



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**YILAN GÖMLEĞİNİN FİZİKOKİMYASAL ANALİZİ VE
BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMA ALANLARI**

DOKTORA TEZİ

Betül AKTAŞ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Murat KAYA

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. Fatih DUMAN

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 192362003 numaralı Doktora öğrencisi Betül AKTAŞ tarafından hazırlanan “**YILAN GÖMLEĞİNİN FİZİKOKİMYASAL ANALİZİ VE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMA ALANLARI**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Murat KAYA

İstanbul Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Prof. Dr. Ebru TOKSOY ÖNER

Marmara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Prof. Dr. Serkan GÜL

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Selim SIRAKAYA

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Tez Savunma Tarihi: 04/09/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduđum bu çalıřmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı dűşecek bir yol ve yardıma bařvurmaksızın yazdıđımı, yararlandıđım eserlerin kaynakçada gűsterilenlerden olduđuunu, çalıřmamda kullandıđım verilerin orijinalliđini ve her tűrlű intihalden uzak olduđuunu beyan ederim.

Enstitű tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tűm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Betűl AKTAř



TEŞEKKÜR

Biyoteknoloji alanına ilgi duymamı, sevmemi sağladığı, vizyonumu genişlettiği, bilgi birikimini esirgemediği, akademik tecrübelerinden ve fikirlerinden faydalandığım, doktora öğrenimimin en başından sonuna kadar bana göstermiş olduğu anlayış, manevi destek ve yardımları için, Doktora Tezimin yürütülmesine danışmanlık eden değerli danışman hocam Prof. Dr. Murat KAYA' ya çok teşekkür ederim.

Doktora tezim boyunca, bilgilerini, tecrübelerini, fikirlerinin ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Yavuz Selim ÇAKMAK ve Ebru TOKSOY ÖNER'e en içten teşekkürlerimi ederim. Antimikrobiyal aktivite uygulamasının deney ve yorumlama aşamasında değerli bilgilerini bana öğreten ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğt. Üyesi Ahmet Ceylan'a, kontrollü ilaç salımı uygulamasının en başından sonuna kadar beni hiçbir aşamada yalnız bırakmayan ve değerli bilgilerini bıkmadan yılmadan hoşgörüsüyle bana aktaran değerli hocam Doç. Dr. Lalehan AKYÜZ'e, analiz kısımlarında desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Fatih DUMAN'a, hücre kültürü uygulamasında bana tüm bildiklerini uygulamalı olarak aktaran ve bu uygulama için büyük emek harcayan değerli meslektaşım Selay TORNACI'ya, MTT uygulaması ve yorumlamasında verdiği emek ve bilgiler için değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe KARADUMAN YEŞİLDAL'a çok teşekkür ederim. Savunmamda jüri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Serkan GÜL ve Dr. Öğr. Üyesi Selim SIRAKAYA'ya çok teşekkür ederim.

Değerli arkadaşlarım Ar. Gör. Behlül KOÇ BİLİCAN ve Ar. Gör. Bahar AKYÜZ YILMAZ'a doktora sürecim boyunca yaptıkları tüm yardımlar ve verdikleri bilgiler için çok teşekkür ederim. Benden hiçbir zaman yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Caner DURKAL, Cem Can CEBECİ, Ivan AL-JAF, Ako DEKONİ ve İsmail ŞEN'e çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana hep güvenen, yaptığım her işte arkamda duran ve sonuç ne olursa olsun en önemli olanın ben olduğumu bana hissettiren, maddi ve manevi beni her zaman destekleyen değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

Betül AKTAŞ
AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	9
2.1 Biyomedikal Alanında.....	9
2.2 Gübre ve Hayvan Yemi Olarak	14
2.3 İnşaat ve Otomotiv Alanında.....	15
2.4 Biyosorbent Olarak.....	16
2.5 Diğer Alanlarda	17
3. MALZEME VE YÖNTEM	21
3.1 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopu (FT-IR)	21
3.2 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)	21
3.3 Termogravimetrik Analiz (TGA) ve Diferansiyel Termal Termogravimetrik (DTG).....	21
3.4 X-Işını Kırınım Yöntemi (XRD).....	22
3.5 Elementel Analiz (CHNS Analizi)	22
3.6 Temas Açısı Ölçümü	22
3.7 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromid (MTT)	22
3.7.1 Hücre kültürü	22
3.7.2 Örneklerin hazırlanması.....	23
3.7.3 MTT analizi	23
3.7.4 İstatistiksel analiz.....	23
3.8 Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (Icp-MS).....	24
3.8.1 Numune-çözünürleştirme	24
3.8.2 ICP-MS analiz	24
3.9 Amino Asit Analizi	24
3.10 Antimikrobiyal Aktivite	25
3.11 Hücre Kültürü.....	26
3.11.1 L929 Hücre kültürü.....	26
3.11.2 Steril örnekler üstüne hücre ekimi	27
3.11.3 DAPI boyama	27
3.12 İlaç Yükleme	28
3.12.1. Pasif yükleme tekniği ile D-Pantenol'un yılan gömleğine (dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe) yükleme.....	28
3.12.2 Kapsülleme verimliliği	28
3.12.3 D-Pantenol yüklü yılan gömleği kısımlarının in vitro salım çalışmaları	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopu (FT-IR)	30
4.2 X-Işını Kırınım Yöntemi (XRD).....	35
4.3 Termogravimetrik Analiz (TGA) ve Diferansiyel Termal Termogravimetrik (DTG).....	36

4.4 Elementel Analiz (CHNS Analizi)	38
4.5 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	39
4.6 Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi Analizi (EDX)	44
4.7 MTT Analizi	46
4.8 Temas Açısı Ölçümü	48
4.9 Aminoasit Analizi Sonuçları	51
4.10 ICP-MS Analizi	55
4.11 Antimikrobiyal Aktivite	58
4.12 Hücre Kültürü	63
4.13 İlaç Yükleme	68
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ	97



DOKTORA TEZİ

YILAN GÖMLEĞİNİN FİZİKOKİMYASAL ANALİZİ VE BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMA ALANLARI

Betül AKTAŞ

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat KAYA

İkinci Danışman: Prof. Dr. Fatih DUMAN

ÖZET

Tırnak, toynak, saç ve yün gibi yapıların ana yapısal proteini olan keratin, non-toksik, biyouyumlu ve biyobozunur olmasının yanı sıra sahip olduğu birçok eşsiz özellik nedeniyle araştırmacılar tarafından sıkça tercih edilmektedir. Fakat yapısal olarak keratin içeren yılan gömleğinin fizikokimyasal analizlerine ve biyoteknolojik uygulamalarına dair bilgiler oldukça kısıtlıdır. Mevcut çalışmada, yüksek keratin içeriğine sahip ve oldukça geniş bir yayılım gösteren *Dolichophis caspius*' un (Hazer yılanı, bozyörük) atık gömleğinin ilk kez fizikokimyasal analizleri yapılmış ve biyoteknolojik uygulamalarda malzeme olarak değerlendirilmiştir. Hiçbir işlem görmemiş atık yılan derisinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe olmak üzere üç farklı kısmının FT-IR, SEM, TGA, XRD, ICP-MS, Amino asit Analizi, Elementel Analiz ve Temas Açısı Ölçümü cihazları kullanılarak karakterizasyonu yapılmıştır. Yılan gömleğinin üç farklı kısmının antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiş ve *Escherichia coli* ve *Streptococcus mutans* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermediği görülmüştür. MTT analizi ile sitotoksisite belirlenmiş ve ilk 72 saat sonraki hücre canlılıkları ventral ölçek, dorsal ölçek ve menteşe kısımları için sırasıyla, %77.0, %110.2 ve %94.4'dür. Yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe olmak üzere üç farklı kısmına, yara iyileşmesinde yaygın olarak kullanılan D-Panthenol yüklenmiş ve salım özellikleri araştırılmıştır. Sırasıyla dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımları için ortalama ilaç yükleme kapasiteleri: %2,07±0,13, %1,28±0,04, %1,77±0,95 olarak kaydedilmiştir. İlk 1 saatte dorsal ölçekte ilacın %46.67'si, ventral ölçekte %80.09'u ve menteşe kısmında %69.85'i salınmıştır. Hücre kültürü uygulamalarında L929 hücre hattı kullanılmış ve yılan gömleğinin L929 hücreleri için iyi bir substrat olmadığı görülmüştür. Analiz ve uygulamaların hiçbirinde yılan gömleğine herhangi bir ön işlem uygulanmamış, orijinal haliyle kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yılan derisi, Biyopolimer, Yılan deri değiştirme, Ecdysis, *Dolichophis caspius*

Ağustos, 2023; 97 sayfa

PhD. THESIS

**PHYSIOCHEMICAL ANALYSIS OF THE SNAKE MOLT AND ITS
BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS**

Betül AKTAŞ

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Genetics**

Supervisor: Prof. Dr. Murat KAYA

Secont Supervisor: Prof. Dr. Fatih DUMAN

ABSTRACT

Keratin, which is the main structural protein of structures such as nails, hooves, hair and wool, is frequently preferred by researchers due to its many unique properties as well as being non-toxic, biocompatible and biodegradable. However, information on the physicochemical analyzes and biotechnological applications of the snake shirt, which contains structural keratin, is very limited. In the present study, physicochemical analyzes of the waste jacket of *Dolichophis caspius* (Hazer snake, bozyörük), which has a high keratin content and shows a wide distribution, were made for the first time and evaluated as a material in biotechnological applications. Characterization of the untreated waste snake skin was performed on three different parts of the dorsal scale, ventral scale and hinge using FT-IR, SEM, TGA, XRD, ICP-MS, Amino Acid Analysis, Elemental Analysis and Contact Angle Measurement devices. The antimicrobial activities of three different parts of the snake shirt were tested and it was found that they did not show antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* bacteria. Cytotoxicity was determined by MTT analysis and cell viability after the first 72 hours was 77.0%, 110.2% and 94.4% for the ventral scale, dorsal scale and hinge parts, respectively. D-Panthenol, which is widely used in wound healing, was loaded on three different parts of the snake shirt, namely dorsal scale, ventral scale and hinge, and its release properties were investigated. The mean drug loading capacities for the dorsal scale, ventral scale and hinge parts were recorded as $2.07 \pm 0.13\%$, $1.28\% \pm 0.04\%$, $1.77 \pm 0.95\%$, respectively. In the first 1 hour, 46.67% of the drug was released on the dorsal scale, 80.09% on the ventral scale and 69.85% on the hinge portion. The L929 cell line was used in cell culture applications and it was seen that the snakeskin was not a good substrate for L929 cells. No pre-treatment was applied to the snake shirt in any of the analyzes and applications, and it was used in its original form.

Keywords: Snake skin, Biopolymer, Snake molting, Ecdysis, *Dolichophis caspius*

August, 2023; 97 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Keratin kaynakları.	1
Şekil 1.2. α ve β keratinin atomik ölçekten filament oluşumuna kadarki süreci.	3
Şekil 1.3. Yılanlarda deri değişim döngüsü.	7
Şekil 3.1. Yılan gömleği kısımları.	21
Şekil 3.2. Amino asit analizi için kullanılan parametreler.	25
Şekil 3.3. a) Örnek ekleme, b) İnkübasyon öncesi bakteri solüsyonları, c) İnkübasyon sonrası bakteri solüsyonlarındaki bulanıklık (türbidite).	26
Şekil 3.4. a) Etanol ile yıkama, b) örnekleri otoklav sonrası steril cam üzerine örnekleştirme c) hücre ekimi, d) etüve girmeye hazır plakalar.	27
Şekil 4.1. Yılan derisi a) ventral ölçek FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.	32
Şekil 4.2. Yılan derisi a) dorsal ölçek FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.	33
Şekil 4.3. Yılan derisi a) menteşe FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.	34
Şekil 4.4. Yılan gömleğinin dorsal ölçek, menteşe ve ventral ölçek XRD grafiği. ...	36
Şekil 4.5. Yılan derisi a) menteşe, b) dorsal ölçek, ventral ölçek TGA.	38
Şekil 4.6. Elementel analiz sonuçları.	39
Şekil 4.7. İşlenmemiş yılan gömleğinin menteşe bölgesi iç kısım SEM görüntüleri a) 5.000x, b) 2.500x, c) 1.000x.	40
Şekil 4.8. İşlenmemiş yılan gömleğinin menteşe bölgesi dış kısım SEM görüntüleri a) 5.000x, b) 2.500x, c) 1.000x.	40
Şekil 4.9. İşlenmemiş yılan gömleği menteşe kısmının enine kesiti SEM görüntüleri a) 1.000x, b) 2.500x, c) 10.000x.	41
Şekil 4.10. İşlenmemiş yılan gömleğinin ventral ölçek iç kısım SEM görüntüleri a) 20.000x, b) 1.000x, c) 5.000x.	41
Şekil 4.11. İşlenmemiş yılan gömleğinin ventral ölçek dış kısım SEM görüntüleri a) 20.000x, b) 5.000x, c) 1.000x.	42
Şekil 4.12. İşlenmemiş yılan gömleği ventral ölçek enine kesiti SEM görüntüleri a) 7.000x, b) 2.500x, c) 1.000x.	42
Şekil 4.13. İşlenmemiş yılan gömleğinin dorsal ölçek iç kısım SEM görüntüleri a) 20.000x, b) 5.000x, c) 1.000x.	43
Şekil 4.14. İşlenmemiş yılan gömleğinin dorsal ölçek dış kısım SEM görüntüleri a) 20.000x, b) 5.000x, c) 1.000x.	43
Şekil 4.15. İşlenmemiş yılan gömleği dorsal ölçek enine kesiti SEM görüntüleri a) 5.000x, b) 2.500x, c) 1.000x.	44
Şekil 4.16. Menteşe dış kısım EDX analizi.	44
Şekil 4.17. Menteşe iç kısım EDX analizi.	45
Şekil 4.18. Dorsal ölçek dış kısım EDS analizi.	45
Şekil 4.19. Dorsal ölçek iç kısım EDS analizi.	45
Şekil 4.20. Ventral ölçek dış kısım EDS analizi.	45
Şekil 4.21. Ventral ölçek iç kısım EDS analizi.	46
Şekil 4.22. Kontrol, ventral ölçek, dorsal ölçek ve menteşe kısımlarının 24, 48, 72 saatlik hücre canlılık yüzdeleri.	48
Şekil 4.23. Yılan derisi a) ventral ölçek dış yüzey temas açısı değerleri; sol 73, sağ 70, orta 72. b) ventral ölçek iç yüzey temas açısı değerleri; sol 50, sağ 57, orta 54.	51

Şekil 4.24. Yılan derisi a) dorsal ölçek dış yüzey temas açısı değerleri; sol 53, sağ 51, orta 52. b) dorsal ölçek iç yüzey temas açısı değerleri; sol 79, sağ 74, orta 76.	51
Şekil 4.25. Dorsal ölçek, menteşe, ventral ölçek amino asit analizi sonuçları ve oranları.	54
Şekil 4.26. <i>Streptococcus mutans</i> 'ın dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının yüzeyine tutunması.	62
Şekil 4.27. <i>Escherichia coli</i> 'nin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının yüzeyine tutunması.....	62
Şekil 4.28. Ventral ölçek a) 24 saat, b) 48 saat ve c) 72 saatin sonunda floresan mikroskobu görüntüsü.	67
Şekil 4.29. Dorsal ölçeğin (dorsal ölçek ve menteşe) a) 24 saat, b) 48 saat ve c) 72 saatin sonunda floresan mikroskobu görüntüsü.	67
Şekil 4.30. a) Ventral ölçek ve numune dışı alan, b) numune dışı cam yüzey, c) kontrolün floresan mikroskobu görüntüsü.	68
Şekil 4.31. Yılan gömleği dorsal ölçek kısmı D-panthenol salım oranı.	74
Şekil 4.32. Yılan gömleği ventral ölçek kısmı D-panthenol salım oranları.....	74
Şekil 4.33. Yılan gömleği menteşe kısmı D-panthenol salım oranları.	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Yılan gömleği kısımlarının FT-IR spektrumları.....	32
Çizelge 4.2. ICP-MS analizi sonuçlarını.....	58



SİMGELER VE KISALTMALAR

2D	İki Boyutlu
3D	Üç Boyutlu
AAK	Amiloetilatlanmış Keratin
AAK	Asetamidlenmiş Keratin
AEK	Amiloetilatlanmış Keratin
AgNP	Gümüş Nanopartikül
Al	Alüminyum
As	Arsenik
B	Bor
Ba	Baryum
Be	Berilyum
Bi	Bizmut
C	Karbon
Ca	Kalsiyum
Ca(OH)₂	Kalsiyum hidroksit
Cd	Kadmiyum
CFU/mL	Toplam Bakteri Sayısı Birimi
CH₂	Metilen
CHNS	Elementel Analiz
CMK	Karboksimetillenmiş Keratin
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cs	Sezyum
Cu	Bakır
DAPI	4', 6-diamidino-2-fenilindol
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DTG	Diferansiyel Termal Termogravimetrik
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EDX	Enerji Dağılımlı X-ışını
FBS	Fetal Bovine Serum
Fe	Demir
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskobu
g	Gram
H	Hidrojen
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HNO₃	Nitrik Asit
Hz	Hertz
ICP-MS	Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
K	Potasyum
kDa	Kilodalton
kDa	Kilodalton
KNP	Keratin nanopartikül
Kv	Kilovolt
Li	Lityum
M	Molar
mF/cm²	Mikrofarad/Santimetrekare
Mg	Magnezyum

MI	Miyokard Enfarktüsü
mJ/m²	Megajul/Metrekare
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
Mn	Mangan
Mo	Molibden
MPa	Mega pascal
mT	Militesla
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromid
mW/cm²	Miliwatt/Santimetrekare
MΩ	Megaohm
Na	Sodyum
Ni	Nikel
nm	Nanometre
O	Oksijen
P	Fosfor
Pb	Kurşun
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PCL	Polikaprolakton
PENG	Piezoelektrik Nanogeneratör
PET	Polietilen Tereftalat
pH	Potansiyel Hidrojen
PPB	Milyarda Bir (Nano)
PPM	Milyonda Bir
PTFE	Politetrafloroetilen
PVA	Polivinilalkol
PVDF	Polivinilidenflorit
RH	Rodyum
RKNP	Rekombinant Keratin Nanopartikülleri
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
S	Kükürt
Sc	Skandiyum
Se	Selenyum
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SF	İpek Fibroin
Sr	Stronsiyum
TENG	Triboelektrik Nanogeneratör
Tga	Termogravimetrik Analiz
Ti	Titanyum
Tl	Talyum
UV	Ultraviyole
UV-VIS	Ultraviyole ve Görünür Işık
WK	Yün Keratin
XRD	X-Işını Kırınım Yöntemi
vd.	ve diğerleri
ve ark.	ve arkadaşları
Yb	İterbiyum
Zn	Çinko

ZnO	Çinko Oksit
- CH₃	Metil Grubu
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikrometre
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
θ	Theta



1. GİRİŞ

Doğa içinde barındırdığı yüzlerle canlı çeşidiyle araştırmacılar için hem zengin bir biyolojik hammadde kaynağı hem de ilham kaynağı oluşturmaktadır. Biyolojik materyaller sahip oldukları birçok eşsiz özelliklerle uzun yıllardır araştırmacıların ilgi odağı olmuşlardır. Bu biyolojik materyallerden biri olan keratin, ara filament grubunun üst ailesinde bulunur ve hayvanlarda önemli olan iki biyopolimerden biridir (McKittrick vd., 2012). Epitel hücrelerinin ana yapısal proteini olan keratin (Coulombe vd., 2002) omurgalıların keratinositler adı verilen ve sadece keratin üretmek için özelleşmiş hücreleri tarafından sentezlenir. Saç, tırnak, toynak, boynuz, yün, sürüngen epidermisi, tüyler, gagalar, pençeler ve stratum corneum keratin açısından zengin yapılardır (Şekil 1.1).



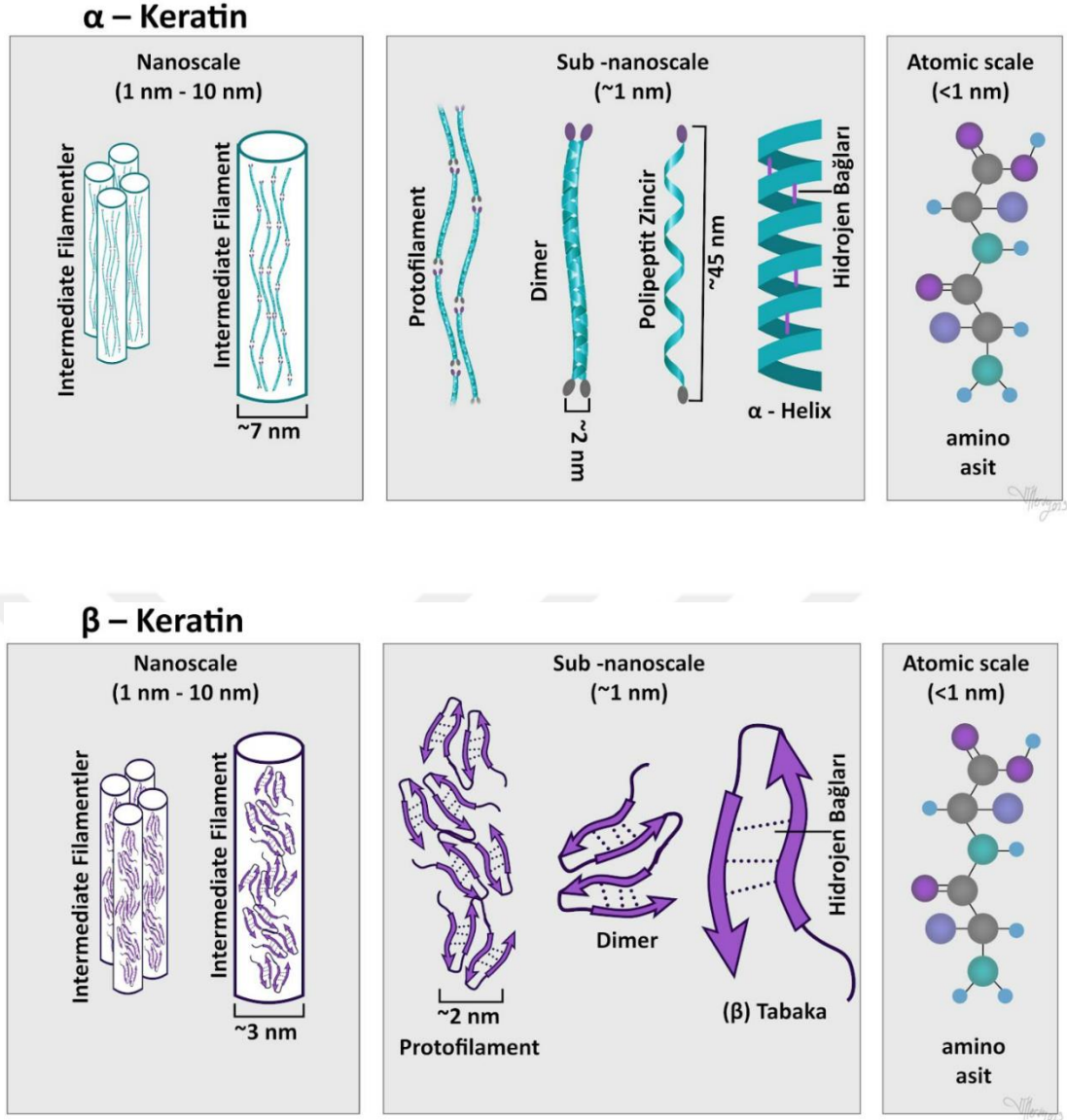
Şekil 1.1. Keratin kaynakları.

Keratin, zincirler arası peptit bağları, moleküler içi disülfid bağları, moleküller arası disülfid bağları, hidrojen ve iyonik bağlarla birbirine bağlanan çeşitli amino asitler içeren bir polipeptit zincirinden oluşur (Shavandi vd., 2017).

Literatürde çeşitli keratin sınıflandırmalarından bahsedilir, fakat sıklıkla kullanılan sınıflandırma, keratin ve keratin materyallerinin, birincil protein yapısının hidrojen bağlanmasına bağlı olarak α -keratin (sarmal yapı) veya β -keratin (kıvrımlı yapı)

olarak adlandırıldığı sınıflandırmadır (Wang vd., 2016). Alfa keratinlerin, kükürt oranı düşüktür, moleküler ağırlıkları 40-68 kDa'dur, yapısaldır ve α -sarmal ikincil yapıya sahiptirler. α -keratinler, yırtılmadan önemli ölçüde gerilebilen uzun filamentli lifler halinde kendi kendilerine birleşirler (Alibardi, 2006; Hill, 2010). α -keratinlerin bir α -heliks zincirden başlayan ve ara filament oluşumuna kadar geçen süreçleri şu şekildedir; iki α -heliks zincir didülfite çapraz bağları ile dimerler, dimerlerin uçtan uca bir araya gelmesiyle protofilamentler ve dört protofibrilin birleşmesiyle ara filamentler oluşur (Şekil 1.2). α -keratinin bulunduğu yerler; yün, saç, tüy, tırnaklar, boynuzlar, toynaklar, stratum corneum'dur (Wang vd., 2016).

Beta keratinler ise alfa keratinlere göre daha serttirler, ikincil yapıları beta pilili tabaka şeklindedir, kortikal lifleri fiziksel ve kimyasal hasarlardan korurlar. Moleküler ağırlıkları (10-22 kDa) α -keratinlere göre düşüktür. (Alibardi vd., 2006). Şekil 1.2 de görüldüğü gibi β -keratinler, paralel veya antiparalel iki β -yaprağın yanal olarak paketlenmesi ile oluşurlar ve zincirler arası hidrojen bağlarının bir arada tutmasıyla bir tabak oluştururlar. Polipeptit zincirinin merkezi bölgesi hidrojen bağları ile bağlanan ve kıvrımlı bir tabaka oluşturan dört yanallı beta şerit ile sonuçlanacak şekilde katlanır. Ardından iki kıvrımlı tabaka üst üste biner ve zıt yönlerde hareket ederek filamanları oluşturur (Wang vd., 2016). β -keratinin bulunduğu yerler; tüyler, kuş gagaları ve pençeleri, sürüngen pençeleri ve pullarıdır. Hem α -keratin hemde β -keratinin bulunduğu yerler ise sürüngen epidermisi ile pangolin pullarıdır (Wang vd., 2016).



Şekil 1.2. α ve β keratinin atomik ölçekten filament oluşumuna kadarki süreci.

α ve β keratinin her ikisinde amino asitlerden oluşur. Atomik boyutuna baktığımızda benzer olduklarını fakat α -keratinin ikicil yapısının sarmal iken β -keratinin ikincil yapısı tabaka şeklindedir. Sonraki iki aşama ve sonuç her ikisi için de aynı olsa da çapları farklıdır (Lazarus vd., 2021).

Saç ve yün gibi yapılar söz konusu olduğunda bir üçüncü protein türünden γ -keratinlerden bahsedilir. Küresel, kükürt içeriği bakımından zengin ve ~ 15 kDa moleküler ağırlığa sahip olan γ -keratinler esas olarak α -keratin liflerini bir arada tutar. Saç ve yünün kortikal üst yapısının yüksek mekanik mukavemetine, eylemsizliğine ve sertliğine yol açan disülfid çapraz bağlayıcılar olarak işlev görürler (Hill vd., 2010).

Keratinlerdeki polipeptit dizileri birçok amino asidin bir araya gelmesiyle oluşur. Bu amino asitlerden bazıları şunlardır; sistein, serin, glutamik asit, treonin, glisin, arginin, aspartik asit, valin, lösin ve prolin'dir (Qui vd., 2020). Ekstraksiyon işlemleri esnasında amino asitler dönüşebilir veya yapısı tamamen bozularak yok edilebilir. Asparagin'in aspartik asite, glutamin'in ise glutamik aside dönüşmesi ekstraksiyon işlemlerinden kaynaklanan dönüşüme güzel bir örnektir. (Chilakamarry vd., 2021). Li ve ark. da yaptıkları bir çalışmada asit hidrolizi esnasında amino asitlerin ciddi şekilde yok edildiğini bu nedenle asparagin, glutamin, sistein, serin, treonin ve triptofan içeriklerinin doğru olmayabileceğini rapor etmişlerdir (Li vd., 2019).

Keratinleri diğer yapısal proteinlerden ayıran özelliklerden biri yapısında yüksek oranda sistin olmasıdır (Kornilowicz-Kowalska ve Bohacz, 2011). Keratinlerin çözünürlüğünün düşük olması ve yüksek stabilitesi, protein zincirlerini çapraz bağlayan sistin amino asidi ile ilişkili çok sayıda disülfid bağı içermesinin yanı sıra hidrojen ve iyonik bağlardan kaynaklanmaktadır (Zoccola vd., 2009). Karboksilik anyonlar ve amonyum katyonları arasındaki iyonik bağlar aşırı asidik veya bazik ortamlarda en düşük seviyede iken pH 4.9 da en yüksek seviyededir (Feroz vd., 2020).

İlk araştırmacılar proteinleri çözmek için kullanılan yöntemlerin keratin için pek de etkili olmadığını görmüşlerdir. (Rouse ve Van Dyke, 2010). Keratinler, proteolitik enzimler olan pepsin ve tripsin gibi enzimler veya su, alkaliler, zayıf asitler ve organik çözücülerde çözünmezler (Kornilowicz-Kowalska ve Bohacz, 2011).

Keratin için en yaygın kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinden bazıları şöyledir; süper kritik su ve buhar patlaması yöntemi, mikrobiyal ve enzimatik yöntem, mikrodalga ışıması ve kimyasal (iyonik sıvı, hidroliz, oksidasyon, redüksiyon) yöntemlerdir (Chaitanya Reddy vd., 2021).

Süper kritik su ve buhar patlaması yöntemi, ekstraksiyon uygulanacak materyalin içerisinde bulunduğu kaba yüksek sıcaklık ($>200^{\circ}\text{C}$) ve basınç (0.1 ila 10 MPa) verilmesi esasına dayanan bir yöntemdir. Yöntemin avantajı, çevresel etkisinin ve maliyetinin düşük olmasıyken dezavantajı, yüksek sıcaklığın sistein gibi bazı amino asitlere zarar vermesidir (Shavandi vd., 2017).

Mikrobiyal ve enzimatik yöntem, keratin bakımından zengin ortamlardan izole edilen mikroorganizmalardan türetilen enzimlerin kullanılması yoluyla yapılan hidrolizdir Bu hidroliz yöntemi protein omurgasına zarar vermez (Holkar vd., 2018). Yöntemin avantajı, çevreye zarar vermemesi, düşük enerji gereksinimidir (Chaitanya Reddy vd., 2021).

Mikrodalga ısıtması yöntemi, mikrodalga ısıtması çekirdek içi hacimsel ısıtma yoluyla çalışan bir yöntemdir. Diğer ısıtma yöntemlerine kıyasla homojen bir ısıtma sunması ve zaman tasarrufu sağlaması avantajı vardır (Chen vd., 2015).

Kimyasal yöntemde ise, oksidatif çözücüler kullanılarak sistenin sisteik aside dönüştürülmesiyle elde edilen protein karışımı keratoz olarak adlandırılırken, sisteinleri sağlam bırakan indirgeyici çözücüler kullanılarak elde edilen, yeni çapraz köprüler kurmaya hazır olan protein karışımına ise keratin adı verilir (Silva vd., 2014). Keratinler ve keratozlar aynı kökenden olmalarına rağmen kükürt içeren grupların doğası onlara birtakım farklı özellikler kazandırır (Hill vd., 2010).

Keratozlar, disülfür içermeyen çapraz bağlar yapabilir, suda çözünür, higroskopiktir ve sisteik asidin elektron çekme özelliklerinin neden olduğu omurga polarizasyonuna bağlı olarak aşırı pH değerlerinde hidrolitik bozunmaya karşı hassastırlar. Bu özelliklerinden dolayı keratozlar in vitro ortamlarda günler ve haftalar ile ifade edilebilecek kadar kısa sürelerde, yani nispeten hızlı bir şekilde parçalanırlar. Keratinler ise, sistein gruplarının oksidatif bağlanması nedeniyle yeniden çapraz bağlanabilirler, aşırı pH larda kararlıdırlar ve suda daha az çözünürler. Bu özellikler haftalarca ve aylarca in vitro ortamda kalabilen biyomalzemelerin oluşmasına olanak tanır (Silva vd., 2014).

Keratinler, non-toksik, biyoyumlu ve biyobozunur olmalarının yanı sıra nispeten kimyasal olarak reaktif olmamaları, çözünmemeleri, dayanıklı olmaları (Konop vd., 2021; Montes-Zarazúa vd., 2015) ekstrakte edilmiş keratin proteinlerinin kendi kendine bir araya gelme, gözenekli ve lifli yapı iskeleleri halinde polimerize olma özelliğine sahip olmaları gibi özellikleri sayesinde medikal alanda çokça kullanılmaktadırlar (Shavandi vd., 2017).

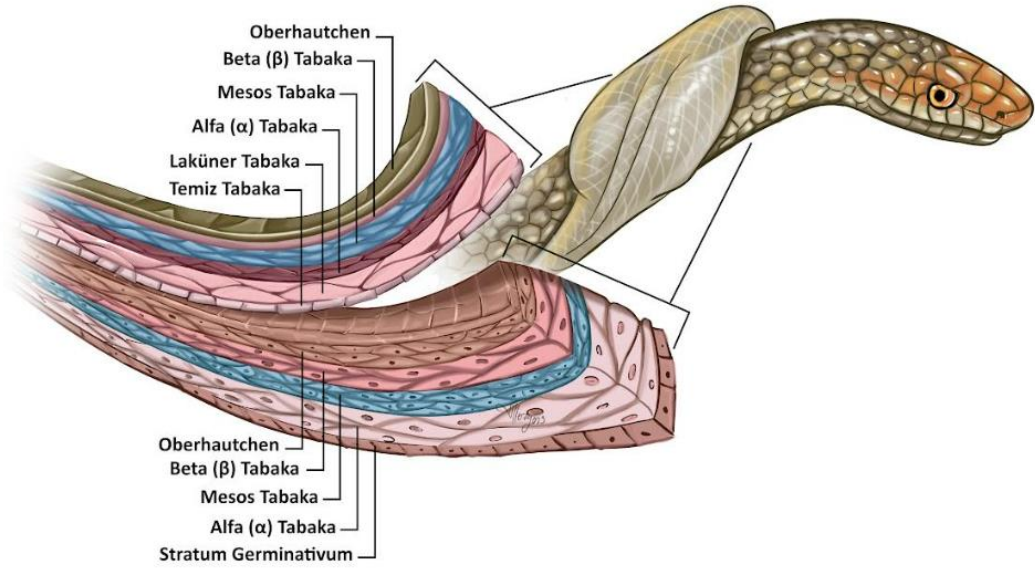
Bu özelliklere ek olarak hücre yapışma sekanslarının doğal varlığı, hücresel proliferasyonu ve migrasyonu iyileştirmesi ve farklı biyomoleküllerle etkileşime

girmesini sağlayan karboksil, amino ve sülhidril grupları gibi geniş fonksiyonel gruplara sahip olmaları keratinleri çeşitli uygulamalarda kullanılmak üzere kimyasal olarak aktive edilebilir kılar (Chilakamarry vd., 2021).

Keratin; tırnak, toynak, saç, yün, sürüngen epidermisi ve tüy gibi yapılarda doğal olarak oluşabilmesi, yaygın olarak bulunması ve yenilenebilir kaynaklara sahip olması gibi avantajları sayesinde biyoteknolojik uygulamalar için iyi bir adaydır.

Sürüngenleri kuşlar ve memelilerden ayıran en belirgin özelliklerden biri pullu bir derilerinin olmasıdır. Bu pullu deri sürüngenleri mekanik hasarlara karşı korur, su kaybı ve patojenlere karşı bir bariyer sağlar ve aynı zamanda harekete yardımcı olur (Abo-Eleneen ve Allam, 2011; Yenmiş ve Ayaz, 2023). Yılanların derileri pullar ve bu pulları birbirine bağlayan menteşe kısımlarından oluşur. Pul sayıları hayvan büyüdükçe artmaz veya azalmaz, yumurtadan çıktıkları pul sayısı ile hayatlarına devam ederler (Allam ve Abo-Eleneen, 2012). Bu durumun yılanların vücut büyümesini engellemesi nedeniyle türüne bağlı olarak yılda 4-8 kez tüm derilerini tek bir parça olarak değiştirirler (Klein vd., 2010). Pullar yılan deri değiştirdikçe şekil değiştirebilir ve boyut olarak büyürler (Allam ve Abo-Eleneen, 2012). Yılanlarda ve kertenkelelerde deri değiştirme, dökölme ve dinlenme fazlarının birbirini takip ettiği bir döngü şeklindedir ve hormonal faktörler ile kontrol edilir (Maderson vd., 1998).

Yılanların yenilenme esnasında üretilen epidermisi dıştan içe doğru; oberhautchen, beta (β) tabaka, mezos tabaka, alfa (α) tabaka, laküner doku ve şeffaf tabakadan oluşur. Bu dökülen epidermal tabakadır. Yeni epidermal katman dökölmeye hazırlanan epidermal katmanın altında oluşur. Şekil 1.3'te görüldüğü üzere dökölmeye hazırlanan katmanın şeffaf tabakası ile yeni üretilen epidermal katmanının oberhautchen tabakası bağlıdır. Farklılaşma esnasında bu iki katman arasında tamamlayıcı spinulaların fermuarlı bir yapı olarak oluşturdıkları arayüz, olgunlaşma esnasında hızla açılır ve dökölme gerçekleşir. Epidermal olgunlaşma sürecinde oberhautchen tabakasının plazma zarını kaybetmesi nedeniyle β -tabaka ile birleşmiştir (Alibardi, 2005; Landmann, 1979). β ve α tabaka esas olarak protein iken mezos tabakası lipid açısından zengin bir tabakadır (Ripamonti, 2009).



Şekil 1.3. Yılanlarda deri değişim döngüsü.

Sürüngen epidermisi memelilerinkinden farklı olarak α ve β olmak üzere iki farklı keratin proteinine sahiptir (Ripamonti, 2009). Yılanların α -tabakalarında (mezos, alfa, laküner ve şeffaf) yumuşak bir keratin sentezlenirken (alfa), oberhautchen ve β -tabakalarında sert bir keratin türü (beta) sentezlenir (Alibardi, 2005). α -keratinler, yumuşak ve esnek stratum corneum'un üretimi için bir yapı iskelesini temsil eder. Ayrıca su kaybına karşı bariyeri barındırır ve ölçek hareketliliğine olanak tanır. β -keratinler ise, pulları mekanik stresten koruyan sert ve esnemez tabaka oluştururlar. Aynı zamanda β -tabaka, sürüngen epidermisinde çoğu epidermal pigmentin biriktiği yerdir (Alibardi vd., 2006).

Mevcut çalışmada *Dolichophis caspius*'un (Hazer Yılanı, Bozyörük) deri değiştirme sonucu doğaya biyolojik bir atık olarak bıraktığı gömleği hiçbir işlem uygulanmadan orijinal haliyle kullanılmıştır. *Dolichophis caspius* (Hazer Yılanı, Bozyörük) seçilmesinin nedeni, Doğu Avrupa, Güney Ukrayna, Balkan Yarımadası, Batı Anadolu, Karadeniz Kıyısı, Kafkas Dağları, Kazakistan ve Güney Rusya olmak üzere oldukça geniş bir yayılım alanına sahip olmasıdır. *Dolichophis caspius*'un bu alanlardaki yaşam alanı tercihi, bozkır otlakları, kayalık çıkıntılı alanları, Akdeniz çalılıkları ve geniş yapraklı ormanların kenar kısımları, orta ve düşük rakımlı alanlardır (Sahlean vd., 2014).

Bu çalışmada yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarına, FT-IR, TGA, XRD, ICP-MS, SEM, EDX elemental analiz, aminoasit analizi, temas

açısı ölçümü teknikleri kullanılarak karakterizasyonu yapılmıştır. Antimikrobiyal aktiviteleri test edilecek ve MTT analizi ile sitotoksiteleri belirlenmiştir. Ayrıca ilaç yüklenerek kontrollü ilaç salımı yapılacaktır. L929 hücre hattı kullanılarak hücre kültürü çalışmaları yapılmıştır. Biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmak üzere yeni bir kaynak olarak yılan derisinin kullanılması amaçlanmaktadır.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

Nüfusun her geçen gün artmasıyla birlikte dünya, hammadde temini ve atık yönetiminin doğru yapılmaması sonucu ciddi sorunlarla karşı karşıya kalmaktadır ve bu konulara sürdürülebilir çözümler üretilmediği sürece de bu sorunlar artarak devam edecektir.

Memeliler ve yüksek omurgalıların vücudunda en bol bulunan proteinlerden biri olan keratin, büyükbaş, küçükbaş ve kümes hayvanları mezbahaları, kuaför salonları, sürüngelelerin deri değıştirmesi sonucu zaman zaman ciddi biyokütle birikimi oluşturun çevre kirliliğine yol açabilmektedir.

Keratin atıkları bertaraf etmek için en yaygın kullanılan yöntemler; yakma, açıkta depolama (çöplükler), gömme, kompostlama ve mekanik öğütmedir. Fakat bu bertaraf etme yöntemleri toprak, su ve hava kirliliğine neden olabilir.

Çevre kirliliğine yol açan ve insan sağlığını tehdit edebilen bu bertaraf etme yöntemleri yerine, bu keratin kaynaklarının üretim sektöründe katma değerli uygulamalar için sürdürülebilir bir hammadde olarak değerlendirilebilmesi, döngüsel biyoekonomiye geçiş daha sürdürülebilir bir atık yönetimi sağlayabilir. Daha önce yapılan çalışmalar keratin kaynaklarının birçok uygulamanın hammaddesi veya bileşeni olabilecek geniş bir uygulama alanına sahip olduğunu göstermişlerdir. Bu uygulamalardan bazıları şöyledir;

2.1 Biyomedikal Alanında

Thilagam ve Gnanamani (2020) yaptıkları çalışmada altın nanopartiküllerin gelişmiş terapötik uygulamalar için işlevselleştirilmesinde keratinin tek başına veya albüminle kombinasyon halinde kullanıldığında sade nanopartiküle göre biyoyumluluğunu ve depolama stabilitesini artırmada önemli bir işlevsel etki gösterebileceğini bildirmişlerdir.

Villanueva vd. (2019) kronik yaraların pH'larının bakteriyel aktiviteden dolayı bazik olması nedeniyle pH'a duyarlı olarak bazik ortamda şişme sebebiyle daha çok, asidik ortamda büzülme nedeniyle daha az salım yapacak, çinko oksit (ZnO) yüklü keratin (kaynak: sığır boynuzu) hidrojel üretmişlerdir. Hidrojelde üç farklı nZnO

konsantrasyonu denemişler ve yara pansumanı uygulamaları için %5 nZnO konsantrasyonunun en iyisi olduğunu rapor etmişlerdir.

Yang vd. (2019) saçın yeniden uzamasını sağlamak için, saç türevli keratinden yapılmış eksozomlar ve küçük bir moleküler ilaç olan UK5099 ile entegre edilen çıkarılabilir bir mikro iğne yama aracılı ilaç verme sistemi geliştirmişlerdir. Geliştirilen yamanın bir fare modeline iki tur uygulandığı tedaviden sonraki 6 gün içerisinde iyi bir pigmentasyon ve tüylerin yeniden büyümesini tetikleyebildiği gözlenmiştir.

Singaravelu vd. (2016) yara iyileştirmesinde kullanılmak üzere iki katmanlı bir nano lifli iskele olarak boynuz keratin-kitosan bazlı bir biyo-tabaka ile elektroegirme yoluyla bir poli (3-hidroksibütirik asit) – jelatin nano lifli mat imal etmişlerdir. İki katmanlı nano lifli yapı iskelesinin morfolojisi, hücre yapışması ve hücre sayısının artmasını desteklemenin yanı sıra fibroblast ve keratinosit hücre hatlarına karşı daha iyi biyouyumluluk sergilemiştir. Nano lifli iskelelerin yara bölgesinde enfeksiyonu önlediği, gelişmiş kolejen sentezi ile büyüme etmenlerini düzenlendiği ve bu nedenle daha çabuk bir yara iyileşmesinin olabileceği bildirilmiştir.

İnsülin konjuge edilen keratin (kaynak: insan saçı) hidrojellerin yara iyileştirme, yara izi önleme ve hemostaz konusundaki etkinliği Li vd. (2019) tarafından kanamaya teşvik edilen sıçan karaciğerinde ve sıçan sırt kısmında oluşturulan eksizyonel yaralar aracılığı ile araştırılmıştır. Kontrol (hiç bir tedavi uygulanmayan grup) ve keratin hidrojeline kıyasla keratin-insülin konjugatının çok daha iyi bir hemostatik etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Kontrol, keratin, insülin ve keratin-insülin konjugat hidrojellerin yara izi ve yara iyileştirmedeki etkinliği ise yaralanmadan sonraki 0, 7, 14, 21, 28, 35 ve 60. günlerde takip etmişlerdir. 14. günden sonra insülin-keratin hidrojelleri ve insülin enjeksiyonu ile tedavi edilen bölgelerde daha pürüzsüz bir cilt olduğunu görseller ile destekleyerek rapor etmişlerdir.

Başka bir eksizyon yara iyileşmesinin değerlendirildiği çalışmada Wang vd. (2017) keratin (kaynak: tavuk tüyü) hidrojelleri kullanmışlardır. Tedavi edilmeyen grup ile karşılaştırıldığında keratin hidrojel uygulanan grup uygulamadan 10 gün sonra %90 iyileşme gösterirken tedavi uygulanmayan grubun aynı sürede %60 iyileşme gösterdiği görülmüş. 28 günün sonunda ise tedavi uygulanan kısımda %100 iyileşme

ve pürüzsüz bir cilt ve daha fazla kıl folikülü görülmüştür. Yara iyileştirmesinin yanı sıra hidrojelilerin iyi bir biyouyumluluk ve biyobozunurlukta sergilediği rapor edilmiştir.

Xu vd. (2013) keratin (kaynak: saç) yapı iskelelerinin yara iyileşmesi üzerindeki etkisini, biyouyumluluk ve biyobozunurluklarını in vivo olarak gözlemleyi hedefledikleri çalışmalarında Wang vd. (2017) ile benzer sonuçlar rapor etmişlerdir.

Vakilian vd. (2019) *Bitis arietans* ve *Telescopus dhara* yılanlarının gömleklerini yara pansumanı olarak araştırmışlardır. İn vitro çalışmalarda kullanılmak üzere yılan gömleğinin ventral kısmının orta bölgesinden kesit alınarak deiyonize su ile yıkanıp %70 etanol solüsyonu ile steril etmişlerdir. *Bitis arietans* ve *Telescopus dhara* yılanlarına ait bu gömlekleri, sıçanların sırt kısmında 1.5 cm çapında oluşturulan yuvarlak tam kat yara eksizyonunun iyileştirilmesinde kullanmışlardır. Uygulamada, pozitif kontrol de Solcoseryl merhem kullanılırken, negatif kontrol de hiçbir tedavi uygulanmamıştır. Deney grubunda ise *Bitis arietans* ve *Telescopus dhara* yılan gömlekleri kullanılmıştır. 7 Gün sonra *Telescopus dhara* yılan gömleği yara alanını 55.4 ± 5.6 , *Telescopus dhara* yılan gömleği 39.2 ± 1.8 ve pozitif kontrol 18.1 ± 5.2 oranında azalttığını, 14 gün sonra ise hem *Bitis arietans* hem de *Telescopus dhara* yılanının gömleklerinin pozitif kontrole göre önemli bir azalma gösterdiğini gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Aboushwareb vd. (2008) keratin (kaynak: insan saçı) hidrojelilerin tavşanlarda ölümcül karaciğer hasarlarındaki hemostatik etkinliğini çalıştılar. Bu çalışmada negatif kontrol, Quick Clot, Hem Con ve keratin grupları için sırasıyla 24 saatlik sağ kalım oranlarını sırasıyla %0, %62.5, %62.5 ve %75 olarak rapor ettiler. Keratin hidrojinin kanayan yüzeye biriktiğinde genellikle yıkanarak çıkmayacak kadar yapışkan ve hidrofilik olduğunu gözlemlediler. Keratin jelin, trombüs oluşumunu tetikleme ve yara bölgesinde fiziksel bir kaplama oluşturma yoluyla hemostatik etki gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Shen vd. (2011) miyokart enfarktüsü sonrası keratin (kaynak: insan saçı) biyomalzemelerin enjekte edilmesinin kalp fonksiyon bozukluğu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Keratin biyomalzemeler enfaktüslü sıçan kalbine enjekte edildikten sonra anjiyogenez teşvik edilmiş ve miyokard enfarktüsü sonrası kalpte

enflamasyonu artırmamıştır. Enjeksiyondan sonra 8 hafta boyunca kontrol grubuna kıyasla kardiyak fonksiyonunun korunması ve olumsuz ventriküler yeniden şekillenmenin zayıflaması gibi klinik için umut vaat eden sonuçlar alınmıştır.

Gao vd. (2019) ilk kez rekombinant keratin nanopartikülleri (RKNP) dermal yara iyileşmesinde kullanmışlardır. RKNP'ler hücre göçü ve proliferasyonunun yanı sıra kolejen birikimini, epitelizasyonu ve vaskülarizasyonu da destekleyerek doku mühendisliği uygulamaları için gelecek vaat eden sonuçlar sunmuşlardır.

Hemostatik ajan olarak keratin (kaynak: insan saçı) hidrojellerin taşınması, depolanması ve kullanımındaki zorluklar nedeniyle Luo vd. (2016) değiştirilmiş bir emülsiyon difüzyon yöntemiyle keratin nanoparçacıklar geliştirmişlerdir. Geliştirilen keratin nanopartiküllerin hemostatik etkileri sıçanlarda karaciğer delinmesi ve kuyruk amputasyonunda test edilmiştir. Kontrol grubu olarak gazlı bezle basıncın kullanıldığı çalışmada karaciğer delinmesinde 50mg keratin nanopartikül kullanılmış ve uygulamadan 1 dakika sonra kanama durdurulmuştur. Kuyruk amputasyonunda ise 25 mg keratin nanopartikül kullanılmış ve 2 dakika sonra kanama durdurulmuştur. Nanopartiküller suyu sevmeye özellikleri sayesinde basınç etkisi sağlayabilen şeffaf bir zar oluştururlar ve keratin nanopartiküllerin küçük parçacık boyutları onların hemostatik etkinliğini artırmada etkili olabilir.

Bloise vd. (2020) kemik yapıcı faktörlerin 75 Hz frekans ve 2 mT manyetik indüksiyona günde 1 saat maruz kalmasının osteojenik farklılaşmayı artırdığını ve 3D yün keratin yapı iskelelerini osteokondüktif biyomateryal haline getirdiğini bildirmişlerdir. İn vivo örneklerde test edildiğinde pozitif kemik yanıtı ortaya çıkarabileceğini ve ameliyattan sonra doku iyileşmesini hızlandırabileceğini öngörmüşlerdir.

Tian vd. (2021) kıkırdak doku mühendisliğinde ekstrasellüler matriks bileşimini ve yapısını taklit etmek için suda çözünmeyen, 200 um'nin üzerinde gözenek boyutuna sahip ve dayanıklı bombyx mory ipek fibroin/yün keratin yapı iskelelerini dondurarak kurutma tekniği kullanarak imal etmişlerdir. İn vivo olarak sıçanlarda implantasyon bölgesi dokusunda neredeyse hiç enflamatuar tepkiye neden olmamasının yanı sıra in vitro sitotoksikite değerlendirmesinde iyi hücre büyümesi göstermesi ve toksisite olmaması kıkırdak doku mühendisliğinde potansiyele sahip olduğunu düşündürür.

Eslahi vd. (2016) kıkırdak doku mühendisliği için pluronic F127/kitosanı konjuge edip genopin kullanarak yün keratin ile çapraz bağlamışlar ve LAPONITE® nanoparçacıkları yapıya ekleyerek enjekte edilebilir bir hidrojel oluşturmuşlardır. Oluşturulan hidrojellerin çok iyi fiziko-mekanik özelliklere sahip olması, fizyolojik koşullar altında canlı hücreleri kapsülleme yeteneği ve sito-uyumlu olmaları, kıkırdak yapı iskelesi olarak yeniden yapılanma bölgesine destek sağlamak için rejeneratif tıpta kullanım potansiyeli olabileceğini düşündürmektedir.

Zhao vd. (2015) kemik dokusu rejenerasyonu için biyouyumlu, kalsiyum fosfat kaplı, elektroëğirilmiş insan saç keratini-polikaprolakton kompozit yapı iskeleleri oluşturmuşlardır. Yapı iskeleleri iki aşamalı bir yöntemle imal edilmiş olup gelişmiş mekanik özelliklere, biyouyumluluğa ve insan mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyon hızını artırma özelliklerine sahiptir. Sahip olduğu özellikler yapı iskelelerini kemik dokusu mühendisliği için potansiyel bir biyokompozit malzeme konumuna getirmektedir.

Gao vd. (2019) insan saçından indirgeme yöntemiyle çıkarttıkları keratini ileri işlemlerle gözenek boyutu ~200 µm çapında olan, belirli bir mekanik mukavemete, suda çözünmezliğe ve yüksek sıcaklık direncine sahip süngerler haline getirmişlerdir. Oluşturulan süngerler sıçanlarda siyatik sinir hasarında lezyonun çevresine sarılarak sinir onarımı için uygun alan sağlanmış, çevre dokulara yapışması önlenmiş ve sinir rejenerasyonu kolaylaştırılmıştır. Alınan sonuçlar keratin süngerlerin dorsal kök gangliyon nöronlarında aksonun uzamasını destekleyebileceğini düşündürmektedir.

Lin vd. (2012) ise siyatik sinir yaralanmalarında periferik sinir rejenerasyonu için kanal dolgu maddesi olarak keratin jel imal etmişlerdir. İnsan saç keratin/polikaprolakton grupları, boş polikaprolakton ve salin grupları ile karşılaştırıldığında Schwann hücrelerinin ve aksonlarının yoğunluğunu önemli ölçüde artırması, periferik sinir onarımında umut verici bir potansiyele işaret etmektedir.

Vazquez vd. (2012) keratin/kitosan membranlarının epitelyal, stromal ve endotelyal kornea hücrelerinin kültürlenmesi için iyi bir yapı iskelesi olduğunu bildirmişlerdir. Bu iskelelerin korneanın yeniden yapılandırılmasında kullanılmak üzere geliştirilebileceği düşünülmektedir.

Jung vd. (2021) kornea rekonsültasyonunda amniyotik zara bir alternatif olmasını hedefledikleri üç boyutlu (3D) bir fiber ağ ile elektrospun insan saçı keratin keratin/polivinil alkol nanofiber membran tasarlamışlardır. Tasarladıkları 3D keratin/PVA nano liflerinin pratik uygulamasını tavşan gözlerinde kornea replasmanı için incelemişlerdir. Elde edilen klinik ve histolojik inceleme sonuçlarının yanı sıra 3D morfoloji, konakçı ile yapay kornea arasında doku bütünleşmesini, şeffaflığı, biyouyumluluğu ve mekanik özellikleri geliştirmeyi desteklemesi gibi nedenlerle amniyotik zara bir alternatif olabileceği ileri sürülmüştür.

Borrelli vd. (2015) tarafından imal edilen farklı oranlarda alkali diyalizat içeren keratin (kaynak: insan saçı) filmler oküler yüzey rekonsültasyonu için tavşanlara uygulandı. Uygulamayı takip eden 4 hafta sonra hem steroid hem de nonsteroid gruplarda keratin 90/10 konsantrasyonunda 4 korneadan 3'ünde ve oküler yüzey rekonstrüksiyonu için klinik standart olan amniyotik membran gruplarının hepsinde şeffaf bir kornea gözlemişlerdir. Ayrıca topikal steroidlerin uygulanmasının, epitel hücre tabakasının transplantasyonu ve matris yenilenmesi gibi uygulamalar için faydalı olabilecek implant bozunmasını yavaşlatıyor gibi görüldüğünü bildirmişlerdir.

Guglielmelli vd. (2021) keratin (kaynak: yün) kaplı altın nano partiküller geliştirerek bir beyin kanseri türü olan glioblastoma karşı etkinliğini insan glioblastoma hücre hattı üzerinde in vitro olarak araştırılmışlardır. Keratin kaplı altın nano partiküllerin mükemmel biyouyumluluğu ve kanserli hücrelerin içine alınıp lazer ışığına maruz bırakıldığında ısınarak kanserli hücreleri öldürmesi ileriki çalışmalar açısından umut verici sonuçlardır.

2.2 Gübre ve Hayvan Yemi Olarak

Bhavsar vd. (2016) yünü aşırı yüksek sıcaklıkta (170°C civarı) hidroliz etmişler ve İtalyan organik gübreler yasasının kriterlerini karşılayan bir hidrolizat elde etmişlerdir. Elde ettikleri hidrolizatı bir dizi çimlenme testine tabi tutmuşlar fitotoksik olmadığını gözlemlemişlerdir. Yüzde çimlenme oranlarının 1g/L ve 10g/L'de sırayla %177 ve %90 değerlerine ulaşabildiğini bildirmişlerdir. Bu etkinin hidrolizat içerisindeki amino asitler, mikro elementler, azot içeriği ve nötr pH'dan kaynaklanıyor olabileceğini, topraktaki mikrobiyal aktiviteyi ve bitki büyümesini

uyarmak için gübreleme yoluyla toprağa doğrudan verilebileceğini bildirmişlerdir. Nustorova vd. (2005) koyun yününe alkalın hidrolizat eklenerek toprağın fiziksel ve biyolojik özelliklerini nasıl etkileyeceği laboratuvar ortamında 9 ay süresince araştırılmıştır. Atık ürün %75-80 oranında suda çözünür maddeler (petitler, aminoasitler, tuzlar, potasyum iyonları, boyalar, lipitler ve bazı karbonhidratlar) içermektedir. Hidrolizatın çavdar çimi büyümesini ve mikrobiyal toprak popülasyonunu olumlu etkilediği görülmüştür. Elde edilen sonuçlar hidrolizatın tarımda gübre olarak potansiyelinin olduğunu göstermektedir.

Bhange vd. (2016) yaptığı çalışmada, tüyler *Bacillus subtilis* PF1'in keratinolitik suşu tarafından bir karbon ve nitrojen kaynağı olarak metabolize edilmiştir. PF1 suşu tarafından farklı tüy konsantrasyonlarında, bitkilerde hücre bölünmesi, hücre uzaması, hücre farklılaşması ve patern oluşumundan sorumlu olan indol asetik asit üretimini desteklenmiştir. Toprakta tavuk tüyü ile birlikte PF1 suşu varken *Vigna radiata*'nın büyümesi araştırılmış ve büyümeyi destekleyici aktivite sergilediği görülmüştür. Topraktaki C/N oranının artması da tüylerin bitki büyümesini desteklediğini göstermektedir.

Coward-Kelly vd. (2006) inek kılı ve tavuk tüyünün Ca(OH)_2 -termal uygulama ile elde edilen hidrolizatları çok yüksek sindirilebilirliğe, soya fasülyesi proteini ve pamuk tohumu proteini ile benzer içeriğe sahip olmaları nedeni ile geniş getiren hayvanların beslenmesinde kullanılabileceği rapor edilmiştir.

Darah vd. (2013) *Microsporum fulvum* IBRL SD3'ten elde edilen ham keratinazlar tavuk tüyünün hidrolizinde kullanılmış ve hidroliz temel amino asitleri içeren bir tüy unu proteni ile sonuçlanmıştır. Tüy unu proteininin sahip olduğu amino asit içeriği, onun balık ve karides gibi canlıların beslenmesinde alternatif bir protein kaynağı olarak düşünülebileceğini göstermektedir.

2.3 İnşaat ve Otomotiv Alanında

Huda ve Yang (2009) aynı koşullar altında ürettikleri tavuk tüyü polietilen/polipropilen ve jüt-polietilen/polipropilen kompozitlerinin darbe direnci ve ses yalıtımını araştırmışlardır. Jütün tavuk tüyüne kıyasla daha yüksek en-boy oranına sahip olması onu mekanik açıdan daha güçlü yaptığını fakat ses yalıtımı açısından da tavuk tüyü ile oluşturulan kompozitlerin iki kat iyi bir özellik sergilediği

görülmüştür. Çalışmanın yapılma amacı otomotiv tavan döşemeleri olsa da bu kompozitlerin ses panelleri ve inşaat sektörü gibi alanlarda da gelecek vaat edebileceği düşünülmektedir.

Patnaik vd. (2015) iki tip atık yün lifi ve geri dönüştürülmüş polyester elyafları 50/50 karıştırarak ısı ve ses yalıtımı için iki katlı matlar üretmişlerdir. Çalışmada atık yün liflerinin polyester elyaf ile birleşiminden oluşan matlar, yalnız atık yün liflerinden ve yalnız polyester elyaftan oluşturulan matlardan daha iyi nem emme, akustik emme (50–5700 Hz %70'inden fazlasını emiyor), ısı yalıtımı ve yangın özellikleri gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Zach vd. (2012) yaptıkları çalışmada koyun yünü bazlı ısı yalıtım malzemelerinin mineral/taş yünü ile kıyaslanabilir özellikler gösterdiğini ve çevresel performans, kullanım kolaylığı, malzemeyi kullanırken çok düşük sağlık etkisi, yüksek enerji, verimli üretim ve daha yüksek yangın direnci gibi birçok avantaja sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca koyun yününün iyi nem emme özelliği yoğuşmayı önleyip, nemi düzenlemesi iç mekân atmosferi açısından önemlidir.

2.4 Biyosorbent Olarak

Yakın tarihli bir çalışmada Zubair vd. (2022) keratinin (kaynak: kümes hayvanı tüyü) yapısındaki çapraz bağları kırıp bunları nano grafen oksit ile modifiye ederek yüzey afinitesini artırdıkları nano tasarlanmış hibrit biyosorbentler oluşturmuşlardır. Oluşturulan biyosorbentlerin tek bir işlem ile kirli sudan Co, Ni, Zn, Pb ve Cd katyonlarını ve Cr, As, Se oksianyonlarını çok iyi bir uzaklaştırma kapasitesi sergilediğini görmüşlerdir. Keratin kaynaklarının ucuz olması ve keratinin kolay modifiye edilmesi bu süreçte yapılan uygulamaların sonuçlarının endüstriyel ölçekte de kullanım potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Zahara vd. (2020) sentetik atık sudan toksik eser elementleri uzaklaştırmak için kümes hayvanları tüyünün sekiz farklı modifikasyonu ile biyosorbentler oluşturmuşlardır. Sentetik atık sudan metal anyonlarının ve katyonlarının absorpsiyonunda keratin modifikasyonu ile oluşturulan biyosorbentler %60-90 oranında iyi bir kapasiteye göstermişlerdir.

Karthikeyan vd. (2007) sığır ve bufaloların boynuzlarından elde edilen boynuzunun asit hidrolizi sonucu ortaya çıkan, suda çözünen ve düşük moleküler ağırlıklı peptitleri, Cr^{3+} ile reaksiyona girer ve boynuzunu hidrolizat-Cr kompleksini oluşturur. Bu kompleksin deri tabaklama banyosunda yüksek krom tüketimi ve deparş akışındaki Cr tuzunun kirlilik yükünü azaltmada kullanılabileceği düşünülmektedir.

Song vd. (2020) boyalar için yüksek absorpsiyon kapasitesine ve randımanına sahip olması hedeflenen keratin-ipek fibroin filmleri moleküler ağ yeniden yapılandırma stratejisi ile mezoskopik ölçekte üretmişlerdir. Keratin kompozit filmlerin reaktif parlak mavi için maksimum uzaklaştırma verimliliği (%95.42 mg/g) ve absorpsiyon kapasitesine (%190.42) ulaşabileceği bunun yanı sıra çok iyi mekanik özellik gösterdiği, ideal rejenerasyon ve geri dönüşüm başarısı sergilediği bildirilmiştir. Absorbanların sahip olduğu bu özellikler onları çevresel iyileştirmede gelecek vaat eden bir aday konumuna getirmektedir.

2.5 Diğer Alanlarda

Barba vd. (2008) yünden hidrolize keratin peptitlerinin sulu bir çözelti ve yünden elde edilen lipidlerin lipozom süspansiyonu olarak iki farklı formülasyonda topikal olarak uygulamasında derinin su bariyeri fonksiyonunu belirlemek için in vitro uzun süreli çalışmalar yapmışlardır. Sorbsiyon-desorbsiyon testi yapılarak farklı uygulamalar yapılan cilt kısımlarının hidroskopik özelliklerini belirlemişlerdir. Çalışmada cilt bariyeri bütünlüğünü güçlendiğini, su tutma kapasitesini arttığını ve buna bağlı olarak derinin elastikiyetinin de arttığını rapor etmişlerdir. Sonuçlar yeni kozmetik ürünler tasarlamada keratin peptit ve yünden elde edilen lipidlerin kombinasyonunun faydalı olabileceğini göstermektedir.

Ngawhırunpat vd. (2006) yılan gömleğinin insan derisine benzerliği nedeniyle in vitro çalışmalarda insan derisinin alternatifi olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmışlardır. Hidrofilik ve lipofilik sekizer ilacın insan derisi ve yılan gömleğinden geçişi ile ilgili yaptıkları çalışmada lipofilik ilaçlar için benzer geçirgenlik kabiliyeti sergilendiğini fakat hidrofilik ilaçlar için yılan gömleğinin daha düşük bir geçirgenlik kabiliyeti gösterdiğini bildirmişlerdir.

Sacha vd. (2020) yaptığı yakın tarihli bir çalışmada Ngawhırunpat vd. (2006) ile aynı amaçla üç farklı yılan türünün gömleği (karın ve sırt bölgesi) ve insan derisinin in

vitro geçirgenlik deneyleri için hidrofilik bir model madde olarak kafein kullanarak araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar bir tür yılanın karın bölgesi derisi dışında yılan gömleğinin geçirgenliğinin insan derisine benzer olduğunu göstermiştir.

Tavuk tüyünden elde edilen öğütülmüş toz, uzun keratin biyolifleri, kısa keratin biyolifleri kitosan-niştasta matrisi ile iyi bir biyouyumluluk sergilemiş ve bunun sonucu olarak da neredeyse homojen bir dağılım göstermiştir. Keratini eklenmesi saf matrise göre termal dayanıklılığı ve depolama modülünü artırmıştır (Flores-Hernandez vd., 2014).

Shen vd. (2019) geliştirilmiş filtrasyon ve antibakteriyal özelliğe sahip, gümüş (Ag) katkılı keratin (kaynak: yün)/Poliamid-6 kompozit nano fiber membran geliştirmişlerdir. Keratinin Poliamid-6 ile birlikte kullanımının hava filtrasyonunun yanı sıra su buharı geçişini de olumlu etkilediği görülmüştür. Gümüş nano parçacıklarının eklenmesi ise *Staphylococcus aureus*'a karşı %96.8, *Escherichia coli*'ye karşı %95.6'ya kadar çıkan bir bakteriyel filtrasyon verimliliği elde edilmesine sağlamıştır. Elde edilen sonuçlar, membranın hava temizleyici ve kişisel bio-koruyucu olarak kullanım potansiyeline sahip olabileceğini ortaya koymaktadır.

Kuzmanova vd. (2018) biyogaz üretimi için çeşitli koyun ırklarının yün lifleri üzerinde sıvı nitrojen ön işleminin etkisini araştırmışlardır. Bazı yünlerde, ham eşdeğer yün ile karşılaştırıldıklarında biyogaz veriminde %80'den fazla artış gözlenmiştir. Çalışma yün liflerini biyogaz potansiyelinin yünün türü ve kaynağına göre değişebildiğinin yanı sıra sıvı nitrojen ön işleminin parça boyutunu küçülttüğünü ancak moleküler yapı üzerinde sınırlı etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Shi vd. (2014) metil, etil, bütil ve heksil metaakrilatlar ile aşılınmış tavuk tüylerinden, iyi bir kuru ve ıslak gerilme özelliğine sahip olan ve biyolojik olarak parçalanabilen termoplastikler üretmişlerdir. Aşılı tüyler, zincir uzunluklarının artması ile daha yüksek uzama ama daha düşük mukavemet göstermişlerdir. Bu sonuçların ticari uygulamalarda termoplastiklerin geliştirilmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

Reddy vd. (2013) ise tavuk tüyünü akrilatlar (metil/etil/bütil) ve metaakrilatlar (metil/etil/bütil) ile aşılayıp termoplastik üretmişlerdir. Tavuk tüyünün aşılınması ile

elde edilen sonuçlar, tıbbi uygulamalar için istenilen su stabilitesi ve biyouyumluluk ile tüylerden termoplastikler geliştirmek için uygun bir yöntem gibi görülmektedir.

Taşkın vd. (2016) yaptıkları çalışmada koyun yünü proteini hidrolizatının mikrobiyal kültür ortamının maliyetli bileşenlerinden biri olan peptonlar için, bir pepton kaynağı olup olmadığını araştırmışlardır. Optimal yün peptonu konsantrasyonu mantarlar için 5 g L⁻¹, bakteriler için 6 g L⁻¹ olarak belirlemişlerdir. *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis*, *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* ve *Escherichia coli* ile yapılan araştırmada yün peptonlarının *Aspergillus niger* ve *Escherichia coli* için iyi bir büyüme substratı olduğunu gösterilmiştir.

Latha vd. (2016) tavuk tüyünün üç aşamalı kimyasal işlevselleştirilmesi yoluyla biyolojik olarak parçalanabilen ve çevre dostu yağlayıcı katkı maddeleri sentezlemişlerdir. Sentezlenen materyal referans baz maddesi olarak alınan polyolün oksidatif stabilitesini 1.5 kat arttırdığı için iyi bir antioksidan olduğu, korezyon önleyici özelliklerinin iyi olduğu ama herhangi bir sürtünme önleyici etki göstermemesi nedeni ile aşınma önleyici bir katkı maddesi olarak orta düzey olduğu rapor edilmiştir.

Chougale vd. (2023) gelişmiş elektronik uygulamalar için dorsal kısmı altıgen desenli yılan gömleğini araştırmışlardır. Petek yapılı yılan gömleği yüksek gözeneklilik, sağlamlık, biyouyumluluk ve esneklik gibi özelliklere sahiptir. Ek olarak çeşitli fonksiyonel gruplarının varlığı ve yüksek keratinizasyon ona piezo ve triboelektrik özellikler kazandırır. 20cm² boyutundaki triboelektrik nanojeneratör (TENG), RF püskürtmeli Ag elektrotlu tribopozitif yılan gömleği, bakır elektrotlu tribonegatif PTFE ve PET substratı da destekleyici bir substrat olarak kullanılarak üretildi. Piezoelektrik nanojeneratör (PENG) de ise üst ve alt elektrotlar olarak hareket etmesi için yılan gömleğinin her iki tarafına Ag püskürtülmüş ve zardan bir piezoelektrik katman olarak faydalanmışlardır. Piezoelektrik cihazın yalıtımı kapton levha kullanılarak sağlanmıştır. Piezo-süper kapasitörünün cihaz da rGO tozu: PVDF: iletken karbon 8:1:1 oranında alınmış ve NPM solüsyonu damlatılmıştır oluşturulan karışım karbon kumaş üzerine boya kaplama tekniği kullanılarak rGO elektrotlarının hazırlanmasında kullanılmıştır. Önerilen cihazlar, ticari olarak temin edilebilen bir dielektrik kapasitörü şarj etme kabiliyeti göstermiştir. PENG cihazı 55.000, TENG cihazı ise 78.000'den fazla döngü süresince mükemmel bir kararlılık

sergilemiştir. Bunun yanı sıra PENG'in bir sağlık izleme, konuşmacı, ses titreşim algılama ve sınıflandırma özellikleri de gösterilmiştir. Yılan gömleği/rGO piezo-süper kapasitör için, 72mJ/m^2 'lik en yüksek enerji yoğunluğu 1.2mW/cm^2 'lik en yüksek güç yoğunluğu değerinin yanı sıra 82mF/cm^2 'lik bir kapasitans rapor edilmiştir. Ek olarak cihaz 0.6V 'a kadar şarj olurken, 7000 döngüden sonra dahi ilk kapasitans değerinin %95'ini muhafaza etmiştir. Bu çalışmada Chougale ve ark. makro altıgen desenli yılan gömleğinin vücuda yerleştirilebilir, esnek ve çevre dostu gelişmiş enerji toplama, depolama ve algılama teknolojisini geliştirmek için potansiyeli yüksek bir aday olduğunu bildirmişlerdir.

Jayaweera vd. (2018) ise triboelektrik nanogeneratörlerin (TENG) hazırlanmasında insan saçı kullanımını rapor etmişlerdir. Saçı çözmek için etanollenmiş NaOH kullanılıp daha sonra temas ayırma modunda çalışan TENG'ler için elektrot substratları üzerinde saç bazlı filmler imal etmede çubuk ve döndürme kaplama tekniğinden faydalanmışlardır. Çubuk ve eğirerek kaplanmış saç filmlerinin kalınlıkları sırasıyla $55\text{ }\mu\text{m}$ ve $6.9\text{ }\mu\text{m}$ idi ve tekrarlanan temas/ayırma durumlarından toplanan elektrik gücünü $1.2\text{ M}\Omega$ direnç boyunca sırasıyla $19\text{ mW}\cdot\text{m}^{-2}$ ve $60\text{ mW}\cdot\text{m}^{-2}$ olarak rapor etmişlerdir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

Dolichophis caspius'a (Hazer yılanı, bozyörük) ait yılan gömleği aktardan temin edilmiştir. Dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarına ayrılmıştır. Bu kısımlar distile su ile yıkanıp, UV ile steril edildikten sonra doğal hali korunarak kullanılmıştır. Yılan gömleği kısımları Şekil 3.1 'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Yılan gömleği kısımları.

3.1 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopu (FT-IR)

Yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının IR spektrumları 600-4000 cm^{-1} aralığında, bir Thermo Scientific Nicolet 6700 FT-IR kullanılarak kaydedilmiştir.

3.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

İşlem görmemiş yılan gömleğinin; ventral ölçek, dorsal ölçek ve ölçekleri birbirine bağlayan menteşe kısımlarının yüzey morfolojisi ve enine kesiti 5 kV'da SEM ile 1.000-20.000x büyütme kullanılarak incelenmiştir. Hazırlama aşamasında numuneler, yönleri belirlenerek elektriksel olarak iletken çift taraflı yapışkan bant ile alüminyum bir tabla üzerine yapıştırıldı ve ardından numunelere iletkenlik kazandırmak için Sputter Coater (Cressington Auto 108) ile altın / paladyum ile kaplandı daha sonra ise görüntüleme sonuçları FEI Quanta FEG 250 SEM cihazı ile kaydedildi.

3.3 Termogravimetrik Analiz (TGA) ve Diferansiyel Termal Termogravimetrik (DTG)

Yılan gömleği dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının artan sıcaklığa ve zamana bağlı olarak değişecek ağırlık değişimleri, su içeriği ve kül içeriği Hitachi

Exstar- SII TG/DTA 7300 ile termogravimetrik analizle analiz edildi. Yılan gömleği kısımları nitrojen atmosferi altında $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ısıtma hızında 30°C 'den 700°C 'ye ısıtıldı.

3.4 X-Işını Kırınım Yöntemi (XRD)

XRD, kristal fazların eşsiz atomik dizilerine bağlı olarak X-ışınlarını maddeye özgü bir düzen içerisinde kırması temeline dayanır. Yılan gömleği kısımlarının XRD analizi, Panalytical- Empyrean difraktometresi ile $5-45^{\circ}$ tarama aralığında, 40 kV, 30 mA ve 2θ tarama açısında gerçekleştirildi.

3.5 Elementel Analiz (CHNS Analizi)

Yılan gömleği kısımlarının C, H, N ve S element yüzdelerinin tahmin etmek için Thermo-Flash 2000 cihazı kullanılmıştır. Analiz, yanıcı olarak oksijen gazı, taşıyıcı olarak ise helyum gazı kullanılan bir cihazda, $950-1000^{\circ}\text{C}$ ki sıcaklıkta yaklaşık 2'şer mg'lık dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşenin yakılması yoluyla yapıldı.

3.6 Temas Açısı Ölçümü

Yılan gömleği kısımlarının hidrofobisitesini belirlemek amacıyla, statik su temas açısı ölçümleri, bir temas açısı ölçer olan Attesion-Theta Lite ile yapıldı. Statik su temas açısı ölçümleri damlacıkların yerleştirilmesinden 5 saniye sonra gerçekleştirildi. Temas açısını belirlemek için damlacıkların hacmi $3\ \mu\text{L}$ 'ye sabitlendi. Raporlanan değerler yüzeylerin en az üç farklı bölgesinde yapılan ölçümlerin aritmetik ortalamasıdır.

3.7 3-(4.5-dimetiltiazol-2-yl)-2.5-difeniltetrazolyum bromid (MTT)

3.7.1 Hücre kültürü

Yılan gömleğinin ventral ölçek, dorsal ölçek ve menteşe kısımlarının biyoyumluluğunu değerlendirmek için kullanılan L929 (Fibroblast) hücreleri HUKUK, Sap Enstitüsü'den temin edilmiş monolayer adherent yapıda hücrelerdir. Hücreler, %10 fetal sıgır serumu (FBS), penisilin (100 ünite / ml) ve streptomisin (100 ug / ml) ile desteklenmiş Dulbecco'nun değiştirilmiş Eagle ortamında (DMEM) büyütülmüş, günlük olarak mikroskop ile kontrolleri gerçekleştirilerek, %80 konfluensiye ulaştıklarında pasaja alınmışlardır.

3.7.2 Örneklerin hazırlanması

Analizden önce 2x5 mm çapındaki örnekler UV ve %70 etanol (15 dk, 2 defa) ile sterilize edilmiş, steril PBS (pH 7.4, 15 dk, 3 defa) ile durulanmış ve DMEM de (15 dk) inkübe edilmiştir.

3.7.3 MTT analizi

MTT analizi için, hücre süspansiyonu, kuyu başına 1×10^4 konsanstrasyonda hazırlanmış ve 96 kuyulu kültür plakalarına ekilmiştir. Kültür plakaları %5 CO₂'de %95 nem ortamındaki bir inkübatörde 37°C'de 24 saat süreyle bırakılmıştır. 24 saat sonra, kültür ortamı tazelenerek her kuyuya biyomalzemeler eklendi ve kültürler, ortam değişikliği yapılmadan inkübasyon süreleri (24, 48 ve 72 saat) için daha önce belirtilen koşullardaki inkübatörde tutulmuştur. İşlem görmemiş kontrol hücreleri de büyüme yüzdesini karşılaştırmak için muhafaza edilmiştir. Biyomateryalin hücreler üzerindeki sitotoksitesisi, klasik MTT testi ile değerlendirildi. 24, 48 ve 72. saatlerde kuyucuklardan biyomateryaller çıkarıldıktan sonra MTT ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$) solüsyonu eklendi ve 37°C'de 3 saat boyunca karanlık bir ortamda tutulmuştur. Daha sonra MTT aspire edilerek 100 ul DMSO ile formazan kristallerinin çözülmesi sağlanmıştır. Rengin 492 nm'de stabilizasyonu için 5 dakika bekledikten sonra absorbans bir ChroMate®ELISA okuyucu kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Biyomateryal içermeyen kontrol hücrelerin canlılığı %100 olarak kabul edilmiştir. Hücrelerin canlılık yüzdesi (%) bu parametre baz alınarak hesaplanmıştır (Denklem 3.1).

$$\% \text{ Canlılık} = ((A_{\text{örnek}} - A_{\text{blank}}) / (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{blank}})) \times 100 \quad (3.1)$$

3.7.4 İstatistiksel analiz

Verilerin analizi, GraphPad Prism yazılımının sürüm 5 versiyonu (GraphPad Software®) kullanılarak yapıldı. Veriler, ortalama-standart hatası ile gösterilmiştir. İstatistiksel farklılıklar One-way ANOVA ve ardından Tukey post-hoc testi (%95 güven aralığı) ile değerlendirildi. $p < 0.05$ olan p değerleri istatistiksel olarak fark olarak kabul edildi.

3.8 Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS)

3.8.1 Numune-çözünürleştirme

Yılan gömleği örneğinden yaklaşık 0.1 g alınarak üzerine 2ml HNO₃ ve 3 ml H₂O₂ eklenmiştir. Mikrodalga çözünürleştiricide (kapalı sistem) yaş yakma metoduna göre sıcaklık ve basınç programı uygulanmıştır. Elde edilen duru çözeltiler alınarak saf su ile 25 ml ye seyreltilmiştir (Berghoff marka). Bu işlemlerin hepsi dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımları için ayrı ayrı yapılmıştır.

3.8.2 ICP-MS analiz

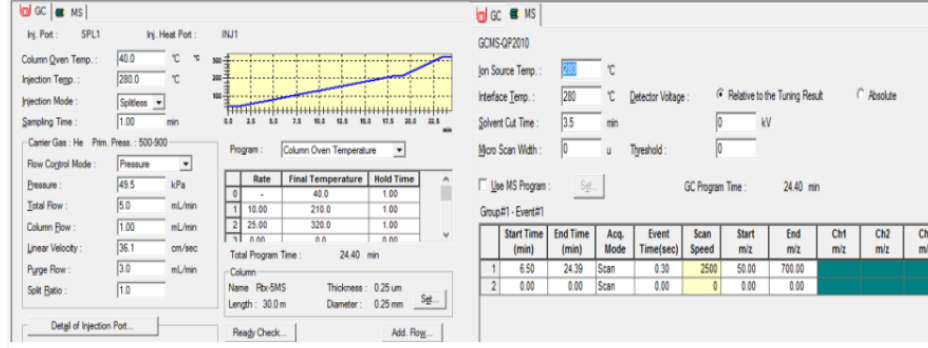
Analize başlamadan analizi yapılacak elementleri içeren bilinen derişimlerde (0, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 ppb) standartlar hazırlanır. Cihazın ölçüm parametrelerini kontrol etmek için cihazdan tune çözeltisi (200 ppb Li, Yb, Cs) geçirilerek performans ayarı yapılır.

Cihazın performansı tune çözeltisi ile kontrol edildikten sonra analizi yapılacak elementleri içeren yöntem belirlenerek önce standartlar cihaza okutulur sonra çözünürleştirilerek seyreltilen örneklerin analizine geçilir. Analiz esnasında tüm periyodik tabloyu temsilen analiz edilecek elementlerin dışında 200 ppb lik iç standart elementlerini içeren çözelti (Be, Sc, Rh, Bi) cihaza verilir. Çözünmüş örnekler Agilent marka 7500a model ICP MS cihazında analiz edilir.

3.9 Amino Asit Analizi

Amino asit analizi öncesi asit hidrolizi Gehrke ve ark. yaptığı çalışmadan modifiye edilerek yapılmıştır (Gehrke vd. 1985). Yılan gömleğinin dorsal, ventral ve menteşe kısımlarının her birinden 10 mg örnek 3 farklı tüpe konuldu. Ardından üzerlerine 6N 10ml HCl eklendi. 60C° de 4 saat titreşimli karıştırıcı kullanılarak hidroliz edildi. Hidrolize edilen örnekler 0.45 µm membran filtre (Minisart, Sartorius Stedim Biotech, Germany) ile filtre edilmiştir. Filtre edilen örnekler liyofilizasyonda 48-72 saat süreyle kurutuldu. Kurutulan örnekler metanol de çözüldü. Çözülen örnekler TMCI (trimetilsilane) ile türevlendirme işlemine geçildi. Metanolde çözülmüş örneklerden 1 er ml alınarak 50 mikrolitre TMCI ilave edildi. Titreşimli karıştırıcıda 50C° 6 saat süreyle türevlendirme işlemi yapıldı. Elde edilen örnekler soğuduktan sonra analize geçildi. Analiz GCMS/QP2010 ULTRA (SHIMADZU) ile Rtx-5MS

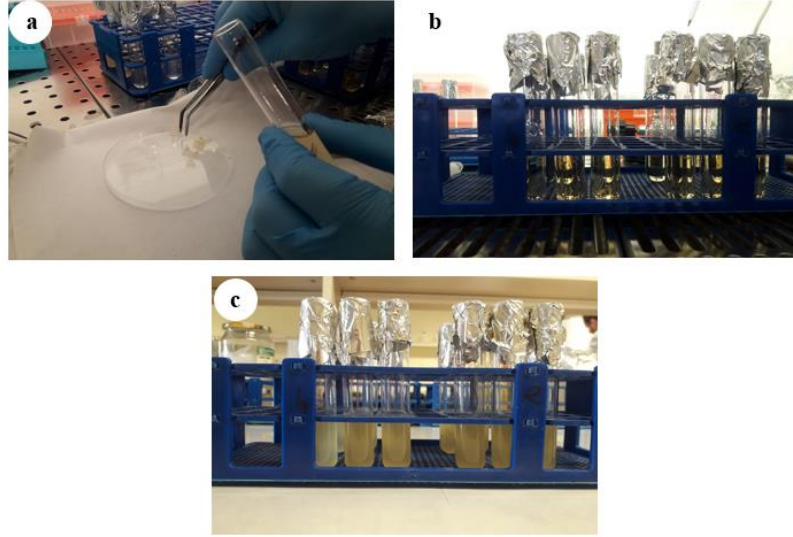
kolonu ile gerçekleştirilmiştir. Analiz için kullanılan parametreler Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2. Amino asit analizi için kullanılan parametreler.

3.10 Antimikrobiyal Aktivite

Yılan derisi numunelerinin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla, Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922) ve Gram pozitif (*Streptococcus mutans* ATCC 25175) olmak üzere 2 mikroorganizma türü kullanılmıştır. Antimikrobiyal çalışmamızda kullanılan test mikroorganizmaları Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu’ndan temin edilmiştir. Bakteriler Muller Hinton broth besiyerinde 37°C sıcaklıkta bir gece inkübe edildi. Gece kültüründen genç kültür hazırlanmış, UV-VIS Spektrofotometre kullanılarak bakteri konsantrasyonları 5×10^5 CFU/mL olacak şekilde 0.5 McFarland’a göre ayarlanmıştır. Bakteriler Muller Hinton broth sıvı besiyerine aşılanmış, ardından adezyon testi için yılan derisinin ventral, dorsal ve menteşe kısımları bakteri süspansiyonuna aktarılmış ve 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tüm numuneler çıkartılıp PBS solüsyonu ile yıkanmıştır. Böylece örnekler tutunmamış bakteriler uzaklaştırılmıştır. Daha sonra tüm örneklerin taramalı elektron mikroskobu kullanarak görüntülenmesi gerçekleştirilmiş ve bakteri adezyonu değerlendirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. a) Örnek ekleme, b) İnkübasyon öncesi bakteri solüsyonları, c) İnkübasyon sonrası bakteri solüsyonlarındaki bulanıklık (türbidite).

3.11 Hücre Kültürü

Yılan gömleği hücre kültürü uygulaması için, yılan gömleği %70 etanol ile yıkanmış, eşit boyutlarda olacak şekilde kesilmiş, ardından 121°C’de 1.5 atmosfer basınç altında 3 dakika otoklavlanmıştır. Steril örnekler, steril cam lamellere tutturulmuş ve 12 kuyucuklu plakalara yerleştirilerek örnek hazırlama ve sterilizasyonu yapılmıştır.

3.11.1 L929 Hücre kültürü

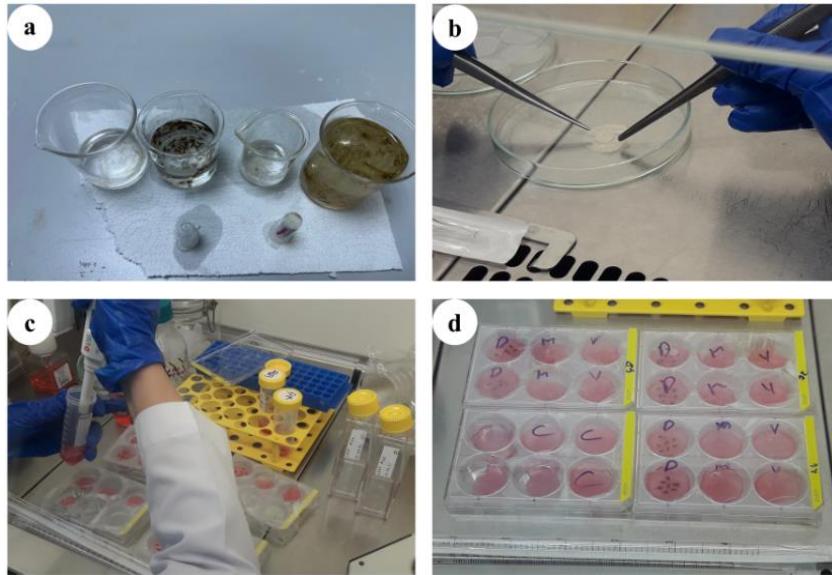
L929 (Fibroblast) hücreleri HUKUK, Sap Enstitüsü’den temin edilmiş monolayer adherent yapıda hücrelerdir. L929 hücreleri için uygun besi yeri olan DMEM (Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium) içerisine %10 FBS ve 10 U/ml penesilin-streptomisin eklenerek hazırlanmıştır. 75 cm²’lik petrilere ekilen hücreler 37°C sıcaklık ve %5 CO₂ koşullarına ayarlanmış inkübatörlerde büyütülmüştür. Petri içerisinde hücre yoğunluğu %80’i aştığında; hücre üst medyası dikkatlice uzaklaştırılmış ve hücreler 1X PBS ile yıkanmıştır. Tripsin EDTA yardımı ile yüzeyden toplanan hücreler 2000 rpm’de 5 dakika santrüfj edilmiştir. Elde edilen hücre pelleti taze besi yerinde süspanse edilmiş, içerisinde alınan örnek 1:1 oranda tripan mavisini ile boyanarak hemositometre yardımıyla canlı ve ölü hücre sayısını belirlemek için sayılmıştır.

3.11.2 Steril örnekler üstüne hücre ekimi

Canlı ve ölü hücre sayısı belirlenmiş süspansiyon içerisinde, her kuyucuk içerisinde 25×10^4 hücre olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirilir. Ardından hücreler uygun koşullar altında inkübatör içerisinde büyütülür. Ekimi takiben 24, 48 ve 72. saatlerde replika plakaların boyama ve fiksasyonu gerçekleştirilir.

3.11.3 DAPI boyama

Hücrelerin yılan gömleği üzerine tutunmalarını göstermek için DAPI (4',6-diamidino2phenylindole) boyaması gerçekleştirilmiştir. DAPI özellikle A-T adacıklarına bağlanan DNA'ya afinitesi yüksek mavi floresan bir boyadır. İnkübasyon süresi dolan hücreler üstünden üst medya çekilmiş, PBS ile yıkanıp ardından %4'lük paraformaldehit ile 20 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. Süre dolumunu takiben örnek PBS ile yıkanmış ardından DAPI solüsyonu ile 15 dakika muamele edilmiştir. Fazla floresan boya PBS yıkaması ile uzaklaştırıldıktan sonra gardiyen etanol (%70, %80 ve saf) yıkaması ile fiksasyon tamamlanmıştır. Örnekler floresan mikroskobu altında görüntülenmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. a) Etanol ile yıkama, b) örnekleri otoklav sonrası steril cam üzerine örnekyerleştirme c) hücre ekimi, d) etüve girmeye hazır plakalar.

3.12 İlaç Yükleme

3.12.1. Pasif yükleme tekniği ile D-Pantenol'ün yılan gömleğine (dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe) yüklemesi

Pasif yüklemede kullanılan D-panthenol'ün 1 ml'sinde 0.774 g/ml pantenol vardır. 1 ml'sinde 25 mg D-pantenol olacak şekilde ayarlanmış ve 1.62 ml kullanılmıştır. 1.62 ml D-panthenol 50 ml'lik balon içerisine konulup üzeri distile su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan bu D-panthenol karışımından 1 ml alınıp distile su konularak 10 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu 25 mg örnek eklenerek çalkalayıcıda 100 rpm'de ve 25°C sıcaklıkta 48 saat bekletilmiştir. 48 saat sonunda örnekler filtre kağıdından süzülerek 28°C'de 36 saat etüvde bekletilmiştir. Tüm işlemler dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımları için ayrı ayrı yapılmıştır.

3.12.2 Kapsülleme verimliliği

Yılan gömleği örneklerinden 5'er mg tartılıp 3 ml distile su eklenmiştir. 10 dakika boyunca vorteks ile karıştırılarak 5 dakika boyunca sonikatörde bekletilmiştir. Daha sonra kurutma kağıdından süzülen örnekler etüvde kurutulmuştur. *Dolichophis caspius* (Hazer yılanı, bozyörük)'un gömleğine yüklenen D-Panthenol'ün kalibrasyon eğrisini elde etmek için farklı konsantrasyonlarda 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml ve 25 µg/ml'de çözülmüş ve çözeltilerin absorbansı, bir UV VIS spektrofotometre kullanılarak 210 nm'de ölçülmüştür. Dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe olmak üzere her bir kısmın ilaç yükleme etkinliğini değerlendirmek için her bir örnekten 5'er mg tartılıp 3 ml distile su eklenmiştir. 10 dakika boyunca vorteks ile karıştırılarak 5 dakika boyunca sonikatörde bekletilmiştir. Daha sonra örnekler kurutma kağıdından süzülerek berrak çözelti toplanmıştır. Çözeltinin absorbansı UV-spektrofotometre kullanılarak 210 nm'de ölçülmüştür. Yükleme verimliliği kalibrasyon doğrusu kullanılarak aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır (Denklem 3.2, 3.3, 3.4).

$$\text{İlaç miktarı (mg)} = (\text{absorbans} \times \text{seyreltme faktörü}) / (\text{eğim} \times 1000) \quad (3.2)$$

$$\text{İlaç yükleme(\%)} = (\text{ilaç miktarı} / \text{yılan gömleği kısımlarına yüklenen ilacın miktarı}) \times 100 \quad (3.3)$$

$$\text{İlaç yükleme verimliliği(\%)} = (\text{hesaplanan ilaç yüklemesi} / \text{teorik ilaç yüklemesi}) \times 100 \quad (3.4)$$

3.12.3 D-Pantenol yüklü yılan gömleği kısımlarının in vitro salım çalışmaları

İn vitro, basit yükleme tekniği kullanılarak elde edilen D-Panthenol yüklü yılan gömleği kısımlarından ilaç salım çalışmaları pH 5.5 tampon kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, 15 mg D-Panthenol yüklü yılan gömleği kısımları (dorsal ölçek, ventral ölçek, menteşe) 5 ml tampon çözeltisine ayrı ayrı ilave edilmiştir. Her çözelti daha sonra diyaliz torbaları içerisine aktarılmış ve 50 ml tampon çözelti içerisine yerleştirilmiştir. Daha sonra numuneler 37°C’de 100 rpm de 24 saat boyunca bir su banyosunda çalkalanmıştır. Diyaliz torbasında bulunan yılan gömleği kısımlarından tampon (pH 5,5) solüsyonuna salınan D-Panthenol miktarını hesaplamak için 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ve 24. saat zaman aralıklarında örnek alınmıştır. Hacmi korumak için ortama tekrar aynı miktarda taze tampon solüsyonu (pH 5.5) ilave edilmiştir. UV-VIS spektrofotometre kullanılarak alınan örneklerin 210 nm de ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca serbest ilaç salımını kontrol etmek için tampon solüsyonuna 42 ml panthenol çözeltisi eklenmiştir ve yukarıdaki prosedür izlenerek salım çalışması yapılmıştır.

D-Panthenol’ün kümülatif yüzde salımını hesaplamak için aşağıdaki denklemler kullanılmıştır:

$$\text{İlaç konsantrasyonu (mg/mL)} = (\text{Absorbans} \times \text{Eğim}) \pm \text{Kesme noktası} \quad (3.5)$$

$$\text{İlaç miktarı (mg)} = \text{Konsantrasyon} \times \text{Çözünme banyo hacmi} \quad (3.6)$$

$$\text{Kümülatif yüzde salım (\%)} = (\text{Ortamdan alınan örneğin hacmi (mL)} / \text{Çözünme banyo hacmi (ml)}) \times P(t-1) + P_t \quad (3.7)$$

P_t, t zamanındaki yüzde salımı, P(t-1), t’den önceki yüzde salımdır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Fourier Dönüşümlü kızılötesi spektroskopu (FT-IR)

Yılan gömleğinin yapısında bulunan keratinin, kızılötesi absorpsiyon spektrumları 4000-400 cm^{-1} bölgelerinde kaydedilmiştir. Protein içerikli yapılarda yaygın olarak bulunan peptit bağlarındaki (-CONH-) atomlar FTIR spektrumunda proteinler için karakteristik olan amid A, amid I, amid II ve amid III absorpsiyon bantlarını oluşturarak salınırlar (Du vd., 2022). Bu absorpsiyon bantları keratin molekülünün konformasyonuna göre farklı yoğunluk ve konumda olabilir (Wojciechowska vd., 1999).

Literatüre göre, Amid A, amid I, amid II ve amid III'ün bant atama aralıkları şöyledir; N-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanan amid A bandı ($3310\text{-}3270\text{ cm}^{-1}$) aralığında yer alır. NH grubu üzerine sınırlanır ve bu nedenle polipeptit omurgasına duyarsız proteinlerde bulunur (Barth, 2007). ($3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$) aralığındaki bantlar CH_2 ve CH_3 gerilmesine atfedilir (Ripamonti vd., 2009). Amid I ($1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$) aralığında yer alır ve esas olarak C=O gerilmesinden kaynaklanır. Amid II ($1560\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$) N-H eğilmesi ve C-N gerilmesiyle ilişkilendirilmiştir (Kakkar vd., 2014). ($1300\text{-}1220\text{ cm}^{-1}$) bölgesindeki zayıf bant, C-N gerilmesinden ve N-H eğilmesinden türetilen amid III bandına ve C=O eğilme ve C-C esneme titreşimlerinden gelen sinyallere karşılık gelmektedir (Sharma vd., 2018).

Literatür bilgileri ışığında amid I, II ve III bölgeleri proteinlerin ikincil yapıları (α -heliks, β yaprak, β dönüşler ve rasgele bobinler) hakkında tahminde bulunmamıza yardımcı olmaktadır. Peptit bağlarının C=O gerilme titreşimlerinden dolayı amid I'in ikincil yapıya daha duyarlı olduğu düşünülmektedir. Amid I ($1657\text{-}1650\text{ cm}^{-1}$) ve amid II ($1550\text{-}1540\text{ cm}^{-1}$) arasındaki bantlar α -sarmal konformasyonunu işaret etmektedir. Amid I $1635\text{-}1615\text{ cm}^{-1}$ ve amid II $1535\text{-}1520\text{ cm}^{-1}$ bant aralığı ise β yaprak konformasyonuna sahiptir (Kakkar vd., 2014). Amid III de ise; ($1330\text{-}1295\text{ cm}^{-1}$) α -helikse, ($1295\text{-}1270\text{ cm}^{-1}$) β dönüşlerine, ($1270\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$) rastgele bobinlere, ($1250\text{-}1220\text{ cm}^{-1}$) aralığı ise β yapraklara atfedilmektedir (Cai ve Singh, 1999).

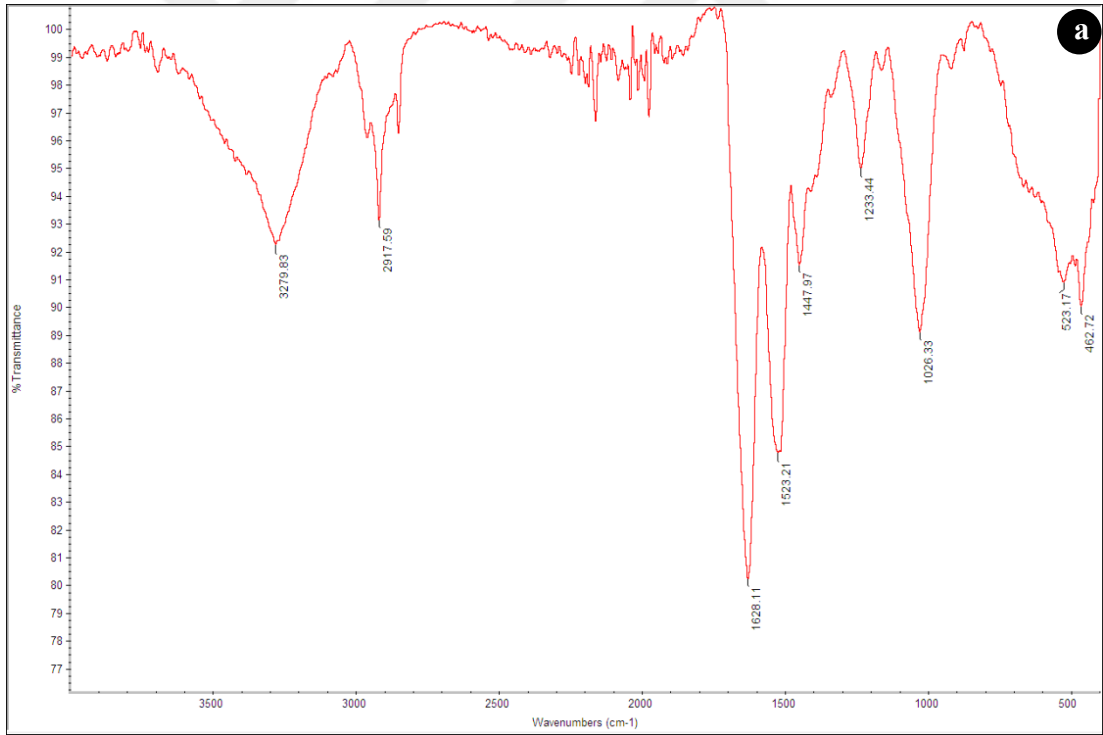
Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 yılan gömleğinin menteşe, dorsal ölçek ve ventral ölçek kısımlarının ftir spektrumlarını göstermektedir. Bu üç kısmın da ftir spektrumu

daha önceki çalışmalarda bildirilen keratin ftır sonuçlarıyla uyumludur (Barry vd., 1993; Ripamonti vd., 2009). İkincil yapı hakkında daha iyi tahminde bulunabilmek için amid I ve amid II bantlarının genişletilmiş halleri de verilmektedir. N-H gerilme titreşiminden kaynaklı amid A bandı değeri menteşe bölgesi için 3277.20 cm^{-1} iken bu değer dorsal ölçekte 3279.79 cm^{-1} , ventral ölçekte ise 3279.83 cm^{-1} dır. Esas olarak C=O gerilmesinden kaynaklanan amid I bandı menteşe bölgesinde 1641.90 cm^{-1} , dorsal ölçek de 1632.19 cm^{-1} ve ventral ölçek de 1628.11 cm^{-1} de kuvvetli pikler vermişlerdir. Menteşe bölgesinde 1235.71 cm^{-1} , dorsal ölçek de 1233.45 cm^{-1} ve ventral ölçek de 1233.44 cm^{-1} olan zayıf soğurma pikleri ise C-N gerilmesinden ve N-H eğilmesinden türetilen amid III bandına ve C=O bükülme ve C-C esneme titreşimlerinden gelen sinyallere karşılık gelmektedir.

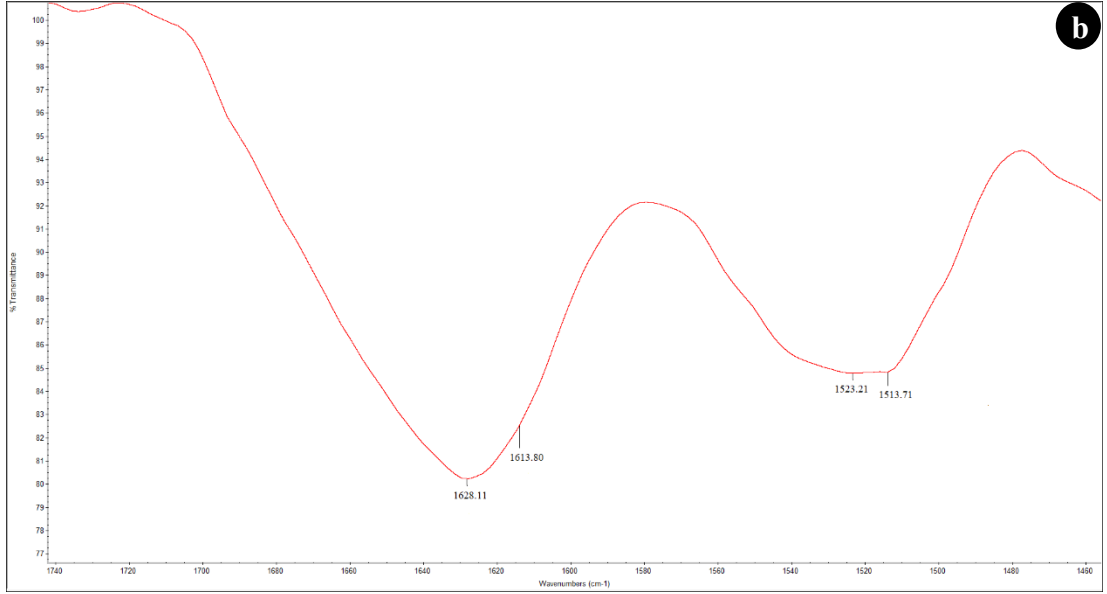
Menteşe bölgesinde sırasıyla 1641.90 ve 1538.20 cm^{-1} 'de α -sarmal yapıya atfedilen amid I ve II bantlarını görölmektedir. Bunun yanı sıra spektrumun genişleyen bölgesindeki sırasıyla 1629.58 ve 1513.83 cm^{-1} 'deki amid I ve II omuz bandı ve 1275.71 cm^{-1} 'deki amid III bandı β yaprak tabakayı işaret etmektedir. Dorsal ölçek kısmında genişletilmiş amid I ve II bandındaki 1645.88 ve 1535.10 cm^{-1} 'deki bantlar α -sarmal yapısını, 1632.19 ve 1515.86 cm^{-1} 'deki amid I ve II bantları ve 1233.45 cm^{-1} 'deki amid III bandı β yaprak yapısını göstermektedir. Ventral ölçekte ise genişletilmiş amid I ve II bölgelerindeki, 1628.11 , 1613.80 , 1523.21 , 1513.71 cm^{-1} bant değerleri ve 1233.44 cm^{-1} deki amid III bandı β yaprak yapısıyla ilgilidir. Bu veriler ışığında menteşe ve dorsal ölçek kısımlarında α -sarmal ve β yaprak yapı birlikte bulunmasına rağmen β yaprak yapının özellikle menteşe kısmında daha yoğun olduğu ve ventral ölçeğin ise tamamen β yaprak tabakadan oluştuğu yorumu yapılabilir. Daha önce farklı yılan türleri ile yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi yılan gömleği yapısında alfa ve beta keratinler birlikte bulunur ve Oberhautchen tabakasının yapısını da beta keratinler oluşturması nedeni ile yapılarda beta keratinin daha yoğunlukta olduğu sonucuna varılabilir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Yılan gömleği kısımlarının FT-IR spektrumları.

Menteşe (cm ⁻¹)	Dorsal Ölçek (cm ⁻¹)	Ventral Ölçek (cm ⁻¹)	Titreşim tipleri (cm ⁻¹) ve bantlar (cm ⁻¹)
3277.20	3279.79	3279.83	N-H gerime titreşimi, amid A bandı
2920.94	2960.24 2918.01	2917.59	CH ₂ ve CH ₃ gerilmesi
1641.90	1632.19	1628.11	C=O gerilmesi, amid I bandı
1538.20	1535.10	1523.21	N-H eğilmesi ve C-N gerilmesi, amid II bandı
1447.96	1450.87	1447.97	CH ₂ eğilmesi
1392.21	1396.28	-	CH ₃ eğilmesi
1235.71	1233.45	1233.44	C-N gerilmesi ve N-H eğilmesi, amid III
1040.88	1068.16	1026.33	C-C gerimesi
544.31	541.86	523.17	
-	-	462.72	



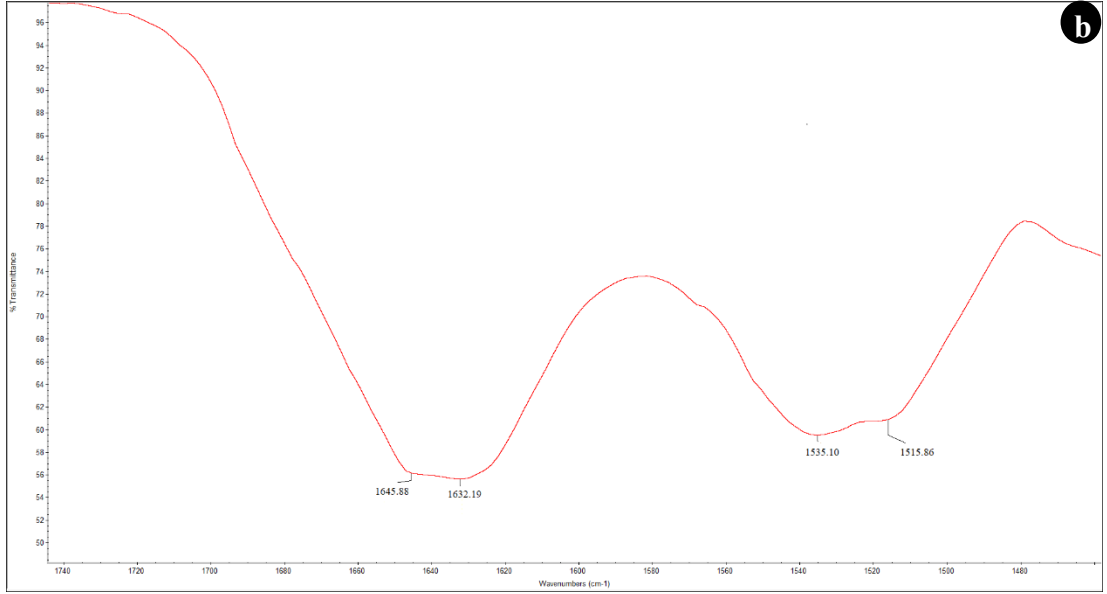
Şekil 4.1. Yılan derisi a) ventral ölçek FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.



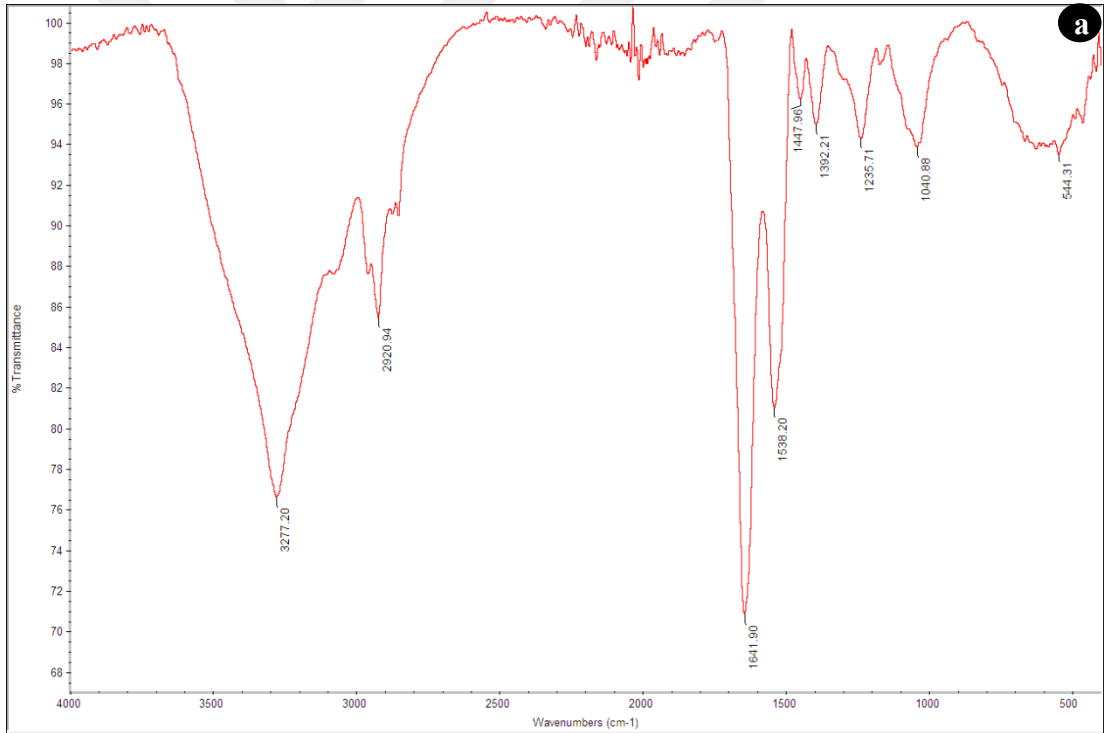
Şekil 4.1 (Devamı). Yılan derisi a) ventral ölçek FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.



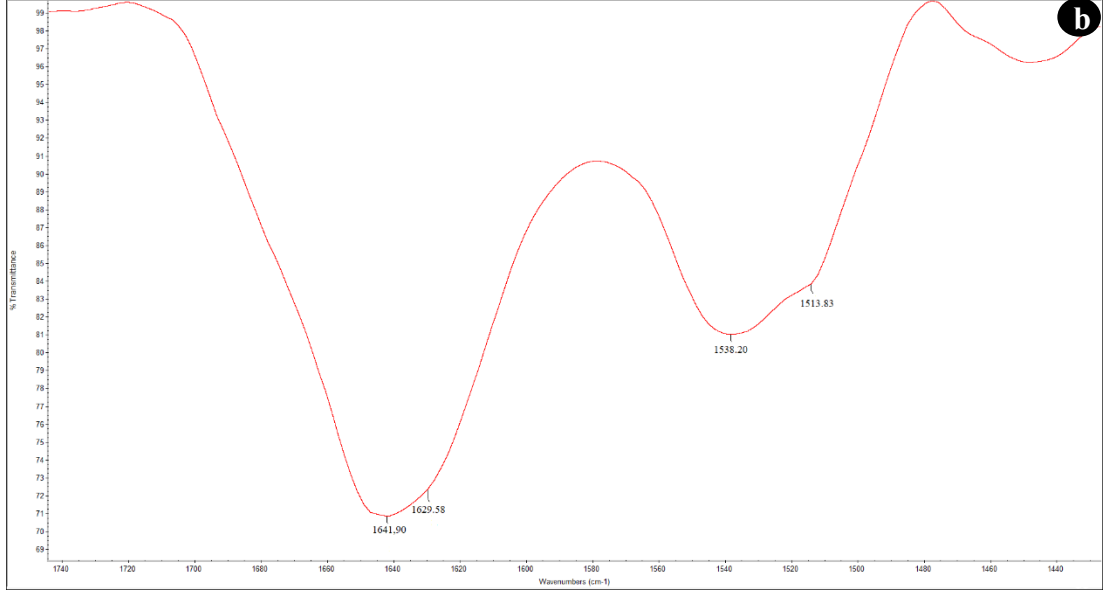
Şekil 4.2. Yılan derisi a) dorsal ölçek FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.



Şekil 4.2 (Devamı). Yılan derisi a) dorsal ölçek FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.



Şekil 4.3. Yılan derisi a) menteşe FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.



Şekil 4.3 (Devamı). Yılan derisi a) menteşe FT-IR spekturumu b) karşılık gelen amid I ve II bantlarının genişletilmiş bölgesi.

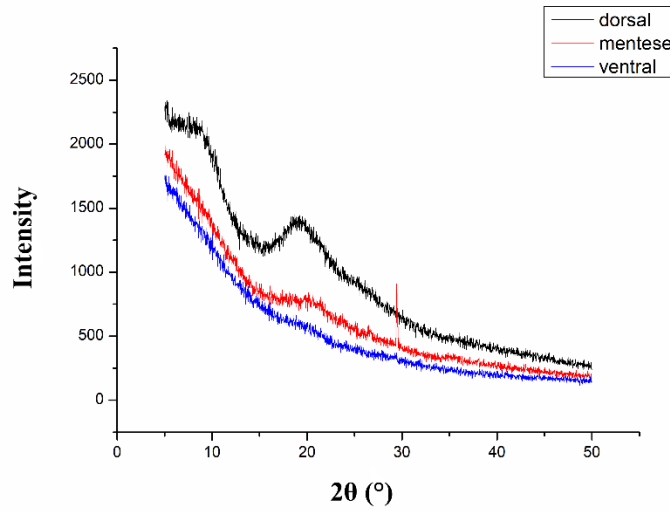
4.2 X-Işını Kırınım Yöntemi (XRD)

Katı bir numunedeki yapısal düzenin derecesini gösteren kristallliği (Teskaye vd., 2017) tesbit etmek için XRD analizi kullanılır. XRD kristallik kırınım desenleri bir maddenin parmak izi gibi olduğu için materyali tanımlamada önemlidir. Keratinin sağlamlığını ve sertliğini etkileyen unsurlardan birinin de kristallik olduğu düşünülmektedir (Zhao vd., 2012). Kristallik malzemeyi sağlam ve sert yapar fakat, aynı zamanda da malzemenin kırılğan olmasına neden olur. Malzemeye esneklik kazandıran ise amorf bölgelerdir.

Yılan gömleğinin üç farklı kısmının XRD analizi sonuçları Şekil 4.4'de gösterilmektedir. Daha önce keratin bir numunenin XRD analizi sonucunu rapor eden bir çalışma 5°-15° arasındaki kırınım değerlerinin α -heliks yapıya karşılık geldiğini, 15°-35° arasındaki kırınım noktalarının ise β yaprak yapıya karşılık geldiğini göstermektedir (Du vd., 2022). Dorsal ölçek 2 θ 9° civarı α -heliks yapıya karşılık gelen bir pik verirken 2 θ 19° civarı da β yaprak tabakaya karşılık gelen bir pik gözlenmektedir. Menteşe ve ventral ölçekte ise α -sarmal yapıya karşılık gelen pik görülmezken her ikisinde de β yaprak tabakaya karşılık gelen 2 θ 20° civarı zayıf bir pik gözlenir.

Şekil 4.4'te görüldüğü üzere dorsal ölçeğin XRD pikleri menteşe ve ventral ölçeğe göre çok daha kuvvetlidir ve menteşe ve ventral ölçekte görülmeyen 2θ 9° pikine sahiptir. Bu da kristalliğinin çok daha yüksek olduğunu gösterir.

Bu çalışmanın dorsal ölçek verileri daha önce yapılan bir çalışmadaki yılan gömleğinin ventral kısmı için rapor edilen sonuçlarla uyumlu olup, menteşe ve ventral ölçekte 5° - 15° arasında beklenen kırınım gözlenmemiştir (Vakilian vd., 2019). Daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilen sonuçlar referans alınarak değerlendirilen FTIR spekturumu sonuçları yapıda az da olsa α -sarmal keratin olduğunu göstermektedir. XRD grafiğinde α -sarmal yapıya karşılık gelen kırınımın gözlemlenmemesi yapıda çok az miktarda olduğunu veya kolay bozulduğu için analiz hazırlıkları esnasında zarar görmesinden kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle dorsal ölçeğin XRD sonuçları daha önceki çalışmaların yün (Liu vd., 2017), keçi toynağı (Sellappan vd., 2021), saç (Luo vd., 2016), tüy (Pedram vd., 2012) gibi farklı keratin kaynaklarının sonuçlarıyla kıyaslanabilir değerlerdir.



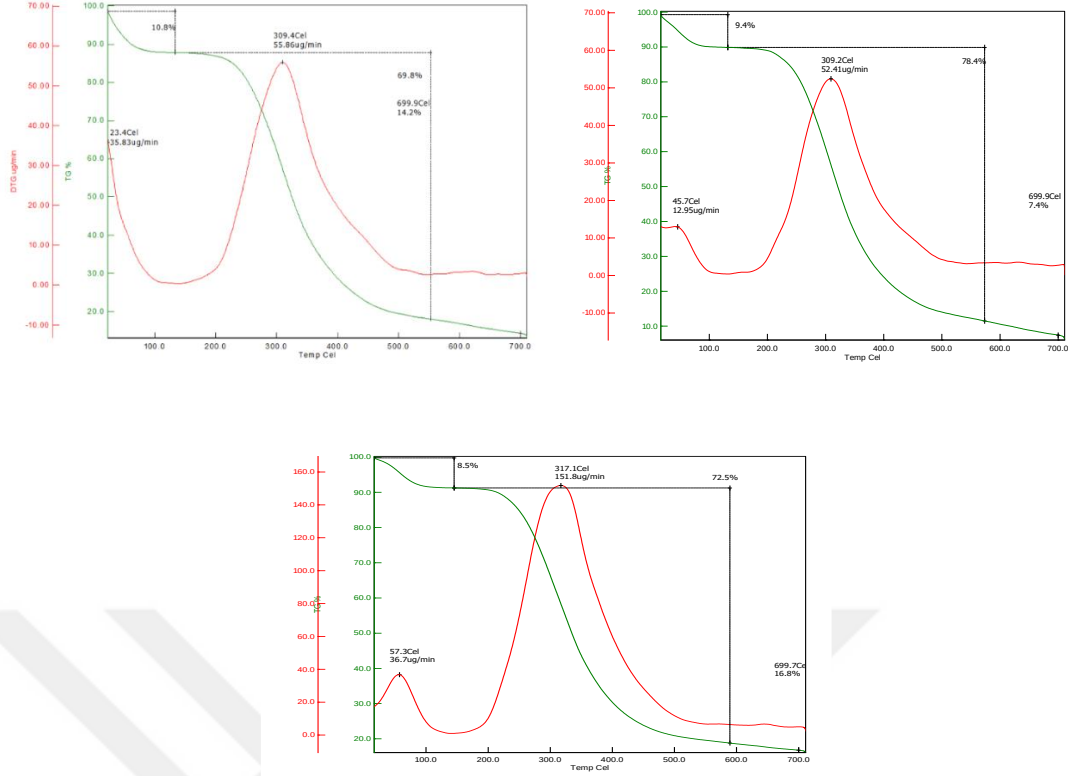
Şekil 4.4. Yılan gömleğinin dorsal ölçek, menteşe ve ventral ölçek XRD grafiği.

4.3 Termogravimetrik Analiz (TGA) ve Diferansiyel Termal Termogravimetrik (DTG)

Yılan gömleği kısımlarının (menteşe, dorsal ölçek ve ventral ölçek) termal stabiliteleri TGA ve DTG kullanılarak incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Tüm kısımlarda bozunma iki aşamada gerçekleşmiştir. 130°C

civarındaki ilk ağırlık kayıpları menteşe, dorsal ölçek ve ventral ölçek için sırasıyla %10.8, %9.4 ve %8.5'dir ve muhtemelen bağlı ve yapısal suyun yapıdan uzaklaşmasıyla ilişkilidir. Bu sonuçlarla daha önce rapor edilen yılan gömleği TG analizi sonuçları arasında önemsenecek bir fark yoktur. Aynı çalışmanın yılan gömleğinin menteşe kısmının mesos tabakasına sahip olmadığı yönündeki raporu (Bhasi vd., 2004) dorsal ve ventral ölçeğin 100°C altındaki DTG piklerinde lipit tabakanın parçalanmış olabileceğini akla getirmektedir. Yaklaşık 150-600°C arasında menteşede %69.8, dorsal ölçekte %78.4 ve ventral ölçekte %72.5 olarak gerçekleşen ikinci ağırlık kayıplarının ise keratin yapının denatürasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. 600°C kararlılıkları, ventral ölçek>dorsal ölçek>menteşe şeklinde sıralanır. Önceki bir çalışma farklı keratin kaynakları olan insan saçı, koyun yünü ve tüyde keratin yapının ilk ayrışmaya başladığı sıcaklıkları sırasıyla ~150°C, ~180°C ve 155°C olarak rapor edilmiştir (Brebu ve Spiridon, 2011). İnsan saçı, yılan gömleği kısımları ve koyun yününün yapısının bozulmaya başladığı sıcaklıklar hemen hemen aynıdır. Yılan gömleği kısımlarında termal ayrışmanın en yüksek olduğu sıcaklık menteşe de 309.4°C dorsal ölçekte 309.2°C ve ventral ölçekte ise 317.1°C'dir. En yüksek termal ayrışma sıcaklığının ventral ölçekte olmasının nedeni FT-IR spektrumundan da tahmin ettiğimiz üzere ventral ölçekte çoğunlukta olan β yaprak yapı olması olabilir. Diğer taraftan bozulmadan kalan kısmın oranları menteşe (%14.2) ve ventral ölçek (%16.8) için birbirine çok yakın değerlerken dorsal ölçekte (%7.4) bu değerlerin hemen hemen yarısı olması ve kalan miktarın en fazla ventral ölçekte olması bu kısımlarda bulunan α -sarmal ve β -yaprak yapının oransal farklılıklarından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

İnsan saçı (326°C) (Brebu ve Spiridon, 2011), yün (324°C) (Wang vd., 2016) ve tavuk tüyü (330°C) (Zhang vd., 2021) termal ayrışmanın en yüksek olduğu sıcaklıklar, yılan gömleğinin en yüksek termal ayrışma sıcaklığına sahip olan ventral ölçeğinden daha yüksektir.



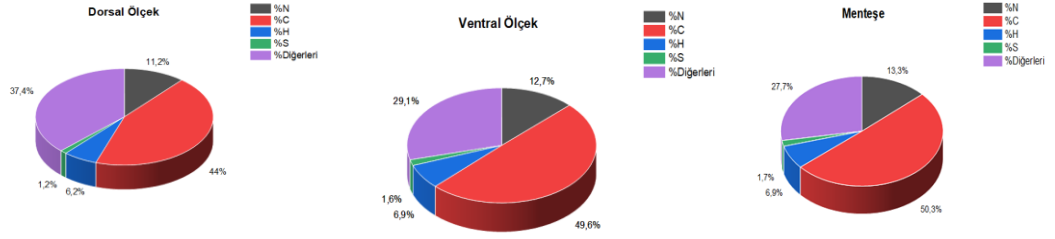
Şekil 4.5. Yılan derisi a) menteşe, b) dorsal ölçek, ventral ölçek TGA.

4.4 Elementel Analiz (CHNS Analizi)

Yılan gömleğinin üç farklı kısmının elementer içeriği ve yüzdeleri CHNS analizi kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.6’da verilmiştir. Sonuçlar yılan gömleği kısımlarında bulunan karbon, hidrojen, azot ve kükürt elementlerinin yüzdesini gösterir. Menteşe, dorsal ölçek ve ventral ölçeğin protein içeriği yüzdelerine ise her bir numunenin nitrojen yüzdesi değerinin 6.25’lik protein dönüşüm faktörü ile çarpılmasıyla ulaşılır (Fagbemi vd., 2020; Khumalo vd., 2020). Menteşe bölgesi için ortalama bileşim: %13.09 N, %51.17 C, %7.16 H, %1.69 S, %26.89 (oksijen + inorganik madde). Dorsal ölçek için ortalama bileşim: %11.17 N, %44.01 C, %6.22 H, %1.18 S, %37.42 (oksijen + inorganik madde). Ventral ölçek için ortalama bileşim: %12.89 N, %48.79 C, %6.69 H, %1.66 S, %29.97 (oksijen + inorganik madde). Protein dönüşüm faktörü (6.25) ile numunelerde bulunan ortalama nitrojen miktarının çarpılmasıyla elde edilen ortalama protein miktarı ise menteşe, dorsal ölçek ve ventral ölçek için sırasıyla: %81.81, %69.81, %80.56’dır.

Bir başka keratin kaynağı olan tavuk tüylerinin yapısındaki CHNS ile kıyaslandığında yılan gömleği kısımlarındaki %C miktarı menteşe ve ventral ölçekte tavuk tüyünden (%47.4 C) daha yüksekken dorsal ölçekte daha düşüktür. Her üç

kısımda da %N ve %S tavuk tüyünde olduğundan (%15.1 N ve %2.9 S) daha düşüktür. %H oranına baktığımızda tavuk tüyü (%7.2 H) ile hemen hemen aynıdır (Tesfaye vd., 2017). Kaba yünde ise azot, kükürt ve hidrojen oranları yılan gömleği kısımlarından oldukça yüksek iken karbon oranı düşüktür (El-Gabry vd., 2016).

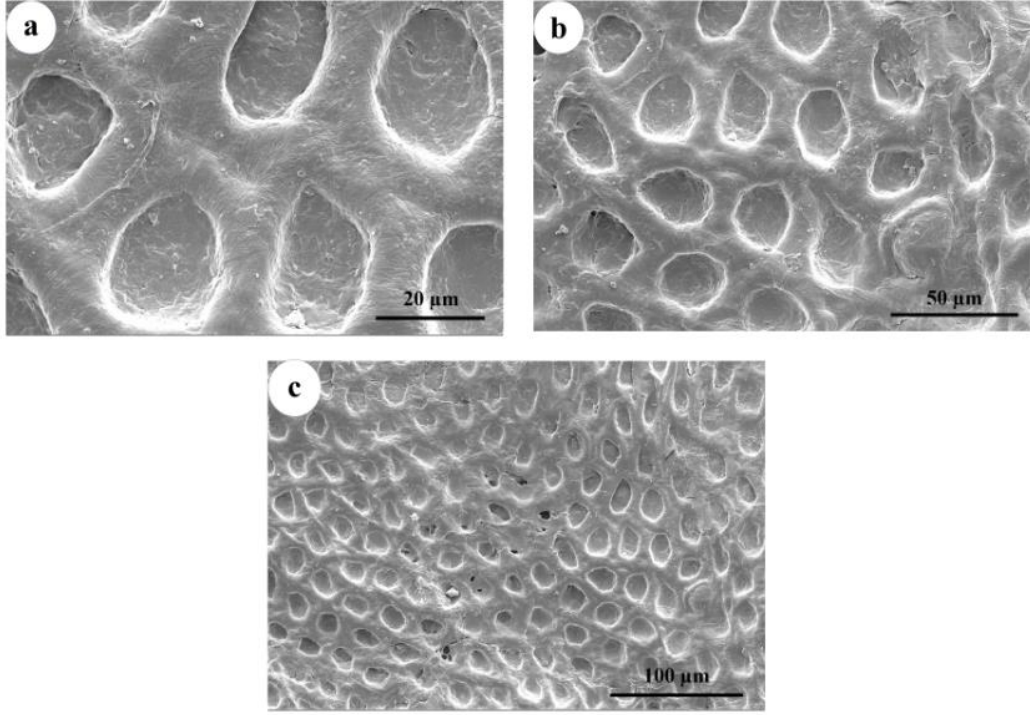


Şekil 4.6. Elementel analiz sonuçları.

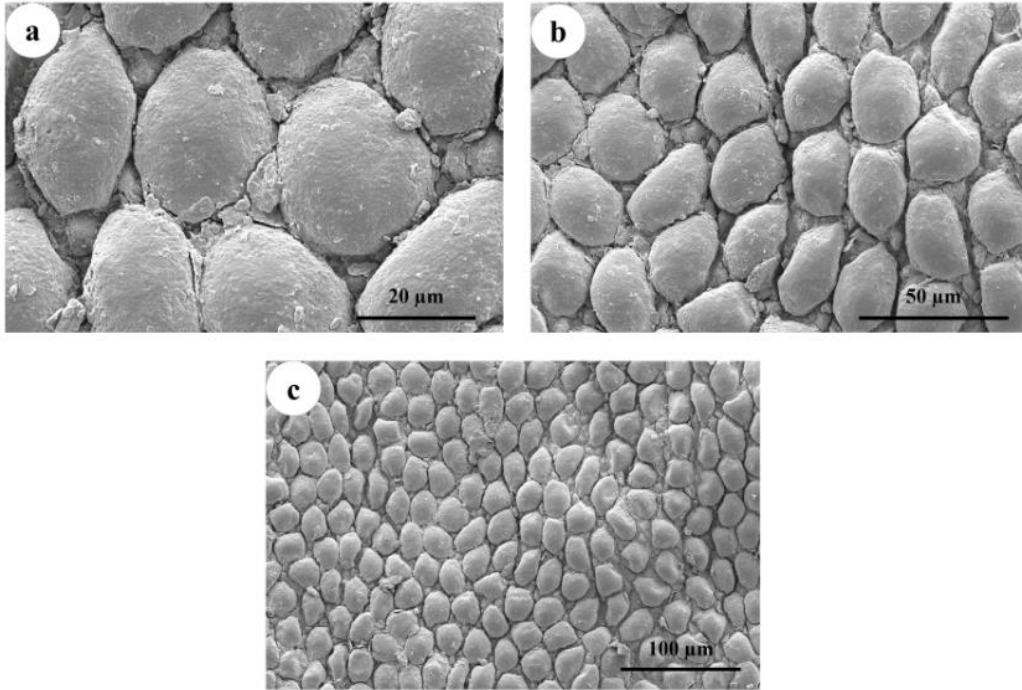
4.5 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Sürünge ölçekleri yaprak benzeri mikro yapılar, keskin dikenler ve gözenekler gibi oldukça çeşitli makro ve mikro süslemelere sahiptir. Önceki çalışmalardan bazıları bu farklılığın kullanım ve yaşam alanı tercihinden kaynaklandığını (Abdel-Aal, 2018; Dubansky ve Close, 2018; Spinner vd., 2013) bazıları ise bunun filogeninin bir göstergesi olduğunu (Gower, 2003; Tsai vd., 2018) rapor etmişlerdir. Mikro süslemelerin temas açısı değerlerini (Spinner vd., 2014) ve özellikle ventral kısımda tribolojik davranışı (Baum vd., 2014; Abdel-Aal, 2018) etkilediğini öne süren çalışmalar mevcuttur. SEM görüntülerine baktığımızda menteşe bölgesinin dış kısmının papillar bir görünümde, iç kısmının ise çukurluklardan oluştuğunu görürüz. İç kısımda çukurukların arasındaki tümsek kısımlarda kısa lifler göze çarpmaktadır. Menteşe bölgesinin enine kesitinde tabakaların kat kat ayrılmış olduğunu dorsal ve ventral ölçeğin enine kesitlerinde olduğu gibi kompakt bir tabaka görünümünün olmadığını görürüz. Dorsal ölçekçeğin özellikle dış kısmı lifli ve amorf kısımların birbirini ardına sıralandığı bir görünüme sahiptir. Lifler ve amorf kısım iç yüzeyde dış yüzeydeki gibi belirgin bir görünüme sahip değildir. Ventral ölçeğin iç ve dış kısımları diğer kısımlara göre daha pürüzsüz ve amorf bir görünüm sergilemektedir.

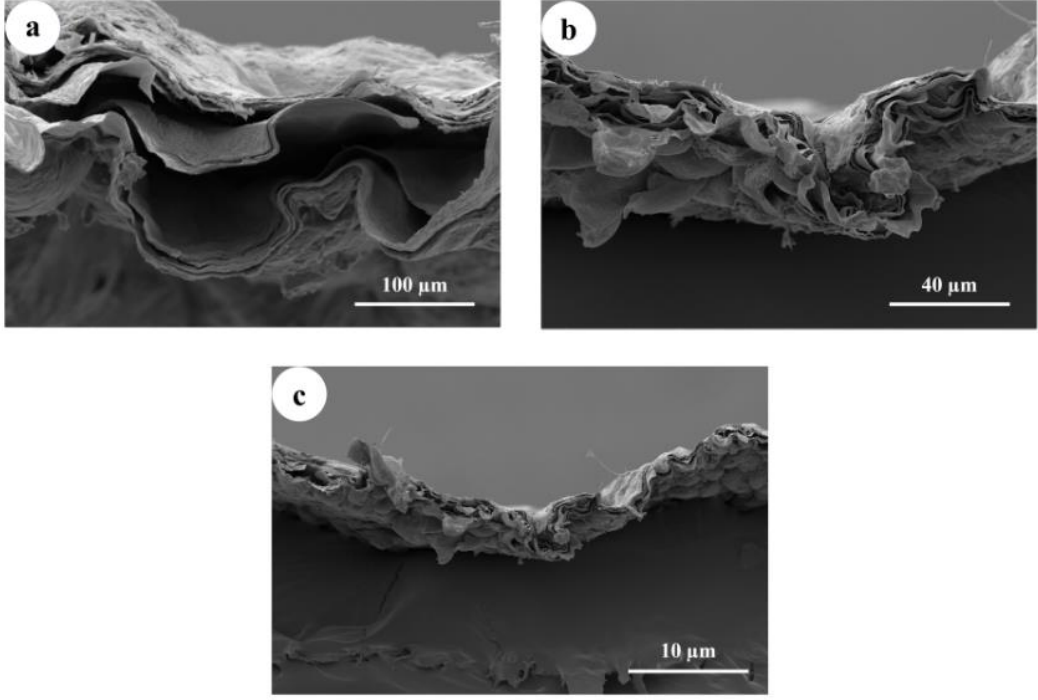
Yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının iç yüzey, dış yüzey ve enine kestlerinin SEM görüntüleri Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14. ve 4.15'te verilmiştir.



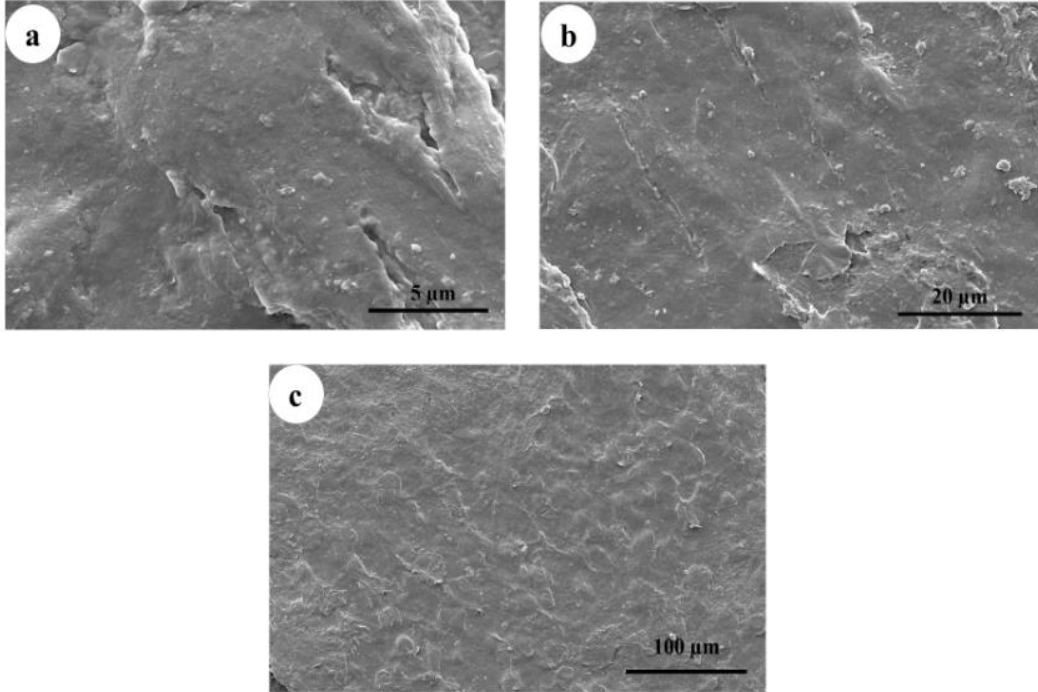
Şekil 4.7. İşlenmemiş yılan gömleğinin menteşe bölgesi iç kısım SEM görüntüleri a) 5.000x, b) 2.500x, c) 1.000x.



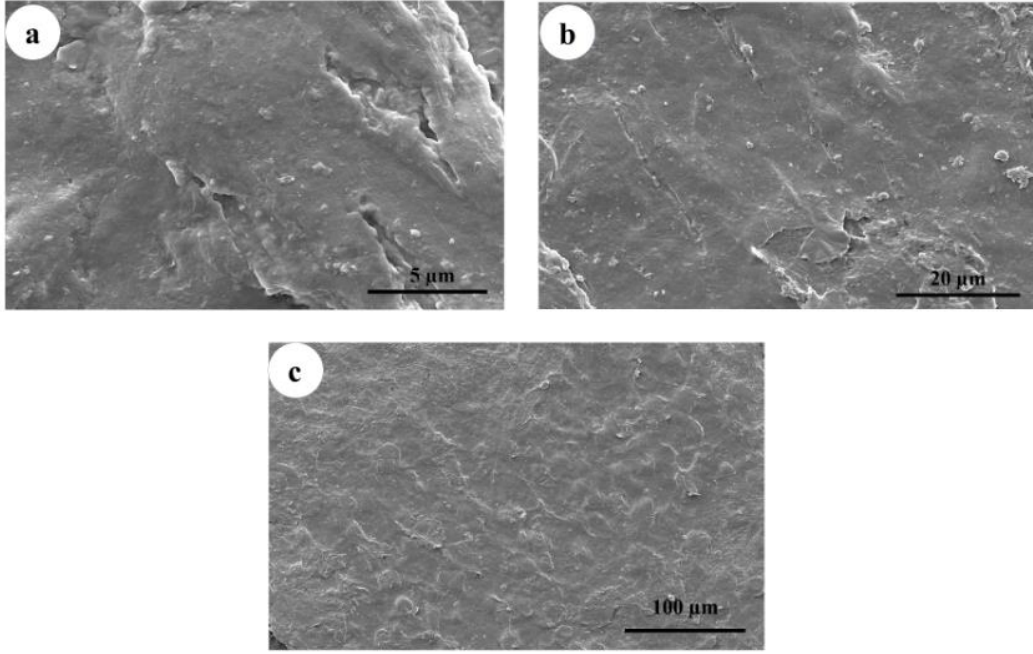
Şekil 4.8. İşlenmemiş yılan gömleğinin menteşe bölgesi dış kısım SEM görüntüleri a) 5.000x, b) 2.500x, c) 1.000x.



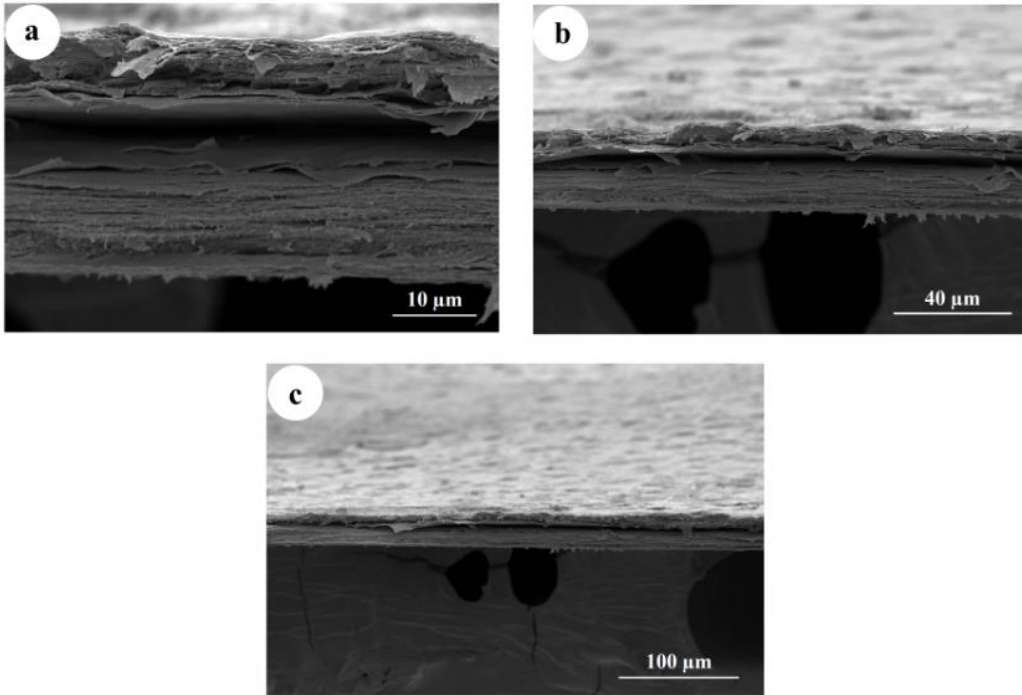
Şekil 4.9. İşlenmemiş yılan gömleği menteşe kısmının enine kesiti SEM görüntüleri a) 1.000x, b) 2.500x, c) 10.000x.



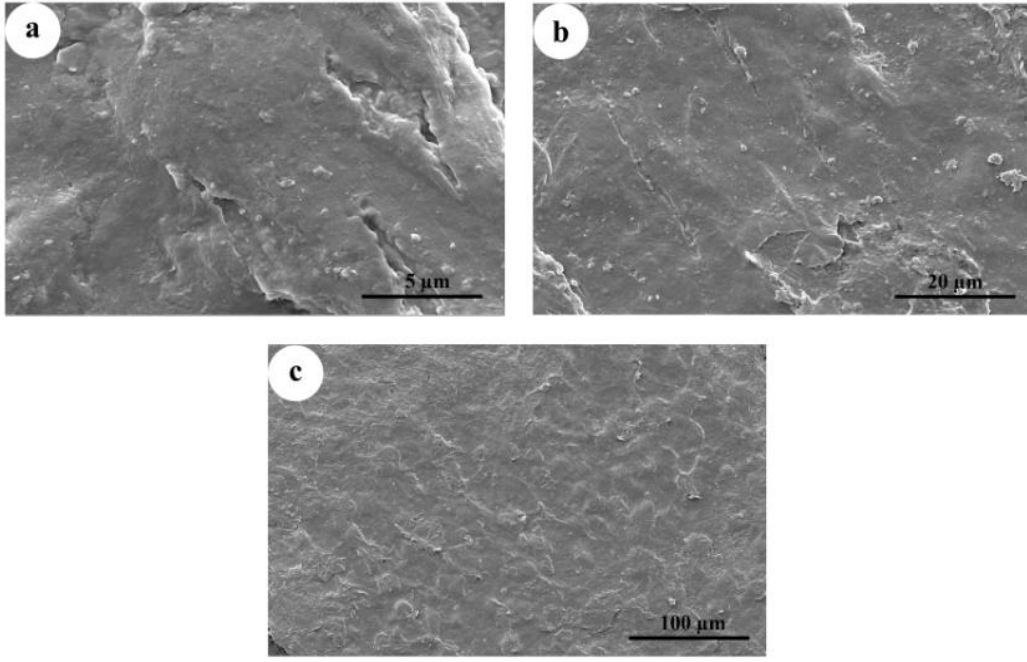
Şekil 4.10. İşlenmemiş yılan gömleğinin ventral ölçek iç kısım SEM görüntüleri a) 20.000x, b), 1.000x, c) 5.000x.



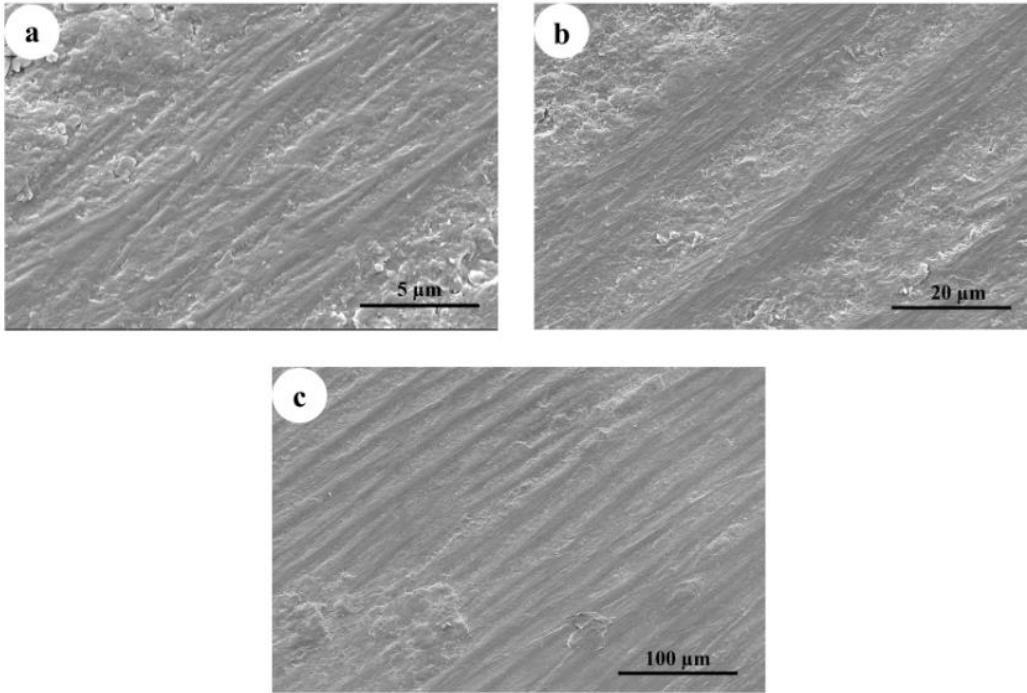
Şekil 4.11. İşlenmemiş yılan gömleğinin ventral ölçek dış kısım SEM görüntüleri a) 20.000x, b) 5.000x, c) 1.000x.



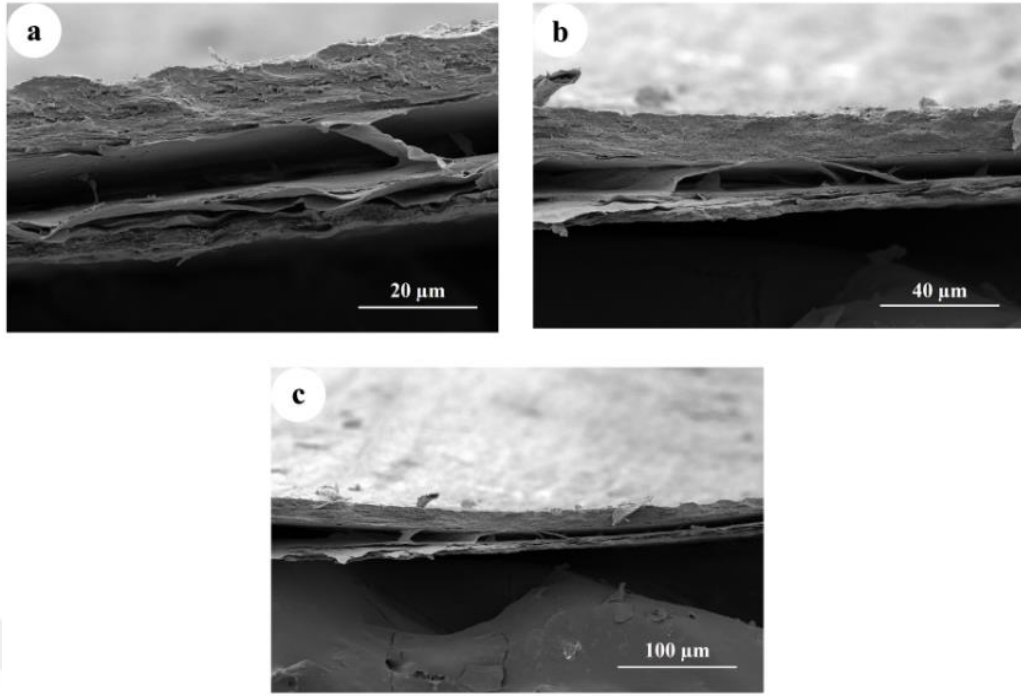
Şekil 4.12. İşlenmemiş yılan gömleği ventral ölçek enine kesiti SEM görüntüleri a) 7.000x, b) 2.500x, c) 1.000x.



Şekil 4.13. İşlenmemiş yılan gömleğinin dorsal ölçek iç kısım SEM görüntüleri a) 20.000x, b) 5.000x, c) 1.000x.



Şekil 4.14. İşlenmemiş yılan gömleğinin dorsal ölçek dış kısım SEM görüntüleri a) 20.000x, b) 5.000x, c) 1.000x.



Şekil 4.15. İşlenmemiş yılan gömleği dorsal ölçek enine kesiti SEM görüntüleri a) 5.000x, b) 2.500x, c) 1.000x.

4.6 Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi Analizi (EDX)

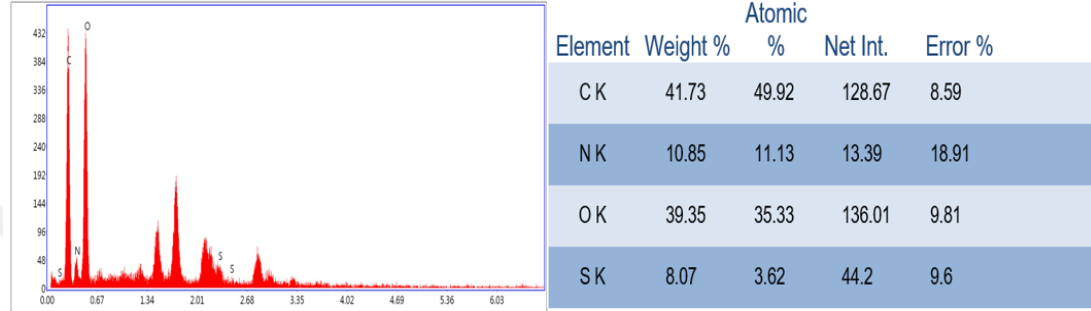
Şekil 4.16, 4.17, 4.18, 4.19, 4.20 ve 4.21’de verilen sonuçlar CHNS analizini desteklemekle birlikte buna ek olarak yapıdaki oksijen varlığını da ortaya koymaktadır. EDX analizinde sonuçlar menteşe, dorsal ölçek ve ventral ölçekte iç yüzey ve dış yüzey olarak değerlendirilmiştir. Yapılardaki önemli miktardaki nitrojen ve kükürt keratin proteinlerinin varlığına atfedilir.



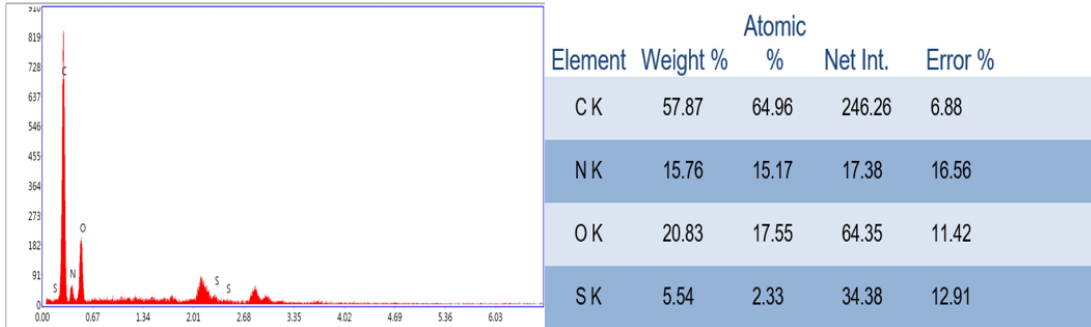
Şekil 4.16. Menteşe dış kısım EDX analizi.



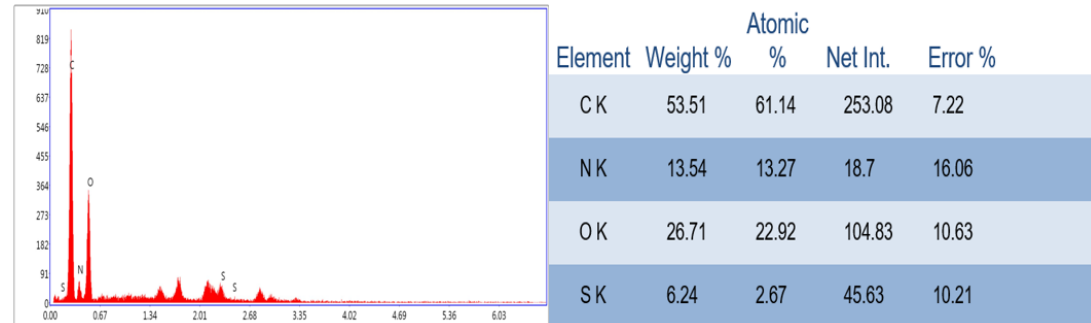
Şekil 4.17. Mentese iç kısım EDX analizi.



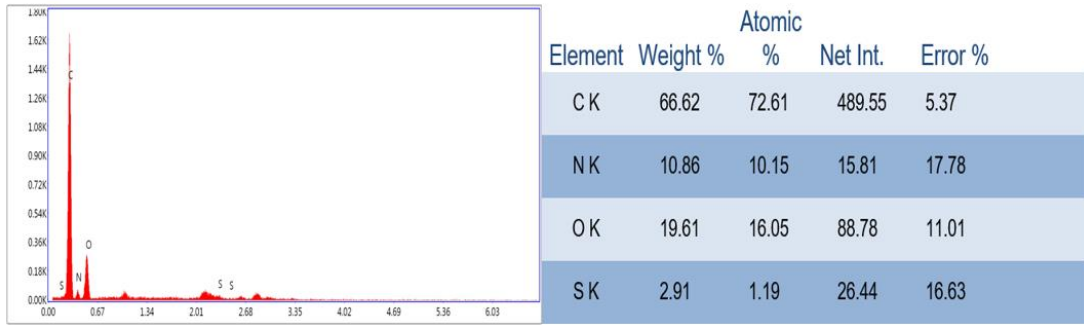
Şekil 4.18. Dorsal ölçek dış kısım EDS analizi.



Şekil 4.19. Dorsal ölçek iç kısım EDS analizi.



Şekil 4.20. Ventral ölçek dış kısım EDS analizi.



Şekil 4.21. Ventral ölçek iç kısım EDS analizi.

4.7 MTT Analizi

Keratin bazlı bir biyomalzeme olan yılan gömleğinin doku mühendisliği uygulamaları için alternatif malzemelerden biri olup olamayacağını değerlendirmek amacıyla hücre canlılığını ve sitotoksitesini belirlemek için MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) analizi yapılmıştır. Yılan gömleğinin ventral ölçek, dorsal ölçek ve menteşe kısımları için 24, 48 ve 72. saatlerde MTT analizi yapılmıştır. Bu analizde kontrol grubu olarak üzerinde yalnızca DMEM besiyeri bulunan hücreler kullanılmıştır. Bu gruplara ait hücre yüzde canlılıkları 24, 48 ve 72 saat için Şekil 4.22.'de gösterilmiştir. Hücrelerin 24 saatte kontrol (materyal içermeyen), ventral, dorsal ve menteşe kısımları için canlılıkları sırasıyla %100, %99.0 %115.3 ve %115.9 olarak belirlendi. 48. saatte hücre canlılığı %100, %96.3 % 118.9 ve %113.4 olarak değişti. 72. saatin sonunda canlılık aynı gruplar için sırasıyla %100, %77.0, %110.2 ve %94.4 olarak belirlendi. Hücre canlılığının sonuçları (MTT sonuçları), 2x5 mm çapında üç farklı biyomateryalin (ventral, dorsal ve menteşe kısımları için) 24, 48 ve 72. saatte L929 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olmadığını gösterdi (Tüm değerler>~%70). Gruplar arasında belirlenen istatistiki farklılıklar grafiklerde belirtilmiştir. Yılan gömleği keratininin biyouyumlu bir malzeme olduğu ve bu nedenle doku mühendisliği uygulamaları için alternatif malzemelerden biri olarak uygulamalarda yer bulabileceği açıktır. Literatüre bakıldığında çalışmamızın sonuçları farklı keratin kaynakları ile yapılan çalışmalarla uyumludur. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda keratinin sito-uyumluluğa negatif etkisine dair bir çalışmaya rastlamadık. Farklı keratin kaynakları ile yapılan daha önceki çalışmalar;

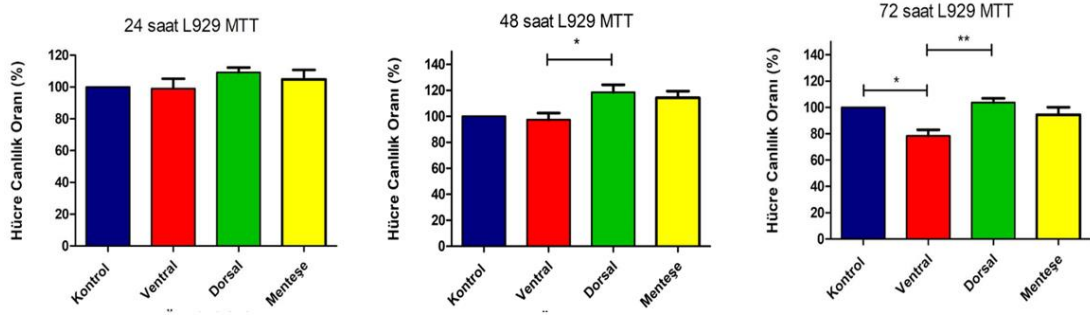
Sadeghi vd. (2020) karboksimetil selüloz ve farklı oranlarda insan saçı keratininden oluşturdıkları hidrojelde, keratin miktarı arttıkça daha fazla hücresel yayılma

gözlemlemiştir. Keratin hidrojenlerinin L929 fare fibroblast hücrelerinin bağlanması ve çoğalmasını desteklediğini ve 5 günlük kültür boyunca %90'dan fazla hücre canlılığı gösterdiğini bildirmiştir.

Ye vd. (2020) yünden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı (120 kDa) keratin, poli(3-hidroksibütirik asit-ko-3-hidroksivalerik asit) ve gümüş nanopartikülleri (AgNP) kullanarak, poli(3-hidroksibütirik asit-ko-3-hidroksivalerik asit) %30 yünden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı keratin ve poli(3-hidroksibütirik asit-ko-3-hidroksivalerik asit) %30 yünden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı keratin %0.5 gümüş nano partikülleri nano lifli matlar imal etmişler ve L929 fibroblast hücreleri ile MTT testi kullanmışlardır. 24 saat kültürasyondan sonra poli(3-hidroksibütirik asit-ko-3-hidroksivalerik asit) %30 yünden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı keratin nanolifli matlar üzerindeki hücre canlılığı, 132.9 ± 5.5 ve poli(3-hidroksibütirik asit-ko-3-hidroksivalerik asit) %30 yünden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı keratin %0.5 AgNP nanolifli matlara gelince, hücre canlılığı 128.4 ± 3.2 'dir. Bu sonuçlar kullanılan matların toksik olmadığını göstermektedir.

Shang vd., (2023) klorheksidin yüklü polisülfobetain/keratin hidrojenlerinin toksisitesini değerlendirmek için L929 hücreleri ile MTT testi kullanmışlardır. Çalışmada artan keratin içeriğinin hücre canlılığını artırdığını yani sitouyumluluğunu iyileştirdiğini rapor etmişlerdir.

Sadeghi vd., (2019) karboksimetil selüloz ve insan saçından elde ettikleri keratinleri farklı oranlarda kullanarak hidrojenler oluşturmuşlardır. Oluşturulan tüm hidrojenlerin L929 hücreleri kullanılarak elde edilen MTT analizi sonuçlarında %90'dan fazla hücre canlılığı rapor edilmiştir. Shang ve ark.'nın çalışmasında olduğu gibi bu çalışmada da yapıdaki keratin miktarının artmasının hücresel yayılmayı ve proliferasyonu artırması gibi olumlu etkileri bildirilmiştir.



Şekil 4.22. Kontrol, ventral ölçek, dorsal ölçek ve menteşe kısımlarının 24, 48, 72 saatlik hücre canlılık yüzdeleri.

4.8 Temas Açısı Ölçümü

Yılan gömleğinin dorsal ve ventral ölçeklerinin ıslanabilirliği temas açısı ölçümü kullanılarak analiz edilmiştir. Menteşe kısmının boyutunun çok küçük olması nedeni ile temas açısı ölçümü yapılamamıştır. Malzeme bilimi için oldukça önemli olan temas açısı (q), su damlası yüzeye temas ettiğinde düzensiz ikincil etkileşim kuvvetleri sonucu su damlasının yüzey ile oluşturduğu yakınlığın ölçümüdür. Suyu karşı ilgisi yüksek yani hidrofilik yüzeylerde $q < 90^\circ$ iken, suya karşı ilgisi düşük yani hidrofobik yüzeylerde $q > 90^\circ$ 'dir. Temas açısının 140° 'nin üzerinde olduğu yüzeyler ise suyu reddeden yani süper hidrofobik yüzeyler olarak tanımlanmaktadır (Hebbar vd., 2017). Herhangi bir yüzeyin hidrofilik ve hidrofobik olmasının yanı sıra yüzey pürüzlülüğü, gözenekliliği, gözeneklerin boyutu, dağılımı (Hebbar vd., 2017) ve geçirgenlik oranının da temas açısını etkilediği bildirilmektedir (Rana ve Matsuura, 2010). Temas açısını etkileyen yüzey özellikleri araştırmacıların oldukça ilgisini çeken konular arasındadır;

Esparza vd. (2018) yaptıkları, tavuk tüyü, saç ve yün gibi farklı keratin kaynaklarından ekstrakte ettikleri keratinleri kullanarak hücre iskeleleri yapmışlardır. Üç farklı kaynaktan elde edilen keratinlerle yapılan iskelelerin gözeneklilik, gözenek boyutu ve temas açısı gibi özelliklerini araştırmışlardır. Sırasıyla tavuk tüyü, saç ve yün keratini yapı iskelelerinin gözeneklilik oranları $89.4 \pm 5.7\%$, $86.9 \pm 5.3\%$, $69.5 \pm 7.3\%$ ve sırasıyla temas açısı ölçümleri $88.3 \pm 2.2^\circ$, $87.3 \pm 2.9^\circ$, $81.0 \pm 2.6^\circ$ olarak rapor edilmiştir. Tavuk tüyü ve saç keratini yapı iskelelerinin gözeneklilik oranları ve temas açısı ölçümleri birbirine çok yakın iken yün keratini yapı iskelesinde ise diğer iki örneğe kıyasla hem gözeneklilik oranı hem de temas açısı ölçümü belirgin ölçüde düşüktür.

Hebbar vd. (2017) bir zarın gözeneklilik oranı arttıkça zar hidrofilik olmasa bile temas açısının oldukça düşük olabileceğini bildirilmişlerdir.

2018 yılında yayınlanan bir çalışmada geçirgenlik ve temas açısı arasındaki ilişkiyi Al-Amoudi ve ark., akı ve temas açısı arasında ters bir orantı vardır, akı hızı arttıkça temas açısı azalır şeklinde rapor etmişlerdir (Al-Amoudi vd., 2018).

Yılan gömleği, in vitro geçirgenlik deneylerinde insan ve hayvan derilerine yararlı bir alternatif olabileceği ümidi ile hem hidrofilik hem de lipofilik maddelerin insan derisi ve yılan gömleği geçişinin kıyaslandığı çalışmalara konu olmuştur. Ngawhurunpat ve ark., hidrofilik ve lipofilik sekizer ilacın insan derisi ve yılan gömleğinden geçişi ile ilgili yaptıkları çalışmada lipofilik ilaçlar için benzer geçirgenlik kabiliyeti sergilendiğini fakat hidrofilik ilaçlar için yılan gömleğinin daha düşük bir geçirgenlik kabiliyeti gösterdiğini bildirmişlerdir (Ngawhurunpat vd., 2006). Sacha ve ark. yaptığı yakın tarihli bir çalışmada ise üç farklı yılan türünün gömleği (karın ve sırt bölgesi) ve insan derisinin in vitro geçirgenlik deneyleri için hidrofilik bir model madde olarak kafein kullanmışlardır. Sonuçlar, bir tür yılanın karın bölgesi derisi dışında, yılan gömleğinin geçirgenliğinin insan derisine benzer olduğunu göstermiştir (Sacha vd., 2020). Bu iki çalışmada hidrofilik maddelerin yılan gömleğinden geçişleri arasındaki farklılığa Torri ve ark., farklı habitatlarda yaşayan farklı ailelere ait dört yılan türü ile yaptığı bir çalışma ışık tutmaktadır. Torri ve ark., geçirgenliği mezos tabakasındaki lipidlerin bileşimi ve organizasyonunun da görülen farklılıklar ile ilişkili olabileceğini rapor etmişlerdir (Torri vd., 2014). Tüm bu bilgiler doğrultusunda, bir tür ile yapılan çalışmaların sonucunu diğer türler için genelleme yapmanın doğru olmayabileceği yılanın türüne ve yaşam ortamına bağlı olarak geçirgenliğin farklı olabileceği bildirilmiştir (Sacha vd., 2020).

Yüzey pürüzlülüğünün temas açısına etkisini Gürsoy ve ark., yakın tarihli bir çalışmada ortaya koymuşlardır. Sentetik olarak ürettikleri yüzeylerde ortalama parçacık çapları 36 ve 8 µm olan zımpara kağıtları kullanmışlar ve pürüzsüz yüzeylere göre pürüzlü yüzeylerde hidrofobikliğin yaklaşık olarak %52 gelişmiş olduğunu rapor etmişlerdir (Gürsoy vd., 2021).

Bir engerek türü olan *Bitis rhinoceros*'un gömleğinin üç farklı kısmından onar tane örnek ile temas açısı ölçümleri yapılmış ve sonuçlar şu şekilde rapor edilmiştir; siyah

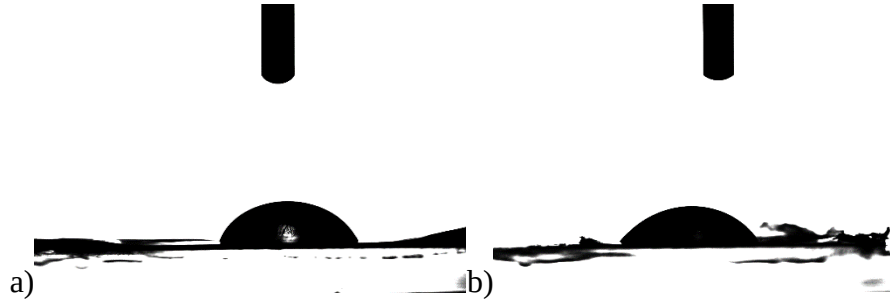
dorsal pulda $166^{\circ} \pm 4.4^{\circ}$, açık renkli dorsal pulda $111^{\circ} \pm 6.5^{\circ}$ ve ventral pulda $82^{\circ} \pm 7.0^{\circ}$ 'dir. Hidrofobiklik derecelerinin farklı olma nedeninin dorsal ölçek pullarında (siyah ölçeklerde daha yoğun olmak üzere) farklı mikro ve nano yapıların bulunmasını ve bunların ventral ölçekte olmaması olarak değerlendirmişlerdir (Spinner vd., 2014).

Diğer keratin kaynaklarından saç ve yünün ıslanabilirliğini rapor eden çalışmalardan bazıları şöyledir;

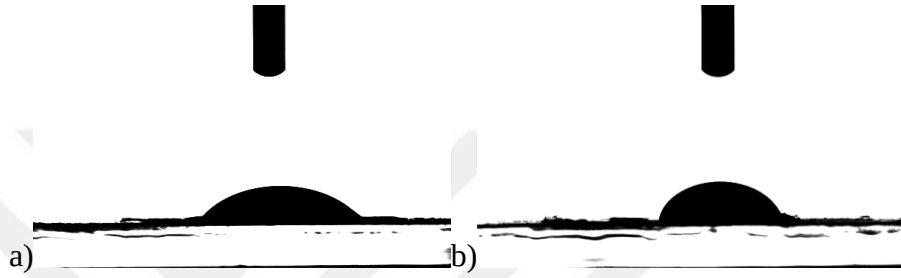
Tonunaga vd. (2019) ve Wiesche vd. (2011) yaptıkları çalışmalarda saç liflerinin, dallı zincirli bir yağ asidi olan ve tioester veya ester bağlantısı yoluyla saç liflerinin kütikül yüzeyine kovalent olarak bağlandığı düşünülen 18-metileikosanoik asit (18-MEA) ve epikütikülün yüzey yapıları boyama, renk açma, kurutma, aşırı şampuanlama ve şekillendirme gibi işlemlerle bozuldukça hidrofobikliğin değiştiğini bildirmişlerdir.

Weiland vd. (2022) saç ile Barba vd. (2010) yün ile ilgili benzer çalışmalar rapor etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise yılan gömleğinin dorsal ve ventral ölçeğinin temas açısı değerleri ölçeğin iç yüzeyi (vücuda bakan kısmı) ve ölçeğin dış yüzeyinde ölçüm yapılarak sonuçlar Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'te verilmiştir. Yılan gömleğinin ventral ölçek dış ve iç yüzey temas açısı değerleri sırasıyla $73^{\circ} \pm 2^{\circ}$, $55^{\circ} \pm 3^{\circ}$ 'dir. Dorsal ölçek dış yüzey ve iç yüzeyin temas açısı değerleri ise sırasıyla $53^{\circ} \pm 2^{\circ}$, $77^{\circ} \pm 2^{\circ}$ olarak ölçülmüştür. Sonuçlarımız *Bitis rhinoceros*'un gömleğinin ventral ölçeğinden elde edilen sonuçlar ile benzerdir (Spinner vd., 2014). SEM sonuçlarından da görüldüğü üzere dorsal ve ventral ölçekte porlu bir yapı gözlenmemiştir. Dorsal ölçeğin yüzeyinde görülen pürüzlülük ise ventral ölçekde çok daha azdır. Sonuçlar yorumlanırken, yılanların gömlek değiştirmelerinin asıl nedeni büyüme olsa da, bir nedenininde gömleğin yıpranması olabileceği unutulmamalıdır. Dahası bu yıpranmanın, gömleğin değişimi esnasında ve doğadan toplanmadan önce çevresel etkiler ile devam edebileceği ve bunun temas açısını etkileyen önemli bir durum olduğunun göz önünde bulundurulması gerektiğini düşünüyoruz.



Şekil 4.23. Yılan derisi a) ventral ölçek dış yüzey temas açısı değerleri; sol 73, sağ 70, orta 72. b) ventral ölçek iç yüzey temas açısı değerleri; sol 50, sağ 57, orta 54.



Şekil 4.24. Yılan derisi a) dorsal ölçek dış yüzey temas açısı değerleri; sol 53, sağ 51, orta 52. b) dorsal ölçek iç yüzey temas açısı değerleri; sol 79, sağ 74, orta 76.

4.9 Aminoasit Analizi Sonuçları

Yılan gömleğinin dorsal ölçek, menteşe ve ventral ölçek amino asit içeriği amino asit analizi ile belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.25'te verilmiştir. Amino asit analizi sonucu dorsal ölçeğin amino asit bileşimi; L-lösin, L-aspartik asit, alanin, dl-aspartik asit, L-glutamik asit, menteşe kısmının amino asit bileşimi; izovalin, L-aspartik asit, dl-fenilalanin, ventral ölçeğin amino asit bileşimi ise; L-lösin, dl-metiyonin, L-valin, L-fenilalanin olarak belirlenmiştir.

Düşük kükürtlü proteinlerin α -heliks oluşumuna katkıda bulunan amino asitlerden oldukları bildirilen aspartik asit, glutamik asit ve lösin yılan gömleğinin özellikle dorsal ölçeği olmak üzere, menteşe kısmının yapısında da ciddi bir orana sahip olduğu Şekil 4.25'teki verilerden anlaşılmaktadır. Öte yandan yüksek kükürtlü protein alanlarında bulunmadığı bildirilen metiyoninin (Zoccola vd., 2009) olduğu ventral ölçekte aspartik asit, glutamik asit ve lösinin bulunmadığı Şekil 4.25'te görülmektedir.

Keratin yapılarında sistin, sistein ve metiyonin kükürt içeren amino asitlerdir. Keratinlerin diğer protein yapılarına göre çözünürlüğünün düşük olması ve yüksek stabilitesi protein zincirlerini çapraz bağlayan sistin amino asidi ile ilişkili çok sayıda disülfid bağı içermesi olarak rapor edilmiştir (Zoccola vd., 2009). Sistin ve sistein amino asidi bizim örneğimizde tesbit edilememiştir, bunun nedeni kullanılan hidroliz adımları esnasında geri dönüşümsüz olarak yok edilmiş olabilirler veya yapıda cihazın bu amino asitleri belirleyemeyeceği kadar az miktarda bulunuyor olmaları olabilir. CHNS analizi sonucunda yapıda kükürt olduğu görülmüştür ve bu da yapıda az miktarda da olsa sistein proteini olabileceğini düşündürmektedir. Li ve ark., yaptıkları çalışmada asit hidrolizi esnasında amino asitlerin ciddi şekilde yok edildiğini bu nedenle asparagin, glutamin, sistein, serin, treonin ve triptofan içeriklerinin doğru olmayabileceğini rapor etmişlerdir (Liv d., 2019).

Literatürde yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının ayrı ayrı amino asit analizini içeren herhangi bir çalışmaya rastlamadık, bunun yanı sıra yılanın derisi ve eti ile yapılan çalışmalardan bazıları şöyledir,

Dalla Valle vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, sürüngen epidermisi üzerine yapılan geniş bir çalışmanın bir parçası olarak yılan epidermisindeki β -keratinlerin nükleotit dizisi, gen yapısı ve amino asitten türetilmiş dizinin belirlenmesini genişletmişlerdir. Ayrıca 5'- ve 3'-RACE stratejisi aracılığıyla bir yılanın epidermisinden ölçekli β -keratin mRNA'ları klonlanması ve dinlenme ve yenilenme fazı yılan örneklerinin epidermisindeki ifadeyi Northern analizi ile analiz ettikleri bu çalışmada iki yilandan toplanan deri örneklerini çalışılmışlardır. İlk örneği, dinlenme veya yenilenme aşamasından hangisinde olduğu bilinmeyen Amerikan mısır yılanının (*Elaphe guttata*) genç bir bireyi kurban edilip tüm deri toplanarak elde edilmiş ve ikinci örnek için ise kornea opaklaşmasından yenilenme aşamasına hazırlandığı düşünülen bir birey kurban edilerek tüm deri toplanmıştır. Bu derilerden alınan örneklerden çıkarılan beş protein için amino asit bileşimleri rapor edilmiştir. Rapor edilen 16 amino asitten lösin, aspartik asit, alanin, glutamik asit, fenilalanin, metiyonin ve valin bizim örneğimizin amino asit analizi sonuçlarıyla ortakken izovalin bizim örneğimizde olup Dalla Valle ve ark. rapor ettiği sonuçlar arasında bulunmamaktadır. Öte yandan arjinin, asparajin, sistein, glutamin, glisin, izolösin, lizin, prolin, serin, treonin ve tirozin de Dalla Valle ve arkadaşlarının rapor ettiği

sonuçlarda yer alıp bizim sonuçlarımızda yer almamaktadır. Bu çalışmada rapor edilen glisin-prolin-serin'in pulların sert korneus tabakasını oluşturmak için kullanıldığı rapor edilmiştir.

Dalla Valle vd. (2010) sistein-glisin-prolin açısından zengin β -keratinlerin izolasyonu ve bunların yılan epidermisinde ekspresyonu üzerine bir çalışma yapmışlardır.

Mazaratti vd. (2023) yaptığı bir çalışmaya ise sarı anakonda ve siyah beyaz tegu'nun etinin protein bileşimi konu edilmiştir. Bu çalışmada 18 amino asit rapor edilmiş olup bunlardan glutamik asit ve aspartik asit diğer amino asitlere kıyasla ciddi bir orana sahiptir. Bizim örneğimizde de dorsal ölçekte hem glutamik asit hem de aspartik asit, menteşe kısmında ise aspartik asit sahip olduğu oranlar ile dikkat çekmektedir.

Literatürde yılan gömleği kısımlarının amino asit analizine yer veren bir çalışmaya biz rastlamamış olsak da, diğer keratin kaynakları olan saç, yün, tırnak, toynak, tüy, boynuz ve stratum corneum'un amino asit analizi ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

Zoccola vd. (2009) yün ve boynuz-toynak amino asitlerini rapor etmişlerdir. Yün de 18, boynuz-toynak da 17 amino asit bildirmişlerdir. Örnekler kıyaslandığında sadece arjinin içeriğinin oldukça benzer olduğunu görmüşlerdir.

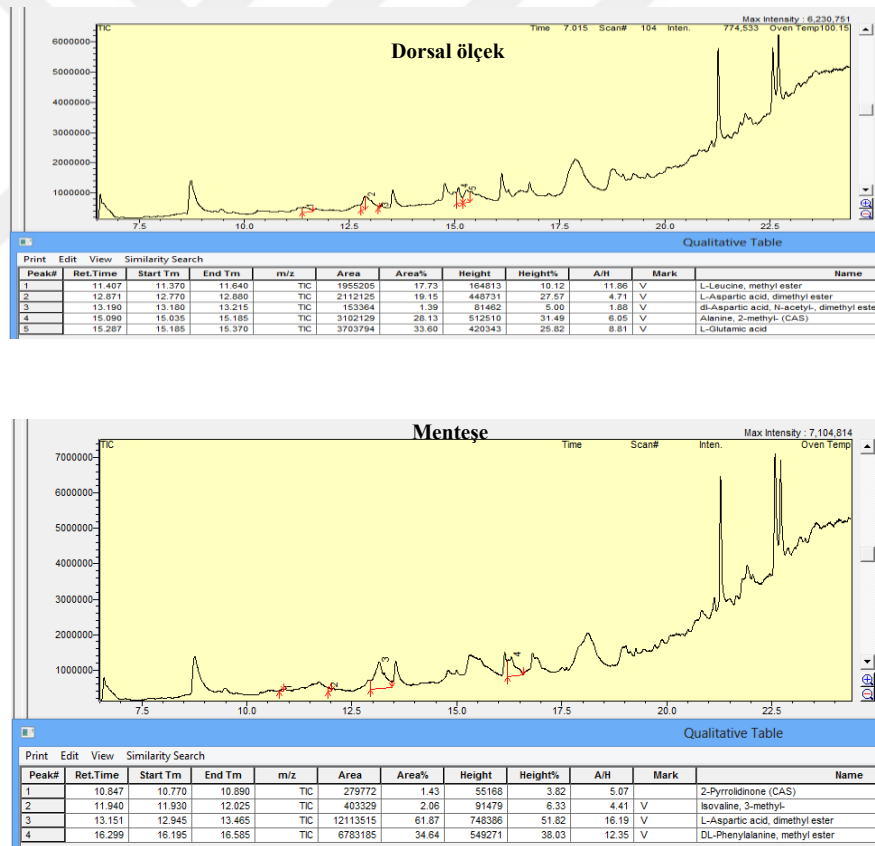
Yuichi ve Yoshihiro, (2014) hidrolize kuş tüyü ve hidrolize yün için 18 amino asit rapor etmişler ve bunlardan trozin, metiyonin ve sisteik asit içeriği oldukça benzerdir.

Başka bir çalışmada ise saç, tırnak ve stratum corneum un amino asit analizi yapılmış ve 17 farklı amino asit rapor edilmiştir (Baswan vd., 2017).

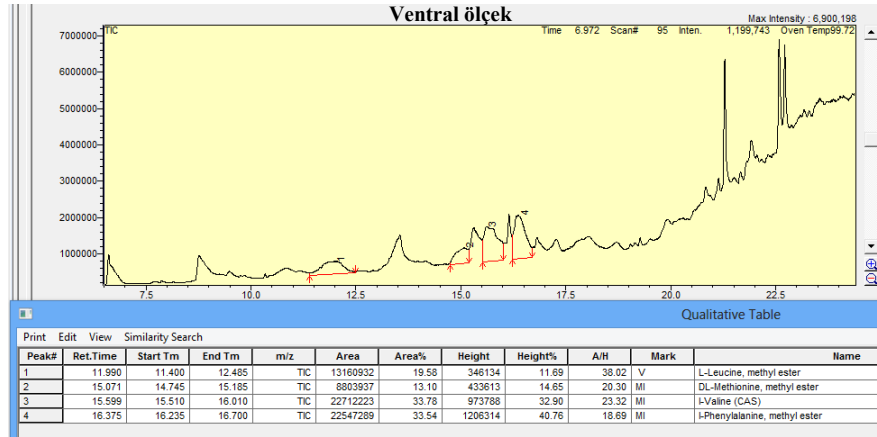
Gupta vd. (2012) yaptığı çalışmada tavuk tüyü amino asit bileşimi için 17 amino asit rapor ederken, Bhari ve Kaur (2021) tavuk tüyünden mikroorganizmalar tarafından oluşturulan keratin hidrolizatta ise 18 amino asit rapor etmişlerdir. Baswan vd. (2017) insan saç, tırnağı ve stratum corneum'un amino asit analizini rapor ederken, Yu vd. (1993) saç ve stratum cornemun amino asit bileşimini, Hill vd. (2010) ise yine saçın amino asit bileşimini ve Moussa vd. (2021) tüy keratininin bacillus

paramycoides tarafından biyobozunmasını ve elde edilen amino asitleri rapor etmişlerdir.

Yılan gömleği kısımlarının yapısında bulunan amino asitlerin hidrofilik ve hidrofobikliği belirlemek için hidropati indeksi kullanılmıştır. Hidropati indeksi, kimyasal bir grubun suyu sevip sevmeme eğiliminin bir ölçөгüdür. Hidropati indeksinin büyüklüğü amino asitin suyu sevmemesinin bir göstergesi iken, hidropati indeksinin küçüklüğü ise amino asitin suyu sevmesinin bir göstergesi olarak bildirilmiştir (Kyte ve Doolittle, 1982). Yılan gömleğinin üç farklı kısmının amino asitlerine baktığımızda hidropati indeksine göre dorsal ölçek hidrofilik amino asit oranı %54.14 iken hidrofobik amino asit oranı %45.86 menteşe bölgesi hidrofilik amino asit oranı yaklaşık olarak %61.87 iken hidrofobik amino asit oranı yaklaşık olarak %34.64 dür ve ventral ölçekte hidrofobik amino asit oranı %100 dür.



Şekil 4.25. Dorsal ölçek, menteşe, ventral ölçek amino asit analizi sonuçları ve oranları.



Şekil 4.25 (Devamı). Dorsal ölçek, menteşe, ventral ölçek amino asit analizi sonuçları ve oranları.

4.10 ICP-MS Analizi

Yılan gömleği kısımlarındaki elementlerin tesbiti için endüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) kullanılmıştır. Biyolojik bir örneğin yapısında bulunan elementler hem yapıyı hem de fizyolojiyi daha iyi anlamamız için önemlidir. Organizmaların ihtiyaçlarına bağlı olarak elementler, toksik veya fizyolojik olarak ayrılabilir. Organizmalar için kadmiyum (Cd), arsenik (As), kurşun (Pb) gibi iz elementler elzem değildir, hatta toksik olarak kabul edilir (Spahn ve Sherry, 1999). Cu, Zn, Ca, Mg, Mn ve Fe gibi fizyolojik elementler ise organizmaların işleyişinin bozulmaması için elzemdir. Kimyasal elementler çoğunlukla organizmalara sorun yaratmayacak miktarlarda biyokimyasal ve jeokimyasal süreçlerde yer alırlar (Frossard vd., 2017). Fakat çevre kirliliği ve beslenmenin etkisiyle vücutta toksik seviyelere ulaşabilirler. Bu da organizmanın fizyolojik işleyişinin bozulmasına ve hatta ölümüne yol açabilir (Abdullah vd., 2015). Çevre kirliliğinin biyo-izlenmesi için yılanlar uygun bir biyoindikatör olabilirler. Değişmeyen bir hayat tarzlarının olması, bazılarının farklı yaşlardaki bireylerden örnekleme yapmaya izin verecek kadar uzun yaşamaları, çok geniş bir yayılımlarının olması, oldukça geniş bir yaşam alanlarının olması ve yüksek miktarlarda kirlitici biriktirerek hayatta kalabilmeleri gibi bir biyoindikatörde olması istenen bazı özelliklere sahiptirler (Zhou vd., 2008). Yılan gömlekleri ve kuş tüyleri gibi (Abdullah vd., 2015; Hanc vd., 2017) biyolojik bir atık olarak doğadan temin edilebilen örneklerin çevre kirliliğinin biyo-izlemesi için biyoindikatör olarak kullanılmalarının örneklem için canlıya zarar verilmemesinden dolayı oldukça önemli olduğunu düşünüyoruz.

Literatürde yılanların konu edildiği elementer analiz çalışmalarının çoğunu su yılanlarının ekotoksikoloji alanında biyoindikatör olarak kullanılmasına dair çalışmalar oluşturmaktadır. Araştırmacıların su yılanlarına olan bu ilgisi, su yılanlarının karasal ve suda yaşayan etle beslenen canlılar için beslenmeyle ilgili önemli bir bağ olmaları nedeniyle kirleticilerin etkileri hakkında önemli bilgiler edinilmesini sağlama potansiyelleri olabilir (Hopkins vd. 1999). Literatürdeki çalışmalardan bazıları şöyledir;

Frossard ve ark., iki yılan türünün (*Boa constrictor* and *Bothrops jararaca*) böbreklerindeki eser elementlerin (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Zn) miktarlarını rapor etmişlerdir (Frossard vd., 2017).

Burger ve ark. farklı alanlardan topladıkları yılan (*Nerodia spp.*) örneklerinin kan, deri, kas ve karaciğerlerindeki metal düzeyleri ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada cilt ile iç dokular arasında, iç dokuların kan ile arasındakinden daha iyi bir korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir (Hopkins vd., 2007).

Campbell vd. (2005) iki farklı yerden topladıkları yetişkin *Nerodia sipedon* örneklerinin kas, böbrek, deri, kan ve karaciğerlerindeki ağır metal konsantrasyonlarını karşılaştırmalı olarak çalışarak sonuçlarını rapor etmişlerdir.

Hopkins vd. (1999) yanmış kömür atıklarına maruz kalan *Nerodia fasciata* örneklerinde arsenik, selenyum, kadmiyum gibi iz elementlerin birikiminin, kontrol bölgesinden gelen yılanlara göre ortalama standart metabolik hızlarının %32 arttığını yani ölümcül seviyelerde olmayan kirleticilere karşı vücudun fizyolojik tepkisini gözlemlemişlerdir.

Yakın tarihli bir çalışmada Lettoof vd. (2021) birçok metalin keratine bağlanması nedeniyle öldürücü olmayan doku örnekleme için çevresel metal kontaminasyonunun bir göstergesi olarak yılan pullarının kullanılabileceğini düşünmüşlerdir. Kan da öldürücü olmayan bir doku örnekleme olmasına rağmen genellikle son kirletici maruziyetlerini yansıtmaktadır. Bu çalışmada dört farklı bölgeden toplanan yılanlar deney grubu olarak, nesillerdir tutsak yaşayan yılan örnekleri de referans grubu olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda As, Se, Sb ve Mn metallerinin kaplan yılanının pullarındaki oranının karaciğerde benzer olduğunu gözlemlemişlerdir.

Goiran vd. (2017) bir deniz yılanı olan *Emydocephalus annulatus* gömleklerini kullandıkları çalışmalarında iz elementlerin birikimini melanizm üzerinden ele almışlardır. Bu çalışmada rapor edildiğine göre, yılanların koyu bantlarında açık bantlarına göre Co, Mn, Ni, Pb ve Zn konsantrasyonları ciddi miktarda daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu durumda koyu renkli yılanlarda deri değiştirme sonucu eser element birikiminden kaynaklanan yükün açık renkli yılanlara göre daha hızlı azalacağını bildirmişlerdir.

McGraw, (2003) pigmentsiz ve az pigmentli kısımlara göre pigmentasyonun yoğun olduğu kısımlarda birikiminin fazla olmasının nedenini melaninin fonksiyonel karboksil gruplarıyla metal iyonlarını bağlaması ve pigmentli dokularda depo etmesi olarak rapor etmişlerdir. Melaninin biyosentezinde makro ve eser bazı elementlerin (Ca, Zn, Cu, Fe, Mn gibi) önemli rolü olduğunu fakat aşırı birikimlerinin toksik olabileceğini bildirmiştir.

Literatürden edindiğimiz bilgiler yılanların sık deri değiştirmelerinin nedenlerinden birinin de toksik metallerin vücuttan uzaklaştırılması olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarında 21 farklı elementin varlığı ve derişimi ICP-MS ile belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.2’de verilmiştir. Tablodan görüldüğü gibi dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımları sodyum (Na), magnezyum (Mg), alüminyum (Al), fosfor (P), potasyum (K) ve kalsiyum (Ca) gibi makro elementlerin yanı sıra titanyum (Ti), mangan (Mn), demir (Fe), nikel (Ni), bakır (Cu), çinko (Zn), stronsiyum (Sr), baryum (Ba), selenyum (Se), molibden (Mo), kadmiyum (Cd), antimon (Sb), talyum (Tl), kurşun (Pb) ve bor (B) gibi eser elementler de içermektedir. Analiz sonuçlarına baktığımızda üç kısım için sadece Na, P, K birbirine yakın olduğunu, diğer elementlerin değerleri arasında bir tutarlılık olmadığını söyleyebiliriz. Menteşe kısmındaki Ca, Mn, Se, Sr, ventral ölçekde Fe elementinin diğer kısımlardan oldukça yüksek olması dikkat çekmektedir. Pigmentli kısımlarda bazı elementlerin daha fazla olabileceğine dair daha önce yapılan çalışmaların (Goiran vd., 2017; McGraw, 2003) sonuçları ile, bizim çalışmamızda ventral ölçek ve menteşeye kısımlarına göre daha fazla melanin içeren dorsal ölçek kısmının elementer analiz sonuçları uyumlu değildir ICP-MS analizi sonuçları Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. ICP-MS analizi sonuçları.

ELEMENLER	DORSAL	VENTRAL	MENTESE
Na	3630.636	3167.442	3494.737
Mg	1231.727	1583.256	3820.000
Al	161.545	530.698	123.053
P	690.909	517.907	416.105
K	235.073	202.930	246.632
Ca	1083.955	2543.488	4408.947
Ti	9.395	4.116	7.316
Mn	1.159	4.706	11.146
Fe	5.395	22.233	11.053
Ni	5.220	7.067	2.384
Cu	1.511	7.500	4.541
Zn	1.406	5.916	4.879
Se	1.751	1.472	7.905
Sr	3.550	4.312	9.263
Mo	2.407	1.266	0.033
Cd	0.086	0.598	0.742
Sb	0.251	0.216	0.415
Ba	0.209	1.271	1.941
Tl	1.386	1.051	0.030
Pb	0.138	0.689	<0.002
B	0.366	0.845	<0.0001

ppm cinsinden

4.11 Antimikrobiyal Aktivite

Biyomalzemelerde olması istenen özelliklerden biri de antibakteriyal aktivitesinin çok iyi olmasıdır. Doku mühendisliği uygulamalarında kullanılacak biyomalzemeye bakteri tutunması ve biyofilm oluşturması konakçının bağışıklık sistemine ve antibiyotiklere karşı dirençli bakteriler oluşmasına yol açabilir (Costerton, 1999).

Patojen bakterilerin özellikle hastane ile ilgili enfeksiyonlarda bir tehdit unsuru olabildiği ve yaranın iyileşmesini geciktirebildiği, hatta bazen biyofilm oluşumuna neden olarak daha büyük problemlere yol açabileceği bilinmektedir (Wu vd., 2014).

Böyle durumlarda hücreler yüzeye tutunmada bakterilerle rekabet etmek zorunda kalabilir. Bu gibi durumların yaşanmaması için bakteri itici yüzeyler özellikle doku mühendisliği alanında son derece önemlidir.

Önceki çalışmalar (Gao vd., 2019; Li vd., 2019; Park vd., 2015; Wang vd., 2016; vd., 2016) keratinin yalnız başına veya bir başka biyopolimer (Kitosan, selüloz, hyaluronik asit gibi) ile komposit oluşturularak akut yara iyileşmesini etkileyebileceğine dair umut verici sonuçlar sunmaktadır. Bu çalışmalardan biri de Vakilian ve arkadaşlarının 2 farklı yılan türünün gömleğinin ventral kısmının yara iyileştirmedeki etkisini araştırdıkları çalışmadır (Vakilian vd., 2019).

Vakilian vd. (2019) yılan gömleğinin yara iyileştirmesi konusundaki gelecek vaat eden sonuçları bizi, yılan gömleğinin işlem görmemiş halinin bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olup olmadığı sorusunu sormaya itmiştir.

Bu nedenle çalışmamızda yaygın bir yara enfeksiyonu sebebi olan gram negatif bir bakteri *Escherichia coli* (Alharbi vd., 2019; Idowu vd., 2011; Nagoba vd., 2008) ve özellikle diş minelerine yapışıp diş çürümesine neden olan gram pozitif bir bakteri *Streptococcus mutans* (Carneiro vd., 2019; Nassar vd., 2012) kullanılmıştır.

Yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının antimikrobiyal aktivitesi *Escherichia coli* ve *Streptococcus mutans* için ayrı ayrı değerlendirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.26 ve Şekil 4.27’de verilmiştir. Taramalı elektron mikroskobu görüntülerinden de görüleceği üzere her iki bakteri de üç yüzeye de tutunmuştur.

Bakterilerin bir yüzeye tutunmalarında ve o yüzeyde çoğalmalarında yüzey özellikleri etkili olabilmektedir. Bakterilerin tutunmasında etkili olan yüzey özelliklerinden biri yüzey pürüzlülüğüdür. Yüzey pürüzlülüğünün bakteri yapışması ve biyofilm oluşturmasını desteklediği fakat bunun pürüzlerin boyutuna da bağlı olduğu yönündedir (Anselme vd., 2010; Ferraris vd. 2017; Gürsoy vd. 2021; Whitehead ve Verran, 2006). Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14 ve 4.15’te verilen SEM görüntülerinde görüleceği üzere yılan gömleğinin üç kısmının da yüzeyi pürüzlü bir yapıya sahiptir. Bu durum bakteri tutunmasında etkili olmuş olabilir. Bir keratin kaynağı olan yılan gömleğinin işlem görmemiş halinin *Escherichia coli* ve *Streptococcus mutans* için antimikrobiyal bir etkiye sahip olmadığı görülmektedir.

Geçmiş çalışmalar diğer keratin kaynaklarından elde edilen keratinlerin antibakteriyal etkisi hakkında farklı görüşler bildirmişlerdir, Yün keratini ile yapılan bir çalışmada proteine atfedilen hidrofilik özelliklerin *E. coli* ve *S.*

aureus büyümesini artırma eğilimi ile yüzeye bakteri yapışmasını desteklediği rapor edilmiştir (Cruz-Maya vd., 2019).

Rosewald vd. (2014) keratin, kitosan ve selüloz ile komposit filmler oluşturmuşlar ve yapıda kitosan ne kadar fazla ise bakteriyel azalmanın o kadar fazla olduğunu göstermişlerdir. Diğer taraftan % keratin filmi *E. coli* büyümesinde antimikrobiyal etkiye sahipken selüloz veya kitosan ile birleştiğinde aktivitesinin bir kısmının kaybolduğunu gözlemlemişlerdir.

Bir başka çalışmada ise, selüloz-yün, selüloz-tüy ve selüloz-saç kompositleri oluşturulup antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Üç bileşik de *S. aureus*'a karşı antibakteriyel özellik sergiler. Burada antibakteriyel özelliğin selülozdan değil keratinden kaynakladığını ve yüksek oranda keratinin tipine bağlı olduğu birdirirmiştir. Çünkü en yüksek antimikrobiyal özelliği tüy gösterirken en düşük antimikrobiyal özelliği yün göstermiştir (Tran vd., 2016).

Yakın tarihli bir çalışmada ani mancınık buhar patlaması yöntemi ile tavuk tüyü, tavuk tüyü tozuna dönüştürülüp, keratinoliz yoluyla elde edilen keratin hidrolizatın *E. coli*'ye karşı önemli bir inhibitör aktivite sergileği görülmüştür. Fakat proteoliz yoluyla elde edilen hidrolizatın *E. coli*'ye karşı belirgin bir etki göstermediği bildirilmiştir (Qin vd., 2022).

Keratin açısından zengin biyomateryallerin antibakteriyel etkisini iyileştirmek için yapıya başka bileşenlerin dahil edildiği çalışmalar literatürde mevcuttur.

Bazı doğal kaynaklardan elde edilen boya ekstraktlarının kimyasal yapısı nedeniyle boyanın güçlü bir antimikrobiyal aktivite göstermesine neden olabileceği görülmüştür. Doğal boyaların biyolojik olarak parçalanabilmeleri ve neredeyse toksik olmamaları nedeniyle kullanımlarının güvenli olduğu düşünülmektedir (Park ve Park, 2010). Standart anti bakteriyel ve anti fungal ilaçlarla kıyaslandığında iyi bir antimikrobiyal özellik gösteren Rheum emodi L., yün boyamasında kullanılmış ve *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. %10'luk boya ile muamelede %90'luk bir inhibisyon bildirilmiştir (Khan vd., 2012).

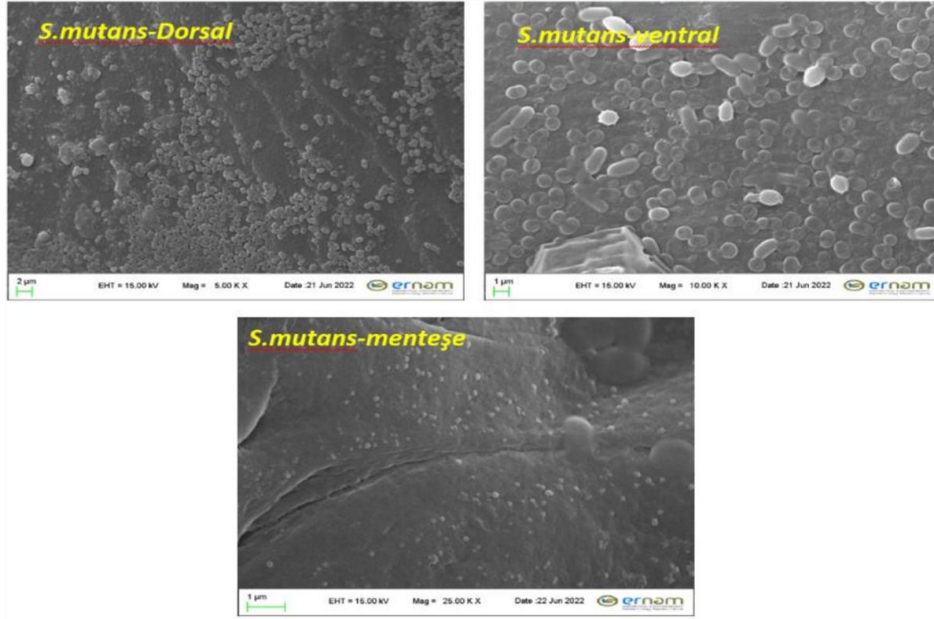
Metal iyonlarının lifli polimerlere dahil olmalarının bu polimerlere antimikrobiyal özellik kazandırabilme ihtimalleri nedeni ile protein liflerinin metal emme potansiyelleri bu amaçla kullanılabilir (Freddi vd., 2021).

Yanık yaralarında kullanılmak üzere hazırlanan keratin-kitosan ve keratin-kitosan/ çinko oksit nanopartikülü'nün gram-pozitif bakterilere (*S. aureus*) ve gram-negatif bakterilere (*E. coli*) karşı antimikrobiyal aktivitesi kıyaslanmış ve çinko oksit nanopartikülü içeren kompozitin antimikrobiyal aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür (Zhai vd., 2018). Gürüldüğü gibi çinko oksit nanopartikülü bakterisidal özellik katmak için bir malzemeye dahil edilebilir (Sirelkhatim vd., 2015).

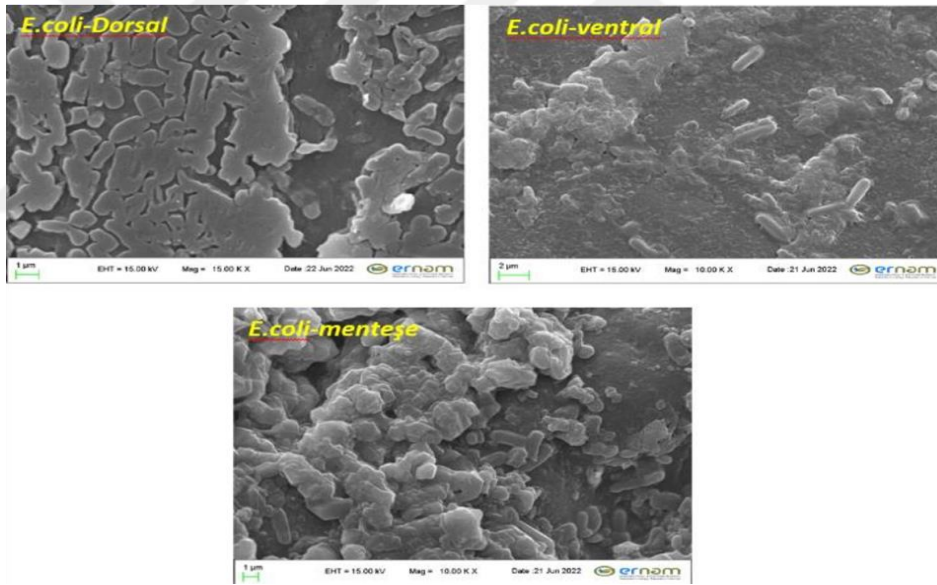
Cochis vd., (2011) titanyum (Ti) diş implantlarının bakteri kolonizasyonunu önlemeyi ve diş eti fibroblastlarının yayılmasını artırmayı amaçlayan çalışmada keratinin tek başına bakteri yapışmasını veya çoğalmasını artırmadığı gösterilmiştir. Gümüş katkılı keratin kaplı numunelerin ise *S. aureus* biyofilm canlılığını azaltmada etkili olduğu rapor edilmiştir.

Shankar vd., (2019) çevre dostu antimikrobiyal keratin-metal iyonu kompleksi nanoparçacıkları rapor etmişlerdir. Bu çalışmada üç metal iyonunun (Ag, Zn, ve Cu) *E. coli* üzerindeki etkinliği değerlendirilmiştir. Keratin nanopartikülleri yalnız başına *E. coli* ye karşı etkinlik göstermezken, keratin nanopartikülleri-Zn en düşük etkinliği gösterirken en yüksek etkinliği keratin nanopartikülleri-Ag kompleksi göstermiştir.

Wang vd. (2016) yaptıkları çalışmada elektroegirme yöntemi ile poliüretan/keratin nanolifli yara matlar hazırlamışlar ve bu matlara gümüş nanopartiküllerini (AgNP) dahil ederek *Escherichia coli* (*E. Coli*) ve *Staphylococcus aureus*'a (*S. aureus*) karşı AgNP'lerin antimikrobiyal etkinliklerini rapor etmişlerdir.



Şekil 4.26. *Streptococcus mutans*'in dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının yüzeyine tutunması.



Şekil 4.27. *Escherichia coli*'nin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarının yüzeyine tutunması.

Sonuçlar yılan gömleği kısımlarının ön işleme tabi tutulmayan halinin *S. mutans* ve *E. coli* için antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığını göstermiştir. Önceki çalışmalarda farklı keratin kaynaklarının antimikrobiyal özelliklerini iyileştirmek için rapor edilen gümüş kaplama gibi uygulamaların ileriki çalışmalarda yılan gömleği için de uygulanıp antimikrobiyal özelliğinin iyileştirilebileceğini düşünüyoruz.

4.12 Hücre Kültürü

Bir materyalin bir hücre hattı için substrat olmaya uygun olup olmadığı in vitro hücre kültürü çalışmaları ile değerlendirilebilir. Substrata hücrelerin tutunması, çoğalması ve yayılması gibi etkenler substratın uygunluk değerlendirmesinde önemlidir. Çünkü hücre kültüründe substratlar hücrelerin yapışmasını ve çoğalmasını desteklemek gibi önemli bir role sahiptirler. Bunun yanı sıra, kültür ortamının besinsel katkı maddeleri, uygun ortam koşullarının sağlanması ve mekanik destek gibi öğeler de hücrelerin hayatta kalması, büyümesi ve çoğalması için önemlidir.

Daha önceki çalışmalardan doku mühendisliği uygulamaları için hücre tutunmasının, büyümesinin ve farklılaşmasının substratı bir ön işleme tabi tutarak daha iyi hale getirilebileceği görülmüştür (Reichl, 2009). Bu çalışmalarda yüzey uyumluluğunun yanı sıra hücre bağlanması, büyümesi ve göçü için üç boyutlu yapı iskelelerinin rolü (Bhattarai vd., 2004) ve yüzey hacmini artırması nedeniyle hücre tutunmasında özellikle gözeneklilik, gözenek hacmi ve boyutunun önemini vurgulamışlardır (Dagalakis vd., 1980).

Wang vd. (2012) insan saçından ekstrakte ettikleri keratin solüsyonundan kalsiyum iyonları ile polimerizasyonu indükleyerek dallı ve gözenekli yapıya sahip hidrojel oluşturmuşlardır. L929 fibroblast hücrelerinin kültüründe keratin hidrojelleri kıyaslamak için biyomedikal uygulamalar için iyi çalışılmış olan kollajen tip 1 hidrojelleri kullanmışlardır. 24 oyuklu plakalarda 2D yüzeyler üzerinde kültürlen hücreleri ise kontrol olarak kullanmışlardır. Kontrol grubu hücreleri kültürün 2. gününden itibaren fibroblastlara özgü iğ şeklinin geliştirirken keratin ve kollajen hidrojellerdeki hücreler yuvarlak kaldılar. Kültürün 4. gününde kollajen hidrojellerdeki hücrelerin küçük bir kısmı ve kültürün 6. gününde çoğu hücrenin iğ morfolojisi göstermesinin yanı sıra, kontrol ve kollajen gruplarının tüm kültür süresi boyunca homojen bir dağılım gösterdikleri gözlenmiştir. Keratin grubundaki hücrelerde ise tüm kültür süresi boyunca çoğaldığını ama rastgele dağılım sergileyen lokalize kümeler oluşturduklarını gözlemlemişlerdir. PicoGreen tahlili sonuçlarına göre hücre proliferasyonunun kontrol>kollajen>keratin şeklinde olduğu görülmüştür. Ayrıca 6 günün sonunda keratin hidrojellerde 1 mm derinliğe kadar hücre penetrasyonu gözlenmiş ve bunun kollajen hidrojellerdeki ile benzer oranlar olduğu rapor edilmiştir.

Tanabe vb. (2002) L929 fibroblast hücrelerinin çoğalması amacıyla kültür kaplarını yün keratini, kitosan ve keratin-kitosanın 1:1 karışımı ile kaplamışlardır. Kaplanmış kapların kontrol grubuna göre pürüzlü bir yüzey gösterdiği görülmüştür. L929 hücrelerinin aşılmasından 24 saat sonra her üç kaplama yüzeyinde de iyi sayıda yuvarlak morfolojiye sahip hücre gözlemlendi fakat kaplanmamış kontrol grubunda besi yeri çıkartılıp PBS ile kısa süreli durulamadan sonra çok az hücre kaldığını gözlemlemişlerdir. 48 saat sonra kitosan kültüründeki hücrelerin çoğu hala yuvarlak bir morfoloji gösterirken keratin ve keratin-kitosan (1:1) kültüründeki hücreler morfolojik olarak iğ şeklini almıştır. 96 saat sonunda ise her üçünde de hücrelerin iğ morfolojisi gösterdiği rapor edilmiştir.

Tachibana vd. (2002) uzun süreli hücre yetiştiriciliği için, kontrollü dondurma ve liyofilizasyon yöntemleri ile yün keratin çözeltisinden oluşturdukları gözenekli yapı iskelelerinde L929 fibroblast hücrelerinin büyümesini araştırmışlardır. İskelelere hücrelerin aşılmasından bir saat sonra, iskelenin gözenek duvarına hücrelerin yapıştığı, bir gün sonra hücrelerin iskele yüzeyine yapıştığı ve bu hızın ticari olarak temin edilen bir kültür kabı ile kıyaslanabilir olduğu görülmüştür. 23. günde iskele yüzeyinde tam fibroblast hücreleri gözlenip, 23-43. günlerde durağan faza girdiği ve hücre sayısının $\approx 4.2-7.4$ milyon olduğunu görmüşlerdir. 1 cm bir alanda sırasıyla yün keratin yapı iskelelerinde ve ticari hücre kültürü ortamında sayılan en fazla hücre sayısı sırasıyla 7.4 ve ≈ 0.2 milyon olduğunu bildirmişlerdir. Keratin yapı iskelesinde fibroblast hücrelerinin en az 43 günlük kültürasyonunun olası olduğunu rapor etmişlerdir.

Ranjbar-Mohammadi vd. (2021) farklı oranlarda yün keratini/polivinil alkol (30/70), (50/50), (70/30) ve poli(ϵ -kaproakton) içeren hibrit yapı iskelelerini elektroçirgeme yöntemiyle üretilen, bu hibrit nano elyaflarda L929 hücrelerinin yapışması ve çoğalmasını araştırmışlardır. Kontrol olarak poli(ϵ -kaproakton) nanolifleri ve kaplanmamış plakaların kullanıldığı bu çalışmada hücrelerin yapışmasını DAPI boyama ile değerlendirmişlerdir. DAPI boyamada en yüksek hücre yapışmasının keratini/polivinil alkol (70/30)-poli(ϵ -kaproakton) nanolifi üzerinde olduğunu görmüşlerdir. MTS analizi sonuçlarında ise keratin varlığının hücre proliferasyonunda ilerleyen bir artışa yol açtığını görmüşlerdir. Keratini/polivinil alkol (70/30)-poli(ϵ -kaproakton) için bu artışın %40' kadar çıktığını gözlemişlerdir.

Kontrol grubuna göre hücre canlılığının keratini/polivinil alkol (30/70)-poli( -kaproakton) 1.18, keratini/polivinil alkol (50/50)-poli( -kaproakton) 1.27 ve keratini/polivinil alkol (70/30)-poli( -kaproakton) 1.44 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Yang vd. (2023) ipek fibroin (SF) ve y n keratinden (WK) hiyerarşik lifli ve gözenekli ipek mikrofiberle güçlendirmiş bir menisküs yapı iskelesini elektro  irme ve dondurarak kurutma teknolojileri kullanılarak üretmişlerdir.  skelede artan y n miktarı, gözenek boyutunu genişletebilmesi ve bağlantıyı iyileştirebilmesi gibi özellikleri nedeniyle L929 hücrelerinin çoğalma hızında artma eğilimi g r lm ştir. Bunun yanı sıra kültürün 3. gününde hücrelerin yapı iskelesinin gözeneklerinde dağıldığını ve büyümenin iyi olduğunu gözlemişlerdir. Bunlara ek olarak yapıya kısa liflerin eklenmesi sıkıştırma modülünü geliştirir fakat artan modülün L929 hücrelerinin yapışması ve çoğalması için uygun olmadığını rapor etmişlerdir.

Ye vd. (2020) y nden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı (120 kDa) keratin, poli(3-hidroksibütirik asit-ko-3-hidroksivalerik asit) ve Ag nanopartikülleri (AgNP) kullanarak, poli(3-hidroksibütirik asit-ko-3-hidroksivalerik asit) %30 y nden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı keratin ve poli(3-hidroksibütirik asit-ko-3-hidroksivalerik asit) %30 y nden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı keratin %0.5 AgNPs nano lifli matlar imal etmişlerdir.  mal edilen matlarda L929 hücrelerinin tutunması ve dağılmasına ek olarak filopodia ve lamellipodia gözlemişlerdir. Uygun y nden elde edilen yüksek moleküler ağırlıklı keratin içeriğinin ve gözenek boyutunun hücrelerin büyümesini desteklemede etkili olduğunu görmüşlerdir.

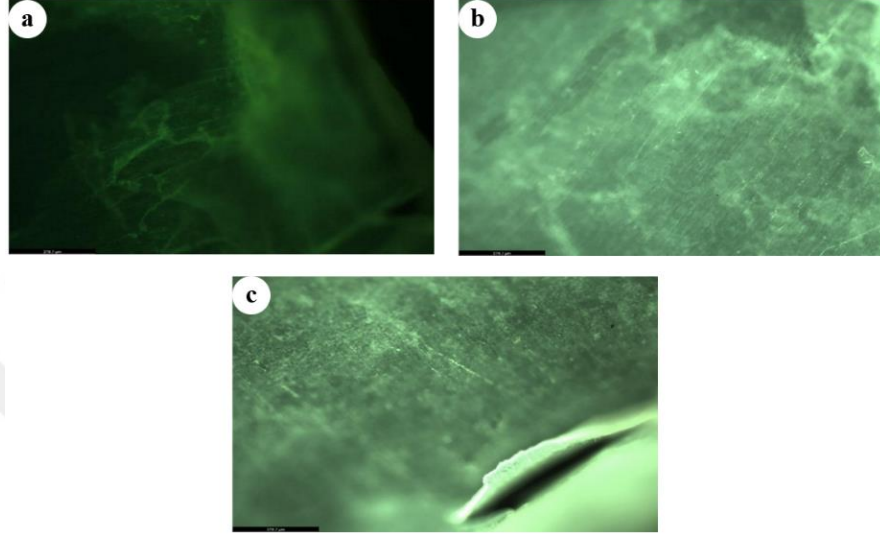
Katoh vd., (2004) basınçla hazırlanmış S-sülfo keratin (kaynak:y n) filmler üzerinde L929 fibroblastların tutunması ve çoğalmasını değerlendirmişlerdir. Hücrelerin aşılanmasından 2 saat sonra film yüzeyine yapışan hücrelerin çoğunun yuvarlak morfoloji gösterdiği, 24 ve 48 saat sonra, iğ morfolojisinde ve 96 saat sonra ise birleşme noktasına ulaşmaya çok yaklaştığını görmüşlerdir. Kontrol olarak kullanılan kültür tabağı ile kıyaslandığında ilk saatler teknik nedenlerle hücre sayısı daha az olsa da 24 ve 48 saat sonra kültür tabağındakilerle çok benzer şekilde arttığı, logaritmik büyüme fazındaki ikiye katlama süresi olan 21.8 saatin de kültür tabağı ile kıyaslanabilir olduğunu görmüşlerdir.

Nakata vd. (2015) yünden indirgeme yoluyla elde ettikleri keratinden, keratin ve kimyasal olarak modifiye edilmiş keratin (asetamidlenmiş keratin (AAK), karboksimetillenmiş keratin (CMK), amiloetilatlanmış keratin (AEK) hidrojeller hazırlamışlardır. Hazırlanan hidrojelleri bir hücre substratı olarak değerlendirme amacıyla fare fibroblast L929 hücreleri yetiştirmişlerdir. Keratin hidrojelde hücrelerin aşılmasından 5 saat sonra hücrelerin çoğu iç hücre morfolojisi gösterirken, AAK ve AEK hidrojellerindeki hücrelerin yuvarlak morfoloji gösterdiği hatta iki günlük kültüvasyondan sonra bile keratin hidrojelindekinden daha fazla yuvarlak hücre morfolojisini gördüklerini rapor etmişlerdir. CMK hidrojelinin kültür ortamında aşırı şişmesi nedeniyle plakanın tabanından kalkması nedeniyle hücre sayımı yapamamışlardır. Keratin, AEK ve AAK hidrojellerinin kalınlığı artsa da hidrojelin hücre göçünün olmadığı, hücre çoğalmasının hidrojellerin hemen yüzeyinde gerçekleştiği ve hidrojellerin ticari olarak temin edilenlerle benzer bir hücre çoğalması gösterdiğini bildirmişlerdir.

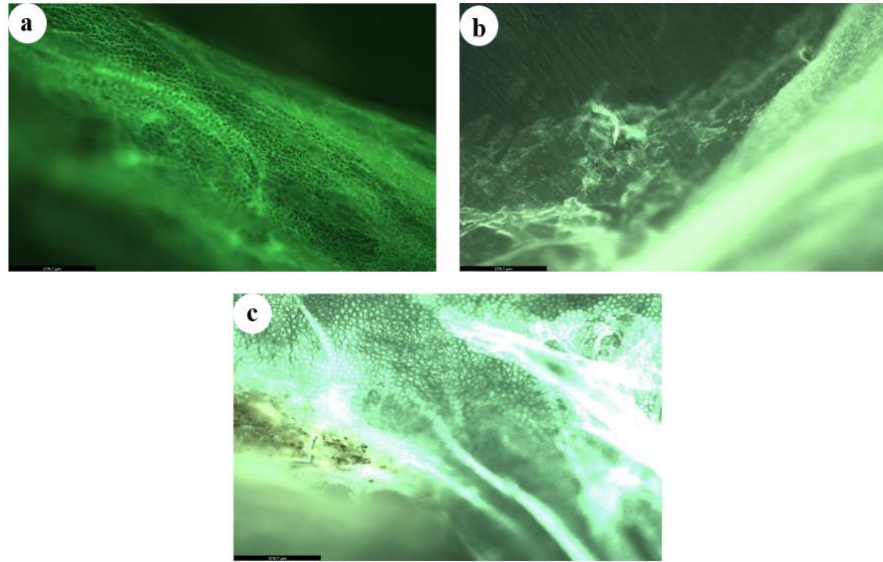
Bu çalışmada yılan gömleğinin ön işlem görmemiş halinin L929 hücreleri için substrat olarak kullanılıp kullanılamayacağı değerlendirilmiştir. Diğer analiz ve uygulamalardan farklı olarak bu uygulamada yılan gömleğinin dorsal ölçeği ve menteşe kısmı ikisinin de boyutları çok küçük olması nedeniyle hücre kültürü ortamında sorun yaşanıldığı için birlikte kullanılmıştır. Dorsal ölçek diğer analiz ve uygulamalarda olduğu gibi tek başına kullanılmıştır.

Farklı zamanlarda üç kere tekrarladığımız hücre kültürü uygulamamızda Şekil 4.30'da görüleceği üzere yılan gömleği kısımları dışında kalan cam yüzeyde tutunma olmasına rağmen yılan gömleği kısımları üzerinde hücre tutunmasının olmadığını gözlemledik. Şekil 4.28 ve Şekil 4.29'da 24, 48 ve 72 saatlik hücre kültürü uygulamasının floresan mikroskobu görüntülerini göstermektedir. Bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilen, keratin yapıların hücre tutunma ve çoğalmasını destekleyen sonuçları ile uyuşmamaktadır. Fakat önceki çalışmalarda keratin yapılar ön işleme tabi tutularak hücre kültürü substratı olarak kullanılmıştır. Biz de gelecekte yılan gömleği kısımlarının ön işleme tabi tutularak yapı iskelesi, film, hidrojel gibi formlara dönüştürülüp denenmesini veya yılan gömleğinin ön işleme tabi tutulmamış bu orijinal hali L929'dan farklı hücre hatlarına substrat olarak da denenebileceğini düşünmekteyiz. Öte yandan türler arasındaki ölçek yüzeyi

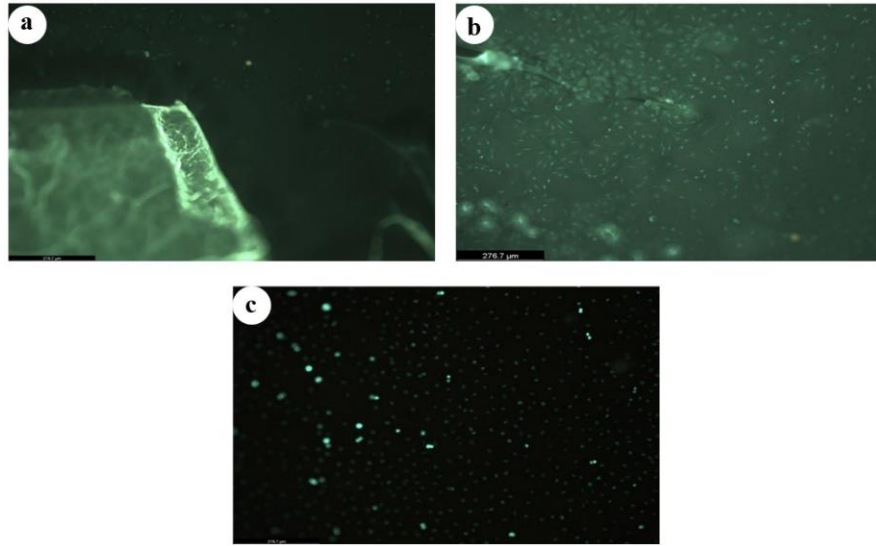
farklılıkları nedeniyle (Allam vd., 2012) başka bir yılan türünün gömleğinin ön işlem görmemiş hali L929 hücreleri ile çalışılabilir. Bildiğimiz kadarıyla bu güne kadar yılan gömleğinin herhangi bir ön işle tabi tutulmuş veya tutulmamış hali hiçbir hücre hattı için substrat olarak kullanılmamıştır. Bu nedenle denenmesi gereken uygulama olasılıkları oldukça fazladır.



Şekil 4.28. Ventral ölçek a) 24 saat, b) 48 saat ve c) 72 saatin sonunda floresan mikroskobu görüntüsü.



Şekil 4.29. Dorsal ölçeğin (dorsal ölçek ve menteşe) a) 24 saat, b) 48 saat ve c) 72 saatin sonunda floresan mikroskobu görüntüsü.



Şekil 4.30. a) Ventral ölçek ve numune dışı alan, b) numune dışı cam yüzey, c) kontrolün floresan mikroskobu görüntüsü.

4.13 İlaç Yükleme

Kontrollü ilaç salım sistemleri, ilacın salım süresini ve dozunu ayarlayabilmenin yanı sıra hedefe yönelik çalışma imkanı da sunmaktadır (Davoodi vd., 2018). Hastalıkların tedavisinde ilacın etki edeceği bölgede kalma süresini artırmak, daha az ilaç kullanılarak tedavi imkanı sağlamak, toksik birikimi ve ilaç tekrarı sıklığını azaltmak açısından oldukça önemlidir (Park, 2014). Oral yolla, intramüsküler enjeksiyon yoluyla veya damar yoluyla uygulamada ilacın plazma düzeyi hızla artarak etkili doz düzeyinde bir süre kalmakta ardından da hızla etkili doz düzeyinin altına düşmektedir (Park, 2014). Geleneksel ilaç kullanımından kaynaklanan bu gibi dezavantajlar nedeniyle bilim insanları, terapötik ajanların maksimum fayda sağlayan, hasta konforunu artıran kullanım şekillerini geliştirmeye yönelirken beraberinde minimum zarar vermelerini hedeflemektedir. Bu amaç için de keratin gibi biyoyumlu ve nontoksik biyolojik temelli materyaller kontrollü ilaç salımı alanında yoğun ilgi görmektedir.

İlaç dağıtım sistemleri ile ilgili farklı kaynaklardan elde edilen keratinler ile bu güne kadar birçok kontrollü salım çalışması yapılmış ve bu çalışmalarda genel itibariyle tüy keratini, saç keratini ve yün keratini üzerinde yoğunlaşmıştır. Literatüre bakıldığında tüyden elde edilen keratin ile yapılan çalışmalardan bazıları şöyledir,

2015 yılında yapılan bir çalışmada, pH'a duyarlı hidrojel­ler hazırlanmış ve küçük moleküler bir ilaç olan rodamin B için kümülatif salım oranı, pH 8.4'te 24 saatte %97 olarak rapor edilirken, makromoleküler sıgır serum albümini için pH 7.4'te %89 olarak rapor edilmiştir (Guo vd., 2015).

Rodamin B'nin kontrollü salımının yapıldığı bir başka çalışmada, keratin bazı filmlerin salım oranları farklı pH'larda ölçülmüş ve salım oranının pH'dan etkilendiğı ortaya konulmuştur (Yin vd. 2013).

İndometasinin'in (IDM) ciddi gastrointestinal yan etkilerini hafifletmek amacıyla Gong ve ark., ıslak eğirme yoluyla deri çekirdekli yapıya sahip sodyum aljinat (SA)/tüy keratin komposit lifi hazırlayıp, ince bağırsak, kolon ve sindirim simüle sıvısında IDM salımını, keratin ve SA oranının salım üzerindeki etkisini rapor etmişlerdir (Gong vd., 2020).

Yara iyileştirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, keratin/aljinat, keratin/agar ve keratin/gellan kullanılarak üretilen gözenekli dermal yamalardan temel fibroblast büyüme faktörü salımı sonuçlarının üç gün ölçüldüğü ve bu ölçümler sonucunda ilk iki gün üç dermal yamanın hepsinde benzer sonuçlar olduğı fakat üçüncü gün keratin/gella'nın en yüksek salım oranını (88.89) verdiğı rapor edilmiştir (Nayak ve Gupta, 2017).

Başka bir çalışmada ise, farklı formülasyonlarda disülfid karıştırma stratejisi ile keratinden üretilen hidrojellerin, normal ortamın ve indirgeyici ortamın simüle edildiğı iki farklı ortamda hidrojellerin bozunması ve ilaç salımı siprofloksasin ve doksorubisin kullanılarak gözlemlenmiş ve farklı parametrelerden nasıl etkilendiklerini rapor edilmiştir (Cao vd, 2019).

Bir diğ­er keratin kaynağı olan saç ile yapılan çalışmalardan bazıları ise şöyledir, kanser tedavisini hedefleyen bir çalışmada, %52.9'luk (w/w) çok yüksek bir ilaç yükleme oranına sahip, biyolojik glutatyon faktörü ve tripsin'e çift uyaran tepkili keratin-aljinat kompozit nanojeller hazırlanmıştır. Bu nanojellerden salınan doksorubisinin serbet ilaca göre hem anti tümör aktivitesinin daha iyi olduğı hem de yan etkisinin daha az olduğı bildirilmiştir (Sun vd., 2017).

Doksorubisin salımının konu edildiği yakın tarihli bir çalışmada ise keratin-doksorubisin nanoparçacıklarından doksorubisinin kümülatif salımı farklı pH'larda 270 saat boyunca gözlenmiş ve sürecin sonunda pH 7.4'te Doksorubisin sadece ~%5'i salınmasına karşın pH 5.0'da ilk beş saatte %10'dan fazlasının salındığı ve bunu hızlı bir salımın takip ettiği rapor edilmiş (Liu vd., 2019).

Geçmiş yıllarda yanık yarası tedavisi için keratin hidrojellerden siprofloksasin salımının konu edildiği bir çalışmada, salımının basit difüzyon şeklinde gerçekleşmediği jel bozunmasının bir fonksiyonu olarak gerçekleştiği bildirilmiştir. Antibiyotik yüklü jellerin hücre rejenerasyonunu engellemeden hem Gram negatif (*P. aeruginosa*) hem de Gram pozitif (*S. aureus*) bakteri seviyelerini önemli ölçüde azaltması nedeniyle yanık yarısında birinci basamak tedavi olarak kullanılabilecek iyi bir aday olduğunu düşündüklerini rapor etmişlerdir (Roy, vd., 2016).

Sadeghi ve arkadaşlarının yara tedavisini amaçladıkları çalışmada ise, karboksimetil selüloza keratin eklenmesinin karboksimetil selülozun ilaç salım ve diğer özelliklerini nasıl etkilediği üzerine yoğunlaşmışlar ve farklı konsantrasyonlardan oluşmuş kompozitlerde bu özellikleri gözlemlemişlerdir. *İn vitro* salım verileri, kompozit örtüden klindamisin salım profilinin bir Fickian difüzyon mekanizması yoluyla kontrol edildiğini ve daha fazla keratin içeren örneklerde salımın daha yavaş olduğunu bildirmişlerdir (Sadeghi vd., 2019).

Bir başka çalışmada keratinin, keratozun ve farklı keratin-keratoz oranlarında hazırlanan keratin nanoparçacıkların mukoadezif özellikleri ve ilaç salımını araştırmak için keratin nanoparçacıklar üretilmiştir. Araştırma sonucundan keratin ve keratozun güçlü mukoadezif özellikler sergilediklerini ve model ilaç olarak amoksisilinin kullanıldığı keratin nanoparçacıklardan ilaç salımında ise salım hızının keratinin keratoza oranı değiştirilerek ayarlanabileceği ve keratin nanopartiküllerdeki keratoz oranının artırılarak salım oranının artırılabilceğini bildirmişlerdir (Cheng vd., 2018).

Bir keratin kaynağı olarak yün de kontrollü salım çalışmaları için bilim insanlarının oldukça ilgisini çekmektedir. Keratin ve pluronic'e dayalı ikili tetiklenebilir salım özelliklerine sahip hidrojel nanopartiküllerden kurkumin salımı 192 saat gözlenmiş ve 192 saat sonunda ilaç salımı kontrol numunesinde yaklaşık %5 iken, glutatyon ve

tripsin varlığında salımın kontrol numunesine göre 9 kat daha fazla olduğu, sadece glutatyon içeren numunelerde 8 kat, sadece tripsin içeren numunelerde ise 2 kat fazla salım oranı olduğu bildirilmiştir (Ghaffari vd., 2018).

Tran ve Mututuvvari, (2015) selüloz, keratin ve kitosanın tek tek kullanılmasıyla veya ikili üçlü kompozitler halinde kullanılmasıyla oluşturulan filmlerden siprofloksasin'in kontrollü salımını araştırmışlardır. Keratin, selüloz ve kitosanın siproflaksasini kapsülleyebildiği ve tek tek veya ikili üçlü bileşikler olarak salılabildiğini bulmuşlardır. Selüloz ve kitosanın tek veya bileşik olarak kullanıldığı durumlarda, orandan bağımsız olarak, ilaç salım hızı nispeten yüksekken bunlardan birinin yanına keratin eklendiğinde veya üçlü bir bileşik oluşturulduğunda salım hızının önemli ölçüde azalttığı ve salım hızındaki azalmanın keratin konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Osteosarkom'un farmakolojik tedavisini hedefleyen bir çalışmada, yüksek moleküler ağırlıklı ve suda çözünür keratinlerden hazırlanan nanopartiküller Chlorin-e6 ile ışığa duyarlı hale getirilip kemoterapötik ilaç Paklitaksel ile yüklenmiştir. Nanopartiküllerin üretimi için ilaca bağlı toplama yöntemi (Paklitaksel-Ce6@ker ag) ve desolvasyon yöntemi (Paklitaksel-Chlorin-e6 @ keratin_{ds}) olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmıştır. (Paklitaksel-Chlorin-e6 @ keratin_{ds}) de ilk 5 saatte Paklitaksel'in yaklaşık %25'i, (Paklitaksel-Chlorin-e6@keratin ag) de ise ilk 5 saatte Paklitaksel'in yaklaşık %50'si salındığı rapor edilmiştir (Martella vd., 2018).

Paklitaksel'in aracı ilaç olarak kullanıldığı bir başka çalışmada, keratin nanopartiküllerden Paklitaksel'in kontrollü salımı ile meme kanseri tedavisi hedeflenmiştir. Keratin nanopartiküllerden Paklitaksel salımı sırasında ilk 3 saatte bir ilk patlama olduğunu ve ardından gelen 24 saat içerisinde daha uzun süreli bir salım gözlediklerini ve ilk 24 saat boyunca kümülatif salımın ~%32 olmasının fizyolojik koşullar altında uzun süreli etkinliğinin garanti edilebileceğini düşündürtüğünü rapor etmişlerdir (Foglietta vd., 2018).

Aluigi vd., (2018) birçok kanser türü için yaygın olarak kullanılan doksorubisinin serbest haldeki yan etkilerini en aza indirmek amacıyla iyonik jelleşme ve agregasyon yöntemleriyle pH'ya duyarlı hazırladıkları keratin nanopartiküllere dokdorubisin yükleyip kontrollü salımını yapma gibi bir strateji izlemişlerdir. İyonik

jelleşmenin daha yüksek ilaç yüklemesine (ağırlıkça %30) izin verdiği ve MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücrelerinin ortadan kaldırılmasında daha verimli olduğunu bulmuşlardır. İlk 24 saatte fizyolojik koşullarda (pH 7.4) ilacın sadece %38'nin salındığını, tümör asidik mikroçevresinde (pH 5.0'da) salım oranının %60'a ulaştığını ve pH'ya duyarlı nanopartiküllerin rolünü raporlamışlardır.

Posati vd. (2018) keratin filmler ve keratin-hidrotalsit hibrit filmlerden diklofenak salımını in vitro ortamda gözlemlemişler ve 6 saat sonra keratin filmlerde salım oranının %28, keratin-hidrotalsit-diklofenak hibrit filmlerinde ise %54 olduğu, 150 saat sonra hibrit filmlerde salım oranının %85 olduğunu hibrit olmayan filmlerde ise %66 olduğunu rapor etmişlerdir.

Güncel bir çalışmada, keratin-polilaktik asit-grafen oksit kompozit nanoliflerden rhodamine blue salımı araştırılmış ve keratin ve polilaktik asit 50/50 kullanılırken sistemlere uyarıcı kontrollü ilaç verme yeteneği ekleme fırsatı veren grafen oksit'in farklı oranlarda kullanıldığı ve grafen oksit içeriğine göre ilaç salımının elektriksel tetikleme kapasitesinin ayarlanabileceği daha önceki kontrollü salım çalışmalarına da atıfta bulunularak raporlanmıştır (Schifino vd., 2022).

Keratin ve asetamidlenmiş keratin (AAK), karboksimetillenmiş keratin (CMK) ve aminoetilatlanmış keratin (AEK) olarak modifiye edilmesiyle hazırlanan hidrojellerden ilaç salımında, keratin ve AAK hidrojellerinin 3 günden fazla ilaç salımı yaparken, CMK ve AEK hidrojellerinin salımının bir gün içerisinde tamamlandığı rapor edilmiştir (Nakata vd., 2015).

Guidotti vd. (2021), keratin/poli(bütlen süksinat) (PBS) 70/30 ve 50/50 harman elektro eğirme matlarından rodamin B salımını çalışmış ve keratin/PBS 70/30 numunesinden ilk bir saatte %90 salım olurken keratin/PBS 50/50 numunesinden %56'lık bir salım olduğunu, takip eden 50 saatte ise 70/30 numunesi %100'e varan yavaş bir salım gerçekleştirirken, 50/50 numunesinde bu oranın %75 olduğu rapor edilmiştir.

Başka bir bilimsel çalışmanın konusu ise ticari keratin kullanılarak kitosan-keratin-poli(ϵ -kaprolakton)-polietilen glikol kullanılarak oluşturulan sütürlardan diklofenak potasyum salımıdır. Çalışmada, in vitro ortamda sütürların gösterdiği olumlu

özellikler elde edilen sütürların klinik ortamda ileriye dönük uygulamaya sahip olabileceğinin düşünülmesine neden olduğu rapor edilmiştir (Deng vd., 2021) .

Pantotenik asidin (B5 vitamini) stabil bir analogu olan D-Panthenol dokular tarafından absorbe edildikten sonra hızla ve tamamen pantotenik aside metabolize olmaktadır. Pantotenik asidin cilt veya mukoza zarları üzerine uygulanan formları kararsızdır. Bu nedenle kararlı olan D-Pathenol formu; kozmetik formülasyonlarda, lezyonların tedavisinde, cildin yumuşamasında, cilt iritasyonlarında ve elastikiyetin artması gibi amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır (Webb vd., 2014).

Literatürde yılan gömleğinin yara iyileştirmedeki etkisi bilinmektedir (Vakilian vd., 2019). Bu etkiyi artırmak amacıyla mevcut çalışmada yılan gömleğinin üç farklı kısmına (dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe) D-panthenol yüklenerek salım özellikleri araştırılmıştır.

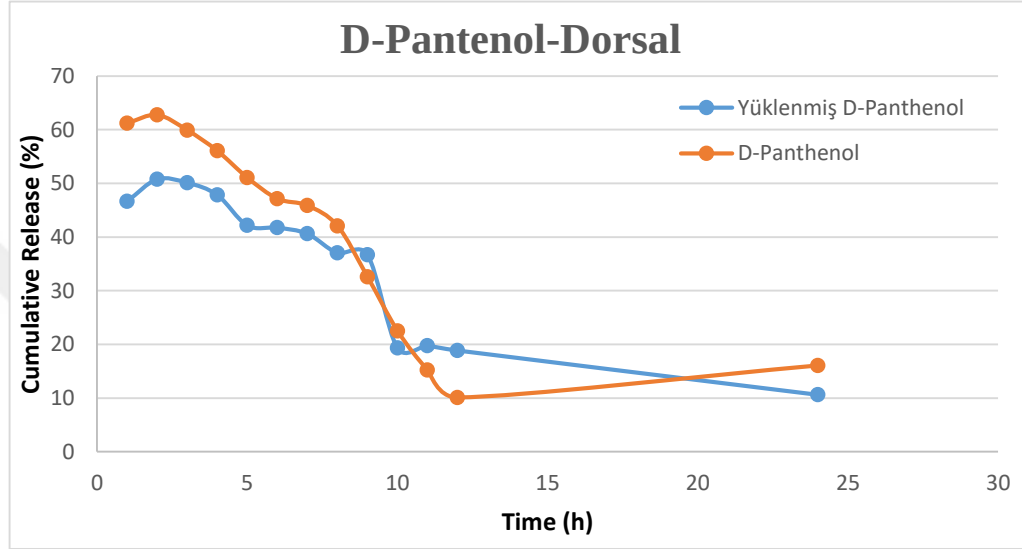
4.13.1. Kapsülleme verimliliği

Mevcut çalışmada, D-Panthenol'ün yılan gömleği kısımlarına yüklenmesinde pasif yükleme tekniği uygulanmıştır. Enkapsülasyon etkinliği (%) sırasıyla dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe 2.07 ± 0.13 , 1.28 ± 0.04 ve 1.77 ± 0.95 olarak kaydedilmiştir. Kapsülleme yüzdelerindeki farklılığın yılan gömleği kısımlarının yüzey farklılıklarından ve ilaç yükleme tekniğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

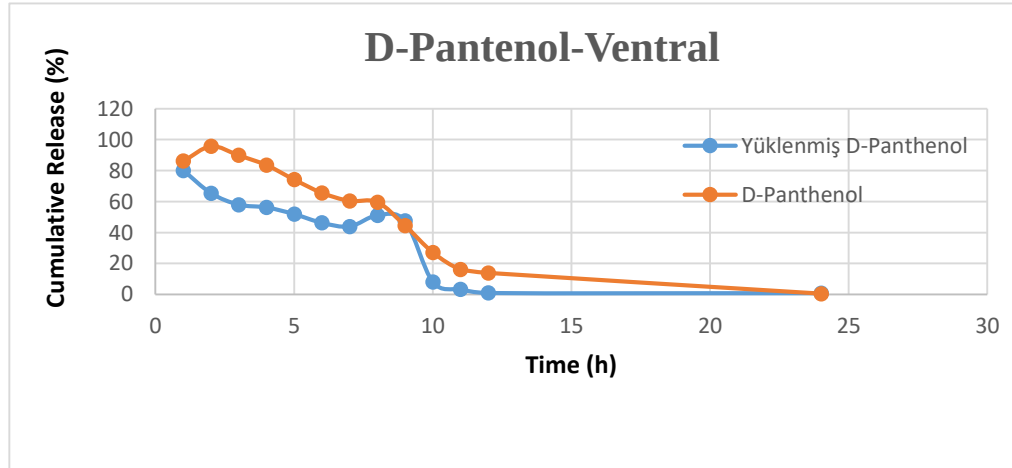
4.13.2. Kümülatif salım

Tampon içerisinde (pH 5.5) D-Panthenol ve D-Panthenol yüklü yılan gömleği kısımlarının (dorsal ölçek, ventral ölçek, menteşe) in vitro salım çalışmaları yapılarak sonuçlar Şekil 4.31, 4.32 ve 4.33'te verilmiştir. D-Panthenol salım profili, dorsal ölçek ve ventral ölçek de ilk 2 saat boyunca başlangıçta hızlı bir salım profili ortaya koymuş ancak ardından azalmaya başlamıştır. Menteşe kısmında ise ilk 5 saatte başlangıçta hızlı bir salım profili ortaya koyarken ardından azalmaya başladığı görülmüştür. D-Panthenol yüklü dorsal ve ventral ölçek saf ilaca göre daha yavaş bir salım oranı gösterirken, menteşe kısmında saf ilaca göre daha hızlı bir salım oranı görülmüştür. Menteşe kısmındaki bu hızlı salımın nedeni, bu kısımda çıplak gözle de fark edilen yüzey yapısındaki çukurluklardan kaynaklanabilir. Bu çalışmada görülen ilk patlama salımının D-Panthenol'ün yılan gömleği kısımları üzerine zayıf

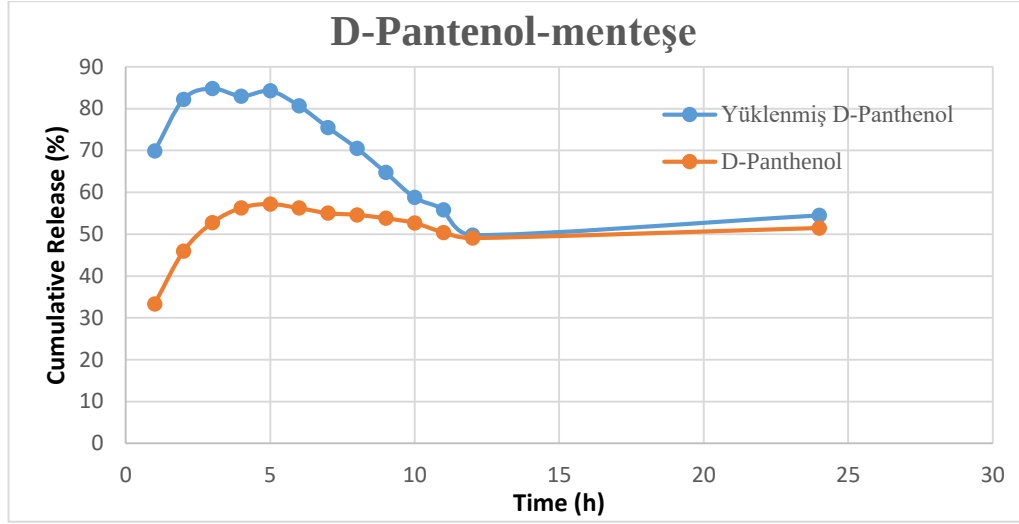
tutunması kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Daha önceki çalışmalarda Guidotti ve ark. da belirttiği gibi, yaralanmanın ilk saatlerinde vücudun kendini onarma hızı daha yüksek olacağı için ilk saatlerdeki yüksek ilaç salım oranı da bu iyileşme hızını destekleyebilir Guidotti vd. (2021). Elde edilen sonuçlardan özellikle dorsal kısmın gelecek vaat eden başarılı sonuçları göz önüne alındığında atık olan bu malzemenin ileriye dönük ilaç salım biyomalzemesi olarak kullanılabileceği öngörülmüştür.



Şekil 4.31. Yılan gömleği dorsal ölçek kısmı D-panthenol salım oranı.



Şekil 4.32. Yılan gömleği ventral ölçek kısmı D-panthenol salım oranları.



Şekil 4.33. Yılan gömleği menteşe kısmı D-panthenol salım oranları.

Genel bir değerlendirme yapıldığında yılan gömleğinin D-panthenolün taşınımı ve salımı amaçlı kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Fakat bu materyalin farklı etken maddeler ile etkileşimi ve kontrollü salım amaçlı kullanılabilirliği ileriki çalışmalarda denenebilir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yılan gömleği, keratin, ilişkili proteinler, lipit, makro ve mikro elementlerden oluşan kompozit mükemmel bir malzemedir. Bu çalışmayla Dünya da ve Türkiye de çok geniş bir yayılım alanına sahip olan, *Dolichophis caspius*'un (Hazer Yılanı, Bozyörük) deri değiştirme sonucu doğaya biyolojik bir atık olarak bıraktığı gömleği kullanılmıştır. Önceki çalışmalarda farklı yılan türlerinin gömlekleri, dorsal kısım (dorsal ölçek+menteşe) ve ventral kısım (ventral ölçek+menteşe) olarak çalışılmış olup literatürde bu güne kadar ölçeklerin ve menteşe kısmının ayrı ayrı çalışıldığını belirten bir çalışmaya rastlamadık. Geçmiş çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada ilk kez, bir yılan türünün gömleği, dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarına ayrılarak her bir kısmın ayrı ayrı fizikokimyasal analizleri yapıp bu üç kısım arasındaki yapısal farklılıklar ve biyoteknolojik uygulamadaki potansiyellerinin aynı olup olmadığı analiz ve uygulama sonuçlarıyla rapor edilmiştir. Tüm analiz ve uygulamalarda üç kısım da hiçbir ön işleme tabi tutulmadan orijinal haliyle kullanılmıştır.

Literatürden edindiğimiz bilgiler ışığında FTIR analizi sonuçlarını değerlendirdiğimizde, menteşe ve dorsal ölçek kısımlarında α -sarmal ve β yaprak yapının birlikte bulunduğu, β yaprak yapının özellikle menteşe kısmında daha yoğun olduğu ve ventral ölçeğin ise tamamen β yaprak tabakadan oluştuğu yorumu yapılabilir. Daha önce farklı yılan türleri ile yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi yılan gömleği yapısında alfa ve beta keratinler birlikte bulunur ve Oberhautchen tabakasının yapısını da beta keratinler oluşturması nedeni ile yapılarda beta keratinin daha yoğunlukta olduğu sonucuna varılabilir.

Yılan gömleğinin XRD analizinde, dorsal ölçek kısmı karakteristik α ve β piklerini verirken, ventral ölçek ve menteşe kısmında α keratin piki gözlenmemiştir. β keratine ait pik ise dorsal ölçeğin β keratin pikinden zayıftır. Bu sonuçlar FTIR sonuçlarını destekler niteliktedir. FTIR analizinde de menteşe kısmında alfa keratinin beta keratine göre daha az olduğunu, ventral ölçeğin ise tamamen β keratinden oluştuğunu düşündüğümüzü belirtmiştik.

TGA grafiğine baktığımızda menteşe ve dorsal ölçek kısmının optimal bozunma sıcaklıkları neredeyse aynıyken ventral ölçeğin onlardan biraz daha yüksek olduğu

görülür. Yaklaşık 150-600°C arasında ağırlık kayıpları dorsal ölçek>ventral ölçek>menteşe şeklindedir. En yüksek ağırlık kaybının dorsal ölçekte olmasının nedeni yapıdaki α keratin varlığından, ventral ölçeğin optimal bozunmasının daha yüksek olması ise yapıya β keratinin hakim olamasından kaynaklanıyor olabilir. Çünkü α keratin, β keratinden daha düşük sıcaklıkta bozunmaya başlar.

TGA analizinde, dorsal ölçekde 45.7°C ve ventral ölçekde 53.7°C’de görülen pikler menteşe kısmında görülmemiştir. Daha önceki bir çalışma menteşe kısmının lipit açısından zengin olan mezos tabakasından yoksun olduğunu bildirilmiştir. Bu bilgi, dorsal ve ventral ölçekteki bu piklerin yapıdaki lipidin bozunmasına ait olabileceğini düşündürmektedir. Mezos tabakasının sıvı geçişini kontrol eden bir bariyer konumunda olduğu düşünülürde, menteşe kısmının mezos katmanından yoksun olması durumunda bu görevi üstlenen başka bir yapının olması gerektiği düşüncesi akla gelmektedir.

Elementel analiz sonuçları her üç kısımda da karbon, hidrojen, kükürt ve azot varlığını doğrularken EDX analizi sonuçları CHNS analizi sonuçlarını desteklemekle birlikte yapıdaki oksijen varlığını da ortaya koymaktadır. CHNS analiz sonuçlarından edindiğimiz ortalama nitrojen miktarının protein dönüşüm faktörü (6,25) ile çarparak numunelerdeki ortalama protein miktarları elde edilmiştir. Ortalama protein miktarı, menteşe, dorsal ölçek ve ventral ölçek için sırasıyla: % 81.81, % 69.81, % 80.56’dır.

SEM görüntülerine baktığımızda menteşe bölgesinin dış kısmının papillar bir görünümde, iç kısmının ise çukurluklardan oluştuğunu görürüz. İç kısımda çukurlukların arasındaki tümsek kısımlarda kısa lifler göze çarpmaktadır. Menteşe bölgesinin enine kesitinde tabakaların kat kat ayrılmış olduğunu dorsal ve ventral ölçeğin enine kesitlerinde olduğu gibi kompakt bir tabaka görünümünün olmadığını görürüz. Dorsal ölçekçeğin özellikle dış kısmı lifli ve amorf kısımların birbiri ardına sıralandığı bir görünüme sahiptir. Lifler ve amorf kısım iç yüzeyde dış yüzeydeki gibi belirgin bir görünüme sahip değildir. Ventral ölçeğin iç ve dış kısımları diğer kısımlara göre daha pürüzsüz ve amorf bir görünüm sergilemektedir. Araştırmacılar, ölçek kısımlarındaki bu makro ve mikro süslemelerin kullanım ve yaşam alanı tercihindan mi kaynaklandığı yoksa filogeninin bir göstergesi mi olduğu konusunda hala fikir birliğine varamamışlardır.

Malzeme bilimi için oldukça önemli olan temas açısı değerleri en basit şekliyle bir malzemenin suyu sevip sevmemesinin bir ölçütüdür. Suyu karşı ilgisi yüksek yani hidrofilik yüzeylerde $q < 90^\circ$ iken, suya karşı ilgisi düşük yani hidrofobik yüzeylerde $q > 90^\circ$ dir. Temas açısının 140° nin üzerinde olduğu yüzeyler ise suyu reddeden yani süper hidrofobik yüzeyler olarak tanımlanmaktadır. Bir malzemenin temas açısı değerlerinde yüzey özellikleri oldukça önemlidir. Dorsal ve ventral ölçeğin her iki yüzeyinin de temas açısı ölçüm değerleri 90° den küçüktür. Bu da yüzeyin hidrofilik olduğunu göstermektedir. Ventral ölçeğin sonuçlarına baktığımızda ölçümler yapılırken uygulayıcının dorsal örneğin iç ve dış yüzeyini yanlış etiketlemiş olabileceği düşüncesi aklımıza gelmektedir. Öyle bile olsa bu sonucu değiştiren bir durum değildir. Her iki durumda da *Dolichophis caspius* 'un (Hazer yılanı, bozyörük) gömleğinden elde ettiğimiz sonuçlar yapının hidrofilik olduğunu göstermektedir. Menteşe kısmının boyutlarının çok küçük olması nedeniyle bu kısım üzerinde ölçüm yapılamamıştır. Sonuçlar yorumlanırken, yılanların gömlek değiştirmelerinin asıl nedeni büyüme olsa da, bir nedeninin gömleğin yıpranması olabileceği unutulmamalıdır. Dahası bu yıpranmanın, gömleğin değişimi esnasında ve doğadan toplanmadan önce çevresel etkiler ile devam edebileceği ve bunun temas açısını etkileyen önemli bir durum olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

Amino asit analizinde dorsal ölçekte; lösin, alanin, aspartik asit ve glutamik asit, ventral ölçekte; lösin, metiyonin, valin ve fenilalenin menteşe kısmında ise; izovalin, fenilalenin ve aspartik asit olduğu görülmüştür. Sistin ve sistein gibi keratin yapı için önemli olan amino asitlerin yapıda bulunmamasının nedenin asit hidrolizi esnasında yok olmaları olduğunu düşünüyoruz. Geçmiş yıllarda yapılan bir çalışmada asit hidrolizi esnasında amino asitlerin ciddi şekilde yok edildiğini bu nedenle asparagin, glutamin, sistein, serin, treonin ve triptofan içeriklerinin doğru olmayabileceğini rapor etmişlerdir. Bu da bizim düşüncemizi doğrulamaktadır.

Yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımlarında 21 farklı elementin varlığı ve derişimi ICP-MS ile belirlenmiş. Dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe kısımları sodyum (Na), magnezyum (Mg), alüminyum (Al), fosfor (P), potasyum (K) ve kalsiyum (Ca) gibi makro elementlerin yanı sıra titanyum (Ti), mangan (Mn), demir (Fe), nikel (Ni), bakır (Cu), çinko (Zn), stronsiyum (Sr), baryum (Ba), selenyum (Se), molibden (Mo), kadmiyum (Cd), antimon (Sb), talyum

(Tl), kurşun (Pb) ve bor (B) gibi eser elementler de içermektedir. Analiz sonuçlarına baktığımızda üç kısım için sadece Na, P, K birbirine yakın olduğunu, diğer elementlerin değerleri arasında bir tutarlılık olmadığını söyleyebiliriz. Kimyasal elementler çoğunlukla organizmalara sorun yaratmayacak miktarlarda biyokimyasal ve jeokimyasal süreçlerde yer alırlar. Fakat çevre kirliliği ve beslenmenin etkisiyle vücutta toksik seviyelere ulaşabilirler. Bu da organizmanın fizyolojik işleyişinin bozulmasına ve hatta ölümüne yol açabilir. Literatürden edindiğimiz bilgiler yılanların sık deri değiştirmelerinin nedenlerinden birinin de toksik metallerin vücuttan uzaklaştırılması olabileceğini düşündürmektedir.

MTT analizi ile sitotoksiteleri belirlenen yılan gömleği kısımlarının ilk 72 saat sonraki hücre canlılıkları ventral ölçek, dorsal ölçek ve menteşe kısımları için sırasıyla, %77.0, %110.2 ve %94.4'dür. Yılan gömleği keratininin biyoyumlu bir malzeme olduğu ve bu nedenle doku mühendisliği uygulamaları için alternatif malzemelerden biri olarak uygulamalarda yer bulabileceği açıktır.

Özellikle doku mühendisliği uygulamaları için çok önemli olan antimikrobiyal etkinlik bir malzemenin kendi doğal özelliği olabileceği gibi yapıya başka bileşenler dahil edilerek antimikrobiyal özellikleri iyileştirilebilir. Yılan gömleği kısımlarının ön işleme tabi tutulmayan halinin *S. mutans* ve *E. coli* için doğal bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadığını gördük. Bu nedenle daha önceki çalışmalarda olduğu gibi doğal kaynaklardan elde edilen boya ekstraktlarının veya metal iyonlarının yapıya dahil edilerek antimikrobiyal özelliğinin iyileştirilebileceğini düşünüyoruz.

Yılan gömleğinin hücre kültürü çalışmaları için iyi bir substrat olup olmadığını değerlendirmek amacıyla L929 hücre hattı kullanılmıştır. Uygulama sonunda her üç kısmında L929 hücre hattı için iyi bir substrat olmadığını gözlemledik. Yılan gömleğinin ön işlem uygulanmamış ham hali gelecekte farklı hücre hatlarıyla denenebilir. Hücre tutunmasında substratın yüzey özelliklerinin oldukça önemli olması nedeniyle bir diğer alternatif de, gömleğe ön işlem uygulanıp scaffold, film ve sünger gibi bir forma dönüştürüp L929 hücre hattının tekrar değerlendirilmesidir.

Yılan gömleğinin dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe olmak üzere üç farklı kısmına, yara iyileşmesinde yaygın olarak kullanılan D-Panthenol yüklenmiş ve salım özellikleri araştırılmıştır. Sırasıyla dorsal ölçek, ventral ölçek ve menteşe

kısımları için ortalama ilaç yükleme kapasiteleri: 2.07 ± 0.13 , 1.28 ± 0.04 , 1.77 ± 0.95 olarak kaydedilmiştir. İlk 1 saatte dorsal ölçekte ilacın %46.67'si, ventral ölçekte %80.09'u ve menteşe kısmında %69.85'i salınmıştır. Genel bir değerlendirme yapıldığında yılan gömleğinin D-panthenolün taşınımı ve salımı amaçlı kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Fakat bu materyalin farklı etken maddeler ile etkileşimi ve kontrollü salım amaçlı kullanılabilirliği ileriki çalışmalarda denenebilir.



KAYNAKLAR

- Abdel-Aal, H. A., 2018. Surface structure and tribology of legless squamate reptiles, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 79, 354-398.
- Abdullah, M., Fasola, M., Muhammad, A., Malik, S. A., Bostan, N., Bokhari, H., Kamran, M. A., Shafqat, M. N., Alamdar, A., Khan, M., Ali, N. ve Eqani, S. A. M. A. S., 2015. Avian feathers as a non-destructive bio-monitoring tool of trace metals signatures: A case study from severely contaminated areas, *Chemosphere*, 119, 553-561.
- Abo-Eleneen, R. E. ve Allam, A. A., 2011. Comparative Morphology of the Skin of *Natrix tessellata* (Family: Colubridae) and *Cerastes vipera* (Family: Viperidae), *Zoological Science*, 28, 10, 743-748.
- Aboushwareb, T., Eberli, D., Ward, C., Broda, C., Holcomb, J., Atala, A., ve Van Dyke, M., 2008. A keratin biomaterial gel hemostat derived from human hair: Evaluation in a rabbit model of lethal liver injury, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 90B, 1, 45-54.
- Al-Amoudi, A., Williams, P., Al-Hobaib, A. S. ve Lovitt, R. W., 2008. Cleaning results of new and fouled nanofiltration membrane characterized by contact angle, updated DSPM, flux and salts rejection, *Applied Surface Science*, 254, 13, 3983-3992.
- Alharbi, N. S., Khaled, J. M., Kadaikunnan, S., Alobaidi, A. S., Sharafaddin, A. H., Alyahya, S. A., Almanaa, T. N., Alsughayier, M. A. ve Shehu, M. R., 2019. Prevalence of *Escherichia coli* strains resistance to antibiotics in wound infections and raw milk, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26, 7, 1557-1562.
- Alibardi, L., 2005. Differentiation of snake epidermis, with emphasis on the shedding layer, *Journal of Morphology*, 264, 2, 178-190.
- Alibardi, L., Dalla Valle, L., Toffolo, V. ve Toni, M., 2006. Scale keratin in lizard epidermis reveals amino acid regions homologous with avian and mammalian epidermal proteins, *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, 288A, 7, 734-752.
- Allam, A. A. ve Abo-Eleneen, R. E., 2012. Scales Microstructure of Snakes from the Egyptian Area, *Zoological Science*, 29, 11, 770-775.
- Aluigi, A., Ballestri, M., Guerrini, A., Sotgiu, G., Ferroni, C., Corticelli, F., Gariboldi, M. B., Monti, E. ve Varchi, G., 2018. Organic solvent-free preparation of keratin nanoparticles as doxorubicin carriers for antitumour activity, *Materials Science and Engineering: C*, 90, 476-484.
- Anselme, K., Davidson, P., Popa, A.M., Giazgon, M., Liley, M. ve Ploux, L., 2010. The interaction of cells and bacteria with surfaces structured at the nanometre scale, *Acta Biomaterialia*, 6, 10, 3824-3846.

- Barba, C., Mendez, S., Roddick-Lanzilotta, A., Kelly, R., Parra, J. L. ve Coderch, L. 2008. Cosmetic effectiveness of topically applied hydrolysed keratin peptides and lipids derived from wool, *Skin Research and Technology*, 14, 2, 243-248.
- Barba, C., Scott, S., Roddick-Lanzilotta, A., Kelly, R., Manich, A. M., Luis Parra, J. ve Coderch, L. 2010. Restoring important hair properties with wool keratin proteins and peptides, *Fibers and Polymers*, 11, 7, 1055-1061.
- Barry, B. W., Williams, A. C. ve Edwards, H. G. M., 1993. Fourier transform Raman and IR spectra of snake skin, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 49, 5-6, 801-807.
- Barth, A., 2007. Infrared spectroscopy of proteins, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1767, 9, 1073-1101.
- Baswan, S., Kasting, G. B., Li, S. K., Wickett, R., Adams, B., Eurich, S. VE Schamper, R., 2017. Understanding the formidable nail barrier: A review of the nail microstructure, composition and diseases, *Mycoses*, 60, 5, 284-295.
- Baum, M. J., Heepe, L. ve Gorb, S. N., 2014. Friction behavior of a microstructured polymer surface inspired by snake skin, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 5, 83-97.
- Bhange, K., Chaturvedi, V. ve Bhatt, R., 2016. Ameliorating effects of chicken feathers in plant growth promotion activity by a keratinolytic strain of *Bacillus subtilis* PF1, *Bioresources and Bioprocessing*, 3, 1.
- Bhari, R., Kaur, M. ve Singh, R. S., 2021. Chicken feather waste Hydrolysate as a superior biofertilizer in agroindustry, *Current Microbiology*, 78, 2212-2230.
- Bhasi, K., Riga, A. T. ve Alexander, K. S., 2004. Characterization of snake skin by thermoanalytical techniques, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 75, 1, 269-276.
- Bhattacharai, S. R., Bhattacharai, N., Yi, H. K., Hwang, P. H., Il Cha, D., Kim, H. Y., 2004. Novel biodegradable electrospun membrane: scaffold for tissue engineering, *Biomaterials*, 25, 13, 2595-2602.
- Bhavsar, P., Zoccola, M., Patrucco, A., Montarsolo, A., Mossotti, R., Rovero, G., Giansetti, M. ve Tonin, C., 2016. Superheated Water Hydrolysis of Waste Wool in a Semi-Industrial Reactor to Obtain Nitrogen Fertilizers, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4, 12, 6722-6731.
- Bloise, N., Patrucco, A., Bruni, G., Montagna, G., Caringella, R., Fassina, L., Tonin, C. ve Visai, L., 2020. In Vitro Production of Calcified Bone Matrix onto Wool Keratin Scaffolds via Osteogenic Factors and Electromagnetic Stimulus, *Materials*, 13, 14, 3052.
- Borrelli, M., Joepen, N., Reichl, S., Finis, D., Schoppe, M., Geerling, G. ve Schrader, S., 2015. Keratin films for ocular surface reconstruction: Evaluation of biocompatibility in an in-vivo model, *Biomaterials*, 42, 112-120.

- Brebu, M. ve Spiridon, I., 2011. Thermal degradation of keratin waste, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 91, 2, 288-295.
- Burger, J., Rouse Campbell, K., Murray, S., Campbell, T. S., Gaines, K.F., Jeitner, C., Shukla, T., Burke, S. ve Gochfeld, M., 2007. Metal levels in blood, muscle and liver of water snakes (*Nerodia spp.*) from New Jersey, Tennessee and South Carolina, 373, 2-3, 556-563.
- Cai, S. ve Singh, B. R., 1999. Identification of β -turn and random coil amide III infrared bands for secondary structure estimation of proteins, *Biophysical Chemistry*, 80, 1, 7-20.
- Campbell, K. R., Campbell, T.S. ve Burger, J., 2005. Heavy metal concentrations in northern water snakes (*Nerodia sipedon*) from east fork poplar creek and the little river, East Tennessee, USA, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49, 2, 239-248.
- Cao, Y., Yao, Y., Li, Y., Yang, X., Cao, Z. ve Yang, G., 2019. Tunable keratin hydrogel based on disulfide shuffling strategy for drug delivery and tissue engineering, *Journal of Colloid and Interface Science*, 544, 121-129.
- Carneiro, V. A., Furdato Elaine, F., Silva, M. N., Rondinely, L. S., Fidelis, Q. C. ve Catunda Junior, F.E.A., 2019. Inhibition of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) biofilm formation on eugenol-impregnated surgical sutures, *African Journal of Microbiology Research*, 13, 9, 168-175.
- Chaitanya Reddy, C., Khilji, I. A., Gupta, A., Bhuyar, P., Mahmood, S., Saeed AL-Japairai, K. A. ve Chua, G. K., 2021. Valorization of keratin waste biomass and its potential applications, *Journal of Water Process Engineering*, 40, 101707.
- Chen, J., Ding, S., Ji, Y., Ding, J., Yang, X., Zou, M. ve Li, Z., 2015. Microwave-enhanced hydrolysis of poultry feather to produce amino acid, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 87, 104-109.
- Cheng, Z., Chen, X, Zhai, D., Gao, F., Guo, T., Li, W., Hao, S., Ji, J, ve Wang, B., 2018. Development of keratin nanoparticles for controlled gastric mucoadhesion and drug release, *Journal Nanobiotechnology*, 16, 1-13.
- Chilakamarry, C. R., Mahmood, S., Saffe, S. N. B. M., Arifin, M. A. B., Gupta, A., Sikkandar, M. Y., Begum, S. S. ve Narasaiah, B., 2021. Extraction and application of keratin from natural resources: a review, *3 Biotech*, 11, 5, 220.
- Chougale, M. Y., Khan, M.U., Kim, J., Cosgrove, J., Shaukat, R. A., Muhammad Saqib, Q., Banjade, M., Patil, S.R., Brown, C., Dubal, D. ve Bae, J., 2023. Snake ecdysis: A potential e-material for advanced electronic technology, *Nano Energy*, 111, 108399.

- Cochis, A., Ferraris, S., Sorrentino, R., Azzimonti, B., Novara, C., Geobaldo, F., Truffa Giachet, F., Varesano, A., Vineis, C., Sayed Abdelgeliel, A., Spriano, S. ve Rimondini, L., 2017. Silver doped keratin nanofibres preserve titanium surface from biofilm contamination and favour soft tissue healing, *Journal of Materials Chemistry B*, 5, 42.
- Costerton, J. W., 1999. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections, *Science*, 284, 5418, 1318-1322.
- Coulombe, P. A. ve Omary, M. B., 2002. 'Hard' and 'soft' principles defining the structure, function and regulation of keratin intermediate filaments, *Current Opinion in Cell Biology*, 14, 1, 110-122.
- Coward-Kelly, G., Agbogbo, F. K. ve Holtzapple, M. T., 2006. Lime treatment of keratinous materials for the generation of highly digestible animal feed: 2, Animal hair. *Bioresource Technology*, 97, 11, 1344-1352.
- Cruz-Maya, I., Guarino, V., Almaguer-Flores, A., Alvarez-Perez, M. A., Varesano, A. ve Vineis, C., 2019. Highly Polydisperse Keratin Rich Nanofibers: Scaffold Design and in Vitro Characterization, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 107, 8, 1803-1813.
- Dagalakis, N., Flink, J., Stasikelis, P., Burke, J. F. ve Yannas, I. V., 1980. Design of an artificial skin, Part III. Control of pore structure, 14, 4, 511-528.
- Dalla Valle, L., Nardi, A. ve Alibardi, L., 2010. Isolation of a new class of cysteine-glycine-proline-rich beta-proteins (beta-keratins) and their expression in snake epidermis, *Journal of Anatomy*, 216, 3, 356-367.
- Dalla Valle, L., Nardi, A., Belvedere, P., Toni, M. ve Alibardi, L., 2007. β -keratins of differentiating epidermis of snake comprise glycine-proline-serine-rich proteins with an avian-like gene organization, *Developmental Dynamics*, 236, 7, 1939-1953.
- Darah, I., Nur-Diyana, A., Nurul-Husna, S., Jain, K. ve Lim, S.-H., 2013. *Microsporum fulvum* IBRL SD3: As Novel Isolate for Chicken Feathers Degradation, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171, 7, 1900-1910.
- Davoodi P, Lee LY, Xu Q, Sunil V, Sun Y, Soh S., 2018. Drug delivery systems for programmed and on-demand release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 132, 104-138.
- Deng, X., Gould, M. ve Ali, M. A., 2021. Fabrication and characterisation of melt-extruded chitosan/keratin/PCL/PEG drug-eluting sutures designed for wound healing, *Materials Science and Engineering: C*, 120, 111696.
- Du, W., Zhang, L., Zhang, C., Cao, J., Wang, D., Li, H., Li, W. ve Zeng, J., 2022. Green and highly efficient wool keratin extraction by microwave induction method, *Polymeric and Composite Materials*, 8, 789081, 1-11.
- Dubansky, B. H. ve Close, M., 2018. A review of alligator and snake skin morphology and histotechnical preparations, *Journal of Histotechnology*, 1-21.

- El-Gabry, L., Abou El-Kheir, A., Salama, M., Mowafi, S. ve El-Sayed, H., 2016. Acrylic/keratin composite of enhanced dyeability towards cationic and anionic dyes, *Coloration Technology*, 132, 1, 83-91.
- Eslahi, N., Simchi, A., Mehrjoo, M., Shokrgozar, M. A. ve Bonakdar, S., 2016. Hybrid cross-linked hydrogels based on fibrous protein/block copolymers and layered silicate nanoparticles: tunable thermosensitivity, biodegradability and mechanical durability, *RSC Advances*, 6, 67, 62944-62957.
- Esparza, Y., Bandara, N., Ullah, A. ve Wu, J., 2018. Hydrogels from feather keratin show higher viscoelastic properties and cell proliferation than those from hair and wool keratins, *Materials Science and Engineering: C*, 90, 446-453.
- Fagbemi, O. D., Sithole, B. ve Tesfaye, T., 2020. Optimization of keratin protein extraction from waste chicken feathers using hybrid pre-treatment techniques, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 17, 100267.
- Feroz, S., Muhammad, N., Ranayake, J. ve Dias, G., 2020. Keratin - Based materials for biomedical applications, *Bioactive Materials*, 5, 3, 496-509.
- Ferraris, S., Truffa Giachet, F., Miola, M., Bertone, E., Varesano, A., Vineis, C., Cochis, A., Sorrentino, R., Rimondini, L. ve Spriano, S., 2017. Nanogrooves and keratin nanofibers on titanium surfaces aimed at driving gingival fibroblasts alignment and proliferation without increasing bacterial adhesion, *Materials Science and Engineering: C*, 76, 1-12.
- Flores-Hernandez, C., Colín-Cruz, A., Velasco-Santos, C., Castaño, V., Rivera-Armenta, J., Almendarez-Camarillo, A., Garcia-Casillas, P. E. ve Martínez-Hernandez, A., 2014. All Green Composites from Fully Renewable Biopolymers: Chitosan-Starch Reinforced with Keratin from Feathers, *Polymers*, 6, 3, 686–705.
- Foglietta, F., Spagnoli, G. C., Muraro, Manuele G., Ballestri, M., Guerrini, A., Ferroni, C., Aluigi, A., Sotgiu, G. ve Varchi, G., 2018. Anticancer activity of paclitaxel-loaded keratin nanoparticles in two-dimensional and perfused three-dimensional breast cancer models, *International Journal of Nanomedicine*, 13, 4847–4867.
- Freddi, G., Arai, T., Colonna, G. M., Boschi, A. ve Tsukada, M., 2001. Binding of metal cations to chemically modified wool and antimicrobial properties of the wool–metal complexes, *Journal of Applied polymer*, 82, 14, 3513-3519.
- Frossard, A., Carneiro, M. T. W. D., Silva, E. L. de F. Da., Camargo Filho, C. B., Rossi Junior, J. L., 2017. Concentração de elementos traços em serpentes do litoral e da região serrana do Espírito Santo, *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 37, 10, 1146-1152.
- Gao, F., Li, W., Deng, J., Kan, J., Guo, T., Wang, B. ve Hao, S., 2019. Recombinant Human Hair Keratin Nanoparticles Accelerate Dermal Wound Healing, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11, 20, 18681-18690.

- Gao, J., Zhang, L., Wei, Y., Chen, T., Ji, X., Ye, K., Yu, J., Tang, B., Sun, X. ve Hu, J., 2019. Human hair keratins promote the regeneration of peripheral nerves in a rat sciatic nerve crush model, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 30, 7.
- Gehrke, C. W., Wall, L. L., Absheer, J. S., Kaiser, F. E. ve Zumwalt, R. W., 1985. Sample Preparation for Chromatography of Amino Acids: Acid Hydrolysis of Proteins, *Journal of Aoac International*, 68, 5, 811-821.
- Ghaffari, R., Eslahi, N., Tamjid, E. ve Simchi, A., 2018. Dual-Sensitive Hydrogel Nanoparticles Based on Conjugated Thermoresponsive Copolymers and Protein Filaments for Triggerable Drug Delivery, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10, 23, 19336-19346.
- Goiran, C., Bustamante, P. ve Shine, R., 2017. Industrial Melanism in the Seasnake *Emydocephalus annulatus*. *Current Biology*, 27, 1-4.
- Gong, X., Dang, G., Guo, J., Liu, Y. ve Gong, Y., 2020. A sodium alginate/feather keratin composite fiber with skin-core structure as the carrier for sustained drug release, *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 386-392.
- Gower, D. J., 2003. Scale microornamentation of uropeltid snakes, *Journal of Morphology*, 258, 2, 249-268.
- Guglielmelli, A., Rosa, P., Contardi, M., Prato, M., Mangino, G., Miglietta, S., Petrozza, V., Pani, R., Calogero, A., Athanassiou, A., Perotto, G. ve De Sio, L., 2021. Biomimetic keratin gold nanoparticle-mediated in vitro photothermal therapy on glioblastoma multiforme, *Nanotıp*, 16, 2, 121-138.
- Guidotti, G., Soccio, M., Bondi, E., Posati, T., Sotgiu, G., Zamboni, R., Torreggiani, A., Corticelli, F., Lotti, N. ve Aluigi, A., 2021. Effects of the blending ratio on the design of keratin/poly (butylene succinate) nanofibers for drug delivery applications, *Biomolecules*, 11, 8, 1194.
- Guo, H., Pan, S.J., Yin, X.C., He, Y.F., Li, T. ve Wang, R.M., 2015. pH-sensitive keratin-based polymer hydrogel and its controllable drug-release behavior. *Journal of Applied Polymer Science*, 132, 41572.
- Gupta, A., Kamarudin, N. B., Yeo, C. ve Chua, G. K., 2012. Extraction of keratin protein from chicken feather, *Journal of Chemical Society*, 6, 732-737.
- Gürsoy, M., Testici, H., Çıtak, E., Kaya, M., Türk Dağı, H., Öztürk, B. ve Karaman, M., 2021. Biomimetic surfaces prepared by soft lithography and vapour deposition for hydrophobic and antibacterial performance, *Materials Technology*, 37, 8, 745-752.
- Hanc, A., Zduniak, P., Erciyas-Yavuz, K., Sajnog, A. ve Barańkiewicz, D., 2017. Laser ablation-ICP-MS in search of element pattern in feathers, *Microchemical Journal*, 134, 1-8.

- Hebbar, R. S., Isloor, A. M. ve Ismail, A. F., 2017. Contact Angle Measurements, Membrane Characterization, 219–255.
- Hill, P., Brantley, H. ve Van Dyke, M., 2010. Some properties of keratin biomaterials: Keratines, Biomaterials, 31, 4, 585-593.
- Holkar, C. R., Jain, S. S., Jadhav, A. J. ve Pinjari, D. V., 2018. Valorization of keratin based waste, Process Safety and Environmental Protection, 115, 85-98.
- Hopkins, W. A., Rowe, C. L. ve Congdon, J. D., 1999. Elevated trace element concentrations and standard metabolic rate in banded water snakes (*Nerodia fasciata*) exposed to coal combustion wastes, Environmental Toxicology and Chemistry, 18, 6, 1258-1263.
- Huda, S. ve Yang, Y., 2009. Feather Fiber Reinforced Light-Weight Composites with Good Acoustic Properties, Journal of Polymers and the Environment, 17, 2, 131-142.
- Idowu, O. J., Onipede, A. O., Orimolade, A. E., Akinyoola, L. A. ve Babalola, G. O., 2011. Extended-spectrum beta-lactamase orthopedic wound infections in Nigeria, Journal of Global Infectious Diseases, 3, 3, 211–215.
- Jayaweera, E. N., Wijewardhana, K. R., Ekanayaka, T. K., Shahzad, A. ve Song, J.-K., 2018. Triboelectric Nanogenerator Based on Human Hair. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 6, 5, 6321-6327.
- Jung, S., Pant, B., Climans, M., Shaw, G. C., Lee, E.-J., Kim, N. ve Park, M., 2021. Transformation of electrospun Keratin/PVA nanofiber membranes into multilayered 3D scaffolds: Physicochemical studies and corneal implant applications, International Journal of Pharmaceutics, 610, 121228.
- Kakkar, P., Madhan, B. ve Shanmugam, G., 2014. Extraction and characterization of keratin from bovine hoof: A potential material for biomedical applications, SpringerPlus, 3, 1, 596.
- Karthikeyan, R., Balaji, S., Chandrababu, N. K. ve Sehgal, P. K., 2007. Horn meal hydrolysate-chromium complex as a high exhaust chrome tanning agent-pilot scale studies, Clean Technologies and Environmental Policy, 10, 3, 295-301.
- Katoh, K., Shibayama, M., Tanabe, T. ve Yamauchi, K., 2004. Preparation and physicochemical properties of compression-molded keratin films, Biomaterials, 25, 12, 2265-2272.
- Khan, S.A., Ahmad, A., Khan, M.I., Mohd, Y., Shahid, S., Manzoor, N., ve Mohammad, F., 2012. Antimicrobial activity of wool yarn dyed with Rheum emodi L. (Indian Rhubarb), Dyes and Pigments, 95, 2, 206-214.
- Khumalo, M., Sithole, B. ve Tesfaye, T., 2020. Valorisation of waste chicken feathers: Optimisation of keratin extraction from waste chicken feathers by sodium bisulphite, sodium dodecyl sulphate and urea, Journal of Environmental Management, 262, 110329.

- Klein, M.-C. G., Deuschle, J. K. ve Gorb, S. N., 2010. Material properties of the skin of the Kenyan sand boa *Gongylophis colubrinus* (Squamata, Boidae), *Journal of Comparative Physiology A*, 196, 9, 659-668.
- Konop, M., Rybak, M. ve Drapala, A., 2021. Keratin Biomaterials in Skin Wound Healing, an Old Player in Modern Medicine: A Mini Review, *Biomaterials in Skin Wound Healing and Tissue Regeneration*, 13, 12, 2029.
- Kornillowicz-Kowalska, T. ve Bohacz, J., 2011. Biodegradation of keratin waste: Theory and practical aspects, *Waste Management*, 31, 8, 1689-1701.
- Kuzmanova, E., Zhelev, N. ve Akunna, J. C., 2018. Effect of liquid nitrogen pre-treatment on various types of wool waste fibres for biogas production, *Heliyon*, 4, 5, e00619.
- Kyte, J. ve Doolittle, R. F., 1982. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein, *Journal of Molecular Biology*, 157, 1, 105-132.
- Landmann, L., 1979. Keratin formation and barrier mechanisms in the epidermis of *Natrix natrix* (Reptilia: Serpentes): An ultrastructural study, *Journal of Morphology*, 162, 1, 93-125.
- Latha, P. P., Singh, R. K., Kukrety, A., Saxena, R. C., Bhatt, M. ve Jain, S. L., 2016. Poultry Chicken Feather Derived Biodegradable Multifunctional Additives for Lubricating Formulations, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4, 3, 999-1005.
- Lazarus, B. S., Chadha, C., Velasco-Hogan, A., Barbosa, J. D. V., Jasiuk, I. ve Meyers, M. A., 2021. Engineering with keratin: A functional material and a source of bioinspiration, *iScience*, 24, 8, 102798.
- Lettoof, D. C., Rankenburg, K., McDonald, B.J., Evans, N.J., Bateman, P.W., Aubret, F. ve Gagnon, M.M., 2021. Snake scales record environmental metal(loid) contamination . *Environmental Pollution*, 274, 116547.
- Li, Q.-F., He, Y. ve Wang, R.-M., 2019. A facile extraction of keratin from pig hair and its properties. *Biologia*, 74, 563-571.
- Li, W., Gao, F., Kan, J., Deng, J., Wang, B. ve Hao, S., 2019. Synthesis and fabrication of a keratin-conjugated insulin hydrogel for the enhancement of wound healing, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 175, 436-444.
- Lin, Y.-C., Ramadan, M., Van Dyke, M., Kokai, L. E., Philips, B. J., Rubin, J. P. ve Marra, K. G., 2012. Keratin Gel Filler for Peripheral Nerve Repair in a Rodent Sciatic Nerve Injury Model, *Plastic and Reconstructive Surgery*, 129, 1, 67-78.
- Liu, P., Wu, Q., Li, Y., Li, P., Yuan, J., Meng, X. ve Xiao, Y., 2019. DOX-Conjugated Keratin Nanoparticles for pH-Sensitive Drug Delivery, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 181, 1012-1018.

- Liu, X., Nie, Y., Meng, X., Zhang, Z., Zhang, X. ve Zhang, S., 2017. DBN-based ionic liquids with high capability for the dissolution of wool keratin, *RSC Advances*, 7, 4, 1981-1988.
- Luo, T., Hao, S., Chen, X., Wang, J., Yang, Q., Wang, Y., Weng, Y., Wei, H., Zhou, J. ve Wang, B., 2016. Development and assessment of keratine nanoparticles for use as a hemostatic agent, *Materials Science and Engineering*, 63, 352-358.
- Maderson, P. F. A., Rabinowitz, T., Tandler, B. ve Alibardi, L., 1998. Ultrastructural contributions to an understanding of the cellular mechanisms involved in lizard skin shedding with comments on the function and evolution of a unique Lepidosaurian phenomenon, *Journal of Morphology*, 236, 1, 1-24.
- Martella, E., Ferroni, C., Guerrini, A., Ballestri, M., Columbaro, M., Santi, S., Sotgiu, G., Serra, M., Donati, D., Lucarelli, E., Varchi, G. ve Duchi, S., 2018. Functionalized Keratin as Nanotechnology-Based Drug Delivery System for the Pharmacological Treatment of Osteosarcoma, *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 11, 3670, 1-16.
- Mazaratti, M., Valli, F. E., Pierini, S. E., Simoncini, M. S., Pina, C.I., Gonzales, M.A. ve Leiva P. M. L., 2023. Reptile Bushmeat, an Alternative for the Supply of High Biological Value Proteins?, *Sustainability*, 15, 9, 7448.
- McGraw, K. J., 2003. Melanins, metals, and mate quality, *Oikos*, 102, 2, 402-406.
- McKittrick, J., Phen, P. Y., Bodde, S. G., Yang, W., Novitskaya, E. E. ve Meyers M. A., 2012. The structure, functions, and mechanical properties of keratin, *JOM*, 64, 4, 449-468.
- Montes-Zarazúa, E., Colín-Cruz, A., Pérez-Rea, M. de la L., de Icaza, M., Velasco-Santos, C., & Martínez-Hernández, A. L., 2015. Effect of Keratin Structures from Chicken Feathers on Expansive Soil Remediation, *Advances in Materials Science and Engineering*, 2015, 1-10.
- Moussa, Z., Darwish, D. B., Alrdahe, S. S. ve Saber, W. I. A., 2021. Innovative artificial-intelligence-based approach for the biodegradation of feather keratin by bacillus paramycoides, and cytotoxicity of the resulting amino acids, *Frontiers in Microbiology*, 12, 731262.
- Nagoba, B.S., Wadher, B.J., Rao, A.K., Kore, G.D., Gomashe, A.V. ve Ingle, A.B., 2008. A simple and effective approach for the treatment of chronic wound infections caused by multiple antibiotic resistant *Escherichia coli*, *Journal of Hospital Infection*, 69, 2, 177-180.
- Nakata, R., Osumi, Y., Miyagawa, S., Tachibana, A. ve Tanabe, T., 2015. Preparation of keratin and chemically modified keratin hydrogels and their evaluation as cell substrate with drug releasing ability, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120, 1, 111-116.
- Nassar, H. M., Li, M. ve Gregory, R. L., 2012. Effect of Honey on *Streptococcus mutans* Growth and Biofilm Formation, *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 2, 536-540.

- Nayak, K.K. ve Gupta, P., 2017. Study of the keratin-based therapeutic dermal patches for the delivery of bioactive molecules for wound treatment, *Materials Science and Engineering*, 77, 088-1097.
- Ngawhirunpat, T., Panomsuk, S., Opanasopit, P., Rojanarata, T. ve Hatanaka, T., 2006. Comparison of the percutaneous absorption of hydrophilic and lipophilic compounds in shed snake skin and human skin, *An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61, 4, 331-335.
- Nustorova, M., Braikova, D., Gousterova, A., Vasileva-Tonkova, E. ve Nedkov, P., 2005. Chemical, microbiological and plant analysis of soil fertilized with alkaline hydrolysate of sheep's wool waste, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22, 4, 383-390.
- Park, K., 2014. The controlled drug delivery systems: Past forward and future back, *Journal of Control Release*, 190, 3-8.
- Park, M., Shin, H. K., Kim, B.-S., Kim, Myung J., Kim, I.-S., Park, B.-Y. ve Kim, H.-Y., 2015. Effect of discarded keratin-based biocomposite hydrogels on the wound healing process in vivo, *Materials Science and Engineering: C*, 55, 88-94.
- Park, S. J. ve Park, Y. M., 2010. Eco-dyeing and antimicrobial properties of chlorophyllin copper complex extracted from *Sasa veitchii*, *Fibers and Polymers*, 11, 3, 357-362.
- Patnaik, A., Mvubu, M., Muniyasamy, S., Botha, A. ve Anandjiwala, R. D., 2015. Thermal and sound insulation materials from waste wool and recycled polyester fibers and their biodegradation studies, *Energy and Buildings*, 92, 161-169.
- Pedram Rad, Z., Tavanai, H. ve Moradi, A. R., 2012. Production of feather keratin nanopowder through electrospraying, *Journal of Aerosol Science*, 51, 49-56.
- Posati, T., Giuri, D., Nocchetti, M., Sagnella, A., Gariboldi, M., Ferroni, C., Sotgiu, G., Varchi, G., Zamboni, R. ve Aluigi, A., 2018. Keratin-hydrotalcites hybrid films for drug delivery applications, *European Polymer Journal*, 105, 177–185.
- Qin, X., Xu, X., Guo, Y., Shen, Q., Liu, J., Yang, C., Scott, E., Bitter, H. ve Zhang, C., 2022. A sustainable and efficient recycling strategy of feather waste into keratin peptides with antimicrobial activity, *Waste Management*, 144, 421-430.
- Qiu, J., Wilkens, C., Barrett, K., & Meyer, A. S., 2020. Microbial enzymes catalyzing keratin degradation: Classification, structure, function, *Biotechnology Advances*, 44, 107607.
- Rana, D. ve Matsuura, T., 2010. Surface Modifications for Antifouling Membranes, *Chemical Reviews*, 110, 4, 2448-2471.

- Ranjbar-Mohammadi, M., Arab-Bafrani, Z., Karimi, F. ve Javid, N., 2021. Designing hybrid nanofibers based on keratin-poly (vinyl alcohol) and poly (ϵ -caprolactone) for application as wound dressing, *Journal of Industrial Textiles*, 51, 1, 1729–1749.
- Reddy, N., Jiang, Q., Jin, E., Shi, Z., Hou, X. ve Yang, Y., 2013. Bio-thermoplastics from grafted chicken feathers for potential biomedical applications, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 110, 51-58.
- Reichl, S., 2009. Films based on human hair keratin as substrates for cell culture and tissue engineering, *Biomaterials*, 30, 36, 6854-6866.
- Ripamonti, A., Alibardi, L., Falini, G., Fermani, S. ve Gazzano, M., 2009. Keratin-lipid structural organization in the corneous layer of snake, *Biopolymers*, 91, 12, 1172-1181.
- Rosewald, M., Hou, F. Y. S., Mututuvvari, T., Harkins, A. ve Tran, C., 2014. Cellulose-Chitosan-Keratin Composite Materials: Synthesis, Immunological and Antibacterial Properties, *ECS Transactions*, 64, 4, 499-505.
- Rouse, J. G. ve Van Dyke, M. E., 2010. A Review of Keratin-Based Biomaterials for Biomedical Applications, *Materials*, 3, 2, 999-1014.
- Roy, D. C., Tomblyn, S., Isaac, K., M., Kowalczewski, C. J., Burmeister, D. M., Burnett, L. R. ve Christy, R. J., 2016. Ciprofloxacin-loaded keratin hydrogels reduce infection and support healing in a porcine partial-thickness thermal burn, *Wound Repair and Regeneration*, 24, 4, 657-668.
- Sacha, M., Weisbach, N., Pöhler, A.-S., Demmerle, N. ve Haltner, E., 2020. Comparisons of the Histological Morphology and in Shed Snake Skin and Human Skin, *Slovenian Veterinary Research*, 57, 2.
- Sadeghi, S., Nourmohammadi, J., Ghaee, A. ve Soleimani, N., 2019. Carboxymethyl cellulose-human hair keratin hydrogel with controlled clindamycin release as antibacterial wound dressing, *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 1239-1247.
- Sahlean, T. C., Gherghel, I., Papeş, M., Strugariu, A. ve Zamfirescu, Ş. R., 2014. Refining Climate Change Projections for Organisms with Low Dispersal Abilities: A Case Study of the Caspian Whip Snake, *PLoS ONE*, 9, 3, e91994.
- Schifino, G., Gasparini, C., Drudi, S., Giannelli, M., Sotgiu, G., Posati, T., Zamboni, E., Treossi, E., Maccaferri, L., Giorgini, R., Mazzarro, V., Morandi, V., Palermo, R., Bertoldo, M. ve Aluigi, A., 2022. Keratin/Poly(lactic acid)/graphene oxide composite nanofibers for drug delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, 623, 121888.
- Sellappan, L. K., Sanmugam, A. ve Manoharan, S., 2021. Fabrication of dual layered biocompatible herbal biopatch from biological waste for skin-tissue regenerative applications, *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1106-1118.

- Shang, Y., Wang, P., Wan, X., Wang, L., Liu, X., Yuan, J., Chi, B. ve Shen, J., 2023. Chlorhexidine-loaded polysulfobetaine/keratin hydrogels with antioxidant and antibacterial activity for infected wound healing, *International Journal of Biological Macromolecules*, 242, 124754.
- Shankar, S. ve Rhim, J.-W., 2019. Eco-friendly antimicrobial nanoparticles of keratin-metal ion complex, *Materials Science and Engineering: C*, 105, 110068.
- Sharma, S., Gupta, A., Kumar, A., Kee, C. G., Kamyab, H. ve Saufi, S. M., 2018. An efficient conversion of waste feather keratin into ecofriendly bioplastic film, *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20, 10, 2157-2167.
- Shavandi, A., Silva, T. H., Bekhit, A. A. ve Bekhit, A. E.-D. A., 2017. Keratin: dissolution, extraction and biomedical application, *Biomaterials Science*, 5, 9, 1699-1735.
- Shen, B., Zhang, D., Wei, Y., Zhao, Z., Ma, X., Zhao, X., Wang, S. ve Yang, W., 2019. Preparation of Ag Doped Keratin/PA6 Nanofiber Membrane with Enhanced Air Filtration and Antimicrobial Properties, *Polymers*, 11, 9, 1511.
- Shen, D., Wang, X., Zhang, L., Zhao, X., Li, J., Cheng, K. ve Zhang, J., 2011. The amelioration of cardiac dysfunction after myocardial infarction by the injection of keratin biomaterials derived from human hair, *Biomaterials*, 32, 35, 9290-9299.
- Shi, Z., Reddy, N., Hou, X. ve Yang, Y., 2014. Tensile Properties of Thermoplastic Feather Films Grafted with Different Methacrylates, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2, 7, 1849-1856.
- Silva, R., Fabry, B. ve Boccaccini, A. R., 2014. Fibrous protein-based hydrogels for cell encapsulation, *Biomaterials*, 35, 25, 6727-6738.
- Singaravelu, S., Ramanathan, G., Muthukumar, T., Raja, M. D., Nagiah, N., Thyagarajan, S., Aravinthan, A., Gunasekaran, P., Natarajan, T. S, Geetha, V. N, , G. S., Kim, J-H. ve Sivagnanam, U. T., 2016. Durable keratin-based bilayered electrospun mats for wound closure, *Journal of Materials Chemistry B*, 4, 22, 3982-3997.
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan, H., Dasmawati, M., 2015. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism, *Nano-Micro Letters*, 7, 3, 219-242.
- Song, K., Qian, X., Zhu, X., Li, X. ve Hong, X., 2020. Fabrication of Mechanical Robust Keratin Film by Mesoscopic Molecular Network Reconstruction and Its Performance for Dye Removal, *Journal of Colloid and Interface Science*, 579, 28-36.

- Spahn, S. A ve Sherry, T. W., 1999. Cadmium and lead exposure associated with reduced growth rates, poorer fledging success of little blue heron chicks (*Egretta caerulea*) in south louisiana wetlands, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37,3, 377-384.
- Spinner, M., Gorb, S. N., Balmert, A., Bleckmann, H. ve Westhoff, G., 2014. Non-Contaminating Camouflage: Multifunctional Skin Microornamentation in the West African Gaboon Viper (*Bitis rhinoceros*), *PLoS ONE*, 9, 3, e91087.
- Spinner, M., Kovalev, A., Gorb, S. N. ve Westhoff, G., 2013. Snake velvet black: Hierarchical micro-and nanostructure enhances dark colouration in *Bitis rhinoceros*, *Scientific Reports*, 3, 1.
- Sun, Z., Yi, Z., Zhang, H., Ma, X., Su, W., Sun, X. ve Li, X., 2017. Bio-responsive alginate-keratin composite nanogels with enhanced drug loading efficiency for cancer therapy, *Carbohydrate Polymers*, 175, 159-169.
- Tachibana, A., Furuta, Y., Takeshima, H., Tanabe, T. Ve Yamauchi, K., 2002. Fabrication of wool keratin sponge scaffolds for long-term cell cultivation, *Journal of Biotechnology*, 93, 2, 165-170.
- Tanabe, T., Okitsu, N., Tachibana, A. ve Yamauchi, K., 2002. Preparation and characterization of keratin–chitosan composite film, *Biomaterials*, 23, 3, 817-825.
- Taşkın, M., Unver, Y., Fırat, A., Ortucu, S. ve Yıldız, M., 2016. Sheep wool protein hydrolysate: a new peptone source for microorganisms, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 91, 6, 1675-1680.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D. ve Chunilall, V., 2017. Valorisation of chicken feathers: Characterisation of chemical properties, *Waste Management*, 68, 626-635.
- Tesfaye, T., Sithole, B., Ramjugernath, D. ve Chunilall, V., 2017. Valorisation of chicken feathers: Characterisation of chemical properties, *Waste Management*, 68, 626-635.
- Thilagam, R. ve Gnanamani, A., 2020. Preparation, characterization and stability assessment of keratin and albumin functionalized gold nanoparticles for biomedical applications, *Applied Nanoscience*, 10, 6, 1-4.
- Tian, Y., Wu, Q., Li, F., Zhou, Y., Huang, D., Xie, R., Wang, X., Zheng, z. ve Li, G., 2021. A flexible and biocompatible bombyx mori silk fibroin/wool keratin composite scaffold with interconnective porous structure, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 208, 112080.
- Tokunaga, S., Tanamachi, H. ve Ishikawa, K., 2019. Degradation of Hair Surface: Importance of 18-MEA and Epicuticle, *Cosmetics*, 6, 2, 31.

- Torri, C., Mangoni, A., Teta, R., Fattorusso, E., Alibardi, L., Fermani, S., Bonacinin, I., Gazzano, M., Burghammer, M., Fabbri, D. ve Falini, G., 2014. Skin lipid structure controls water permeability in snake molts, *Journal of Structural Biology*, 185, 1, 99-106.
- Tran, C. D. ve Mututuvvari, T. M., 2015. Cellulose, Chitosan, and Keratin Composite Materials, Controlled Drug Release. *Langmuir*, 31, 4, 1516-1526.
- Tran, C. D., Prosenc, F., Franko, M. ve Benzi, G., 2016. Synthesis, Structure and Antimicrobial Property of Green Composites from Cellulose, Wool, Hair and Chicken Feather, *Carbohydrate Polymers*, 151, 1269-1276.
- Tsai, T.-S., Mao, J.-J., Chan, Y. Y., Lee, Y.-J., Fan, Z.-Y. ve Wang, S.-H., 2018. Species Identification of Fragmented or Faded Shed Snake Skins by Light Microscopy, *Zoological Science*, 35, 4, 330-352.
- Vakilian, S., Jamshidi-adeqani, F., Al-Shidhani, S., Anwar, M. U., Al-Harrasi, R., Al-Wahaibi, N., Qureshi, A., Alyaqoobi, S., Al-Amri, I., Al-Harrasi, A. ve Al-Hashmi, S., 2019. A Keratin-based biomaterial as a promising dresser for skin wound healing, *Wound Medicine*, 25, 1, 100155.
- Vazquez, N., Chacon, M., Meana, A., Menendez-Menendez, Y., Ferrero-Gutierrez, A., Cereijo-Martin, D., Naveiras, M. ve Merayo-Lloves, J., 2012. Keratin-chitosan membranes as scaffold for tissue engineering of human cornea, *Histology and Histopathology* 30, 7.
- Villanueva, M. E., Cuestas, M. L., Pérez, C. J., Campo Dall'Orto, V. ve Copello, G. J. 2019. Smart release of antimicrobial ZnO nanoplates from a pH-responsive keratin hydrogel, *Journal of Colloid and Interface Science*, 536, 372-380.
- Webb, M. E., Smith, A. G. ve Abell, C., 2004. Biosynthesis of pantothenate, *Natural Product Reports*, 21, 6, 695.
- Wang, B., Yang, W., McKittrick, J., ve Meyer, M. A., 2016. Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration, *Progress in Materials Science*, 76, 229-318.
- Wang, J., Hao, S., Luo, T., Cheng, Z., Li, W., Gao, F., Guo, T., Gong, Y. ve Wang, B., 2017. Feather keratin hydrogel for wound repair: Preparation, healing effect and biocompatibility evaluation, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 149, 341-350.
- Wang, K., Li, R., Ma, J. H., Jian, Y. K. ve Che, J. N., 2016. Extracting keratin from wool by using l-cysteine, *Green Chemistry*, 18, 2, 476-481.
- Wang, Y., Li, P., Xiang, P., Lu, J., Yuan, J. ve Shen, J., 2016. Electrospun polyurethane/keratin/AgNP biocomposite mats for biocompatible and antibacterial wound dressings, *J. Mater. Chem. B*, 4.
- Wang, S., Taraballi, F., Tan, L. P. ve Ng, K. W., 2012. Human keratin hydrogels support fibroblast attachment and proliferation in vitro, *Cell and Tissue Research*, 347, 3, 795-802.

- Weiland, E., Ewen, J. P., Koenig, P. H., Roiter, Y., Page, S. H. ve Angioletti-Uberti, S., 2022. Coarse-grained molecular models of the surface of hair, *Soft Matter*, 18, 9, 1779-1792.
- Whitehead, K.A. ve Verran, J., 2006. The Effect of Surface Topography on the Retention of Microorganisms, *Food and Bioproducts Processing*, 84, 4, 253-259.
- Wiesche, E. S. Z., Körner, A., Schafer, K. Ve Wortmann, F.-J., 2011. Prevention of hair surface aging, *Journal of Cosmetic Science*, 62, 2, 237-249.
- Wojciechowska, E., Włochowicz, A. ve Weselucha-Birczyńska, A., 1999. Application of Fourier-transform infrared and Raman spectroscopy to study degradation of the wool fiber keratin, *Journal of Molecular Structure*, 511-512, 307-318.
- Wu, Y. C., Kulbatski, I., Medeiros, P. J., Maeda, A., Bu, J., Xu, L., Chen, Y. ve DaCosta, R. S., 2014. Autofluorescence imaging device for real-time detection and tracking of pathogenic bacteria in a mouse skin wound model: preclinical feasibility studies, *Journal of Biomedical Optics*, 19, 8, 085002.
- Xu, S., Sang, L., Zhang, Y., Wang, X. ve Li, X., 2013. Biological evaluation of human hair keratin scaffolds for skin wound repair and regeneration. *Materials Science and Engineering*, 33, 2, 648–655.
- Yang, G., Chen, Q., Wen, D., Chen, Z., Wang, J., Chen, G., Wang, Z., Zhang, X., Zhang, Y., Hu, Q., Zhang, L. ve Gu, Z., 2019. A Therapeutic Microneedle Patch Made from Hair-Derived Keratin for Promoting Hair Regrowth, *ACS Nano*, 13, 4, 4354-4360.
- Yang, J., Wang, H., Zhou, Y., Duan, L., Schneider, K. H., Zheng, Z., Han, F., Wang, X. ve Li, G., 2023. Silk Fibroin/Wool Keratin Composite Scaffold with Hierarchical Fibrous and Porous Structure, *Macro Molecular Bioscience*.
- Ye, J.-P., Gong, J.-S., Su, C., Liu, Y.-G., Jiang, M., Pan, H., Li, R.-Y., Geng, Y, Xu, Z.-H. ve Shi, J.-S., 2020. Fabrication and characterization of high molecular keratin based nanofibrous membranes for wound healing, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 194, 111158.
- Yenmiş, M. ve Ayaz, D., 2023. The Story of the Finest Armor: Developmental Aspects of Reptile Skin, *Journal of Developmental Biology*, 11, 1, 5.
- Yin, X.-C., Li, F.-Y., He, Y.-F. ve Wang, R.-M., 2013. Study on effective extraction of chicken feather keratins and their films for controlling drug release, *Biomaterials Science*, 1, 5, 528-536.
- Yu, J., Yu, D.-W., Checkla, D. M., Freedberg, I. M. ve Bertolino, A. P., 1993. Human hair keratins, *Journal of Investigative Dermatology*, 101, 1, 56-59.
- Yuichi, T. Ve Yoshihiro, N., 2014. Properties of alkaline-hydrolyzed waterfowl feather keratin, *Animal Science Journal*, 85, 2, 180-185.

- Zach, J., Korjenic, A., Petránek, V., Hroudová, J. ve Bednar, T., 2012. Performance evaluation and research of alternative thermal insulations based on sheep wool, *Energy and Buildings*, 49, 246-253.
- Zahara, I., Arshad, M., Naeth, M. A., Siddique, T. ve Ullah, A., 2020. Feather Keratin Derived Sorbents for the Treatment of Wastewater Produced during Energy Generation Processes, *Chemosphere*, 273, 128545.
- Zhai, M., Xu, Y., Zhou, B. ve Jing, W., 2018. Keratin-chitosan/n-ZnO nanocomposite hydrogel for antimicrobial treatment of burn wound healing: Characterization and biomedical application, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, 253-258.
- Zhang, X., Feng, Y. ve Yang, X., 2021. Extraction of Keratin from Poultry Feathers with Choline Chloride-Oxalic Acid Deep Eutectic Solvent, *Fibers and Polymers*, 22, 3326-3335.
- Zhao, W., Yang, R., Zhang, Y. ve Wu, L., 2012. Sustainable and practical utilization of feather keratin by an innovative physicochemical pretreatment: high density steam flash-explosion, *Green Chemistry*, 14, 12, 3352.
- Zhao, X., Lui, Y. S., Choo, C. K. C., Sow, W. T., Huang, C. L., Ng, K. W., Tan, L. P. ve Loo, J. S. C., 2015. Calcium phosphate coated Keratin-PCL scaffolds for potential bone tissue regeneration, *Materials Science and Engineering*, 49, 746-753.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J. ve Jiang, F., 2008. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem, *Analytica Chimica Acta*, 606, 2, 135-150.
- Zoccola, M., Aluigi, A. ve Tonin, C., 2009. Characterisation of keratin biomass from butchery and wool industry wastes, *Journal of Molecular Structure*, 938, 1-3, 35-40.
- Zubair, M., Roopesh, M. S. ve Ullah, A., 2022. Nano-modified feather keratin derived green and sustainable biosorbents for the remediation of heavy metals from synthetic wastewater, *Chemosphere*, 308, 3, 136339.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Betül Aktaş

EĞİTİM BİLGİLERİ:

Lisans : Gazi Üniversitesi (Kırşehir), Biyoloji Bölümü, 2005-2009

Lisans : Anadolu Üniversitesi, İşletme Bölümü, 2009-2012

Yüksek Lisans : Gazi Üniversitesi, Biyoloji (Botanik), 2010-2013

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR

Aktaş, B., Akyüz, L. ve Kaya, M., 2023. Evaluation of waste snake molt as a delivery system and In vitro release of D-Panthenol, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi.