Da Silva, G. R., Lima, T. H., Oréface, R. L., Fernandes-Cunha, G. M., Silva-Cunha, A., Zhao, M., & Behar-Cohen, F.** (2015). In vitro and in vivo ocular biocompatibility of electrospun poly (ϵ -caprolactone) nanofibers. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73, 9-19.
- [5] **Lee, K. H., Kim, H. Y., Khil, M. S., Ra, Y. M., & Lee, D. R.** (2003). Characterization of nano-structured poly (ϵ -caprolactone) nonwoven mats via electrospinning. *Polymer*, 44(4), 1287-1294.
- [6] **Xu, C., Lei, C., Meng, L., Wang, C., & Song, Y.** (2012). Chitosan as a barrier membrane material in periodontal tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100(5), 1435-1443.
- [7] **Neves, S. C., Teixeira, L. S. M., Moroni, L., Reis, R. L., Van Blitterswijk, C. A., Alves, N. M., et al.** (2011). Chitosan/Poly (ϵ -caprolactone) blend scaffolds for cartilage repair. *Biomaterials*, 32(4), 1068–1079.
- [8] **Yang, W., Fu, J., Wang, D., Wang, T., Wang, H., Jin, S., et al.** (2010). Study on chitosan/polycaprolactone blending vascular scaffolds by electrospinning. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 6(3), 254–259.
- [9] **Bottino, M. C., & Thomas, V.** (2015). Membranes for periodontal regeneration- a materials perspective. In *Biomaterials for Oral and Craniomaxillofacial Applications* (Vol. 17, pp. 90-100). Karger Publishers.

- [10] **Shimauchi, H., Nemoto, E., Ishihata, H., & Shimomura, M.** (2013). Possible functional scaffolds for periodontal regeneration. *Japanese Dental Science Review*, 49(4), 118-130.
- [11] **Bottino, M. C., Thomas, V., Schmidt, G., Vohra, Y. K., Chu, T. M. G., Kowolik, M. J., & Janowski, G. M.** (2012). Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration—a materials perspective. *Dental materials*, 28(7), 703-721.
- [12] **Nanci, A., & Bosshardt, D. D.** (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontology 2000*, 40(1), 11-28.
- [13] **Sunal, E.** Periodontal Rejenerasyon İçin Kitosan/Nano-Hidroksiapatit/PCL Bariyer Membranların Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı.
- [14] **Sowmya, S., Bumgardener, J. D., Chennazhi, K. P., Nair, S. V., & Jayakumar, R.** (2013). Role of nanostructured biopolymers and bioceramics in enamel, dentin and periodontal tissue regeneration. *Progress in Polymer Science*, 38(10-11), 1748-1772.
- [15] **Listgarten, M. A.** (1986). Pathogenesis of periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 13(5), 418-425.
- [16] **Greenstein, G., & Polson, A.** (1998). The role of local drug delivery in the management of periodontal diseases: a comprehensive review. *Journal of periodontology*, 69(5), 507-520.
- [17] **Neel, E. A. A., Chrzanowski, W., Salih, V. M., Kim, H. W., & Knowles, J. C.** (2014). Tissue engineering in dentistry. *Journal of dentistry*, 42(8), 915-928.
- [18] **Özdemir, H., Marakoğlu, İ.** (2004). Periodontopatojenler. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi.
- [19] **Shue, L., Yufeng, Z., & Mony, U.** (2012). Biomaterials for periodontal regeneration: a review of ceramics and polymers. *Biomatter*, 2(4), 271-277.
- [20] **Pihlstrom, B. L., Michalowicz, B. S., & Johnson, N. W.** (2005). Periodontal diseases. *The lancet*, 366(9499), 1809-1820.
- [21] **Chen, F. M., Zhang, J., Zhang, M., An, Y., Chen, F., & Wu, Z. F.** (2010). A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. *Biomaterials*, 31(31), 7892-7927.
- [22] **Kızıldağ, A.** (2014). Kronik Periodontitisli Bireylerde Konvansiyonel Periodontal Flep ile Kombine Trombositten Zengin Fibrin Kullanımının Periodontal İyileşme Üzerine Olan Katkılarının Dişeti Oluğu Sırasında Büyüme Faktörleri Seviyeleri ve Klinik Ölçümlerle Değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Periodontoloji Anabilim Dalı.

- [23] **Bhavsar, A. K., Parween, S., Varadhan, K. B., & Prabhuji, M. L. V.** (2018). Critical Issues in Periodontal Regeneration-A Review. *J Oral Health Dent*, 2, 204.
- [24] **Çolpak, A. H.**, (2016). Alveoler kemiğin vertikal yükseltilmesi için kemik grefti ve dental pulpa kaynaklı kök hücre uygulaması ile eş zamanlı dental implant yerleştirilmesi: Koyun modelinde histolojik ve histomorfometrik çalışma, Uzmanlık Tezi. Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı.
- [25] **Saraçoğlu, D.** (2014), Diş Hekimliğinde Kullanılan Greftler, Bitirme Tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir.
- [26] **Kökden, A., & Türker, M.** Oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanılan kemik greftleri ve biyomateriyaller. *CÜ DisHek Fak Derg* 1999, 2 (2): 134, 140.
- [27] **Yavuz, K. A. Y. A., & ŞAHİN, S.** (2010). Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogreftlerinin Periodontal Kemik Defektlerinde Uygulanımı ve Son Gelişmeler, Hacettepe Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 37-45.
- [28] **Sharma, S., Srivastava, D., Grover, S., & Sharma, V.** (2014). Biomaterials in tooth tissue engineering: a review. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 8(1), 309
- [29] **Wang, J., Wang, L., Zhou, Z., Lai, H., Xu, P., Liao, L., & Wei, J.** (2016). Biodegradable polymer membranes applied in guided bone/tissue regeneration: a review. *Polymers*, 8(4), 115.
- [30] **Nevins, M. L., Camelo, M., Nevins, M., King, C. J., Oringer, R. J., Schenk, R. K., & Fiorellini, J. P.** (2000). Human histologic evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal osseous defects. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 20(5).
- [31] **Sheikh, Z., Hamdan, N., Ikeda, Y., Gryn timer, M., Ganss, B., & Glogauer, M.** (2017). Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: a review. *Biomaterials research*, 21(1), 9.
- [32] **Osathanon, T., Chanjavanakul, P., Kongdech, P., Clayhan, P., & Huynh, N. C. N.** (2017). Polycaprolactone-Based Biomaterials for Guided Tissue Regeneration Membrane. In *Periodontitis-A Useful Reference*. IntechOpen.
- [33] **Cheng, C. F., Wu, K. M., Chen, Y. T., & Hung, S. L.** (2015). Bacterial adhesion to antibiotic-loaded guided tissue regeneration membranes— A scanning electron microscopy study. *Journal of the Formosan Medical Association*, 114(1), 35-45.

- [34] **Wang, H. L., Yuan, K., Burgett, F., Shyr, Y., & Syed, S.** (1994). Adherence of oral microorganisms to guided tissue membranes: an in vitro study. *Journal of periodontology*, 65(3), 211-218.
- [35] **Xue, J., He, M., Liu, H., Niu, Y., Crawford, A., Coates, P. D., ... & Zhang, L.** (2014). Drug loaded homogeneous electrospun PCL/gelatin hybrid nanofiber structures for anti-infective tissue regeneration membranes. *Biomaterials*, 35(34), 9395-9405.
- [36] **Xue, J., He, M., Niu, Y., Liu, H., Crawford, A., Coates, P., ... & Zhang, L.** (2014). Preparation and in vivo efficient anti-infection property of GTR/GBR implant made by metronidazole loaded electrospun polycaprolactone nanofiber membrane. *International journal of pharmaceutics*, 475(1-2), 566-577.
- [37] **Karring, T., Nyman, S., Gottlow, J. A. N., & Laurell, L.** (1993). Development of the biological concept of guided tissue regeneration—animal and human studies. *Periodontology 2000*, 1(1), 26-35.
- [38] **Gentile, P., Chiono, V., Tonda-Turo, C., Ferreira, A. M., & Ciardelli, G.** (2011). Polymeric membranes for guided bone regeneration. *Biotechnology Journal*, 6(10), 1187-1197.
- [39] **Furtos, G., Rivero, G., Rapuntean, S., & Abraham, G. A.** (2017). Amoxicillin-loaded electrospun nanocomposite membranes for dental applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 105(5), 966-976.
- [40] **Trombelli, L.** (2005). Which reconstructive procedures are effective for treating the periodontal intraosseous defect?. *Periodontology 2000*, 37(1), 88-105.
- [41] **Zhang, Y., Zhang, X., Shi, B., & Miron, R. J.** (2013). Membranes for guided tissue and bone regeneration. *Annals of Oral & Maxillofacial Surgery*, 1(1), 10.
- [42] **Rad, M. M., Khorasani, S. N., Ghasemi-Mobarakeh, L., Prabhakaran, M. P., Foroughi, M. R., Kharaziha, M., ... & Ramakrishna, S.** (2017). Fabrication and characterization of two-layered nanofibrous membrane for guided bone and tissue regeneration application. *Materials Science and Engineering: C*, 80, 75-87.
- [43] **Ren, K., Wang, Y., Sun, T., Yue, W., & Zhang, H.** (2017). Electrospun PCL/gelatin composite nanofiber structures for effective guided bone regeneration membranes. *Materials Science and Engineering: C*, 78, 324-332.
- [44] **He, M., Jiang, H., Wang, R., Xie, Y., & Zhao, C.** (2017). Fabrication of metronidazole loaded poly (ϵ -caprolactone)/zein core/shell nanofiber membranes via coaxial electrospinning for guided tissue regeneration. *Journal of colloid and interface science*, 490, 270-278.
- [45] **Alpar, B., Leyhausen, G., Günay, H., & Geurtsen, W.** (2000). Compatibility of resorbable and nonresorbable guided tissue regeneration membranes

- in cultures of primary human periodontal ligament fibroblasts and human osteoblast-like cells. *Clinical oral investigations*, 4(4), 219-225.
- [46] **Kim, E. J., Yoon, S. J., Yeo, G. D., Pai, C. M., & Kang, I. K.** (2009). Preparation of biodegradable PLA/PLGA membranes with PGA mesh and their application for periodontal guided tissue regeneration. *Biomedical Materials*, 4(5), 055001.
- [47] **Sheikh, Z., Abdallah, M. N., Hamdan, N., Javaid, M. A., Khurshid, Z., & Matilina, K.** (2014). Barrier membranes for tissue regeneration and bone augmentation techniques in dentistry. *Handbook of oral biomaterials*. Singapore: Pan Stanford Publishing, 605-636.
- [48] **Rakhmatia, Y. D., Ayukawa, Y., Furuhashi, A., & Koyano, K.** (2013). Current barrier membranes: titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *Journal of prosthodontic research*, 57(1), 3-14.
- [49] **Jacob, S., & Amudha, D.** (2017). Guided Tissue Regeneration: A Review. *J Dent Health Oral Disord Ther*, 6(3), 00197.
- [50] **Alptekin, N. O., & Gözülü, M.** (1999). Dişeti çekilmelerinin tedavisinde “kollajen bariyer membran ile yönlendirilmiş doku rejenerasyonu” ve “bağdokusu ile yarım kalınlık çift saplı greft” operasyonlarının karşılaştırılması. *Atatürk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 5.
- [51] **Villar, C. C., & Cochran, D. L.** (2010). Regeneration of periodontal tissues: guided tissue regeneration. *Dental Clinics*, 54(1), 73-92.
- [52] **Patino, M. G., Neiders, M. E., Andreana, S., Noble, B., & Cohen, R. E.** (2002). Collagen as an implantable material in medicine and dentistry. *Journal of Oral Implantology*, 28(5), 220-225.
- [53] **Chen, T. W., Chang, S. J., Niu, G. C. C., Hsu, Y. T., & Kuo, S. M.** (2006). Alginate-coated chitosan membrane for guided tissue regeneration. *Journal of Applied polymer science*, 102(5), 4528-4534.
- [54] **Prasad, T., Shabeena, E. A., Vinod, D., Kumary, T. V., & Kumar, P. A.** (2015). Characterization and in vitro evaluation of electrospun chitosan/polycaprolactone blend fibrous mat for skin tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26(1), 28.
- [55] **Salehi, M., & Bastami, F.** (2016). Characterization of wet-electrospun poly (ϵ -caprolactone)/poly (L-lactic) acid with calcium phosphates coated with chitosan for bone engineering. *Regeneration, Reconstruction & Restoration*, 1(2), 69-74.
- [56] **Sun, K., & Li, Z. H.** (2011). Preparations, properties and applications of chitosan based nanofibers fabricated by electrospinning. *Express Polymer Letters*, 5(4).
- [57] **Yao, Q., Nooeaid, P., Roether, J. A., Dong, Y., Zhang, Q., & Boccaccini, A. R.** (2013). Bioglass®-based scaffolds incorporating polycaprolactone

and chitosan coatings for controlled vancomycin delivery. *Ceramics International*, 39(7), 7517-7522.

- [58] **Hong, S., & Kim, G.** (2011). Fabrication of electrospun polycaprolactone biocomposites reinforced with chitosan for the proliferation of mesenchymal stem cells. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 940-946.
- [59] **Mahoney, C., Conklin, D., Waterman, J., Sankar, J., & Bhattarai, N.** (2016). Electrospun nanofibers of poly (ϵ -caprolactone)/depolymerized chitosan for respiratory tissue engineering applications. *Journal of Biomaterials science, Polymer edition*, 27(7), 611-625.
- [60] **Gomes, S. R., Rodrigues, G., Martins, G. G., Roberto, M. A., Mafra, M., Henriques, C. M. R., & Silva, J. C.** (2015). In vitro and in vivo evaluation of electrospun nanofibers of PCL, chitosan and gelatin: A comparative study. *Materials Science and Engineering: C*, 46, 348-358.
- [61] **Croisier, F., Atanasova, G., Poumay, Y., & Jérôme, C.** (2014). Polysaccharide-Coated PCL Nanofibers for Wound Dressing Applications. *Advanced healthcare materials*, 3(12), 2032-2039.
- [62] **Yao, Y., Wang, J., Cui, Y., Xu, R., Wang, Z., Zhang, J., ... & Kong, D.** (2014). Effect of sustained heparin release from PCL/chitosan hybrid small-diameter vascular grafts on anti-thrombogenic property and endothelialization. *Acta biomaterialia*, 10(6), 2739-2749.
- [63] **Croisier, F., Sibret, P., Dupont-Gillain, C. C., Genet, M. J., Detrembleur, C., & Jérôme, C.** (2015). Chitosan-coated electrospun nanofibers with antibacterial activity. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(17), 3508-3517.
- [64] **Dodane, V., & Vilivalam, V. D.** (1998). Pharmaceutical applications of chitosan. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, 1(6), 246-253.
- [65] **Dai, T., Tanaka, M., Huang, Y. Y., & Hamblin, M. R.** (2011). Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. *Expert review of anti-infective therapy*, 9(7), 857-879.
- [66] **Santos, T. C., Marques, A. P., Silva, S. S., Oliveira, J. M., Mano, J. F., Castro, A. G., & Reis, R. L.** (2007). In vitro evaluation of the behaviour of human polymorphonuclear neutrophils in direct contact with chitosan-based membranes. *Journal of biotechnology*, 132(2), 218-226.
- [67] **Wang, L., Khor, E., Wee, A., & Lim, L. Y.** (2002). Chitosan-alginate PEC membrane as a wound dressing: Assessment of incisional wound healing. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 63(5), 610-618.
- [68] **Van der Schueren, L., Steyaert, I., De Schoenmaker, B., & De Clerck, K.** (2012). Polycaprolactone/chitosan blend nanofibres electrospun from an

acetic acid/formic acid solvent system. *Carbohydrate Polymers*, 88(4), 1221-1226.

- [69] **Cooper, A., Oldinski, R., Ma, H., Bryers, J. D., & Zhang, M.** (2013). Chitosan-based nanofibrous membranes for antibacterial filter applications. *Carbohydrate polymers*, 92(1), 254-259.
- [70] **Malheiro, V. N., Caridade, S. G., Alves, N. M., & Mano, J. F.** (2010). New poly (ϵ -caprolactone)/chitosan blend fibers for tissue engineering applications. *Acta Biomaterialia*, 6(2), 418-428.
- [71] **Shalumon, K. T., Anulekha, K. H., Girish, C. M., Prasanth, R., Nair, S. V., & Jayakumar, R.** (2010). Single step electrospinning of chitosan/poly (caprolactone) nanofibers using formic acid/acetone solvent mixture. *Carbohydrate Polymers*, 80(2), 413-419.
- [72] **Nourmohammadi, J., Ghaee, A., & Liavali, S. H.** (2016). Preparation and characterization of bioactive composite scaffolds from polycaprolactone nanofibers-chitosan-oxidized starch for bone regeneration. *Carbohydrate polymers*, 138, 172-179.
- [73] **Du, F., Wang, H., Zhao, W., Li, D., Kong, D., Yang, J., & Zhang, Y.** (2012). Gradient nanofibrous chitosan/poly ϵ -caprolactone scaffolds as extracellular microenvironments for vascular tissue engineering. *Biomaterials*, 33(3), 762-770.
- [74] **Lari, A., & Sultana, N.** (2016). Chitosan coated and non-coated composite scaffolds based on poly (caprolactone)(PCL) and hydroxyapatite (HA). *ARPJ Eng Appl Sci*, 11, 7.
- [75] **Malikmammadov, E., Tanir, T. E., Kiziltay, A., Hasirci, V., & Hasirci, N.** (2018). PCL and PCL-based materials in biomedical applications. *Journal of Biomaterials science, Polymer edition*, 29(7-9), 863-893.
- [76] **Shi, R., Xue, J., He, M., Chen, D., Zhang, L., & Tian, W.** (2014). Structure, physical properties, biocompatibility and in vitro/vivo degradation behavior of anti-infective polycaprolactone-based electrospun membranes for guided tissue/bone regeneration. *Polymer degradation and stability*, 109, 293-306.
- [77] **Zamani, M., Morshed, M., Varshosaz, J., & Jannesari, M.** (2010). Controlled release of metronidazole benzoate from poly ϵ -caprolactone electrospun nanofibers for periodontal diseases. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 75(2), 179-185.
- [78] **McEachin, Z., & Lozano, K.** (2012). Production and characterization of polycaprolactone nanofibers via forcespinning™ technology. *Journal of Applied Polymer Science*, 126(2), 473-479.
- [79] **Rajagopalan, A., & Thomas, J. T.** (2014). Effectiveness of Metronidazole as Local Drug Delivery in Periodontal Diseases—A Review. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 13(8), 25-28.

- [80] **Xue, J., He, M., Liang, Y., Crawford, A., Coates, P., Chen, D., ... & Zhang, L.** (2014). Fabrication and evaluation of electrospun PCL–gelatin micro-/nanofiber membranes for anti-infective GTR implants. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(39), 6867-6877.
- [81] **Zupančič, Š., Potrč, T., Baumgartner, S., Kocbek, P., & Kristl, J.** (2016). Formulation and evaluation of chitosan/polyethylene oxide nanofibers loaded with metronidazole for local infections. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95, 152-160.
- [82] **Pelipenko, J., Kocbek, P., & Kristl, J.** (2015). Critical attributes of nanofibers: preparation, drug loading, and tissue regeneration. *International journal of pharmaceutics*, 484(1-2), 57-74.
- [83] **Beypazar, Ö.** (2013). Nanolif üretiminde çap kontrolü. Yüksek Lisans Tezi. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü.
- [84] **Behring, J., Junker, R., Walboomers, X. F., Chessnut, B., & Jansen, J. A.** (2008). Toward guided tissue and bone regeneration: morphology, attachment, proliferation, and migration of cells cultured on collagen barrier membranes. A systematic review. *Odontology*, 96(1), 1-11.
- [85] **Braghirolli, D. I., Steffens, D., & Pranke, P.** (2014). Electrospinning for regenerative medicine: a review of the main topics. *Drug discovery today*, 19(6), 743-753.
- [86] **Lim, C. T.** (2017). Nanofiber technology: current status and emerging developments. *Progress in Polymer Science*, 70, 1-17.
- [87] **Pham, Q. P., Sharma, U., & Mikos, A. G.** (2006). Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review. *Tissue engineering*, 12(5), 1197-1211.
- [88] **Teo, W. E., & Ramakrishna, S.** (2006). A review on electrospinning design and nanofibre assemblies. *Nanotechnology*, 17(14), R89.
- [89] **Subbiah, T., Bhat, G. S., Tock, R. W., Parameswaran, S., & Ramkumar, S. S.** (2005). Electrospinning of nanofibers. *Journal of applied polymer science*, 96(2), 557-569.
- [90] **Greiner, A., & Wendorff, J. H.** (2007). Electrospinning: a fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(30), 5670-5703.
- [91] **Venugopal, J., & Ramakrishna, S.** (2005). Applications of polymer nanofibers in biomedicine and biotechnology. *Applied biochemistry and biotechnology*, 125(3), 147-157.
- [92] **Song, K., Wu, Q., Qi, Y., & Kärki, T.** (2017). Electrospun nanofibers with antimicrobial properties. In *Electrospun Nanofibers* (pp. 551-569). Woodhead Publishing.
- [93] **Miguel, S. P., Figueira, D. R., Simões, D., Ribeiro, M. P., Coutinho, P., Ferreira, P., & Correia, I. J.** (2018). Electrospun polymeric nanofibres as wound dressings: a review. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 169, 60-71.

- [94] **Zafar, M., Najeeb, S., Khurshid, Z., Vazirzadeh, M., Zohaib, S., Najeeb, B., & Sefat, F.** (2016). Potential of electrospun nanofibers for biomedical and dental applications. *Materials*, 9(2), 73.
- [95] **Weng, L., & Xie, J.** (2015). Smart electrospun nanofibers for controlled drug release: recent advances and new perspectives. *Current pharmaceutical design*, 21(15), 1944-1959.
- [96] **Nikmaram, N., Roohinejad, S., Hashemi, S., Koubaa, M., Barba, F. J., Abbaspourrad, A., & Greiner, R.** (2017). Emulsion-based systems for fabrication of electrospun nanofibers: food, pharmaceutical and biomedical applications. *RSC Advances*, 7(46), 28951-28964.
- [97] **Oktay, A.** (2013). Metal Katkılı TiO₂ Nanoliflerin Elektroeğirme Yöntemi ile Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fizik Anabilim Dalı.
- [98] **Frenot, A., & Chronakis, I. S.** (2003). Polymer nanofibers assembled by electrospinning. *Current opinion in colloid & interface science*, 8(1), 64-75.
- [99] **Karayeğen G.** (2016), Elektrik Eğirme Yöntemini Kullanarak Nanofiberlerin Elektrik Alan ile Yönlendirme Olasılığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Başkent Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı.
- [100] **Megelski, S., Stephens, J. S., Chase, D. B., & Rabolt, J. F.** (2002). Micro- and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. *Macromolecules*, 35(22), 8456-8466.
- [101] **Andrade, A.L.** 2008. Science and Technology of Polymer Nanofibers. Wiley Pres, New Jersey.
- [102] **Abdelhady, S., Honsy, K. M., & Kurakula, M.** (2015). Electro Spun-Nanofibrous Mats: A Modern Wound Dressing Matrix with a Potential of Drug Delivery and Therapeutics. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 10(4).
- [103] **Moghadam, B. H., Hasanzadeh, M., & Haghi, A. K.** (2013). On the contact angle of electrospun polyacrylonitrile nanofiber mat. *system*, 22, 23.
- [104] **Shalumon, K. T., Anulekha, K. H., Chennazhi, K. P., Tamura, H., Nair, S. V., & Jayakumar, R.** (2011). Fabrication of chitosan/poly (caprolactone) nanofibrous scaffold for bone and skin tissue engineering. *International journal of biological macromolecules*, 48(4), 571-576.
- [105] **Surucu, S., & Sasmazel, H. T.** (2016). Development of core-shell coaxially electrospun composite PCL/chitosan scaffolds. *International journal of biological macromolecules*, 92, 321-328.
- [106] **Ozkan, O., & Sasmazel, H. T.** (2018). Antibacterial Performance of PCL-Chitosan Core-Shell Scaffolds. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 18(4), 2415-2421.
- [107] **Reise, M., Wyrwa, R., Müller, U., Zylinski, M., Völpel, A., Schnabelrauch, M., ... & Sigusch, B. W.** (2012). Release of metronidazole from

electrospun poly (L-lactide-co-D/L-lactide) fibers for local periodontitis treatment. *Dental Materials*, 28(2), 179-188.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Merve DEMİR
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 1992, Ankara
E-posta : merve.demir171@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

Lisans : 2016, Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği

Y.Lisans : 2019, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

Yıl	Yer	Görev
2015-2016	2238 TÜBİTAK Üniversite Girişimcilik ve Yenilikçilik Proje Yarışması/ FİNAL	Katılımcı
2016-2017	Üzümcü Tıbbi Cihaz ve Medikal Gaz Sistemleri	Üretim Sorumlusu
2017-2019	TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi AR-GE Burslu	Y.Lisans Öğrencisi

YABANCI DİL: İngilizce

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Demir, M.**, Bayrak, E., Büyükserin, F., Türker, S. 2019. Development and Characterization of Chitosan Coated PCL Fibers For Guided Tissue Regeneration, June 27-30, Ürgüp, Nevşehir, Turkey.