



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KEKİK ÖZÜTÜ KULLANARAK YEŞİL
SENTEZLENMİŞ GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL
KATKILI PCL/PLA NANOKOMPOZİT FİBER
ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE
ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Cansu GÜNEŞ ÇİMEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Aralık-2021
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Cansu GÜNEŞ ÇİMEN

23.12.2021

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KEKİK ÖZÜTÜ KULLANILARAK YEŞİL SENTEZLENMİŞ GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL KATKILI PCL/PLA NANOKOMPOZİT FİBER ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE ANTİBAKTERİYEL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Cansu GÜNEŞ ÇİMEN

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet AVCI

2021, 118 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Ahmet AVCI

Prof. Dr. Erol PELİVAN

Doç. Dr. Meltem DEMİREL KARS

Sinir dokuda meydana gelebilecek hasar kademeli olarak birçok biyolojik ve fonksiyonel bozukluğa yol açabilmektedir. Sinir dokunun kendini yenileyebilme kapasitesi yetişkinlerde genellikle sınırlıdır. Bu tez kapsamında yapılan çalışmada sinir doku onarımında kullanılacak biyoyoumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, mekanik, kimyasal ve biyolojik özellikleri açısından doğal sinir dokusuyla yakından eşleşebilen, nöral hücrelerin büyümesi için gerekli topografik, elektriksel özelliklere sahip, nöronların yapışmasına, çoğalmasına ve nihayetinde sinir oluşturmaya izin verebilecek ideal bir sentetik doku iskelesinin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bu bağlamda, nano ölçekli lifli yapı iskeleleri, hücrelerin bu döngüyü sağlayabilmesi için en uygun ortamı sağlayabilir. Nanofiberlerin iskele uygulamalarında yaygın olarak tercih edilme sebebi temel olarak nano boyutları ile ince lifli yapıları oluşturabilmesi; yüksek gözeneklilikleri ile çeşitli biyomoleküllerin eklenebilmesi için vücut dokusu ortamlarının yapısal özellikleriyle yakından eşleşmesidir. Bu çalışmada, PCL ve PLA polimerleri kullanılarak elektro-eğirme tekniği ile üretilen nanofiberlerin bu sinir doku iskelesi özelliklerini karşılayacağı düşünülmüştür. PLA ve PCL, FDA tarafından sinir kılavuz kanalı olarak kullanım onaylı polimerlerdir. PLA kırılgen ve yüksek bir bozunma oranına sahipken, PCL yüksek esnekliğe ve yavaş biyolojik bozunma oranına sahiptir. Bu malzemelerin avantajlarını birleştirerek dengeli ve ayarlanabilir özellikli tek bir sistem üretmenin iskele özelliklerini iyileştireceği beklenmektedir. Elektro-eğirme ile üretilen PCL/PLA nanokompozit iskeleye gümüş nanopartiküllerin ilave edilmesi ile gümüşün antibakteriyel ve antimikrobiyal özellikleri, gümüşün kekik ekstraktı kullanılarak yeşil sentezi ile de kekiğin antiseptik, karminatif, antimikrobiyal ve antioksidatif özellikleri kazandırılmıştır. Üretimi gerçekleştirilen nanofiberlerin morfolojik, termal, kimyasal, mekanik, biyobozunurluk özellikleri ve antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Yapılan araştırma ve deneysel çalışma sonuçlarına göre ortalama 280 nm fiber çapına sahip, morfolojik olarak homojen, hidrofobik özelliği yüksek, *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerine karşı dirençli, gerilme mukavemeti PCL /PLA nanofibere oranla yüksek, biyobozunur özellikte nanofiber iskeleler elde edilmiştir. Elektro-eğirme yöntemiyle *Thymus Vulgaris L.* ekstraktı kullanarak enkapsüle olmuş gümüş nanopartikül katkılı PCL/PLA nanofiberlerin doku mühendisliği uygulamalarında kullanım potansiyeli olduğu önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Elektro-eğirme, Nanokompozit fiber, Sinir doku rejenerasyonu, *Thymus Vulgaris L.*, Yeşil sentez

ABSTRACT

MS THESIS

FABRICATION, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL EFFECT OF PCL/PLA NANOCOMPOSITE FIBER COMPRISING GREEN SYNTHESIZED SILVER NANOPARTICLES USING THYME EXTRACT

Cansu GÜNEŞ ÇİMEN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOMEDICAL ENGINEERING

Advisor: Prof. Dr. Ahmet AVCI

2021, 118 Pages

Jury

Prof. Dr. Ahmet AVCI

Prof. Dr. Erol PELİVAN

Doç. Dr. Meltem DEMİREL KARS

Damage to the nervous tissue can gradually lead to many functional and biological disorders. The capacity of nerve tissue to regenerate itself is usually limited in adults. In the scope of this thesis, It is aimed to develop a synthetic tissue scaffold, that allows neurons to adhere, proliferate and ultimately form nerves, which is biocompatible, biodegradable, has ability of closely matching to natural nerve tissue in terms of its mechanical, chemical, biological and topographical properties. In this context, fibrous scaffolds in nanoscale can provide the most suitable environment for cells to carry out this proliferation cycle. The reason why nanofibers are widely preferred in tissue scaffolding applications is that they can form fine fibrous structures with their nano size, and their property of high porosity closely matches the structural properties of body tissue environments for the addition of various biomolecules. In this study, it was thought that nanofibers produced by electrospinning technique using PCL and PLA polymers would meet these neural scaffold properties. PLA and PCL are FDA-approved polymers for use as nerve guide channels. PLA is brittle and has a high degradation rate, while PCL has high flexibility and slow biodegradation. It is expected that producing a single system with balanced and adjustable features by combining the advantages of these materials will improve the scaffold properties. The antibacterial and antimicrobial properties of silver and the antiseptic, carminative, antimicrobial and anti-oxidative properties of thyme have been imparted to the PCL/PLA nanocomposite scaffold with the addition of green synthesized silver nanoparticles using thyme extract. The morphological, thermal, chemical, mechanical, biodegradation properties and antibacterial activities of the produced nanofibers were examined. According to the results of the researches and experimental studies, biodegradable nanofiber scaffold with an average fiber diameter of 280 nm that is morphologically homogeneous, highly hydrophobic, higher tensile strength than PCL /PLA nanofiber and resistant to *E.coli* and *S. aureus* bacteria were obtained. It can be suggested that the use of encapsulated silver nanoparticle using *Thymus Vulgaris L.* extract doped PCL/PLA nanofibers produced by electrospinning method has the potential in tissue engineering applications.

Keywords: Electrospinning, Green synthesis, Nanocomposite fiber, Nerve tissue regeneration, *Thymus Vulgaris L.*

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının ortaya çıkmasında büyük emeği geçen, bilgi ve tecrübeleri ile çalışmanın gidişatına yön veren, desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgmeden anlayışla yol gösteren, akademik kariyerim boyunca her zaman örnek almak istediğim Sayın danışman hocam Prof. Dr. Ahmet AVCI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez kapsamında yapılacak olan çalışmalarda değerli bilgi ve deneyimlerini paylaşip çalışmayı başka bir açıdan ele alarak daha sonra in vivo testlerin gerçekleşmesi için NEÜ Meram Tıp Fakültesi/Plastik Cerrahi Anabilim Dalının her türlü laboratuvar imkânlarını sunmaya hazır hocam Doç. Dr. Zeynep ALTUNTAŞ'a teşekkür ederim.

Tez çalışması için üretilen malzemelerin antibakteriyel testlerini NEÜ Meram Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirme olanağı sunan Prof. Dr. Metin DOĞAN hocama teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bu yolda bana destek olan tüm Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı hocalarıma her birine ayrıca teşekkür ederim.

Laboratuvar içi deneysel süreçlerde yardımlarını esirgemeyen değerli bölüm arkadaşlarım Fatih CACIK, Edanur KORKMAZ, Çisem GİLİK ve Ahsen ÖKTEMER'e de katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışmanın yürütülmesini destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü'ne vermiş oldukları finansal katkılarından ötürü teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince gerekli olan analiz ve testlerin yapılmasına imkân sağlayan Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne (BİTAM) de ayrıca teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde emeği olan, her zaman arkamda olup desteklerini hissettiren, sevgili aileme ve manevi desteklerinden dolayı arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Cansu GÜNEŞ ÇİMEN
KONYA-2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
2.1. İnsan Sinir Sisteminin Anatomi ve Fizyolojisi	6
2.1.1. Merkezi Sinir Sistemi	8
2.1.2. Periferik Sinir Sistemi.....	9
2.1.2.1. Periferik Sinirin Anatomik Yapısı	10
2.1.3. Periferik Sinir Yaralanmaları.....	11
2.1.4. Geleneksel Tedavi Yöntemleri	13
2.2. Doku Mühendisliği	15
2.2.1. Doku Mühendisliği İskeleleri	17
2.2.1.1. Biyouyumluluk	18
2.2.1.2. Biyobozunurluk	19
2.2.1.3. Yüzey Özellikleri.....	19
2.2.1.4. Mekanik Özellikler	20
2.3. Nanoteknoloji.....	20
2.3.1. Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri.....	22
2.3.1.1. Yeşil Sentez (Biyosentez) Yöntemi	24
2.3.1.3. Gümüş Nanopartiküller.....	26
2.3.1.4 Kekik (<i>Thymus Vulgaris L.</i>).....	28
2.3.2. Nanofiber ve Üretim Yöntemleri.....	29
2.3.3. Elektro-eğirme Yöntemi ile Nanofiber Üretimi.....	30
2.3.3.1. Elektro-eğirme Yöntemini Etkileyen Parametreler	33
1.3.3.1.1. Çözelti Parametreleri	33
1.3.3.1.2. Cihaz Parametreleri.....	38
2.3.3.1.3. Çevresel Parametreler	42
2.4. Sinir Rejenerasyonu için Kullanılan Biyomalzemeler ve Rejenerasyon Stratejileri	44
2.4.1. Doğal Polimerler.....	48
2.4.2. Sentetik Biyobozunur Polimerler.....	49
2.4.2.1. PLA	51
2.4.2.2. PCL	52

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	55
3.1. Bitki Özütü ile Enkapsüle Gümüş Nanopartikül Üretimi	55
3.1.1 Kullanılan cihaz ve malzemeler	57
3.1.2. Deneysel Yöntem.....	57
3.1.2.1. Kekik Özütünün Hazırlanması.....	58
3.1.2.2. AgNO ₃ Çözeltisinin Hazırlanması.....	59
3.1.2.3. UV-Vis Spektrometre Analizi ve eAgNP Sentezi	59
3.2. Elektro-eğirme Tekniği ile PCL/PLA/eAgNP Nanokompozit Fiber Üretimi	61
3.2.1. Kullanılan cihaz ve malzemeler.....	61
3.2.2. Deneylerin Yapılışı	62
3.2.2.1 Çözeltilerin Hazırlanması	62
3.2.2.2. Elektro-eğirme Tekniği ile PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP Nanofiber Üretimi.....	63
3.3. Karakterizasyon Analizleri	64
3.3.1. Morfolojik Analiz	64
3.3.2. Hidrofiliklik Profili	65
3.3.3. FTIR.....	66
3.3.4. XRD	66
3.3.5. Mekanik Analiz.....	66
3.3.6. TGA	68
3.4. Biyobozunurluk Profili	68
3.5. Antibakteriyel Aktivite Testi	68
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	70
4.1. Bitki Özütü ile Enkapsüle Gümüş Nanopartikül Üretim Çalışmaları Sonuçları .	70
4.1.1. Bitki Özütü ve AgNO ₃ Çözeltisi Konsantrasyonu Optimizasyonu	70
4.1.2. TEM Analiz Sonuçları	71
4.1.3. XRD Analiz Sonuçları	72
4.1.4. FTIR Analizi	73
4.1.5. Antibakteriyel Test Sonuçları	74
4.2. Nanofiberlerin Karakterizasyon Analizlerinin Sonuçları	75
4.2.1. Morfolojik Analiz	75
4.2.2. FTIR Analiz Sonuçları.....	78
4.2.3. XRD Analiz Sonuçları	84
4.2.4. Isısal Yapı Analizi (TGA) Analiz Sonuçları.....	85
4.2.5. Su Temas Açısı Analiz Sonuçları	86
4.2.6. Mekanik Dayanım Analizi Sonuçları	88
4.3. Antibakteriyel Aktivite Test Sonuçları	91
4.4. In vitro Biyobozunurluk.....	95
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	98
5.1. Sonuçlar	98
5.2. Öneriler	100
6. KAYNAKLAR	101

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	celcius
µl	mikrolitre
µm	mikrometre
Ag	gümüş
cm	santimetre
g	gram
kV	kilovolt
M	molar
m/s	metre/saniye
McF	McFarland
Mg	Miligram
ml	mililitre
mm	milimetre
MPa	megapaskal
nm	nanometre
pH	power of hydrogen (hidrojen gücü)
rpm	revolutions per minute (dakikadaki devir sayısı)

Kısaltmalar

3D	Üç Boyutlu
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
AgNP	Gümüş nanopartikül
CHL	Kloroform
DMF	N-N Dimetilformamid
<i>E. Coli</i>	Escherichia Coli
eAgNP	Enkapsüle gümüş nanopartikül
ECM	Hücre dışı matris
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
MSS	Merkezi Sinir Sistemi

PBS	Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PCL	Polikaprolakton
PGA	Poli (glikolik asit)
PEO	Polietilen oksit
PLA	Poli (laktik) asit
PLGA	Poli (L-laktik-ko-glikolik asit)
PSS	Periferik Sinir Sistemi
<i>S. Aureus</i>	Staphylococcus Aureus
SEM	Taramalı elektron mikroskopu
SFI	Siyatik fonksiyonel indeks
SKK	Sinir kılavuz kanalları
TE	<i>Thymus Vulgaris L.</i> Ekstraktı
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TGA	Termogravimetrik analiz
UV-VIS	Ultraviyole Görünür Spektroskopi
v/v	Hacim Başına Hacim Oranı
w/v	Hacim Başına Ağırlık Oranı
XRD	X Işını Kırınımı

1. GİRİŞ

İnsan sinir sistemi, merkezi sinir sistemi (MSS) ve periferik sinir sistemi (PSS) olmak üzere iki bileşene ayrılır. MSS, beyin ve omurilik tarafından oluşturulurken PSS, sinirlerden ve MSS'yi organlara ve uzuvlara bağlayan sinir düğümlerinden (ganglia) meydana gelir (Afshari 2016). İnsan yetişkin sinir sisteminin yenilenme kapasitesi genellikle sınırlıdır (Cao, Liu et al. 2009). MSS'deki sinir hücreleri kendilerini onaramaz; bunun yerine, hasar görmemiş sinir hücresi bölgeleri plastisite olarak bilinen bir süreç olan hasarlı kısımların işlevini üstlenir (Panesar 2012). MSS yaralanması yaşayan hastalar genellikle çeşitli felç çeşitleri, işlev kaybı, yaşam boyu sakatlık ve hatta ölümlerle karşılaşır. Nöral dokunun karmaşık doğası, kendini yenilemeyi son derece sınırlı hale getirir, bu nedenle bu yaralanmalar kendi kendilerine iyileşemez ve klinik müdahale gerektirirler. Şu anda MSS yaralanması sonrası tam fonksiyonel iyileşmeye izin verebilen bir tedavi mevcut değildir.

PSS sinirleri ise sinir hasarının dereceleri doğrultusunda kendilerini yenilemeye ve yeniden canlandırmaya çalışır. PSS yaralanmaları hasar seviyelerine göre demiyelinasyona, aksonal dejenerasyona veya aksonların bağlantısının kesilmesine neden olabilir. Sinirin kesilmesi veya ezilmesi sonucu sinir fonksiyonu kaybolduğunda, sinirin yaralanma bölgesine uzak kısmı (distal) doğal yapısını kaybeder ve işlevini yitirir. Sinirin hasar bölgesine yakın kısmı (proksimal) ise tekrardan sinir oluşturabilir ve sinir fonksiyonunu yeniden kurabilir. Bir ezilme genellikle aksonun yeniden büyüyebileceği sürekli ve tüp şeklinde bir yapı bırakırken, bir kesik sonrası yenilenen aksonun büyüme konisinin içinden geçmesini engelleyen bir boşluk oluşur (Heath and Rutkowski 1998). PSS yaralanmaları hafif hasardan başlayıp yaşam boyu sakatlıklara neden olabilen ciddi hasarlar da dahil olmak üzere sınıflandırılır. 5 derece yaralanma tipi vardır ve tam sinir transeksiyonu en şiddetli hasar düzeyidir. Daha hafif vakalarda periferik sinirin remiyelinizasyonu, aksonal rejenerasyonu ve fonksiyonel iyileşmesi görülebilir (Nukavarapu, Freeman et al. 2015). PSS'de meydana gelen sinir transeksiyonu yaralanmalarından sinir boşluğunun küçük olduğu durumlarda uçtan uca cerrahi dikiş yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Geleneksel tedavi yöntemlerinden uçtan uca dikişlerle doğrudan onarılamayan periferik sinir hasarı önemli bir klinik problem olmaya devam etmektedir. Büyük boşluklu sinir hasarlarını tedavi etmek için günümüzde "altın standart" olarak kabul edilen, distal ve proksimal sinir uçlarına yerleştirilerek aksonal büyümeyi teşvik etmek amacıyla uygulanan otogreft transferlerinin kullanımı ise donör bölgesi morbiditesi, donör sinir yetersizliği, donör

bölgelerindeki potansiyel işlev kaybı, çoklu ameliyatların gerekliliği ve yetersiz fonksiyonel iyileşme sebeplerinden dolayı kısıtlıdır (Wang, Zhang et al. 2011). Greftler distal sinir ucuna ulaştıklarında, büyüme konileri endonöral kanallara veya bazal lamina ile çevrili Schwann hücrelerinin sütunları olan Bungner bantlarına girer. Schwann hücreleri ve bazal lamina ile temas halinde olan greft, büyüme konisi hedefine doğru ilerler (Kubek, Ghalib et al. 2011). Bu aşamada, rejenerasyon işleminin etkinliği, aksonların uygun endonöral tüplere girip girmediğine ve doğru hedefle yeniden bağlanıp bağlanmamasına bağlıdır (Heath and Rutkowski 1998). Otolog sinir greftlerinin yerine allogreftler ve ksenograftlar da kullanılabilir. Bununla birlikte, bu tedavilerin uygulanması sırasında nakil doku uyumsuzluğu, immünolojik reddetme ve hastalık transferi ihtimalinin bulunmasından dolayı yeni tedavi yolları araştırılmaya başlanmıştır.

Sinir sisteminin karmaşıklığı farklı durumlarda çeşitli stratejiler gerektirdiğinden (Subramanian, Krishnan et al. 2012), doku mühendisliği yapı iskelelerinin implantasyonu, şiddetli sinir hasarının tedavisi ve nöral onarımı kolaylaştırmak için alternatif bir yöntem olabilir. Sinir kılavuz kanalları (SKK) bitişik uçlar arasında bir köprü görevi görür ve sinir rejenerasyonu sırasında yön rehberliği ve biyolojik destek sağlar (Li, Pan et al. 2015). Yapay greftlerin fiziksel, kimyasal ve mekanik özellikleri uygulamaların gerektirdiği ihtiyaçlara göre uyarlanabilir. Malzeme olarak, sıklıkla meydana gelen bağışıklık tepkilerinin oluşumunu azaltmak için biyolojik olarak bozunabilir ve biyouyumlu malzemeler tercih edilir. İskele morfolojisi, mimarisi ve bileşenleri kontrol edilerek, doku yenilenmesini desteklemek için uygun topografya ve biyokimyasal özelliklere sahip yapay sinir kanalları geliştirilebilir.

Elektro-eğirme, doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere iskeleler oluşturmak için giderek daha fazla araştırılmaktadır. Sinir doku mühendisliğinde, hem MSS hem de PSS'deki aksonların uzunlamasına dağılımı, yenilenen aksonları doğal büyüme eksenleri boyunca yönlendirebilen iskele tasarlamayı gerektirir. Elektro-eğirme ile üretilen nanofiber iskeleler, son birkaç yıldır doku mühendisliği alanında uygulama alanının çok geniş olması, üretimin tek aşamalı, kısa zamanlı ve düşük maliyetli olması sebepleriyle artan bir popülerlik kazanmıştır (Lannutti, Reneker et al. 2007).

Sinir doku onarımı konusundaki son gelişmeler, doku mühendisliği prensiplerinin uygulanmasıyla nöral tedaviye yeni bir bakış açısı kazandırmıştır. Sinir doku mühendisliğinin prensibi temel olarak doğal hücre dışı matris (ECM) benzer ve 3D hücre kültürlerini destekleyebilen sentetik bir iskelenin geliştirilmesi yoluyla hücrel

fonksiyonların ve doku gelişiminin düzenlenmesine dayanır (Subramanian, Krishnan et al. 2009). Doku iskeleleri, 3D doku yenilenmesini desteklemek için hücrelere canlılıklarını koruyabilecekleri ortam sağlayarak geçici veya kalıcı yapay ECM görevi görür. İdeal bir doku iskelesi doğal ECM yapısını ve biyolojik fonksiyonlarını taklit edebilmeli, hücreleri ve dokuyu bir arada tutabilmelidir (Huang, Zhang et al. 2003). Bu sayede doku iskeleleri ile hücrelerin tutunup büyüyebileceği, çoğalabileceği difüzyonu vb. yaşamsal fonksiyonları yerine getirebileceği bir ortam oluşturulmuş olur. Bu bağlamda, nano ölçekli lifli yapı iskeleleri, hücrelerin bu döngüyü sağlayabilmesi için en uygun ortamı sağlayabilir. Nanofiber matların iskele uygulamalarında yaygın olarak tercih edilme sebebi temel olarak nano boyutları ile ince lifli yapıları oluşturabilmesi, yüksek gözeneklilikleri, özellikle çeşitli polimerlerin, inorganik maddelerin, biyomoleküller ve fonksiyonel hücrelerin vb. ilave edilebilmesi bakımından vücut dokusu ortamlarının yapısal özellikleriyle yakından eşleşmesidir (Andrady 2008). ECM'nin yakın bir taklidinin yapışma, yer değiştirme, proliferasyondan farklılaşmaya kadar değişen hücre fonksiyonları için daha elverişli bir ortam sağlayacağı varsayılmaktadır (Liang, Hsiao et al. 2007).

Literatürde sinir doku onarımı için çeşitli PCL (Poly-ε-caprolactone) ve PLA (Poli-laktik asit) polimer nanofiberlerin sinir kılavuz kanalı olarak kullanımının uygunluğunu araştıran birçok çalışma vardır. Hem PLA hem de PCL, Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylı biyomalzemelerdir ve her ikisi de biyomedikal uygulamalar için ayrı ayrı kullanılmıştır (Chen, Yu et al. 2018). Polimerlerin farklı dezavantajları nedeniyle, kopolimerler veya harmanlanmış kompozit malzemeler sinir dokusu mühendisliğinde daha çok kullanılmaktadır.

Bir sinir kanalının biyomekanik özellikleri ve çevreleyen dokularla etkileşimi, bir SKK tasarlarırken dikkate alınması gereken önemli faktörlerdir. Sinir kanalları cerrahi kullanım sırasında dikişe dayanabilecek mukavemette ve sinir yenilenmesi süresince yapılarını korumak için yeterli mekanik özelliklere sahip olmalıdır. Çok esnek olan kanallar sinir rejenerasyonu sırasında yapısal boşluğu koruyamayabileceğinden veya tersine çok sert olan kanalların çevre dokulara zarar verebileceğinden optimum esnekliği sağlamak önemlidir (Deumens, Bozkurt et al. 2010, Murphy, Black et al. 2016). Bu ideal mekanik koşullara sahip iskele tasarlamayı amaçlayan bir çalışma PCL/PLA polimerlerinin beraber kullanımının uygun olduğunu göstermiştir. PCL/PLA'nın bileşiminin tek başına PCL veya PLA polimerleriyle karşılaştırılınca, optimum mekanik mukavemeti, hücre bağlanması için gerekli dengeli bir

hidrofobikliği/hidrofilikliği, uygun esnekliği sağlayacağı vurgulanmıştır (Mobasseri, Terenghi et al. 2013). PLA ve PCL, kırılabilirlik, bozunma hızı ve termal özellikler açısından zıt özelliklere sahiptir. Camsı PLA kırılabilir ve yüksek bir bozunma oranına sahipken, lastiksi PCL yüksek esnekliğe ve yavaş bir biyolojik bozunma oranına sahiptir (Wu, Lin et al. 2011). Hiçbir bireysel malzeme tüm ön koşulları karşılayamaz; bu nedenle, PLA ve PCL'yi harmanlayarak, bu iki polimerin avantajlarını birleştirmenin çeşitli uygulamaların gereksinimlerini karşılamak ve tek bir sistemde dengeli ve ayarlanabilir özellikler üretmek için verimli bir strateji olabileceği varsayılmıştır (Zhang, Zhai et al. 2018). Bir çalışmada ise PCL/PLA nanofiberlerin biyoyumluluk deneyleri NIH 3T3 hücreleri ile yapılmıştır ve harmanlanmış nanofiber üzerinde büyüyen hücrelerin, iğ benzeri morfolojiler sergileyerek biyoyumluluğu geliştirdiği bulunmuştur. Başka bir çalışmada (Sun, Kingham et al. 2010) PCL ve PCL/PLA filmleri, motor nöron benzeri NG108-15 hücreleri ve birincil Schwann hücreleri ile biyoyumlulukları açısından test edilmiştir. PCL/PLA'nın PCL'ye göre artan hücre bağlanması, kompozit malzemenin kimyasal bileşimi sonucu PCL/PLA filmlerinin küçük gözenek boyutun ve yüzeyin daha düşük gözeneklilik göstermesiyle açıklanmıştır.

Literatürde birçok çalışmada da görüldüğü gibi nanofiber matlara biyoaktif molekül dâhil edilmesi sinir hasarı bölgesinde nörojenezi iyileştirebilen önemli bir faktördür. Bununla birlikte, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi çoğu biyoaktif molekül pahalıdır ve klinik etkinlik açısından kararsızdır ve bazen yan etkileri vardır (Wang, Tian et al. 2018). Bitki özleri, çok hedefli ve daha az yan etkiye sahip alternatif bir seçenek sunar. Sinir onarımında kullanılan bitki özleri ise aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşmede etkili olabilmektedir. Kekik, timol ve karvakrol açısından zengin aromatik bir bitkidir. Kekik yapraklarının sulu özütü, ana bileşenleri Timol olan polifenolik bileşiklerden oluşur (El-Etre and Science 2007). Bu ana fenolik bileşikler, çok çeşitli gram-pozitif veya gram-negatif bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gibi, aynı zamanda kekiğe yüksek antioksidan kapasitesi sağlamaktadırlar (Koushki, Bahrami et al. 2016). Kekik bitkisinin çeşitli çalışmalarda antimikrobiyal (Marino, Bersani et al. 1999, Rota, Herrera et al. 2008), antioksidan ve antikanser özelliklerinin olduğu bulunmuştur (Nikolić, Glamočlija et al. 2014).

Gümüş nanopartiküller antifungal, antiinflamatuvar, antiviral, antianjiyogenez ve antitrombosit aktiviteye sahiptir (Wiley, Im et al. 2006). Yapay doku üretiminde önemli bir sorun olan bakteriyel enfeksiyon gümüş nanopartiküllerin kullanımı ile

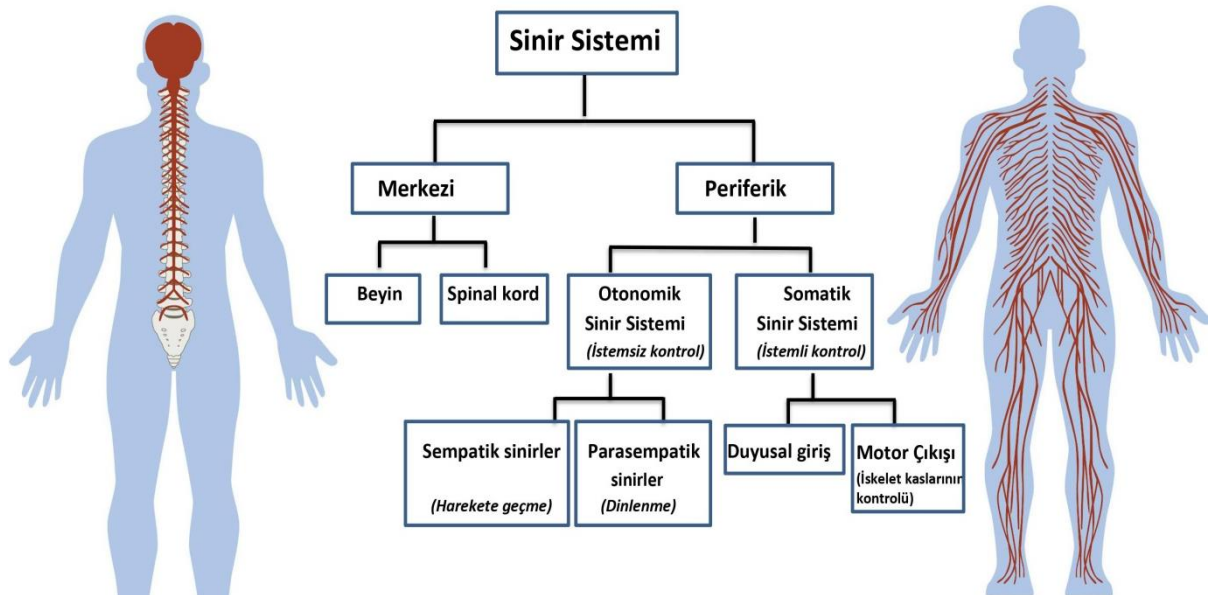
önlenebilmektedir (Guzmán, Dille et al. 2009). Gümüşün kimyasal etkilerinin azaltılması amacıyla bitki ekstraktı kullanılarak yeşil sentez metoduyla enkapsüle edilmesinin toksik etkileri azaltacağı düşünülmektedir. Nanopartiküllerin yeşil sentezi, hafif reaksiyon koşulları sağlaması ve toksik olmayan ajanlar kullanması ile diğer yöntemlere ek olarak üretilen atığı en aza indirmeyi ve sürdürülebilir süreçleri uygulamayı amaçlamaktadır. Kekik bitki özütü ile AuNP sentezi gerçekleştiren bir çalışmanın sonuçlarına göre kekik ile enkapsüle olmuş nanopartiküllerin önemli ölçüde antioksidan kapasiteye sahip olduğu bulunmuştur (Hamelian, Varmira et al. 2018). Yaralanma bölgesinde serbest radikalleri temizleyen antioksidan özelliği, yara oluşumunu en aza indirgeyip doku yenilenmesine yardımcı olabilir (Nune, Manchineella et al. 2019).

Yapılan bu tez çalışmasında sinir onarımı için kullanılmak üzere ideal biyomalzemenin sahip olması gereken mekanik, fiziksel, kimyasal özellikler ve alternatifler düşünüldüğünde, elektro-eğrilmiş PCL/PLA nanokompozit fiber matların doku iskelesinin yeterli mekanik ve fiziksel özelliklerini, biyoaktif molekül bağlanması için uygun yüzey özelliklerini, hidrofobiklik/hidrofiliklik dengesini, uygun bozunma oranını sağlayacağı düşünülmüştür. Ayrıca biyoaktif moleküllerin nöron gelişimini destekleyeceği düşünüldüğünde dokuya antibakteriyel özellik kazandırılması ve toksik etkinin en aza indirilmesi için yeşil sentez metodu ile gümüş nanopartikül eklenmesi yaklaşımının iyileşmeyi artıracığı öngörülmüştür. Yeşil sentez metodunda aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşmeyi teşvik edeceği düşünülen antioksidan ve antibakteriyel özellikleri yüksek olan kekik bitkisinin kullanılmasının sinir onarımını geliştireceği düşünülmüştür. Sonuç olarak elektro-eğirme yöntemiyle *Thymus Vulgaris L.* ekstraktı kullanarak Ag nanopartikül katkılı PCL/PLA nanokompozit fiber üretiminin sinir doku rejenerasyonunu artıracığı öngörülmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. İnsan Sinir Sisteminin Anatomi ve Fizyolojisi

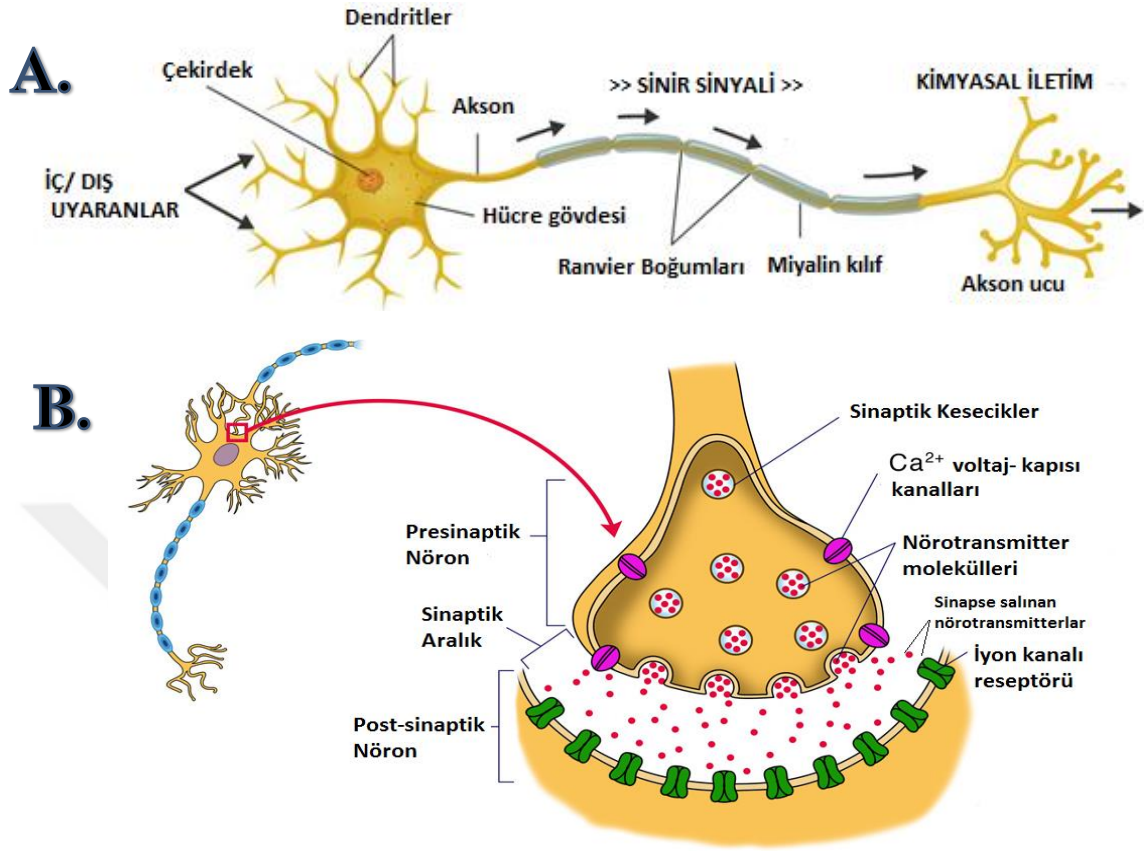
İnsan sinir sistemi temel olarak vücudun farklı bölümleri arasında sinyal iletimini sağlayan sinir hücreleri ve özelleşmiş sinir hücrelerinden oluşan karmaşık bir sistemdir. Sinir sistemi beyin, omurilik, duyu organları ve bu organları vücudun geri kalanına bağlayan tüm sinirlerden oluşur. Tüm bu organlar vücudun kontrolünden ve vücudun kısımları arasındaki iletişimden sorumludur. Sinir sistemi Şekil 2.1’de gösterildiği gibi MSS ve PSS olarak ikiye ayrılır. Beyin ve omurilik, bilginin değerlendirildiği ve kararların alındığı MSS’yi oluşturur. PSS’de bulunan duyu sinirleri ve duyu organları vücudun içindeki ve dışındaki faaliyetleri izleyerek bu bilgileri MSS’ye gönderir. PSS’deki etkin sinirler, vücut sistemlerinin işlevlerini düzenlemek için MSS’den kaslara, bezlere ve organlara sinyaller taşır (Hasirci and Hasirci 2018).



Şekil 2.1. Sinir sisteminin sınıflandırılması

Sinir hücreleri, sinir sisteminin ana sinyal birimleridir. Sinir sistemi, sinyal alınması ve gönderilmesi için özelleşmiş olan nöronlar denilen sinir hücrelerinden oluşur. Nöron, dış ortamdan alınan bilgilerin hücrenin bir kısmından başka bir hücreye aktarılmasından sorumludur. Her bir sinir hücresinin hücre gövdesi, akson, dendrit, miyelin kılıfı, çekirdek ve akson uçları olmak üzere altı farklı elemanı vardır. Tipik bir sinir hücresinin yapısı Şekil 2.2 A'da verilmiştir. Nöronlar sinyalleri üreterek bu sinyalleri sinir hücreleri arasında aktarmaktan sorumludur. Bu veriler, nöronlar arasında dendrit aracılığı ile aktarılır. *Dendrit*, diğer hücrelerden hücre gövdesine bilgi veya uyarı ileten dal

şeklindeki yapıdır. Dendrit, bilgiyi işleyerek bilginin aktarılmasında önemli bir rol oynar. Ayrıca vücuttaki metabolik aktivitelerden de sorumludur.



Şekil 2.2. A) Nöron yapısı B) Sinapslar arasında uyarı iletimi mekanizması.

Hücre gövdesi, nöron tarafından gerçekleştirilen tüm işlemlerin merkezidir. Hücre gövdesi, büyük, yuvarlak bir çekirdek içerir. Hücre gövdesinden uzanan dendritler oldukça dallıdır ve her birinin dendritik bağlantı uçları vardır. *Akson*, sinir hücrelerine bilgi aktarımında aktif rol oynar. Hücre gövdesinde işlenen veriler aksonlar aracılığı ile nöronlara gönderilir. Bir akson, aksiyon potansiyeli olarak bilinen bir elektriksel uyarıyı yayabilen uzun bir sitoplazmik süreci gerçekleştirir (Martini, Judi et al.). Beynin tüm davranışsal işlevleri, birbirine bağlı belirli nöron grupları tarafından gerçekleştirilir. *Miyelin Kılıf*, aksonları koruyan özel bir yapı olarak adlandırılır. Miyelin kılıfın en önemli özelliği, verilerin veya uyarıların hızlı bir şekilde iletilmesini sağlamaktır.

İki hücre arasındaki bağlantıya *sinaps* denir. Bir sinapsa bulunan bu iki hücre arasındaki boşluğa "*sinaptik aralık*" denir. Pre-sinaptik nöronun sinaps aralığına salınan nörotransmitter postsinaptik nöronda bir alıcıya bağlanarak uyarıyı iletmek için aksiyon potansiyeli oluşturur (Guyton and Hall 2006). Başlangıçta, bir sinir uyarı etkisi

akson boyunca bir sinapsa doğru ilerler. Daha sonra, nörotransmitterler aksonların uzak uçlarındaki sinaptik boşluk noktalarına salgılanır. Sinaptik aralık boyunca yayılan nörotransmitter, bir sinir impulsu bir aksonun sonuna ulaştığında serbest bırakılır (Şekil 2.3 B). Son olarak, sinyal, bir post-sinaptik nörona veya başka bir hücreye ulaşan nörotransmittere bağlı olarak uyarıcı veya engelleyici olabilir.

Sinir sisteminin 3 temel işlevi vardır ve nöronlar bu işlevlere göre sınıflandırılır. Bunlar; vücudun duyular sayesinde hem içinden hem de dışından bilgi toplanmasını sağlayan duyu fonksiyon, beyin ve omurgadan gelen bilgilerin işlenmesini sağlayan entegrasyon fonksiyonu ve kaslara, salgı bezlerine, organlara uygun şekilde bilgi iletimini sağlayan motor fonksiyonudur.

2.1.1. Merkezi Sinir Sistemi

MSS, esas olarak beyin ve omurilikten oluşan sinir sisteminin bir parçasıdır. MSS optik, koku alma ve işitme sistemlerini içerir. MSS, beyin kranial boşlukta ve omurilik omurilik boşluğunda olmak üzere sırt boşluğu içerisinde yer alır (Şekil 2.1). Omurilik omurlar tarafından korunurken beyin kafatası tarafından korunur.

Beyin, jöle benzeri bir maddeye ve yaklaşık 1,5 kg ağırlığında tipik bir kütleye sahip merkezi bir sinir doku kütesidir. Beynin altı ana bölümü medulla, pons, orta beyin (üçü topluca beyin sapı olarak adlandırılır), serebellum, serebrum ve diensefalondur (talamus, hipotalamus, optik kiazma, epifiz bezi ve diğer küçük yapılardan oluşur). Bu bölümler birbiriyle bağlantılı olarak hayati süreçleri yürütmek, homeostazı sürdürmek ve zekâ, öğrenme, hafıza, duygu gibi daha yüksek işlevleri düzenlemek için çalışır. İnsan beyni, arka beyin, orta beyin ve ön beyin olarak adlandırılan üç ana bölüme ayrılır. Arka beyin, serebellum, pons ve medulla oblongata'yı oluşturmak için gelişir. Beyincik karmaşık kas hareketlerini koordine eder, medulla oblongata nefes alma ve kan dolaşımı gibi işlevleri kontrol eder. Orta beyin, göz hareketi, duyma ve görme fonksiyonu gibi birçok önemli işlevi kontrol eder. Substantia nigra (siyah cisim), orta beynin bir parçasıdır ve vücut hareketinin kontrolünde yer alır. Substantia nigra, çok sayıda dopaminerjik nöron içerir. Bu nöronların dejenerasyonu Parkinson hastalığına yol açar. Ön beyin, beyin en büyük kısmıdır. Serebral hemisferleri, talamus, hipotalamus ve limbik sistemi (korpus kallozum, hipokampus ve amigdala) içerir. Ön beyin duyu ve motor işlevleri, sıcaklık düzenlemesi, üreme fonksiyonları, yemek yeme ve uyumayı kontrol eder. Beyin ayrıca fiziksel destek, koruma ve besin takviyesi sağlayan bağ dokusu ve kan damarlarını da barındırır. Beyin, beyni kafatasından ayıran meninks adı verilen bir bağ dokusu ile

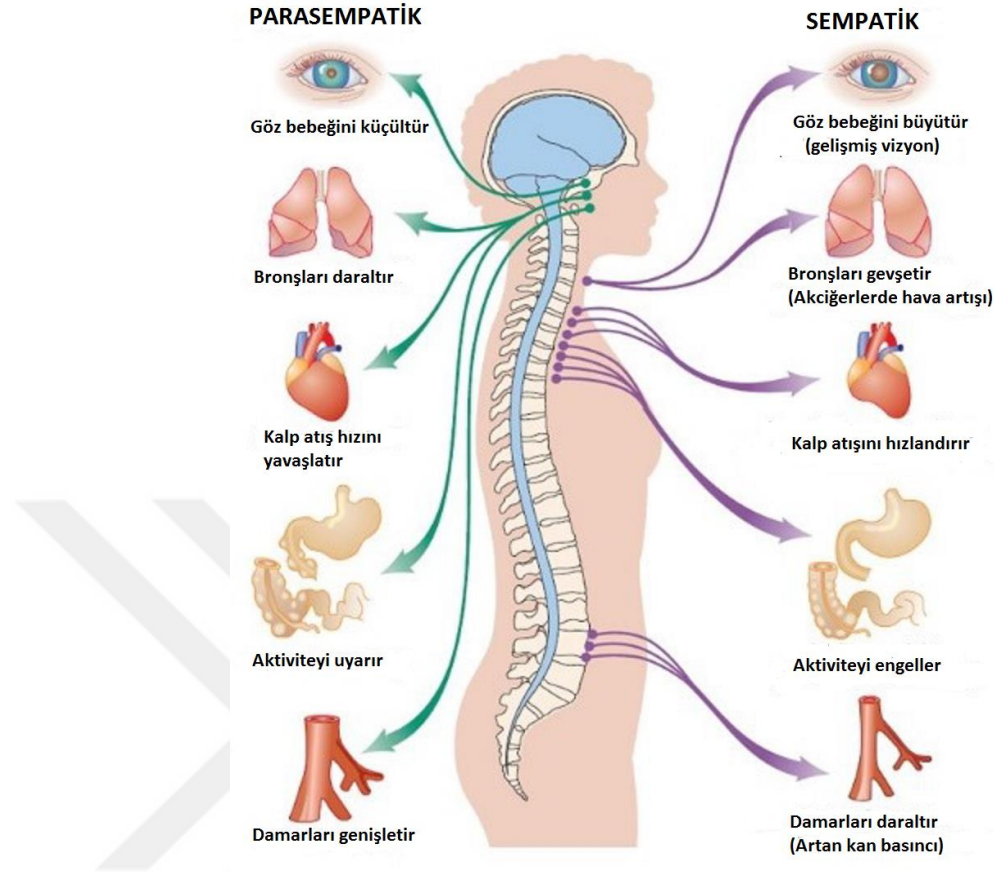
çevrilidir. Bu üç katmanlı zar dura mater, araknoid mater ve pia mater tabakalarından oluşur. Beyin, beyin omurilik sıvısı adı verilen bir sıvı içerisinde bulunur. Bu sıvı beyni mekanik şoklardan korur, metabolik atıkların uzaklaşmasını sağlar ve beynin kafatası içerisinde yüzmesine yardımcı olur. Sinir hücreleri ve glial hücreler (nörogliya) beynin çoğunluğunu oluşturur (Farley, Johnstone et al. 2014).

MSS'nin ikinci çok önemli kısmı omuriliklidir. Omurilik, beynin medullasından uzanan uzun, ince, tüp şeklinde bir sinir dokusu demetidir. Omurgadan daha kısadır, birinci ve ikinci bel omurları arasında biter. Omuriliğin içinde bulunduğu omur kanalı, omuriliği beyne giden mekanik etkilerden korur. Omurilik, beyin sapından devam eder ve beyne giden veya beyinden gelen duyuşsal bilgileri içeren uyarıların bir vericisi olarak çeşitli uyarılara refleks tepkiler oluşturulması için bir merkez olarak işlev görür (Scanlon and Sanders 2018). Omurilik, beyinden vücut bölümlerine giden motor bilgileri taşır, omurilikten beyne doğru giden duyuşsal bilgileri taşır ve belirli refleksleri koordine etmek için merkez görevi görür.

2.1.2. Periferik Sinir Sistemi

PSS, beyin ve omurilik dışındaki vücudu çevreleyen tüm sinir dokularını kapsayan sinir sistemidir. Bu sinirler spinal sinirler, nöronların uyarı etkisini MSS'ye ilettiği afferent (getiren) sinirler, nöronların uyarı etkisini uyarılan organlara taşıdığı efferent (götüren) sinirler ve beyne bağlı kranial sinirleri içerir. İç ve dış uyarılarda meydana gelen değişiklikleri işleyen ve bu bilgiyi MSS'ye ileten duyuşsal reseptörlerden oluşur. PSS iki kısımda incelenebilir: (1) istemli veya çizgili kasın aktivitesini kontrol eden somatik sinir sistemi ve (2) kan damarları, kalp gibi iç organlar ve salgı bezleri gibi diğer iç organların düz kaslarının aktivitesini kontrol eden otonom sinir sistemi. Somatik sinir sistemini oluşturan duyuşsal ve motor sinirler, duyuşsal girdiyi MSS'ye ve MSS'den gönderilen motor çıktıyı ise ilgili kas sistemine ileterek istemli hareket kontrolünü sağlarlar. Otonom sinir sistemi ise vücuttaki solunum, kalp hızı, kan basıncı, sindirim ve kalp hızı gibi istem dışı veya bilinçsiz hareketleri koordine eder (Catala and Kubis 2013). Şekil 2.3'te sunulduğu üzere sempatik sinir sistemi, vücudu stresli ya da acil durumlara hazırlamak için tehlike anında kalp atış hızını ve kalp kasılmalarının gücünü artırır ve nefes almayı kolaylaştırmak için hava yollarını genişletir. Vücutun depolanan enerjiiyi serbest bırakmasına neden olur. Aynı zamanda avuç içlerinin terlemesine, göz bebeklerinin genişlemesine, acil durumlarda daha az önemli olan sindirim ve idrara çıkma gibi vücut süreçlerinin yavaşlamasına yol açar. Parasempatik sinir sistemi ise sıradan durumlarda vücut sürecini kontrol eder. Genel olarak,

parasempatik sinirler korur ve onarır, kalp atış hızını yavaşlatır, kan basıncını düşürür ve yiyecekleri işleyip atıkları ortadan kaldırmak için sindirim sistemini uyarır.

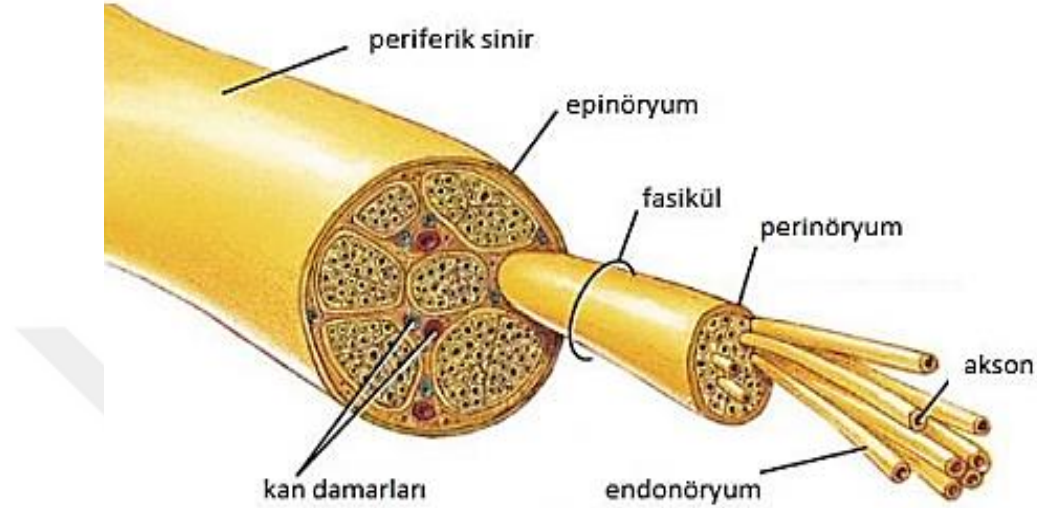


Şekil 2.3. Otonom sinir sistemi (Bernstein 2018).

2.1.2.1. Periferik Sinirin Anatomik Yapısı

Periferik sinir sistemi, spinal sinirler, kranial sinirler, afferent sinirler, efferent sinirler ve bunların dallarından oluşur. Bu PSS bileşenlerindeki tümü destekleyici Schwann hücreleri tarafından çevrelenmiş sinir lifleri, otonomik veya somatik, miyelinli veya miyelinsiz olabilir (Stewart and nerve 2003). Periferik bir sinir gövdesindeki her bir sinir lifi, her bir aksonun etrafında oluşan kolajen bazlı destekleyici bir bağ dokusu olan endonöryum ile çevrilidir (Şekil. 2.4). Endonöryum, yapısında elastin ve az sayıda fibroblast ile esnemeye karşı direnç gösterir. Endonöryum tarafından çevrelenen lifler, fasikül adı verilen sinir demetlerinde bir araya toplanır. İnsan sinirindeki fasiküllerin çapı 200 ila 800 µm arasında değişebilir (Delgado-Martínez, Badia et al. 2016). Fasiküller, miyelinli veya miyelinsiz lifleri çevreleyen endonöryal sıvının korunmasından sorumlu özel bir doku olan perinöryum ile çevrilidir. Perinöryum esas olarak perinöral hücre katmanlarından ve kolajenden oluşur. Sinir fasikül grupları, epinöryum adı verilen bir bağ dokusu ile çevrilidir. İki farklı katmandan oluşan bu

doku, sinirin kesit alanının %25 ila 75'ini oluşturur. İç epinöryum adı verilen iç tabaka, tek tek fasiküller arasındaki boşlukları dolduran, onları dış basınçtan koruyan ve uzunlamasına hareketi destekleyen kolajen liflerinden oluşmuştur. Dış epinöryum adı verilen dış tabaka ise tüm fasikülleri bir arada tutarak yapısal stabiliteyi korur.



Şekil 2.4. Periferik sinir lifi yapısı

2.1.3. Periferik Sinir Yaralanmaları

Periferik sinir yaralanması, ekstremitelerde (el ve ayaklar) distallerindeki motor yeteneklerin kaybı nedeniyle yaşam kalitesini doğrudan etkileyen hastayı çok büyük bir sosyal ve ekonomik yüke maruz bırakan yaygın ve kritik bir sağlık sorunudur (Wang, Inaba et al. 2017). Nöral travmanın nedenleri arasında birincil sırada penetran (delici) travma ve daha sonra transeksiyon, traksiyon ve kompresyon, iskemi (bir organa veya vücudun bir kısmına, özellikle kalp kaslarına yetersiz kan temini), elektrik çarpması ve vibrasyon yer alır (Panagopoulos, Megaloikonomos et al. 2017).

Çevresel sinir hasarı düzeyini değerlendirmek için Seddon ve Sunderland'ın sınıflandırmaları kullanılır. Seddon (1943), farklı periferik sinir hasarı histolojilerini kategorize etmek için nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezisi olmak üzere bir sınıflandırma sistemi geliştirdi. Daha sonra Sunderland (1951), aksonotmezisi üç ayrı dereceye bölerek Seddon'un sınıflandırmasını beş kategoriye genişletti ve son ikisi cerrahi müdahale gerektiren toplam beş derece elde etti (Tablo 2.1).

Seddon sınıflandırmasına göre hasarlar hasar seviyeleri esasına dayanarak 3'e ayrılır.

- 1) **Nöropraksi:** Bu tip yaralanmalar sonucu akson devamlılığı bozulmaz. Sinirde bölgesel olarak görülen iletim bozukluğu, 12 hafta içinde iyileşme gösterir.
- 2) **Aksonotmezis:** Nöropraksiye göre onarımı daha zordur. PSS'de akson devamlılığının kesintiye uğramasından kaynaklanır. Hasarın distal kısmında Wallerian dejenerasyonu gelişir. Bağ dokusu ve bazal membran devamlılığı bozulmadığı için kurtarma derecesine göre kurtarılıp kurtarılamayacağı önceden tahmin edilebilir. Kurtarma derecesi, hasarlı bölgeden uzaklaştıkça artar. Onarım birkaç ayı bulabilir.
- 3) **Nöromezis:** En şiddetli yaralanmayı gösterir. Akson, Schwann hücreleri, endonöral tüpler tamamen hasar görmüştür. Cerrahi müdahale gerektirir (Dvali and Mackinnon 2003).

Sunderland sınıflandırmasına göre hasarlar seviyelerine göre Tablo 2.1'de verildiği gibi 5'e ayrılır. Birinci derece yaralanma, Seddon sınıflandırmasındaki nöropraksiye karşılık gelir. Bölgesel bir iletim bloğu bulunan demiyelinizasyona sebep olur. Tip I yaralanmalarda, yeniden büyüyen aksonun, daha önce zarar görmemiş aksonu çevreleyen bozulmamış "bazal lamina tüneli" içinde büyümesi sağlanır. Akson hasarı olmadığından remiyelizasyon sonrası tam iyileşme gözlenir. Tip II, tip III, tip IV yaralanmaları Seddon sınıflandırmasındaki aksonotmezise karşılık gelir. Tip II yaralanmalarında akson hasarı gözlenir ve distal uç Wallerian dejenerasyona uğrar. Proksimal sinir lifleri ayda bir inç hızında rejenerasyona uğrarlar. Bağ dokusu yaralanmadığından tam iyileşme beklenir. Üçüncü derece yaralanmada tip II'den farklı olarak endonöryum da zedelenmiştir. Hasarlı doku, bazı onarım gösteren sinir liflerini etkileyeceği için, eğer kesip çıkarılmaz ise tam iyileşme gözlenmez. Dördüncü derece yaralanmada perinöryum da hasar görür. Sinir devamlılığı hasar görmeyen epinöryum ile korunur. Diğer daha düşük hasar derecelerine göre daha çok fibrozis ve hasar kalıcılığı riski vardır. Hasarlı doku kesip çıkarılmadıkça veya greft kullanılmadıkça tam iyileşme gözlenmez. Beşinci derece yaralanmalarda epinöryum da hasarlıdır ve sinirde tam kopma söz konusudur. Kopan uçlar uç uca getirilmediği sürece iyileşme şansı yoktur (Nukavarapu, Freeman et al. 2015).

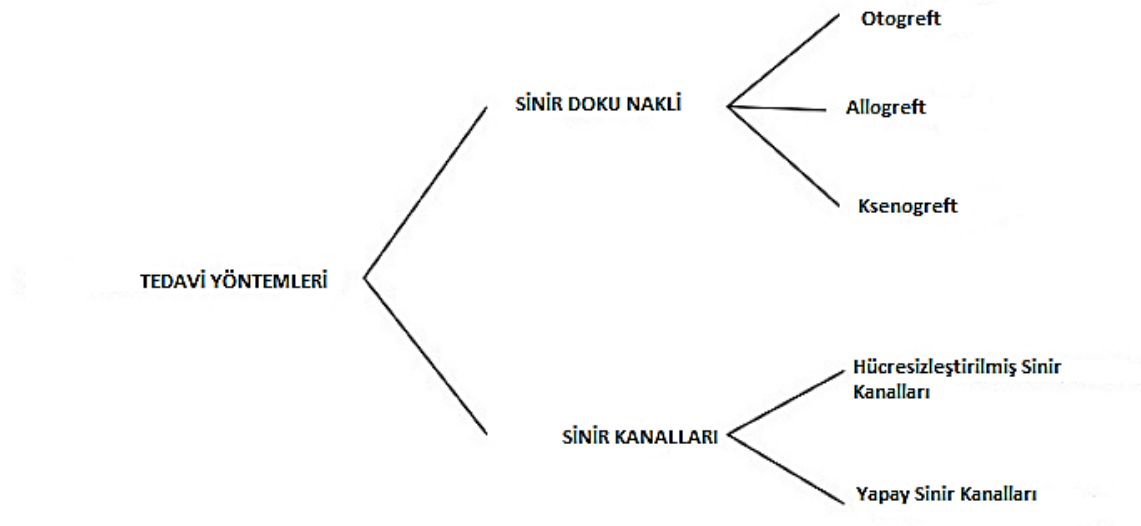
Bu sınıflandırmalar, spesifik yaralanma modellerinin histolojisine dayanmaktadır; ancak çoğu sinir lezyonu karışık patoloji gösterir. Bu nedenle, bu karışık patolojiyi tanımlamak için 6. derece bir sinir hasarı önerilmiştir (Sullivan, Dailey et al. 2016).

Tablo 2.1. Sunderland'in periferik sinir yaralanması için derecelendirme sistemi

Derece	Tanım
Derece I	- Nörapaksi: Sinir iletim blokajı nedeniyle duyuşsal ve motor fonksiyonda geçici kayıp - Aksonal bozulma olmadan bölgesel demiyelinizasyon - İskemi, kompresyon veya toksisite gibi hafif yaralanmalar
Derece II	- Aksonotmezis: Nöral stroma (endonöryum, perinöryum ve epinöryum) sağlam kalırken, miyelin kılıfıyla birlikte akson geri dönüşümsüz olarak bozulur. - Distal sinir Wallerian dejenerasyona uğrar. - Ezilme, aşırı gerilme ve titreşim yaralanmaları
Derece III	- Aksonal ve endonöral devamlılık kaybı
Derece IV	- Aksonal, endonöral ve perinöral devamlılık kaybı
Derece V	- Nörotmezis: Akson, miyelin kılıf ve nöronal stroma geri dönüşümsüz olarak hasar görür. - Laserasyon (dokuların yırtılmasıyla oluşan yaralar), nörotoksisite gibi ciddi lezyonlar

2.1.4. Geleneksel Tedavi Yöntemleri

Sinir dokuda meydana gelen hasarlarda nöral bağlantının yeniden kurulması için farklı teknikler uygulanır. Direkt sütür yöntemi, genellikle daha kısa aralıklar için herhangi bir sinir grefti kullanılmadan tercih edilen konvansiyonel tekniklerden biridir. Küçük boşluklu sinir hasarları için altın standart olarak kabul edilir (Noah, Williams et al. 1997). Daha büyük boşluklar için de bu yöntem uygulanabilir, ancak dikişin daha uzun hasarlar için yüksek gerilime neden olabileceği ve operasyonun verimini düşürdüğü iddia edilmektedir. Fibrin yapıştırıcı ise biyolojik veya sentetik yapıştırıcı kullanımına dayanan bir diğer tekniktir. Sinir uçlarını kapatmak için kullanılır ve cerrahi yöntemlere göre avantajlıdır. Fibrozis ve inflamasyon riski diğer tekniklere göre daha düşüktür, iyileşme ve ameliyat süresi ise dikişe göre daha kısadır. Ancak sinirdeki fibrin birikiminin, PSS yaralanmasından sonra rejenerasyon için gerekli olan lezyona Schwann hücresi alımını engellediğini iddia eden raporlar da vardır (Akassoglou, Akpınar et al. 2003). Bu nedenle fibrin yapıştırıcının periferik sinir yaralanmalarının tedavisinde sınırlı ve çelişkili olduğu söylenebilir (Koulaxouzidis, Reim et al. 2015). Hasarlı bölgenin kesilmesi sonrası sinir uçları arasındaki sinir boşluğunun çok fazla olduğu durumlarda, kayıp parçaların yeniden büyümesi ve sinir uçlarının fonksiyonel bağlantısının yeniden kurulması imkânsızdır. Bu nedenle, sinir uçlarını birleştirmek ve aksonal büyümeyi yeniden desteklemek için kesilen sinir uçları arasına bir çeşit greftin (doku nakli) yerleştirilmesi gerekir (Gu, Ding et al. 2014). Şekil 2.5'te gösterildiği gibi sinir yaralanmalarının tedavisi için çok çeşitli sinir kanalı teknikleri mevcuttur.



Şekil 2.5. Sinir doku onarımı için tedavi yöntemleri (Gu, Ding et al. 2014)

Aynı türün farklı bireylerinden türetilmiş doku ile distal ve proksimal sinir uçlarının bağlanması için allogreftler kullanılır. Başka bir türün üyesinden izole edilen ksenogreftler ise aksonal yeniden büyümeye rehberlik için bir destek olarak kullanılır (Arslantunali, Dursun et al. 2014). Bununla birlikte, bu uygulamalarda konakçı dokudan kaynaklı hastalık bulaşma ve enfeksiyon riski vardır. Bu nedenle, bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaçlarının kullanılması gereklidir. Ancak bu durumda, uzun süreli bağışıklık baskılanması, enfeksiyon riskinde artışa, iyileşme hızında azalma ve hatta tümör oluşumuna yol açabilir (Li, Liu et al. 2014). Bu dezavantajları ortadan kaldırmak amacıyla araştırmacılar, immünojenik olmayan bir greft elde etmek için allojenik sinir greftlerinden tüm hüresel bileşenleri çıkarmaya çalışmaktadırlar. Klinik çalışmalar, bu immünojenik olmayan aselüler (hüresiz) allogreftlerin, özellikle kısa sinir boşlukları için PSS yaralanmalarında rejenerasyona yönelik umut verici bir seçenek olduğunu kanıtlamıştır. Konak Schwann hücreleri, aksonlar ve inflamatuvar hücreler greft içine göç eder ve hasar sonrası sinir kütüğü oluşumunu destekler. Ancak daha uzun boşluklu sinir hasarlarında, ECM proteinleri greft üzerinde aksonal uzamayı tetikleyebilecek kadar üretilmediğinden, Schwann hücrelerinin eksikliği rejenerasyon verimliliğini sınırlamaktadır. Bu nedenle, bu hüresiz allogreftlerin performansını artırmak için araştırmalar halen devam etmektedir (Zhang, Luo et al. 2010, Li, Liu et al. 2014).

Aynı kişiden fakat vücudun başka bir kısmından elde edilen otolog greft, uzun boşluklu sinir yaralanmalarını onarmak için altın standart teknik olarak kabul edilir. Ancak aynı vücuttan nakledilen bir sinir kesiti olduğu için bazı dezavantajları vardır. Bunlar verici bölgede fonksiyon kaybına neden olması, grefti elde etmek için ikinci bir

ameliyat gerektirmesi ve donör-alıcı dokuların boyutunun birbiriyle uyumsuz olma olasılığıdır. Bunun dışında, birkaç farklı uzunluktaki sinir lezyonlarının iyileşmesi için gerekli donör sinir yetersizliği, nakil edilen bölge sinir uzunluğu ile nakil yapılan bölge sinir uzunluğu arasında uyumsuzluk, tümör oluşumu ve fonksiyonel iyileşme başarısızlığı olasılığı diğer kısıtlamalar arasında yer almaktadır (Johnson and Soucacos 2008, Daly, Yao et al. 2012).

Cerrahi müdahalelerde karşılaşılan bu sorunların üstesinden gelmek için ve Wallerian dejenerasyona neden olan skar doku engellemesini önlemek için yaralanan sinir kütükleri arasındaki boşluğun sentetik bir kanal içine alındığı SKK adı verilen yeni bir yaklaşım geliştirilmiştir (Taras, Jacoby et al. 2008). Bu durumda greft, biyolojik olarak uyumlu ve genellikle biyolojik olarak parçalanabilen biyomalzemelerden yapılır. Bu nakillerin 3D yapısı doğal doku yapısını taklit eder ve asıl amaç lezyondaki boşluğu doldurmaktır. İskele, yenilenen aksonlar ve göç eden Schwann hücreleri için bir kılavuz görevi görür (Schmidt and Leach 2003). Ancak kendi başlarına fonksiyonel iyileşmeyi desteklemezler, sadece rejenerasyon sürecini desteklerler. Bu sinir greftini oluşturmak için doğal polimer ve sentetik polimerler gibi çeşitli biyomalzemeler kullanılır.

Son yıllarda, hücreleştirilmiş hücre dışı matrisi (dECM) doku rejenerasyonu için bir malzeme olarak kullanan yeni bir yaklaşım ortaya çıkmış ve bunları sinir kanalları için biyomateryallerin geliştirilmesine yönelik uygulayan çok sayıda araştırma yapılmıştır (Ahn, Min et al. 2017, Gao, Guo et al. 2017). dECM yaygın olarak fazla hücresel bileşenleri uzaklaştırmak için sağlıklı dokuların/organların kimyasal veya fiziksel yöntemlerle işlenmesiyle elde edilir, böylece sadece doğal dokuların mikro-ortamını taklit eden yapısal proteinler, glikozaminoglikanlar ve çeşitli büyüme faktörleri gibi biyolojik etkenler korunur (Heng, Gong et al. 2017, Zhao, Wang et al. 2018). Böylece dECM, hücrelerin gelişmesi için doğal doku yapısına benzer mikro-ortam sağlayabilir.

2.2. Doku Mühendisliği

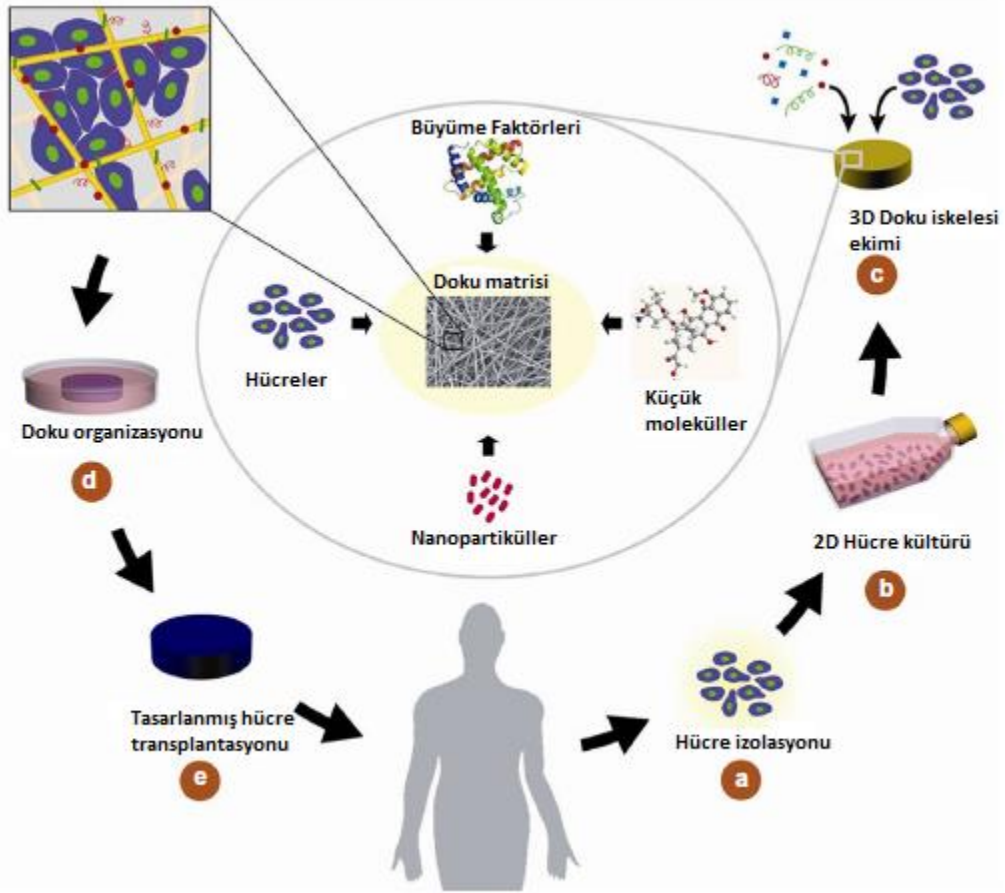
Doku mühendisliği, kaybedilmiş doku işlevlerini dokuya geri kazandıran veya fonksiyonlarını destekleyerek sürdüren doğal dokuya denk biyolojik alternatifler geliştirmek için mühendislik ve yaşam bilimleri ilkelerini birleştiren disiplinler arası bir bilim dalıdır (Fernandes, Moroni et al. 2009). Bu alternatifler, doku mühendisliği alanında önemli bir rol oynar, çünkü hücresel büyüme, çoğalma ve 3D yeni doku oluşumu için matrisler olarak kullanılırlar.

Doku mühendisliğinde hastalıklı veya hasarlı dokuların tedavisi için üç genel strateji mevcuttur. İlk strateji, izole edilmiş veya kültürlenmiş hücrelerin yaralanma bölgesine implantasyonudur. Hasarlı bölgeye aşılana hücrelerin dokudaki fonksiyonlarını sürdürememesi veya dokunun immünolojik olarak hücreyi kabul etmemesi bu uygulamayı kısıtlamaktadır. İkinci strateji, in vitro olarak birleştirilen dokunun implantasyonudur. Bu yaklaşımın başarısı ise büyüme faktörleri gibi uygun sinyal moleküllerine ve bu molekülleri hedeflerine ulaştıracak yöntemlerin geliştirilmesine bağlıdır. Üçüncü strateji, bölgenin doğal yerinde (in situ) oluşmasını sağlayacak doku rejenerasyonudur. İyileşme ve doku rejenerasyon sürecine katkı sağlamak için tasarlanmış bir iskele, vücudun dokunun kaybolduğu bölgesine implantasyon yoluyla yerleştirilir. In vivo doku mühendisliği tekniğinden farklı olarak, vücudun dışındaki dokunun yenilenmesi için hücreler iskele üzerine kültürlenir ve daha sonra tasarlanmış doku hasarlı bölgeye implantasyon yoluyla yerleştirilir. 2. ve 3. stratejiler için, vücudun kendi hücrelerini bölgesel doku onarımına teşvik etmesi için uyaran ve doğrudan hasarlı dokuya yerleştirilen biyomalzeme tabanlı iskeleler gereklidir (Griffith and Naughton 2002).

İnsan vücudu, doku ve organlardan oluşan karmaşık ve iyi organize edilmiş bir sistemdir. Hücre büyümesi için gerekli besinler, oksijen ve uygun ortam dokularda mevcuttur. ECM, dokuların bileşeni, memeli dokularındaki hücreleri çevreleyen ve destekleyen karmaşık bir yapıdır. ECM 3 ana biyomolekül sınıfından oluşur: (1) esas olarak kolajen ve elastin gibi yapısal proteinler, (2) fibrillin, fibronektin ve laminin gibi özel proteinler ve (3) uzun disakkarit ünitelerinin tekrarlanan proteinleri olan Glikozaminoglikanlar (GAG) olarak adlandırılan proteoglikanlar (Fernandes, Moroni et al. 2009). ECM, lif boyutları nanometre ölçeğine kadar olan lifli yapıdan meydana gelir (Liu, Ding et al. 2013). Doku mühendisliği, doğal ECM'nin işlevlerini ve karmaşık morfolojik yapısını oldukça taklit eden iskelelerin üretimine odaklanır. Buna göre nanoteknolojideki son gelişmeler, doğal ECM' nin fonksiyonlarını ve morfolojisini taklit etmek için nanofiberlerin araştırılmasına yol açmıştır (Karuppuswamy, Venugopal et al. 2014).

Doku mühendisliği, hasarlı dokunun veya işlevinin onarılması ve fonksiyonun geri kazanılması için triad sistemi olarak bilinen doku iskelesi, hücreler ve büyüme faktörlerinden oluşan üç temel bileşene dayanır (Şekil 2.6) (Li, Laurencin et al. 2002):

- (1) Doku iskelesi, istenen özelliklere sahip destek sistemi, hücrelerin konak dokulardan in vitro veya in vivo büyütülebildiği biyomateryal tabanlı üç boyutlu yapı matrisleri sağlar (Vogel and Baneyx 2003).
- (2) Yetişkin veya embriyonik kök hücreler veya herhangi bir aşamadaki dokuya özgü yetişkin hücrelerin kullanımı, hücrelerin farklılaşması veya olgunlaşması için iskeleye ekilebilir ve dokuların hasarlı işlevlerini geri kazandırabilmek için vücuda nakledilebilir (Kim and Mooney 1998).
- (3) Kök hücrelerinin ilgili hücre soylarında büyümesine yardımcı olan sinir hücreleri için nörotrofik faktörler, fibroblast büyüme faktörleri gibi kimyasal sinyal olmalıdır (Freed, Vunjak-Novakovic et al. 1994).



Şekil 2.6. Doku mühendisliği uygulamalarının şematik gösterimi (Afshari 2016)

2.2.1. Doku Mühendisliği İskeleleri

İdeal doku iskelesi, hücre tutunması ve rejenerasyon sürecinde büyümenin temeli olduğu için doğal dokunun veya otogreftin içsel özelliklerini belirler (Hasirci and Hasirci 2018). Bu nedenle, ideal mikro ortamın yeniden yaratılması için iskelenin

fiziksel ve kimyasal formu çok önemlidir. İdeal bir iskele her şeyden önce biyoyumluluk göstermelidir, yani iskelenin üretildiği malzeme (ve bozunabilirse yan ürünleri), konakçı dokuda sitotoksisite, genotoksisite, hemotoksisite veya kanserojenlik gibi herhangi bir olumsuz etki göstermemelidir. Uygulamada gerekirse, ideal bir iskele, rejenerasyon hızına karşılık gelen kontrollü bir bozulma hızı göstermelidir. İskele erozyonu ve yeni doku oluşumu arasındaki bu uyum, iyileşme süreci boyunca konakçı dokunun yaralanma bölgesini yavaşça ele geçirmesini sağlayarak implantı çıkarmak için başka bir cerrahi prosedür ihtiyacını ortadan kaldırır.

Hücrelere iyi uyum sağlamak için, yapı iskelesinin yüksek gözenekliliğe, yeterli gözenek boyutuna (200-300 μm), hücre penetrasyonuna, doku büyümesine, uygun hücre bağlanmasına, yeterli besin akışına, büyüme faktörlerine ve atıkların geçişine izin veren iyi gözenek bağlantısına sahip olması gerekir.

Gözenekler, doku oluşumu için gereklidir çünkü hücrelerin göçüne, çoğalmasına ve ayrıca vaskülarizasyona (damar oluşumu) izin verirler. Doku büyümesini teşvik etmek için, iskelenin hücre bağlanmasına izin verecek geniş bir yüzey alanına sahip olması gerekir. Bu iskelelerde, gözenek boyutu, hücrelerin gözeneklere nüfuz etmesi için yeterince büyük olmalıdır ve gözenekler, yapı içindeki derin hücreler tarafından besin ve atık alışverişini kolaylaştırmak için birbirine bağlanmalıdır (Karageorgiou and Kaplan 2005).

İskeleler filmler, köpükler ve lifler gibi çok farklı yapıya sahip farklı şekillerde üretilmiştir. Tüm bu iskele tipleri doku mühendisliğine uygunluğu açısından test edilmiştir. Başlangıçta, köpük ve film türleri daha popülerdi, ancak son zamanlarda lifli yapı iskelelerinin kullanımında bir artış olmuştur. Bazı yeni çalışmalar, lif çapı hücrelerin çapından daha küçük olmasına rağmen hücrelerin nanofiber yapılara iyi bağlandığını, büyüdüğünü ve düzenlediğini göstermiştir. Besin ve atıkların hızlı bir şekilde transferini sağlayan yüksek gözeneklilik ve hücrelerin tutunması için geniş yüzey alanları başarılı bir iskelede bulunması gereken özelliklerdir (Teixeira, Abrams et al. 2003). Nanometre ölçeği kadar küçük fiber çaplarına sahip lifli yapı iskeleleri, doku mühendisliği için oldukça elverişli bulunmuş olduğundan, bu lifli yapıların üretimi için süreçlerin geliştirilmesi için kapsamlı bir araştırma sürdürülmektedir.

2.2.1.1. Biyoyumluluk

Biyoyumluluk, doku mühendisliği uygulamaları için biyomateryal kullanımını sınırlamanın ana kıstasıdır. Biyoyumluluk, “yan etki yaratmadan canlı bir sistemle

temas halinde olma yeteneği ve bir malzemenin belirli bir uygulamada uygun bir konak yanıtı ile performans gösterme yeteneği” olarak tanımlanmıştır (Vert, Doi et al. 2012). Ayrıca biyouyumluluk malzemenin biyolojik olarak bozunabilirliği ile de doğrudan ilişkilidir. Dokunun bir implanta yanıtı, materyallerin kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklerinden implantın şekline ve yapısına kadar uzanan çok sayıda faktöre bağlıdır. Biyolojik olarak bozunabilir biyomalzemeler söz konusu olduğunda, zaman içinde bunların süregelen aktif biyouyumlulukları gösterilmelidir. Biyolojik olarak bozunur bir materyalin kimyasal, fiziksel, mekanik ve biyolojik özellikleri zamana göre değişir ve başlangıç ana materyaline göre farklı doku uyumluluğu seviyelerine sahip bozunma ürünleri üretilebilir (Burg, Porter et al. 2000).

2.2.1.2. Biyobozunurluk

Polimerik biyomalzemelerin biyodegradasyonu, polimer erozyonuna yol açan polimerdeki hidrolitik veya enzimatik olarak hassas bağların bölünmesini içerir. İskeleler, kalıcı implantlar olarak tasarlanmamıştır. Bu nedenle, hücrelerin kendi hücre dışı matrislerini üretmelerine izin vermek için yapı iskelesi biyolojik olarak parçalanabilir olmalıdır. Malzemenin bozunması sonucu açığa çıkan yan ürünleri de toksik olmamalı ve diğer organlarla etkileşime girmeden vücuttan çıkabilmelidir (Wang, Robertson et al. 2004, O'brien 2011). Biyobozunurluk oranı, yeni doku büyüme oranına ve mekanik desteğe uyacak şekilde tasarlanmalıdır. Ayrıca, yerleştiren yabancı maddenin ürünleri konağın fizyolojik sisteminden atılır. Biyomalzemelerin biyolojik olarak bozunabilir olması ve vücutta toksik etki veya toksik yan ürünleri olmadan kullanımı öncelikle uygulamanın güvenliği prensibi ile ilgilidir. Böylece, toksikliğin biyolojik uyumluluk için büyük bir rolü vardır, çünkü kimyasal hasar nedeniyle hücrelerin işlevinde hafif veya geri dönüşü olmayan bir değişikliğe neden olabilir. Hücrenin işlevindeki değişiklik hücre ölümüne neden olabilir (Black 2005).

2.2.1.3. Yüzey Özellikleri

İskele yüzey özellikleri hücresel yapışmayı, hücre göçünü ve proliferasyonu etkiler. Yüzey kimyası, hücresel yapışma için ana faktördür çünkü hücre-malzeme arasındaki yüzeye, çevresel ortamdan alt tabaka (substrat) üzerine adsorbe edilen proteinler aracılık eder. Bununla birlikte, güçlü bir hücre yapışmasına izin veren oldukça yapışkan bir yüzey de hücre immobilizasyona neden olabilir. Biyomalzemenin mikro topografyası hücrenin büyüme ve yayılma davranışını etkiler. Pürüzsüz

yüzeylerde, hücreler yayılabilir ve belki de substrata katılarak daha fazla sayıda ECM'ye bağlanan hemidesmozomları oluşturabilirler. Biyomalzemenin gözenekliliği ve gözenek büyüklüğü de iskeleler için önemlidir. Biyomateryalin gözenekliliği ve gözenek boyutu, hücre dokusuna bağlı olarak daha iyi hücre çoğalması için ayarlanmalıdır (Ratner, Hoffman et al. 2004, Dahman 2019).

Ek olarak, yüzey özellikleri biyomateryalin biyouyumluluğunu ve “biyotanınması” geliştirir. İdeal bir doku iskele malzemesi; hidrofobiklik, elektriksel yük, pürüzlülük, sertlik/yumuşaklık ve kimyasal bileşim gibi yüzey özelliklerini belirlemede önemli bir rol oynar.

2.2.1.4. Mekanik Özellikler

İmplantasyon sırasında cerrahi kullanım sağlamak için iskelenin yüksek mekanik dayanıma sahip olması gerekir. İskelenin düşük mukavemeti ve sertliği yumuşak doku uygulamalarında kullanımı kısıtlar. İskele, hasarlı dokuya mekanik ve şekil sabitliği sağlar, dokuya sertlik ve sabitlik verir. Bu nedenle, iskele için kullanılan biyomalzemelerin yapısal ve mekanik özellikleri (gerilme mukavemeti, elastiklik, malzeme arayüzü adsorpsiyonu ve bozunma kinetiği), konakçı doku ile eşleşmelidir (Dhandayuthapani, Yoshida et al. 2011).

Son çalışmalar, hücre yapışması ve morfolojisi için bir iskelenin mekanik özelliklerinin önemini vurgulamıştır. Bir substrat üzerine çekiş kuvvetleri uygulandığında, epitel hücreleri, fibroblastlar, kas hücreleri ve nöronlar gibi birçok olgun hücre tipi, substratın sertliğini algılar ve farklı morfoloji ve tutunma özellikleri gösterir (Chan and Leong 2008).

2.3. Nanoteknoloji

Günümüzde popülerliği giderek artan ve hemen hemen tüm mühendislik disiplinlerine ve bilim dallarına uygulanabilirliği olan nanoteknoloji, gerçek dünya teknolojilerinin nano boyuta indirgenmesidir. Bir nanometre bir metrenin 100 milyonda biri, 10^{-9} 'dur ve nanoteknoloji maddenin atomik ve moleküler düzeyde, yaklaşık 1-100 nm arası ölçekte kontrolü veya yeniden yapılandırılması sürecini kapsar. Diğer bir tanımla nanoteknoloji, klasik mekanikten kuantum mekaniğine geçiş alanında uygulanan teknolojilerdir. Klasik mekanik, çıplak gözle görebildiğimiz tüm cisimlerin hareketini kapsarken; kuantum mekaniği, elektron, proton, nötron gibi atom altı

parçacıkların hareketlerini olasılığa dayalı olarak ele alır (El Naschie and Fractals 2006).

Nanoteknoloji, tek tek atomlardan veya moleküllerden mikron altı boyutlara kadar değişen ölçeklerde fiziksel, kimyasal ve biyolojik sistemlerin üretimini, uygulanmasını ve elde edilen nanoyapıların daha büyük sistemlere uyarlanmasını sağlar (Bhushan 2017). Birçok kritik araştırma alanı (işleme, katalitik, optik, elektrik, mekanik, vb.) nanoteknoloji alanındaki yeni teknolojik gelişmelerden, özellikle nanomalzemelerin kullanımından yararlanmaya başlamıştır (Webster, Waid et al. 2003). Bu teknoloji ile malzemelerin nano boyutta parçacık, elyaf ve malzeme türevlerinin üretimi sağlanır. Nano boyuttaki malzemeler genel olarak ince filmler, kuantum noktaları, nanofiberler, nanoçubuklar, nanotüpler, nanoteller, nanokristaller ve nanoköpükler gibi farklı yapılarda bulunabilir ve geleneksel dökme malzemelerin kimyasal, enerji emilimi, biyolojik hareketlilik gibi özelliklerinden farklı kendilerine özgü özellikler sergilerler (Roco and technology 2007). Bunun en önemli sebebi maddeye nanoboyutlarda etki edebilen kuantum çekim yasalarıdır (El Naschie and Fractals 2006). Nanomalzemelerin bu özelliklerinden yola çıkılarak kullanım amacına uygun üstün malzeme özellikleri gösteren, kullanım alanına uygun olarak daha dayanıklı, daha hafif, daha hızlı yapılar veya biyolojik sistemler oluşturularak mevcut problemlere çözüm üretilebilir.

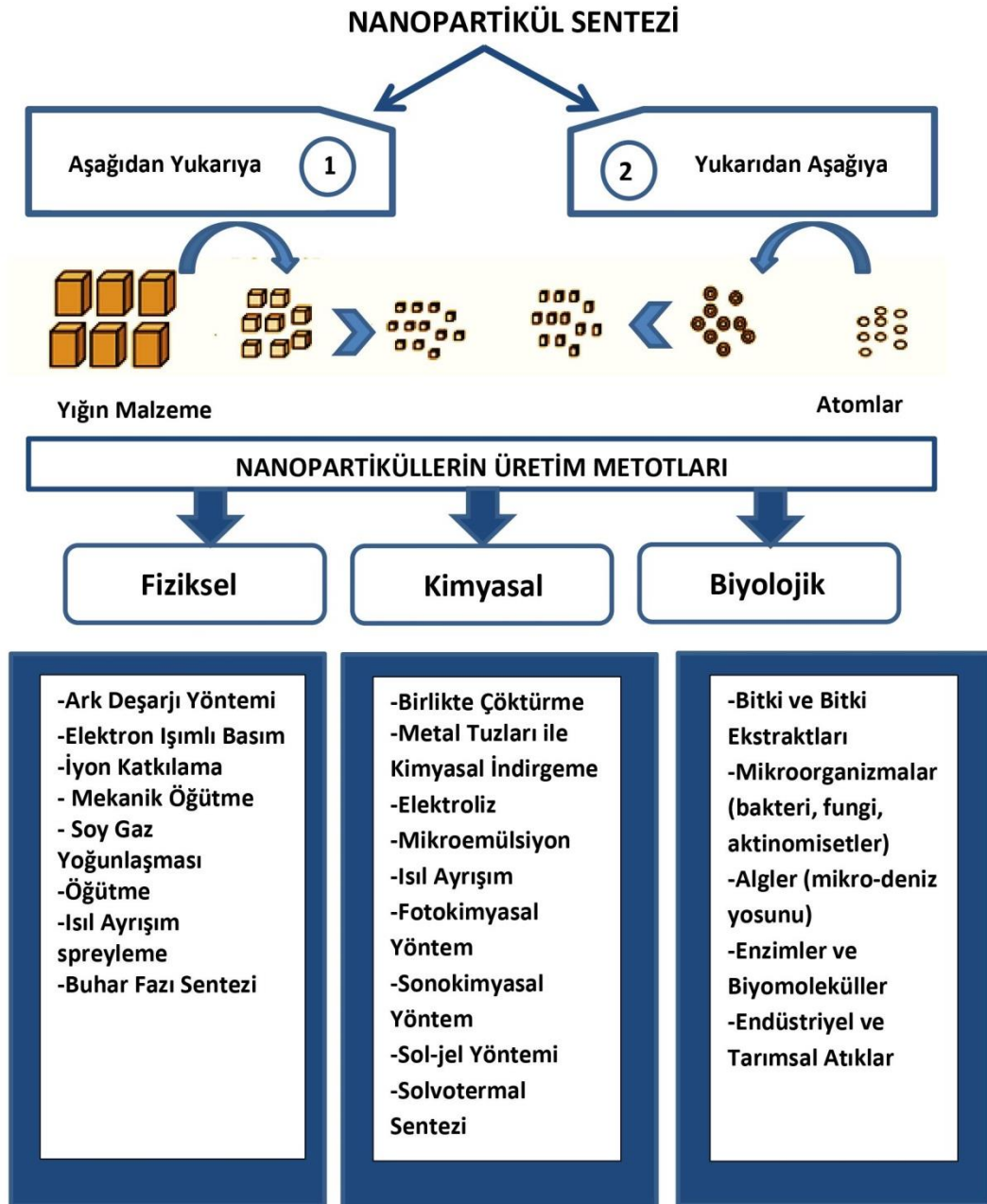
Nanobiyoteknoloji; malzeme bilimi, nanoteknoloji ve biyoteknolojinin kesişimi ile ortaya çıkan son derece disiplinler arası bilim alanıdır. Araştırma konularını tanımlamak kesin olarak mümkün olamamakla birlikte nanobiyoteknoloji; organik ve inorganik nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile moleküler klonlama, farklı biyolojik türlerden elde edilen DNA moleküllerinin mühendislik yöntemleri ile birleştirilmesi, protein teknolojisi ve immünoloji uygulamaları gibi araştırma konularını ele alır (Niemeyer and Medicine 2006).

Nanobiyoteknolojinin son zamanlarda ortaya çıkan bir diğer çalışma alanının hedefi ise malzeme bilimi ve biyoteknolojinin birleşimiyle oluşturulan yeni akıllı materyalleri ve fizikokimyasal teknikleri biyolojik problemleri çözmek için kullanmaktır. Bu çalışmalar biyoorganik kimya, doku mühendisliği, moleküler biyoloji, malzeme bilimi ve mikro sistem teknolojisi bilim dallarının konularından faydalanır (Niemeyer and Medicine 2006).

2.3.1. Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri

Nanopartiküller, bir nanoyapının oluşturulmasının önemli bir parçasıdır. İnsan algısına göre herhangi bir nesneden daha küçük olduğu, ancak kuantum fiziği yasalarına tabi atomlardan veya moleküllerden daha büyük olduğu da bildirilmiştir (Rodriguez, Fernández-Garcia et al. 2007). Nanopartiküller, Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) tarafından “1-100 nm çapında bir parçacık” olarak tanımlanır. American Society for Testing Materials (ASTM) ise bunu “2 veya 3 bölgede uzunluğu 1-100 nm olan ultra ince bir parçacık” olarak tanımlar (Bayda, Adeel et al. 2020). Bu boyut aralığı, hem atomların/moleküllerin hem de karşılık gelen yığın malzemelerin özelliklerini değiştirerek nanopartiküllerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin farklılaşmasına sebep olur. Nanopartiküller, metaller, metal oksitler, silikatlar, oksit olmayan seramikler, polimerler, organikler, karbon ve biyomoleküller olmak üzere çeşitli kimyasal yapıya sahip malzemelerden oluşabilmektedir. Nanopartiküller, küre, silindir, trombosit, tübüler vb. yapısal şekiller oluşturarak birkaç farklı morfolojide bulunabilmektedir. Genel olarak nanopartiküller, kullanılacakları belirli uygulamaların ihtiyaçlarını karşılamak için uyarlanmış yüzey modifikasyonları ile tasarlanır. Biyomedikal çalışmalarda nanopartiküller, manyetik rezonans ve bilgisayarlı tomografi gibi moleküler görüntüleme sistemlerinde, ilaç salınımı ve ilaç salınım sistemleri geliştirmede, hedef gen veya hücreye yönelik teşhis ve tedavilerde, aşı geliştirmede ve biyomalzemelerde takviye malzemesi olarak kullanılmaktadır (Medina, Santos-Martinez et al. 2007, Corrêa, Mori et al. 2015).

Nanopartiküllerin indirgenmesi için kullanılan çözücüler ve indirgeme operatörleri, nanopartiküllerin boyut, fizikokimyasal özellikleri, şekli gibi morfolojik özellikleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptir ve bu morfoloji, nanopartiküllerin kullanımını etkiler. Nanopartiküllerin sentezlenmesinde Şekil 2.7’de gösterildiği gibi “yukarıdan aşağıya” ve “aşağıdan yukarıya”, olmak üzere iki metodoloji kullanılır. Yukarıdan aşağıya yaklaşımda, uygun dökme malzeme, öğütme, püskürtme, termal/lazer ablasyon vb. gibi çeşitli teknikler kullanılarak boyut küçültme yoluyla daha küçük ince parçacıklara ayrılır. Aşağıdan yukarıya yaklaşımda, nanopartiküller kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılarak atomların kendiliğinden bir araya gelerek nano boyutlu parçacıklara dönüşen yeni çekirdeklere dönüşmesiyle sentezlenir ve "aşağıdan yukarıya" yöntemler kimyasal indirgeme, elektrokimyasal yöntemler ve sono ayrıştırma yöntemlerini içerir (Gour and Jain 2019).



Şekil 2.7. Nanopartiküllerin çeşitli sentezlenme yöntemleri (Patra and Baek 2014)

Nanopartiküller, kimyasal, fiziksel, biyolojik ve hibrit teknikleri içeren çeşitli yöntemler kullanılarak sentezlenebilir (Tiwari, Behari et al. 2008, Luechinger, Grass et al. 2010). Fiziksel yöntemler plazma arkı, bilyalı öğütme, termal buharlaştırma, sprey piroliz, ultra ince filmler, darbeleri lazer desorpsiyon, litografik teknikler, püskürtme biriktirme, katman katman büyütme, moleküler ışın epitazisi ve nanopartiküllerin difüzyon alev sentezi yöntemlerini içerir. Benzer şekilde, nanopartiküller elektrodepozisyon, sol-jel işlemi, kimyasal çözelti biriktirme, kimyasal buhar biriktirme yumuşak kimyasal yöntemi, Langmuir Blodgett yöntemi, katalitik yol, hidroliz birlikte

çöktürme yöntemi ve ıslak yöntemler gibi kimyasal yöntemlerle sentezlenebilir. Kimyasal ve fiziksel yöntemler, çevreye ve insan sağlığına zararlı yüksek radyasyon ve yüksek konsantrasyonlu indirgeyiciler ve sabitleyici ajanlar kullanmaktadır. Bu nedenle, nanopartiküllerin biyolojik sentezi, tek adımlı ve çevre dostu bir biyo-indirgeme yöntemidir ve sentezlemek için daha az enerji kullanılır (Parveen, Banse et al. 2016).

2.3.1.1. Yeşil Sentez (Biyosentez) Yöntemi

Nanopartiküllerin üretilmesi için geleneksel yöntemler geçmiş yıllardan beri kullanılmaktadır, ancak araştırmalar yeşil sentezin nanopartikül üretimindeki yüksek başarı şansı, düşük maliyet ve karakterizasyon kolaylığı gibi avantajları nedeni ile geleneksel yöntemlere göre daha etkili olduğunu kanıtlamıştır (Abdelghany, Al-Rajhi et al. 2018). Nanopartiküllerin sentezlenmesine yönelik fiziksel ve kimyasal yaklaşımlar, toksik metabolizma ürünleri oluşturmaları nedeniyle çevre üzerinde çeşitli tehditler oluşturmaktadır. Nanopartiküllerin bitki bazlı sentezi bitki özü ile bir metal tuzunun sentezlenerek yanıtın tipik oda sıcaklığında birkaç saat içinde tamamlandığı zahmetsiz bir yöntemdir (Gour and Jain 2019). Bu stratejiye, özellikle diğer metalik nanopartiküllerle karşılaştırıldığında daha güvenli olan Ag ve altın (Au) nanopartikül üretimi için özellikle son on yılda çok fazla odaklanılmıştır. İnsan sağlığı ve çevre için zararlı ve toksik olan daha fazla kimyasalın kullanılması, partikül reaktivitesini ve toksisitesini artırabilir ve bu nedenlerle de sağlık üzerinde istenmeyen olumsuz etkilere neden olabilir (Hussain, Singh et al. 2016). Yeşil sentez yöntemleri, nanopartiküllerin toksisitesini azaltma potansiyelleri nedeniyle oldukça tercih edilmektedir. Buna göre vitaminlerin, aminoasitlerin, bitki özlerinin kullanımı günümüzde oldukça popüler hale gelmiştir (Baruwati, Polshettiwar et al. 2009).

Bitki özütleri, mikroorganizmalar, enzimler gibi doğal ajanlar ile modifiye edilmiş gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), üstün antimikrobiyal özellikleri nedeniyle tıbbi uygulamalarda toksisite kaynaklı problemlerinin üstesinden gelmek amacıyla ilaç dağıtımı, biyomedikal algılama, moleküler görüntüleme ve kanser fotodinamik tedavisi gibi biyomedikal uygulamalarda önemli ölçüde kullanılmaktadır.

2.3.1.2. Bitki Özütüne Dayalı Yeşil Sentez Yöntemi

Bitki yaprağı ekstraktlarında bulunan fitokimyasallar, daha uzun inkübasyon süresi gerektiren mantar ve bakterilere kıyasla metal iyonlarını çok daha kısa bir sürede indirgeme potansiyeline sahiptir (Jha, Prasad et al. 2009). Bitkilerde bulunan ana fitokimyasallar, nanopartiküllerin biyo-redüksiyonundan sorumlu olan flavonlar, terpenoidler, karbonhidratlar, ketonlar, aldehitler, karboksilik asitler ve amidlerdir

(Prathna, Mathew et al. 2010). Bitki özütü, nanopartikül sentezini kolaylaştırmak için sentez sürecinde hem indirgeyici hem de stabilize edici ajan olarak ikili bir rol oynar (Malik, Shankar et al. 2014). Bitki yaprağı özütünün bileşimi, nanopartikül sentezinde önemli bir faktördür ve bitkilerin farklı konsantrasyon seviyelerinde fitokimyasallar içermesi nanopartikül sentezini etkilemektedir. (Li, Xu et al. 2011, Mukunthan and Balaji 2012).

Flavonoidler, metal iyonlarını azaltma konusunda gelişmiş bir yeteneğe sahip çeşitli fonksiyonel gruplar içerir. Reaktif hidrojen atomu, flavonoidlerde enol formunun keto formuna dönüştürüldüğü totomerik dönüşümler nedeniyle salınır. Bu işlem, metal iyonlarının metal nanopartiküllere indirgenmesiyle gerçekleştirilir.

Bitki özütleri, metalik nanopartiküllerin oluşumunu teşvik etmek için indirgeyici bir ajan görevi gören karbonhidratlardan ve protein biyomoleküllerinden oluşur (Iravani 2011). Flavonlar, alkaloidler, fenoller ve antrasenler gibi fitokimyasallarda bulunan fonksiyonel gruplar ($-C-O-C-$, $-C-O-$, $-C=C-$ ve $-C=O-$ gibi), metalik nanopartiküllerin oluşumuna yardımcı olabilir. FTIR analizine dayanarak yapılan bir çalışma $-C-O-C-$, $-C-O-$, $-C=C-$ ve $-C=O$ gibi fonksiyonel grupların nanopartiküllerin kapama ligandları olduğunu göstermiştir (Mude, Ingle et al. 2009). Kapama ligandlarının nanopartikül sentezindeki temel görevi, daha fazla büyüme ve aglomerasyonu önlemek için nanopartikülleri stabilize etmektir.

Hidrokinon, plastohidrokinon veya kinolün bileşiklerinin siklik olmayan fotofosforilasyon yoluyla gümüş iyonlarının gümüş nanopartiküllere indirgenmesinde ana indirgeme ajanı olarak hizmet ettiğini varsayan bir deney (Kesharwani, Yoon et al. 2009), bitki ekstraktında bulunan biyomoleküllerin, metalik nanopartiküllerin bitkiler tarafından hücre dışı sentezinden sorumlu olduğunu kanıtlamaktadır. Alkaloidler, terpenoidler, fenolik asitler, şekerler, polifenoller ve proteinler dâhil olmak üzere çok sayıda bitki fitokimyasalının metal tuzunun metalik nanopartiküllere biyoredüksiyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu amaçla sardunya yaprağı ekstraktı ile yapılan bir çalışma (Shankar, Ahmad et al. 2003), terpenoidlerin, gümüş iyonlarının nanopartiküllere dönüşümünde aktif olarak rol aldığını doğruladı. Eugenol de tarçın, karanfil gibi bitki özütlerinin ana terpenoid bileşenidir ve biyoredüksiyon için çok önemli bir rol oynayarak $AgNO_3$ metal tuzlarını ilgili metal nanopartiküllerine dönüştürür. FTIR verileri, Eugenolden kaynaklanan $-OH$ gruplarının Au ve Ag nanopartiküllerinin oluşumu sırasında kaybolduğunu göstermiştir. Au nanopartiküllerinin oluşumundan sonra karbonil, alkenler ve klorür fonksiyonel grupları

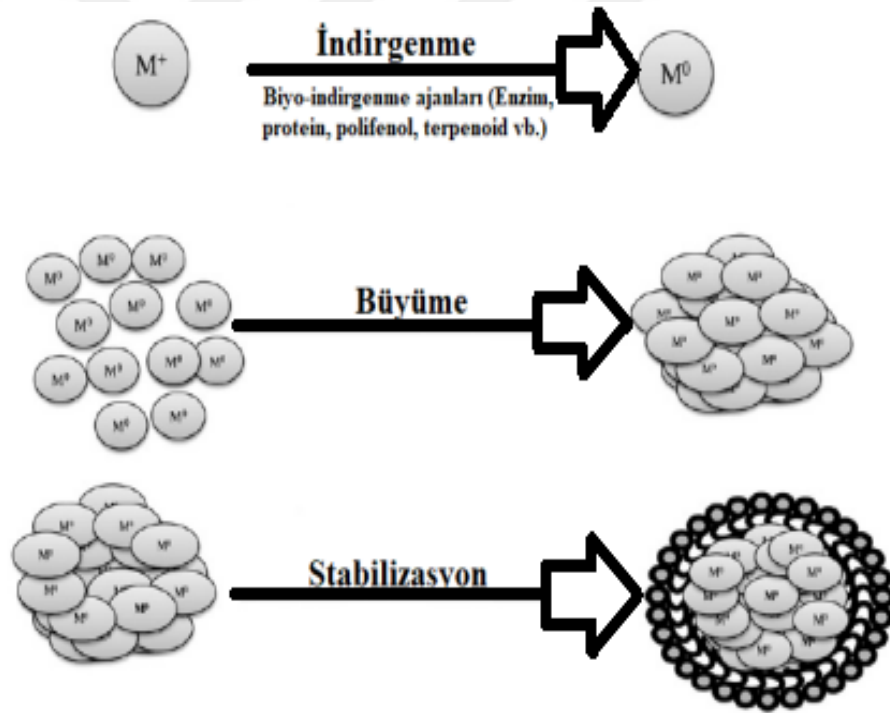
ortaya çıkmaktadır. Au nanopartiküllerin üretilmesinin önce ve sonrasında birkaç başka grupların ise [R – CH ve –OH (suda)] varlığını sürdürdüğü bulundu (Singh, Talat et al. 2010).

Genel olarak, Şekil 2.8’de de verildiği gibi bitki özlerinden metalik nanopartikül sentezinin üç fazı vardır:

(1) *Aktivasyon fazı*: Metal iyonlarının/tuzlarının biyo-redüksiyonu ve indirgenmiş metal iyonlarının çekirdeklenme süreci,

(2) *Büyüme fazı*: Çözelti içindeki daha küçük parçacıkların çözüldüğü ve yüzey alanı oranının en aza indirildiği termodinamik açıdan daha kararlı bir duruma ulaşmak için daha büyük parçacıklar üzerinde birikmesi olarak tanımlanan *Ostwald olgunlaşması* olarak kabul edilen bir süreç (Lochhead 2017),

(3) *Sonlandırma aşaması*: Nanopartiküllerin son şeklini tamamlaması (Singh, Dutta et al. 2018).



Şekil 2.8. Metalik nanopartikül sentezlenme mekanizması (Mittal, Chisti et al. 2013)

2.3.1.3. Gümüş Nanopartiküller

Gümüş parçacıklarının nanometre boyutunda bir koloidi olarak tanımlanan gümüş nanopartiküller antimikrobiyal özellikleri nedeniyle biyomedikal alanda en çok kullanılan metalik nanopartiküllerden biridir (Fathi-Achachelouei, Knopf-Marques et al. 2019). Gümüş materyallerin uzun zamandır güçlü inhibitör ve bakteri yok edici etkilerin yanı sıra yüzyıllar boyunca çeşitli hastalıkları, özellikle enfeksiyonları önlemek ve

tedavi etmek için kullanılan geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumu olduğu bilinmektedir (Shankar, Rai et al. 2005). Gümüş, memeli veya bakteri hücreleri tarafından emilimi zor inert bir metaldir. Fakat yara sıvılarına maruz kaldığında kolayca iyonize olarak proteinlere ve hücre zarlarına yapışan son derece reaktif bir maddeye dönüşür. Gümüş iyonu, solunum enzimlerini ve mikrobiyal elektron taşıyan bölümleri zehirleyerek ve bakterilerin çeşitli DNA aktivitelerini devre dışı bırakarak mikroorganizmaları öldürür ve onlara büyük ölçüde zarar verir (Wright, Lam et al. 1998). Gümüş iyonunun engelleyici performansı, hücre solunum enzimlerinde bulunan tiyol grupları ile yoğun bağlanabilme kabiliyetinden kaynaklanmaktadır. Ek olarak, gümüş iyonu hücre yapısını oluşturan proteinlerle ve özellikle DNA bazlarıyla etkileşime girerek replikasyonu engelleyebilir (Russell and Hugo 1994).

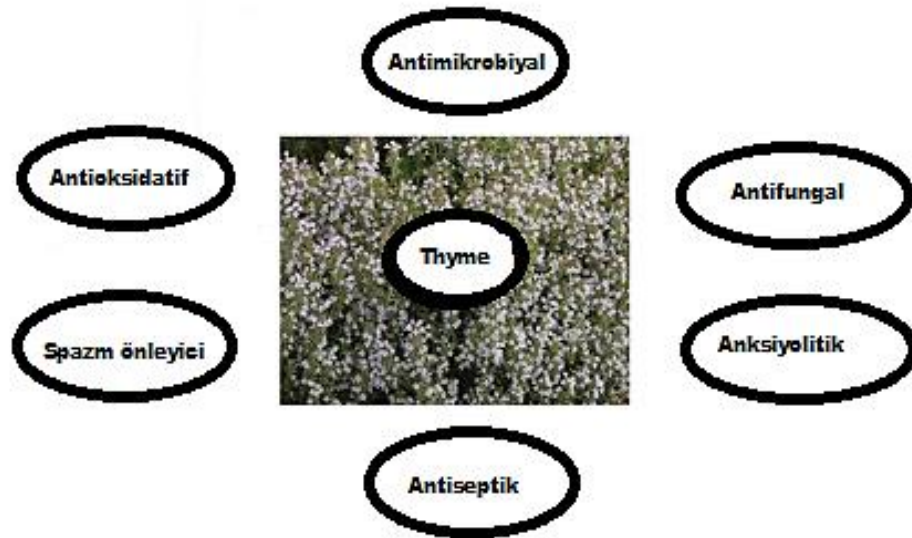
Nanopartikül şeklindeki gümüş ise düşük toksisite ve güçlü antibakteriyel özelliklere sahip önemli bir malzeme olarak incelenmiştir (Walder, Pittet et al. 2002, Gaonkar, Sampath et al. 2003, Li, Leung et al. 2006, Chen and Schluesener 2008, Egger, Lehmann et al. 2009, Haghgoo, Sadari et al. 2014). Gümüş nanopartiküller, yara örtüleri gibi farklı yara bakım malzemelerinde kullanılmaktadır (Crabtree, Burchette et al. 2003, Ip, Lui et al. 2006). Gümüş ve altın gibi nano boyutlu metal parçacıklar mikroorganizmalar için oldukça toksiktir. Gümüş partiküllerle karşılaştırıldığında, nano ölçekli partiküller daha geniş bir yüzey alanına sahiptir ve mikrobiyal DNA'ya bağlanarak bakteriyel replikasyonu önlemede daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterir (Leaper 2006).

AgNP'ler antifungal, antiinflamatuvar, antiviral, antianjiyogenez ve antitrombosit aktiviteye sahiptir (Wiley, Im et al. 2006). Gümüş ve AgNP'lerin en önemli uygulaması yanık ve açık yaralara karşı enfeksiyonun önlenmesi için kullanıldığı medikal endüstrisidir. Yapay doku üretiminde önemli bir sorun olan bakteriyel enfeksiyon AgNP'lerin kullanımı ile önlenmektedir (Guzmán, Dille et al. 2009). AgNP'lerin çok sayıda antimikrobiyal ve antifungal uygulaması mevcuttur. AgNP'ler, kardiyovasküler implantlar, yara örtüleri, kateterler, ortopedik implantlar, diş kompozitleri, nano-biyosensör gibi terapötik uygulamalarda antibakteriyel kaplama malzemesi olarak geniş çapta kullanılmaktadır (He, Liu et al. 2016).

Periferik sinir hasarında travma sonrası enfeksiyon oluşumu ameliyat sonrası antibiyotik kullanımının artmasına neden olmuştur. Gümüş nanopartiküller ise bakterileri yok etmek ve enfeksiyon riskini ortadan kaldırmak için uygun bir antibakteriyel aday olarak düşünülebilir (Gristina and Costerton 1985).

2.3.1.4 Kekik (*Thymus Vulgaris L.*)

Thyme ismi yunanca olup “tütsülemek, dezenfekte etmek” anlamlarına gelmektedir (Grieve 1992). Kantitatif olarak timol ve karvakrol, kekik ekstraktının ana bileşenleridir. Timol ve diğer fenolik bileşenler, hücre zarının geçirgenliğinde bir artışa ve bakteriyel enzim sistemleri hayati hücre içi maddelerinin azalmasına neden olan mikroorganizmaları inhibe eder. Kekiğin antioksidan kapasitesi, timol ve karvakrol gibi aktif bileşiklerinden gelir (Tural and Turhan 2017). Timol (2-izopropil-5-metilfenol), *Thymus vulgaris*, *Monarda punctuate* ve *Origanum vulgare* gibi çeşitli aromatik bitki türleri tarafından üretilen monoterpenik bir fenoldür. Kekik bitkisinin çeşitli çalışmalarda antimikrobiyal (Marino, Bersani et al. 1999, Rota, Herrera et al. 2008), antioksidan ve antikanser özelliklerinin olduğu bulunmuştur (Nikolić, Glamočlija et al. 2014). Antiseptik, karminatif, antimikrobiyal ve antioksidatif özelliklerinden dolayı *Thymus* yüzyıllardır geleneksel tıpta kullanılmaktadır.

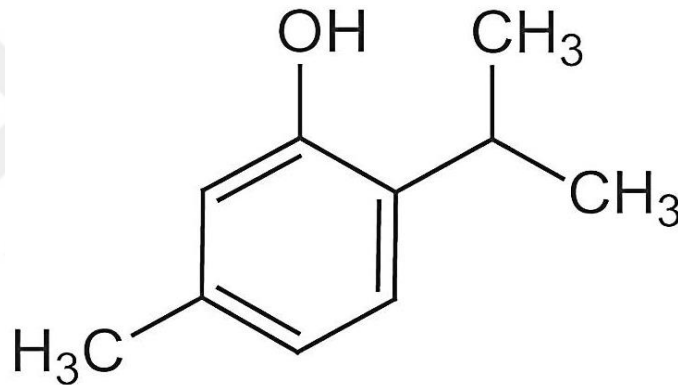


Şekil 2.9. Kekik bitkisinin özelliklerinin şematik gösterimi (Komaki, Hoseini et al. 2016)

Geçmiş yıllarda kekik bitkisi, içerisinde bulunan bol miktarda aktif timol molekülü nedeniyle damar sertliği, solunum yolu hastalıkları (bronşit, astım, öksürük), idrar yolu enfeksiyonları, diş ağrısı, dispepsi, endokardit, pnömoni ve septisemi tedavisinde kullanılırdı. Kekik bitkisi, Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından Genel Güvenli Olarak Tanınan (GRAS) statüsünde tanımlanmıştır (Lorenzo, Mousavi Khaneghah et al. 2019). Hem kekik bitki özünde hem de uçucu yağda bulunan timol, bakteri zarını istikrarsızlaştırarak bakterileri öldürme kabiliyetine sahiptir (Wang, Wang et al. 2015, Nasrollahzadeh, Sajadi et al. 2016, Ananda, Manukumar et al. 2017).

Yapılan bir araştırmada *Thymus Vulgaris L.* bitkisinin yara iyileştirmede kitosanla birlikte kullanıldığında artan antibakteriyel aktiviteye ek olarak su buharı ve oksijen iletim oranlarında hafif bir artışa yol ağtığı gözlemlendi (Altiok, Altiok et al. 2010). Bu özellikler ideal yara iyileştirici malzemeler için en önemli özellikler olduğundan, kekik yağı iğereren nanomalzemeler yara iyileştirici, hasarlı doku onarıcı olarak kullanılabilir.

Kekik bitkisinin monoterpenoid fenol türevi olan timol kimyasal bileşeni, biyoreduksiyon sürecinde indirgeyici ve stabilize edici bir rol oynamaktadır. *Staphylococcus aureus* (MRSA) 090 bakterisine karşı kekik özütüyle yeşil sentezlenmiş AgNP'lerin geliştirildiği bir ęalıřmada, yeşil sentezlenmiş AgNP'lerin kekik özütüne kıyasla üstün terapötik özelliklere sahip olduğu, PBMC (Periferik kan mononükleer hücreleri) hücrelerine karşı ihmal edilebilir bir toksisite, 549 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı anti-kanser özelliği gösterdiği bulundu (Manukumar, Yashwanth et al. 2020).



Şekil 2.10. Kekik bitkisinin monoterpenoid fenol türevi olan timol kimyasal bileşeni

2.3.2. Nanofiber ve Üretim Yöntemleri

Elyaf biliminde, genellikle çapı 50 ila 300 nm arasında değişen ve geometrik açıdan ise ince, uzatılmış, ipliksi yapıda bulunan elyaflar nanofiber olarak adlandırılır (Hagewood 2002). Bu elyafların diğerlerinden farkı, daha küçük ve oldukça gözenekli bir yapıya sahip olması ve yüzey alanlarının hacimlerine oranla daha fazla olmasıdır. Birim hacme düşen tanecik sayısının, ęaplarının nanoboyutta olması nedeniyle, çok fazla olmasından dolayı bu özellikleri kazanabilmişlerdir. Nano boyuttaki bu elyaflar makro boyuttaki malzemelere göre fiziksel anlamda daha farklı davrandıkları gibi, yapısal olarak da daha farklı özellikler sergilerler. Bu malzemeler tarafından sergilenen yeni özellikler, alışılmadık mekanik, termal, biyolojik, optik, manyetik ve elektriksel özelliklere dönüşen küçük boyutlarından kaynaklanmaktadır. Bu yüksek yüzey

alanı/hacim, çok gözeneklilik ve farklı davranma karakteristikleriyle nanofiberler malzemenin performansını istenilen mekanik, elektriksel vb. yönde artırmak için kullanılır (Almetwally, El-Sakhawy et al. 2017). Bu sayede nanofiberler; fonksiyonel grup, molekül, iyon ve bunun gibi nano ölçekli partiküllere bağlanabilir. Nanofiberlerin çok gözeneklilik yapısal özelliği sayesinde kimyasallar ve nano parçacıklar daha hızlı difüzyona uğrayarak malzemenin homojenliğinin korunmasına yardımcı olurlar (Teo, Ramakrishna et al. 2009).

Nanofiberler, çok çeşitli sentetik veya doğal polimerlerden, metallere, seramiklerden, karbon ve kompozitlerden elde edilebilir (Huang, Zhang et al. 2003). Nanofiberlerin üretimi için çeşitli metotlar kullanılmaktadır. Bu yöntemler çekme, şablon sentez, faz ayrımı işlemi, kendiliğinden tutunma, eriyik üfleme ve son olarak geliştirilen elektro-eğirme yöntemidir. Bu yöntemlerden elektro-eğirme yöntemi uygulama alanının çok geniş olması ve üretimin tek aşamalı, kısa zamanlı ve düşük maliyetli olması sebepleriyle en çok tercih edilen yöntemdir. Diğer geleneksel üretim tekniklerinde elyaf, bir grup gerilme, yerçekimi, aerodinamik, reolojik ve eylemsizlik kuvvetlerine maruz bırakılır. Elektro-eğirme sırasında ise, liflerin sarımı öncelikle bir elektrik alanının varlığında indüklenen yüklerle polimerin akışının eksen boyunca oluşturulan gerilme kuvvetleri ile elde edilir (Subbiah, Bhat et al. 2005). Üretilen nanofiberler genellikle dokunmamış (nonwoven) bir mat oluşturur. Birbirinden ayrı ayrı oluşmuş birkaç cm uzunluğundaki nanofiber parçalar sıralanır ve bu matı oluşturmak için toplanır.

2.3.3. Elektro-eğirme Yöntemi ile Nanofiber Üretimi

"Elektro-eğirme (electrospinning)" kelimesi, "elektrostatik eğirme (electrostatic spinning)" kavramından türetilmiştir (Bhardwaj and Kundu 2010). Elektro-eğirme yöntemi; polimer, kompozit, metal ve seramik gibi çeşitli malzemelerden sürekliliği olan ultra ince bir lif üretmek amacıyla kullanılan uygulaması kolay, hızlı ve kapsamlı bir tekniktir (Al-Hazeem 2018). Bu yöntem ile mikrometre aralığında çapı olan polimer elyaf üretim kapasitesine sahip ıslak eğirme, kuru eğirme, eriyik eğirme, jel eğirme gibi gelenekselleşmiş nanofiber üretimi tekniklerinin aksine nanometre boyutlu çap aralığında polimer elyaf üretimi gerçekleştirilebilir. Tablo 2.2'de elektro-eğirme yönteminin avantaj ve dezavantajlarının diğer yöntemlerin avantaj ve dezavantajları ile karşılaştırması yapılmıştır. Tipik olarak elektro-eğirme tekniği ile üretilen nanofiber matrisler % 90'dan fazla gözenekliliğe sahiptir ve çapları 200 nm ila 5 µm arasındadır (Kramschuster and Turng 2013).

Tablo 2.2. Nanofiber fabrikasyon tekniklerinin avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması (James, Nukavarapu et al. 2008)

Üretim Tekniği	Avantajlar	Dezavantajlar
Çekme	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Araç gerecin basit olması 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Üretimin sürekli olmaması ▪ Ölçeklendirilememesi ▪ Boyutların kontrol edilememesi
Şablon Sentez	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Üretim sürecinin sürekliliği ▪ Fiber çapının farklı şablonlarla çeşitlendirilebilmesi 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ölçeklendirilememesi
Faz Ayrımı	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Araç gerecin basit olması ▪ İşleme uygunluğu ▪ Fiber matrisinin mekanik özelliklerinin polimer karışımına bağlı olarak kontrol edilebilmesi 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Birkaç polimerle sınırlı olması ▪ Ölçeklendirilememesi ▪ Boyutların kontrol edilememesi
Moleküler Kendiliğinden Tutunma	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fiberin sadece birkaç nm veya birkaç mikron uzunluğunda üretilebilmesi 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sürecin karmaşıklığı ▪ Ölçeklendirilememesi ▪ Boyutların kontrol edilememesi
Elektro-eğirme	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Basit düzenek, süreç ▪ Üretim sürecinin sürekliliği ▪ Diğer yöntemlere kıyasla düşük maliyetli olması ▪ Ölçeklendirilebilir olması ▪ Birkaç nanometreden mikron boyutlu çapa sahip fiber üretimi 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Jet kararsızlığı ▪ Toksik çözücüler

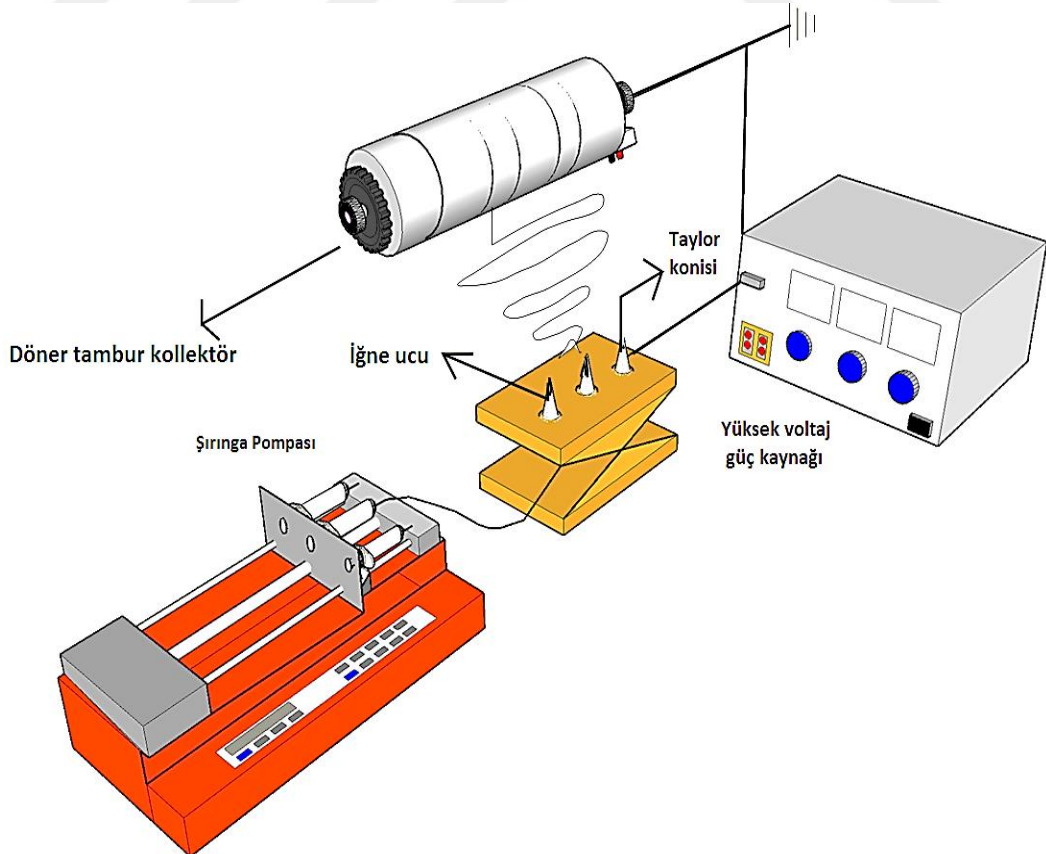
Elektro-eğirme, yüksek gerilimli bir elektrik alan kullanılarak elektrostatik kuvvetlerin yardımıyla elyafların eğrilmesi işlemidir. Elektro-eğirme yönteminin temel prensibi, elektrik alanı etkisiyle nanofiberlerin oluşumuna dayanır. Bu işlem temel olarak Şekil 2.11'de gösterildiği gibi bir şırınga pompası, metalik bir iğneye bağlı bir cam veya plastik şırınga, yüksek voltajlı bir güç kaynağı ve iletken toplayıcıdan oluşan basit bir düzenek gerektirir. Şırınga pompası, şırınga içerisindeki sıvıyı (çözelti, eriyik) sabit bir besleme hızında sıkıştırarak iğne ucunda asılı bir damlacık oluşturmak için kullanılır. Güç kaynağından genellikle 5-30 kV uygulanan yüksek voltaj, metalik iğne üzerinden geçen polimer çözeltilisine uygulanır ve bu sayede polimer çözeltisi elektrik yükleri ile yüklenir (Teo and Ramakrishna 2006). Elektriksel kuvvetler, polimerik çözeltiyi iğne ucunda tutan çözelti yüzey gerilim kuvvetinin üstesinden geldiğinde, iğne ucundan polimerik bir jet yayılır ve toplayıcıya doğru hareket eder. Çözelti jeti bu

kırpma kararsızlığından kurtulmak için uygun bir viskoelastisite sağlamalıdır. Çözücü, polimerik jetten hızla buharlaşınca kütle aktarımı meydana gelir ve sonuç olarak malzeme nanofiber olarak kolektör üzerinde sarılarak toplanır (Liang, Hsiao et al. 2007, Sill and von Recum 2008). Jet yüzeyinde aynı işarete sahip elektrik yüklerinin itilmesi eğrilmiş jetin gerilmesine yol açar, bu sayede çapı birkaç nanometreden birkaç mikrometreye kadar olan elyaf üretilebilir.

Elektro-eğirme işleminin genellikle düzgün, tekrarlanabilir olması için nem, sıcaklık, atmosfer basıncı gibi çevresel faktörlerin kontrol edilebildiği bir ortama ihtiyaç vardır (Xie, Li et al. 2008).

Özetle, bir elektro-eğirme işlemi şu aşamalardan oluşur:

- i)** asılı damlacıkların elektrik yükü ile yüklenmesi;
- ii)** iğne ucunda koni jetinin (Taylor konisi) oluşumu;
- iii)** sabit jetin inceltilmesi;
- iv)** nanometre ölçeği boyutlarında çap küçülmesine neden olan jet kararlılığının başlaması ve büyümesi
- v)** nanofiberlerin farklı formlarda kolektörde toplanması (Rutledge and Fridrikh 2007).



Şekil 2.11. Elektro-eğirme düzeneği şematik gösterimi

2.3.3.1. Elektro-eğirme Yöntemini Etkileyen Parametreler

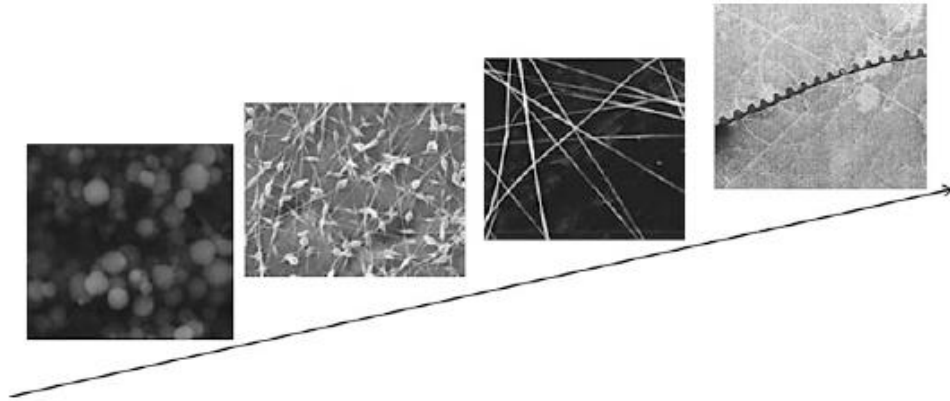
Elektro-eğirme yöntemiyle farklı morfolojilerde nanofiberler oluşturmak için parametrelerin istenilen yönde değiştirilmesi gerekir. Elektro-eğirme yöntemine etki eden parametreler; işlem parametreleri (uygulanan elektrik alanı, iğne ucu/kolektör arası mesafe ve besleme veya akış hızı), çevreye bağlı parametreler ve çözelti parametreleri (yoğunluk, viskozite, iletkenlik, moleküler ağırlık ve yüzey gerilimi) olarak ayrılabilir (Bhardwaj and Kundu 2010).

1.3.3.1.1. Çözelti Parametreleri

Çözelti özellikleri elyaf morfolojisi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Çözelti özellikleri arasında viskozite, yoğunluk, iletkenlik, yüzey gerilimi, polimer molekül ağırlığı, dipol moment ve dielektrik sabiti vb. bulunmaktadır. Çözelti özelliklerinin etkilerini izole etmek zor olabilir, çünkü bir parametreyi değiştirmek genellikle diğer çözelti özelliklerini etkileyebilir. Örneğin, iletkenliği değiştirmek de viskoziteyi değiştirebilir. Bu nedenle tüm parametreler birbirinden ayrı düşünülemez (Pham, Sharma et al. 2006).

Çözeltinin viskozite, Molekül ağırlığı ve Yoğunluk Özellikleri: Çözelti viskozitesi, polimerik elyafların eğrilmesi sırasında lif boyutunun ve morfolojisinin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Çok düşük viskozite ile sürekli lif oluşumunun sağlanmadığı ve çok yüksek viskozite ile jetlerin polimer çözeltisinden itilmesinin zor olduğu, dolayısıyla elektro-eğirme işlemi için en uygun viskozite gereksiniminin olduğu bulunmuştur. Elektrik alanı etkisiyle oluşan polimer jetindeki molekül zincirlerinin birbirleri üzerinde kayarak hareket etmelerini sağlayan viskoelastik kuvvet, jetin uzayıp gerilmesini sağlar. Çözelti viskozitesinin yetersiz olduğu durumda jetin gerilmesi sağlanamayacağından boncuklu görünüme sebep olur (Ramakrishna 2005). Çok daha düşük olduğunda ise jet oluşumu gerçekleşemez ve polimer yüzeyinde damla damla spreysel şekilde oluşum gözlenir. Her bir polimer ve çözücü için gerekli olan viskozite değeri farklılık gösterir. Farklı viskozitelerin etkisini göstermek isteyen araştırmacılar çeşitli Polietilen oksit (PEO) konsantrasyonları içeren PEO/su çözeltilerinden elde edilen liflerden, 800 cP (santipoiz)'den daha düşük viskoziteye sahip çözeltilerin işlem sırasında damlacıklara dönüştüklerini, 4000 cP'den daha yüksek viskoziteye sahip çözeltilerin işlem için çok kalın olduğunu ve iğneden geçemeyerek jet oluşmadığını bulmuşlardır (Doshi and Reneker 1993). Elektro-eğirme için 1–215 P (Poise) arasında viskozitesi değişen PEO çözeltileri kullanılan deneyde ve bu malzeme için 1-20 P arası

viskozitenin en uygun olduğunu bulmuşlardır (Bhardwaj and Kundu 2010). Viskozite, polimer yoğunluğu ve polimerin molekül ağırlığı birbiriyle ilişkilidir. Çözeltinin viskozitesinin belirlenmesinde molekül ağırlığı büyük bir rol oynar. Polimerin molekül ağırlığının yüksek olması daha karmaşık ve uzun bir zincir yapısına sahip olduğundan eşit oranlardaki düşük molekül ağırlığına sahip çözeltilere göre daha viskoz bir çözelti oluşmasına yol açar. Bununla birlikte, farklı moleküller farklı zincir içi etkileşimlere sahip oldukları için en uygun molekül ağırlığı aralığının çoğunlukla polimer tipine bağlı olduğuna dikkat edilmelidir (Shenoy, Bates et al. 2005, Tan, Inai et al. 2005). Örneğin, Polivinil alkol (PVA) veya Polivinil pirolidon (PVP) gibi sentetik polimerler $\sim 1.3 \times 10^6$ kadar yüksek molekül ağırlıklarında bile eğrilebilirken, kitosan gibi doğal polimerler eğrilebilmek için çok düşük molekül ağırlıklarına ihtiyaç duyar (Hosseini Ravandi, Gandhimathi et al. 2013). Bir araştırma sonucuna göre, düşük moleküler ağırlıklı çözeltinin lifler yerine boncuk oluşturma eğiliminde olduğunu ve yüksek moleküler ağırlıklı çözeltinin daha büyük ortalama çaplara sahip boncuksuz lifler sağladığını göstermektedir (Jacobs, Anandjiwala et al. 2010).



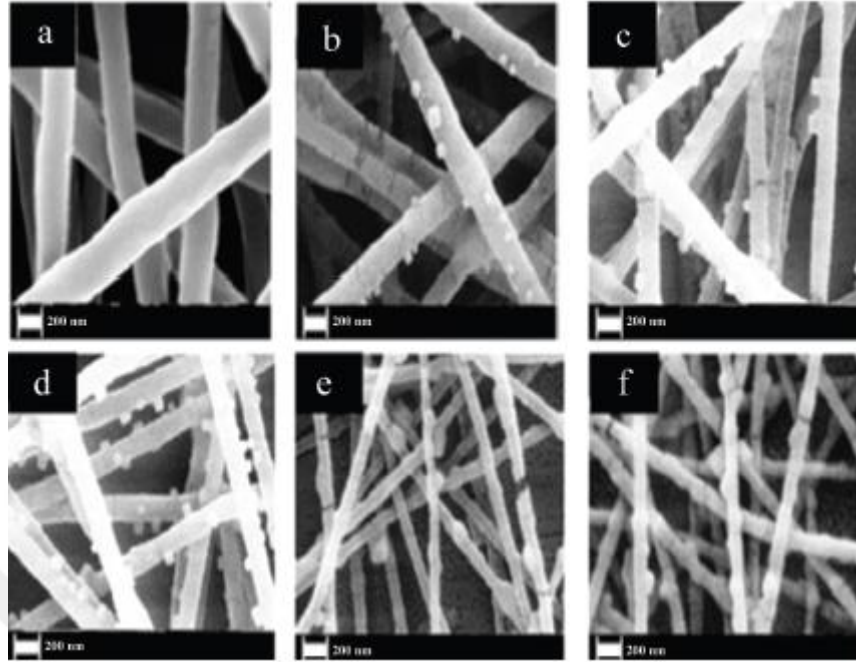
Şekil 2.12. Elektro-eğirme sırasında düşükten yükseğe farklı konsantrasyonlardaki nanofiberlerin SEM görüntüleri (Li and Wang 2013)

Çözelti yoğunluğu da moleküler ağırlık gibi viskoziteye etki eden önemli bir faktördür. Yoğunluğu yüksek çözeltiler karmaşık molekül zincir yapısına neden olup viskoziteyi artırmaktadır. Çözelti, zincir dolaşmasının meydana gelmesi için yeterince yüksek bir polimer yoğunluğuna sahip olmalıdır; bununla birlikte, çözelti çok seyreltik veya çok yoğunlaştırılmış olmamalıdır. Polimer yoğunluğu, her ikisi de elektro-eğirme işleminde çok önemli parametreler olan çözeltinin hem viskozitesini hem de yüzey gerilimini etkiler. Çözelti çok seyreltilmişse, polimer lifleri, düşük yüzey geriliminin

etkisi nedeniyle toplayıcıya ulaşmadan önce damlacıklara ayrılır. Bununla birlikte, çözelti çok yoğun ise, yüksek viskozite nedeniyle lifler oluşturulamaz, bu da çözelti akış hızını iğneden kontrol etmeyi zorlaştırır. Diğer tüm parametreler sabit tutulduğunda elyafların elektrostatik olarak eğrilebildiği en uygun polimer yoğunluğu aralığı mevcuttur. Belirli bir noktaya kadar artırılan çözelti viskozitesindeki veya yoğunluğundaki bir artış; boncuksuz, daha düzgün bir görünüme ve daha büyük lif çapına yol açar (Deitzel, Kleinmeyer et al. 2001, Andrady 2008). Yüksek viskozitenin liflerin toplanma alanına etkisi de bulunmaktadır. Viskozitenin artmasıyla jetin kararsızlığı azalarak lifler daha küçük bir alanda yayıldığından çözelti daha az uzar ve daha büyük çapta fiberler gözlenir (Ramakrishna 2005).

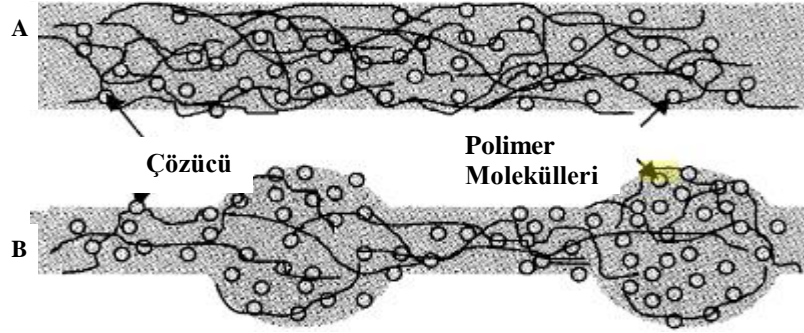
İletkenlik: Elektro-eğirme işleminde jet oluşumu gözlenebilmesi için çözeltinin belli bir iletkenlik seviyesinin üzerinde olması gerekir. Çözelti iletkenliği, elektro-eğirme sürecinde elektriksel kuvvetler aracılığıyla polimer jeti üzerindeki molekül zincirlerinin gerilip birbirleri üzerinde hareket ederek gerilmesini sağladığından önemli bir parametredir. İletkenlik, çözeltiyi oluşturan polimer ve çözücü seçimi ile sonuçlanan iyon seviyesine bağlıdır. İletkenlik, diğer çözelti parametrelerine benzer şekilde uygun değer aralığında olmalıdır, çünkü düşük iletkenlik yetersiz uzama ve boncuk oluşumuna neden olurken, yüksek iletkenlik şiddetli jet kararsızlığına ve değişken lif çapı dağılımına neden olur (Uyar and Besenbacher 2008). İletkenlik arttıkça, çözeltinin yük taşıma kapasitesi artarak daha az voltaja ihtiyaç duyar, yükler birbirlerini daha erken itmeye başlar ve Whipping kararsızlığı daha erken başlar. Sonuç olarak, uygulanan elektrik alanından daha fazla etkilenecek daha fazla gerilmeye maruz kalır. Bu, iletkenliğin jet kararsızlığını ve çözücü buharlaşmasını arttırdığı için elyaf çapının azalmasına sebep olur (Sasmazel and Ozkan 2013). İletkenlik azalması durumunda ise polimer jeti yeterince gerilemeyeceği için bu durum boncuklu yapıya sebep olur. Baumgarten, fiber çapı ile iletkenlik arasında bir ilişki olduğunu; elyaf çapının, çözelti iletkenliğinin küp köküyle ters orantılı olduğu öne sürmüştür (Baumgarten and science 1971). Çözelti iletkenliğinin yetersiz olduğu durumlarda iletkenlik, çözeltideki yük taşıyan iyon yoğunluğunu artırmak amacıyla çözeltiye sodyum klorür (NaCl) ve kalsiyum klorür (CaCl₂) gibi tuzların eklenmesi ile artırılabilir (Kim, Lee et al. 2005). PEO/su çözeltisinin iletkenliğindeki değişimin elektro-eğirme işlemi ve lif morfolojisi üzerindeki etkilerinin kapsamlı bir araştırması (Angamma and Jayaram 2011) sonucu PEO çözeltisinin iletkenliğinin jet akımı ve jet yolu üzerindeki etkileri çözeltiye NaCl

eklenmesi ile Şekil 2.13'te gösterildiği gibi fiber yüzeyi üzerinde çıkıntının oluşmasıyla sonuçlanmıştır.



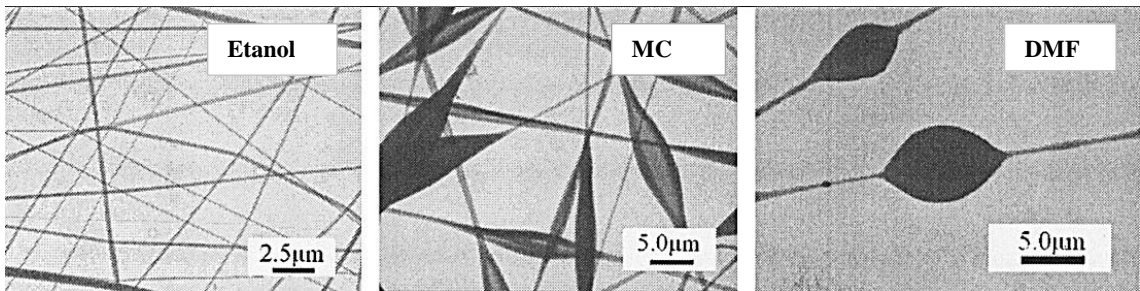
Şekil 2.13. Farklı iletkenlikte PEO/NaCl liflerinin örneklerinin FESEM görüntüleri. (a) 5 g / 0 g, (b) 5 g / 0.1 g, (c) 5 g / 0.2 g, (d) 5 g / 0.5 g, (e) 5 g / 1.25 g ve (f) 5 g / 2 g (Angamma and Jayaram 2011)

Yüzey gerilimi: Yüzey gerilimi, çözeltinin yüzey alanını en aza indirmesi için oluşturduğu kuvvete karşılık gelir. Farklı bir deyişle, sıvının yüzey alanını 1 cm² genişletmek için gerekli olan enerji miktarıdır (Stranger, Tucker et al. 2005). Elektro-eğirme işlemi yüklü çözeltinin yüzey geriliminin üstesinden gelmesiyle başladığından yüzey gerilimi önemli bir parametredir. Sisteme yeterli voltaj uygulandığında iğne ucundaki polimer çözeltisinden oluşan damlacıktaki yüklerin itme kuvvetleri, yüzey gerilimi kuvvetinin üstesinden gelir ve Taylor konisinden gerilip incelen bir jet oluşumu gözlenir (Subbiah, Bhat et al. 2005). Yüzey gerilimi, bir sıvının birim kütlesi başına yüzey alanını azaltma etkisine sahiptir. Bu durumda, düşük viskoziteye sahip çözücü moleküllerinin yüksek yoğunluklu çözeltilerde serbest çözücü moleküller fazlaca olduğundan çözücü moleküllerinin yüzey gerilimi nedeniyle küresel bir şekil oluşturması daha büyük bir eğilim gösterir. Daha yüksek bir viskozite, çözücü ve polimer molekülleri arasında daha fazla etkileşim olduğu anlamına gelir, böylece çözelti yüklerin etkisi altında gerildiğinde, çözücü moleküller dolaşmış polimer molekülleri üzerine yayılma eğilimi gösterir, böylece çözücü molekülleri Şekil 2.14 A'da gösterildiği gibi yüzey geriliminin etkisi altında bir araya gelir.



Şekil 2.14. A) Yüksek viskozitede molekül polimerlerinin dağılımı B) Düşük viskozitede yüzey gerilimi kuvveti altında çözücü moleküllerin dolaşmış polimer molekülleri üzerine yayılma eğilimi (Ramakrishna 2005)

Yüzey geriliminin etkisini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada polivinilpirolido (PVP) polimerinin etanol, dimetilformamid (DMF) ve diklorometan (DCM) çözücüleri ile farklı çözeltileri oluşturulmuştur ve nanofiber üretimi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Şekil 2.15'te gösterildiği gibi diğer çözücülere göre daha düşük yüzey gerilimine sahip etanol ile üretilen nanofiberin daha ince ve düzgün olduğu, yüzey geriliminin artmasının boncuklu yapıya neden olduğu görülmüştür (Yang, Li et al. 2004). Yüzey gerilimini azaltmanın bir başka yolu ise çözeltiye yüzey aktif madde ilave etmektir. Yüzey aktif madde ilavesinin daha düzgün lifler sağladığı bulunmuştur. Çözünmeyen yüzey aktif madde ince tozlar halinde bir çözelti içinde dağıldığında bile, elyaf morfolojisini geliştirilmektedir (Ramakrishna 2005).



Şekil 2.15. Farklı yüzey gerilimine sahip PVP nanofiberlerin TEM görüntüleri (Yang, Li et al. 2004)

Çözücü seçimi: Bir polimer için birden fazla çözücü alternatifi bulunabilir. Çözücü seçiminde her bir polimer için farklı farklı çözücüler mevcut olduğundan deneme yanılma yoluyla bulunmaktadır (Andrady 2008). En uygun çözücü seçerken çözücünün, iğne ucundan toplayıcıya doğru ilerlemesi sırasında yeterli miktarda buharlaşabilmesine dikkat edilmelidir. Çözücü seçimi, liflerin gözenek oluşturup

oluşturamayacağı ve lif gözenekliliğini etkileyebileceği konusunda da kritik öneme sahiptir (Sill and von Recum 2008). Çözücü uçuculuğunun elektro-eğirme işlemine etkisinin incelendiği bir çalışmada polistiren elyaf üretmek için çözücü olarak çeşitli oranlarda DMF ve tetrahydrofuran (THF) kullanıldı. % 100 THF'den (daha uçucu) elde edilen elyaflar lif çapına bağlı olarak fiberin yüzey alanını % 20-40 kadar arttıran yüksek gözenek yoğunluğu gösterdi. %100 DMF'den (daha az uçucu) elde edilen çözeltilerden üretilen elyaf pürüzsüz bir yapı oluşumu gösterdi. Çözücü uçuculuğu azaldıkça gözenek yoğunluğunun azalmasıyla gözenek boyutunun arttığı gözlenmiştir. Çözücü seçiminde çözücünün yüzey gerilimi, iletkenlik ve dielektrik özellikleri de çözücü uçuculuğunun yanı sıra göz ardı edilmemesi gereken faktörlerdendir.

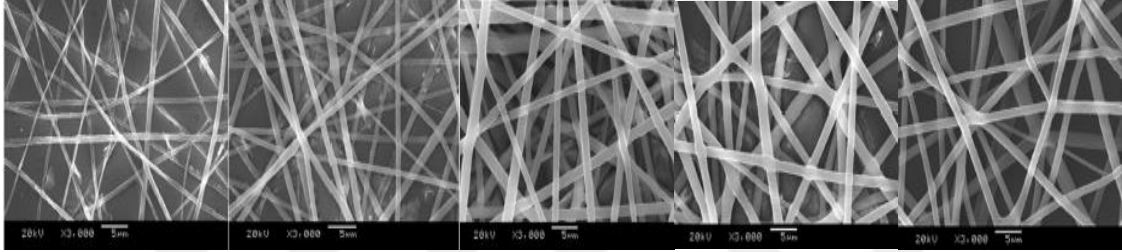
Çözücü dielektrik sabiti: Kullanılan polimer ve çözücüye bağlı olarak değişen ve çözeltinin yük taşıyabilme kapasitesini ölçen dielektrik sabiti elektro-eğirme sırasında moleküllerin depolayabildiği elektrik yükü kapasitesini gösterir (Ramakrishna 2005). Dielektrik sabiti yüksek olan çözeltilerden elde edilen elyaflar jetin eğrilme dengesizliği arttığından daha küçük çapa sahip olur ve boncuk oluşumu oluşma ihtimali azalır (Hsu, Shivkumar et al. 2004). DMF gibi çözücüler, fiber morfolojisini geliştirmek için dielektrik özelliğini arttırmak için bir çözeltiliye ilave edilebilir (Lee, Kim et al. 2003). Fakat eklenen maddeye bağlı olarak çözeltinin yüzey gerilimi, iletkenlik, uçuculuk gibi özellikleri de etkileneceğinden eklenen katkı maddelerinin diğer özellikleri göz ardı edilmemelidir.

Dipol moment: Dipol momentin elyaf morfolojisine etkisinin incelendiği çalışmalarda, Polystrene (PS) ve Polyvinyl Butyral (PVB) elyaf üretiminde elyaf veriminin (birim zaman başına birim alan başına fiber ağ sayısı), artan dielektrik sabiti ile birlikte çözücülerin dipol momentleri ile arttığı bulunmuştur. Yüksek dipol momentine sahip çözücünün daha düzgün bir elyaf morfolojisi oluşturduğu gözlenmiştir (Jarusuwannapoom, Hongrojjanawiwat et al. 2005, Yener, Jirsak et al. 2012).

1.3.3.1.2. Cihaz Parametreleri

Uygulanan voltaj miktarı: Sisteme etki eden voltajın, Taylor konisi oluşması ve çözeltiyi iğne ucunda tutan yüzey geriliminin üstesinden gelebilmesi için belirli bir eşik değerine eşit veya üzerinde olması gerekir. Literatürde bu eşik değer genel olarak 6 kV'tur. Uygulanan voltaj oluşan elyafın yarıçapı ile ters orantılıdır; voltaj miktarı arttıkça çözeltiliye etki eden elektrostatik itme kuvveti daha kısa sürede yüzey geriliminin ve sıvı viskoelastizesinin üstesinden geleceği için çözücü polimer çözeltilisinden daha hızlı uzaklaşır (Bhardwaj and Kundu 2010). Böylece yüksek voltaj miktarı nano boyuta

daha yakın fiber çapları oluşumuna sebep olur. Poli (L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)/karbon nanotüp kompozit üretimi için farklı voltaj miktarlarının uygulandığı bir çalışmada beş farklı voltaj (15, 17.5, 20, 22.5 ve 25 kV) değerinin etkisi araştırıldı (Zhang and polymers 2011). Şekil 2.16'da verilen SEM fotoğrafları sonuçlarına göre en ideal pürüzsüz ve boncuksuz elyafın olduğu voltaj 20-25 kV uygulanan işlem oldu. 15 kV, 22.5, 20 kV uygulamalarında nanofiber çaplarının artan voltaj ile jetin daha ince akışlara bölünmeden kolektöre ulaştığı için arttığı; 25 kV uygulandığında ise Taylor konisi damlacıklarının daha fazla bölündüğü için azaldığı görülmüştür. Lif çapının artması veya azalmasının, bu iki zıt etkiden birinin baskınlığına bağlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Zhang and polymers 2011). Bununla birlikte birkaç farklı çalışmada, çok yüksek voltajın boncuk oluşturma olasılığını artırdığı da ortaya atılmıştır (Katti, Robinson et al. 2004, Pawlowski, Barnes et al. 2004, Haghi and Akbari 2007).

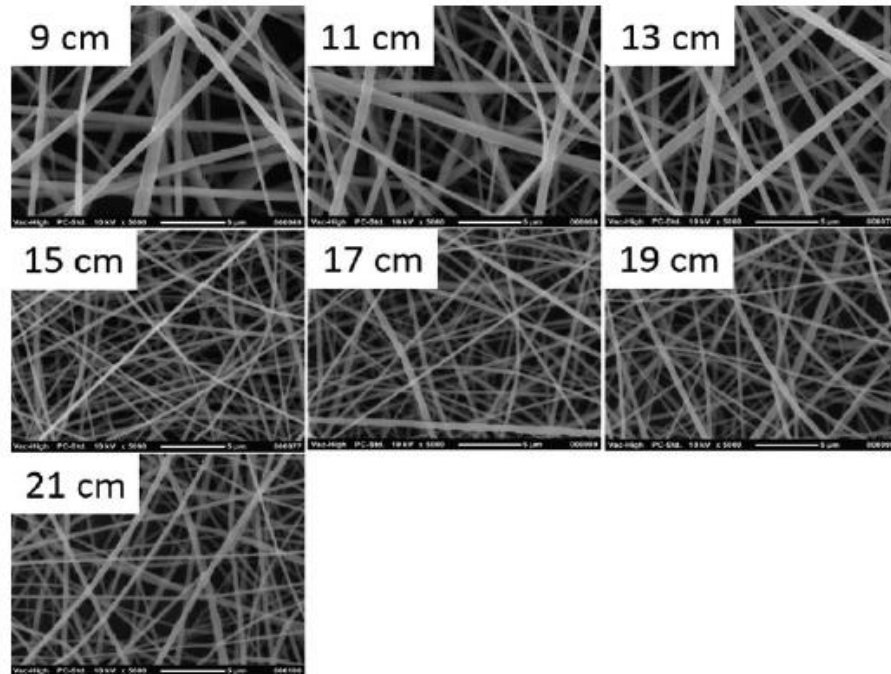


Şekil 2.16. Sırasıyla 15, 17.5, 20, 22.5 ve 25 kV uygulanan nanofiberlerin SEM görüntüleri (Zhang and polymers 2011)

Uygun voltaj seviyesinin üzerinde bir voltaj uygulanması jetin hızlanmasına ve birden fazla jet oluşumuna sebep olur. Jetteki elektriksel yüklerin birbirini ardı ardına itip eksen boyunca bir kuvvet oluşturmalarını geciktirebileceğinden kararsızlığın (Whipping) gecikmesine ve kolektöre geçerken jet gerilip incelemediğinden çapın artmasına veya boncuk oluşumuna yol açar.

Kolektör ile iğne ucu arasındaki uzaklık: Kolektörün iğne ucuna olan uzaklığı elyaf çapı ve morfolojik yapıyı etkileyen bir diğer faktördür. Çözelti jeti Whipping kararsızlığına maruz kaldıktan sonra kolektöre varıncaya kadar geçen sürede çözücünün buharlaşıp kuruyabilmesi gerekir (Geng, Kwon et al. 2005). Bu mesafe kısaldığında gerilme kuvveti oluşması ve elyafın elektrik alanına girdiği sürenin kısılması sonucu çözücü yeterli olarak buharlaşamaz (Al-Hazeem 2018). Bu durum da elyaf çaplarının kalınlaşmasına, deforme olmasına ve boncuklu yapıya sebep olur. Kolektör ve iğne ucu arasındaki uzaklık çok fazla artırıldığında ise elektrik alan oluşabilmesi için voltaj miktarının da artırılması gerekir, bu da mesafenin kısa olduğu durumda olduğu gibi

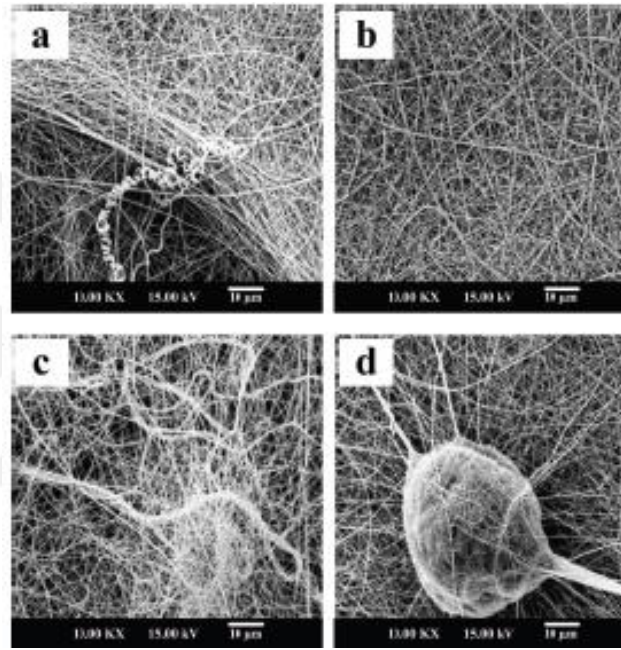
boncuklu yapıya sebep olur (Ki, Baek et al. 2005). İğne ucu kolektör arası mesafenin liflerin morfolojisi üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada elyaflar, Şekil 2.17'deki SEM görüntüleri ile değerlendirilmiştir. En kısa mesafe (9 cm) için, jet toplayıcıya ulaşmadan önce çözücünün yetersiz buharlaşmasının ardından lifler kesişme noktalarında bir araya gelmiştir. Eğirme mesafesi 9 cm'den 15 cm'ye çıkarıldığında ortalama lif çapı azalmıştır. Eğirme mesafesinin daha da artmasıyla ortalama çapın arttığı görülmüştür. Deneyde kısa eğirme mesafesi (<15 cm), büyük çap dağılımına sahip kaba liflerle sonuçlanmıştır. Eğirme mesafesi 13 cm'den 15 cm'ye çıkarıldığında, ortalama lif çapı 458 nm'den 284 nm'ye kadar azalmıştır. Eğirme mesafesi 21 cm'ye yükseltildiğinde ise lif çapı 341 nm'ye kadar hafif bir artış gösterdi. (Shao, Fang et al. 2015).



Şekil 2.17. Farklı kolektör-İğne ucu arasındaki mesafelerde hazırlanan Polivinilidin Florür (PVDF) nanofiberlerin SEM görüntüleri (Shao, Fang et al. 2015)

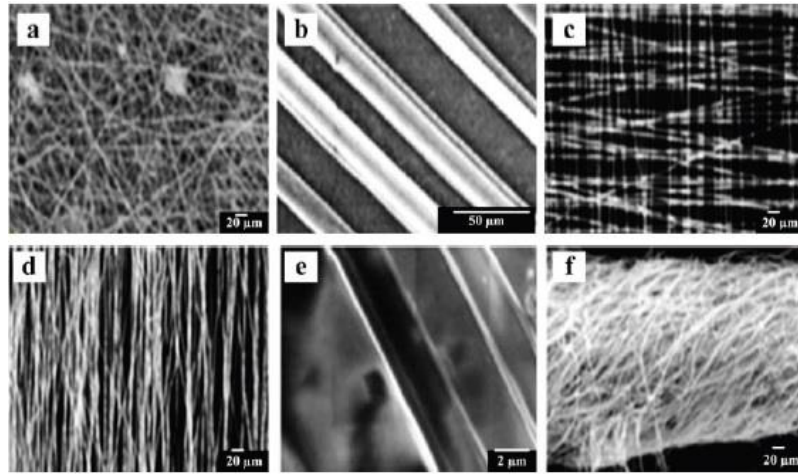
Çözelti akış hızı: Birim zamanda jet haline geçen polimer çözeltisi miktarı akış hızını ifade etmektedir. Akış hızı, uygulanan voltaj miktarı ile birlikte Taylor konisi oluşumunu etkileyen bir faktördür. Taylor konisi oluşturmaya yetecek akış hızının altında ve üstünde uygulanan akış hızı fiber çapı ve gözenek çapını etkileyerek boncuk oluşumuna sebep olabilir. Düşük akış hızı uygulandığı durumda iğne ucunda Taylor konisi oluşması gerekirken iğne içinde jet oluşumu gözlenir ve bu durum iğnede tıkanıklığa yol açar (Heikkilä and Harlin 2008). Yüksek akış hızı ise jet üzerindeki elektriksel yükü azaltır; çözücünün buharlaşmasının yeterli olmamasına, jetin yeterince

gerilip incelememesine yol açarak fiber ve gözenek çapının artmasına, boncuk oluşumu ihtimalinin artmasına sebep olur (Megelski, Stephens et al. 2002). Düzgün ve küçük çaplı bir nanofiber elde etmek için genelde Taylor konisi yapısı oluşumunu tetikleyebilen minimum akış hızı tercih edilir. Şekil 2.18'de gösterildiği gibi, diğer parametreler sabit tutulup akış hızı düşürüldüğünde; boncuk boyutunda bir azalma ve nanofiber çapında bir düşüş vardır (Zargham, Bazgir et al. 2012). Buradaki çıkarım, boncuksuz yapı elde edilene kadar akış hızındaki azalma ile damlaların boyutunun küçülebilmesidir.



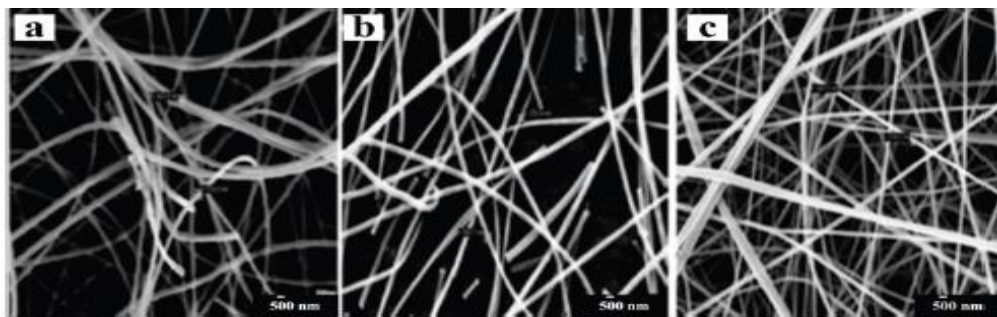
Şekil 2.18. PVA'nın farklı akış hızındaki SEM görüntüleri. (a) 0.1 ml / sa, (b) 0.5 ml / sa, (c) 1 ml / sa, (d) 1.5 ml / sa (Zargham, Bazgir et al. 2012)

Kolektör plaka çeşitleri: Elektro-eğirme işleminde iletken bir toplayıcı plakada toplanan nanofiberler dokunmuş (woven) ve dokunmamış olarak ikiye ayrılabilir (Al-Hazeem 2018). Dokunmamış elyaf üretimi için sabit bir metal plaka tercih edilirken, farklı geometrik yapılardan oluşan kolektör denilen toplayıcı plakanın türü dokunmuş nanofiberlerin dizilişlerini ve hizalanmalarını sağlar. Bu kolektörlere geometrik şekillerine göre paralel elektrotlar, döner diskler, döner tamburlar örnek verilebilir. Şekil 2.19'da çeşitli kolektörlerin kullanılarak nanofiber üretimi yapıldığı birçok çalışmaya ait SEM görüntüleri gösterilmiştir.



Şekil 2.19. Çeşitli kolektörlere sahip farklı fiberlerin SEM görüntüleri. (a) Tel ekran, (b) Pin, (c) Izgaralı çubuk, (d) Paralel çubuk, (e) Döner tekerlek ve (f) Sıvı banyo (Li, Wang et al. 2004, Sundaray, Subramanian et al. 2004, Xu, Inai et al. 2004, Wang, Um et al. 2005, Ki, Kim et al. 2007)

İğne çapı: İğnenin çapı da diğer işlem parametreleri gibi nanofiberlerin çapları üzerinde belirli bir etkiye sahiptir. İğnenin iç çapının daralmasının nanofiberlerin çapında bir düşüşe sebep olduğu keşfedilmiştir. İğne çapı jet oluşumu için gerekli çözelti miktarını belirler, bu miktar ise Taylor konisi şeklindeki damlacığın boyutu ile pompanın sıvıyı itmesi için uygulaması gereken kuvvet miktarı ve basıncı etkiler (Al-Hazeem 2018). Çözeltinin viskozitesi göz önünde bulundurularak çözeltinin itilebileceği uygun bir iğne çapı kullanılmalıdır. Çok küçük çaplı iğneler tıkanmaya yol açabildiği gibi, aynı zamanda küçük çaplı iğnelere oluşan damlacık büyüklüğü azaldığından nanofiber çapının ve boncuk sayısının azaldığı gözlenmiştir. Poli -metil metakrilat (PMMA) kullanılarak iğne çaplarının etkilerinin incelendiği bir çalışmaya ait SEM görüntüleri Şekil 2.20’de gösterilmiştir (Luo, Stoyanov et al. 2012).



Şekil 2.20. PMMA nanofiberlerin iğne iç çapına göre SEM görüntüleri (a) 0.83 mm, (b) 0.4 mm, (c) 0.1 mm (Luo, Stoyanov et al. 2012)

2.3.3.1.3. Çevresel Parametreler

Nem: Nanofiberlerin morfolojik yapısını etkileyen çevresel parametrelerden biridir. Polistiren nanofiber üretimi sırasında neme bağlı değişimin incelendiği bir

çalışmada, nemdeki artış oranının fiber yüzeyinde küçük dairesel gözenek oluşumuna ve oran artırıldığında ise gözeneklerin birleşerek gözenek çapının artmasına yol açtığı gözlemlenmiştir (Casper, Stephens et al. 2004). Bu nem eşiğinin % 30'dan yüksek bağıl nem olduğu, liflerin yüzeyinde mikro ve nano yapıları gözeneklere yol açtığı gözlemlenmiştir. Gözenek sayısının artmasının sebebi nem oranının arttıkça fiber yüzeyindeki porlardan fazla suyun buharlaşmasıdır. Nem oranlarının fiber çapına etkisini araştıran çözücü olarak su kullanan başka bir çalışmada ise nemin etkisinin çözücünün türüne bağlı olduğu, yüksek nemin ortalama nanofiber çapında düşüşe yol açtığı, yüksek nemli ortama maruz kalan elektro-eğirme işleminden üretilen fiberlerin yassı bir şekil aldığı görülmüştür (De Vrieze, Van Camp et al. 2009). Çok düşük nemli ortam ise, çözücünün buharlaşmasının çok hızlı olmasından dolayı kurumanın çözücünün iğnenin ucundan çıkmasından daha önce gerçekleşmesine ve iğne ucunun tıkanmasına yol açar (Bhardwaj and Kundu 2010).

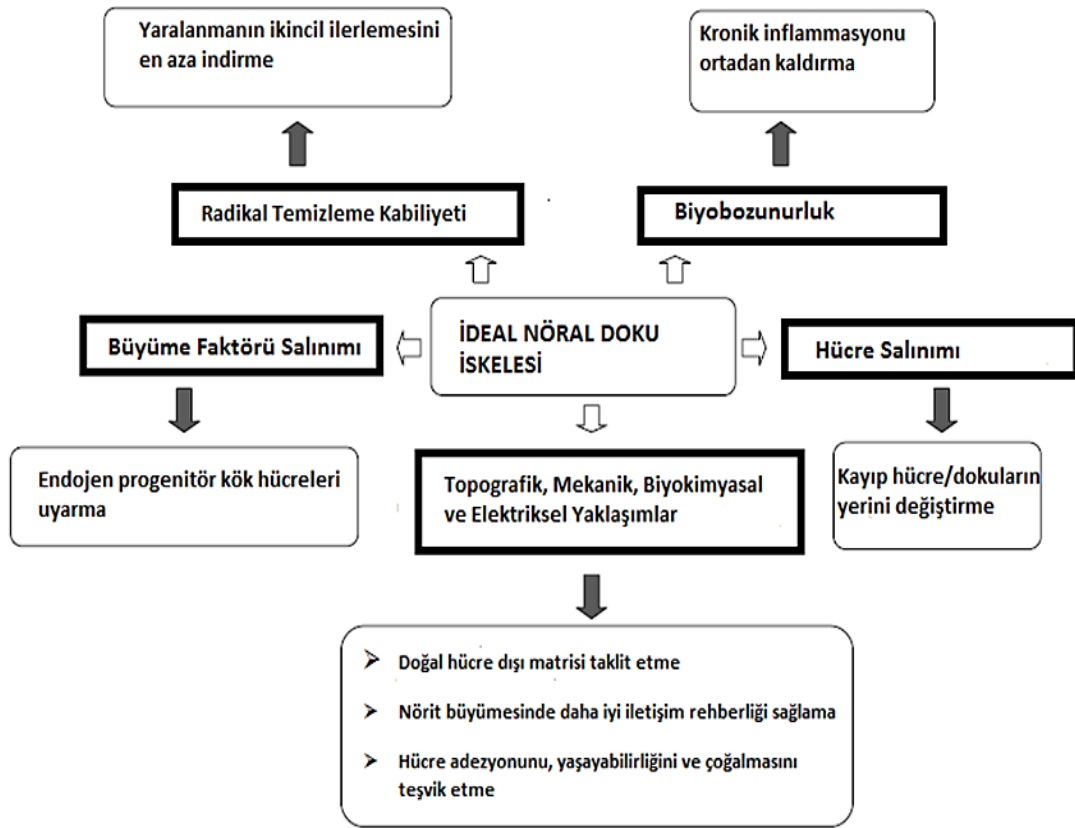
Sıcaklık: Elektro-eğirme işleminde kullanılan polimer çözeltilerinin yapı özellikleri (çözelti zinciri, buharlaşma noktası, viskozitesi) ortamın sıcaklık değişiminden etkilenmektedir. Sıcaklığın etkisini gözlemlemek için yapılan bir çalışmada sıcaklıkları 25- 60 °C arasında değişen poliamid-6 çözeltileri elektro-eğirme işlemiyle eğrilmiştir. Sonuçlara göre viskozite ile sıcaklık ters orantılı olduğundan, sıcaklık artışının çözücünün viskozitesinde bir azalmaya yol açtığı ve buna bağlı elyaf çapının azaldığı bulunmuştur (Mit-uppatham, Nithitanakul et al. 2004).

Ortam gaz basıncı: Ortam basıncı atmosfer basıncından düşük olduğunda şırıngadaki çözelti iğneden daha fazla akma eğiliminde olur. Bu durumda, jet kararsız bir oluşum sergiler. Çok düşük basınçta ise elektrik yüklerinin doğrudan salınması nedeniyle elektro-eğirme işleminin gerçekleşmesi mümkün değildir (Ramakrishna 2005).

Elektro-eğirme odasındaki hava akımı: Elektro-eğirme işleminin gerçekleştiği alanın havasındaki gaz bileşimleri ve gaz çeşidi elektro-eğirme işlemi etkilemektedir. Her gaz çeşidi elektrostatik alana maruz kaldığında farklı özellikler sergiler (Ramakrishna 2005). Örneğin, Helyum gazının bulunduğu ortamda işlem yapılamamaktadır. Freon®-12 gibi daha yüksek kırılma gerilimi olan bir gaz kullanıldığında ise elde edilen liflerin çapı iki katına çıkmaktadır (Baumgarten and science 1971).

2.4. Sinir Rejenerasyonu için Kullanılan Biyomalzemeler ve Rejenerasyon Stratejileri

Doğal polimerler (kitosan, kitin, kolajen, jelatin, aljinat), sentetik bozunmayan polimerler (silikon), PLGA, PCL, PLA gibi sentetik biyobozunur polimerler ve iletken polimerler (polipirol, polianilin) çeşitli sinir rejenerasyon yaklaşımlarında kullanılmıştır. Biyouyumlu sentetik materyaller, sinir doku mühendisliği iskeleleri için materyallerin bozunma hızının ve mekanik özelliklerinin uygulamaya göre ayarlanmasına imkân verirken; doğal malzemeler, yüksek biyouyumlulukları ile iskeleye biyomoleküler tanıma imkânı sunar. Sinir doku mühendisliği stratejilerinin başarısını sağlamada malzeme seçimi çok önemli bir rol oynar. İdeal bir sinir kanalı ince, esnek, gözenekli, biyouyumlu, biyolojik olarak parçalanabilir, uyumlu, nöroindüktif, nöroiletken ve uygun yüzey ve mekanik özelliklere sahip olmalıdır (Verreck, Chun et al. 2005). Bu biyomalzemeler belirtilen kriterlerden bazılarını yerine getirebilirler, fakat birtakım dezavantaj oluşturan özellikleri belirli doku mühendisliği uygulamalarında kullanımlarını kısıtlamaktadır. Biyolojik olarak bozunma özelliği göstermeyen malzemeler, zamanla kronik enflamasyonu ve sinirin sıkışmasını tetikleyebilmektedir. Bu nedenle bozunmayan malzemelerden yapılmış bir iskeleden kaçınılmalı ve biyolojik olarak parçalanabilen malzemelerin kullanımı tercih edilmelidir (Haile, Haastert et al. 2007). Biyolojik olarak parçalanabilen sinir doku iskelesi malzemelerinin ise yapı iskelelerinin implantasyondan sonra daha uzun süre yapısal stabilite sağlamaları için toplu erozyon yerine yüzey erozyonu oluşturarak bozunması istenir. Bu nedenle, sinir rejenerasyonu için sürekli olarak daha iyi temas yönlendirme ipuçları sağlaması için yüzeyi aşındıran polimerik yapı iskele malzemesi tercih edilir. Genel olarak, araştırmacılar, polimer harmanlama ve elektro-eğirme gibi çeşitli yeni üretim teknikleri ile sinirsel yapı iskelesi özelliklerini iyileştirmeye, yapı iskelesine sinir büyüme faktörlerini dâhil etmeye ve iskelenin yüzey modifikasyonları ile yüzey ıslanabilirliğini iyileştirmeye çalışmışlardır (Subramanian, Krishnan et al. 2009). Özel olarak hazırlanmış malzemenin bozunma hızı ve mekanik özellikleri, enflamatuar yanıtı en aza indirmeye izin vermelidir, böylece aksonların yenilenmesini sürdürmek için gerekli desteği ve rehberliği sağlamalıdır. Konak dokular tarafından başarılı greft kabulü için gereken en önemli özelliklerden biri, iskelelerin mekanik stabilitesi ve uyumluluğudur. Sinir dokusu mühendisliği için, iskele esnek olmalı, çevre dokulara zarar vermemeli, implantasyon sırasında nekroz ve iltihaplanmaya yol açabilecek yapısal çökmeye karşı dirençli olmalıdır (Bini, Gao et al. 2005).



Şekil 2.21. İdeal nöral doku iskelesinin özellikleri (Subramanian, Krishnan et al. 2009)

Nöral bir iskelenin yapısı, sinir rejenerasyonuna yardımcı olmak için nöral iskelelerin etkinliğini belirleyen kritik bir faktördür. SKK tasarımları Şekil 2.22’de gösterildiği gibi beş ana gruba ayrılabilir: (i) İçi boş / Gözeneksiz tasarım (ii) Gözenekli tasarım (iii) Oluklu tasarım (iv) Çok kanallı tasarım ve (v) Dolgulu SKK’ler (fiber veya hidrojel). Nöral iskele, basit bir temel yapı olarak, tek içi boş lümeneye sahip tübüler bir SKK yapısında imal edilebilir. Bununla birlikte, SKK lümenine fiziksel dolguların eklendiği veya çok kanallı yapıya sahip SKK’lerin oluşturulduğu karmaşık iskele mimarisinin geliştirilmesi hücre tutunmasını teşvik eden yüzey alanını artırdığından onarımı iyileştirebilir. Elektro-eğirme yöntemi ile çok kanallı iskele mimarisi geliştirilen bir çalışmada (Jeffries, Wang et al. 2012), tamamen elektro-eğrilmiş liflerinden oluşan ilk çok kanallı sinir kılavuzu tasarlanmıştır. Dondurarak kurutma yöntemlerine kıyasla kanal büyüklüğü ve düzenliliği üzerinde daha fazla kontrole sahip olduğu, döküm yöntemleri ile oluşturulan katı duvarlar yerine lifler arasında birbirine bağlı boşluklardan oluşan bir SKK mimarisinin iki elektro-eğrilmiş katman ile şablonlar kapsülenerak oluşturulduğu ve delaminasyonu önlemek için yeterli etkileşim sergilediği gösterilmiştir.

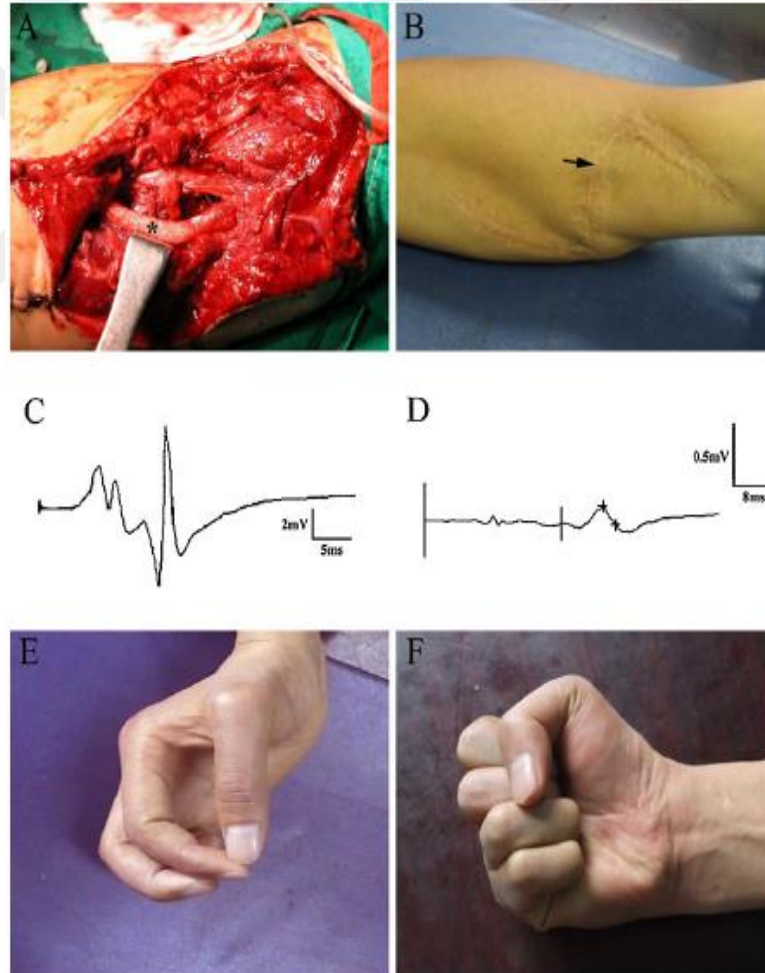


Şekil 2.22. Farklı sinir kılavuz kanalı tasarımları (Vijayavenkataraman 2020)

Sinir hasarını onarmak için sadece nöral iskeleleri kullanmak sadece küçük boşlukları yeniden oluşturulabilir. Sinir boşluklarının uzunluğu sınırlamaları aştığında, bunlara destek hücreleri veya büyüme faktörleri dâhil edilmedikçe tek başına nöral iskeleler yeterli olmaz (Hood, Levene et al. 2009). Yaralanma sinirine implante edilen destek hücreleri, sinir rejenerasyonunu kolaylaştırmak için büyüme faktörleri veya ECM molekülleri üretebilir. Schwann hücreleri, nöral kök hücreler, embriyonik kök hücreler ve kemik iliği stromal hücreleri en yaygın destek hücre kaynaklarıdır. Genel olarak, çok sayıda çalışma hücrelerin elektro-eğrilmiş iskelelerinin benzersiz lifli mimarisine yanıt verdiğini göstermiştir (Prabhakaran, Venugopal et al. 2009, Wang, Itoh et al. 2009, Xie, Willerth et al. 2009)

Büyüme faktörleri, hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını düzenleme yeteneğine sahip, hücre tarafından üretilen çeşitli proteinleri ve polipeptitleri ifade eder. Elektro-eğrilmiş fiberler, ECM yapısına benzer 3D morfolojileri ile biyokimyasal salınım aracı olarak da işlevselleştirilebilmelidir. İstenilen boyutlardaki yüksek gözenekliliği ve yüksek yüzey/hacim oranı, hücresel bağlanma ve metabolizma ürünlerinin taşınmasını kolaylaştırır. Ayrıca biyoaktif proteinler, canlılığı sürdürme, proliferasyon, hücrelerin farklılaşması, aksonal büyüme ve sinaptogenezi teşvik ederek sinir sisteminin gelişimi ve korunmasında önemli bir rol oynar (Wang, Forsythe et al. 2012). Bu nedenle biyoaktif proteinlerin elektro-eğrilmiş fiberlere dâhil edilmesi sinir

onarımını iyileştirebilir. Sinir rejenerasyonu için en yaygın olarak kullanılan biyomoleküller sinir büyüme faktörü, beyin kaynaklı nörotrofik faktör, nörotrofin-3 (NT-3) ve nörotrofin-4/5 (NT-4/5) gibi nörotrofik faktörlerdir (Gu, Ding et al. 2011). Elektro-eğrilmiş nanofiberler, iskele fonksiyonu sağlama ve sinir rejenerasyonu için gerekli temas rehberliği sağlama kabiliyeti nedeniyle ümit vaat eden bir dağıtım aracı olarak işlev görebilir. Elektro-eğrilmiş nanofiber iskelelerin, nöral doku rejenerasyonunu arttırmak için hayati önem taşıyan topografik ve biyokimyasal sinyalleri birleştiren biyofonksiyonel substratlar olarak etkinliğini açıkça gösteren çalışmalar mevcuttur (Chew, Wen et al. 2005, Patel, Kurpinski et al. 2007). Bu çalışmalarda büyüme faktörü sinyalinin ve temas kılavuzunun bir elektro-eğrilmiş iskeleye dâhil edilebilmesi bu imalat tekniğinin benzersizliğini ve sinir rejenerasyonunu artırma potansiyelini gösterir.



Şekil 2.23. (A) SKK (*) ile onarılan sinir defektinin görünümü. (B) İmplantasyondan 36 ay sonra önkol ve dirseğin görünümü. (C ve D) İmplantasyondan 36 ay sonra kaydedilen aksiyon potansiyelleri (E) başparmak endeksinin fonksiyonel iyileşmesi ve (F) parmakların avuç içine bükülmesi (Gu, Ding et al. 2011)

Klinik bir çalışma olarak farklı biyomalzemelerden yapılmış ve lümen dolgu maddeleri ile kaplanmış doku mühendisliği sinir kanalları da klinik çalışmalara tabi tutulmuştur. Örnek olarak; kitosan ve uzunlamasına PGA liflerini içeren bir SKK geliştirilip (Fan, Gu et al. 2008) 35 mm uzunluğunda bir medyan insan sinir hasarında uygulandığında sinir iyileşmesinin fonksiyonel olarak sağlandığı görülmüştür. SKK yerleştirilmesi ve rejenerasyon aşamaları Şekil 2.23'te gösterilmektedir.

2.4.1. Doğal Polimerler

Sinir kanalı doğal biyomalzemeler olarak damar ve kas gibi biyolojik dokular veya matris proteinleri sıklıkla kullanılmıştır. Benzer tübüler bir yapıyı yeniden oluşturma girişimlerinde, damar doku yaygın olarak incelenmiştir ve klinikte <3 mm boşluklar için iyi fonksiyonel sonuçlar elde edilmiştir. Doğal malzemeler, ticari olarak doğrudan hayvanlardan, bitkilerden veya mikroorganizmalardan türetildikleri için yapışma yerleri ve doğal olarak oluşan hücre bağlanma moleküllerine bağlanma bölgesi oluşturma avantajına sahiptir. Doğal malzemeler, hücre yapışması, hücre infiltrasyonu ve ECM yapısına benzerlikleri nedeniyle SKK üretimi için oldukça elverişlidir. Doğal malzemeler farklı türde doğal kaynaklardan elde edilir, bu nedenle saflaştırılmadıkları takdirde olumsuz bağışıklık tepkisine neden olma olasılıkları vardır. Sentetik malzemelere oranla zayıf mekanik mukavemetleri ise SKK hammaddeleri olarak uygulamalarını sınırlandırmıştır. Sinir doku mühendisliğinde, kolajen, jelatin, trombin ve fibrinojen gibi protein bazlı veya selüloz, kitin, aljinat ve kitosan gibi polisakarit esaslı doğal polimerler kullanılmıştır (Vijayavenkataraman 2020).

Çok hücreli organizmalardaki çoğu hücre, ECM'yi oluşturan canlı olmayan malzemelerin karmaşık bir karışımı ile çevrilidir. Kolajen, laminin ve fibronektin gibi çözünmeyen ECM molekülleri aksonların gelişiminde ve büyümesinde önemli bir rol oynar (Rutishauser 1993, Grimpe and Silver 2002) ve diğer birçok ECM ürünü proteoglikanlar ve glikosaminoglikanlar (GAG) uyarıcı veya engelleyici etkiler sağlayarak sinir yarası ilerlemesini ve nöral aktiviteyi modüle edebilir. Sonuç olarak, ECM bileşenleri nöral iskeleler için çok önemli aday malzemeler haline geldi ve bunlar ağırlıklı olarak SKK'lerin lümen dolgu maddelerine lifler, kanallar, gözenekli süngerler veya hidrojeller şeklinde destek hücreleri, büyüme faktörleri veya ilaçlar için iletim aracı olarak işlenmiştir (Gu, Ding et al. 2011).

Kolajen, sadece sinir dokusu mühendisliği için değil, aynı zamanda her türlü doku mühendisliği uygulamaları için en yaygın kullanılan doğal malzemelerden biridir. Çünkü memelilerde bulunan en bol proteindir ve periferik sinir sisteminde de

bulunabilir (Kehoe, Zhang et al. 2012). Literatürde tanımlanan insan vücudunda bulunan kolajenin çoğunluğu olan Tip I ve en az 28 farklı kolajen türü vardır. Kolajenin en önemli avantajı, yüzey üzerinde doğal olarak meydana gelen ve hücrelerin yapışması ve çoğalması için birden fazla sabitleme noktası sağlayan birkaç bağlanma domenidir. Bu nedenle aksonal rejenerasyon sürecinde sinir hücrelerine topografik kılavuzluk sağlar (Stang, Fansa et al. 2005, Stang, Fansa et al. 2005). Tip I kolajene dayanan NeuraGen®, Neuroflex™, NeuroMatrix™, NeuroWrap™ ve NeuroMend™ gibi ticari olarak temin edilebilen birkaç FDA onaylı sinir kanalı vardır (Bushnell, McWilliams et al. 2008). Birçok klinik ve araştırma çalışması kolajenin SKK materyali için kullanılabileceğini bildirmiştir, ancak yüksek maliyet, yüksek sertlik ve düşük esneklik gibi zayıf mekanik özellikleri yeni arayışlara yol açmıştır (Sedaghati, Jell et al. 2014).

Fibrin, memelilerde bulunan ve biyolojik olarak parçalanabilen başka bir proteindir ve kan pıhtılaşma mekanizmasında önemli bir rol oynar (Lord 2007, Weisel and Haemostasis 2007). Sinir hasarı onarımında kullanılması önerilmiştir ve birkaç çalışma, 20 mm'den küçük yaralanmalar için sinir rejenerasyonunu ve motor fonksiyonel iyileşmeyi teşvik etmenin mümkün olduğunu göstermiştir (Kalbermatten, Pettersson et al. 2009, Pettersson, Kalbermatten et al. 2010, Pettersson, McGrath et al. 2011).

Kitosan, jelatin, fibronektin, ipek fibroin, keratin ve hyaluronik asit gibi diğer doğal maddeler de SKK'ler için geniş çapta incelenmiştir (Whitworth, Brown et al. 1995, Gámez, Goto et al. 2004, Yang, Gu et al. 2004, Yang, Ding et al. 2007, Apel, Garrett et al. 2008, Zhang, Wei et al. 2008). Doğal materyallerde olduğu gibi kontrol edilebilir biyobozunurluk ve gelişmiş biyouyumluluk sağlarlar, bu da onları nöral rejenerasyon uygulamaları için adaylar haline getirmiştir. Ancak, işlenmesindeki zorluklar ve yeterli mekanik desteğin yanı sıra hızlı enzimatik bozulma birincil dezavantajlarıdır ve ticari olarak kullanılabilen SKK'ler elde etmek için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir (Hudson, Zawko et al. 2004).

2.4.2. Sentetik Biyobozunur Polimerler

Sentetik biyobozunur polimerler, biyouyumlulukları nedeniyle doku mühendisliği uygulamalarında sıklıkla tercih edilmektedirler. PLA, PGA, PCL gibi polimerler yalın halde kullanıldıkları gibi bu polimerlerin kopolimerleri veya karışımları da biyomedikal alandaki çalışmalarda kullanılmaktadır.

Biyolojik olarak türetilmiş malzemelerle karşılaştırıldığında, sentetik polimerlerin çeşitli avantajları ve dezavantajları vardır. Hayvan dokusundan elde edilmeleri gerekmediğinden kontaminasyon ve immünolojik reaksiyon riski daha düşüktür. Sentetik malzemeler genellikle belirli hücresele reseptörleri aktive etmez ve bu nedenle kendi başlarına aksonal büyüme veya hücre göçü gibi olması istenen hücresele tepkileri ortaya çıkaramaz. Bunun yanı sıra, bu malzemelerin bozunma hızı ve mekanik özellikleri uygulamalara göre kontrol edilebildiğinden sinir doku iskelelerinin inşası için kullanılmaktadır. PGA, PLA, PCL, poli (3-hidroksibutirat) (PHB) gibi polyesterler ve bunların kopolimerleri elektro-eğrilmiş iskelelerde uygulanmak için kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Genel olarak, bu sentetik malzemeler nöral hücre büyümesini destekler, ancak hücre proliferasyonunu ve canlılığını destekleme yetenekleri çeşitli özelliklerinden dolayı farklılık gösterir. Ayrıca, biyolojik olarak bozunabilir sentetik materyallerin fizyokimyasal ve biyolojik özellikleri, farklı uygulama gereksinimlerine göre uyarlanabildiğinden yapılabilecek bazı kimyasal modifikasyonlar, sinir rejenerasyonu sırasında kontrollü iletim sağlamak için materyallerin destek hücrelerini veya biyoaktif molekülleri etkin bir şekilde yakalamasını sağlar.

Alifatik polyesterler grubundan PLA, PGA, PCL ve bunların kopolimerleri olan poli (laktik asit-e-kaprolakton), PLGA ve poli (1,3-trimetilen karbonat-e-kaprolakton) yaygın bozunabilir sentetik polimerlerin bir sınıfını temsil eder. Bu sentetik polimerler, nöral yapı iskeleleri için biyomateryal olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Gu, Ding et al. 2011).

İdeal bir nöral iskele nörit büyümesini teşvik etmek için elektrik iletkenliğine ihtiyaç duyar, çünkü vücuttaki sinirsel iletişimin temel bileşeni sinir sisteminde iletimden sorumlu sinapslarda üretilen aksiyon potansiyelidir. Bu nedenle, polipirol, polianilin ve politiofen dâhil olmak üzere bazı elektriksel olarak iletken polimerler, özel elektrik ve antioksidan özellikleri nedeniyle nöral yapı iskelelerinde kullanılmıştır (Green, Lovell et al. 2008, Lee, Bashur et al. 2009, Xu, Fan et al. 2016).

PGA, yüksek Young modülü gibi mükemmel mekanik özelliklere sahip NGC'ler için yaygın olarak kullanılan sentetik polimerlerden biridir ve 1999 yılında Neurotube® ticari adıyla FDA tarafından onaylanan ilk sentetik NGC'dir (Wang, Chen et al. 2015). Uzunluğu ve düşük maliyeti nedeniyle 20 mm'ye kadar sinir boşluklarında kullanma konusunda cerrahlar arasında yaygın bir uygulama haline gelmiştir. Bununla birlikte, organik çözücülerdeki düşük çözünürlüğü, yüksek degradasyon oranı ve doku

nekrozuna neden olabilen asidik degradasyon ürünleri sinir onarımındaki uygulamasını kısıtlamaktadır (Dellon, Chang et al. 1992).

Farklı sentetik polimerlerin ilgili avantajlarına rağmen, tek başına sentetik bir malzeme, nöral iskelelerin tüm gereksinimlerini tam olarak karşılamak için yeterli değildir. Ayrıca, kopolimerizasyon koşullarındaki değişiklikler sıklıkla kopolimerlerin özelliklerini etkiler. Bu nedenle, kopolimerler, bazı yönlerden homopolimerlerden daha üstün olabilir. Bugünlerde farklı bir yaklaşım ise, nöral iskeleleri hazırlamak için malzeme olarak bir kopolimerin veya bir polimer karışımının kullanılması veya uygun yapısal/mechanik destek sağlayan sentetik polimerlerin doğal polimerler ile bir karışımının kullanılmasıdır.

2.4.2.1. PLA

PLA, laktik asidin kiral yapısından dolayı L, D ve rasemik (D, L) olmak üzere üç izomerik türü bulunan FDA onaylı bir polimerdir. PLLA ve PDLA yarı kristal polimerlerdir. PLA'nın kimyasal ve fiziksel özellikleri büyük ölçüde optik saflığa bağlıdır. PLA'nın kristalliği ve erime sıcaklığı, daha düşük optik saflıkla azalır ve PLA, %87,5'ten daha az optik saflık sunduğunda amorf bir polimerdir (Bastioli 2020). PLA bozunma mekanizması, esas olarak ester bağlarının rastgele hidrolizini içerir ve bozunma hızı, konfigürasyon düzenlemesi, moleküler ağırlık ve kristallik gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Gunatillake, Adhikari et al. 2003). PLA, yaklaşık 55 °C dolaylarında camsı geçiş sıcaklığına ve 175 °C civarında erime noktasına sahiptir.

PLA, çoğunlukla biyomedikal uygulamalarda kullanılan alifatik bir polyesterdir (Kahn, Koch et al. 2003). Kolay işlenebilirliği ve mekanik özellikleri nedeniyle SKK malzemesi olarak kullanılmak için polimer temelli olarak seçilen sentetik bir bileşiktir. Düşük alerjenik potansiyel, düşük toksisite, yüksek biyouyumluluk ve öngörülebilir bozulma kinetiği özellikleri olan PLA'nın, alternatif bozunabilir polimerler üzerine yapılan araştırmalarda klinik kullanım için uygunluğu FDA tarafından onaylanmıştır (Kehoe, Zhang et al. 2012). PLA, yüksek elastik modülü ve kırılmada düşük uzama ile kırılğan bir davranış sergileyen ve PCL ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir erime noktasına sahiptir. PLA, PCL'ye göre daha yüksek bir bozunma oranına sahiptir ve bazı çalışmalar bozunma işlemi sırasında PLA malzemelerinden bir miktar asit ürününün salındığını kanıtlamıştır (Chen, Yu et al. 2018). PLA'nın nispeten yüksek bozunma oranı, PCL'nin iyi mekanik özellikleri ve yumuşak dokuya uyumluluğundan dolayı ikisinin beraber kullanımı ile ideal doku özelliklerine yaklaşılabileceği düşünülmektedir. PLA filmlerinin düşük kalınlıkta imal edildiği bir çalışmada, PLA'nın işlenmesinde

zorluk görülmüştür, bu da onları sinir onarımı için aday malzeme olarak uygunsuz hale getirdiği için (Yen, Shen et al. 2019) bir sonraki çalışmada iyi mekanik özelliklerinden dolayı PCL/PLA kompozit malzeme üzerinde çalışılmıştır.

PLA/İpek (silk) Fibroin/ Sinir Büyüme Faktörünün (NGF) çekirdek/kabul elektro-eğirme yöntemi ile üretildiği bir çalışmada (Tian, Prabhakaran et al. 2015), PC12 hücrelerinin 11 gün kültürlenmesi sonucu hücrelerin farklılaşma potansiyeli olduğu gözlemlenmiştir. Hücreler 95 µm'ye kadar uzunlukta nöritler olarak başkalaşmıştır ve böylece PLA nanofiber matlardan büyüme faktörünün sürekli salınımının gerçekleştiği ve NGF'nin biyoaktivitesinin korunduğu gösterilmiştir. PLA'ya yüksek büyüme faktörü konsantrasyonu nedeniyle periferik sinir rejenerasyonunda fonksiyonel iyileşme sağlayacağı düşünülen trombosit zengin plazma ve mekanik özellikleri iyileştirmek amacıyla da jelatin eklenmiştir. Sonuçlar, Jelatin/Platelet-Rich Plazma'nın PLA iskelelerine dahil edilmesi ile ortaya çıkan mekanik özelliklerin, gözeneklilik ve hücre bağlanmasının ve in vitro canlılığın saf PLA'dan daha iyi olduğunu göstermiştir (Farzamfar, Esmailpour et al. 2017). Doğal matris nörofibrillerinin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerini yerine getirmek amacıyla, bağlayıcı moleküller olarak diamino-poli (etilen glikol) ve heparin kullanarak PLA nanofiberler üzerinde bFGF büyüme faktörü ve laminin eklendiği bir çalışmada (Patel, Kurpinski et al. 2007), hareketsizleştirilmiş biyokimyasal faktörlerin, nörit büyümesini 2-4 kat arttırmak için etkili olduğu, kimyasal sinyalizasyonun aksonal büyümeye rehberlik etmedeki önemi gösterilmiştir.

2.4.2.2. PCL

PCL, FDA onaylı bir polimerdir ve uygun mekanik ve kimyasal özellikleri ve nispeten yavaş bozunma hızı nedeniyle ilaç dağıtımı, cerrahi sütürler ve doku mühendisliği iskeleleri gibi çeşitli biyomateryal uygulamalarında kullanılmaktadır (Estellés, Vidaurre et al. 2008). PCL yarı kristal bir polimerdir ve sırasıyla -60°C ve 60°C'lik camsı geçiş sıcaklığı ve erime noktasına sahiptir. PCL, in vivo hidroliz bozunmasına uğrayarak bozunmaktadır (Hakkarainen 2002). Bozunma hızı ve süresi, PCL'nin kimyasal yapısına ve moleküler ağırlığına bağlıdır ve mekanik güç ve ağırlık kaybını içerir (Pitt, Gratzl et al. 1981). PCL'nin bozunması PLA ve PGA'dan daha yavaştır ve bozunma süresi 2-3 yıl aralığındadır (Gunatillake, Adhikari et al. 2003). Vücutta, PCL bozunma ürünleri metabolize edilir veya renal sekresyonla uzaklaştırılır (Woodward, Brewer et al. 1985).

PCL ayrıca SKK'lerde kullanım için FDA tarafından onaylanan az sayıdaki sentetik malzemeden biridir. Çekme mukavemeti düşük olan PCL yüksek kopma uzaması ile oldukça iyi elastik özellikler göstermektedir. İyi mekanik özelliklere ve toksik olmayan, enflamatuar olmayan bozunma ürünlerine sahip, ucuz, imalatı kolay, yüksek oranda çözünür ve biyolojik olarak parçalanabilir bir polyesterdir. Ticari adı Neurolac® olan Poly-D, L-laktit-ko-p-karprolakton NGC, 2005 yılında FDA onayı almıştır ve implantasyon sırasında cerrahlara görsel yardım sağlayan ilk ve tek şeffaf NGC'dir (Kehoe, Zhang et al. 2012). Ototogreftlerle karşılaştırılabilir bir rejenerasyon kabiliyetinin yanı sıra 20 mm'ye kadar olan sinir boşlukları için altın standart olarak karşılaştırılabilir bir verimliliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, yüksek sertlik ve düşük esneklik, cerrahi sırasında ve sonrasında Neurolac® NGC'nin kullanımı için büyük bir sorun olmaya devam etmektedir ve bu da sinir hasarı onarımları için düşük istatistiksel performansa neden olmaktadır (Meek, Jansen et al. 2009).

İnsan vücudunda kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanan biyoyumlu sentetik bir polimer olan PCL, rejeneratif amaçlarla nöral iskeleler elde etmek için özelleştirilebilen iyi düzeyde mekanik ve kimyasal özelliklere sahip bir polyesterdir. Aynı zamanda, maliyeti düşük ve üretimi kolay bir polimerdir. Kolay işlenmesi nedeniyle PCL, çeşitli doku hasarlarını onarmak için kullanılmaktadır (Sousa, Mendes et al. 2013). PCL nanofiberler, toksik olmayan, enflamatuar olmayan bozunma ürünlerine sahip, ucuz, imalatı kolay, yüksek oranda çözünür, biyoyumlu ve yavaş biyolojik bozunma özelliklerinden dolayı nöronların yapışması ve farklılaşmasına uygun platformlar üretmek için kullanılmaktadır (Donoghue, Lamond et al. 2013, Mochane, Motsoeneng et al. 2019). Ayrıca, yapılan çalışmalar bir PCL sinir kanalının, implante edilen bölgede uygun gözeneklilik oluşturması ve vaskülarizasyonu artırması nedenleriyle siyatik fonksiyonel indeks (SFI) değerlerinde artış, kas atrofisinde iyileşme ve siyatik sinir boşluklarında yenilenen akson sayısında artış sağlamadığı gerekçeleriyle motor fonksiyonel iyileşmeyi destekleyebileceğini göstermiştir (Zhu, Wang et al. 2017). Bu nedenle, bu polimer sinir kanalı malzemesi olarak en uygun adaylardan biri olarak kabul edilebilir (Frattini, Pereira Lopes et al. 2012).

Destek hücreleri veya büyüme faktörlerinin iskele yapısına dâhil edilmesi, çok kanallı bir mimari oluşturulması, biyoaktif inorganik partiküllerin veya nanopartiküllerin ilave edilmesi sinir onarımını desteklemektedir ve bunun literatürde birçok örneğine rastlanmaktadır. PCL/Jelatin/Grafen nanopartikülleri ile oluşturulan nanofiberlerin PC12 hücrelerinin çoğalmasına etkisini inceleyen bir çalışmada (Heidari,

Bahrami et al. 2019) PCL/Jelatin/Grafen nanofiberlerin PCL/Jelatin nanofiberlere göre PC12 hücrelerinde daha fazla artışa sebep olduğu görülmüştür, grafenin yüksek elektrik iletkenliğinin nöral hücreleri uyarda etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca *E.coli* ve *S.aureus* bakterilerine karşı %99 antibakteriyel özellik sergilediği görülmüştür. İlaç salınım çalışmalarında ise Tetracycline hydroxide (TCH) ilacı kullanılmıştır ve PCL matlarının ilaç taşınımının daha kontrollü olarak yapılmasına elverişli olduğu görülmüştür. Grafen nanopartiküllerin hidrofiliklik özelliğini artırdığı, dolayısıyla bozunma oranını artırdığı saptanmıştır. Kitosan/PCL nanofiber geliştirilen başka bir çalışmada (Cooper, Bhattarai et al. 2011) elektro-eğirme yönteminin nöral gelişimi nasıl etkilediği döküm film yöntemleri ile kıyaslanarak araştırılmıştır. Elektro-eğirme yöntemi ile üretilen fiber üzerindeki Schwann hücreleri ve PC12 hücrelerinin lif hizalama yönü boyunca yönlendiği ve iki kutuplu bir morfoloji sergilediği görülürken, film üzerindeki hücreler çok kutuplu bir morfoloji göstermiştir. Hizalanmış lifler üzerinde kültürlen PC12 hücreleri, lif oryantasyonu boyunca tek yönlü artmış ve Kitosan-PCL filmlerinde büyütülene göre önemli ölçüde daha yüksek β -tübülün gen ekspresyonu sergilediği görülmüştür. Sinir dokusu onarımını artırmayı hedefleyen farklı bir çalışmada (Wang, Tian et al. 2018) ise antioksidan aktivitesi nedeniyle odunsu biyopolimer olan Lignin, PCL matlara ilave edilmiştir. Antioksidatif PCL-Lignin kopolimeri, Halka Açma Polimerizasyonu yöntemiyle sentezlenmiştir. Daha sonra bu kopolimerler ve PCL ile elektro-eğirme yöntemi kullanılarak nanofiber matlar elde edilmiştir. Sonuçlar Lignin-PCL nanofiberlerin, PCL liflerine kıyasla hücre canlılığını artırdığını, nanofiberlerin mekanik özelliklerini artırdığını, hem kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin hem de Schwann hücrelerinin hücre proliferasyonunu teşvik ettiğini, Schwann hücrelerinin miyelin temel protein ekspresyonlarını arttırdığını, DRG nöronlarının nörit büyümesini uyardığını ve PCL nanofiberlere iyi antioksidan özellikler kazandırdığını gösterdi. PCL/ tip I kolajen nanofiberlerin 10 mm uzunluğundaki fare siyatik siniri üzerindeki etkilerini in vivo inceleyen bir çalışmada (Yen, Shen et al. 2019), onarımdan sonraki 8 hafta içinde SFI değeri haftalık olarak değerlendirilmiş, siyatik sinirde miyelin kılıf oluşumu ve akson morfolojisi gözlenmiştir. Çalışma, PCL veya silikon malzemelere kıyasla geliştirilen bu nanofiber ile yapılan onarımların daha fazla siyatik sinir fonksiyonunu iyileştirme eğilimi olduğunu göstermiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

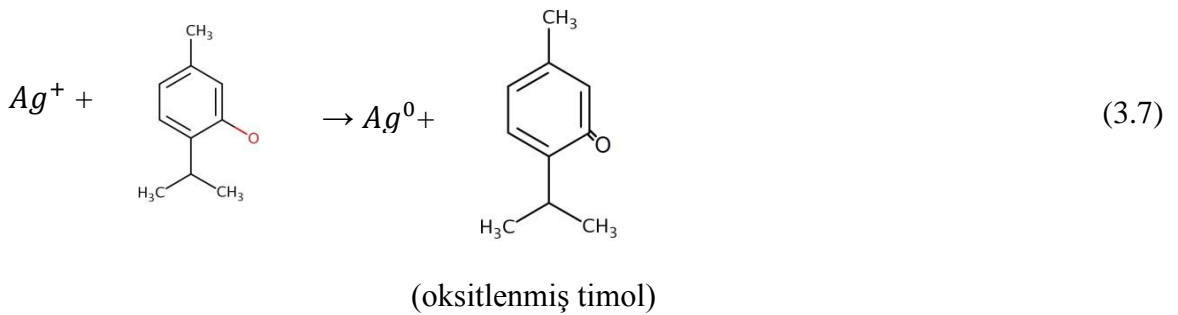
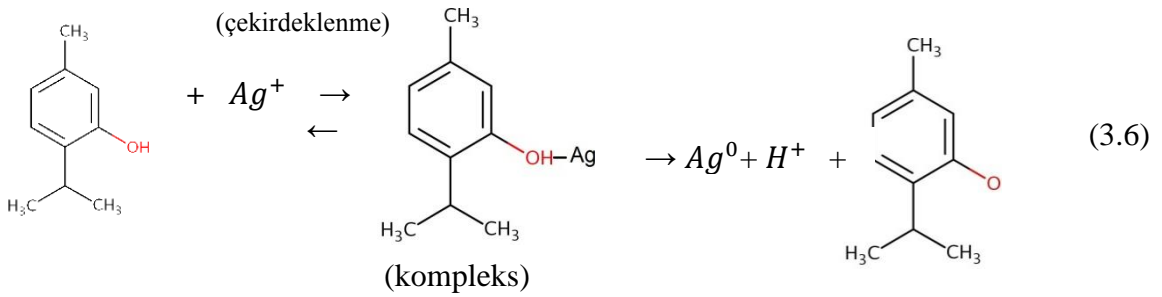
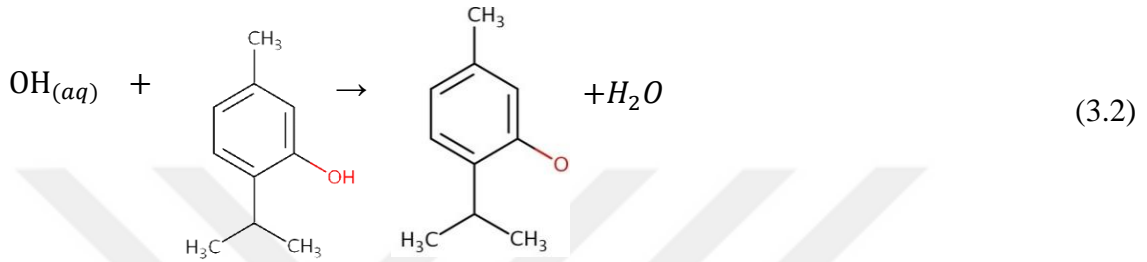
Tezin bu bölümünde, tez kapsamında yürütülen deneysel çalışmalar ve bu çalışmaların gerçekleştirilmesi için kullanılan malzeme ve cihazlar ile ilgili detaylı bilgi verilmiştir. Deneysel çalışmalar Necmettin Erbakan Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. SEM, FTIR, XRD su-temas açısı, TGA analizleri Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, TEM analizi Selçuk Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır.

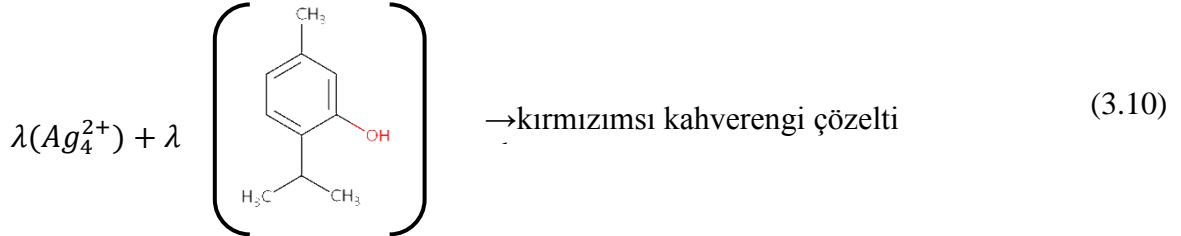
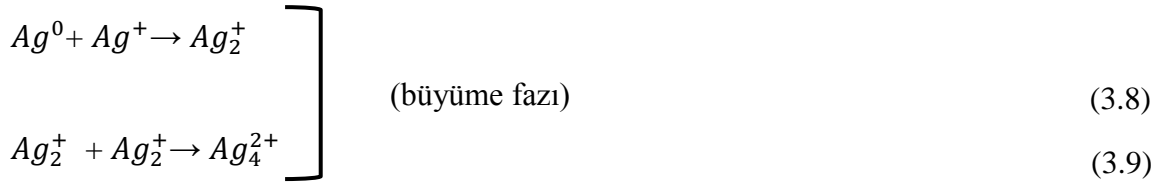
3.1. Bitki Özütü ile Enkapsüle Gümüş Nanopartikül Üretimi

Terpenoidler, polifenoller, karbonhidratlar, alkaloidler, fenolik asitler ve proteinler gibi bitki ara ürünleri (metabolit), metal iyonlarının biyolojik redüksiyonunda önemli bir rol oynar ve nanopartikül elde edilmesi için kullanılır (Makarov, Love et al. 2014). Terpenoid sınıfından bir fitokimyasal olan kekik özütünün bileşeni timol ($C_{10}H_{14}O$), bölüm 3.1.2'deki deneysel süreçlere bağlı olarak aşağıdaki tepkimeler gerçekleştirilerek Ag^+ indirgenmesini sağlamıştır. Bölüm 2.3.1.2'de değinildiği gibi ilk adım, en yavaş adımdır ve Ag^+ iyonları ile bir timol kompleksi oluşumunu içerir; bu timol kompleksi, bir sonraki adımda Ag^0 ve metal radikalleri üretmek için ayrışır; bu adım çekirdeklenme adımı olarak bilinir. Bir sonraki adım hızlıdır ve Ag^+ iyonları, metal radikalleri ile reaksiyona girerek Ag^0 ve oksitlenmiş timol formunu oluşturur. Bundan sonraki iki hızlı büyüme adımı, Ag_2^+ iyonlarını oluşturmak için Ag^0 'ın Ag^+ iyonları ile reaksiyonunu içerir. Daha sonra Ag_2^+ iyonları, atmosferik koşullar altında stabil olan sarı Ag_4^{2+} iyonlarını üretmek için hızla dimerize olur. Gümüş iyonlarının sulu çözelti içindeki reaksiyonunun nanometre ölçeğinde Ag partikülleri ürettiği bilinmektedir, çünkü Ag^+ 'nın farklı kompleksler tarafından reaksiyonu aglomere oluşturarak bir oligomer kümesi oluşturur (Ganash 2019). Tüm bu reaksiyonlar sonucu Ag indirgenerek kırmızımsı kahverengi renginin gözlemlendiği solüsyon elde edilir.

$eAgNP$ 'lerin oluşum mekanizması Denklem 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6,3.7, 3.8, 3.9 ve 3.10'da gösterilmektedir. $AgNO_3$ ve *Thymus Vulgaris L.* sulu çözeltileri Denklem 3.1'deki gibi H radikalleri ve OH serbest radikalleri oluşturmuştur. Denklem 3.2'de OH radikalleri, timol grubundaki H atomu ile reaksiyona girmiş ve timol grubunda serbest radikaller oluşturmuştur. Denklem 3.3'te $AgNO_3$ sulu çözeltisi Ag^+ ve NO_3^- iyonlarına ayrılmıştır. Denklem 3.4'te H radikali, Ag^+ 'yı indirgeyerek Ag^0 oluşturmuştur. Denklem 3.5, Ag^+ 'nın su ile doğrudan reaksiyonunu ifade etmektedir (Elsupikhe,

Shameli et al. 2015). Denklem 3.6'da Ag^+ iyonları ile bir timol kompleksi oluşmuştur; bu timol kompleksi daha sonra ayrılmıştır. Denklem 3.2'deki serbest radikal, Ag^+ 'yı indirgeyecek şekilde Denklem 3.7'de oksitlenmiş timol grubu oluşturmuştur. Denklem 3.8 ve 3.9'da Ag^0 'ın Ag^+ iyonları dimerize olarak Ag_4^{2+} iyonunu oluşturmuştur. Denklem 3.10'da reaksiyonların sayısız tekrarı sonucu oluşan oligomer kümesinin oluşumu gösterilmiştir.



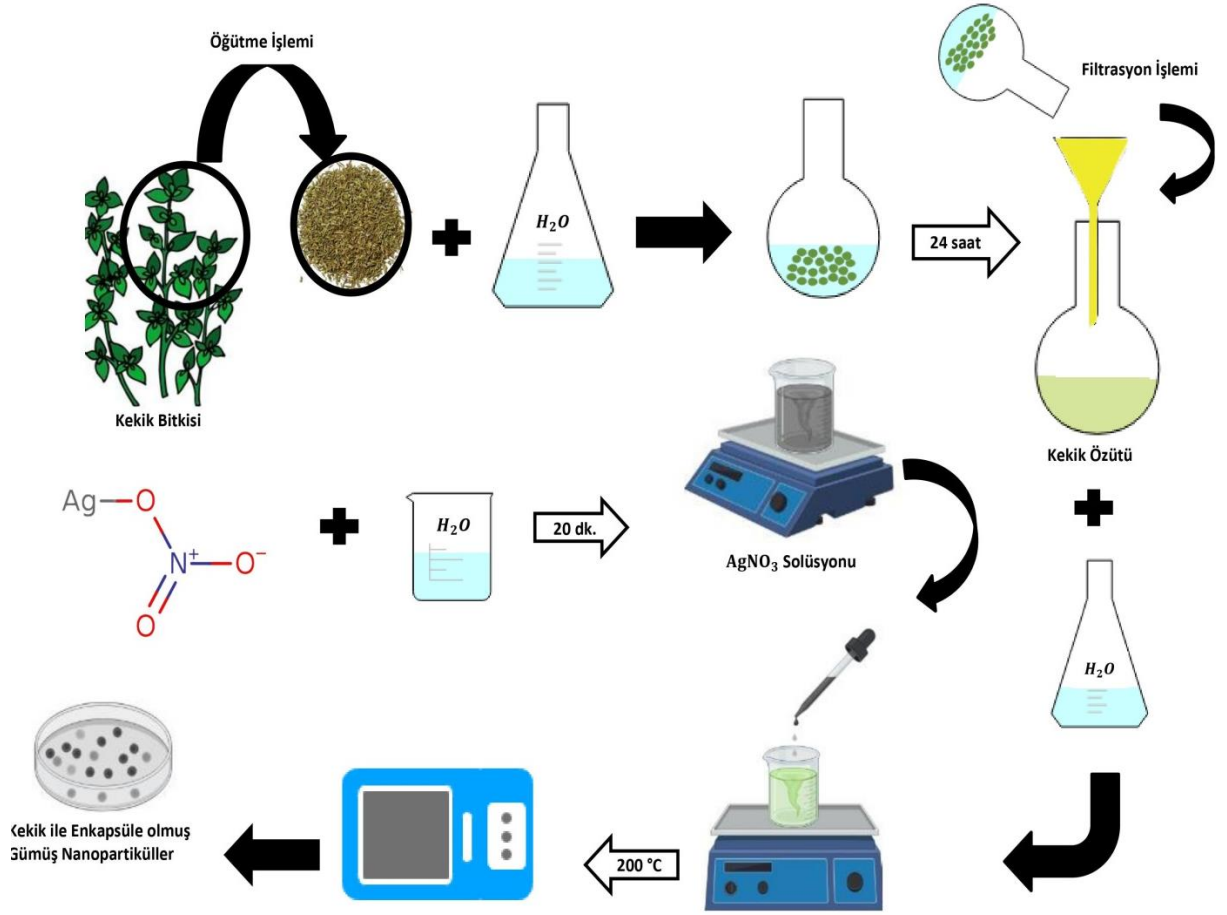


3.1.1 Kullanılan cihaz ve malzemeler

Kekik özütü ile yeşil sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin sentezlenmesi için kullanılan $AgNO_3$ 169.87 g/mol molekül ağırlığına sahiptir ve Nanokar Nanotechnology firmasından satın alınmıştır. Kekik bitkisinin dalı ve yapraklarını içeren 100 gram kekik Dağcıoğlu Baharat'tan satın alınmıştır. İyonlardan arındırılmış saf su Necmettin Erbakan Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Araştırma Laboratuarı'ndan temin edilmiştir. Çalışma kapsamında Binder markalı, VD 23 model etüv kullanılmıştır. Gümüş nanopartikül sentezi çalışmalarının analiz edilmesi için HITACHI marka U-3900 model UV-vis spektrofotometre kullanılmıştır.

3.1.2. Deneysel Yöntem

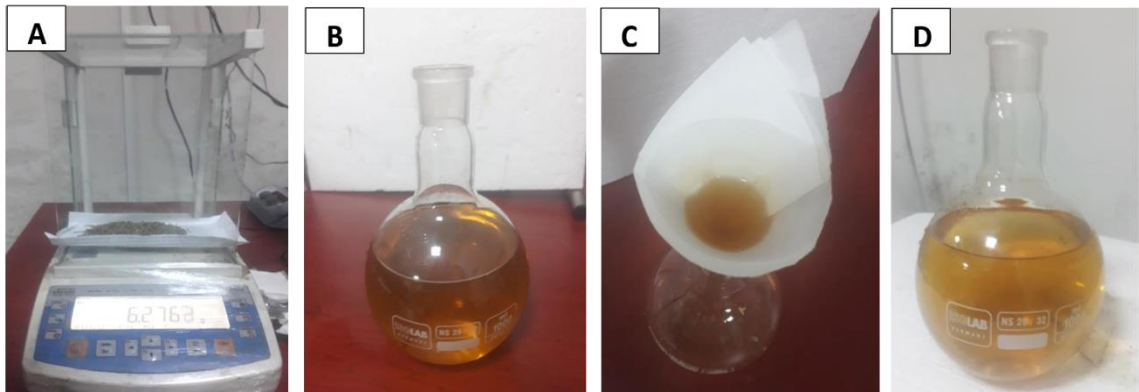
Kekik bitki özütü ile enkapsüle gümüş nanopartikül üretimi için deney süreçleri akış diyagramı Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Deney aşamaları sırası ile kekik özütü hazırlanması, $AgNO_3$ çözeltisinin hazırlanması, UV-Vis spektrometre analizi ile gümüşün nanometre boyutlarına indirgenmediği solüsyon oranlarının belirlenmesi ve kekik özütü, $AgNO_3$ çözeltisi, saf sudan oluşan çözeltide meydana gelen indirgenme reaksiyonları sonucu elde edilen kırmızımsı kahverengi renkli solüsyondan saf suyun etüvde buharlaştırılması yoluyla kekik özütü ile enkapsüle olmuş gümüş nanopartikül (eAgNP) elde edilmesi süreçlerini kapsamaktadır.



Şekil 3.1. Kekik özütü ile enkapsüle olmuş gümüş nanopartikül üretimi çalışmaları akış diyagramı

3.1.2.1. Kekik Özütünün Hazırlanması

Kekik özütü hazırlamak için toz haline getirilmiş 20 g kekik bitkisi Şekil 3.2'deki gibi tartıldıktan sonra saf suyun içerisinde konularak karıştırıldı ve 24 saat bekletildi. Bu karışım filtre kâğıdı kullanılarak süzüldü ve geriye kalan posa atıldı. Süzüntü 1000 ml'lik balon jöjeye alınarak muhafaza edildi.



Şekil 3.2. A) Öğütülmüş kekik bitkisinin tartılması B) 24 saat bekletilen kekik- saf su karışımı C) Filtrasyon işlemi D) Posasından arındırılmış kekik ekstraktı

3.1.2.2. AgNO₃ Çözeltisinin Hazırlanması

0.1 M AgNO₃ çözeltisi elde etmek için, Denklem 3.11’de bulunduğu gibi 250 ml saf suya 4,24 g AgNO₃ katılarak 20 dk. boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Denklem 3.11’de A, m ve M_A sırasıyla 250 ml saf suya eklenecek AgNO₃ miktarı, molar ve moleküler ağırlığı ifade etmektedir. Karışım güneş ışığından korunması için AgNO₃ çözeltisi hazırlandıktan sonra balon jopenin etrafı çözeltisi alüminyum folyo ile kaplanarak muhafaza edildi.

$$A = \frac{m \times M_A \times 250}{1000}, \quad (M_A (\text{AgNO}_3) = 169.87 \text{ g/mol}) \quad (3.11)$$

$$A = \frac{0.1 \times 169.87 \times 250}{1000} = \frac{4,24 \text{ g}}{250 \text{ ml}}$$

3.1.2.3. UV-Vis Spektrometre Analizi ve eAgNP Sentezi

Gümüş nanopartiküllerin sentezlenmesi için kimyasal redüksiyon metodu kullanılarak iyonik gümüşün indirgenmesini sağlayan kekik özütü ve AgNO₃ oranları belirlendi. Kekik ile enkapsüle olmuş Ag nanopartikül üretiminin gerçekleşmesini sağlayacak gerekli bitki özütü ve AgNO₃ oranını elde etmek için öncelikle bitki ekstraktı kontrol grubu iken AgNO₃ değişken olarak, daha sonra AgNO₃ kontrol grubu iken bitki ekstraktı oranı değişken olarak kabul edilip Tablo 3.1’de verilen oranlar doğrultusunda hazırlandı. Değişkene bağlı hazırlanan solüsyonların 24 saat sonra çekilen görüntüleri Şekil 3.3’de gösterilmiştir.

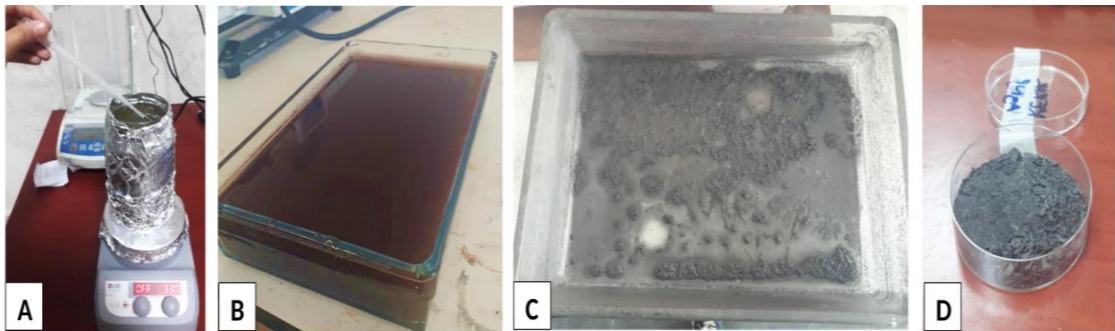
Tablo 3.1. Optimizasyon çalışmaları için hazırlanan çözelti içerikleri

Çözelti No.	Çözelti oranları
1	5 ml ekstrakt + 1 ml AgNO ₃ + 4 ml saf su
2	5 ml ekstrakt + 2 ml AgNO ₃ + 3 ml saf su
3	5 ml ekstrakt + 3 ml AgNO ₃ + 2 ml saf su
4	5 ml ekstrakt + 4 ml AgNO ₃ + 1 ml saf su
5	5 ml ekstrakt + 5 ml AgNO ₃
6	1 ml ekstrakt + 5 ml AgNO ₃ + 4 ml saf su
7	2 ml ekstrakt + 5 ml AgNO ₃ + 3 ml saf su
8	3 ml ekstrakt + 5 ml AgNO ₃ + 2 ml saf su
9	4 ml ekstrakt + 5 ml AgNO ₃ + 1 ml saf su

UV-Vis spektrofotometresi ile her çözeltinin absorbans değerleri 200-800 nm dalga boyu aralığında ölçülerek optimum çözelti oranı değeri belirlendi. UV-vis spektrofotometre ile yapılan ölçümler sonucu bulunan değere bağlı olarak 4 ml saf suyun içerisine ilk olarak 1 ml kekik özütü eklenerek manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Daha sonra ekstrakt eklenmiş bu çözelti, manyetik karıştırıcıda karıştırılırken 5 ml AgNO_3 solüsyonu pipet yardımı ile damla damla ilave edildi (Şekil 3.4). Karışım, 10-15 dk. manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra güneş ışığından korunması için alüminyum folyo ile kaplanarak 24 saat ağzı kapalı bir şekilde bekletildi. İndirgenme reaksiyonları sonrası Şekil 3.3. B’de gösterildiği gibi kırmızımsı kahverengi rengine döndüğü gözlemlendi. Elde edilen çözelti cam petri kaplarına boşaltıldıktan sonra $200\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta etüve konularak suyun buharlaşması sağlandı. Petri kabının yüzeyinde biriken solüsyondan kalan katı kısımlar lamel yardımı ile kazınarak toplandı. Bu işlem sonucunda kekik ekstraktı ile enkapsüle olmuş gümüş nanopartiküller elde edildi.



Şekil 3.3. A) UV-vis spektrofotometre analizi için hazırlanan 24 saat bekletilmiş kekik ekstraktı/ AgNO_3 çözeltileri B) 24 saat sonra gözlenen renk değişimi



Şekil 3.4. A) AgNO_3 çözeltisinin damla damla ekstrakt ve saf su karışımına eklenmesi B) 24 saat sonra reaksiyon sonucu oluşan kahverengimsi kırmızı çözelti C) Çözeltinin buharlaştırılması sonucu kalan tortular D) Kazıma işlemi sonrası elde edilen eAgNP’ler

3.2. Elektro-eğirme Tekniği ile PCL/PLA/eAgNP Nanokompozit Fiber Üretimi

Elektro-eğirme tekniği kullanılarak Tablo 3.2’de verilen nanofiber çeşitleri üretilmiştir ve üretilen nanofiberler karakterizasyon testlerine tabi tutularak birbirlerine göre avantajlı ve dezavantajlı oldukları özellikler kıyaslanmıştır.

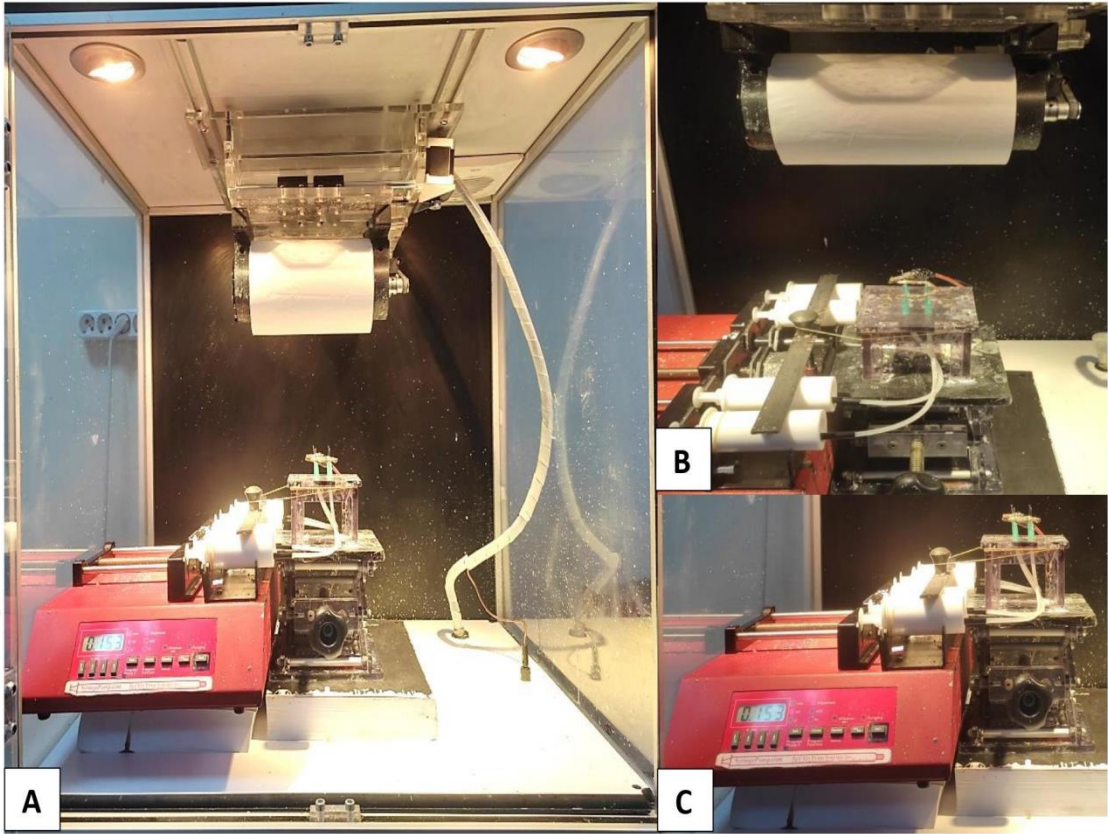
Tablo 3.2. Üretimi yapılan nanofiber çeşitleri

No.	Nanofiber Çeşidi	Amaç
1	PLA	PLA nanofiberin tek başına karakteristiklerini belirlemek
2	PCL	PCL nanofiberin tek başına karakteristiklerini belirlemek
3	PCL/PLA	PLA ve PCL’nin karakteristiklerinin birleştirilmesi ile nanofibere farklı özellikler kazandırmak
4	PCL/PLA/AgNP	Ag nanopartikülün nanofibere kazandırdığı özellikleri belirlemek
5	PCL/PLA/eAgNP	PCL/PLA nanokompozite kekik özütü ile yeşil sentezlenmiş Ag nanopartikül eklenerek antibakteriyel özellikler kazandırmak
6	PCL/PLA /TE	Kekik özütünün PCL/PLA nanokompozit üzerine spreyleneşi ile nanofibere sadece özütün kazandırdığı özellikleri belirlemek

3.2.1. Kullanılan cihaz ve malzemeler

PLA Shenzhen Esun Industrial Co., Ltd., dimetilformamid (DMF, C_3H_7NO) Sigma-Aldrich, diklorometan (DCM, CH_2Cl_2) VWR Chemicals, PCL ($M_A = 80,000 \text{ g/mol}$) Sigma-Aldrich, kloroform (CHL, $CHCl_3$) Carlo Erba Reagents firmalarından satın alınmıştır. PLA’yı çözebilmek için DMF ve DCM çözücüleri birlikte kullanılırken PCL’yi çözebilmek için ise DMF ve CHL çözücüleri birlikte kullanılmıştır. AgNP (20 nm) Nanokar Nanotechnology'den satın alındı.

Deneysel süreç yürütülürken hassas terazi (RADWAG, AS220.R2), manyetik karıştırıcı (Thermomac-TM19-D), ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonopuls- HD 2200), şırınga pompası düzeneği (New Era Pump Systems, Inc.) ile birlikte Şekil 3.5’te verilen elektro-eğirme cihazı (Eraktek İnovasyon) kullanılmıştır.



Şekil 3.5. A) Elektro-eğirme düzeneği B) Döner toplayıcı C) Şırınga pompası

3.2.2. Deneylerin Yapılışı

PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberlerin üretiminin gerçekleştirilmesi için öncelikle her bir nanofiber için polimer çözeltilerinin hazırlanması gerekir. Polimer çözeltilerinin özellikleri, elektro-eğirme işlem parametrelerini etkilediği için optimum polimer, çözücü oranları bulundu. Bulunan oranlarla hazırlanan solüsyonlar elektro-eğirme işlemi ile nanofiber haline gelerek toplandı.

3.2.2.1 Çözeltilerin Hazırlanması

Nanofiber üretiminde kullanılacak polimer/çözücü oranlarının tespit edilmesi için ilk olarak farklı yoğunluk değerlerinde PLA, PCL solüsyonları hazırlanıp elektro-eğirme işlemi sonucu nanofiber oluşumunu sağlayabilecek solüsyon oranları belirlendi. Tüm nanofiber üretimleri için polimer/çözücü karışımları ağırlık/hacim (w/v) ölçümleri esas alınarak hazırlandı. Optimum konsantrasyon değerleri iki polimer çözeltisi için de bulundu. PLA nanofiber üretimi için çözücü olarak DMF ve DCM kullanıldı.

PLA polimeri (%10 w/v), DCM ve DMF çözücüleri (4:1, v/v) içerisinde oda sıcaklığında 2 saat süre boyunca manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. PCL

solüsyonu hazırlanırken ise DMF ve CHL çözücüleri kullanıldı. PCL polimeri (%10 w/v), CHL ve DMF çözücüleri (1:1, v/v) içerisinde oda sıcaklığında 8 saat süre boyunca manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. PCL/PLA üretimi için de aynı PLA ve PCL solüsyon oranları kullanıldı.

PCL/PLA/eAgNP nanofiber üretimi için ilk olarak PLA/eAgNP ve PCL/ eAgNP çözeltileri ayrı ayrı hazırlandı. PLA/ eAgNP solüsyonu hazırlanırken DCM ve DMF çözücüleri (4:1, v/v) içerisine PLA polimerinin ağırlıkça %1'i miktarında eAgNP eklenerek ultrasonik homojenizatör yardımıyla 15 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. DCM/DMF/eAgNP karışımı içerisine PLA polimeri (%10 w/v) eklenerek homojen kıvama gelene kadar manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. Benzer şekilde, PCL/eAgNP solüsyonu hazırlanırken CHL ve DMF çözücüleri (1:1, v/v) içerisine PCL polimerinin ağırlıkça %1'i miktarında eAgNP eklenerek ultrasonik homojenizatör yardımıyla 15 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. CHL/DMF/eAgNP karışımı içerisine PCL polimeri (%10 w/v) eklenerek homojen kıvama gelene kadar manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı.

PCL/PLA/AgNP nanofiber üretimi için ilk olarak PLA/AgNP ve PCL/AgNP çözeltileri ayrı ayrı hazırlandı. PLA/AgNP solüsyonu hazırlanırken DCM ve DMF çözücüleri (4:1, v/v) içerisine PLA polimerinin ağırlıkça %1'i miktarında AgNP eklenerek ultrasonik homojenizatör yardımıyla 15 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. DCM/DMF/AgNP karışımı içerisine PLA polimeri (%10 w/v) eklenerek homojen kıvama gelene kadar manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. Benzer şekilde, PCL/AgNP solüsyonu hazırlanırken CHL ve DMF çözücüleri (1:1, v/v) içerisine PCL polimerinin ağırlıkça %1'i miktarında AgNP eklenerek ultrasonik homojenizatör yardımıyla 15 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. CHL/DMF/AgNP karışımı içerisine PCL polimeri (%10 w/v) eklenerek homojen kıvama gelene kadar manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı.

3.2.2.2. Elektro-eğirme Tekniği ile PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP Nanofiber Üretimi

Elektro-eğirme işlemi sırasıyla PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP nanofiberlerin üretimi için uygulandı. Tablo 3.3'te her bir nanofiber için belirlenen en uygun elektro-eğirme parametreleri verilmiştir. Bu parametreler belirlendikten sonra hazırlanan solüsyonlar elektro-eğirme işlemine tabi tutuldu. PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP nanokompozit fiber üretiminde PLA, PCL; PCL/eAgNP, PLA/eAgNP; PCL/AgNP, PLA/AgNP solüsyonları farklı şırıngalara

çapraz yerleştirilerek sırasıyla PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP ve PCL/PLA/AgNP nanokompozit fiber üretimleri sağlandı. Elektro-eğirme işlemi süreci boyunca topraklanmış kolektör olarak alüminyum folyo ile kaplanmış döner tambur plaka kullanılmıştır. Hazırlanan polimer çözeltileri ilk önce 10 mL'lik plastik şırıngalara doldurulmuş ve polietilen kılcal bir boru ile metalik bir iğneye (iç çap=0.56 mm.) bağlanmıştır. Bu cihazda sistemin pozitif elektrotu metalik iğneye, topraklanmış olan elektrotu ise iletken kolektöre bağlanmıştır. Elektro-eğirme süreçlerinin tamamı oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.3. Nanofiber üretimleri için optimize edilen elektro-eğirme parametreleri

Nanofiber çeşidi	Mesafe	Voltaj	Besleme oranı
PLA	13-15 cm	30 kV	0.5 ml/ saat
PCL	13-15 cm	22 -25 kV	1 ml/saat
PCL/PLA	14 cm	27.5 kV	0.5 ml/ saat
PCL/PLA/eAgNP	13-15 cm	30 kV	0.8 ml/saat
PCL/PLA/AgNP	13 cm	28 kV	0.35 ml/saat

3.3. Karakterizasyon Analizleri

Çalışma sonunda üretilen nanofiberlerin morfolojik yapısı, hidrofilitik profili, mekanik özellikleri, antibakteriyel özellikleri, biyoyumurluk profili gibi karakteristikleri incelenmiştir. Bu karakteristiklerin belirlenmesi için SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu), TEM (Geçirimli elektron mikroskobu), TGA (Termal gravimetrik analiz), XRD (X-Işınları Difraksiyonu), FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) analizleri yapılmış, çekme test cihazı ile mekanik özellikler (yüzde uzama, gerilme mukavemeti, şekil değişimi vs.), Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS) daldırma yöntemi ile de biyobozunurluk özellikleri gözlemlenmiştir. Ayrıca *E.coli*, *S. aureus* bakterilerine karşı geliştirilen malzemenin antibakteriyel özellikleri disk difüzyon metodu yöntemiyle test edilmiştir.

3.3.1. Morfolojik Analiz

Üretilen nanofiber morfolojilerinin saptanması amacıyla nanofiberlerin yüzeyleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Hitachi – SU 1510) aracılığıyla alınan görüntüler ile incelenmiştir. Üretilen nanofiberlerin SEM analizinden önce numune yüzeyleri elektrik iletkenliğinin artırılması amacıyla Leica, EM, ACE600 marka kaplama cihazı kullanılarak altın/paladyum ile kaplanmıştır. Görüntü alınırken 5 kV elektriksel potansiyel farkı uygulanarak, 5K X, 15K X, 50K X büyütme oranlarında SEM

görüntüleri alınmıştır. Çekilen SEM görüntüleri ile nanofiberlerin lif çapı, dağılımı, yüzey pürüzlülüğü ve yüzey morfolojisi araştırılmıştır ve IMAGE-J görüntü analiz programı ile ortalama fiber çapı ve fiber çapı dağılımları belirlenmiştir. Geçirimli Alan Mikroskobu (TEM) (JEOL 2100) ile eAgNP ve PCL/PLA/eAgNP nanofiber yüzeylerin mikroyapısal karakteristiklerinin anlaşılması için kullanılmıştır.

3.3.2. Hidrofiliklik Profili

Temas açısı, bir sıvının bir katının yüzeyini ıslatma yeteneğinin bir ölçüsüdür. Temas açısı analiz cihazı Şekil 3.6’da görüldüğü gibi; sıvının damlatıldığı pipet ve numune tablası, numune yüzeyi üzerindeki damlacığın görüntüsünün alınması için bir kamera, alınan görüntülerin aktarıldığı bilgisayar ve damlanın analiz edilmesi için gerekli yazılımdan meydana gelmektedir. Su temas açısının 90° üzerinde çıkması numunenin hidrofobik yapısına atfedilirken 90° altındaki sonuçlar numunenin hidrofilik bir yapı sergilediğini gösterir. Su temas açısı “sesil (yerleştirilen) damla yöntemi” uygulanarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.6. Su-temas açısı ölçümü

Numune üzerine mikropipet kullanılarak saf su damlatılmış ve temas açıları, damlaların video kaydına alınan görüntülerinden belirlenmiştir. Her bir numune için 120 saniye boyunca alınan kayıtlara göre temas açısı değerleri belirlenmiş ve ortalama değerleri hesaplanmıştır. 20 mm x 20 mm boyutlarındaki her bir nanofiberin hidrofilitik özellikleri temas açısı ölçüm cihazı (Biolin Scientific Attension, Theta Lite) ile oda sıcaklığında ölçülmüştür. Hava ortamındaki su temas açısı ölçümleri için 5 µl hacminde su damlaları kullanılmıştır.

3.3.3. FTIR

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), her dalga boyunun ayrı ayrı taranmasına gerek kalmadan hızlı ve yüksek çözünürlükte spektrumlar elde etmeyi sağlayan analiz ölçüm cihazıdır. Bir malzemenin numunelerine kızılötesi radyasyonun (IR) uygulanmasıyla gerçekleştirilen FTIR analizi, malzeme tarafından absorbe edilen kızılötesi bölgedeki dalga boylarının aralığını ölçer.

Elektro-eğrilmiş eAgNP katkılı PCL/PLA nanokompozit fiberlerde moleküllerin yapısındaki bağların tanımlanarak PCL, PLA ve eAgNP malzemelerinin fonksiyonel gruplarını saptamak için FTIR cihazı ile (Thermo Scientific – Nicolet iS20) analiz yapılmıştır. Analizler $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında gerçekleştirilmiştir.

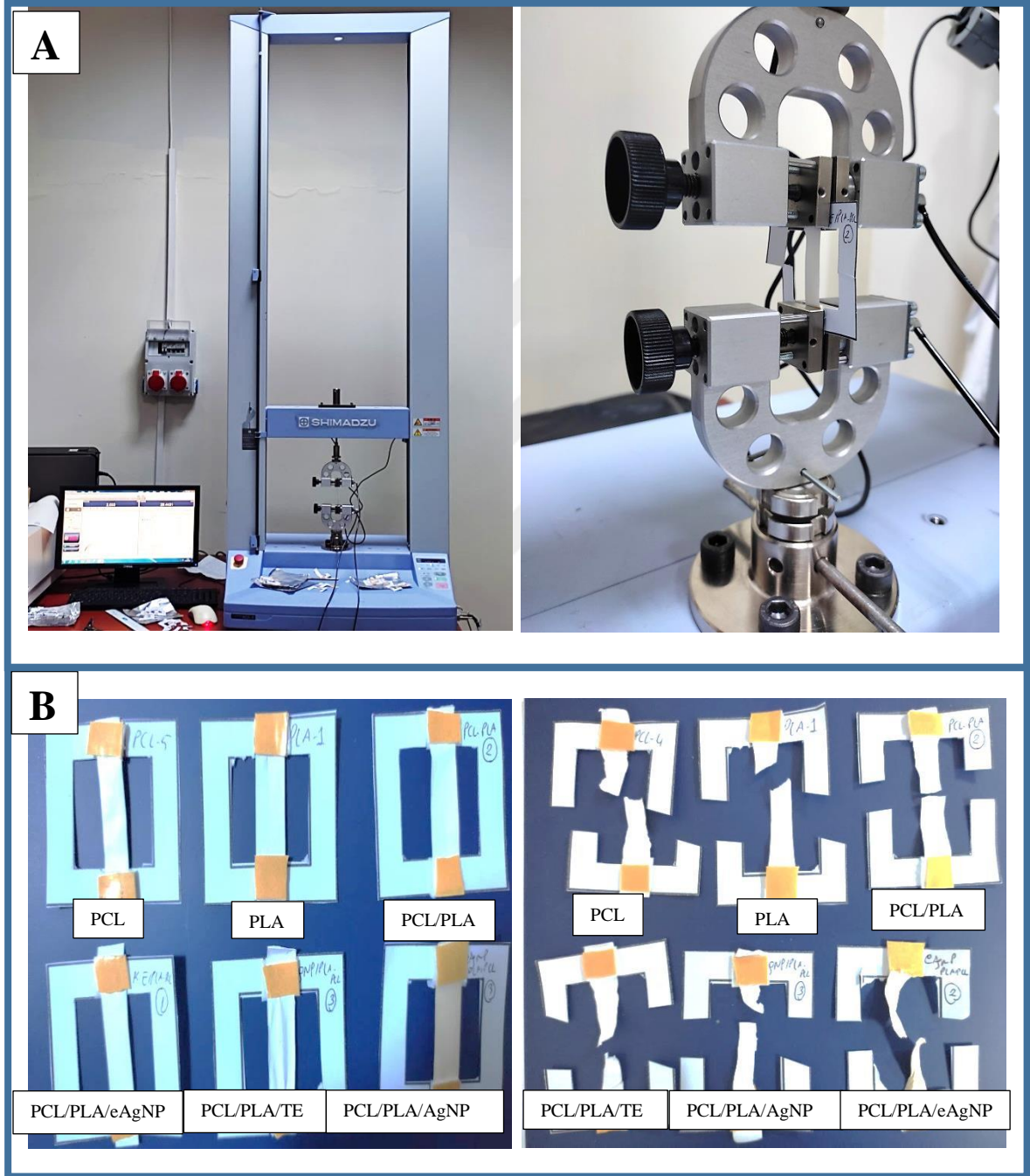
3.3.4. XRD

X-ışını kırınım analizi (XRD), bir malzemenin kristalografik yapısını belirlemek için malzeme biliminde kullanılan bir tekniktir. Nanofiberlerin ve eAgNP'lerin kristal fazlarını tanımlamak ve böylece kimyasal bileşim bilgilerinin tespit edilmesi amacı ile XRD (PANalytical EMPYREAN) analizi yapılmıştır. Ölçüm sırasında tarama hızı $1^\circ/\text{dakika}$ 'ya, tarama aralığı 0° ile 80° aralığına ve adım boyutu 0.05° 'ye ayarlanmıştır.

3.3.5. Mekanik Analiz

Gerilim testi olarak da bilinen çekme testi, mekanik testlerin en temel ve yaygın türlerinden biridir. Bir çekme testi, bir malzemeye çekme kuvveti uygular ve numunenin strese tepkisini ölçer. Bunu yaparak, çekme testleri bir malzemenin ne kadar güçlü olduğunu ve ne kadar uzayabileceğini belirler. Tüm nanofiber türlerinin gerilme mukavemeti, elastik modülü ve kopma uzaması ASTM D638-14 standardına göre çekme testi ile belirlendi. Nanofiberlerin gerilme kuvveti, elastik modülü, kopma uzaması gibi mekanik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla çekme test cihazı (Shimadzu AG-X) ile çekme testi yapıldı. Numune kalınlıklarını ölçmek için nanofiberler iki cam lamel arasına yerleştirilerek mikrometre ile ölçülmüştür ve ortalama nanofiber kalınlığı yaklaşık 0.01 mm bulunmuştur. Nanofiberler 10x50 mm ebatlarında kesildikten sonra

10 mm/dk. çekme hızında test gerçekleştirilmiştir. Test, oda koşullarında gerçekleştirilmiş olup her nanofiber tipi için 5'er kez tekrar edilmiştir. Bu analiz sonucu gerilme–yüzde uzama eğrileri elde edilmiştir. Maksimum çekme gerilimi, maksimum yüzde uzama ve elastik modülü değerleri çekme gerilimi-gerinim eğrilerinden hesaplanarak tahmin edildi.



Şekil 3.7. A) Çekme test cihazı ile yapılan çekme testi uygulaması B) Nanofiberlerin çekme testi öncesi ve sonrası görüntüleri

3.3.6. TGA

Termogravimetrik Analiz (TGA), sıcaklığın ve/veya ısıtma süresinin bir fonksiyonu olarak bir numunenin ağırlığındaki değişimin belirlenmesini içeren bir termal analiz tekniğidir. Nanofiberlerin sıcaklığa bağlı kütle kaybı ölçümünün yapılması için Termogravimetrik Analiz (TGA) (Setaram – Labsys Evo) yapılmıştır. TGA azot atmosferi altında, 0-500 °C aralığında ve 20 °C/dk ısıtma hızında 15 dakika boyunca gerçekleştirilmiştir. İncelenen TGA sonuçlarına göre üretilen nanokompozit ve nanofiberlerin ısısal karakteristikleri, termal stabilite ve termal bozunma sıcaklıkları belirlenmiş olup numunelerin ısısal davranış ilişkileri incelenmiştir. TGA malzemenin ağırlık kaybının gerçekleşmediği sıcaklık aralığını bulmaya yardımcı olur ve bu aralık da malzemenin kararlı olduğu sıcaklık aralığı olduğu anlamına gelir. Ayrıca, ağırlık kaybına uğradığı sıcaklık aralığını da saptar ve bu ağırlık kaybı da malzemenin bozunduğunu sıcaklık aralığını gösterir.

3.4. Biyobozunurluk Profili

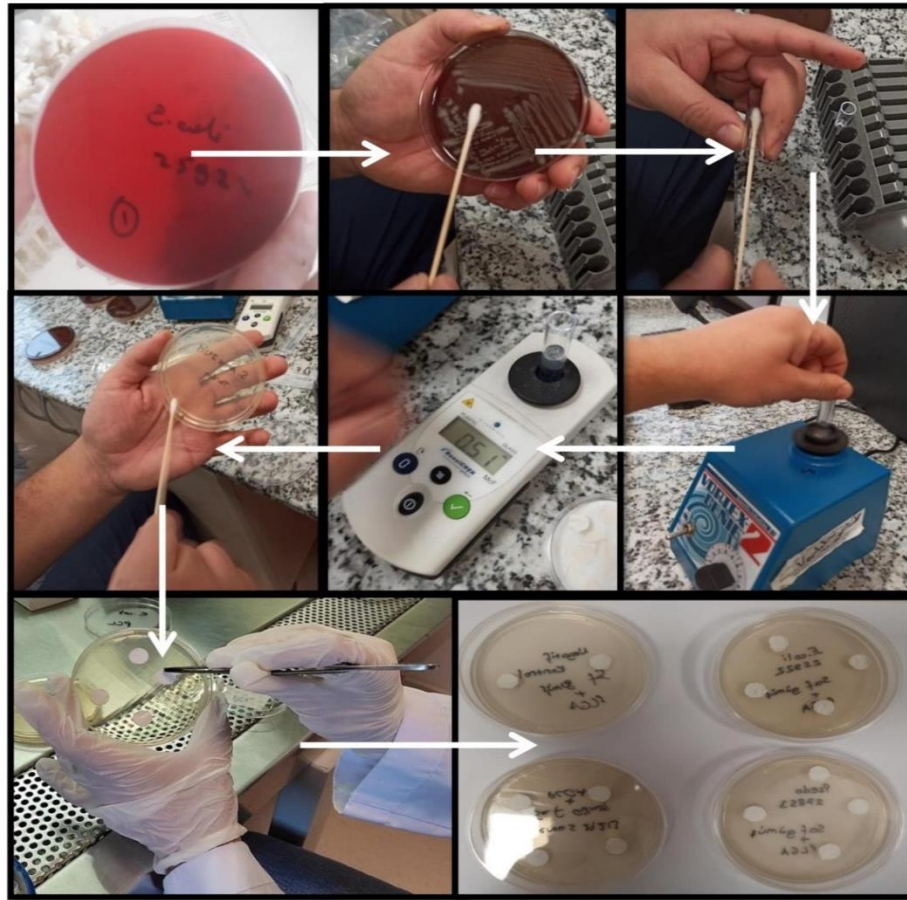
Nanofiberlerin zamana bağlı bozunma oranının tayin edilmesi için 3x3 cm² ebatlarında kesilen numuneler PBS (Gündüz Kimya) çözeltisi içerisinde 37°C sıcaklıkta inkübe edildi. İnkübasyon süreleri 1 hafta olarak belirlendi ve haftalık periyotlarla ağırlıkları ölçüldü. Her bir haftalık zaman diliminden sonra inkübe edilen numuneler 1'er gün etüvde kurutuldu. Kurutma işleminden sonra tartılan numuneler bir sonraki ağırlık kaybı ölçümü için PBS sıvısı içerisine inkübasyon amacıyla geri konuldu. Ölçülen ağırlıklar sonucu Denklem 3.12'e göre bozunma oranları (%) hesaplandı.

$$\text{Bozunma oranı (\%)} = 100 - \left(\frac{\text{İnkübasyon sonrası kuru ağırlık}}{\text{İlk kuru ağırlık}} \times 100 \right) \quad (3.12)$$

3.5. Antibakteriyel Aktivite Testi

Nanofiberlerin antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi için Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda antibakteriyel testler gerçekleştirilmiştir. Elektro-eğrilmiş nanofiberlerin antibakteriyel performansı, agar disk difüzyonu yöntemiyle gram negatif *Escherichia coli* 25922 (*E.coli*) ve gram pozitif *Staphylococcus Aureus* 29213 (*S.aureus*) organizmalarına karşı nitel olarak değerlendirilmiştir. Antibakteriyel aktivitenin gözlenmesi amacıyla ilk olarak PLA, PCL, PCL/ PLA, PCL/ PLA/eAgNP ve PCL/ PLA/TE nanofiberlerden test numunesi olarak 12 mm çapta diskler hazırlandı. Yeşil sentezlenmiş eAgNP'lerin de antibakteriyel özelliklerinin tespit edilmesi amacı ile 12 mm çapında kesilmiş olan filtre kâğıdı disklerin üzerine 5mg/ml oranında saf suda homojen hale getirilmiş eAgNP'ler

emdirilerek test numuneleri hazırlandı. Hazırlanan numuneler UV sterilizasyon cihazı (FYTRONIX) kullanılarak 30 dakika boyunca steril edildi. Petri kaplarına bakteri ekimi yapılmadan önce Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri hazırlanarak bakteri kültürü oluşturuldu. Şekil 3.8’de bakteri ekim aşamaları gösterilmiştir. Disk difüzyon metodunda bakteri ekimi sırasında bakteri konsantrasyonunun yaklaşık 0,5 McFarland (McF) olması gerekmektedir. 24 saat 37 °C’ de kültürlenen bakteriler bu standardı sağlamak için peptonlu fizyolojik tuzlu su ile seyreltilerek ve 180 rpm’de santrifüjlenerek bakteri yoğunluğu ayarlanmaya çalışıldı. Bakteri koloni konsantrasyonu her bir besiyere ekilmek üzere bakteri kültürü hücre densitometresi ile ölçülerek 0.5 McFarland standardına göre (108 cfu/ml) ayarlandı. Hazırlanan bakteri süspansiyonları drigalski spatülü kullanılarak Muller Hinton agar plakaları üzerine yayıldı. Bakteri ekimi tamamlandıktan sonra her bir nanofiber numunesinden hazırlanan 12 mm çapında diskler her iki bakteri çeşidi için 4’er tane olmak üzere petri kaplarına yerleştirildi. Daha sonra bu agar diskler 37°C’de 48 saat boyunca inkübasyona bırakılarak inkübasyon sonucu disk etrafında oluşan inhibisyon halkası çapları Image J yazılımı kullanılarak belirlendi.



Şekil 3.8. Antibakteriyel test aşamaları

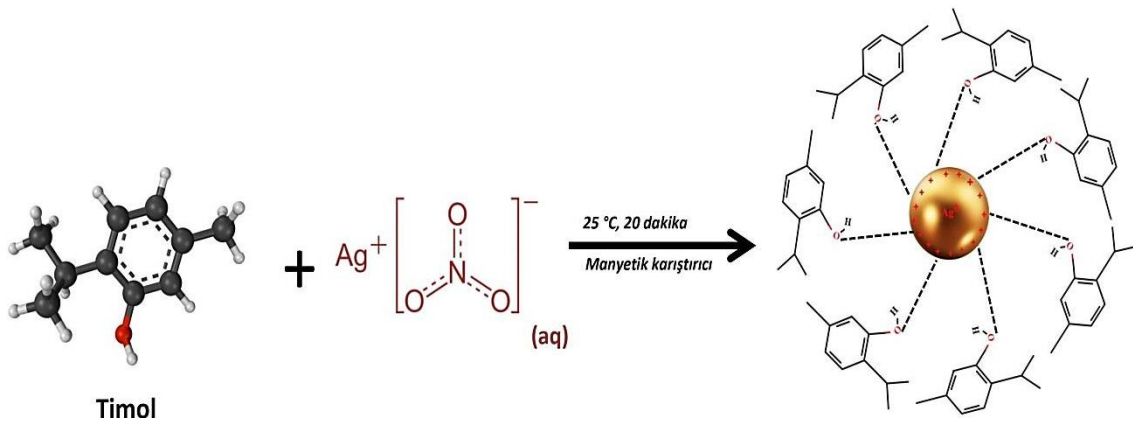
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Çalışma kapsamında üretimi gerçekleştirilen eAgNP'lere ait karakterizasyon analizleri sonuçlarına, PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberlerin morfolojik, mekanik, hidrofilitiklik, bozunurluk, kimyasal özelliklerinin tespit edilmesi amacıyla yapılan analiz sonuçlarına ve bu analiz sonuçlarının değerlendirmelerine bu kısımda yer verilmiştir.

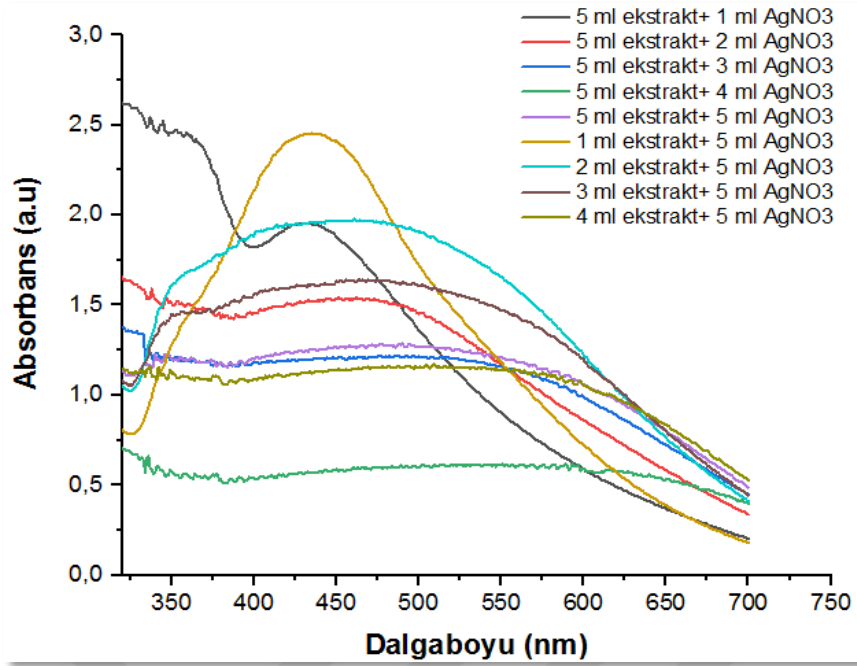
4.1. Bitki Özütü ile Enkapsüle Gümüş Nanopartikül Üretim Çalışmaları Sonuçları

4.1.1. Bitki Özütü ve AgNO₃ Çözeltisi Konsantrasyonu Optimizasyonu

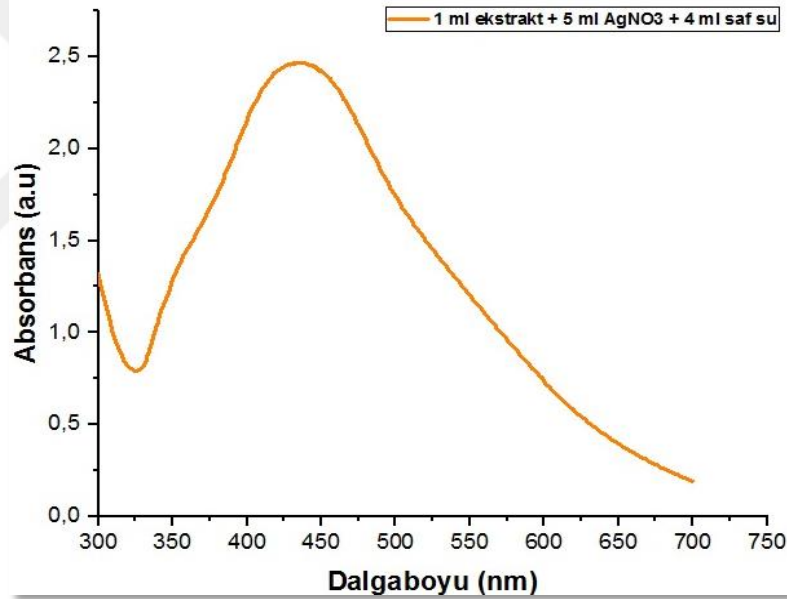
UV-Vis spektrofotometre ölçümlerinde farklı konsantrasyonlardaki çözeltiler içerisinde Şekil 4.1'de oluşum mekanizması sembolize edilen Ag⁰ nanopartiküllerin varlığını tespit etmek için 420-470 nm dalgaboylarında absorbans zirve noktası değerlerinin oluşması beklenir. Her bir çözelti UV-vis spektrofotometrede 334 nm dalgaboyunda ölçülerek her bir solüsyona ait absorbans değerleri Şekil 4.2'deki absorbans- dalga boyu grafiğindeki gibi bulundu. Elde edilen spektrum grafikleri değerlendirildiğinde en yüksek pik ve mavi dalga boyuna kaymanın gözlemlendiği %10 özüt konsantrasyonun optimum özüt konsantrasyonu, 0.01 M %50 AgNO₃ çözeltisinin ise optimum AgNO₃ konsantrasyonu olduğu bulunmuştur. Grafikselleştirildiğinde en küçük boyutlu gümüş nanopartikül üretiminin '5 ml AgNO₃+1 ml kekik ekstraktı+4 ml saf su' ile hazırlanan çözeltilerde olduğu gözlemlenmiştir. Maksimum absorbans Şekil 4.3'te gösterildiği gibi 2.47 absorbans değerinde 436 nm'de elde edilmiştir. Yapılan önceki çalışmalar, AgNP spektrumunun 410 ile 470 nm arasında bir zirve noktasına sebep olabileceği ve bu nm aralığında küresel nanoparçacık oluşumu gözlemlenebileceğini önermektedir (Zaheer and Biointerfaces 2012).



Şekil 4.1. eAgNP'lerin kimyasal oluşum mekanizması



Şekil 4.2. Kekik özütü/ AgNO₃ miktarına bağlı çizdirilen Dalga boyu- Absorbans eğrileri

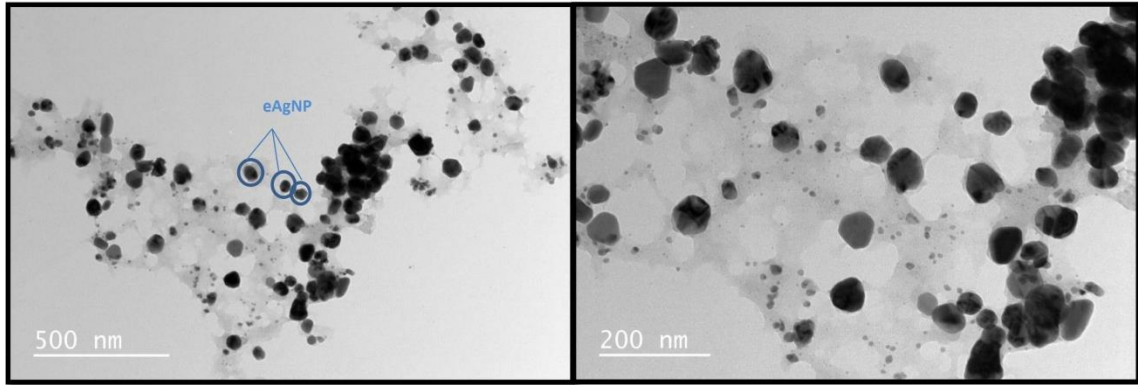


Şekil 4.3. Yeşil sentezlenmiş Ag nanopartikül çözeltilisinin Dalga boyu- Absorbans eğrisi

4.1.2. TEM Analiz Sonuçları

Belirlenen optimum değer konsantrasyon şartlarına uygun sentezlenen eAgNP'lerin boyut ve morfolojik yapısını incelemek için TEM analizi gerçekleştirilmiş ve çekilen TEM görüntüleri Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde sentezlenen eAgNP'lerin morfolojisinin küresel bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Nanopartiküllerin ortalama çapları, TEM görüntülerinde rastgele seçilen 50 tane nanopartikül ele alınarak Image J programı aracılığıyla hesaplanmıştır. Buna göre nanopartikül çaplarının 4 ila 70 nm arasında değişiklik gösterdiği ve ortalama çaplarının

yaklaşık 23.3 nm olduğu bulunmuştur. Kekik bitki özütüyle üretilen gümüş nanopartiküllerin çaplarının 18-22 nm arasında değiştiği yapılan bir çalışmada (Rakaa and et al. 2020) bildirilmiştir. eAgNP çaplarının boyutlarının azalması bakteri etkileşiminin artmasına yol açarak hücre ölümlerini tetikleyip enfeksiyon riskinin azalmasını sağlayabilir (Khurana, Vala, Andhariya, Pandey, & Chudasama, 2014).

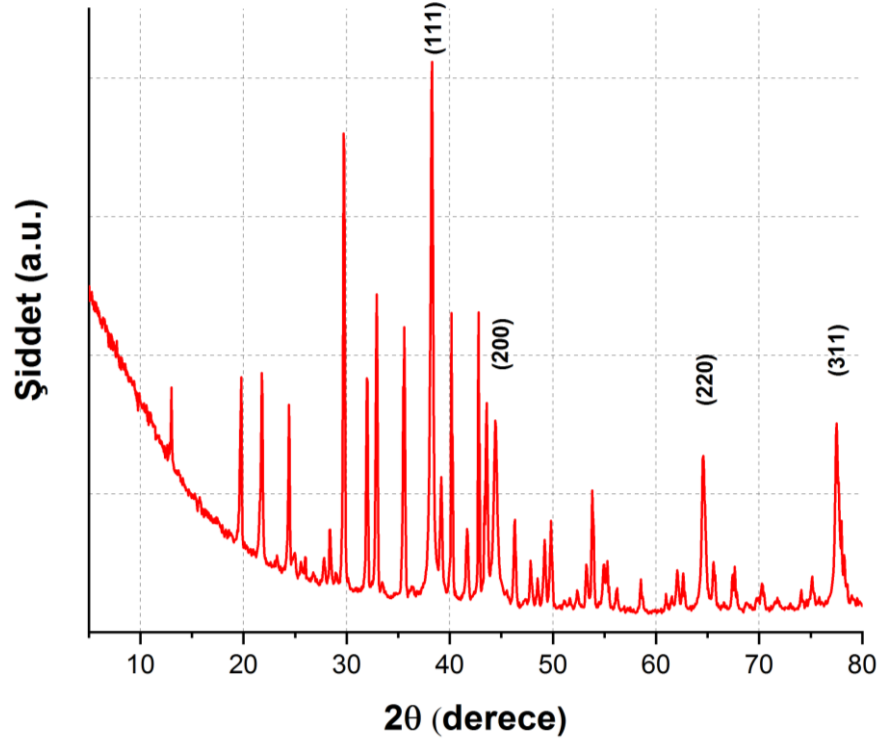


Şekil 4.4. eAgNP'lerin TEM görüntüleri

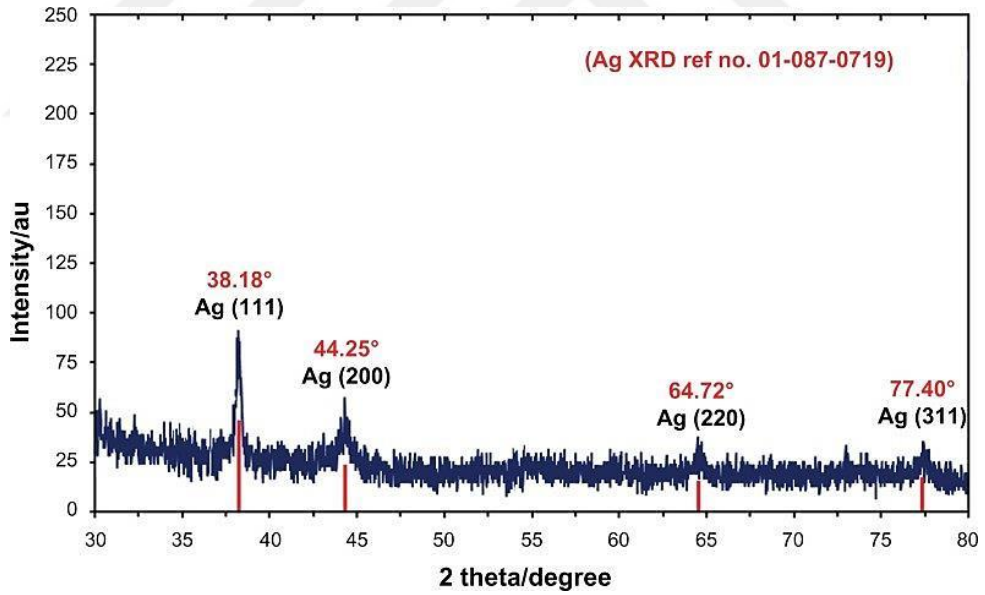
4.1.3. XRD Analiz Sonuçları

eAgNP'lerin X-ışını kırınım modeli Şekil 4.5'te gösterilmektedir. Enkapüle olmuş gümüş nanopartiküllerin karakteristik XRD tepe noktası değerleri ve şiddetleri ele alındığında (Kamyar, Ahmad et al. 2012, Meng 2015) $21,87^\circ$ (299), $31,96^\circ$ (299.9), $38,27^\circ$ (1000), $44,4^\circ$ (336.7), $46,21^\circ$ (140.1), $53,8^\circ$ (196), $64,53^\circ$ (279.7) ve $77,45^\circ$ (331.6) 2θ değerlerinde Bragg yansıma tepe noktaları olduğu görülmüştür. Bu tepe noktalarından $38,27^\circ$, $44,4^\circ$, $64,53^\circ$ ve $77,45^\circ$ sırasıyla Şekil 4.5'te görüldüğü gibi yüzey merkezli kübik (fcc) gümüş kristallerinin 111, 200, 220, 311 kristalografik düzlemlerine karşılık gelmektedir. Şekil 4.6 ise AgNP'lerin karakteristik XRD spektrumu modelidir. En şiddetli zirve noktasını karşılayan ise $2\theta=38,51^\circ$ açısının bulunduğu 111 kırınım düzlemdir. $21,87^\circ$, $31,96^\circ$, $46,21^\circ$, $53,8^\circ$ açı değerlerindeki tepe noktalarının oluşumu ise kekik özütünün varlığına yorumlanmaktadır.

XRD sonuçları, bitki özütü tarafından sentezlenen AgNP'lerin doğada kristal yapıda olduğunu açıkça göstermektedir. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin, elde edilen XRD verileri ($2\theta=38,51$; FWHM=0.29) kullanılarak Scherrer denkleminde hesaplandığı üzere 33.46 nm çapa sahip olduğu bulundu. Buna ek olarak, eAgNP'nin 2θ değeri 13° ve $19,7^\circ$ 'de majör tepe noktaları tetragonal kristal yapıya atfedilerek timol bileşeni ve AgNP arasındaki kompleks oluşumunun güçlü bir kanıtı olduğu öngörülmüştür (Aytac, Ipek et al. 2017).



Şekil 4.5. eAgNP'ye ait XRD spektrumu

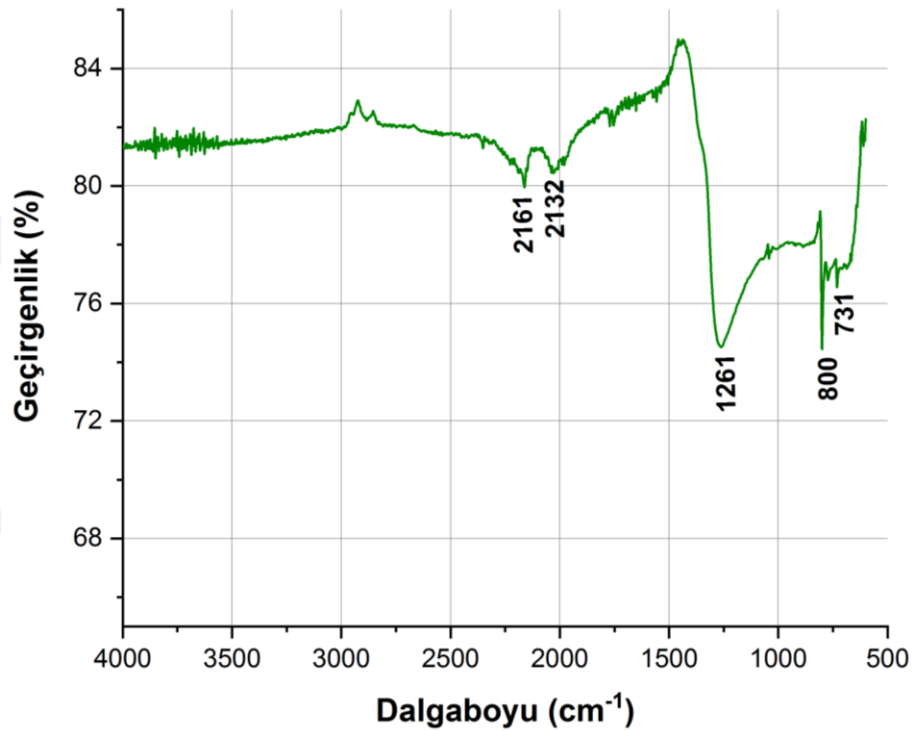


Şekil 4.6. AgNP'ye ait XRD spektrumu (Kamyar, Ahmad et al. 2012)

4.1.4. FTIR Analizi

eAgNP sentezinde yer alan kekik özütündeki fitokimyasalların olası fonksiyonel grupları FTIR analizi ile belirlendi. Kekik bitkisi tarafından sentezlenen AgNP'lerin FTIR spektrumu Şekil 4.7'de gösterilmiştir. eAgNP'lerin FTIR spektroskopisi incelendiğinde kekik özütünün FTIR spektrumu karakteristik noktaları 1261 cm^{-1}

noktasında fenol grubu içeren timol aromatik bileşeninin benzen halkası şeklinde O-H deformasyonu ve C-O gerilme titreşim etkileşimini (Nowak, Danuta et al. 2013), 2132 cm^{-1} noktasında CH alkin gruplarının $-\text{C}\equiv\text{CH}$ gerilme titreşimini, 2161 cm^{-1} noktasında alifatik grupların $\text{N}\equiv\text{C}$ gerilme titreşimini, 731 cm^{-1} noktasında birincil aminlerin N-H düzlem dışı bükülme titreşimlerini, 800 cm^{-1} noktasında vinilidenlerin CH_2 düzlem dışı deformasyon titreşimini temsil etmektedir (Gholami, Shahzamani et al. 2018, Manukumar, Yashwanth et al. 2020)

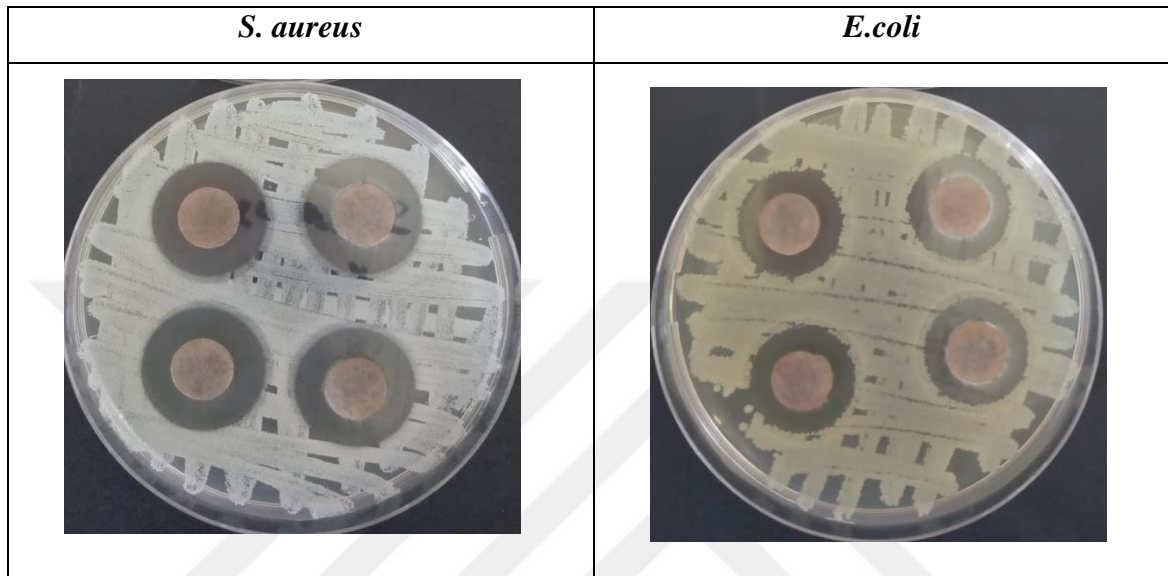


Şekil 4.7. eAgNP'lerin FTIR spektrumu

4.1.5. Antibakteriyel Test Sonuçları

S. aureus ve *E. coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri test edilen eAgNP disklerine ait 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonrası oluşan inhibisyon çapları Şekil 4.8'de verilmiştir. Yapılan çalışma sonuçlarına göre eAgNP, *S. aureus* bakterisine karşı ortalama 23.2 mm inhibisyon halkası çapı oluştururken *E. coli* bakterisine karşı yaklaşık 20.5 mm ortalama inhibisyon çapı göstermiştir. *S. aureus* bakterisine karşı oluşan inhibisyon çapları 22.16 mm ile 24.47 mm arasında değişkenlik gösterirken, *E. coli* bakterisine karşı oluşan inhibisyon çapları 19.24 -21.61 mm arasında değişkenlik göstermektedir. Kekik familyasından *Thymus kotschyanus* ekstraktından yeşil sentezlenmiş AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesini inceleyen bir çalışma (Gholami, Shahzamani et al. 2018) *S. aureus* bakterisine karşı 10.33 ± 1.2 mm inhibisyon çapı

gözlemlerken *E. coli* bakterisine karşı 7.33 ± 1.38 mm inhibisyon çapı oluştuğunu kaydetmişlerdir. Bu çalışma, *T. kotschyanus* tarafından sentezlenen AgNP'lerin gram pozitif bakterilerin büyümesini önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Kekik yaprakları ekstraktıyla AgNP'lerin biyosentezlendiği başka bir çalışma da (Rakaa and Obaid 2020) *S. aureus* bakterisinin *E. coli* bakterisine göre daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği sonucunu desteklemektedir.



Şekil 4.8. eAgNP'lerin *E.Coli* ve *S.Aureus* bakterilerine karşı oluşturdukları inhibisyon halkası çapları

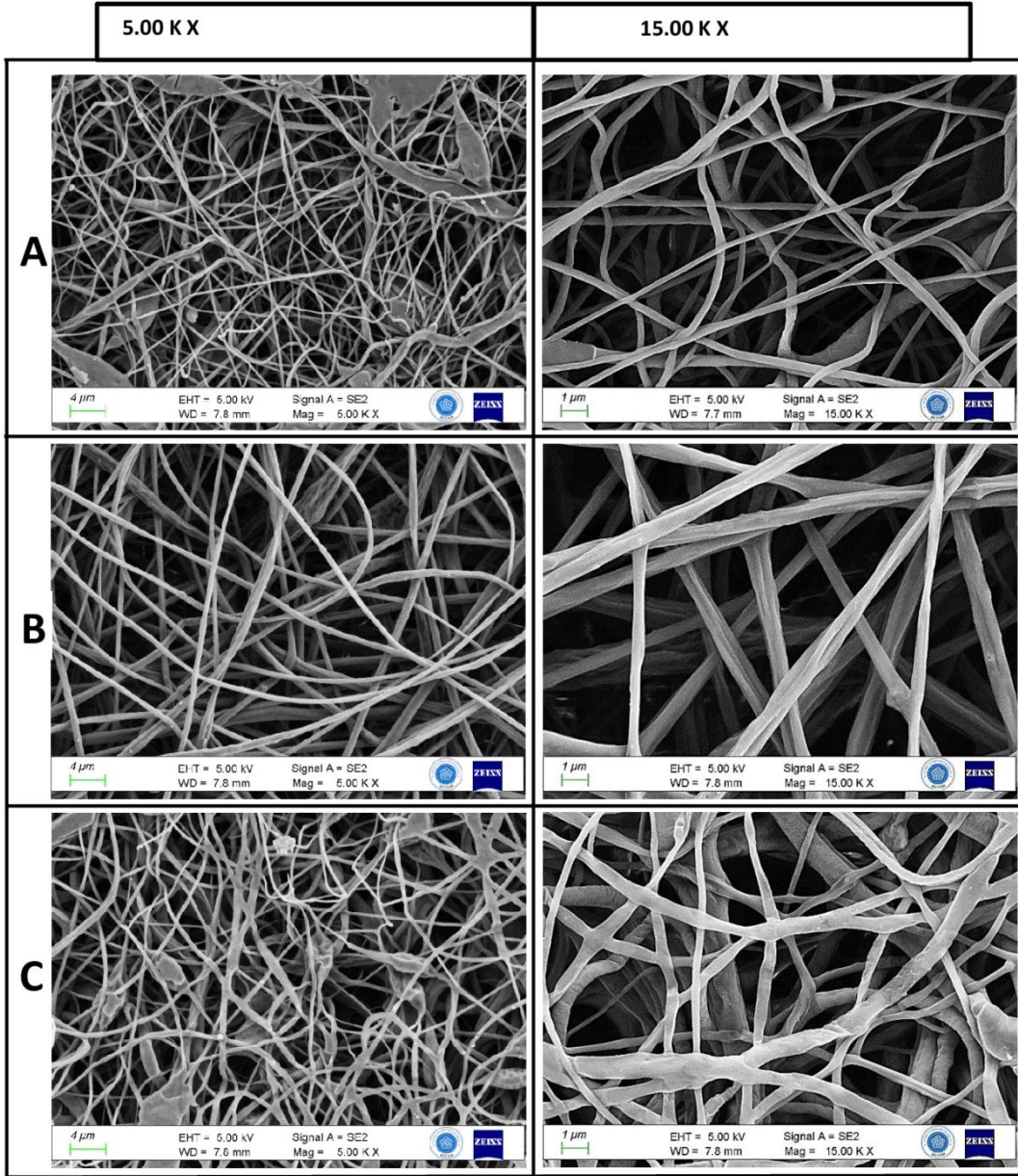
4.2. Nanofiberlerin Karakterizasyon Analizlerinin Sonuçları

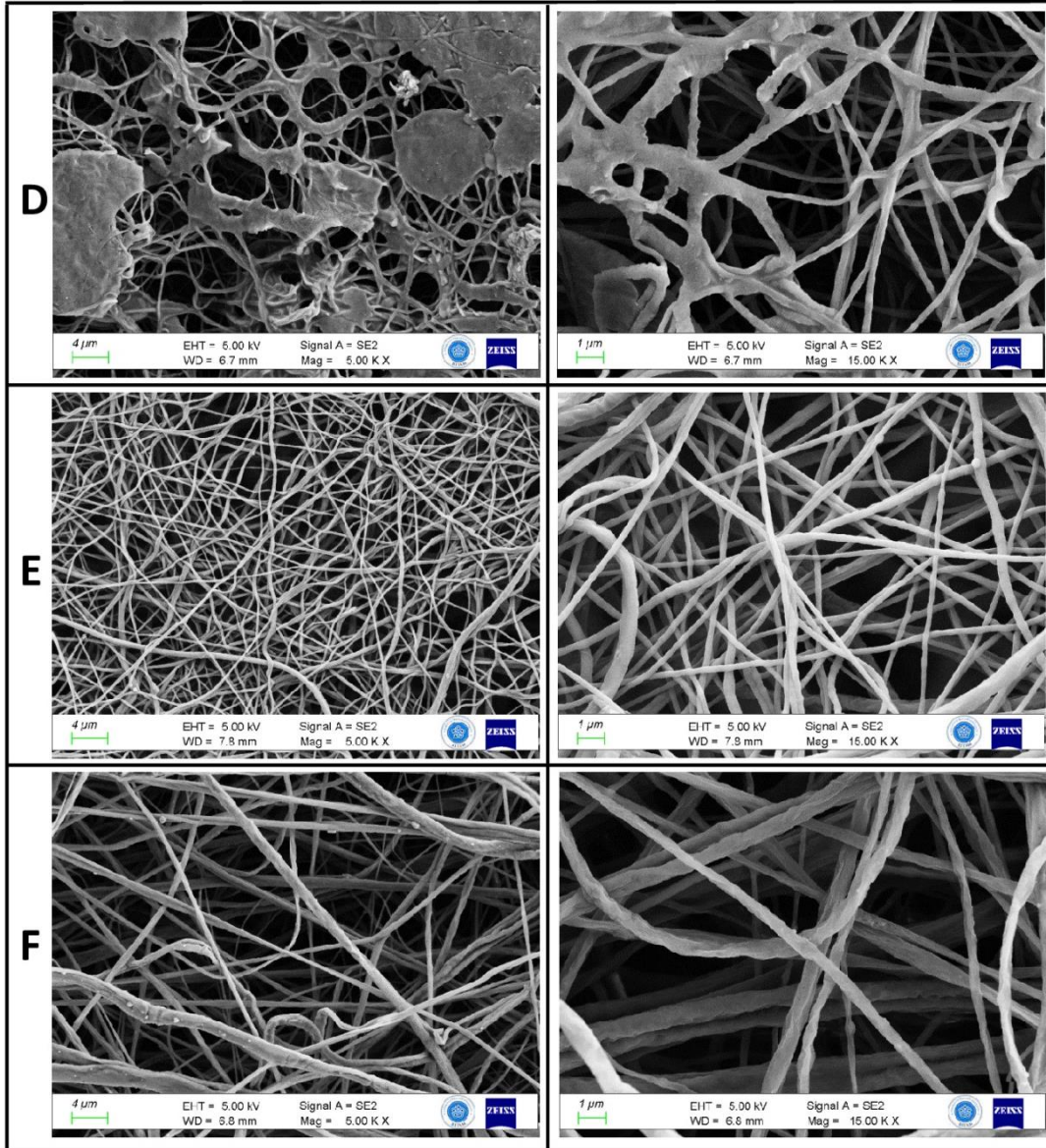
4.2.1. Morfolojik Analiz

SEM görüntüleri Şekil 4.9'da verilen nanofiber çaplarının ortalama, minimum, maksimum ve standart sapma değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir. Üretilen nanofiberlerin morfolojisi incelendiğinde boncuksuz, düzgün yapıda fiber oluşumunun sağlandığı görülmüştür. Ortalama fiber çapları PCL, PLA, PCL/PLA, PCL/PLA/TE, PCL/PLA/AgNP ve PCL/PLA/eAgNP nanofiberler için sırasıyla 271.7 ± 123 nm, 499.97 ± 212 nm, 349.26 ± 225 nm, 413.71 ± 351 nm, 253.25 ± 99 nm, 280.91 ± 216 nm olarak bulunmuştur.

Tablo 4.1. Nanofiber çapları ve dağılımı

Numune tanımı	Ortamama nanofiber çapı (nm)	Maksimum çap değeri (nm)	Minimum çap değeri (nm)	Standart Sapma
PCL	271,7 ± 112	399,824	148,768	3,92
PLA	499,97 ± 212	789	238,468	8,14
PCL/PLA	349,26 ± 171	650,62	199,91	6,11
PCL/PLA/TE	413,71 ± 351	959,2	216,87	9,71
PCL/PLA/AgNP	253,25 ± 123	643,1	153,6	5,39
PCL/PLA/eAgNP	280,91 ± 198	545,16	112,946	7,37





Şekil 4.9. SEM görüntüleri A) PCL B) PLA C) PCL/PLA D) PCL/PLA/TE E) PCL/PLA/AgNP F) PCL/PLA/eAgNP

PCL nanofiberin fiber çapları 148.768 nm ile 399.824 nm arasında değişkenlik göstermiştir. PLA nanofiberin ise PCL nanofibere kıyasla 499.97 nm ile 789 nm arasında değişkenlik gösteren daha büyük çapa sahip fiberlerden oluştuğu ve fiber çapları arasında daha az homojen dağılım sergilediği görülmüştür. Nanofiberlerin ortalama çapı, PLA yapısına eklenen PCL ile azalmıştır (Zhang, Zhai et al. 2018). PCL/PLA nanokompozit fiber çapının 199.91 nm ile 650.62 nm arasında dağılım gösterdiği ve PCL, PLA nanofiberlere ait fiberlerin ortalama çapları arasındaki değerlerden oluştuğu görülmüştür.

PCL/PLA/TE nanofiber yapısında kekik özütü PCL/PLA nanokompozit nanofiberin yüzeyini kaplayarak fiber özelliklerini etkilemiştir. PCL/PLA/TE

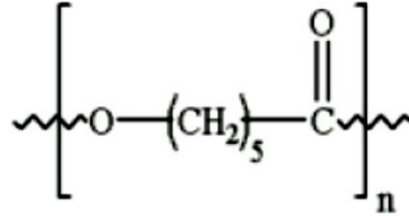
nanofiberin ortalama fiber çapının PCL/PLA nanofibere ait ortalama fiber çapına kıyasla kısmen daha fazla olmasının sebebi yüzeyde bulunan fiberler tarafından absorbe edilen kekik özütünün yüzeydeki fiberlerde kalınlaşmaya neden olması olarak açıklanabilir. Aynı zamanda bu durum fiber çapı dağılımının homojenliğinin azalmasına yol açmıştır. PCL/PLA ile PCL/PLA/AgNP nanofiberlerin ortalama fiber çapları birbiri ile kıyaslandığında %1 AgNP eklenmesinin fiber çapında azalma meydana getirdiği görülmektedir. AgNP'lerin nanofiberlere dahil edilmesinin daha ince fiber oluşumunu desteklediği birçok çalışma (Tarus, Mwasiagi et al. 2019, Maleki, Mathur et al. 2020) yapılmıştır. Artan AgNP içeriğine bağlı olarak polimer çözeltisinin iletkenliğinin artması sonucu elektro-eğirme prosedürü sırasında elektrik alan uygulanması ile artan jet geriliminin fiber çapında azalmaya yol açtığı varsayılmaktadır (Barani and C 2014, Topuz, Satilmis et al. 2019, Zhou, Thakurathi et al. 2019). PCL/PLA/AgNP nanofiber ve PCL/PLA/eAgNP nanofiberlerin ortalama fiber çapları birbiri ile kıyaslandığında PCL/PLA/AgNP nanofiberin ortalama fiber çapının daha az olduğu görülmektedir. Bunun sebebi PCL/PLA/eAgNP nanofiberde Ag⁺ iyonlarının kekik bitkisi molekülleri ile indirgenip gümüşün enkapsülasyonu sonucu gümüşün iletkenliğinin azalması olarak açıklanabilir. PLA, PCL ve PCL/PLA nanofiberlerin pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğu görülürken eAgNP ve AgNP içeren nanofiberlerin yüzeylerinin daha pürüzlü ve yarı granül bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Bu morfolojik oluşumlar nanofiber içerisindeki AgNP'lerin varlığını ispatlamaktadır. Fiber yüzeylerinde meydana gelen pürüzlü yapının hücrelerin tutunması, proliferasyonu, göçü ve farklılaşması için elverişli bir ortam oluşturduğu düşünülmektedir (Naseri, Poirier et al. 2016, Sultan and Mathew 2018).

4.2.2. FTIR Analiz Sonuçları

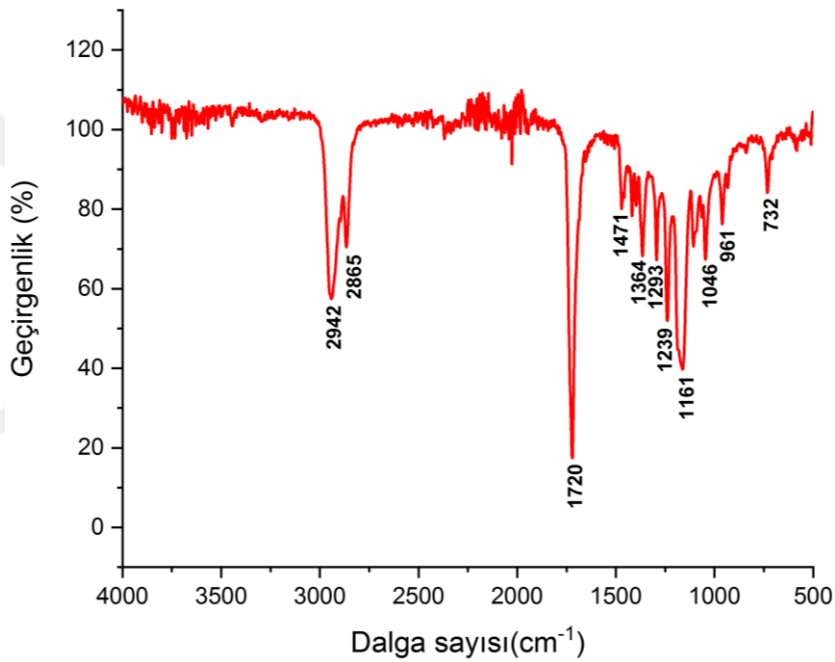
Üretilen PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberlerin ve gümüş nanopartiküllerin kimyasal karakterizasyonu, fonksiyonel grupları, AgNP veya eAgNP'lerin etkinliği ve bunların kimyasal yapıya etkisi FT-IR analizi ile karşılaştırılarak incelenmiştir.

PCL nanofiberlerinin FTIR spektrum grafiği Şekil 4.11'de gösterilmiş ve karakteristik piklerin 732 cm⁻¹'de CH₂ titreşiminden, 961 cm⁻¹'de C–O–C simetrik bağından, 1364 cm⁻¹'de C–C bağından, 1140 cm⁻¹'de C–O bağından, 1161 cm⁻¹'de O–C–O bağından, PCL'nin kristal fazındaki gerilmesini temsil eden 1239 ve 1293 cm⁻¹ noktaları sırasıyla C–C ve C–O bağından ve 1364 cm⁻¹'de C–H bağının simetrik deformasyonundan, 1720 cm⁻¹'de C=O gerilme titreşiminden, 2865 cm⁻¹'de C–H₂ simetrik gerilme titreşiminden,

2942 cm^{-1} 'de C–H₂ asimetrik gerilme titreşiminden kaynaklandığı araştırmalar sonucu tespit edilmiştir (Shalumon, Sreerexha et al. 2011). PCL'nin içeriğinde bulunan bu bağlanma şekilleri ve moleküler yapısı Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

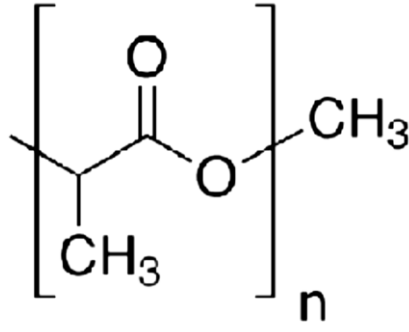


Şekil 4.10. PCL'nin bağ açılımı

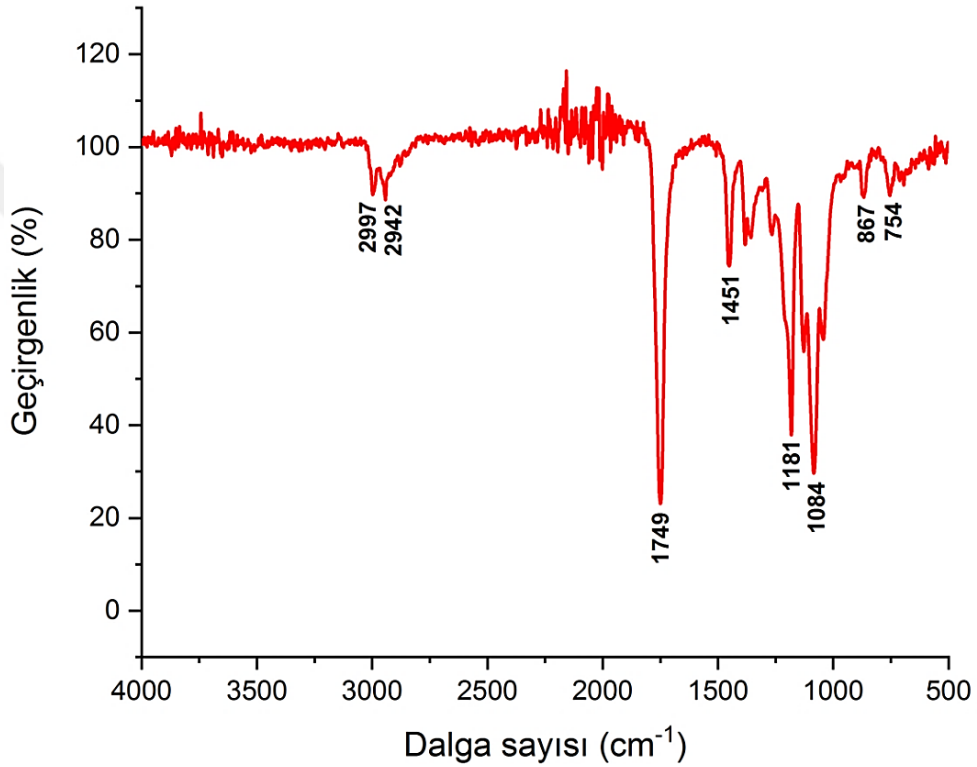


Şekil 4.11. PCL nanofiberin FTIR spektrumu

PLA nanofiberlerinin ise FTIR spektrum grafiği Şekil 4.13'te gösterilmiş ve karakteristik piklerin 754 cm^{-1} 'de =C–H bağından, 867 cm^{-1} 'de =C–H bağından, 1084 cm^{-1} 'de C–O bağından (–CH (CH₃) –OH), 1181 cm^{-1} 'de C–O–C çekme gerilmesi titreşiminden, 1451 cm^{-1} 'de –CH₃ simetrik bağının bükülme titreşiminden ve 1749 cm^{-1} 'de C=O karboksil bağının çekme gerilmesinden, 2942 ve 2997 cm^{-1} 'de C–H (çift) titreşiminden kaynaklandığı literatür araştırmaları sonucu bulunmuştur (Mofokeng, Luyt et al. 2012). PLA'nın içeriğinde bulunan bu yapılar Şekil 4.12'de gösterilmiştir.



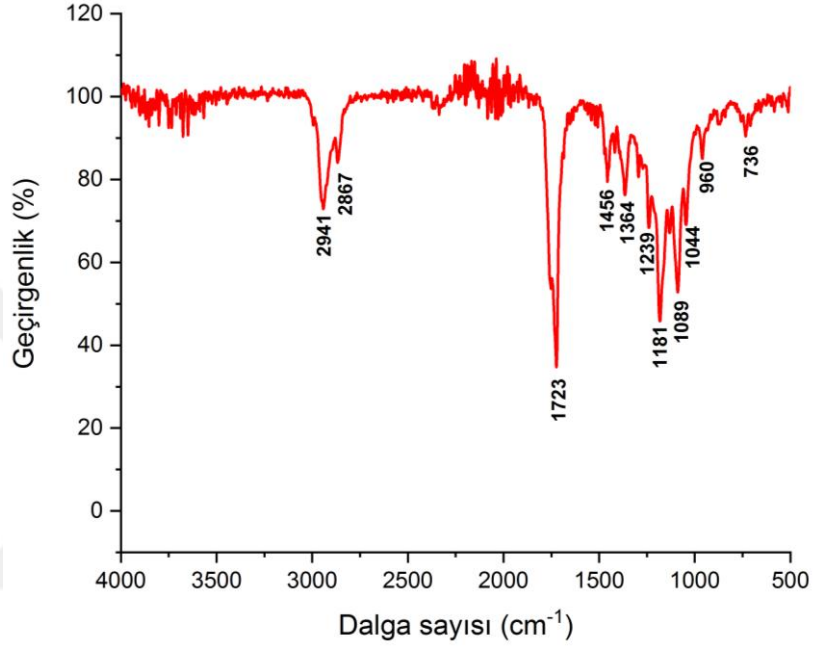
Şekil 4.12. PLA'nın moleküler yapısı



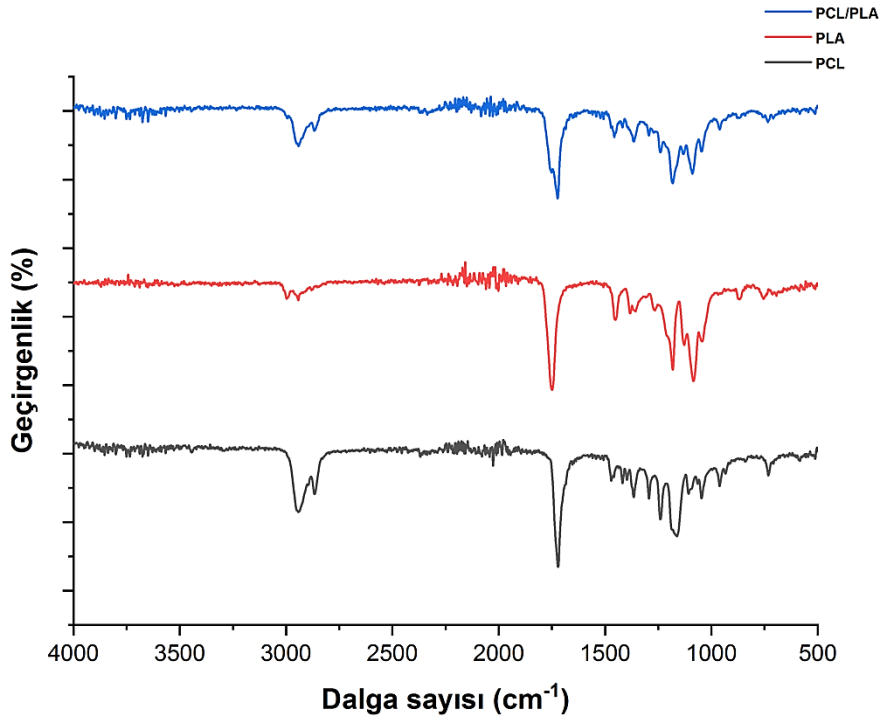
Şekil 4.13. PLA nanofiberin FTIR spektrumu

PCL yapısına eklenen PLA ile PCL ve PLA'nın bir kombinasyonu olan PCL/PLA nanofibere ait FTIR spektrumu Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Şekil 4.15'te ise PCL/PLA'nın PCL ve PLA nanofiberle birlikte FTIR spektrumları gösterilmiştir. 2941 ve 2867 cm⁻¹'deki tepeler sırasıyla, PCL ve PLA nanofiberlerdeki 2942 cm⁻¹'deki tepe noktalarına ve PCL nanofiberde bulunan 2865 cm⁻¹'deki tepe noktasına karşılık gelmekte olup metilen ve metil gruplarında bulunan C-H gerilme titreşimlerini temsil etmektedir. 1723 cm⁻¹'deki tepe noktası PCL'nin 1720 cm⁻¹'deki tepe noktasına karşılık gelmekte olup PLA'nın 1749 tepe noktasındaki C=O karbonil bağının etkisiyle PCL nanofiberin tepe noktasının kaymasına yol açtığı gözlemlenmiş olup PCL ve PLA'nın karakteristik karbonil (CO) tepelerini temsil etmektedir. 1456 cm⁻¹'deki

tepe noktası, PLA'nın 1451 cm^{-1} 'deki tepe noktasını PCL'nin 1471 cm^{-1} 'deki tepe noktasının etkisiyle kaydırmış olup C-H bükülme titreşiminden kaynaklanmaktadır. PCL/PLA nanokompozit fiberin bunların yanı sıra PCL nanofibere ait 1364 , 1239 , 960 cm^{-1} 'deki tepe noktalarını, PLA nanofibere ait ise 1181 , 1044 cm^{-1} 'deki tepe noktalarını içerdiği görülmektedir. 1089 cm^{-1} 'deki tepe, PCL ve PLA'da bulunan C–O–C bağlantısını temsil eder. Tüm bu gözlemler, PCL/PLA nanokompozit fiber yapı iskelelerinde PCL ve PLA'nın varlığını açıkça göstermektedir.

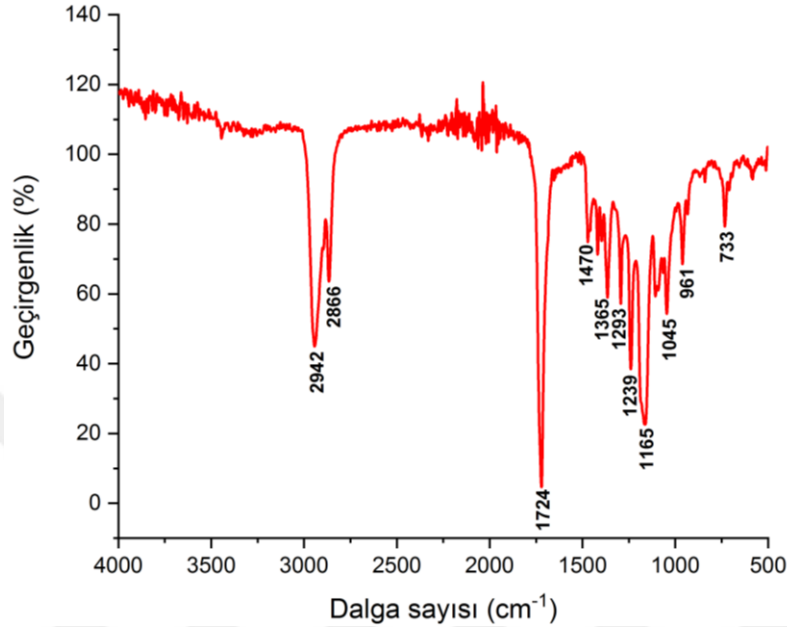


Şekil 4.14. PCL/PLA nanofiberin FTIR spektrumu



Şekil 4.15. PCL, PLA, PCL/PLA nanofiberlerin FTIR spektrumları

PCL/PLA/TE nanofiberin FTIR spektrumu Şekil 4.16’da verilmiştir. PCL/PLA nanofibere kekik özütü eklendiğinde FTIR spektrumu dalga sayılarında kayma meydana geldiği görülmektedir. PCL/PLA nanofibere ait tepe noktalarının varlığına ek olarak kekik özütünün karakteristiği 933, 1065, 1107, 1165, 1396 cm^{-1} ’deki tepe noktalarının varlığı ile anlaşılmaktadır (Nowak, Danuta et al. 2013).

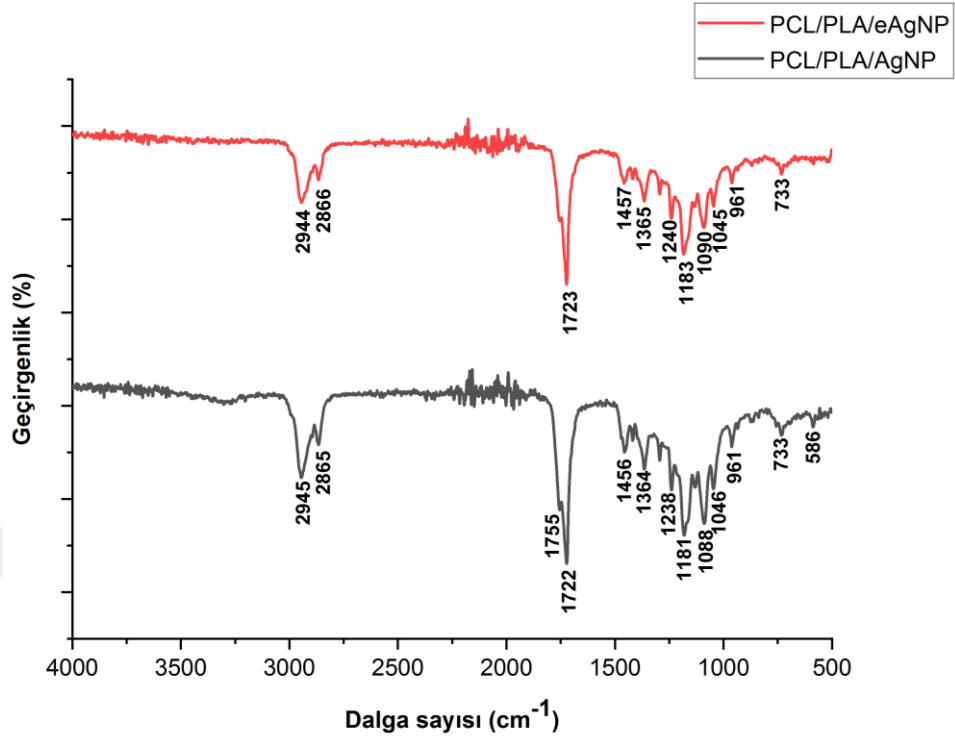


Şekil 4.16. PCL/PLA/TE nanofiberin FTIR spektrumu

Şekil 4.17’de AgNP ve eAgNP içeren numunelerin FTIR spektrumları verilmiştir. 586 cm^{-1} dalga sayısında AgNP’nin karakteristik tepe noktaları oluşmuştur. Bu tepe noktaları gümüş titreşimi olarak bilinmektedir. AgNP’lerin varlığında, PCL/PLA nanokompozit fibere yüklenen AgNP’lerin FTIR spektrumunun tepe noktalarında 2941’den 2945 cm^{-1} ’e, 2867’den 2866 cm^{-1} ’e, 1723’ten 1722 cm^{-1} ’e, 1456’ten 1457 cm^{-1} ’e, 1239’dan 1248 cm^{-1} ’e, 1089’ten 1088 cm^{-1} ’e, 1044’ten 1046 cm^{-1} ’e, 960’tan 961 cm^{-1} ’e, 736’ten 733 cm^{-1} ’e kaymalar gözlemlenmiştir. Bu değişiklikler PCL/PLA’nın hem hidroksil hem de karboksil gruplarının sentez ve stabilizasyonda yer aldığını gösterir (Eghbalifam, Shojaosadati et al. 2020).

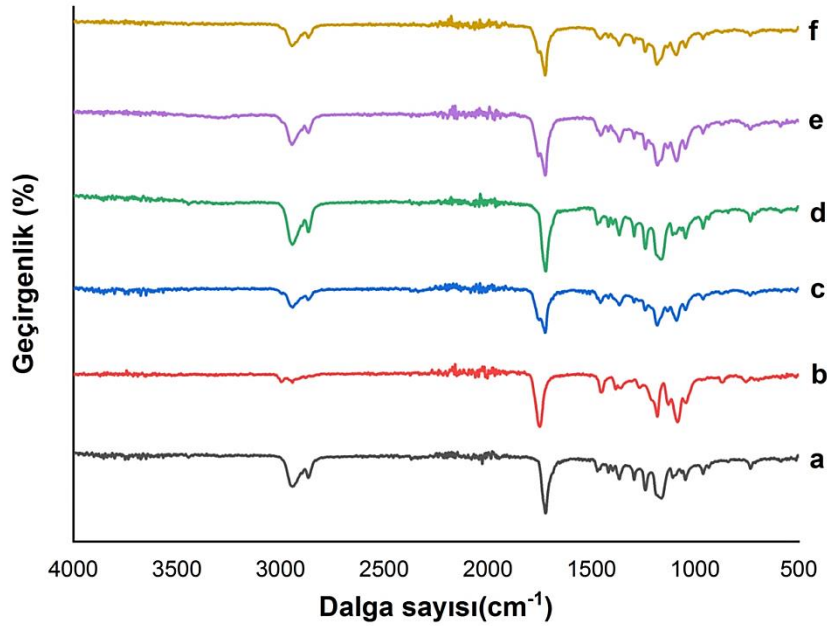
Şekil 4.17’de PCL/PLA nanokompozit fibere katılan eAgNP varlığında kekik özütü ile enkapsülasyon işlemi sonucunun PCL/PLA/AgNP nanofibere kıyasla geçirgenlik yüzdesini azalttığı ve dalga sayılarında bariz bir farka sebep olmadan kaymalar meydana geldiği görülmektedir. Bölüm 4.1.4’te FTIR analizi verilen eAgNP’lerin tepe noktalarının PCL/PLA/eAgNP FTIR analizinde belirgin bir şekilde

görülmemesinin sebebi polimer miktarının %1'i oranında ilave edilen eAgNP'lerin PLA ve PCL polimerleri tarafından baskılanmasıdır.



Şekil 4.17. PCL/PLA/eAgNP ve PCL/PLA/AgNP nanofiberlerin FTIR spektrumu

Şekil 4.18'de nanofiberlerin FTIR spektrumları bir arada ele alındığında nanofiberlerin her biri için benzer spektrumlar elde edilmiştir. PCL/PLA/eAgNP ve PCL/PLA/AgNP nanofiberlerin spektrumları gümüşün, fonksiyonel gruplarda herhangi bir bozulmaya sebep olmadan nanofiberlerde dengeli bir yapı sergilediğini göstermektedir.

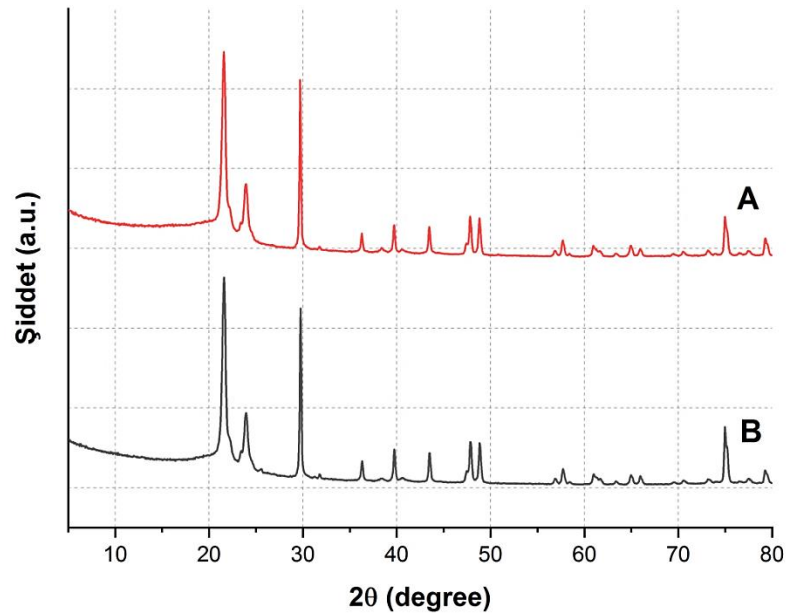


Şekil 4.18. Nanofiber yapıların FTIR spektrumları. a) PCL nanofiber, b) PLA nanofiber, c) PCL/PLA nanofiber d) PCL/PLA/TE e) PCL/PLA/AgNP f) PCL/PLA/eAgNP

4.2.3. XRD Analiz Sonuçları

Gümüş nanopartiküllerin PCL/PLA matrisi içerisindeki varlığı, XRD analizi ile gözlenen kristal tepe noktaları ile saptandı. Şekil 4.19'da PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/eAgNP nanofiberlerine ait kristallik eğrileri verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde 21.57° ve 23.88° noktalarında oluşan zirve noktalarının PCL'ye ait olduğu (Balu, Kumar et al. 2011) anlaşılmaktadır.

PLA nanofiberlerin yapılarını inceleyen çalışmada filmlerin yaklaşık $2\theta = 16^\circ$ 'de görünen geniş bir maksimum ile yoğunluk gösterdiği, bunun da PLA'nın polimorfik kristal geçişi olmadığını doğruladı (Chu, Zhao et al. 2017). Her iki PCL/PLA/AgNP ve PCL/PLA/eAgNP nanofiberlerinde 2θ 'de 39.7° , 43.4° , 64.55° , 74.92° 'de 4 kristal pik gözlemlendi. Daha spesifik olarak, bunlar sırasıyla yüzey merkezli kübik (fcc) gümüş kristallerin 111, 200, 220 ve 311 kristalografik düzlemlerine atfedilmiştir. Bu, AgNP'lerin PCL/PLA levhalarının yüzeyinde ve içinde var olduğu anlamına gelir. PCL/PLA/AgNP ve PCL/PLA/eAgNP nanofiberlerin kristal zirve noktaları karşılaştırıldığında kristallik şiddetlerinin özellikle 74.92° zirve noktasında 251.6 a.u. yoğunluk değerinden 171 a.u. değerine eAgNP varlığında düştüğü görülmektedir. Yapıdaki eAgNP nanopartikülün varlığıyla oluşan piklerin yoğunluğunun azalması eAgNP katkılı PCL/PLA nanofiberlerin kristal yapıya dönüştüğünü, fakat AgNP katkılı nanofiberin katkısız AgNP içeriğinden dolayı daha kristal yapı sergilediğini göstermektedir.

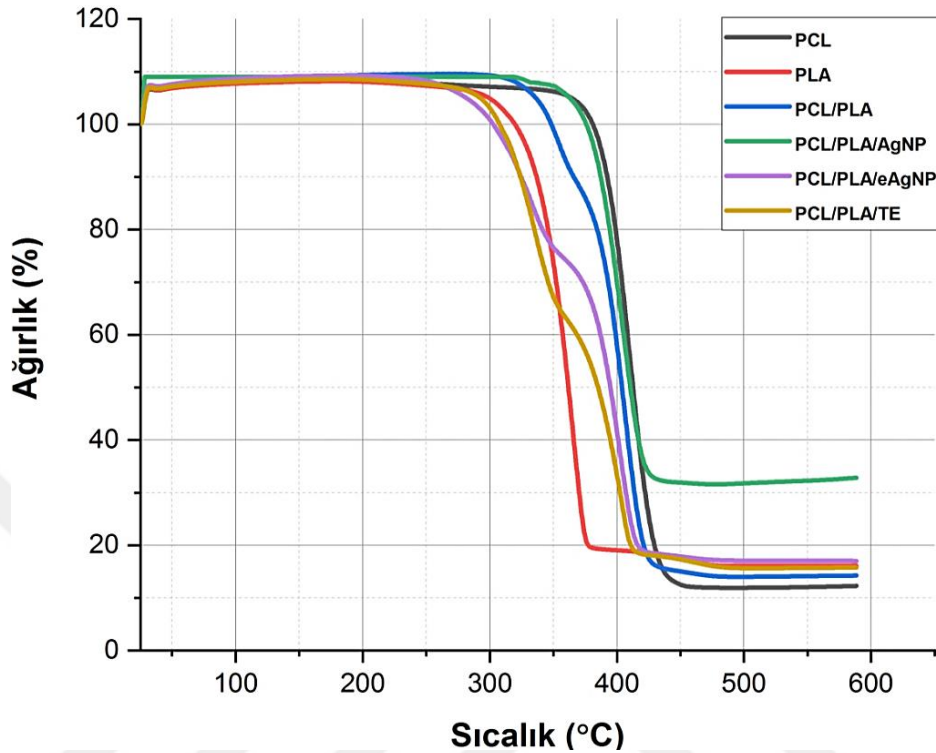


Şekil 4.19. A) PCL/PLA/eAgNP B) PCL/PLA/AgNP nanofiberlerin XRD spektrumları

4.2.4. Isısal Yapı Analizi (TGA) Analiz Sonuçları

Şekil 4.20’de PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberlerin termal bozunma eğrileri verilmiştir. Analiz sonucunda oluşan grafiklere dayanarak nanofiberlerin termal olarak kararlılık gösterdiği sıcaklık aralığı, termal bozunma aralığı ve ağırlık kayıpları hesaplanmıştır. Ağırlık kayıpları PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberler için sırasıyla 300-380 °C, 360-440 °C, 320-430 °C, 270-420 °C, 350- 430 °C ve 290-410 °C sıcaklık aralıklarında gerçekleşti. Sıcaklık artışına bağlı ağırlık kayıpları ise sırasıyla PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberler için yaklaşık %83.9, %87.8, %85.76, %82.95, %67.2 ve %84.24 olarak bulundu. Termal kararlılığı en düşük olan numune PCL/PLA/eAgNP ve daha sonra PCL/PLA/TE’dir, diğer numunelerin bozunma gösterdiği sıcaklıklardan daha düşük sıcaklıklarda bozunmaya başlamışlardır. Termal stabilitesi en yüksek olan numuneler ise PCL ve PCL/PLA/AgNP’dir. PCL, diğer numuneler ile kıyaslandığında daha yüksek sıcaklıkta bozunmaya başlamış olup en yüksek ağırlık kaybı gösteren nanofiberdir. PCL’nin termal kararlılık gösterdiği sıcaklık aralığını ölçen başka bir çalışmada benzer şekilde bu sıcaklık aralığı yaklaşık 369-430 °C bulunmuştur (Abdelrazek, Hezma et al. 2016). PLA/PVA nanokompozitlerin termal stabilitesini inceleyen bir çalışmada ise benzer bir sonuç olarak PLA nanofiberin termal kararlılık sıcaklığı 305 °C olarak bulunmuştur (Abdal-hay, Hussein et al. 2016). PCL/PLA nanofiberin termal kararlılık sıcaklık aralığı ise PCL ve PLA nanofiberlerin termal stabilite sıcaklık aralığının ortasında bir sıcaklık aralığı olan 320-430 °C olarak bulunmuştur. PCL/PLA/AgNP ise %67.2 ile en az ağırlık kaybına uğrayan numunedir. AgNP eklenmesi ile artan termal stabilite ve yüksek kalıntı oranı termal iletkenliğin artması ile açıklanmaktadır (Dubey, Bhushan et al. 2015). PCL/PLA/eAgNP nanofiberde eAgNP varlığında termal stabilitenin azaldığı görülmüştür, PCL/PLA nanofiber ile kıyaslandığında başlangıç ve son bozunma sıcaklıkları 320 °C’den 270 °C’ye ve 430 °C’den 420 °C’ye düşmüştür. Ağırlık kaybı dikkate alındığında ise eAgNP içermesi sebebi ile PCL/PLA/AgNP nanofiberden sonra en çok kalıntı bırakan numune PCL/PLA/eAgNP olmuştur. Benzer şekilde, kekik ekstraktı varlığında PCL/PLA/TE nanofiberinin termal stabilitesi azalmıştır. Sonuçlara göre, başlangıç ve son bozunma sıcaklıkları 320 °C’den 290 °C’ye ve 430 °C’den 410 °C’ye düşmüştür. Bitki ekstraktındaki uçucu bileşenler, PCL/PLA/eAgNP ve PCL/PLA/TE malzemelerinin düşük termal dirence sahip olduğunu doğrulamaktadır. Literatürde Cinnamon bitki ekstraktının Kitosan/Gelatin

filmine dâhil edildiği bir çalışmada da ekstraktın varlığının termal kararlılığı düşürdüğü bulgusu saptanmıştır (Ahmadi, Hivechi et al. 2021).

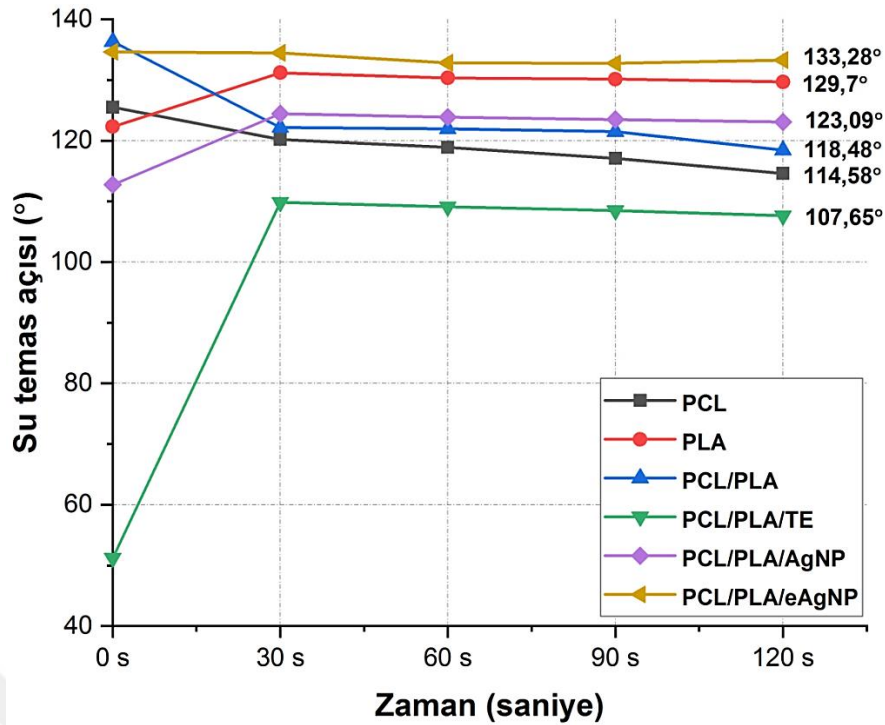


Şekil 4.20. PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberlerin termogravimetrik bozunma eğrileri

4.2.5. Su Temas Açısı Analiz Sonuçları

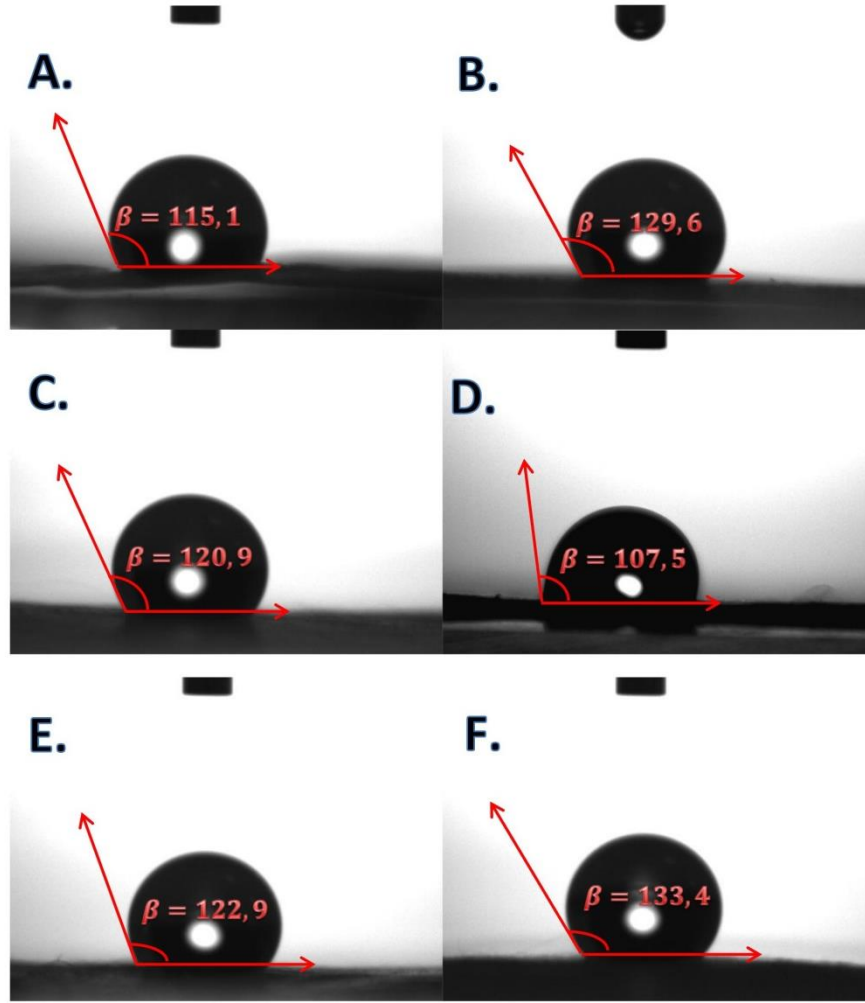
Nanofiberlerin hidrofilitiklik- hidrofobiklik özelliklerini tayin etmek için su temas açıları ölçülmüştür. Tüm numuneler, yüzeylerin ıslanabilirliğini etkileyen geniş temas açıları sebebiyle hidrofobik davranış sergilemiştir. PCL/PLA/TE hariç numunelerin temas açıları arasında çok fazla farka rastlanmamıştır.

Yüzeylerin temas açısı ve hidrofilitikliği polimer konsantrasyonu ve lif çapı ile ilişkili değildir (Oztemur and Yalcin-Enis 2021). PLA ve PCL polimerlerinin yapılarındaki kristal bölgelerin bir sonucu olan hidrofobik doğası literatürde doğrulandığından, bu çalışmada üretilen yüzeylerin temas açısı değerlerinin yüksek olması beklenen bir sonuçtur (Raja, Lim et al. 2019). Polimer yapılarda sıkıca paketlenmiş yoğun kristal bölgeler, yapılara hidrofobik bir doğa vererek düşük su absorpsiyonuna neden olur (Korzhikov, Averianov et al. 2016).



Şekil 4.21. Nanofiberlerin zamana bağlı su temas açıları eğrileri

Şekil 4.22’de görüldüğü gibi saf PLA nanofiberi PCL ile kıyaslandığında daha yüksek su temas açısına ve daha düşük hidrofiliklik özelliğe sahiptir. Artan PCL içeriği ile PCL/PLA nanokompozit fiberlerin su temas açısı 120.9°’ye kadar azalmıştır. Uygun miktarda PCL, PLA’nın hidrofilikliğini geliştirebilen polar grupları indükleyerek su-temas açısını düşürür (Li, Zhang et al. 2021). Yapılan başka bir çalışmada PCL/PLA nanofiberin 125.5° temas açısı ile hidrofobik özellik sergilediği bildirilmiştir (Mohandesnezhad, Pilehvar-Soltanahmadi et al. 2020). Şekil 4.21’de nanofiberlerin zamana bağlı su-temas açısı eğrileri çizdirilmiştir. PCL/PLA/TE nanofiberin TE varlığında hidrofiliklik özelliğinin arttığı, su temas açısının 107.5°’ye düştüğü görülmektedir. Bitki ekstraktının hidrofiliklik özelliğini artırdığı *Elaeagnus angustifolia* ekstraktı kullanılarak yapılan bir çalışmada bildirilmiştir (Hokmabad, Davaran et al. 2019). PCL/PLA/TE nanofiberin başlangıçta 50° temas açısı sergilemesi yüzeyde bitki özütünün PCL/PLA’ye göre varlığını daha etkin göstermesidir. PCL/PLA/AgNP nanofiberin AgNP eklenmesi ile daha hidrofobik özellik sergilemesi yüzey pürüzlülüğünün artması ile açıklanmaktadır (Scavone, Armentano et al. 2016).



Şekil 4.22. A) PCL, B) PLA, C) PCL/PLA ve D) PCL/PLA/TE E) PCL/PLA/AgNP F) PCL/PLA/eAgNP nanofiberlerin ortalama su-temas açısı ölçümleri

PCL/PLA/eAgNP nanofiber 133.4 ° temas açısı ile hidrofobik özelliği en yüksek olan numune olmuştur. Temas açısının artması, fiber yüzeyinin daha fazla hidrofobikliğine neden olan gümüş nanopartiküllerin varlığından kaynaklanmaktadır. Nanopartiküllerin nanofiber içinde daha fazla olduğu düşünüldüğünde, hidrofilik fonksiyonel gruplar gümüş nanopartikül ile reaksiyona girerek lif yüzeyini daha hidrofobik hale getirir. Yeşil sentez ile Polisakkarit SPG kullanarak üretilen gümüş nanopartiküllerin PVA iskelelerine dahil edildiği bir çalışmada da temas açısı 47.75° olan PVA nanofiberin AgNP varlığında 50.01°'ye çıkarak hidrofobikliğinin arttığı gözlemlenmiştir (Safae-Ardakani, Hatamian-Zarmi et al. 2019).

4.2.6. Mekanik Dayanım Analizi Sonuçları

Üretilen PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberlerin, şablon üzerinde 1/5 cm oranında olacak şekilde yerleştirilmiş nanofiber malzemelerin sabit çekme hızında mekanik çekme testleri

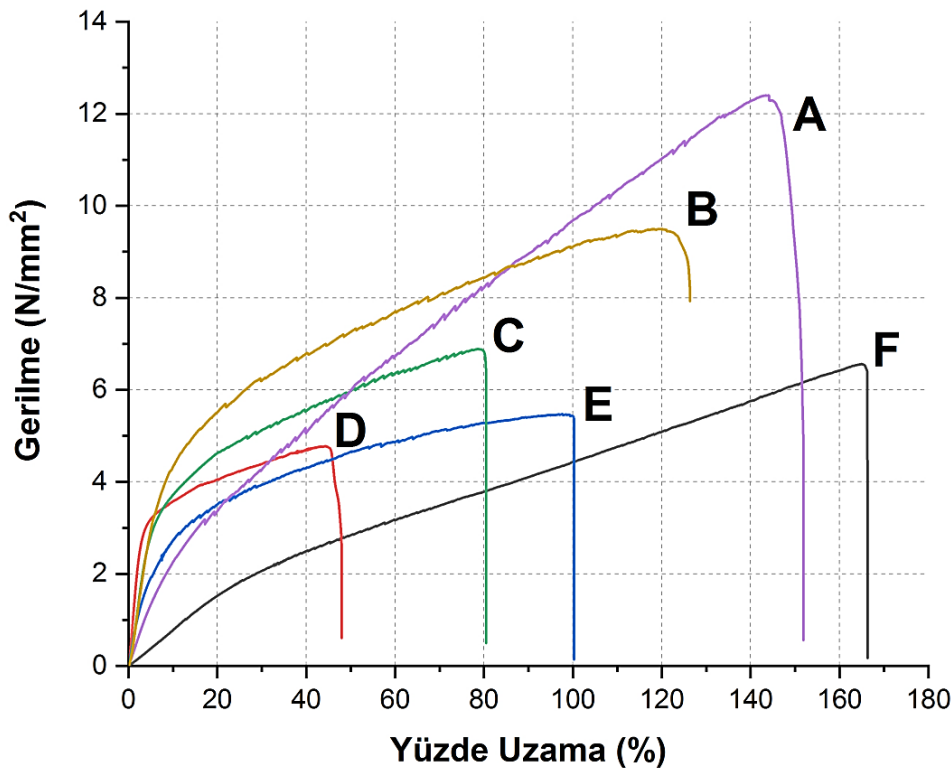
gerçekleştirilmiş ve bu deneyler kapsamında çekme gerilmesi-yüzde uzama eğrileri Şekil 4.23'te görüldüğü üzere çizdirilmiştir. Tablo 4.2'de her bir nanofibere ait maksimum gerilme, maksimum yüzde uzama ve Young modülü değerleri verilmiştir. Maksimum gerilme değerleri Tablo 4.2'de verildiği gibi PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberleri için sırasıyla 4.78 MPa, 6.56 MPa, 5.47 MPa, 9.5 MPa, 12.4 MPa ve 6.89 MPa olarak bulunmuştur. Maksimum yüzde uzama değerleri ise PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberleri için sırasıyla 44.22, 164.89, 97.59, 119.4, 144 ve 78.68 olarak bulunmuştur. Nanofiberlere ait gerilme eğrileri karşılaştırıldığında PCL/PLA/AgNP ait nanofiberin 12.4 MPa ile en yüksek gerilmeye sahip olduğu, daha sonra en yüksek gerilme değerini PCL/PLA/eAgNP nanofiberin 9.5 MPa ile takip ettiği görülmektedir. AgNP varlığında gerilme mukavemetinin artmasının sebebi gümüş nanopartiküllerin nanofiberin sürekliliğini azaltıp, PCL/PLA molekülleri arasındaki kayma hareketlerine direnç sağlamasıdır. Pozitif yüklü gümüş atomu ile PCL/PLA'nın kısmen negatif yüklü karbonil grupları arasındaki iyonik etkileşimlerin, polimer zincirleri arasında daha yüksek moleküller arası bağ ile sonuçlandığı ve böylece daha iyi çekme mukavemeti ve kopma uzaması elde edildiği tahmin edilmektedir (Cerkez, Sezer et al. 2017).

PCL/PLA/eAgNP nanofiberlerin mukavemet değerinin PCL/PLA/AgNP nanofibere göre % 23.38 düşük çıkmasının nedeni; eAgNP'lerin PCL/PLA nanofiber içerisine girdiğinde PCL/PLA molekülleri ile gümüş nanopartikülleri arasında zayıf bir bağ oluşturmasıdır. PCL/PLA ile gümüş nanopartikül arasındaki bağın zayıflamasına sebep olan gümüşün etrafındaki enkapsülasyon işlemine sebep olan kekiğin indirgeyici molekülü olan timoldür. Bu molekül, termoplastik olan PCL ve PLA içerisinde iyi bir bağ oluşturamadığından polimerin mikroyapısının homojenliğini düşüren bir malzeme görevi görür. Böylece nanofiberin yapısal bağ bütünlüğüne zarar vererek daha düşük mukavemet göstermesine neden olur.

Saf PLA'nın ve PCL'nin çekme gerilimi sırasıyla 4.78 MPa ve 6.56 MPa; yüzde uzama değerleri ise 44.22 MPa ve 164.89 MPa olarak bulunmuştur. PCL/PLA nanofiber kompozitin ise çekme dayanımı 5.48 MPa iken yüzde uzama değeri 97.59 MPa olarak bulunmuştur. PLA, yüksek elastik modülü ve kırılmada düşük uzama ile kırılman ve pek bir davranış sergileyen bir polimerdir. PLA'nın oldukça kırılman yapısına eklenen PCL'nin esnekliğini ve gerilme mukavemetini artırdığı görülmektedir. Literatürde PLA'nın sert ve kırılman bir yapıya sahip olduğu, PCL'nin ise sünek bir davranış

sergilediği, PCL/PLA kompozitlerinin ise orta hassasiyet ve esnekliğe sahip olduğu belirtilmiştir (Raquez, Habibi et al. 2013, Dias and Chinelatto 2019). PLA filmlerinin düşük kalınlıkta imal edildiği bir çalışmada PLA'nın işlenmesinde zorluk görülmüştür, bu da onları sinir onarımı için aday malzeme olarak uygunsuz hale getirdiği için (Yen, Shen et al. 2019) bir sonraki çalışmada iyi mekanik özelliklerinden dolayı PCL/PLA kompozit malzeme üzerinde çalışılmıştır. Hem PCL hem de PLA lineer alifatik polyesterler olsa da, moleküler bileşimlerdeki fark, PCL'yi PLA'dan daha yavaş parçalanana daha esnek ve kristalli bir polimer yapar; PLA ise PCL'den daha yüksek sertlik ve elastiklik modülü sergiler (Yao, Cosme et al. 2017).

PCL/PLA/TE nanofiberin maksimum gerilme değeri 6.89 N/mm^2 ile PLA, PCL ve PCL/PLA nanofiberlerin gerilme mukavemetlerinden yüksektir. Kopmadaki uzama ise ters bir eğilim göstererek TE içeriği eklenmesi ile nanofiberlerin kopma uzaması azaldı. Bu sonuçlar, TE yüklü PCL/PLA nanofiberlerinin mekanik özelliklerinin (gerilme mukavemetinin) TE ilavesiyle artırıldığını ve az bir miktar TE'nin bile nanofiberlerin gerilme özelliklerini güçlendirdiğini göstermektedir. Bunun sebebinin düzenli olarak dağıtılan TE molekülleri ve PCL/PLA polimer zincirleri arasındaki etkileşimler olduğu varsayılmaktadır (Hokmabad, Davaran et al. 2019).



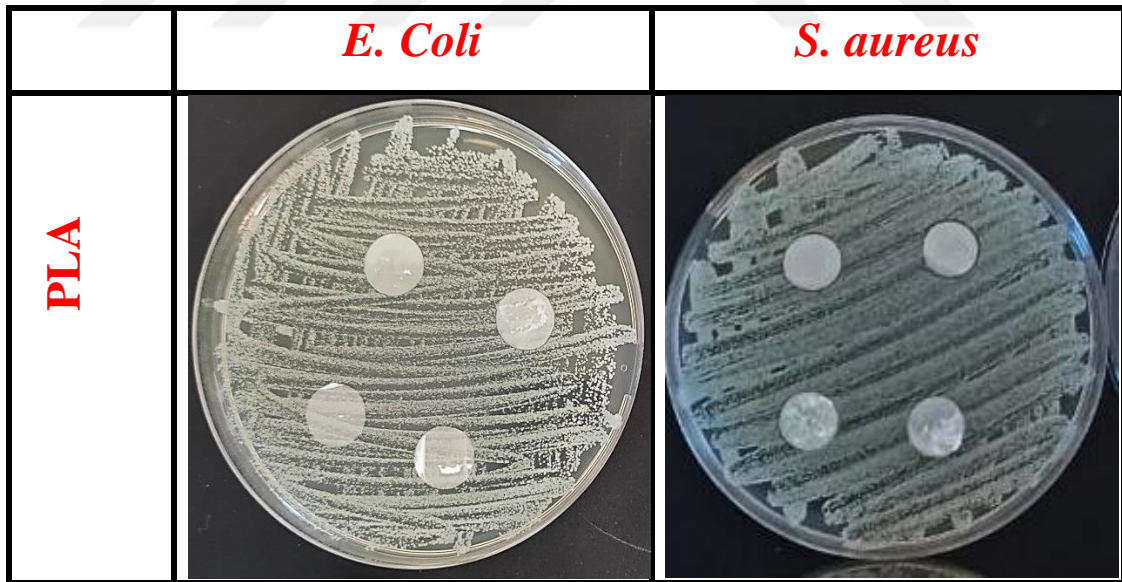
Şekil 4.23. A) PCL/PLA/AgNP B) PCL/PLA/eAGNP C) PCL/PLA/TE D) PLA E) PCL/PLA F) PCL nanofiberlerin gerilme –yüzde uzama eğrileri

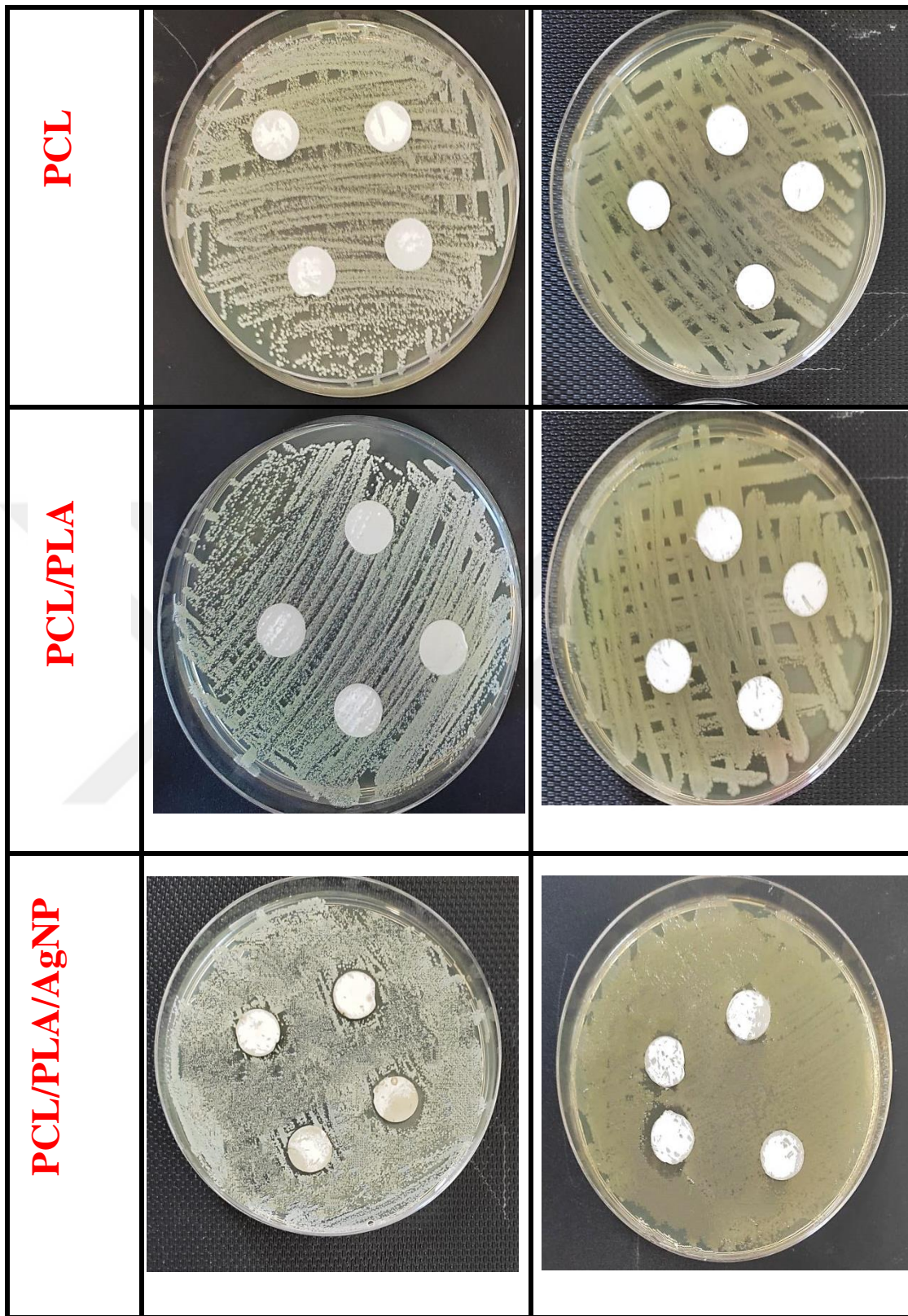
Tablo 4.2. Nanofiberlere ait maksimum gerilme, maksimum yüzde uzama ve Young modülü değerleri

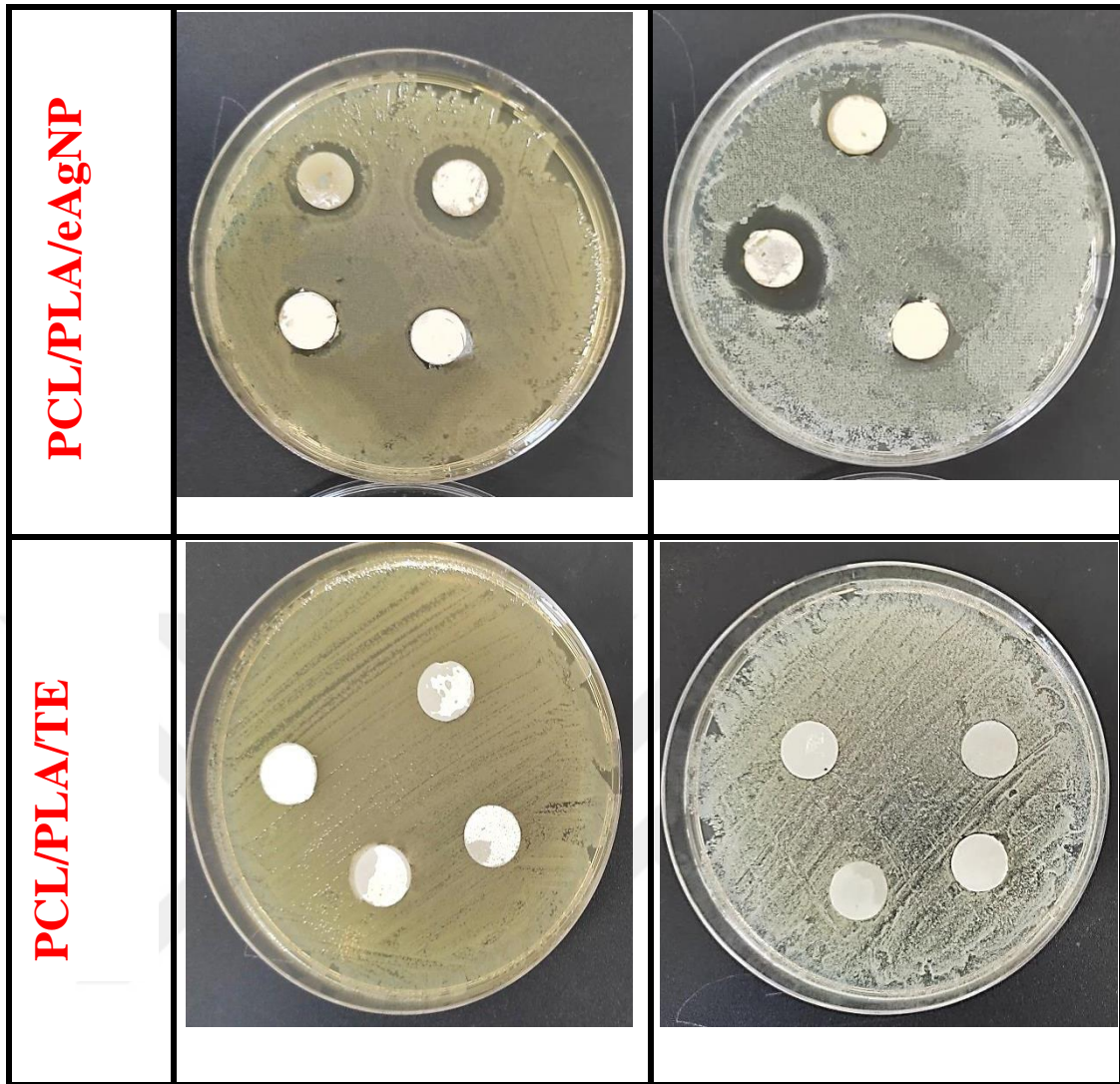
Nanofiber	Maksimum Gerilme (N/mm ²)	Maksimum Yüzde Uzama (%)	Young Modülü (MPa)
PLA	4.78	44.2207	104.04
PCL	6.56	164.882	7.6
PCL/PLA	5.48	97.5928	23.738
PCL/PLA/eAgNP	9.5	119.416	45.87
PCL/PLA/AgNP	12.4	144.010	24.9
PCL/PLA/TE	6.89	78.6757	62.51

4.3. Antibakteriyel Aktivite Test Sonuçları

İnsanlarda doku implantasyonu sonrası temel problem enfeksiyon riskidir. Ameliyat esnasında implantların doğrudan kontaminasyonu, en sık görülen bulaşma şeklidir. Enfekte implantlar üzerinde yapılan önceki çalışmaların sonuçları bu patojenlerin en sık *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* olduğunu göstermiştir (Foroutan Koudehi, Imani Fooladi et al. 2019).







Şekil 4.24. PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberlerinin *E.Coli* ve *S.Aureus* bakterilerine karşı oluşturdukları inhibisyon halkası çapları

Tasarlanan nanofiberlerin antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi için *S.aureus* gram pozitif bakterisi ve *E.coli* gram negatif bakterilerine karşı PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiber matrislerin tepkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Şekil 4.24'te nanofiberlerin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı gösterdiği antibakteriyel etkinlikleri görülmektedir. Her iki bakteri için de yapılan antibakteriyel test sonuçlarına göre nanopartikül içermeyen PCL ve PCL/PLA nanofiberlerin antibakteriyel bir etki göstermediği gözlemlenirken, PLA sadece *S. aureus* bakterisine karşı ihmal edilebilir bir inhibisyon çapı oluşturmuştur. *E. coli* bakterisine karşı Tablo 4.3'de gösterildiği gibi PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP nanofiberleri sırasıyla 16.9 mm, 14.16 mm ortalama inhibisyon halkası çapı göstermiştir. *S. Aureus* bakterisine karşı ise Tablo

4.4'de verildiği üzere PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP nanofiberlerinde sırasıyla 17.55 mm, 13.55 mm inhibisyon halkası çapı gözlenmiştir.

PCL/PLA/TE nanofiber ise *E.coli* bakterisine karşı herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken *S. aureus* bakterisine karşı 12.49 mm ortalama inhibisyon halkası çapı oluşturmuştur. PCL/PLA/AgNP nanofiberin AgNP etkisi ile *E.coli* bakterisine karşı *S.aureus* bakterisine göre daha etkili olduğu görülmektedir. PCL/Hyaluronik asit nanofiber içerisine AgNP katkılanan nanofiberin antibakteriyel etkisini araştıran bir çalışma, inhibisyon çaplarının *E. coli* bakterisinde (2.21 ± 0.14 cm) *S. aureus* suşlarına (1.66 ± 0.02 cm) kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir (Chen, Chen et al. 2015). Elde edilen verilere göre her iki bakteri türü için de PCL/PLA/eAgNP nanofiberi eAgNP etkisi ile en yüksek inhibisyon halkası çapı gösteren numune olmuştur. Ayrıca PCL/PLA/TE nanofiberi TE varlığında *E. coli* bakterisine karşı bir antibakteriyel etki göstermezken *S.aureus* bakterisine karşı inhibisyon çapı oluşturmuştur. Buradan hareketle kekik bitkisinin *S.aureus* bakterisine karşı azımsanmayacak bir oranda antibakteriyel özellik gösterdiğini söyleyebiliriz. Bunun temel nedeni kekik bitki moleküllerinin, *S. aureus* bakteri zarında fosfat iyonu sızıntısına sebep olması sonucu antibakteriyel etki oluşturması ile açıklanabilir (Boskovic, Zdravkovic et al. 2015). Timol, farklı biyolojik aktivitelere yol açan hem hidrofobik (aromatik halka ile ilişkili) hem de hidrofilik (fenolik OH grubu ile ilişkili) özellikler sergiler (Semeniuc, Pop et al. 2017) (Memar, Raei et al. 2017). Timol, hidrofobikliğine bağlı olarak membrana ulaştığında, lipid düzenini bozabilir, geçirgenliği değiştirebilir ve depolarizasyona yol açabilir. Ayrıca genomik DNA'nın küçük oluşunu bağladığı ve DNA morfolojisini değiştirdiği öne sürülmüştür (Aksoy, Avci et al. 2020).

Hem bitki özünde hem de uçucu yağda bulunan timol, bakteri zarının dengesini bozarak bakterileri öldürme yeteneğine sahiptir (Manukumar, Yashwanth et al. 2020). Kekik timol bileşeninin *S. aureus* bakterisinde gösterdiği antibakteriyel aktiviteyi araştıran bir çalışmada timolün bakteriyel membran proteini olan IolS'yi doğrudan bağladığını, ardından membran geçirgenliğini ve bakteri hücre ölümünü artmasına neden olduğunu göstermiştir (Zhou, Wang et al. 2019). Birçok farklı bitkinin *S. aureus*, *E. coli* de dahil olmak üzere farklı bakteri türlerine karşı antibakteriyel etkisinin incelendiği bir çalışmada, kekik bitkisinin test edilen tüm bitki ve bitki kombinasyonları arasında en yüksek antibakteriyel potansiyele sahip olduğu bulunmuştur.

Tablo 4.3. *E. Coli* bakterisine karşı nanofiberlerin inhibisyon halkası çapları

Nanofiber	İç çap (mm)	Dış çap (mm)	Çap farkı (mm)
PLA	12	İnhibisyon çapı oluşmadı	-
PCL	12	İnhibisyon çapı oluşmadı	-
PCL/PLA	12	İnhibisyon çapı oluşmadı	-
PCL/PLA/eAgNP	12	16,9	4,9
PCL/PLA/AgNP	12	14,16	2,16
PCL/PLA/TE	12	İnhibisyon çapı oluşmadı	-

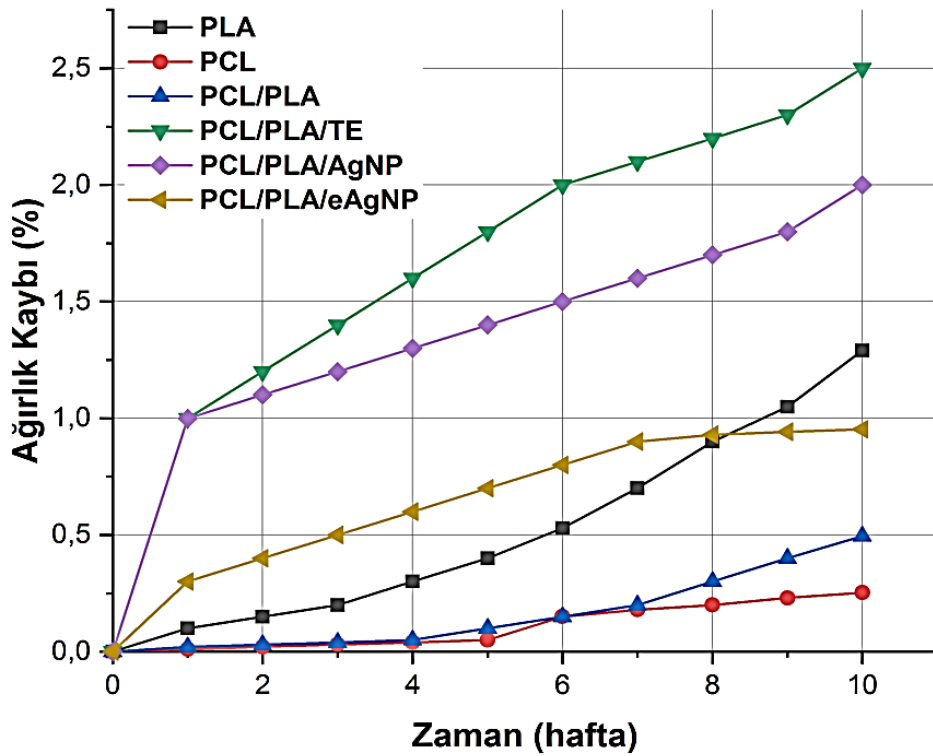
Tablo 4.4. *S. Aureus* bakterisine karşı nanofiberlerin inhibisyon halkası çapları

Nanofiber	İç çap (mm)	Dış çap (mm)	Çap farkı (mm)
PLA	12	İhmal edilebilir	-
PCL	12	İnhibisyon çapı oluşmadı	-
PCL/PLA	12	İnhibisyon çapı oluşmadı	-
PCL/PLA/eAgNP	12	17,55	5,55
PCL/PLA/AgNP	12	13,55	1,55
PCL/PLA/TE	12	12,49	0,49

4.4. In vitro Biyobozunurluk

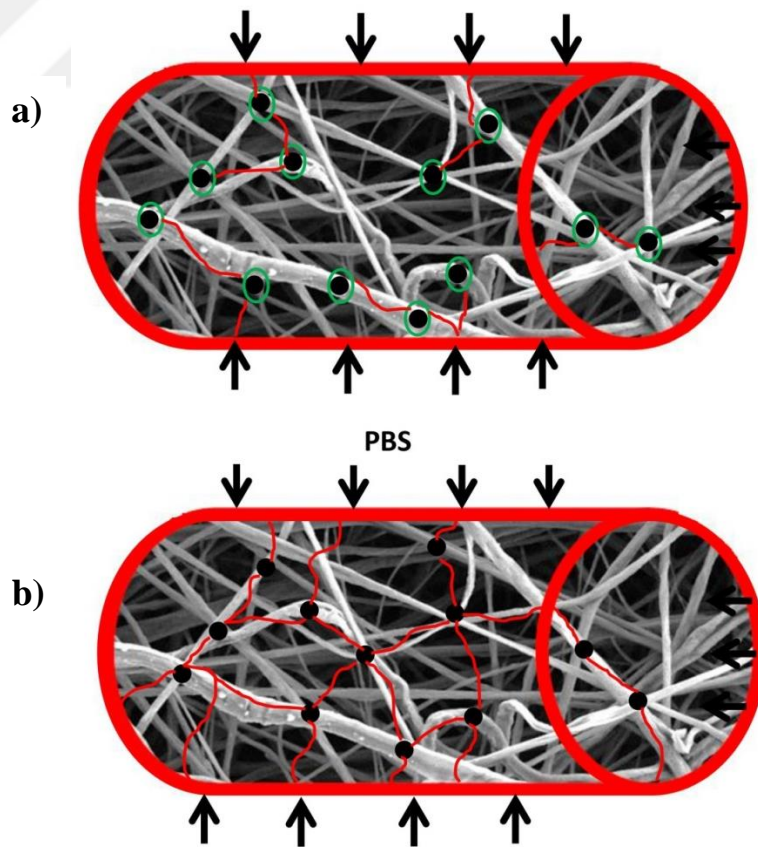
PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiber malzemelerine ait numuneler, biyobozunurluk oranlarının tespit edilmesi için 10 hafta boyunca PBS içerisinde bekletilerek haftalık periyotlarla ağırlıkları kaydedildi. Başlangıç ağırlığı tartıldıktan sonra PBS içerisine bırakılan numuneler her bir haftadan sonra kaba suyu alınarak 1 gün boyunca etüvde 37 °C’de kurutuldu ve kalan ağırlıkları takip edildi. Bu ölçülen değerlere göre de grafiksel ağırlık kayıpları eğrileri oluşturuldu. Nanofiberlerin biyobozunurluk testleri sonucu elde edilen veriler Şekil 4.25’te verilmiştir. Şekil 4.25 incelendiğinde, tüm numune tiplerinin bozunma oranlarının %0.253 ile %2.5 arasında değiştiği görülmektedir. Bunun yanı sıra ağırlık kayıplarının da PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiberleri için sırasıyla %1.29, %0.253, %0.495, %0.952, %2, %2.5 olduğu saptanmıştır. Elde edilen ağırlık kaybı sonuçları kıyaslandığında en yüksek ağırlık kaybı PCL/PLA/TE nanofiberde %2.5 olarak gözlemlenirken, en düşük ağırlık kaybı PCL nanofiberde %0.253 olarak gözlemlendi. PCL’nin, PLA’dan çok daha düşük bir oranda bozunan yarı kristal bir polimer olduğu bilinmektedir (Woodruff and Hutmacher 2010, Miller, Hsu et al. 2011). Polimer hem hidrofobik hem de yarı kristal olduğundan, polimerin tamamen bozunması 3-4 yıl kadar sürebilir, bu da PCL’yi uzun süreli implantlarda, kemik dokusu mühendisliğinde ve yavaş salınan ilaç dağıtım uygulamalarında popüler bir seçim haline getirir (Arakawa and DeForest 2017). Elde

edilen sonuçlar doğrultusunda PCL'nin 10 haftalık süre içerisinde %0.253 ağırlık kaybı ile %1.29 ağırlık kaybı gösteren PLA'dan daha yavaş bozunma gösterdiği gözlenmiştir. Her iki malzemenin kombinasyonu ile elde edilen PCL/PLA nanokompozit fiber ise bu bozunma oranlarının arasında %0.495 ağırlık kaybı göstererek her iki malzemenin bozunma karakteristiklerini taşımaktadır. PCL ve PLA'nın birlikte sentezlendiği bir çalışma da PCL'ye eklenen PLA'nın etkisiyle 60 haftalık bir sürede ağırlık kaybında %50 artışa yol açarak PLA'nın bozunma oranını artırdığını göstermektedir (Huang, Li et al. 2004). PCL/PLA içerisine katılan ilave malzemeler eAgNP, AgNP, TE ağırlık kaybı oranını PCL/PLA nanokompozit fiber ile kıyaslandığında yükseltmiştir. PCL/PLA/TE nanofiber %2.5 bozunma oranıyla ağırlık kaybının en fazla olduğu numune olarak tespit edilmiştir. Bu durum bitki özütünün PCL/PLA nanofiber kompozite daha hidrofilik bir özellik kazandırmasıyla açıklanabilir. PCL nanofibere *Panax ginseng* özütü katıldığı bir çalışmada özüt kontrasyonundaki artışa bağlı olarak ağırlık kaybının arttığı görülmüştür (Pajoum shariati, Yavari et al. 2015). Yine PCL nanofibere *Wattakaka volubilis* fitokimyasalı dahil edildiği başka bir çalışmada katılan bitki bileşeninin bozunmayı çok önemsenmeyecek bir oranda da olsa artırdığı görülmüştür (Venugopal, Sahanand et al. 2019).



Şekil 4.25. PLA, PCL, PCL/PLA, PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/TE nanofiber matrislerin 10 haftalık in vitro biyobozunurluk eğrileri

PCL/PLA/AgNP nanofiber PCL/PLA/TE nanofiberden sonra %2 ile en çok ağırlık kaybına uğrayan ikinci numune olmuştur. PCL'nin Ag ve TiO_2 ile sentezlendiği bir çalışmada katkılanan TiO_2 ve Ag oranındaki artışa bağlı olarak malzemenin bozunma oranının arttığı görülmüştür (Karagoz, Kiremitler et al. 2020). PCL'ye CNT (Karbon nanotüp) katkılanan başka bir çalışma da nanopartikül ilavesinin ilave edilen miktardaki artış ile doğru orantılı olarak bir bozunurluk artışı sergilediğini göstermektedir (Meng, Zheng et al. 2010). Eklenen eAgNP'ler de 10 hafta sonunda %0.952 ağırlık kaybı göstererek katkısız nanokompozit fibere göre bozunurluğu artırmıştır. PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP nanofibere göre daha az ağırlık kaybına sahiptir. Bunun nedeninin gümüşün etrafını çevreleyen bitki moleküllerinin malzemenin PBS sıvısıyla etkileşimini azaltması olduğu düşünülmektedir. Şekil 4.26 eAgNP ve AgNP'nin PBS sıvısının bozunma kanallarını açarak aktarımını temsil etmektedir. Şekilden anlaşılacağı üzere eAgNP'ler bozunma kanallarının iletimini bir noktada durdurucu bir rol oynamaktadır, AgNP'ler ise daha fazla bozunma kanalı oluşturarak PBS'yi daha fazla noktaya iletebilmişlerdir.



Şekil 4.26. PBS içerisinde yer alan a) PCL/PLA/eAgNP, b) PCL/PLA/AgNP nanofiberlerin temsili biyobozunurluk mekanizması

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Yapılan bu tez çalışmasında sinir rejenerasyonunu destekleyip hasarlı sinir doku onarımını hızlandıracak eAgNP katkılı PCL/PLA nanokompozit fiber doku iskelesi geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak kekik bitki ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartikül üretiminde gerekli ideal bitki ekstraktı/AgNO₃ oranlarını bulmak için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Öte yandan biyomedikal alanda yoğun olarak kullanılmakta olan PLA ve PCL biyobozunur sentetik polimerleri elektro-eğirme yöntemi ile nanokompozit fiber haline getirilmiştir ve üretimi tamamlanan eAgNP'ler elektro-eğirme yöntemi ile üretilen PCL/PLA nanokompozit fiber içerisine dahil edilmiştir. Nanofiber içerisindeki eAgNP'lerin etkinliğinin incelenmesi adına PCL, PLA, PCL/PLA, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/eAgNP ve PCL/PLA/TE nanofiberlerin üretimleri elektro-eğirme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda gerçekleştirilen tüm deneysel çalışmalar sonrası elde edilen bulgular aşağıdaki gibi listelenebilir:

- PCL, PLA, PCL/PLA, PCL/PLA/AgNP, PCL/PLA/eAgNP ve PCL/PLA/TE nanofiberler genel olarak düzgün bir morfoloji ve boncuksuz bir yapıya sahip olduğunu göstermiştir. Ancak AgNP/eAgNP eklenmesi ile birlikte nanofiberlerin çapında azalma ve daha düzgün bir dağılım gösterdiği görülmüştür.
- Fiber çap ortalamaları 280 ila 490 nm aralığında değişen nanofiber yapılar üretilmiştir. PCL/PLA/AgNP 253,25 ± 123 ortalama çapa sahip fiberlerden oluşurken PCL/PLA/eAgNP 280,91 ± 198 ortalama çapa sahip fiberlerden oluşmaktadır. Bunun nedeni enkapsülasyon işlemi sonucu AgNP'lerin azalan iletkenliğidir.
- Antibakteriyel ve antioksidan özellikleri yüksek olduğu literatür tarafından desteklenen *Thymus Vulgaris L.* bitkisi hem PCL/PLA nanofiber yüzeyine adsorbe edilmiş, hem bitkisel ekstraktı yeşil sentezlenmiş AgNP olarak PCL/PLA nanofiber iskele içerisine dâhil edilmiştir. Üretilen eAgNP'ler 22 ila 70 nm arasında değişkenlik gösteren nanopartikül çaplarına sahiptir.
- FTIR analizi ile elektro-eğirme solüsyonu içerisine yüklenen eAgNP, AgNP'nin ve ayrıca adsorbe edilen kekik ekstraktının başarılı bir şekilde nanofiber iskele yapısına dâhil edildiği doğrulanmıştır.

- XRD verilerine göre AgNP ve eAgNP'nin nanofiber iskele içerisindeki varlığı 39.7°, 43.4°, 64.55°, 74.92°'de rastlanan 4 karakteristik gümüş kristal tepe noktasından anlaşılmaktadır.
- Nanofiberlerin genel olarak hidrofobik bir yapı sergilediği görülmüştür. PCL/PLA nanokompozit fiberin temas açısı 120,9° iken temas açısı eAgNP eklenmesi ile 133,4° olarak ölçülmüştür. Bu durumda hidrofobikliğin arttığı görülmüştür. Hidrofobik özelliğin 122,9° ile AgNP varlığında da eAgNP içeren numune kadar olmasa da bir miktar arttığı görülmüştür. eAgNP ve AgNP'lerin eklenmesiyle artan yüzey pürüzlülüğü hidrofobikliğin artması ile ilişkilendirilmiştir.
- TGA sonuçlarına göre PCL/PLA'ya ilave edilen eAgNP termal direnci düşürerek daha düşük sıcaklıklarda termal bozunmaya yol açmıştır ve düşük termal kararlılık göstermesine sebep olmuştur. PCL/PLA'ya ilave edilen AgNP ise termal direnci yükselterek PCL/PLA'ya göre daha yüksek sıcaklıkta bozunmanın başlamasına yol açmıştır. Kekik bitki ekstraktındaki uçucu bileşenler, PCL/PLA/eAgNP'nin termal direncini ve termal kararlılığını düşürmüştür.
- Antibakteriyel test sonuçlarına göre AgNP ve eAgNP içeren nanofiberlerin *E.coli* ve *S.aureus* bakteri türlerine karşı etkili olduğu görülmüştür. Her iki bakteri türü için de en iyi inhibisyon çapı halkası oluşturan numune PCL/PLA/eAgNP olmuştur. eAgNP içeren numune *S. aureus* bakterisine karşı daha geniş bir inhibisyon halkası çapı gösterirken AgNP içeren numune ise *E.coli* bakterisine karşı *S. aureus* bakterisine göre daha yüksek bir direnç göstermiştir. En yüksek inhibisyon halkası çapını PCL/PLA/eAgNP nanofiberi *S.aureus* bakterisine karşı 17,55±3 mm inhibisyon halkası çapı ile göstermiştir. eAgNP'lerin antibakteriyel etkinliğinin ise *S. aureus* bakterisinde ortalama 23,209 mm inhibisyon halkası çapı oluşumu ile yaklaşık 20,5 mm inhibisyon halkası çapı gösteren *E. coli* bakterisinden daha yüksek olduğu saptanmıştır.
- Biyobozunurluk sonuçlarına göre; PCL/PLA nanokompozit fibere katılan eAgNP, AgNP ve TE malzemeleri bozunurluk süresi uzun olan PCL, PLA malzemelerinin bozunurluk oranının artırmasına sebep olmuştur. En çok bozunma 10 haftalık süre içerisinde PCL/PLA/TE numunesinde görülmüştür, bu da TE kaplanmasıyla artan hidrofiliklik ile açıklanabilir. PCL/PLA/eAgNP, PCL/PLA/AgNP nanofibere göre 10 haftalık süre içerisinde daha az ağırlık

kaybına sahiptir. Bunun nedeninin gümüşün etrafını çevreleyen bitki moleküllerinin malzemenin PBS sıvısıyla etkileşimini azaltması olduğu düşünülmektedir.

5.2. Öneriler

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen uygulamalara ek olarak ileride yapılması gerekli olan çalışma önerileri aşağıdaki gibi tespit edilmiştir.

- Geliştirilen kekik özütü kullanarak yeşil sentezlenmiş Ag katkılı PCL/PLA nanokompozit fiberlerin antioksidan aktivitesi DPPH testi ile analiz edilmelidir.
- Sinir doku rejenerasyonunu teşvik edebilecek ilaçların da iyileştirme potansiyelinin incelenmesi amacıyla nanokompozit fiber matrise dahil edilmesi sağlanıp ilaç salınım testleri, antibakteriyel testleri yapılarak sonuçlar irdelenebilir.
- Biyouyumluluk özelliğinin in vitro analiz edilmesi amacıyla MTT hücre büyümesi analizi ve sitotoksikite testlerinin de tasarlanan matrise uygulanması sağlanabilir.
- İn vitro testlerin tamamlanmasının ardından in vivo hayvan deneyleri yapılarak geliştirilen malzemenin canlı vücudundaki toksiklik, antibakteriyel özellik, biyolojik olarak bozunurluk, mekanik dayanım gibi karakteristikleri incelenebilir.
- Harmanlanan PCL ve PLA sentetik polimer malzemelerine ilave olarak kolajen, laminin, fibronektin gibi doğal ECM molekülleri dahil edilerek akson gelişiminin desteklenmesi sağlanabilir.

6. KAYNAKLAR

- Abdal-hay, A., K. H. Hussein, L. Casettari, K. A. Khalil and A. S. Hamdy (2016). "Fabrication of novel high performance ductile poly(lactic acid) nanofiber scaffold coated with poly(vinyl alcohol) for tissue engineering applications." *Materials Science and Engineering: C* 60: 143-150.
- Abdelghany, T., A. M. Al-Rajhi, M. A. Al Abboud, M. Alawlaqi, A. G. Magdah, E. A. Helmy and A. S. J. B. Mabrouk (2018). "Recent advances in green synthesis of silver nanoparticles and their applications: about future directions. A review." *8*(1): 5-16.
- Abdelrazek, E. M., A. M. Hezma, A. El-khodary and A. M. Elzayat (2016). "Spectroscopic studies and thermal properties of PCL/PMMA biopolymer blend." *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences* 3(1): 10-15.
- Afshari, M. (2016). *Electrospun nanofibers*, Woodhead Publishing.
- Ahmadi, S., A. Hivechi, S. H. Bahrami, P. B. Milan and S. S. Ashraf (2021). "Cinnamon extract loaded electrospun chitosan/gelatin membrane with antibacterial activity." *International Journal of Biological Macromolecules* 173: 580-590.
- Ahn, G., K.-H. Min, C. Kim, J.-S. Lee, D. Kang, J.-Y. Won, D.-W. Cho, J.-Y. Kim, S. Jin and W.-S. J. S. r. Yun (2017). "Precise stacking of decellularized extracellular matrix based 3D cell-laden constructs by a 3D cell printing system equipped with heating modules." *7*(1): 1-11.
- Akassoglou, K., P. Akpınar, S. Murray and S. J. N. I. Strickland (2003). "Fibrin is a regulator of Schwann cell migration after sciatic nerve injury in mice." *338*(3): 185-188.
- Aksoy, C. S., F. G. Avci, O. M. Ugurel, B. Atas, N. A. Sayar and B. S. J. M. P. Akbulut (2020). "Potentiating the activity of berberine for *Staphylococcus aureus* in a combinatorial treatment with thymol." *149*: 104542.
- Al-Hazeem, N. Z. A. J. N. N.-S. A. (2018). "Nanofibers and Electrospinning Method."
- Almetwally, A. A., M. El-Sakhawy, M. Elshakankery and M. J. J. T. A. Kasem (2017). "Technology of nano-fibers: production techniques and properties-critical review." *78*: 5-14.
- Altiok, D., E. Altiok and F. Tihminlioglu (2010). "Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications." *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 21(7): 2227-2236.
- Ananda, A., H. Manukumar, S. Umesha, G. Soumya, D. Priyanka, A. M. Kumar, N. Krishnamurthy, K. J. J. o. P. T. Savitha and Research (2017). "A relook at food packaging for cost effective by incorporation of novel technologies." *1*(2): 67-85.
- Andrady, A. L. (2008). *Science and technology of polymer nanofibers*, John Wiley & Sons.
- Angamma, C. J. and S. H. J. I. T. o. i. a. Jayaram (2011). "Analysis of the effects of solution conductivity on electrospinning process and fiber morphology." *47*(3): 1109-1117.
- Apel, P. J., J. P. Garrett, P. Sierpinski, J. Ma, A. Atala, T. L. Smith, L. A. Koman and M. E. J. T. J. o. h. s. Van Dyke (2008). "Peripheral nerve regeneration using a keratin-based scaffold: long-term functional and histological outcomes in a mouse model." *33*(9): 1541-1547.
- Arakawa, C. K. and C. A. DeForest (2017). Chapter 19 - Polymer Design and Development. *Biology and Engineering of Stem Cell Niches*. A. Vishwakarma and J. M. Karp. Boston, Academic Press: 295-314.

- Arslantunali, D., T. Dursun, D. Yucel, N. Hasirci and V. J. M. D. Hasirci (2014). "Peripheral nerve conduits: technology update." 7: 405.
- Aytac, Z., S. Ipek, E. Durgun, T. Tekinay and T. J. F. c. Uyar (2017). "Antibacterial electrospun zein nanofibrous web encapsulating thymol/cyclodextrin-inclusion complex for food packaging." 233: 117-124.
- Balu, R., T. S. Kumar and M. Ramalingam (2011). "Electrospun Polycaprolactone/Poly(1,4-butylene adipate-co-polycaprolactam) Blends: Potential Biodegradable Scaffold for Bone Tissue Regeneration." *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering* 1: 30-39.
- Barani, H. J. M. S. and E. C (2014). "Antibacterial continuous nanofibrous hybrid yarn through in situ synthesis of silver nanoparticles: preparation and characterization." 43: 50-57.
- Baruwati, B., V. Polshettiwar and R. S. J. G. c. Varma (2009). "Glutathione promoted expeditious green synthesis of silver nanoparticles in water using microwaves." 11(7): 926-930.
- Bastioli, C. (2020). *Handbook of biodegradable polymers*, Walter de Gruyter GmbH & Co KG.
- Baumgarten, P. K. J. J. o. c. and i. science (1971). "Electrostatic spinning of acrylic microfibers." 36(1): 71-79.
- Bayda, S., M. Adeel, T. Tuccinardi, M. Cordani and F. J. M. Rizzolio (2020). "The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine." 25(1): 112.
- Bernstein, D. (2018). *Essentials of psychology*, Cengage learning.
- Bhardwaj, N. and S. C. J. B. a. Kundu (2010). "Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique." 28(3): 325-347.
- Bhushan, B. (2017). *Springer handbook of nanotechnology*, Springer.
- Bini, T. B., S. Gao, S. Wang and S. Ramakrishna (2005). "Development of fibrous biodegradable polymer conduits for guided nerve regeneration." *J Mater Sci Mater Med* 16(4): 367-375.
- Black, J. (2005). *Biological performance of materials: fundamentals of biocompatibility*, Crc Press.
- Boskovic, M., N. Zdravkovic, J. Ivanovic, J. Janjic, J. Djordjevic, M. Starcevic and M. Z. Baltic (2015). "Antimicrobial Activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils against Some Food-borne Microorganisms." *Procedia Food Science* 5: 18-21.
- Burg, K. J., S. Porter and J. F. J. B. Kellam (2000). "Biomaterial developments for bone tissue engineering." 21(23): 2347-2359.
- Bushnell, B. D., A. D. McWilliams, G. B. Whitener and T. M. J. T. J. o. h. s. Messer (2008). "Early clinical experience with collagen nerve tubes in digital nerve repair." 33(7): 1081-1087.
- Cao, H., T. Liu and S. Y. J. A. d. d. r. Chew (2009). "The application of nanofibrous scaffolds in neural tissue engineering." 61(12): 1055-1064.
- Casper, C. L., J. S. Stephens, N. G. Tassi, D. B. Chase and J. F. J. M. Rabolt (2004). "Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process." 37(2): 573-578.
- Catala, M. and N. Kubis (2013). "Gross anatomy and development of the peripheral nervous system." *Handb Clin Neurol* 115: 29-41.
- Cerkez, I., A. Sezer and S. K. J. R. S. o. s. Bhullar (2017). "Fabrication and characterization of electrospun poly (ε-caprolactone) fibrous membrane with antibacterial functionality." 4(2): 160911.

- Chan, B. and K. J. E. s. j. Leong (2008). "Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations." 17(4): 467-479.
- Chen, C.-C., J. Yu, H.-Y. Ng, A. K.-X. Lee, C.-C. Chen, Y.-S. Chen and M.-Y. J. M. Shie (2018). "The physicochemical properties of decellularized extracellular matrix-coated 3D printed poly (ϵ -caprolactone) nerve conduits for promoting Schwann cells proliferation and differentiation." 11(9): 1665.
- Chen, C.-C., J. Yu, H. Ng, L. Alvin, C.-C. Chen, Y.-S. Chen and M.-Y. Shie (2018). "The Physicochemical Properties of Decellularized Extracellular Matrix-Coated 3D Printed Poly(ϵ -caprolactone) Nerve Conduits for Promoting Schwann Cells Proliferation and Differentiation." Materials 11: 1665.
- Chen, C.-H., S.-H. Chen, K. Shalumon and J.-P. J. A. b. Chen (2015). "Dual functional core–sheath electrospun hyaluronic acid/polycaprolactone nanofibrous membranes embedded with silver nanoparticles for prevention of peritendinous adhesion." 26: 225-235.
- Chen, X. and H. J. J. T. I. Schluesener (2008). "Nanosilver: a nanoparticle in medical application." 176(1): 1-12.
- Chew, S. Y., J. Wen, E. K. Yim and K. W. J. B. Leong (2005). "Sustained release of proteins from electrospun biodegradable fibers." 6(4): 2017-2024.
- Chu, Z., T. Zhao, L. Li, J. Fan and Y. Qin (2017). "Characterization of Antimicrobial Poly (Lactic Acid)/Nano-Composite Films with Silver and Zinc Oxide Nanoparticles." Materials 10: 659.
- Cooper, A., N. Bhattarai and M. Zhang (2011). "Fabrication and cellular compatibility of aligned chitosan–PCL fibers for nerve tissue regeneration." Carbohydrate Polymers 85(1): 149-156.
- Corrêa, J. M., M. Mori, H. L. Sanches, A. D. d. Cruz, E. Poiate and I. A. V. P. J. I. j. o. b. Poiate (2015). "Silver nanoparticles in dental biomaterials." 2015.
- Crabtree, J. H., R. J. Burchette, R. A. Siddiqi, I. T. Huen, L. L. Hadnott and A. J. P. D. I. Fishman (2003). "The efficacy of silver-ion implanted catheters in reducing peritoneal dialysis-related infections." 23(4): 368-374.
- Dahman, Y. (2019). Biomaterials Science and Technology: Fundamentals and Developments, CRC Press.
- Daly, W., L. Yao, D. Zeugolis, A. Windebank and A. J. J. o. t. R. S. I. Pandit (2012). "A biomaterials approach to peripheral nerve regeneration: bridging the peripheral nerve gap and enhancing functional recovery." 9(67): 202-221.
- De Vrieze, S., T. Van Camp, A. Nelvig, B. Hagström, P. Westbroek and K. J. J. o. m. s. De Clerck (2009). "The effect of temperature and humidity on electrospinning." 44(5): 1357-1362.
- Deitzel, J. M., J. Kleinmeyer, D. Harris and N. B. J. P. Tan (2001). "The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles." 42(1): 261-272.
- Delgado-Martínez, I., J. Badia, A. Pascual-Font, A. Rodríguez-Baeza and X. J. F. i. n. Navarro (2016). "Fascicular topography of the human median nerve for neuroprosthetic surgery." 10: 286.
- Dellon, A., B. J. P. Chang and r. surgery (1992). "An alternative incision for approaching recurrent median nerve compression at the wrist." 89(3): 576-578.
- Deumens, R., A. Bozkurt, M. F. Meek, M. A. E. Marcus, E. A. J. Joosten, J. Weis and G. A. Brook (2010). "Repairing injured peripheral nerves: Bridging the gap." Progress in Neurobiology 92(3): 245-276.
- Dhandayuthapani, B., Y. Yoshida, T. Maekawa and D. S. J. I. j. o. p. s. Kumar (2011). "Polymeric scaffolds in tissue engineering application: a review." 2011.

- Dias, P. D. P. and M. A. J. J. o. R. M. Chinelatto (2019). "Effect of poly (ϵ -caprolactone-b-tetrahydrofuran) triblock copolymer concentration on morphological, thermal and mechanical properties of immiscible PLA/PCL blends." 7(2): 129-138.
- Donoghue, P. S., R. Lamond, S. D. Boomkamp, T. Sun, N. Gadegaard, M. O. Riehle and S. C. J. T. E. P. A. Barnett (2013). "The development of a ϵ -polycaprolactone scaffold for central nervous system repair." 19(3-4): 497-507.
- Doshi, J. and D. H. Reneker (1993). Electrospinning process and applications of electrospun fibers. Conference Record of the 1993 IEEE Industry Applications Conference Twenty-Eighth IAS Annual Meeting, IEEE.
- Dubey, P., B. Bhushan, A. Sachdev, I. Matai, S. Uday Kumar and P. J. J. o. A. P. S. Gopinath (2015). "Silver-nanoparticle-incorporated composite nanofibers for potential wound-dressing applications." 132(35).
- Dvali, L. and S. J. C. i. p. s. Mackinnon (2003). "Nerve repair, grafting, and nerve transfers." 30(2): 203-221.
- Egger, S., R. P. Lehmann, M. J. Height, M. J. Loessner, M. J. A. Schuppler and e. microbiology (2009). "Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material." 75(9): 2973-2976.
- Eghbalifam, N., S. A. Shojaosadati, S. Hashemi-Najafabadi and A. C. Khorasani (2020). "Synthesis and characterization of antimicrobial wound dressing material based on silver nanoparticles loaded gum Arabic nanofibers." International Journal of Biological Macromolecules 155: 119-130.
- El-Etre, A. J. J. o. C. and I. Science (2007). "Inhibition of acid corrosion of carbon steel using aqueous extract of olive leaves." 314(2): 578-583.
- El Naschie, M. S. J. C., Solitons and Fractals (2006). "Nanotechnology for the developing world." 30(4): 769-773.
- Elsupikhe, R. F., K. Shameli, M. B. Ahmad, N. A. Ibrahim and N. J. N. r. l. Zainudin (2015). "Green sonochemical synthesis of silver nanoparticles at varying concentrations of κ -carrageenan." 10(1): 1-8.
- Estellés, J. M., A. Vidaurre, J. M. M. Duenas and I. C. J. J. o. M. S. M. i. M. Cortázar (2008). "Physical characterization of polycaprolactone scaffolds." 19(1): 189-195.
- Fan, W., J. Gu, W. Hu, A. Deng, Y. Ma, J. Liu, F. Ding, X. J. M. O. J. o. t. I. M. S. Gu and t. E. F. o. S. f. Microsurgery (2008). "Repairing a 35-mm-long median nerve defect with a chitosan/PGA artificial nerve graft in the human: A case study." 28(4): 238-242.
- Farley, A., C. Johnstone, C. Hendry and E. J. N. s. McLafferty (2014). "Nervous system: part 1." 28(31).
- Farzamfar, S., F. Esmailpour, M. Rahmati, A. Vaez, M. Mirzaii, B. Garmabi, A. Shayannia, E. Ebrahimi, H. Vahedi and M. J. I. J. o. H. S. Salehi (2017). "Polylactic acid/gelatin nanofiber (PLA/GTNF) conduits containing platelet-rich plasma for peripheral nerve regeneration." 3(2).
- Fathi-Achachelouei, M., H. Knopf-Marques, C. E. Ribeiro da Silva, J. Barthès, E. Bat, A. Tezcaner and N. E. Vrana (2019). "Use of Nanoparticles in Tissue Engineering and Regenerative Medicine." 7(113).
- Fernandes, H., L. Moroni, C. Van Blitterswijk and J. J. J. o. m. c. De Boer (2009). "Extracellular matrix and tissue engineering applications." 19(31): 5474-5484.
- Foroutan Koudehi, M., A. A. Imani Fooladi, E. A. H. Aghozbeni and M. R. J. M. T. Nourani (2019). "Nano bioglass/gelatin scaffold enhanced by nanosilver as an antibacterial conduit for peripheral nerve regeneration." 34(13): 776-784.

- Frattini, F., F. R. Pereira Lopes, F. M. Almeida, R. F. Rodrigues, L. C. Boldrini, M. A. Tomaz, A. F. Baptista, P. A. Melo and A. M. B. J. T. E. P. A. Martinez (2012). "Mesenchymal stem cells in a polycaprolactone conduit promote sciatic nerve regeneration and sensory neuron survival after nerve injury." 18(19-20): 2030-2039.
- Freed, L. E., G. Vunjak-Novakovic, R. J. Biron, D. B. Eagles, D. C. Lesnoy, S. K. Barlow and R. J. B. t. Langer (1994). "Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering." 12(7): 689-693.
- Gámez, E., Y. Goto, K. Nagata, T. Iwaki, T. Sasaki and T. J. C. t. Matsuda (2004). "Photofabricated gelatin-based nerve conduits: nerve tissue regeneration potentials." 13(5): 549-564.
- Ganash, A. A. (2019). "Electrochemical properties and mechanistic study of the green synthesis of silver nanoparticles using Bardaquash extract solution." *Materials Research Express* 6(6): 065024.
- Gao, S., W. Guo, M. Chen, Z. Yuan, M. Wang, Y. Zhang, S. Liu, T. Xi and Q. J. J. o. M. C. B. Guo (2017). "Fabrication and characterization of electrospun nanofibers composed of decellularized meniscus extracellular matrix and polycaprolactone for meniscus tissue engineering." 5(12): 2273-2285.
- Gaonkar, T. A., L. A. Sampath, S. M. J. I. C. Modak and H. Epidemiology (2003). "Evaluation of the antimicrobial efficacy of urinary catheters impregnated with antiseptics in an in vitro urinary tract model." 24(7): 506-513.
- Geng, X., O.-H. Kwon and J. J. B. Jang (2005). "Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution." 26(27): 5427-5432.
- Gholami, M., K. Shahzamani, A. Marzban and H. E. J. I. n. Lashgarian (2018). "Evaluation of antimicrobial activity of synthesised silver nanoparticles using *Thymus kotschyanus* aqueous extract." 12(8): 1114-1117.
- Gour, A. and N. K. Jain (2019). "Advances in green synthesis of nanoparticles." *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 47(1): 844-851.
- Green, R. A., N. H. Lovell, G. G. Wallace and L. A. J. B. Poole-Warren (2008). "Conducting polymers for neural interfaces: challenges in developing an effective long-term implant." 29(24-25): 3393-3399.
- Grieve, M. J. J. C. L., London (1992). "A modern Herbal. 1931."
- Griffith, L. G. and G. J. s. Naughton (2002). "Tissue engineering--current challenges and expanding opportunities." 295(5557): 1009-1014.
- Grimpe, B. and J. Silver (2002). *The extracellular matrix in axon regeneration. Progress in brain research, Elsevier.* 137: 333-349.
- Gristina, A. G. and J. J. J. Costerton (1985). "Bacterial adherence to biomaterials and tissue. The significance of its role in clinical sepsis." 67(2): 264-273.
- Gu, X., F. Ding and D. F. Williams (2014). "Neural tissue engineering options for peripheral nerve regeneration." *Biomaterials* 35(24): 6143-6156.
- Gu, X., F. Ding and D. F. J. B. Williams (2014). "Neural tissue engineering options for peripheral nerve regeneration." 35(24): 6143-6156.
- Gu, X., F. Ding, Y. Yang and J. J. P. i. n. Liu (2011). "Construction of tissue engineered nerve grafts and their application in peripheral nerve regeneration." 93(2): 204-230.
- Gunatillake, P. A., R. Adhikari and N. J. E. C. M. Gadegaard (2003). "Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering." 5(1): 1-16.
- Guyton, A. C. and J. E. J. G. N. Hall, Çavuşoğlu H (2006). "Medical physiology." 3.

- Guzmán, M. G., J. Dille and S. J. I. J. C. B. E. Godet (2009). "Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity." 2(3): 104-111.
- Hagewood, J. F. J. I. F. J. (2002). "Polymeric nanofibers: Fantasy or future." 17(6): 62-63.
- Haghighoo, R., H. Sadari, M. Eskandari, H. Haghshenas and M. J. J. o. d. Rezvani (2014). "Evaluation of the antimicrobial effect of conventional and nanosilver-containing varnishes on oral streptococci." 15(2): 57.
- Haghi, A. and M. J. p. s. s. Akbari (2007). "Trends in electrospinning of natural nanofibers." 204(6): 1830-1834.
- Haile, Y., K. Haastert, K. Cesnulevicius, K. Stummeyer, M. Timmer, S. Berski, G. Dräger, R. Gerardy-Schahn and C. Grothe (2007). "Culturing of glial and neuronal cells on polysialic acid." *Biomaterials* 28(6): 1163-1173.
- Hakkarainen, M. J. D. a. p. (2002). "Aliphatic polyesters: abiotic and biotic degradation and degradation products." 113-138.
- Hamelian, M., K. Varmira and H. Veisi (2018). "Green synthesis and characterizations of gold nanoparticles using Thyme and survey cytotoxic effect, antibacterial and antioxidant potential." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 184: 71-79.
- Hasirci, V. and N. Hasirci (2018). *Fundamentals of Human Biology and Anatomy. Fundamentals of Biomaterials*, Springer: 131-140.
- He, W., X. Liu, A. Kienzle, W. E. Müller, Q. J. J. o. n. Feng and nanotechnology (2016). "In vitro uptake of silver nanoparticles and their toxicity in human mesenchymal stem cells derived from bone marrow." 16(1): 219-228.
- Heath, C. A. and G. E. J. T. i. b. Rutkowski (1998). "The development of bioartificial nerve grafts for peripheral-nerve regeneration." 16(4): 163-168.
- Heidari, M., S. H. Bahrami, M. Ranjbar-Mohammadi and P. B. Milan (2019). "Smart electrospun nanofibers containing PCL/gelatin/graphene oxide for application in nerve tissue engineering." *Materials Science and Engineering: C* 103: 109768.
- Heikkilä, P. and A. J. E. P. J. Harlin (2008). "Parameter study of electrospinning of polyamide-6." 44(10): 3067-3079.
- Heng, B. C., T. Gong, S. Wang, L. W. Lim, W. Wu and C. J. J. o. e. Zhang (2017). "Decellularized matrix derived from neural differentiation of embryonic stem cells enhances the neurogenic potential of dental follicle stem cells." 43(3): 409-416.
- Hokmabad, V. R., S. Davaran, M. Aghazadeh, E. Alizadeh, R. Salehi, A. J. F. o. C. S. Ramazani and Engineering (2019). "Effect of incorporating *Elaeagnus angustifolia* extract in PCL-PEG-PCL nanofibers for bone tissue engineering." 13(1): 108-119.
- Hood, B., H. B. Levene and A. D. J. N. f. Levi (2009). "Transplantation of autologous Schwann cells for the repair of segmental peripheral nerve defects." 26(2): E4.
- Hosseini Ravandi, S., C. Gandhimathi, M. Valizadeh and S. J. C. N. Ramakrishna (2013). "Application of electrospun natural biopolymer nanofibers." 9(4): 423-433.
- Hsu, C. M., S. J. M. M. Shivkumar and Engineering (2004). "N, N-Dimethylformamide Additions to the Solution for the Electrospinning of Poly (ϵ -caprolactone) Nanofibers." 289(4): 334-340.
- Huang, M.-H., S. Li and M. Vert (2004). "Synthesis and degradation of PLA-PCL-PLA triblock copolymer prepared by successive polymerization of ϵ -caprolactone and dl-lactide." *Polymer* 45(26): 8675-8681.

- Huang, Z.-M., Y.-Z. Zhang, M. Kotaki, S. J. C. s. Ramakrishna and technology (2003). "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites." 63(15): 2223-2253.
- Hudson, T. W., S. Zawko, C. Deister, S. Lundy, C. Y. Hu, K. Lee and C. E. J. T. e. Schmidt (2004). "Optimized acellular nerve graft is immunologically tolerated and supports regeneration." 10(11-12): 1641-1651.
- Hussain, I., N. Singh, A. Singh, H. Singh and S. J. B. I. Singh (2016). "Green synthesis of nanoparticles and its potential application." 38(4): 545-560.
- Ip, M., S. L. Lui, V. K. Poon, I. Lung and A. J. J. o. m. m. Burd (2006). "Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison." 55(1): 59-63.
- Iravani, S. J. G. C. (2011). "Green synthesis of metal nanoparticles using plants." 13(10): 2638-2650.
- Jacobs, V., R. D. Anandjiwala and M. J. J. o. a. p. s. Maaza (2010). "The influence of electrospinning parameters on the structural morphology and diameter of electrospun nanofibers." 115(5): 3130-3136.
- James, R., S. Nukavarapu and C. Laurencin (2008). "Electrospun nanofiber scaffolds: Engineering soft tissues." Biomedical materials (Bristol, England) 3: 034002.
- Jarusuwannapoom, T., W. Hongrojjanawiwat, S. Jitjaicham, L. Wannatong, M. Nithitanakul, C. Pattamaprom, P. Koombhongse, R. Rangkupan and P. J. E. P. J. Supaphol (2005). "Effect of solvents on electro-spinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers." 41(3): 409-421.
- Jeffries, E. M., Y. J. B. Wang and bioengineering (2012). "Biomimetic micropatterned multi-channel nerve guides by templated electrospinning." 109(6): 1571-1582.
- Jha, A. K., K. Prasad, V. Kumar and K. J. B. p. Prasad (2009). "Biosynthesis of silver nanoparticles using Eclipta leaf." 25(5): 1476-1479.
- Johnson, E. O. and P. N. J. I. Soucacos (2008). "Nerve repair: experimental and clinical evaluation of biodegradable artificial nerve guides." 39(3): 30-36.
- Kahn, A., N. Koch and W. Gao (2003). "J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys."
- Kalbermatten, D. F., J. Pettersson, P. J. Kingham, G. Pierer, M. Wiberg and G. J. J. o. r. m. Terenghi (2009). "New fibrin conduit for peripheral nerve repair." 25(01): 027-033.
- Kamyar, S., M. Ahmad, A. Zamanian, P. Sangpour, P. Shabanzadeh, Y. Abdollahi and M. Zargar (2012). "Green biosynthesis of silver nanoparticles using Curcuma longa tuber powder." International journal of nanomedicine 7: 5603-5610.
- Karageorgiou, V. and D. J. B. Kaplan (2005). "Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis." 26(27): 5474-5491.
- Karagoz, S., N. B. Kiremitler, M. Sakir, S. Salem, M. S. Onses, E. Sahmetlioglu, A. Ceylan and E. Yilmaz (2020). "Synthesis of Ag and TiO₂ modified polycaprolactone electrospun nanofibers (PCL/TiO₂-Ag NFs) as a multifunctional material for SERS, photocatalysis and antibacterial applications." Ecotoxicology and Environmental Safety 188: 109856.
- Karuppuswamy, P., J. R. Venugopal, B. Navaneethan, A. L. Laiva, S. Sridhar and S. J. A. s. s. Ramakrishna (2014). "Functionalized hybrid nanofibers to mimic native ECM for tissue engineering applications." 322: 162-168.
- Katti, D. S., K. W. Robinson, F. K. Ko, C. T. J. J. o. B. M. R. P. B. A. B. A. O. J. o. T. S. f. B. Laurencin, The Japanese Society for Biomaterials,, T. A. S. f. Biomaterials and t. K. S. f. Biomaterials (2004). "Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: Optimization of fabrication parameters." 70(2): 286-296.

- Kehoe, S., X. Zhang and D. J. I. Boyd (2012). "FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy." 43(5): 553-572.
- Kesharwani, J., K. Y. Yoon, J. Hwang and M. J. J. o. B. Rai (2009). "Phytofabrication of silver nanoparticles by leaf extract of *Datura metel*: hypothetical mechanism involved in synthesis." 3(1): 39-44.
- Ki, C. S., D. H. Baek, K. D. Gang, K. H. Lee, I. C. Um and Y. H. J. P. Park (2005). "Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin–formic acid solution." 46(14): 5094-5102.
- Ki, C. S., J. W. Kim, J. H. Hyun, K. H. Lee, M. Hattori, D. K. Rah and Y. H. J. J. o. a. p. s. Park (2007). "Electrospun three-dimensional silk fibroin nanofibrous scaffold." 106(6): 3922-3928.
- Kim, B.-S. and D. J. J. T. i. b. Mooney (1998). "Development of biocompatible synthetic extracellular matrices for tissue engineering." 16(5): 224-230.
- Kim, S. J., C. K. Lee and S. I. J. J. o. A. P. S. Kim (2005). "Effect of ionic salts on the processing of poly (2-acrylamido-2-methyl-1-propane sulfonic acid) nanofibers." 96(4): 1388-1393.
- Komaki, A., F. Hoseini, S. Shahidi, N. J. J. o. t. Baharlouei and c. medicine (2016). "Study of the effect of extract of *Thymus vulgaris* on anxiety in male rats." 6(3): 257-261.
- Korzhikov, V., I. Averianov, E. Litvinchuk and T. B. J. J. o. m. Tennikova (2016). "Polyester-based microparticles of different hydrophobicity: the patterns of lipophilic drug entrapment and release." 33(3): 199-208.
- Koulaxouzidis, G., G. Reim and C. J. N. r. r. Witzel (2015). "Fibrin glue repair leads to enhanced axonal elongation during early peripheral nerve regeneration in an in vivo mouse model." 10(7): 1166.
- Koushki, P., S. H. Bahrami and M. Ranjbar-Mohammadi (2016). "Coaxial nanofibers from poly(caprolactone)/ poly(vinyl alcohol)/Thyme and their antibacterial properties." *Journal of Industrial Textiles* 47(5): 834-852.
- Kramschuster, A. and L. Turng (2013). *17-Fabrication of Tissue Engineering Scaffolds A2-Ebnesajjad, Sina. Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics, Boston: William Andrew Publishing.*
- Kubek, T., N. Ghalib and P. J. N. I. Dubový (2011). "Endoneurial extracellular matrix influences regeneration and maturation of motor nerve axons—A model of acellular nerve graft." 496(2): 75-79.
- Lannutti, J., D. Reneker, T. Ma, D. Tomasko, D. J. M. S. Farson and E. C (2007). "Electrospinning for tissue engineering scaffolds." 27(3): 504-509.
- Leaper, D. J. J. I. w. j. (2006). "Silver dressings: their role in wound management." 3(4): 282-294.
- Lee, J. Y., C. A. Bashur, A. S. Goldstein and C. E. J. B. Schmidt (2009). "Polypyrrole-coated electrospun PLGA nanofibers for neural tissue applications." 30(26): 4325-4335.
- Lee, K., H. Kim, H. Bang, Y. Jung and S. J. P. Lee (2003). "The change of bead morphology formed on electrospun polystyrene fibers." 44(14): 4029-4034.
- Li, D., X. Pan, B. Sun, T. Wu, W. Chen, C. Huang, Q. Ke, H. A. El-Hamshary, S. S. Al-Deyab and X. J. J. o. M. C. B. Mo (2015). "Nerve conduits constructed by electrospun P (LLA-CL) nanofibers and PLLA nanofiber yarns." 3(45): 8823-8831.
- Li, D., Y. Wang and Y. J. A. m. Xia (2004). "Electrospinning nanofibers as uniaxially aligned arrays and layer-by-layer stacked films." 16(4): 361-366.

- Li, R., Z. Liu, Y. Pan, L. Chen, Z. Zhang, L. J. C. b. Lu and biophysics (2014). "Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review." 68(3): 449-454.
- Li, T.-T., H. Zhang, S.-Y. Huang, X. Pei, Q. Lin, S. Tian, Z. Ma and J.-H. Lin (2021). "Preparation and property evaluations of PCL/PLA composite films." *Journal of Polymer Research* 28(5): 156.
- Li, W. J., C. T. Laurencin, E. J. Caterson, R. S. Tuan, F. K. J. J. o. B. M. R. A. O. J. o. T. S. f. B. Ko, The Japanese Society for Biomaterials,, T. A. S. f. Biomaterials and t. K. S. f. Biomaterials (2002). "Electrospun nanofibrous structure: a novel scaffold for tissue engineering." 60(4): 613-621.
- Li, X., H. Xu, Z.-S. Chen and G. J. J. o. N. Chen (2011). "Biosynthesis of nanoparticles by microorganisms and their applications." 2011.
- Li, Y., P. Leung, L. Yao, Q. Song and E. J. J. o. H. I. Newton (2006). "Antimicrobial effect of surgical masks coated with nanoparticles." 62(1): 58-63.
- Li, Z. and C. Wang (2013). *One-dimensional nanostructures: electrospinning technique and unique nanofibers*, Springer.
- Liang, D., B. S. Hsiao and B. J. A. d. d. r. Chu (2007). "Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications." 59(14): 1392-1412.
- Liu, H., X. Ding, G. Zhou, P. Li, X. Wei and Y. J. J. o. N. Fan (2013). "Electrospinning of nanofibers for tissue engineering applications." 2013.
- Lochhead, R. Y. (2017). Chapter 3 - Basic Physical Sciences for the Formulation of Cosmetic Products. *Cosmetic Science and Technology*. K. Sakamoto, R. Y. Lochhead, H. I. Maibach and Y. Yamashita. Amsterdam, Elsevier: 39-76.
- Lord, S. T. J. C. o. i. h. (2007). "Fibrinogen and fibrin: scaffold proteins in hemostasis." 14(3): 236-241.
- Lorenzo, J. M., A. Mousavi Khaneghah, M. Gavahian, K. Marszałek, I. Eş, P. E. Munekata, I. C. Ferreira, F. J. J. C. r. i. f. s. Barba and nutrition (2019). "Understanding the potential benefits of thyme and its derived products for food industry and consumer health: From extraction of value-added compounds to the evaluation of bioaccessibility, bioavailability, anti-inflammatory, and antimicrobial activities." 59(18): 2879-2895.
- Luechinger, N. A., R. N. Grass, E. K. Athanassiou and W. J. J. C. o. M. Stark (2010). "Bottom-up fabrication of metal/metal nanocomposites from nanoparticles of immiscible metals." 22(1): 155-160.
- Luo, C., S. D. Stoyanov, E. Stride, E. Pelan and M. J. C. S. R. Edirisinghe (2012). "Electrospinning versus fibre production methods: from specifics to technological convergence." 41(13): 4708-4735.
- Makarov, V., A. Love, O. Sinitsyna, S. Makarova, I. Yaminsky, M. Taliansky and N. J. A. N. Kalinina (2014). "'Green' nanotechnologies: synthesis of metal nanoparticles using plants." 6(1 (20)).
- Maleki, H., S. Mathur, A. J. P. E. Klein and Science (2020). "Antibacterial Ag containing core-shell polyvinyl alcohol-poly (lactic acid) nanofibers for biomedical applications." 60(6): 1221-1230.
- Malik, P., R. Shankar, V. Malik, N. Sharma and T. K. J. J. o. N. Mukherjee (2014). "Green chemistry based benign routes for nanoparticle synthesis." 2014.
- Manukumar, H., B. Yashwanth, S. Umesha and J. V. J. A. J. o. C. Rao (2020). "Biocidal mechanism of green synthesized thyme loaded silver nanoparticles (GTAgNPs) against immune evading tricky methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 090 (MRSA090) at a homeostatic environment." 13(1): 1179-1197.
- Manukumar, H. M., B. Yashwanth, S. Umesha and J. Venkateswara Rao (2020). "Biocidal mechanism of green synthesized thyme loaded silver nanoparticles

- (GTAgnPs) against immune evading tricky methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 090 (MRSA090) at a homeostatic environment." *Arabian Journal of Chemistry* 13(1): 1179-1197.
- Marino, M., C. Bersani and G. J. J. o. f. p. Comi (1999). "Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method." 62(9): 1017-1023.
- Martini, F. H., L. Judi and E. F. Nath "Fundamentals of Anatomy & Physiology 11th Edition Pdf."
- Medina, C., M. Santos-Martinez, A. Radomski, O. Corrigan and M. J. B. j. o. p. Radomski (2007). "Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance." 150(5): 552-558.
- Meek, M. F., K. J. J. o. B. M. R. P. A. A. O. J. o. T. S. f. B. Jansen, The Japanese Society for Biomaterials,, T. A. S. f. Biomaterials and t. K. S. f. Biomaterials (2009). "Two years after in vivo implantation of poly (DL-lactide- ϵ -caprolactone) nerve guides: Has the material finally resorbed?" 89(3): 734-738.
- Megelski, S., J. S. Stephens, D. B. Chase and J. F. J. M. Rabolt (2002). "Micro- and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers." 35(22): 8456-8466.
- Memar, M. Y., P. Raei, N. Alizadeh, M. A. Aghdam and H. S. J. R. i. M. M. Kafil (2017). "Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates." 28(2): 63-68.
- Meng, Y. (2015). "A Sustainable Approach to Fabricating Ag Nanoparticles/PVA Hybrid Nanofiber and Its Catalytic Activity." *Nanomaterials* 5: 1124-1135.
- Meng, Z. X., W. Zheng, L. Li and Y. F. Zheng (2010). "Fabrication and characterization of three-dimensional nanofiber membrane of PCL–MWCNTs by electrospinning." *Materials Science and Engineering: C* 30(7): 1014-1021.
- Miller, K., J. E. Hsu and L. J. Soslowsky (2011). 6.618 - Materials in Tendon and Ligament Repair. *Comprehensive Biomaterials*. P. Ducheyne. Oxford, Elsevier: 257-279.
- Mit-uppatham, C., M. Nithitanakul, P. J. M. C. Supaphol and Physics (2004). "Ultrafine electrospun polyamide-6 fibers: effect of solution conditions on morphology and average fiber diameter." 205(17): 2327-2338.
- Mittal, A. K., Y. Chisti and U. C. Banerjee (2013). "Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts." *Biotechnology Advances* 31(2): 346-356.
- Mobasserri, S., G. Terenghi and S. J. J. o. M. S. M. i. M. Downes (2013). "Micro-structural geometry of thin films intended for the inner lumen of nerve conduits affects nerve repair." 24(7): 1639-1647.
- Mochane, M. J., T. S. Motsoeneng, E. R. Sadiku, T. C. Mokhena and J. S. J. A. S. Sefadi (2019). "Morphology and properties of electrospun PCL and its composites for medical applications: A mini review." 9(11): 2205.
- Mofokeng, J., A. Luyt, T. Tábi and J. Kovacs (2012). "Comparison of injection moulded, natural fibre reinforced composites with PP and PLA as matrices." *Journal of Thermoplastic Composite Materials* 25: 927-948.
- Mohandesnezhad, S., Y. Pilehvar-Soltanahmadi, E. Alizadeh, A. Goodarzi, S. Davaran, M. Khatamian, N. Zarghami, M. Samiei, M. Aghazadeh, A. J. M. C. Akbarzadeh and Physics (2020). "In vitro evaluation of Zeolite-nHA blended PCL/PLA nanofibers for dental tissue engineering." 252: 123152.
- Mude, N., A. Ingle, A. Gade, M. J. J. o. P. B. Rai and Biotechnology (2009). "Synthesis of silver nanoparticles using callus extract of *Carica papaya*—a first report." 18(1): 83-86.

- Mukunthan, K. and S. J. I. J. o. G. N. Balaji (2012). "Cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.) speeds up the synthesis of silver nanoparticles." 4(2): 71-79.
- Murphy, W., J. Black and G. W. Hastings (2016). *Handbook of biomaterial properties*, Springer.
- Naseri, N., J.-M. Poirier, L. Girandon, M. Fröhlich, K. Oksman and A. P. J. R. A. Mathew (2016). "3-Dimensional porous nanocomposite scaffolds based on cellulose nanofibers for cartilage tissue engineering: tailoring of porosity and mechanical performance." 6(8): 5999-6007.
- Nasrollahzadeh, M., S. M. Sajadi, A. Rostami-Vartooni, S. M. J. J. o. c. Hussin and i. science (2016). "Green synthesis of CuO nanoparticles using aqueous extract of *Thymus vulgaris* L. leaves and their catalytic performance for N-arylation of indoles and amines." 466: 113-119.
- Niemeyer, C. M. J. R. i. C. B. and M. Medicine (2006). "Nanobiotechnology."
- Nikolić, M., J. Glamočlija, I. C. Ferreira, R. C. Calhelha, Â. Fernandes, T. Marković, D. Marković, A. Giweli, M. J. I. C. Soković and Products (2014). "Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils." 52: 183-190.
- Noah, E. M., A. Williams, C. Jorgenson, T. G. Skoulis and J. K. J. J. o. r. m. Terzis (1997). "End-to-side neurorrhaphy: a histologic and morphometric study of axonal sprouting into an end-to-side nerve graft." 13(02): 99-106.
- Nowak, A., K. Danuta, A. Czyzowska and M. Piotrowska (2013). "Effects of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils on growth of *Brochothrix thermosphacta*." *African journal of microbiology research* 7: 3396-3404.
- Nukavarapu, S., J. Freeman and C. Laurencin (2015). *Regenerative engineering of musculoskeletal tissues and interfaces*, Woodhead Publishing.
- Nune, M., S. Manchineella, T. Govindaraju, K. J. M. S. Narayan and E. C (2019). "Melanin incorporated electroactive and antioxidant silk fibroin nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering." 94: 17-25.
- O'brien, F. J. J. M. t. (2011). "Biomaterials & scaffolds for tissue engineering." 14(3): 88-95.
- Oztemur, J. and I. J. J. o. B. M. R. P. B. A. B. Yalcin-Enis (2021). "Development of biodegradable webs of PLA/PCL blends prepared via electrospinning: Morphological, chemical, and thermal characterization."
- Pajoum shariati, R., S. Yavari and M. Shokrgozar (2015). "Physical and Biological Modification of Polycaprolactone Electrospun Nanofiber by Panax Ginseng Extract for Bone Tissue Engineering Application." *Annals of Biomedical Engineering* 44.
- Panagopoulos, G. N., P. D. Megaloikonomos and A. F. J. O. Mavrogenis (2017). "The present and future for peripheral nerve regeneration." 40(1): e141-e156.
- Panesar, K. (2012). "Management of Nerve Injuries."
- Parveen, K., V. Banse and L. Ledwani (2016). *Green synthesis of nanoparticles: their advantages and disadvantages*. AIP conference proceedings, AIP Publishing LLC.
- Patel, S., K. Kurpinski, R. Quigley, H. Gao, B. S. Hsiao, M.-M. Poo and S. J. N. I. Li (2007). "Bioactive nanofibers: synergistic effects of nanotopography and chemical signaling on cell guidance." 7(7): 2122-2128.
- Patra, J. K. and K.-H. Baek (2014). "Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques." *Journal of Nanomaterials* 2014.

- Pawlowski, K. J., C. P. Barnes, E. D. Boland, G. E. Wnek and G. L. J. M. O. P. L. A. Bowlin (2004). "Biomedical nanoscience: electrospinning basic concepts, applications, and classroom demonstration." 827.
- Pettersson, J., D. Kalbermatten, A. McGrath, L. N. J. J. o. p. Novikova, reconstructive and a. surgery (2010). "Biodegradable fibrin conduit promotes long-term regeneration after peripheral nerve injury in adult rats." 63(11): 1893-1899.
- Pettersson, J., A. McGrath, D. F. Kalbermatten, L. N. Novikova, M. Wiberg, P. J. Kingham and L. N. J. N. I. Novikov (2011). "Muscle recovery after repair of short and long peripheral nerve gaps using fibrin conduits." 500(1): 41-46.
- Pham, Q. P., U. Sharma and A. G. J. T. e. Mikos (2006). "Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review." 12(5): 1197-1211.
- Pitt, G., M. Gratzl, G. Kimmel, J. Surlles and A. J. B. Sohindler (1981). "Aliphatic polyesters II. The degradation of poly (DL-lactide), poly (ϵ -caprolactone), and their copolymers in vivo." 2(4): 215-220.
- Prabhakaran, M., J. Venugopal and S. Ramakrishna (2009). "Mesenchymal stem cell differentiation to neuronal cells on electrospun nanofibrous substrates for nerve tissue engineering." *Biomaterials* 30: 4996-5003.
- Prathna, T., L. Mathew, N. Chandrasekaran and A. Raichur (2010). *Biomimetic Synthesis of Nanoparticles: Science, Technology & Applicability*, Edited A. Mukherjee, InTech Publishers, Croatia.
- Raja, M. M., P. Q. Lim, Y. S. Wong, G. M. Xiong, Y. Zhang, S. Venkatraman and Y. Huang (2019). *Polymeric nanomaterials: Methods of preparation and characterization. Nanocarriers for Drug Delivery*, Elsevier: 557-653.
- Rakaa, J. and et al. (2020). "Preparation of Nanoparticles in an Eco- friendly Method using Thyme Leaf Extracts." *Baghdad Science Journal* 17(2(SI)): 0670.
- Rakaa, J. M. and A. S. J. I. J. o. P. Obaid (2020). "Biosynthesis of silver nanoparticles using Thyme vulgaris leaves extract and its antibacterial activity." 18(46): 1-12.
- Ramakrishna, S. (2005). *An introduction to electrospinning and nanofibers*, World Scientific.
- Raquez, J.-M., Y. Habibi, M. Murariu and P. J. P. i. P. S. Dubois (2013). "Polylactide (PLA)-based nanocomposites." 38(10-11): 1504-1542.
- Ratner, B. D., A. S. Hoffman, F. J. Schoen and J. E. Lemons (2004). *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*, Elsevier.
- Roco, M. C. J. H. o. n., engineering and technology (2007). "National nanotechnology initiative-past, present, future." 2.
- Rodriguez, J., M. J. N. I. Fernández-Garcia and B. Perspectives (2007). "Metal oxide nanoparticles."
- Rota, M. C., A. Herrera, R. M. Martínez, J. A. Sotomayor and M. J. J. F. c. Jordán (2008). "Antimicrobial activity and chemical composition of Thymus vulgaris, Thymus zygis and Thymus hyemalis essential oils." 19(7): 681-687.
- Russell, A. and W. J. P. i. m. c. Hugo (1994). "7 antimicrobial activity and action of silver." 31: 351-370.
- Rutishauser, U. J. C. o. i. n. (1993). "Adhesion molecules of the nervous system." 3(5): 709-715.
- Rutledge, G. C. and S. V. J. A. d. d. r. Fridrikh (2007). "Formation of fibers by electrospinning." 59(14): 1384-1391.
- Safae-Ardakani, M. R., A. Hatamian-Zarmi, S. M. Sadat, Z. B. Mokhtari-Hosseini, B. Ebrahimi-Hosseinzadeh, H. Kooshki, J. J. F. Rashidani and Polymers (2019). "In situ preparation of PVA/schizophyllan-AgNPs nanofiber as potential of wound healing: characterization and cytotoxicity." 20(12): 2493-2502.

- Sasmazel, H. T. and O. J. C. T. E. Ozkan (2013). "Advances in electrospinning of nanofibers and their biomedical applications." 2: 91-108.
- Scanlon, V. C. and T. Sanders (2018). *Essentials of anatomy and physiology*, FA Davis.
- Scavone, M., I. Armentano, E. Fortunati, F. Cristofaro, S. Mattioli, L. Torre, J. M. Kenny, M. Imbriani, C. R. Arciola and L. J. M. Visai (2016). "Antimicrobial properties and cytocompatibility of PLGA/Ag nanocomposites." 9(1): 37.
- Schmidt, C. E. and J. B. J. A. r. o. b. e. Leach (2003). "Neural tissue engineering: strategies for repair and regeneration." 5(1): 293-347.
- Sedaghati, T., G. Jell and A. J. N. b. Seifalian (2014). "Investigation of Schwann cell behaviour on RGD-functionalised bioabsorbable nanocomposite for peripheral nerve regeneration." 31(3): 203-213.
- Semeniuc, C. A., C. R. Pop and A. M. Rotar (2017). "Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria." *Journal of Food and Drug Analysis* 25(2): 403-408.
- Shalumon, K., P. Sreerekha, D. Sathish, H. Tamura, S. Nair, K. Chennazhi and R. J. J. o. b. n. Jayakumar (2011). "Hierarchically designed electrospun tubular scaffolds for cardiovascular applications." 7(5): 609-620.
- Shankar, S. S., A. Ahmad, R. Pasricha and M. J. J. o. M. C. Sastry (2003). "Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes." 13(7): 1822-1826.
- Shankar, S. S., A. Rai, A. Ahmad and M. J. C. o. M. Sastry (2005). "Controlling the optical properties of lemongrass extract synthesized gold nanotriangles and potential application in infrared-absorbing optical coatings." 17(3): 566-572.
- Shao, H., J. Fang, H. Wang and T. J. R. a. Lin (2015). "Effect of electrospinning parameters and polymer concentrations on mechanical-to-electrical energy conversion of randomly-oriented electrospun poly (vinylidene fluoride) nanofiber mats." 5(19): 14345-14350.
- Shenoy, S. L., W. D. Bates, H. L. Frisch and G. E. J. P. Wnek (2005). "Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit." 46(10): 3372-3384.
- Sill, T. J. and H. A. J. B. von Recum (2008). "Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering." 29(13): 1989-2006.
- Singh, A. K., M. Talat, D. Singh and O. J. J. o. N. R. Srivastava (2010). "Biosynthesis of gold and silver nanoparticles by natural precursor clove and their functionalization with amine group." 12(5): 1667-1675.
- Singh, J., T. Dutta, K.-H. Kim, M. Rawat, P. Samddar and P. Kumar (2018). "'Green' synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation." *Journal of Nanobiotechnology* 16(1): 84.
- Sousa, I., A. Mendes and P. J. J. P. E. Bártolo (2013). "PCL scaffolds with collagen bioactivator for applications in tissue engineering." 59: 279-284.
- Stang, F., H. Fansa, G. Wolf, G. J. B.-m. m. Keilhoff and engineering (2005). "Collagen nerve conduits–assessment of biocompatibility and axonal regeneration." 15(1, 2): 3-12.
- Stang, F., H. Fansa, G. Wolf, M. Reppin and G. J. B. Keilhoff (2005). "Structural parameters of collagen nerve grafts influence peripheral nerve regeneration." 26(16): 3083-3091.
- Stewart, J. D. J. M. and nerve (2003). "Peripheral nerve fascicles: anatomy and clinical relevance." 28(5): 525-541.

- Stranger, J., N. Tucker and M. Staiger (2005). Electrospinning Repra Review Report, Report.
- Subbiah, T., G. S. Bhat, R. W. Tock, S. Parameswaran and S. S. J. J. o. a. p. s. Ramkumar (2005). "Electrospinning of nanofibers." 96(2): 557-569.
- Subramanian, A., U. M. Krishnan and S. Sethuraman (2012). "Fabrication, Characterization and In Vitro Evaluation of Aligned PLGA–PCL Nanofibers for Neural Regeneration." *Annals of Biomedical Engineering* 40(10): 2098-2110.
- Subramanian, A., U. M. Krishnan and S. J. J. o. b. s. Sethuraman (2009). "Development of biomaterial scaffold for nerve tissue engineering: Biomaterial mediated neural regeneration." 16(1): 108.
- Subramanian, A., U. M. Krishnan and S. J. J. o. b. s. Sethuraman (2009). "Development of biomaterial scaffold for nerve tissue engineering: Biomaterial mediated neural regeneration." 16(1): 1-11.
- Sullivan, R., T. Dailey, K. Duncan, N. Abel and C. V. J. I. j. o. m. s. Borlongan (2016). "Peripheral nerve injury: stem cell therapy and peripheral nerve transfer." 17(12): 2101.
- Sultan, S. and A. P. J. N. Mathew (2018). "3D printed scaffolds with gradient porosity based on a cellulose nanocrystal hydrogel." 10(9): 4421-4431.
- Sun, M., P. J. Kingham, A. J. Reid, S. J. Armstrong, G. Terenghi, S. J. J. o. B. M. R. P. A. A. O. J. o. T. S. f. B. Downes, The Japanese Society for Biomaterials,, T. A. S. f. Biomaterials and t. K. S. f. Biomaterials (2010). "In vitro and in vivo testing of novel ultrathin PCL and PCL/PLA blend films as peripheral nerve conduit." 93(4): 1470-1481.
- Sundaray, B., V. Subramanian, T. Natarajan, R.-Z. Xiang, C.-C. Chang and W.-S. J. A. p. I. Fann (2004). "Electrospinning of continuous aligned polymer fibers." 84(7): 1222-1224.
- Tan, S.-H., R. Inai, M. Kotaki and S. J. P. Ramakrishna (2005). "Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process." 46(16): 6128-6134.
- Taras, J. S., S. M. J. T. i. h. Jacoby and u. e. surgery (2008). "Repair of lacerated peripheral nerves with nerve conduits." 12(2): 100-106.
- Tarus, B., J. Mwasiagi, N. Fadel, A. Aloufy and M. Elmessiry (2019). "Electrospun cellulose acetate and poly(vinyl chloride) nanofiber mats containing silver nanoparticles for antifungi packaging." *SN Applied Sciences* 1.
- Teixeira, A. I., G. A. Abrams, P. J. Bertics, C. J. Murphy and P. F. J. J. o. c. s. Nealey (2003). "Epithelial contact guidance on well-defined micro- and nanostructured substrates." 116(10): 1881-1892.
- Teo, W.-E., S. J. C. S. Ramakrishna and Technology (2009). "Electrospun nanofibers as a platform for multifunctional, hierarchically organized nanocomposite." 69(11-12): 1804-1817.
- Teo, W. E. and S. J. N. Ramakrishna (2006). "A review on electrospinning design and nanofibre assemblies." 17(14): R89.
- Tian, L., M. P. Prabhakaran, J. Hu, M. Chen, F. Besenbacher and S. J. R. A. Ramakrishna (2015). "Coaxial electrospun poly (lactic acid)/silk fibroin nanofibers incorporated with nerve growth factor support the differentiation of neuronal stem cells." 5(62): 49838-49848.
- Tiwari, D. K., J. Behari and P. J. C. S. Sen (2008). "Time and dose-dependent antimicrobial potential of Ag nanoparticles synthesized by top-down approach." 647-655.

- Topuz, F., B. Satilmis and T. J. P. Uyar (2019). "Electrospinning of uniform nanofibers of polymers of intrinsic microporosity (PIM-1): the influence of solution conductivity and relative humidity." 178: 121610.
- Tural, S. and S. J. T. J. o. F. Turhan (2017). "Antimicrobial and antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and laurel (*Lauris nobilis* L.) essential oils and their mixtures." 42(5): 588-596.
- Uyar, T. and F. J. P. Besenbacher (2008). "Electrospinning of uniform polystyrene fibers: The effect of solvent conductivity." 49(24): 5336-5343.
- Venugopal, E., K. S. Sahanand, A. Bhattacharyya and S. Rajendran (2019). "Electrospun PCL nanofibers blended with *Wattakaka volubilis* active phytochemicals for bone and cartilage tissue engineering." *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 21: 102044.
- Verreck, G., I. Chun, Y. Li, R. Kataria, Q. Zhang, J. Rosenblatt, A. Decorte, K. Heymans, J. Adriaensen, M. Bruining, M. Van Remoortere, H. Borghys, T. Meert, J. Peeters and M. E. Brewster (2005). "Preparation and physicochemical characterization of biodegradable nerve guides containing the nerve growth agent sabeluzole." *Biomaterials* 26(11): 1307-1315.
- Vert, M., Y. Doi, K.-H. Hellwich, M. Hess, P. Hodge, P. Kubisa, M. Rinaudo, F. J. P. Schué and A. Chemistry (2012). "Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012)." 84(2): 377-410.
- Vijayavenkataraman, S. J. A. B. (2020). "Nerve guide conduits for peripheral nerve injury repair: A review on design, materials and fabrication methods."
- Vogel, V. and G. J. A. r. o. b. e. Baneyx (2003). "The tissue engineering puzzle: a molecular perspective." 5(1): 441-463.
- Walder, B., D. Pittet, M. R. J. I. C. Tramèr and H. Epidemiology (2002). "Prevention of bloodstream infections with central venous catheters treated with anti-infective agents depends on catheter type and insertion time: evidence from a meta-analysis." 23(12): 748-756.
- Wang, C.-Y., K.-H. Zhang, C.-Y. Fan, X.-M. Mo, H.-J. Ruan and F.-F. J. A. B. Li (2011). "Aligned natural-synthetic polyblend nanofibers for peripheral nerve regeneration." 7(2): 634-643.
- Wang, E., K. Inaba, S. Byerly, D. Escamilla, J. Cho, J. Carey, M. Stevanovic, A. Ghiassi, D. J. J. o. T. Demetriades and A. C. Surgery (2017). "Optimal timing for repair of peripheral nerve injuries." 83(5): 875-881.
- Wang, J., L. Tian, L. He, N. Chen, S. Ramakrishna, K.-F. So and X. J. S. r. Mo (2018). "*Lycium barbarum* polysaccharide encapsulated Poly lactic-co-glycolic acid Nanofibers: cost effective herbal medicine for potential application in peripheral nerve tissue engineering." 8(1): 1-14.
- Wang, J., L. Tian, B. Luo, S. Ramakrishna, D. Kai, X. J. Loh, I. H. Yang, G. R. Deen and X. Mo (2018). "Engineering PCL/lignin nanofibers as an antioxidant scaffold for the growth of neuron and Schwann cell." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 169: 356-365.
- Wang, M., Z. Wang, S. Li, Z. Wang and J. J. J. o. E. C. Zhao (2015). "Mediated electrochemical method for the analysis of membrane damage effects of phenolic compounds to *Staphylococcus aureus*." 757: 44-50.
- Wang, T. Y., J. S. Forsythe, C. L. Parish and D. R. J. J. o. b. a. Nisbet (2012). "Biofunctionalisation of polymeric scaffolds for neural tissue engineering." 27(4): 369-390.
- Wang, W., S. Itoh, K. Konno, T. Kikkawa, S. Ichinose, K. Sakai, T. Ohkuma and K. Watabe (2009). "Effects of Schwann cell alignment along the oriented electrospun

- chitosan nanofibers on nerve regeneration." *J Biomed Mater Res A* 91(4): 994-1005.
- Wang, X., L. Chen, Q. Ao, A. Sharma, H. S. J. T. N. Sharma and Clinics (2015). "Progress in the research and development of nerve conduits." 1(2): 97-101.
- Wang, X., I. C. Um, D. Fang, A. Okamoto, B. S. Hsiao and B. J. P. Chu (2005). "Formation of water-resistant hyaluronic acid nanofibers by blowing-assisted electro-spinning and non-toxic post treatments." 46(13): 4853-4867.
- Wang, Y.-X., J. L. Robertson, W. B. Spillman and R. O. J. P. r. Claus (2004). "Effects of the chemical structure and the surface properties of polymeric biomaterials on their biocompatibility." 21(8): 1362-1373.
- Webster, T. J., M. C. Waid, J. L. McKenzie, R. L. Price and J. U. J. N. Ejiofor (2003). "Nano-biotechnology: carbon nanofibres as improved neural and orthopaedic implants." 15(1): 48.
- Weisel, J. J. J. o. T. and Haemostasis (2007). "Structure of fibrin: impact on clot stability." 5: 116-124.
- Whitworth, I., R. Brown, C. Dore, C. Green and G. J. J. o. H. S. Terenghi (1995). "Orientated mats of fibronectin as a conduit material for use in peripheral nerve repair." 20(4): 429-436.
- Wiley, B. J., S. H. Im, Z.-Y. Li, J. McLellan, A. Siekkinen and Y. Xia (2006). Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis, ACS Publications.
- Woodruff, M. A. and D. W. Hutmacher (2010). "The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century." *Progress in Polymer Science* 35(10): 1217-1256.
- Woodward, S. C., P. Brewer, F. Moatamed, A. Schindler and C. J. J. o. b. m. r. Pitt (1985). "The intracellular degradation of poly (ϵ -caprolactone)." 19(4): 437-444.
- Wright, J. B., K. Lam and R. E. J. A. j. o. i. c. Burrell (1998). "Wound management in an era of increasing bacterial antibiotic resistance: a role for topical silver treatment." 26(6): 572-577.
- Wu, D., D. Lin, J. Zhang, W. Zhou, M. Zhang, Y. Zhang, D. Wang, B. J. M. C. Lin and Physics (2011). "Selective localization of nanofillers: effect on morphology and crystallization of PLA/PCL blends." 212(6): 613-626.
- Xie, J., X. Li and Y. J. M. r. c. Xia (2008). "Putting electrospun nanofibers to work for biomedical research." 29(22): 1775-1792.
- Xie, J., S. M. Willerth, X. Li, M. R. Macewan, A. Rader, S. E. Sakiyama-Elbert and Y. J. B. Xia (2009). "The differentiation of embryonic stem cells seeded on electrospun nanofibers into neural lineages." 30(3): 354-362.
- Xu, C., R. Inai, M. Kotaki and S. J. B. Ramakrishna (2004). "Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering." 25(5): 877-886.
- Xu, D., L. Fan, L. Gao, Y. Xiong, Y. Wang, Q. Ye, A. Yu, H. Dai, Y. Yin, J. J. A. a. m. Cai and interfaces (2016). "Micro-nanostructured polyaniline assembled in cellulose matrix via interfacial polymerization for applications in nerve regeneration." 8(27): 17090-17097.
- Yang, Q., Z. Li, Y. Hong, Y. Zhao, S. Qiu, C. Wang and Y. J. J. o. P. S. P. B. P. P. Wei (2004). "Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly (vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning." 42(20): 3721-3726.
- Yang, Y., F. Ding, J. Wu, W. Hu, W. Liu, J. Liu and X. J. B. Gu (2007). "Development and evaluation of silk fibroin-based nerve grafts used for peripheral nerve regeneration." 28(36): 5526-5535.

- Yang, Y., X. Gu, R. Tan, W. Hu, X. Wang, P. Zhang and T. J. B. I. Zhang (2004). "Fabrication and properties of a porous chitin/chitosan conduit for nerve regeneration." 26(23): 1793-1797.
- Yao, Q., J. G. Cosme, T. Xu, J. M. Miszuk, P. H. Picciani, H. Fong and H. J. B. Sun (2017). "Three dimensional electrospun PCL/PLA blend nanofibrous scaffolds with significantly improved stem cells osteogenic differentiation and cranial bone formation." 115: 115-127.
- Yen, C.-M., C.-C. Shen, Y.-C. Yang, B.-S. Liu, H.-T. Lee, M.-L. Sheu, M.-H. Tsai and W.-Y. Cheng (2019). "Novel electrospun poly(ϵ -caprolactone)/type I collagen nanofiber conduits for repair of peripheral nerve injury." *Neural regeneration research* 14(9): 1617-1625.
- Yen, C.-M., C.-C. Shen, Y.-C. Yang, B.-S. Liu, H.-T. Lee, M.-L. Sheu, M.-H. Tsai and W.-Y. J. N. r. r. Cheng (2019). "Novel electrospun poly (ϵ -caprolactone)/type I collagen nanofiber conduits for repair of peripheral nerve injury." 14(9): 1617.
- Yener, F., O. Jirsak and R. Gemci (2012). "Using a range of PVB spinning solution to acquire diverse morphology for electrospun nanofibres."
- Zaheer, Z. J. C. and s. B. *Biointerfaces* (2012). "Silver nanoparticles to self-assembled films: green synthesis and characterization." 90: 48-52.
- Zargham, S., S. Bazgir, A. Tavakoli, A. S. Rashidi, R. J. J. o. E. F. Damerchely and Fabrics (2012). "The effect of flow rate on morphology and deposition area of electrospun nylon 6 nanofiber." 7(4): 155892501200700414.
- Zhang, C., T. Zhai and L.-S. Turng (2018). "Electrospinning of poly(lactic acid)/polycaprolactone blends: investigation of the governing parameters and biocompatibility." *Journal of Polymer Engineering* 38(4): 409-417.
- Zhang, C., T. Zhai and L.-S. Turng (2018). "Electrospinning of poly(lactic acid)/polycaprolactone blends: investigation of the governing parameters and biocompatibility %J *Journal of Polymer Engineering*." 38(4): 409-417.
- Zhang, H., Y. T. Wei, K. S. Tsang, C. R. Sun, J. Li, H. Huang, F. Z. Cui and Y. H. J. J. o. T. M. An (2008). "Implantation of neural stem cells embedded in hyaluronic acid and collagen composite conduit promotes regeneration in a rabbit facial nerve injury model." 6(1): 67.
- Zhang, H. J. J. o. b. and c. polymers (2011). "Effects of electrospinning parameters on morphology and diameter of electrospun PLGA/MWNTs fibers and cytocompatibility in vitro." 26(6): 590-606.
- Zhang, Y., H. Luo, Z. Zhang, Y. Lu, X. Huang, L. Yang, J. Xu, W. Yang, X. Fan and B. J. B. Du (2010). "A nerve graft constructed with xenogeneic acellular nerve matrix and autologous adipose-derived mesenchymal stem cells." 31(20): 5312-5324.
- Zhao, C., S. Wang, G. Wang, M. Su, L. Song, J. Chen, S. Fan and X. J. A. b. Lin (2018). "Preparation of decellularized biphasic hierarchical myotendinous junction extracellular matrix for muscle regeneration." 68: 15-28.
- Zhou, W., Z. Wang, H. Mo, Y. Zhao, H. Li, H. Zhang, L. Hu, X. J. J. o. a. Zhou and f. chemistry (2019). "Thymol Mediates Bactericidal Activity against *Staphylococcus aureus* by Targeting an Aldo-Keto Reductase and Consequent Depletion of NADPH." 67(30): 8382-8392.
- Zhou, Y., M. Thakurathi, E. L. Quitevis and G. Z. J. J. Tan (2019). "Electrospinning 3D nanofiber structure of polycaprolactone incorporated with silver nanoparticles." 71(3): 956-962.
- Zhu, L., K. Wang, T. Ma, L. Huang, B. Xia, S. Zhu, Y. Yang, Z. Liu, X. Quan and K. J. A. h. m. Luo (2017). "Noncovalent bonding of RGD and YIGSR to an electrospun

poly (ϵ -caprolactone) conduit through peptide self-assembly to synergistically promote sciatic nerve regeneration in rats." 6(8): 1600860.

