



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NANOFİBER ESASLI BİYOBOZUNUR POLİMERİK
DOKU İSKELESİ ÜRETİMİ VE
KARAKTERİZASYONU**

NİLAY CAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TEKSTİL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2015

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

NANOFİBER ESASLI BİYOBOZUNUR POLİMERİK
DOKU İSKELESİ ÜRETİMİ VE
KARAKTERİZASYONU

NİLAY CAN

Bu tez,
Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2015

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Nilay CAN tarafından hazırlanan “NANOFİBER ESASLI BİYOBOZUNUR POLİMERİK DOKU İSKELESİ ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU” adlı bu tez, jürimiz tarafından 05/06/2015 tarihinde oy birliği ile Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sabri ERSOY (DANIŞMAN)

Tekstil Müh.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Doç. Dr. Suat ÇETİNER (ÜYE)

Tekstil Müh.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Akif Hakan KURT (ÜYE)

Tıbbi Farmakoloji

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Mustafa ŞEKKELİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Nilay CAN

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen proje kapsamında tamamlanmıştır.
Proje No:2013/6-37 M

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

NANOFİBER ESASLI BİYOBOZUNUR POLİMERİK DOKU İSKELESİ ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU (YÜKSEK LİSANS TEZİ)

NİLAY CAN

ÖZET

Doku mühendisliği; herhangi bir nedenle yapısı bozulmuş biyolojik dokuları yeniden eski haline getirme, yapısal ve fonksiyonel özelliklerini onarmayı hedefleyen çok disiplinli bir yaklaşımdır. Doku mühendisliğinin günümüzde oldukça hızlı ilerleme kaydetmesinin başlıca nedenleri, kadavradan canlı doku sağlanamaması ve hayvansal dokuların ise insanlar tarafından reddedilmesidir. Doku mühendisliği uygulamalarının; donör azlığı, hastalık bulaştırma riski ve immün yanıtı neden olma gibi problemleri ortadan kaldıracığı düşünülmektedir. Doku mühendisliği uygulamalarının, ticari olarak da hızla gelişmekte olduğunu ifade etmek gereklidir. ABD' de doku mühendisliği ve rejeneratif tıp için pazar 2009 yılında 6,9 milyar dolar büyümüştür. Bu pazarın 2018 yılında yaklaşık 32 milyar dolar daha artacağı tahmin edilmektedir. Doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan ürünlerin potansiyel pazarı; sinir sistemi tedavileri, dejeneratif ya da travmaya neden olan ortopedik, kardiyovasküler, diyabet uygulamaları ve hatta diş ya da oftalmolojik (göz ile ilgili) sorunların çözümünde kullanılan dokuları da içeren geniş bir aralığı kapsamaktadır.

Bu tez çalışmasında, elektroçekim işlemi ile farklı molekül ağırlıklarına sahip Poli(D,L-Laktid-ko-glikolid) biyobozunur polimer kullanılarak nanolif ve mikrolif yapıları doku iskeleleri üretilmiştir. Üretilen matların mekanik dayanımları çekme testi uygulanarak belirlenmiş, doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilirliği tartışılmıştır. Matların 380,7 kPa' a kadar kopma gerilmesi gösterdiği belirlenmiştir. Üretilen yüzeylerin morfolojik özellikleri SEM analizleri yardımıyla belirlenmiştir. Düşük moleküler ağırlığa sahip PLGA' dan elde edilen numunelerde 188 nm – 668 nm aralığında lif çapları görülmüştür. Yüksek moleküler ağırlığa sahip PLGA' dan elde edilen numunelerde ise 0,8 µm – 6 µm aralığında lif çapları tespit edilmiştir. FT-IR analizleri üretilen doku iskelelerinin tümünün karakteristik saf PLGA polimerinin piklerini gösterdiğini ortaya koymuştur. Temas açısı ölçümleri numunelerin hidrofob yapıda olduğunu göstermiştir. Hücre ekimi çalışmalarında, mezenkimal kök hücre kültürleri kullanılmıştır. Elde edilen matların toksik etkisinin olmadığı ve bu matların bazı hücre yapıştırıcı malzemeler kullanılarak hücre çoğalması için uygun bir doku iskelesi haline getirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doku iskelesi, elektroçekim, biyoyumlu ve biyobozunur polimer, PLGA, mezenkimal kök hücre

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Haziran / 2015

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sabri ERSOY
Sayfa sayısı: 74

**PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIODEGRADABLE
POLYMERIC NANOFIBER-BASED TISSUE SCAFFOLDS
(M.Sc. THESIS)**

NİLAY CAN

ABSTRACT

Tissue engineering is a multi-disciplinary approach that aims to restructure biological tissues, which is degraded for any reason, and to repair structural and functional properties of them. The main reasons of quite rapid development of the tissue engineering nowadays are unavailability of living tissue from cadavers and rejection of animal tissue by the people. It is thought that tissue engineering applications will eliminate problems such as donor shortage, the risk of infecting disease and causing immune response. It is necessary to express that tissue engineering applications are also commercially developing rapidly. The market for tissue engineering and regenerative medicine grown \$6.9 billion in 2009 in U.S.A. Potential market for products used in tissue engineering applications cover a wide range, which involves treatment of nervous system, degenerative or causing trauma or orthopedic, cardiovascular, diabetes applications and even the tissues used in the solution of dental or ophthalmologic (eye-related) problems.

In this study, nanofiber and microfiber structured tissue scaffolds were manufactured via electrospinning process using different molecular weight poly (D, L-lactide-co-glycolide) biodegradable polymer. Mechanical strength of produced mats were determined by tensile testing, and the usability in tissue engineering applications were discussed. It was determined that mats show the yield stress up to 380.7 kPa. The morphological characteristics of the produced surfaces were determined by means of SEM analysis. In the range of 188 nm – 668 nm fiber diameters were observed in the samples obtained from low molecular weight PLGA. A range of 0,8 µm – 6 µm fiber diameters were determined in case of high molecular weight PLGA. FT-IR analysis revealed that all of the the produced tissue scaffolds showed characteristic peaks of pure PLGA polymer. The contact angle measurements showed the hydrophobic structure of the samples. Mesenchymal stem cell cultures were used in cell cultivation trials. It is concluded that the resulting mats have not any of toxic effect, and these mats can be formed into a suitable tissue scaffold for cell growth using certain cell adhesive materials.

Key words: Tissue scaffold, electrospinning, biocompatible and biodegradable polymer, PLGA, mesenchymal stem cells

University of Kahramanmaraş Sütçü İmam
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Textile Engineering, June / 2015

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Mehmet Sabri ERSOY
Page Numbers: 74

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması süresince meşakkatli yollardan geçtim ve her bir çözümün hayatımda ayrı bir anlamı oldu. En karanlığı hissettiğimde tanıştığım ve kendime rol model aldığım, bu konu üzerinde çalışmama imkân sağlayan ve tezimin her aşamasında beni destekleyen saygı değer danışmanım Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sabri Ersoy'a;

Benimle bilgi ve birikimlerini paylaşan, yeni bakış açıları kazandıran ve hücre kültürü çalışmalarımnda bilimsel katkılarını esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Akif Hakan Kurt'a;

Tez çalışmalarım için laboratuvar alt yapısında çalışmama olanak veren hocam Doç. Dr. Suat Çetiner'e, ÜSKİM yönetimine ve analizlerime büyük katkıda bulunan Uzm. Turan Erdoğan'a, manevi desteklerini esirgemeyen değerli dostlarıma;

Son olarak, hayattaki en büyük destekçim emektarım anneme, bu süreçte aramızdan ayrılan dedem Mecit Sönmez' e ve diğer aile üyelerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Söylemeyi bir borç bilirim, hayatımdaki tüm başarılar babam Selahattin Can'a ithafendir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	IX
1.GİRİŞ.....	1
2. DOKU İSKELELERİ.....	5
2.1. Doku İskelesi Üretim Yöntemleri.....	6
2.1.1. Faz ayırımı.....	7
2.1.2. Isıl indükleme ile faz ayırımı (TIPS).....	7
2.1.3. Çözücü döküm-parçacık uzaklaştırma.....	8
2.1.4. Gazla köpüklendirme.....	9
2.1.5. Katı serbest form üretim teknikleri (SFFT).....	9
2.1.6. Elektroçekim yöntemi.....	10
2.2. Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Polimerler.....	13
2.2.1. Doğal polimerler.....	15
2.2.2. Sentetik polimerler.....	16
2.2.2.1. Sentetik homopolimerler.....	17
2.2.2.2. Sentetik kopolimerler.....	17
2.2.3. Kompozit yapılı polimerler.....	19
2.3. Doku İskelelerinden Uygulama Alanına Göre Beklenen Özellikler.....	20
3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	22
4. MATERYAL VE METOT.....	27
4.1 Poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) Doku İskelelerin Hazırlanması.....	27
4.2 Nanofiber Yapılı Doku İskelelerinin Karakterizasyonu.....	30
4.3 Polimerik Doku İskelelerine Hücre Ekimi.....	34
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	36
5.1. FT-IR Analizleri.....	36
5.2. SEM Analizleri.....	39
5.3. Çekme Dayanım Analizleri.....	47
5.4. Temas Açısı Ölçümleri.....	61
5.5. Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler.....	64

	<u>Sayfa No</u>
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Hücre dışı matris (ECM) yapısı.....	2
Şekil 1.2. Doku iskelesi üzerinde dokuların gelişimi ve implantasyonu	3
Şekil 2.1. Doku iskelesinin yapısının, hücre bağlanması ve yayılmasına etkisi	5
Şekil 2.2. Farklı teknikler ile üretilen gözenekli polimerik doku iskelelerinin morfolojileri	9
Şekil 2.2.a. Isıl indükleme ile faz ayırımı (TIPS)	9
Şekil 2.2.b. Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma.....	9
Şekil 2.2.c. Katı serbest form üretim tekniği.....	9
Şekil 2.3. Elektroçekim yöntemi ile nanofiber üretimi.....	11
Şekil 2.4. Elektroçekim ile üretilen doku iskelesi ve SEM görüntüsü (x5000).....	12
Şekil 2.5. Diklorometan-PLA çözeltilisinden elektroçekim yoluyla elde edilen gözenekli PLA liflerinin farklı büyüme oranlarındaki SEM görüntüleri.....	17
Şekil 4.1. %15 konsantrasyonda laktid/glikolid oranı (65:35) PLGA-DMF çözeltilisinden elde edilen SEM görüntüleri (x5000)	28
Şekil 4.2. %15 konsantrasyonda laktid/glikolid oranı (65:35) PLGA-kloroform çözeltilisinden elde edilen SEM görüntüleri (x5000).....	28
Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan elektroçekim düzeneği	29
Şekil 4.4. Carl Zeiss Evo LS10 taramalı elektron mikroskobu	30
Şekil 4.5. Zwick-Roell BT-1 Üniversal çekme dayanım test cihazı.....	31
Şekil 4.6. Numunelerin kalınlıklarının SEM kesit görüntüsü üzerinden belirlenmesi	31
Şekil 4.7.a. Çekme dayanım sonuçlarından elde edilen kuvvet-uzama grafiği.....	32
Şekil 4.7.b. Kuvvet değerleri kullanılarak hesaplanan sonuçlardan elde edilen gerilme-uzama grafiği	32
Şekil 4.7.c. Her bir ölçüm için yapılan elastik bölgeden Young Modülü' nün tespiti	32
Şekil 4.8. PerkinElmer Spektrum 400 FT-IR spektrofotometre	33
Şekil 4.9. KSV Cam 200 Temas açısı ölçüm cihazı	33
Şekil 4.10. ELx800-BioTek spektrofotometre	34

Sayfa No

Şekil 4.11. Hücre kültürü ekimi için hazırlanan bir PLGA nanofiber numunesi	34
Şekil 5.1. DMF çözücüsünün FT-IR spektrumları	59
Şekil 5.2. PLGA(50:50) polimerinin FT-IR spektrumları.....	60
Şekil 5.3. P1 numunesine ait FT-IR spektrumları	60
Şekil 5.4. Kloroform çözücüsünün FT-IR spektrumları.....	63
Şekil 5.5. PLGA (65:35) polimerinin FT-IR spektrumları	64
Şekil 5.6. P7 numunesine ait FT-IR spektrumları.....	64
Şekil 5.7. P1 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000).....	37
Şekil 5.8. P2 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000).....	37
Şekil 5.9. P3 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000).....	38
Şekil 5.10. P4 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000).....	38
Şekil 5.11. P5 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000).....	39
Şekil 5.12. P6 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000).....	39
Şekil 5.13. P7 numunesine ait SEM görüntüsü (x700).....	40
Şekil 5.14. P8 numunesine ait SEM görüntüsü (x700).....	41
Şekil 5.15. P9 numunesine ait SEM görüntüsü (x700).....	41
Şekil 5.16. P10 numunesine ait SEM görüntüsü (x700).....	42
Şekil 5.17. P11 numunesine ait SEM görüntüsü (x700).....	42
Şekil 5.18. P12 numunesine ait SEM görüntüsü (x700).....	43
Şekil 5.19. P1 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	46
Şekil 5.20. P2 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	47
Şekil 5.21. P3 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	48
Şekil 5.22. P4 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	49
Şekil 5.23. P5 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	50
Şekil 5.24. P6 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	51
Şekil 5.25. P7 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	53

Sayfa No

Şekil 5.26. P8 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	54
Şekil 5.27. P9 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	55
Şekil 5.28. P10 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	56
Şekil 5.29. P11 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	57
Şekil 5.30. P12 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri.....	58
Şekil 5.31. P7 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü	68
Şekil 5.32. P8 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü	69
Şekil 5.33. P9 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü	69
Şekil 5.34. P10 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü	69
Şekil 5.35. P11 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü	69
Şekil 5.36. P12 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü	70
Şekil 5.37. Mezenkimal kök hücreler ve PLGA doku iskelelerinin MTT sonuçları	70
Şekil 5.38. Kontrol grubu ve P1 numunesine ait MTT Assay test sonuçları.....	71

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1. Çeşitli doku iskeleleri üretim yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları .	12
Çizelge 2.2. Doğal ve sentetik biyobozunur polimerlerin sınıflandırılması	14
Çizelge 2.3. Yapı iskeleleri olarak sıkça kullanılan biyobozunur polimerlerin fiziksel özellikleri	18
Çizelge 4.1. Bazı çözücülerin dielektrik sabitleri	28
Çizelge 4.2. Elektroçekim ile üretilen numuneler ve üretim parametreleri	30
Çizelge 5.1. Üretilen numunelerin lif çapı ve kalınlık değerleri.....	36
Çizelge 5.2. Üretilen numunelerin mekanik özellikleri	45
Çizelge 5.3. Üretilen numunelerin temas açısı ölçümleri	68

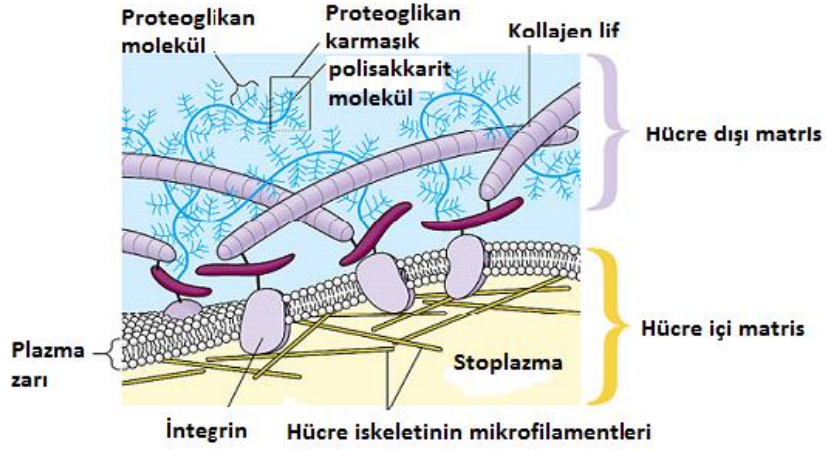
1.GİRİŞ

Doku mühendisliği; normal doku ve organ fonksiyonlarını sürdürmek, yenilemek ve geliştirmek için mühendislik, malzeme bilimi, biyolojik bilimler ve tıp entegrasyonu ile canlı hücrelerden yararlanan, biyolojik malzemelerin geliştirilmesini hedefleyen multi-disipliner bir alandır (Martina, 2007, Zorlutuna, 2012). Diğer bir anlamla doku mühendisliği; herhangi bir nedenle yapısı bozulmuş biyolojik dokuları yeniden eski haline getirme, yapısal ve fonksiyonel özelliklerini onarmayı hedefleyen çok disiplinli bir yaklaşımdır. Doku mühendisliğinin günümüzde oldukça hızlı ilerleme kaydetmesinin başlıca nedeni, kadavradan canlı doku sağlanamaması ve hayvansal dokuların ise insanlar tarafından reddedilmesidir. Bunun yanı sıra; ameliatlarda, vücuda yerleştirilen metal veya plastik protezlerin, vücudun uygun yerlerinden alınacak dokularla doldurulması son derece güç görülmektedir (Deliloğlu-Gürhan, 2009). Doku mühendisliği, geleneksel yöntemler ile kıyaslandığında, donör azlığı, hastalık bulaştırma riski ve immün yanıtı neden olma gibi problemleri ortadan kaldıracığı öngörülmektedir (Durukan, 2012).

Doku mühendisliği uygulamalarının, ticari olarak da hızla gelişmekte olduğunu ifade etmek gereklidir. Biyouyumlu malzemelerle ilgili ABD pazarı 2007 için 22,2 milyar dolardır. Bunun 11,7 milyar dolarını yapay dokular oluşturmaktadır. 2012 yılında yapay dokular için pazar 16 milyar dolarla en büyük bölümü oluşturmaktadır (Hasırcı, 2011). ABD' de doku mühendisliği ve rejeneratif tıp pazarın 2018 yılında yaklaşık 32 milyar dolar daha artacağı tahmin edilmektedir. Doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan ürünlerin potansiyel pazarı; sinir sistemi tedavileri, dejeneratif ya da travmaya neden olan ortopedik, kardiyovasküler, diyabet uygulamaları ve hatta diş ya da oftalmolojik (göz ile ilgili) sorunların çözümünde kullanılan dokuları da içeren geniş bir aralığı kapsamaktadır (Zorlutuna, 2012).

Doku, birden fazla hücre tipinden oluşur ve genellikle oldukça düzenli ve mikro ölçekte organize olan bu hücreler tarafından gizlenmiş hücre dışı matris (ECM) (Şekil 1.1) bileşenleri ile birlikte spesifik bir işlevi yerine getirirler (Li, 2002). Doğal hücre dışı matris, glikozaminoglikan zincirinin bir hidratlanmış ağ içinde iç içe geçmiş lifler ve çeşitli protein fibrillerden oluşmaktadır (Tuzlakoğlu, 2005). Belirli bir dokunun işlevselliği, bu karmaşık yapı ile ilgili olduğundan, doku mühendisleri in vitro çalışmaları ile bu karmaşık yapıyı oluşturabilmek ve biyo-benzetimle elde etmeye çalışmaktadırlar. Tekli hücre tabakalarının üst üste yerleştirilmesi gibi yaklaşımlar olmasına rağmen, çeşitli yöntemlerle

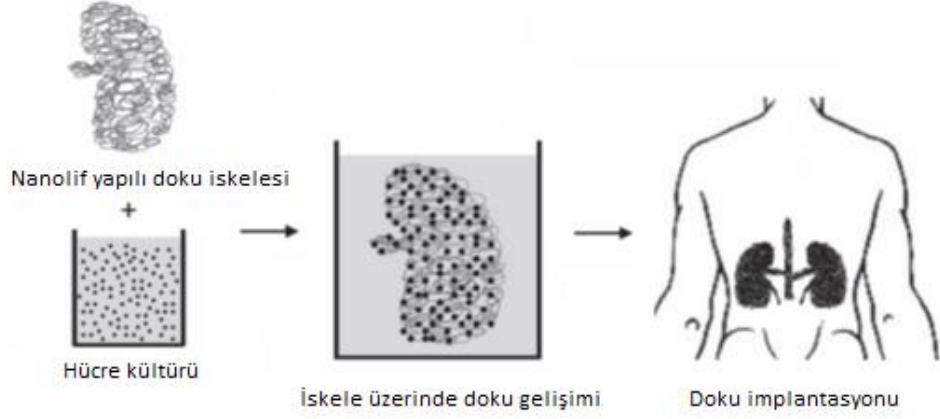
doku iskelesinin mikro yapısının ayarlanması, biyo-benzer doku iskelesi oluşturmanın en güçlü yollarından biridir (Zorlutuna, 2012).



Şekil 1.1. Hücre dışı matris (ECM) yapısı (Gümüşderelioğlu, 2007)

Doku mühendisliğinde çözümlenmesi gereken temel sorun, hücrelerin buldukları yeri doğru algılayarak hem özgün olarak tutunmalarını sağlayan, hem de fenotiplerinin; yani belirli bir hücreyi o hücre yapan özelliklerin kaybolmasını önleyen bir biyomateryali oluşturabilmek ve kullanmaktır (Deliloğlu-Gürhan, 2009).

Yeni dokunun rejenarasyonunda yaygın olarak kullanılan yöntem; kontrollü kültür koşulları altında hastadan küçük bir biyopsi ile belirli hücrelerin izole edilmesi, izole edilen hücrelerin zaman içinde bozunabilen (biyobozunur) üç boyutlu doku iskelesine ekilmesi ve son olarak da yeni doku oluşumu amacı ile hastanın vücudunda istenen bölgeye yerleştirilmesidir (Şekil 1.2) (Rezwan, 2006). Bu amaçla kullanılan doku iskeleleri, hücrelerin farklılaşmasını ve birleşerek üç boyutlu bir yapının oluşumunu sağlayacak fiziksel ve kimyasal işaretlerin üretimine olanak tanır (Armentano, 2010).



Şekil 1.2. Doku iskelesi üzerinde dokuların gelişimi ve implantasyonu (Lin, 2011)

Doku rejenarasyonunda alternatif bir yaklaşım; yerinde doku oluşumunu sağlamak amacıyla doku iskelelerinin, dokunun vücut içerisinde doğrudan büyümesi istenilen yere implante edilmesidir. Bu yaklaşımın avantajı, hastanın iyileşmesi için gerekli operasyon sayısının azaltılmasıdır. Bu da daha kısa bir iyileşme süresi ile sonuçlanır (Rezwan, 2006).

Biyomalzemeler ve üretim teknolojileri doku mühendisliğinde önemli bir rol oynar. Doku mühendisliği uygulamaları için kullanılan malzemeler, moleküler seviyede belirli bir hücre tepkisi ortaya çıkarmak için tasarlanmış olması gerekir. Bu malzemeler, hücre ile belirli etkileşimlere imkân tanımalı ve böylece doğrudan hücre tutunması, çoğalması, farklılaşması, hücre dışı matris üretimi ve bunların düzenlenmesini sağlamalıdır. Aynı zamanda doku oluşumu esnasında destek fonksiyonunu da yerine getirmelidir (Armentano, 2010, Lin, 2011). Bu malzemelerin, iltihap oluşumuna neden olmaması, bağışıklık sistemine zarar vermemesi, kanserojen olmaması, hücre zehirlenmesine neden olmaması gereklidir. Bu sayede, implantasyon sonrası patolojik reaksiyonları tetiklemeyecektir (Martina, 2007).

Biyoyumluluk; yapı ve yüzey biyoyumluluğu şeklinde sınıflandırılabilir. Yüzey biyoyumluluğu, materyalin yüzey kimyası ile ilişkilidir. Bir materyal yüzeyinin kimyasal özellikleri yapışma, göç ve çoğalma gibi hücre faaliyetlerini düzenleyen biyolojik moleküllerin yüzeye tutunmasına aracılık etmelidir. Bir doku iskelesinin yüzey kimyası, materyalin tipine bağlıdır (Abdal-hay, 2013). Doku iskeleleri aynı zamanda, enfeksiyonu önlemek için kolayca sterilize edilebilir olmalıdır. Doku iskelesinin mekanik özellikleri; kullanım ve hastanın normal aktiviteleri sırasında çökmeyecek düzeyde olması istenir (Armentano, 2010, Rezwan, 2006, Ravichandran, 2012). Geleneksel tek bileşenli polimer

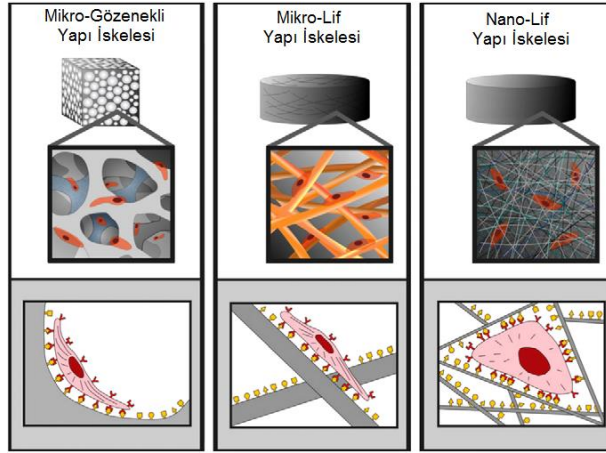
malzemeler bu gereksinimleri karşılayamamaktadır. Bu nedenle, çok fonksiyonlu biyomalzemeler geliştirmek amacı ile çok bileşenli polimer sistemlerinin tasarımı, yenilikçi ve uygulanabilir bir stratejidir (Armentano, 2010).

Nanoteknoloji, en az bir boyutu nanometre aralığında olan malzemeleri kullanarak eşsiz özellikte yeni yapılar, cihazlar ve sistemlerin oluşturulmasını sağlayan teknolojilerdir. Son yirmi yıl içinde, nano boyutta mühendislik yapılarının iyileştirilmesine yönelik araştırmalarda sürekli bir artış olmuştur. Nanoteknoloji yerli dokunun karmaşık, hiyerarşik yapısını benzeten yeni sistemlerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Tekstilde biyopolimerlerden doku iskelesi üretiminde de yine nanofiber elde edebildiğimiz elektroçekim sisteminin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Özellikle farklı polimerlerin karışımlarından oluşan sistemlerden elde edilen nanokompozit yapıları doku iskeleleri, genellikle mukavemet ve sertlik arasında mükemmel bir denge göstermektedir ve bileşenlerinin ayrı ayrı özelliklerine göre daha iyi sonuçlar vermektedirler (Armentano, 2010). Nanofiber yapıları doku iskelesi üretiminde kritik konu; hücreler ve hücre dışı matris malzemelerin üç boyutlu bir yapı oluşturacak şekilde birleşmesidir. Bu birleşim, yerli dokunun hem yapısal hem de fonksiyonel özelliklerini taşıyacak şekilde olmalı ve aynı zamanda yerli dokuyu taklit etmek suretiyle, değiştirici ya da onarıcı özellikte olmalıdır (Martina, 2007).

Poli(D,L-Laktid-ko-glikolid) PLGA, biyomedikal uygulamalar için nanofiber yapıları iskeleler olarak sıklıkla kullanılmaktadır. PLGA kabul edilebilir mekanik mukavemeti, kolay kontrol edilebilir bozunma oranına sahip biyobozunur sentetik bir polimerdir. Bu tez çalışmasında, elektroçekim işlemi ile biyoyumlu ve biyobozunur PLGA polimeri kullanılarak nanofiber mat formda doku iskelesi üretimi, elde edilen doku iskelesinin lif çaplarının ve kalınlığının; hücrelere yapışması, göçü ve çoğalmasının uygun hale getirilmesi için optimizasyonu, doku iskelesinin dayanımının farklı çözücü-molekül ağırlıkları kullanılarak ayarlanması, oluşturulan nanofiber matın mezenkimal kök hücre çoğalmasına uygunluğunun, toksisite ölçümü ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. DOKU İSKELELERİ

Doku mühendisliğinde; bağışıklık sistemine olumsuz herhangi bir etkisi olmadan, hastalık, yaralanma veya konjenital (doğuştan var olan) kusurlar tarafından tahrip edilen yeni hücre dışı matrisi yeniden oluşturmak, hücelere destek sağlamak için doku iskeleleri kullanılmaktadır (Agarwal, 2008). Doku iskeleleri, hücre dışı matris yapıların ağ yapılı fibriller ve hidratlı ağlarını destekler, hücreler için uygun bir mikro ortam sağlar ve ECM' de hücre içi sinyal iletimi ile çekirdek alanında hücre zarı reseptörlerine sinyal aktarımında aktif rol alırlar (Şekil 2.1). ECM' nin fibriler ve gözenekli yapısı, ağırlıklı olarak hücre yapışması ve göçü üzerinde önemli etkisi vardır. Bu da hücre işlevselliği açısından büyük önem arz etmektedir (Tuzlakoglu, 2005). ECM' nin yapısı, biyo-benzetimle doku iskelelerinin üretiminde çeşitli tekniklerin geliştirilmesine ışık tutmuştur.



Şekil 2.1. Doku iskelesinin yapısının, hücre bağlanması ve yayılmasına etkisi (Stevens, 2005, Agarwal, 2008)

Doku iskeleleri, üç-boyutlu bir doku oluşumunu destekleme yeteneğine sahip yapay bir yapı olarak da tanımlanabilir. Bu yapı; hücrelerin tutunmasına ve göçüne izin vermeli, hücrelerin ve hücre besinleri ve ortaya çıkan ürünlerin difüzyonunu sağlayan biyokimyasal faktörlerin dağıtılmasını ve sürdürülmesini sağlamak için geçirgen bir yapıya sahip olmalıdır (Armentano, 2010, Tuzlakoglu, 2005).

Fonksiyonel bir doku iskelesi; biyouyumluluk, biyobozunurluk ve uygun mekanik özellikler gibi çok fonksiyonel yapıda olmalı, aynı zamanda kök hücre yapışması, çoğalması ve farklılaşmasını desteklemelidir (Ravichandran, 2012). Doku iskelesi uygun bir gözenek boyutu dağılımı, yüksek bir gözeneklilik derecesine ve geniş bir yüzey alanına sahip olmalıdır. Yüksek gözeneklilik ve yeterli gözenek boyutu; hem hücrelerin ekimini

hem de hücre ve besinlerin tüm yapı boyunca yayılmasını kolaylaştırmak için gereklidir. Yüksek gözeneklilik ve gözenek dağılımının homojenliği; hücre tutunması ve dokunun gelişimi için çok önemli olan özgül yüzey alanını artırmak için önemli değişkenlerdir. Böylece hücrelerin düzgün dağılımını, besinlerin yeterli taşınmasını ve hücrel atık ürünlerin uzaklaştırılmasını kolaylaştırmaktadır (Armentano, 2010). Doku iskelesinde kullanılan biyobozunur malzemeler;

- vücutta implantasyon üzerine sürekli bir iltihaplı ya da toksik tepki uyandırmamalıdır,
- kabul edilebilir bir raf ömrüne sahip olmalıdır,
- bozunma süresinin yeni doku oluşumu hızı ile uyumlu olması gereklidir (Lin, 2011),
- belirtilen uygulamalar için uygun mekanik özelliklere sahip olmalıdır,
- yeni doku oluşumu sırasında, iskelenin çökmemesi için malzemenin bozunması ile mekanik özelliklerindeki değişiklik, iyileşme veya yeniden oluşma süreciyle uyumlu olmalıdır (Lin, 2011),
- bozunma ürünleri toksik olmamalı ve vücut metabolizmasında temizlenebilir olmalıdır,
- amaçlanan uygulama için uygun geçirgenliğe sahip ve işlenebilir olmalıdır (Nair, 2007).

2.1. Doku İskelesi Üretim Yöntemleri

Doku iskelesi üretim süreçlerinde, belirli bir uygulamanın önemli gereksinimlerini karşılayabilmesi için makro, mikro ve nano düzeydeki yapısal özelliklerin hassas şekilde kontrolü sağlanmalıdır. Doku mühendisliği stratejisi ve doku iskele malzemesine bağlı olarak farklı işlem yöntemleri ve koşulları nihai performans beklentileri göz önüne alınarak optimize edilmelidir (Puppi, 2010). Polimerik doku iskeleleri elde etmek için kullanılan üretim teknikleri çözücü döküm - parçacık uzaklaştırma, gazla köpüklendirme, dondurarak kurutma, ısıl indüklenmiş faz ayırımı, lifle bağlama, eriyik halinde döküm ve elektroçekimdir (Armentano, 2010, Tuzlakoglu, 2005, Koç, 2008).

2.1.1. Faz ayırımı

Faz ayırımı gözenekli polimer zarlar üretmek için bir üretim tekniği olarak yıllardır kullanılmaktadır. Bu yöntem: polimer çözücü ve çözücü olmayan bileşenlerden oluşan homojen polimer çözeltisinin termodinamik yöntemle polimerce zengin ve fakir fazlara ayrılarak gözenekli bir yapı elde edilmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde; polimer, bir çözücü içerisinde çözülür ve sonra faz ayırımı, ısı olarak indüklenir veya polimer içerisinde çözünmeyen bir çözeltili kullanılarak jel oluşumu sağlanır. Oluşan jelden çözücüyü çıkarmak için su kullanılır. Daha sonra jel, polimerin camsı geçiş sıcaklığının altındaki bir sıcaklığa kadar soğutulur ve nano gözenekli iskele üretmek için vakum altında dondurularak kurutulur. İstenen yapı çeşitli porojen maddelerin polimer çözeltisine faz ayırım işlemi esnasında ilave edilmesiyle elde edilebilir. Kullanılan porojenlerin geometrisini, boyutunu ve konsantrasyonunu değiştirerek, elde edilen polimerik malzemenin hem gözenek boyutu hem de oluşan ağ yapının bağlantı şekli kolaylıkla ayarlanabilmektedir. Diğer tekniklerden farklı olarak faz ayrılması çok özel ekipman gerektirmeyen basit bir işlemdir (Ravichandran, 2012). % 90' dan daha büyük gözeneklilik ve 20'den 200µm arasında değişen gözenek boyutu ile doku iskeleleri bu yöntem ile üretilebilir. Bu yöntemin dezavantajı oluşan matriste gözenek yapısı kapalıdır (Patel, 2011).

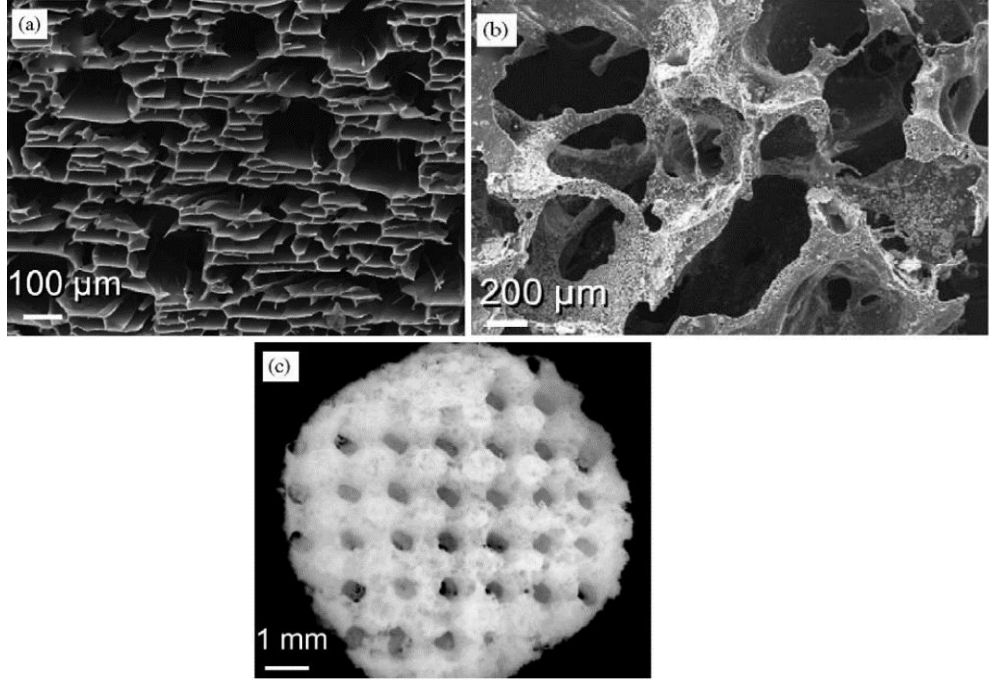
2.1.2. Isıl indükleme ile faz ayırımı (TIPS)

Üç boyutlu, yüksek gözenekli, sinir, kas, tendon, bağ doku, bağırsak, kemik ve diş uygulamaları için uygun, makro ve mikro yapıda polimerik iskeleler geliştirmek için TIPS tekniği kullanılmaktadır. Bu işlem; buharlaşması kolay olan, düşük kaynama noktasına sahip bir çözücü kullanılmasını gerektirir. Örneğin; dioksan, alifatik polyesterleri çözmek için kullanılabilir ve az miktarda su ilavesiyle faz ayırımı indüklenir (Ravichandran, 2012). Bu ilave, polimerce zengin ve fakir fazların oluşunu sağlayarak, gözenekli bir iskele oluşturur. TIPS yoluyla elde edilen polimerik iskeleler anizotropik tübüler morfolojide, yoğun ağ bağlantılı yapıda ve oldukça gözeneklidir (Şekil 2.2.a). TIPS tekniği kullanılarak üretilen iskelelerde gözenek morfolojisi, mekanik özellikler, biyo-aktivite ve bozunma oranları; çözeltideki polimer konsantrasyonu, ikincil fazın hacimsel oranı, işlemde kullanılan suyun sıcaklığı, kullanılan polimerin ve çözücünün türü değiştirilerek kontrol edilebilir (Rezwan, 2006, Ravichandran, 2012, Puppi, 2010).

Doku mühendisliğinde TIPS yönteminin güncel bir uygulaması; biyomoleküllerin yüzey modifikasyonu ile gözenek morfolojisi ve gözenek boyutunun kolaylıkla ayarlanabilmesinden dolayı gözenekli mikro kürelerin kullanımınıdır. Doku mühendisliği uygulamalarında, enjekte edilebilen bu tür iskeleler, hasar görmüş dokuda boşlukları doldurma yeteneklerinden dolayı kabul görmektedirler. Gözenekli biyobozunur mikro-kürelerdeki polimer bileşen miktarı, katı mikro kürelere kıyasla azdır. Gözenekli biyobozunur mikro kürelerin bozunma mekanizmaları da daha öngörülebilirdir (Ravichandran, 2012). TIPS ile elde edilen doku iskelelerinin dezavantajı gözenek boyutunun sınırlı bir aralıkta kalması ve mikro yapısının kontrolünün güç olmasıdır (Puppi, 2010). Bu yöntem genellikle 10-100µm gözenek boyutu ile doku iskeleleri üretmektedir. Yöntemin avantajı, iyi mekaniksel özelliklerde doku iskeleleri oluşmaktadır (Patel, 2011).

2.1.3. Çözücü döküm-parçacık uzaklaştırma

Çözücü döküm, 2mm kalınlığa kadar 3 boyutlu gözenekli doku iskelelerinin hazırlanmasını sağlar. Bu teknik kullanılarak % 93'e kadar gözeneklilik ve ortalama gözenek çapı 500µm'e varan son derece gözenekli iskeleler elde edilebilir (Şekil 2.2.b) (Puppi, 2010). Bu yöntemde; organik çözücüde çözünen polimer, şeker, inorganik tuz, parafin küreler gibi porojen granüllerle karıştırılır ve önceden belirlenmiş bir üç boyutlu kalıba dökülür. Polimer- porojen oranı, nihai yapının gözeneklilik miktarı ile doğrudan bağlantılı olurken, kullanılan porojen parçacıkların boyutu iskele gözenek boyutlarını etkilemektedir (Armentano, 2010, Rezwan, 2006, Ravichandran, 2012, Koç, 2008). Çözücünün daha sonra buharlaşmasına izin verilir ve porojen parçacıklar ana işlem adımını takiben yıkama ile uzaklaştırılır. Bu üretim tekniğinin en önemli avantajı, herhangi bir özel ekipmana gerek kalmadan üretiminin kolay olmasıdır. Ancak, organik çözücüler doku iskelesi üzerine ekilen hücrelere herhangi olası hasarı önlemek amacıyla tamamen uzaklaştırılmalıdır (Armentano, 2010, Rezwan, 2006, Ravichandran, 2012). Yöntemin dezavantajları ise, sadece düz levha veya boru şeklinde yapıların oluşturulabilmesi, porojen partiküllerin yapıdan uzaklaştırılmasının zor olması nedeniyle iskele hazırlamanın zaman alıcı olması, polimer içinde toksik çözücünün kalma ihtimali, polimere tutunan diğer moleküllerin ve proteinlerin çözücüler nedeniyle bozunma riskinin olmasıdır (Rezwan, 2006, Puppi, 2010, Koç, 2008).



Şekil 2.2. Farklı teknikler ile üretilen gözenekli polimerik doku iskelelerinin morfolojileri. (a) Isıl indükleme ile faz Ayırımı (TIPS), (b) Çözücü döküm ve parçacık uzaklaştırma, (c) Katı serbest form üretim tekniği (Rezwan, 2006)

2.1.4. Gazla köpüklendirme

Organik çözücünün toksisite etkisini önlemek için, gazla köpüklendirme yöntemi tercih edilmektedir. Bu yöntemle, diğer bazı yöntemlerde kullanılan organik çözücülerin kullanımı ortadan kaldırılmakta, çözücü olmaksızın oldukça gözenekli polimer köpük yapılar üretilmektedir. Polimer köpük oluşturmada genellikle karbon dioksit (CO_2) gazı kullanılmaktadır (Armentano, 2010). Bu teknik kullanılarak $100\mu\text{m}$ gözenek boyutu %93'e kadar gözeneklilik ile polimer süngerler üretilir. Bu yöntemin dezavantajı çoğunlukla gözeneksiz yüzey ve kapalı gözenek yapısıdır (Patel, 2011).

2.1.5. Katı serbest form üretim teknikleri (SFFT)

Katı serbest formlu üretim (SFFT) , bilgisayar destekli tasarım ve üretim (CAD ve CAM) teknikleri içerir. Geleneksel üretim teknolojilerine kıyasla doku iskelesinin gözeneklilik ve gözenek boyutu kontrolü daha iyi sağlanır. SFF teknolojileri katmanlı üretim tekniklerini kullanarak 3D nesnelerin hazırlanmasını kapsar. 3D yapılar katı tabaka, sıvı ya da toz malzemenin işlenmesi yoluyla katman-katman oluşturma yöntemiyle üretilir (Ravichandran, 2012, Puppi, 2010). Doku iskelesi üretiminde kullanılan SFF üretim teknolojisi; 3D baskı, stereolitografi, seçici lazer sinterleme ve püskürterek çıkarma bazı

sistemlerden farklıdır. Bu teknikler; tam ve uygun bir gözenek morfolojisi, anizotropik yapısı ve geniş aralıkta değiştirilebilen işlem koşulları ile karışık özel tasarım iskelelerin eldesine olanak tanır (Puppi, 2010).

SFFT tamamen birbiriyle bağlantılı gözenekli ağları ile tekrarlanabilir iskeleleri üretmek için kullanılır (Şekil 2.2.c). Geleneksel köpük iskele üretim işlemleri (faz ayrılması, emülsiyon-çözücü difüzyon veya porojen filtreleme) ile SFF yöntemi, kontrollü mikro ve makro-gözenekli iskelelerin geliştirilmesinde birlikte kullanılabilir. Biyobenzetim ile elde edilen bu yapıların, çoklu doku ve yapısal doku uygulamalarındaki ara yüzlerin davranışının anlaşılabilmesi adına oldukça önemlidir (Rezwan, 2006, Ravichandran, 2012).

2.1.6. Elektroçekim yöntemi

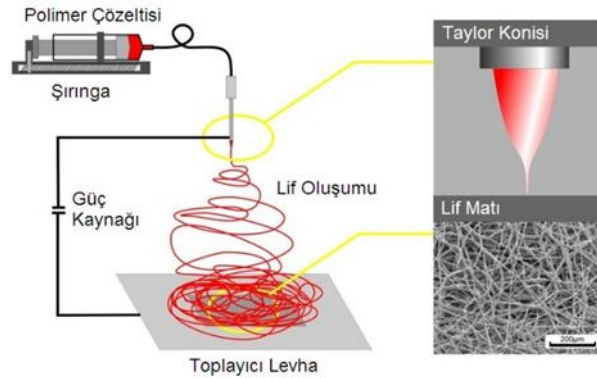
Elektrik alan kuvvetlerinin bir sıvı üzerine etki ettirilerek lif oluşturulabileceği ilk olarak Formhals tarafından 1934'te ifade edilmiştir (Formhals, 1934). Bu yöntem Norton tarafından geliştirilmiş ve bu yönteme dayalı olarak çalışan ilk cihaz tasarımı yine Norton tarafından yapılmıştır (Norton, 1936). Elektroçekim işlemi elektriksel ve hidrodinamik kuvvetler altında malzemeyi küçülterek şekil verme yöntemi olarak tanımlanan elektrohidrodinamik atomizasyon (EHDA) işlemidir. Elektroçekim işleminde, çok küçük debilerde viskoz sıvılara kilovolt boyutunda gerilim vererek, akışkan nano boyutlu liflere dönüştürülür. Uygulanan voltaj ile viskoelastik akışkan karşıdaki topraklanmış yüzeye inceleterek geçmektedir. Düze ucunda iken hemen hemen düzeyle aynı çapa sahip olan jet üzerinde yüksek derecede incelme olmakta, bu esnada çözücü buharlaşmakta ve karşıya nanometrik çapta lifler olarak düzensiz bir şekilde toplanmaktadır (Lin, 2011, Kılıc, 2008, Wang, 2009). Bu yöntemde çoğunlukla dokusuz nanofiber mat yüzey, elektrot toplayıcı üzerine rastgele toplanmaktadır (Lin, 2011). Konvansiyonel iplik çekim sistemlerinde, polimer eriyik veya çözeltisi üzerinde mekanik kuvvetler etkilidir. Bu etkiler altında elde edilen liflerin çapları 10 – 500 µm aralığında değişmektedir (Shin, 2001). Elektroçekim sisteminde mekanik kuvvetlerden farklı olarak elektrik alan kuvveti etkilidir. Yüksek elektrik alanda ise elektrik alan kuvvetleri ile Coulombic kuvvetlerin birleşimi etkili olmaktadır (Kılıc, 2008).

Bir elektroçekim düzeneği temel olarak;

1. Polimer çözelti ile dolu kapılar tüp olan bir şırınga,
2. Gerekli elektrik alan kuvvetini oluşturacak yüksek gerilim güç kaynağı ve
3. Toplayıcı metal levhadan oluşur (Şekil 2.3).

Elektroçekimde nanofiberlerin istenilen boyutlarda üretilmesi için önemli temel parametreler 3 grupta incelenmektedir. Bunlar:

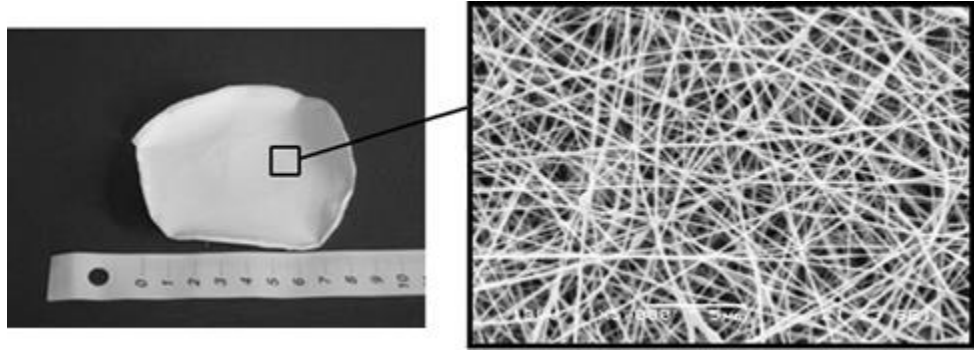
1. **Çözelti veya eriyik parametreleri**; moleküler ağırlık, moleküler ağırlık dağılımı, polimerin yapısı (lineer, dallı, ağsı), çözelti özellikleri (viskozite, iletkenlik, yüzey gerilimi, elastiklik, pH),
2. **İşlem parametreleri**; uygulanan gerilim, düzedeği hidrostatik basınç, debi, düze ile toplama plakası arasındaki mesafe, toplama plakasının biçimi ve hareketi (Ju, 2010),
3. **Çevresel parametreler**; sıcaklık (eriyik sıcaklığı, çözelti sıcaklığı, çevre sıcaklığı), bağıl nem ve vakumdur.



Şekil 2.3. Elektroçekim yöntemi ile nanofiber üretimi (Gümüşderelioğlu, 2007)

Elektroçekim yöntemi ile elde edilen yüzeyler düşük lif çapı, yüksek özgül yüzey alanı (Huang, 2003) ve boşluklu yapısı sayesinde, filtre, membran, sargı bezi, doku iskeleleri, koruyucu giysiler, ilaç taşınımı, sensörler ve opto-elektronik uygulamaları gibi birçok kullanım alanı bulmuştur (Shin, 2001, John, 2008, Chen, 2009). Elektroçekim tekniği ile elde edilen doku iskeleleri, hücre dışı matrise (ECM) yapısal benzerliğinden dolayı doku mühendisliği uygulamaları için tercih edilen bir yöntemdir (Ravichandran,

2012, Kim, 2012). Toplayıcı levhanın mesafesi, uygulanan gerilimin büyüklüğü ya da çözeltinin akış hızı gibi değişkenler, hücrelerin yapışma, çoğalma ve göç gibi hücre fonksiyonlarını etkilemek için değiştirilebilir. Elektroçekim ile elde edilen polimerik nanofiber yapıları gelişmiş protein adsorpsiyonu, yüksek yapısal bütünlük, iyi mekanik özellikleri, biyo-benzer yapısı, geniş özgül yüzey alanları (Şekil 2.4) gibi birçok mükemmel özelliğe sahiptir (Ravichandran, 2012, Khan, 2012). Elektroçekim yöntemi; kollajen, kitosan, kitin, ipek fibroin gibi doğal ve polietilenoksit, poli (DL-laktid-koglikolid), poli (L-laktit) ve polikaprolakton gibi sentetik polimerden biyobozunur nanofiber yapıları üretmek için kullanılmaktadır (Tuzlakoglu, 2005).



Şekil 2.4. Elektroçekim ile üretilen doku iskelesi ve SEM görüntüsü (x5000) (Puppi, 2010)

Yukarıda verilen doku iskelesi üretim yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlarının kıyaslanması Çizelge 2.1’ de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Çeşitli doku iskeleleri üretim yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları (Rezwan, 2006, Patel, 2011, Ravichandran, 2012)

Fabrikasyon yöntemi	Avantajları	Dezavantajları
Faz Ayırımı	Biyoaktif maddelerin birleşimine izin verir, Oldukça gözenekli yapılar.	Mikro yapı üzerinde kontrol eksikliği, Çözücü kalıntısı problemi, Sınırlı gözenek boyutları.
Isıl İndükleme ile Faz Ayırımı(TIPS)	Kontrol edilebilir gözeneklilik ve gözenek morfolojisi, Yüksek gözeneklilik (%95), Anizotropik ve boru şeklinde gözenekler.	Boyutları sadece 10-200µm çapında aralığında, Organik çözücü kullanımı, Çekme problemleri.
Çözücü Döküm ve Parçacık Uzaklaştırma	Kolay işlem, Partikül boyutu ve tuz partiküllerinin miktarı seçilerek gözeneklilik ve gözenek boyutunun kontrolü.	Tuz partiküllerinin dağılımı polimer çözeltisinde genellikle düzgün değil, Tuz partikülleri arasındaki direkt açının derecesi iyi kontrol edilmez, Nihai doku iskelesinde gözeneklerin ara bağlantısı iyi kontrol edilmez, Sınırlı membran kalınlığı, Mekanik mukavemetin zayıflığı, Çözücü kalıntısı problemi.
Katı Serbest Form Üretim Teknikleri(SFFT)	İsteğe uyumlu dizayn, Bilgisayar kontrollü üretim, Anizotropik mikroyapılar, İşlem koşulları.	Mekanik mukavemetin zayıflığı, Sınırlı küçük gözenek boyutları.
Elektroçekim	Kolay işlem, Düşük maliyet, Yüksek gözeneklilik, Geniş yüzey alanı, Uzun süreklilik lif üretimi.	Sınırlı polimer aralığı, Çözücü kalıntısı problemi, Mikro yapı üzerinde kontrol eksikliği.

2.2. Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Polimerler

Doku mühendisliği uygulamalarında, işlevi olan dokuyu geliştirmek ve hücrelerin üç-boyutlu bir yapı oluşturabilmesi için biyobozunur bir malzeme kullanılır. Mekanik ve bozunma özelliklerindeki çeşitlilik sayesinde; farklı dokuların özelliklerini taklit edebilen polimerik malzemeler kullanılabilir (Nair, 2007). Polimerik bir biyomalzeme; herhangi bir doku, organ veya vücut fonksiyonunu değerlendirmek, tedavi etmek,

çoğaltmak, tamir veya değiştirmek için üretilmiş, biyolojik sistemler ile ara yüzeyi tasarlanmış malzemeler olarak tanımlanır. Polimerik doku iskelesi; hücre yapışması, çoğalması, farklılaşması, hücre dışı matris (ECM) oluşumu ve mineralizasyonu için bir biyo-benzetim şablonu olarak görev yapar. Böylece hasarlı doku rejenerasyonu için uygun bir ortam sağlar (Ravichandran, 2012).

Biyobozunur polimerler, mikrobiyel olarak zincir kopuşlarına maruz kalan ve bunun sonucunda mineralize olan, foto-bozunuma uğrayan, okside ya da hidrolize olan polimerlerdir (Çaydamlı, 2012). Biyobozunur polimerlerin iki tipi vardır. Doğal esaslı biyopolimerler; polisakkaritleri (nişasta, aljinat, kitin/kitosan, hiyaluronik asit türevleri) ve proteinleri (soya, kollajen, fibrin jel, ipek) içermektedir (John, 2008). İkinci kategori ise sentetik biyobozunur polimerlerdir. Sentetik biyopolimerler ise poli (laktik asit) (PLA), poli (glikolik asit) (PGA), poli (ϵ -kaprolakton) (PCL), poli (hidroksi bütirat) (PHB) polimerlerini içermektedir (Armentano, 2010). Çizelge 2.2 'de biyobozunur polimerlerin sınıflandırması gösterilmiştir. Biyopolimerler damıtma işlemiyle biyokütlelerden (örn. polisakaritler), genetik olarak değiştirilmiş bitkilerin fermantasyonu ile (PHA, polihidroksialkonat) ve biyokütleden elde edilen monomerlerden sentez ile (PLA, polilaktik asit) veya tamamen petrokimya işlemi ile (PCL, polikaprolakton; PEA, polyesteramid; alifatik ya da aromatik kopolyesterler) elde edilmektedirler (John, 2008).

Çizelge 2.2. Doğal ve sentetik biyobozunur polimerlerin sınıflandırılması (John, 2008).

Doğal Polimerler	Sentetik Polimerler
1-Polisakkaritler	1-Poliamidler
nişasta	2-Polianhidritler
selüloz	3-Poliamid-enaminler
kitin	4-Polivinilalkol
2-Proteinler	5-Polivinilasetat
kollajen/jelatin	6-Polyesterler
kazein	poliglikolik asit
albümin	polilaktik asit
fibrinojen	polikaprolakton
ipek	poliortoesterler
3-Polyesterler	7-Polietilen oksitler
polihidroksialkanatlar	8-Polifosfazenler
4-Diğer polimerler	
lignin	
lipitler	
şellak	
doğal kauçuk	

Sentetik polimerler, kontrollü şartlar altında üretilebilir ve bu nedenle gerilme mukavemeti, esneklik katsayısı ve bozunma oranı gibi genel olarak öngörülebilir ve tekrarlanabilir mekanik ve fiziksel özellikler sergiler. Bir başka avantajı da yabancı maddelerin kontrolüdür (Rezwan, 2006). Bu polimerlerden elde edilen doku iskelelerinin, şekli ve bozulma hızları kolayca değiştirilebilir fakat yüzeyleri hidrofobiktir ve hücre tanımlama sinyallerinin eksikliği vardır. Doğal kaynaklı polimerler; biyolojik tanımlama avantajına sahiptir. Hücre yapışması ve fonksiyonunu pozitif bir şekilde destekleyebilir fakat zayıf mekanik özellikler sergilerler. Bu doğal polimerlerin çoğunun kaynağı sınırlıdır ve bu nedenle pahalıya mal olmaktadır (Armentano, 2010).

2.2.1. Doğal polimerler

Birçok biyomedikal uygulama için kullanılan malzemeler biyoyumlu olmalıdır. Bu yüzden doğal polimerlerin sentetik malzemeler üzerinde ayrı bir avantajı vardır. Elektroçekim işlemine uygun olan pek çok polimer proteinler ve polisakaritlerdir. Nanofiber yapıları proteinler; jelatin, fibrinojen ve ipek olarak sıralanabilirler.

Vücut içinde hücreleri bir arada tutan en önemli molekül “kollajen”dir. Kollajen, özellikle cilt, kıkırdak, damar ve kemik gibi dokularda bol miktarda bulunur ve insan vücudundaki tüm proteinlerin yaklaşık %30’unu oluşturur. Hücreler arasında bulunan bu ve benzeri yapıtaşları sayesinde, üç boyutlu organ ya da doku morfolojisi korunabilmektedir (Deliloğlu-Gürhan, 2009). Doku mühendisliği uygulamalarında en yaygın olarak kullanılan doğal polimerlerden biri kollajenlerdir. Kollajenler mekanik desteği sağlayarak bağ dokusunda doğal bir şekilde bulunur. Kollajenlerin en az on farklı formu vardır ve bunlar belirli dokuların rejenerasyonunda etkindirler. Tüm kollajenler temel üçlü helis yapısını paylaşır. Kollajenin doğal yapısının lif şeklinde olmasından dolayı, elektroçekim ile elde edilen nanofiberler vücuttaki hücre dışı matrisi taklit edebilir. Genel olarak kollajen; nispeten güçlü ve özellikle çapraz-bağlama sonrası stabil lifler oluşturur (Ramakrishna, 2005).

Doku mühendisliği kullanımı için elektroçekime uygun olan bir diğer protein fibrinojendir. Bu protein kan pıhtılaşması ve yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığı gibi, nanofiber yapıları fibrinojen yara sargılarında kullanımı araştırılmaktadır. Doğal ipek lifi gibi proteinler üstün mekanik özelliklere sahiptir. İpek fibroininden elde edilen nanofiberler, hücre yapışmasını ve çoğalmasını sağlamaktadır. İpek fibroini; iyi

biyoyumluluk, iyi oksijen ve su buharı geçirgenliği, biyobozunurluk ve minimal inflamatuvar reaksiyon gibi biyolojik özellikleri nedeniyle avantajlı malzemelerdir (Ramakrishna, 2005). Elektroçekimle yapılan ipek fibroin nanofiber matı hasarlı dokuların yenilenmesinde etkilidir (Wang, 2009).

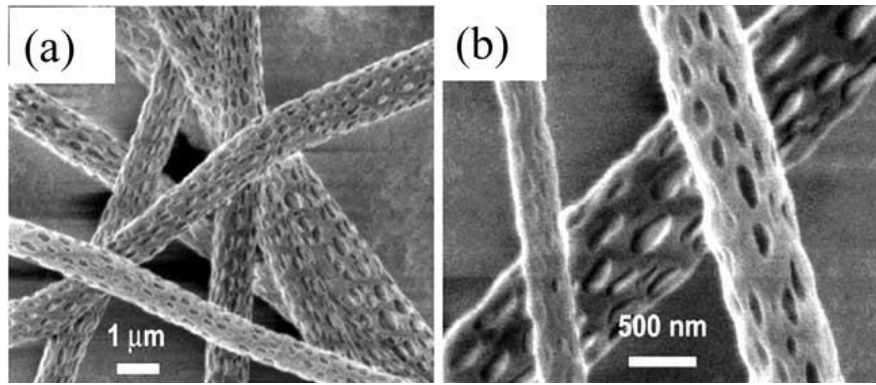
Selüloz asetat (CA) da elektroçekim ile üretilebilir ve daha sonra deasetilasyon işlemiyle saf selüloz lifleri elde edilir. Bu tür ince selüloz lifler; yüksek özgül hacim ve yüksek özgül yüzey alanına sahiptir. Hyaluronik asit (HA); sinovyal sıvı, dermis ve kıkırdak gibi özel dokularda yaygınca bulunan doğal bir şekilde oluşan diğer bir polisakkarittir. HA' nın benzersiz reolojik özellikleri ve biyoyumluluğu; göz, tıbbi implantlar ve ilaç salınımı gibi birçok biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Ramakrishna, 2005). Doğal polimerler, diğer polimerlerden daha iyi biyoyumluluk ve düşük bir toksisite sergilerler. Doğal biyopolimerin elektroçekiminde karışık çözücü sistemlerin kullanımı gereklidir (örn. kollajen ya da jelatin için hegzaflozopropil alkol ve ipek fibroini için formik asit). Diğer bir biyopolimer olan kitosan ise iyi fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olmasına rağmen, elektroçekimi hiç kolay değildir. Birçok parametrenin (çözücü yapısı, moleküler ağırlık, elektroçekim işlem koşulları) morfoloji üzerindeki etkisi öngörülemezdir (Wang, 2009).

2.2.2. Sentetik polimerler

Sentetik biyomalzemeler genellikle biyolojik olarak inerttirler. Bu malzemelerin avantajları; özellikleri daha öngörülebilir, tekrarlı çözeltilerinde üniform yapı elde edilebilen ve belirli uygulamalar için uygun hale getirilmiş farklı türevleri oluşturulabilen ürünler olmalarıdır (Nair, 2007). Doku iskeleleri için en sık kullanılan sentetik polimerler; biyobozunur alifatik polyesterlerdir. Bu bozunabilir polyesterler üç monomer yani laktid, glikolid ve kaprolaktondan türetilir. Polimer içindeki ester bağının hidrolitik hücumu uğraması sayesinde polimerin bozunması gerçekleşmektedir. Poliüretanlar özellikle kan ile temas eden biyomedikal uygulamalarda en yaygın olarak kullanılan polimerlerden biridir. Bunun sebebi, farklı formlarının kolay sentezlenebilmesi ve yüzeylerinin diğer polimerlere kıyasla pıhtılaşmayan doğasındandır. Güncel uygulamaları; kateterler, kan torbaları ve yapay kalp sistemlerini içerir. Elektroçekim ile üretilmiş poliüretan lifler yara iyileşmesi uygulama alanında büyük gelişmeler göstermiştir (Ramakrishna, 2005, Çalhoğlu, 2013). Biyobozunur polimerler, polimer zincirinde yer alan monomerlerin çeşitliliğine göre homopolimerler ve kopolimerler olarak 2 temel sınıfta incelenirler.

2.2.2.1. Sentetik homopolimerler

Polikaprolakton (PCL) ve polilaktik asit (PLA) gibi polimerler, halka açılma polimerizasyonu ile sentezlenirler. Bu iki polimer biyomedikal özelliklerinden dolayı doku mühendisliğinde nanofiber şeklinde elektroçekim yapılmaktadır. Şekil 2.5’ de diklorometan çözeltisi içinde çözünen PLA’ nın elektroçekim işlemi ile elde edilmiş nanofiber yapılı ve gözenekli morfolojisi görülmektedir. Nanofiber matın gözenek boyutu hücrenin boyutuna yakındır. Bu nedenle, iskele hücre yapışma büyüme ve rejenerasyonu için destek olarak etkin bir şekilde kullanılabilir (Wang, 2009).



Şekil 2.5. Diklorometan - PLA çözeltisinden elektro çekim yoluyla elde edilen gözenekli PLA liflerinin farklı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri (Wang, 2009)

Poli ϵ -kaprolaktonun yarı-kristalin doğası ve hidrofobluğundan dolayı, PCL’nin bozunması oldukça yavaştır. Bu nedenle uzun vadeli implantların geliştirilmesi için temel malzeme olarak kullanılır (Puppi, 2010). Diğer biyobozunur polimerlerden poli (vinil alkol) (PVA), poli (etilen oksit) (PEO) ve poliüretan (PU) nanofiber yapılı doku iskelelerinin elektroçekim işlemiyle üretiminde tercih edilmektedir. Polistiren (PS), poliakrilonitril (PAN) ve polikarbonat (PC) gibi diğer sentetik polimerler organik çözücüler içinde çözünür ve özel uygulamalar için elektroçekim işlemi uygulanır. PAN nanofiberler 800 °C’ de ısı-ışıl işlem yoluyla kömürleşebilir. Elde edilen yapılar, koruyucu kumaş ve bazı gaz maskelerinde de kullanılabilir (Wang, 2009).

2.2.2.2. Sentetik kopolimerler

PGA, PLA ve bunların kopolimerleri, poli (laktik asit-ko-glikolik asit) (PLGA) doku mühendisliğinde en sık kullanılan lineer alifatik polyester ailesidir (Rezwan, 2006). PLGA (PGA ve PLA’ nın kopolimeri), biyomedikal uygulamalar için nanofiber yapılı

iskeleler olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Liflerin mekanik özellikleri ve bozunması PGA ve PLA homopolimerlerinden oldukça farklıdır (Wang, 2009). PGA, nispeten hidrofilik doğasından dolayı in-vivo ya da sulu çözeltilerde hızlıca bozular ve iki ile dört hafta arasında mekanik bütünlüğünü kaybeder. PLA' da tekrar eden ekstre metil grubu (PGA ile karşılaştırıldığında) bulunduğundan, onu daha hidrofobik yapar ve daha düşük bir hidroliz oranına yol açar (Armentano, 2010, Koç, 2008). PLGA; laktik asit ve glikolik asit oranlarına bağlı olarak farklı özellikte türlerde elde edilmektedir. Bozunma süreleri yeni doku oluşumunu sağlamak için yeterlidir. PLGA' nın yapısında bulunan ester bağları su içerisinde hidroliz olmaktadır. 50/50 oranındaki poli (laktid-ko-glikolid) (PLGA) yaklaşık olarak 1-2 ay, 75/25 oranındaki PLGA 4-5 ay ve 85/15 oranındaki PLGA 5-6 ayda bozunur (Nair, 2007). Bozunma esnasında asidik ürünler oluşmakta ve bu ürünler doğal metabolik yollarla organizmadan atılmalarına rağmen hastalarda düşük inflamasyon reaksiyonlarına yol açabilmektedir. Düşen pH, polimerin bozunma hızının da artmasına neden olmaktadır (Koç, 2008).

Biyomedikal uygulama için bir başka kopolimer laktid ve ϵ -kaprolakton kopolimerizasyonundan sentezlenen P(LA-CL) 'dir. Kopolimerin degradasyonu iki homopolimerin (PLA ve PCL) arasındadır (Wang, 2009). PLA yarı-kristalin, organik çözücülerde çözünen polimerik bir malzemedir. Hidrolitik de-esterifikasyonu ile laktik asite parçalanır. Ancak, metil gruplarının sterik engellemesinden dolayı PLA' daki ester bağları hidrolize dayanıklıdır (Koç, 2008). PLA' nın, kristalizasyon oranı ve morfolojisi, polimerin mekanik özelliklerini ve biyobozunma hızını güçlü bir şekilde etkilemektedir. Bu nedenle PLA iskele, in-vitro ve in-vivo çalışmalarda, birkaç aya kadar mekanik bütünlüğünü sürdürmektedir (Armentano, 2010).

Diğer doğrusal alifatik polyesterler de (poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) ve poli (hidroksi bütirat) (PHB) gibi) doku mühendisliği araştırmalarında kullanılır. PCL; PLA, PGA ve PLGA' dan önemli ölçüde daha yavaş hızda bozunmaktadırlar. Yavaş bozunma hızı biyomedikal uygulamalar için PCL'yi kullanışsız hale getirir. Ancak uzun vadeli implantlar ve kontrollü ilaç salınım uygulamaları için daha uygundur (Armentano, 2010). Yaygın olarak kullanılan biyobozunur polimerlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2.3 'de listelenmiştir.

Çizelge 2.3. Yapı iskeleleri olarak sıkça kullanılan biyobozunur polimerlerin fiziksel özellikleri (Liang, 2007, Armentano, 2010)

Polimer	Erime Sıcaklığı (°C)	Camsı Geçiş Sıcaklığı (°C)	Gerilme Modülü (GPa)	Bozunma süresi (ay)	Kullanılan Çözücü	Polimer Birim Yapısı
Poli (laktik asit) (PLA)	173-178	60-65	1,5-2,7	>24	Kloroform Dioksan Diklorometan Etilasetat Aseton Tetrahidrofuran Hegzafluoro- isopropanol	$\left[\text{O}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} \right]_n$
Poliglikolid asit (PGA)	225-230	35-40	5-7	6-12	Hegzafluoro- isopropanol Aseton Diklorometan Kloroform	$\left[\text{O}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} \right]_n$
Poli (ε-kaprolakton) (PCL)	58-63	-60	0,4-0,6	>24	Kloroform Hegzafluoro- isopropanol Diklorometan Toluen	$\text{---O---} \left[\text{CH}_2 \right]_n \text{---C---}$
Poli-laktid- ko-glikolid PLGA	Amorf	50-55	1,4-2,8	1-2	Kloroform Diklorometan Etilasetat Aseton Tetrahidrofuran Hegzafluoro- isopropanol	$\left[\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O} \right]_x \left[\text{---O---C---} \right]_y$

2.2.3. Kompozit yapı polimerler

Polimer karışımları; kopolimerler gibi bir kimyasal yapıya uymak zorunda olmadıklarından, avantajlıdır. Bu nedenle nanofiber mat üretiminde polimer karışımlar tercih edilmektedir. Özellikle biyofonksiyonel polimerlerin, kimyasal monomerlerini değiştirmek zor olduğundan bu alanda kullanımları yaygındır. Örneğin kollajen ve elastin karışımından oluşan kompozit nanofiberler üretilmiştir (Boland, 2004). Kompozit liflerden oluşan iskelelerde vasküler dokular gelişebilir. Elektroçekim ile üretilen polikaprolakton (PCL)/kollajen nanofiber ağlar hücre yapışması, çoğalma ve farklılaşmasını destekleyebilen ve hücre sıralamasına olanak sağlayan tek yönlü lif yönelimi gösterirler.

Polimer/inorganik hibridler; kompozit yapı polimerlere bir örnek teşkil etmektedir. Seramik ve biyopolimerlerin kompozitlerinden elektroçekim ile üretilen nanofiberler ortaya konmuştur (Jeong, 2008). Hidroksiapatit (HA), kemiğin önemli bir

bileşeni olan ve yaygın olarak kullanılan biyoseramiklerin bir türüdür. HA kemik oluşumunda bütünleyici olarak kullanılabilir ve HA implantlar yüksek medikal mukavemet ve iyi biyouyumluluk sergilerler. Polimer/inorganik kompozit yapıdaki nanofiberler, PLA ve HA' nın elektroçekimiyle üretilmiştir. SEM analizi; HA' nın ilavesinin genel morfolojiyi değiştirmedini, yüksek gözenek hacmi elde edildiğini ve birbirine bağlı gözenekler ile düz nanofiberler oluştuğunu göstermiştir. Nanofiber yapıları PLA/HA iskelede, HA' nın mekanik gücünün avantajları, elektroçekimin nanometre ölçeği ve kemik dokunun oluşumu için osteoblast (kemik hücresinin öncülü olan olgunlaşmamış hücre çeşidi) kültürün çoğalmasına uygun bir alt tabaka olması gibi birçok avantajın bir araya getirilmesini sağlamıştır (Wang, 2009).

2.3. Doku İskelelerinden Uygulama Alanına Göre Beklenen Özellikler

Doku iskeleleri gerek gözeneklilik yapısı, gerekse de bozunma özellikleri yönüyle üzerinde gelişmesi arzu edilen dokuya göre farklılık göstermesi istenir.

Kan damarları; boyutları, mekanik ve biyokimyasal özellikleri, hücresel içerik ve ultra-yapısal organizasyonu, konumlarına ve beklenen işleve bağlı olarak değişir (Lin, 2011). Damar uygulamaları için geliştirilmiş bir doku iskelesi; çökmemeli ve insan arterlerinin (atardamar) mekanik özelliklerine (pik gerilmesi $> 1,5 \pm 0,5$ MPa, elastik modül $> 11 \pm 1,5$ MPa ve kopma uzaması $> 0,7 \pm 0,1$ mm.mm⁻¹) yakın olmalıdır (Goonoo, 2013). Yapay kan damarları için yapılan doku mühendisliği çalışmalarında, küçük çaplı kan damarlarının kullanımının daha efektif sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Biyobozunur polimerlerden üretilen ve atardamar yerine kullanılacak yapay damarlar, gerekli mekanik dayanımı sağlayabilmektedirler. Doğal kan damarlarının orta katmanında düz kas hücreleri ve kollajen fibrillerin oldukça düzenli çevresel bir oryantasyonu söz konusudur. Bu sayede kan basıncına karşı gerekli mekanik dayanımı sergileyebilmektedirler (Goonoo, 2013, Vaz, 2005). Aynı zamanda doğal kan damarlarının iç yüzeyini kaplayan endotel hücrelerin oluşturduğu bir intima (kan damarının iç tabakası) tabakası mevcuttur. Bu iki tabaka arasında kan damarlarına elastikiyet özelliklerini kazandıran, elastinden oluşan esnek bir ara katman bulunmaktadır. Bir kan damarının morfoloji ve mekanik özelliklerini biyobenzetim ile elde etmek adına, elektroçekim yöntemi kullanılarak doku iskelesi dönen bir toplayıcı üzerinde oluşturulmuştur (Vaz, 2005). Elektroçekim ile üretilen nano matların vasküler düz kas hücrelerinin büyümeleri esnasında iyi bir destek verdiği bilinmektedir (Lin, 2011).

Kemik doku mühendisliği için tasarlanmış doku iskeleleri; iskele içine kemik hücre göçünü teşvik etmeli ve sonrasında sentetik doku iskelesinde osteojenik farklılaşmayı desteklemeli ve kolaylaştırmalıdır (Goonoo, 2013). Biyobozunur polimer - inorganik biyo-aktif faz kompozitleri, kemik rejenerasyonundaki uygulamalarda; farklı biyo-aktif davranış, ayarlanabilir biyobozunma kinetikleri ve uygun mekanik özellikler gösterirler. Ayrıca, kemik ve kırıkta rejenerasyonu lehine biyo-aktif moleküllerin biyobozunur doku iskelesi içine katılması olumlu sonuçlar vermektedir. Doku iskelelerinin morfolojik özellikleri de doku rejenerasyonu için önemlidir (Puppi, 2010). Doku iskeleleri, kemik doku hücrelerinin doku iskelesi içinde büyümesini ve damarlanmasını sağlaması için gözenekli bir yapıda olmalıdır. Doku iskelelerinde gözeneklilik derecesi mekanik dayanımı etkiler. Bu nedenle hedef kemik hücrelerine göre uygun seviyede olmalıdır (Goonoo, 2013).

Üç boyutlu doku iskelelerinin besin maddelerinin akışını ya da difüzyonunu destekleyecek, hücre göçüne izin verecek şekilde içsel bağlantılı açık gözeneklere ve yüksek gözeneklilik oranına ($\% > 40-60$) sahip olmaları gerekmektedir (Durukan, 2012). Gözenekliliğin artmasıyla mekanik mukavemet azalmaktadır. Bu nedenle; yük taşıyan dokular için doku iskelelerinde hem hücrelerin çok sayıda konaklamasını sağlayacak gerekli hacim oluşturulmalı hem de gerekli olan yapısal mukavemetin elde edilmesi gereklidir. Doku iskelesinde uygun bir yüzey gözenekliliği olduğunda; doku iskelesi ve onu çevreleyen ana doku arasında bir bağ kurularak ara yüzde gerekli mekanik stabilite sağlanır. İn-vitro kemik doku rejenerasyonuna dair bazı araştırmalarda 200-400 μm arasında değişen gözenek boyutuna ihtiyaç olduğu belirtilmiştir. Gözenek çapı çok küçük olduğu zaman, hücreler gözeneklerin tıkanmasına neden olabilir ve yapı iskelesine hücresel nüfuzu önleyebilir (Puppi, 2010). Kemik rejenerasyonunun amaçlandığı çalışmalarda kullanılan doku iskelelerinin fiziksel özelliklerini en az 6 ay korumaları gerekmektedir. Ardından doku iskelesinin, metabolik yollarla vücuttan uzaklaştırılabilecek bozunma ürünleri oluşturarak, 12 ile 18 ay arasında bozunması beklenmektedir. Kemik doku mühendisliği uygulamalarında, metaller, seramikler, polimerler (doğal ve sentetik) ve bunların birleşiminden oluşan kompozit malzemeler kullanılmaktadır (Durukan, 2012).

3. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Li ve arkadaşları (2002), çalışmalarında elektroçekim işlemi ile üretilen süper ince liflerden oluşan homojen ve üç boyutlu bir yapıyı tanımlamışlardır. Nanofiber tabanlı doku iskeleleri gözenek boyutu dağılımı, yüksek porozite, yüksek yüzey alanı ve hücre yapışması, büyümesi ve çoğalması için istenilen parametrelere göre karakterize edilmiştir. Elde edilen yapıların, deri ve kıkırdak gibi yumuşak dokular için uygun mekanik özellikler sağladığı belirtilmiştir. Bu çalışma, doku mühendisliği uygulamalarında elektroçekimi yapılan nanofiberlerin optimizasyonu için bir temel sağlar. Kıkırdak gibi belirli bir dokunun yerine geçen bu doku iskelelerinin üretimi gelecekteki araştırmalarına ışık tutmuştur (Li, 2002).

Zong ve arkadaşları (2003), çalışmalarında mikroyapı, morfoloji ve elektroçekimi yapılan poli(glikolid-ko-laktid) (GA/LA) yüzeylerin mekanik özellikleri ve bozunması germe-çekme sonrası ve termal işlemler sonrası incelenmiştir. Hazırlanan elektroçekimi yapılmış PLAGA yüzeyler düşük bir kristalinite sergilemiştir. Çekim olmadan yüksek sıcaklıklarda tavlandığında yüzeyler yüksek kristalinite derecesi ve farklı katmanlı yapı göstermiştir. Kristal oryantasyon, yüzey germe çekmeye maruz bırakıldığında ve tavlandığında önemli ölçüde gelişmiştir. Uzama oranı arttıkça oryantasyon derecesi ve gerilme direnci artmıştır. Germe-çekme yapılmış ve tavlanmış yüzeyler inkübasyonun başında daha düşük bozunma oranı sergilemiştir. Fakat iki haftadan sonra ard işlem uygulanmamış yüzeylere kıyasla daha hızlı bozunduğu görülmüştür (Zong, 2003).

Chen ve arkadaşları (2003), çalışmalarında 200µm ve 8 mm arasında ayarlanabilir kalınlıkta eklem kıkırdak doku mühendisliği için kullanılabilen kompozit ağsı doku iskelelerinin bir türü geliştirmişlerdir. Kompozit yapı; mekanik özellikleri bakımından güçlü poli(laktik-ko-glikolikasit)' in ağ görünümlü kollajen mikrosüngerlere birleştirildiği eşsiz bir yapıdır. Ağ görünümlü kollajen mikrosüngerler hücre ekimi, hücre dağılımı ve doku oluşumuna olanak sağlarken poli(laktik-ko-glikolikasit) bileşeni kompozit yapı doku iskelesinin güçlendiricisi olarak görülmektedir (Chen, 2003).

Vaz ve arkadaşları (2005), çalışmalarında kan damarının morfolojik ve mekaniksel özelliklerini taklit edebilen bir doku iskele yapısını geliştirmeyi amaçlamışlardır. Ardışık çok katmanlı elektroçekim işlemi gerçekleştirilmiş ve yüzey, dönen bir toplayıcı üzerinde oluşturulmuştur. Çift katmanlı boru şeklindeki doku iskelesi, sert ve yönlendirilmiş PLA dıştan

lifli tabaka ve bükülebilir, rastgele yönlenmiş PCL lifli iç tabaka (PLA/PCL) üretilmiştir. Farklı tabakaların lif hizalanma derecesi üzerindeki kontrol, toplayıcının dönüş hızı ile başarılmıştır. Hücrelerin yapışması, çoğalması ve göç etmesini desteklemek doku iskelelerinin yeteneklerini değerlendirmek için 3T3 fare fibroblastlar ve insan venöz miyofibroblastlar (HVS) kültüre edilmiş, genişletilmiş ve üretilen doku iskelelerine ekilmiştir. Bulgular lif oryantasyonu üzerine kontrol ve katman-katman işlemi yoluyla hiyerarşik bir organizasyon ile doku iskelelerini tasarlamak için çok katmanlı elektroçekimin uygulanabilirliğini ortaya konmuştur. Elde edilen doku iskeleleri, istenilen bükülebilirlik düzeyinde (%10 gerilmeye kadar elastik) başarılmıştır. Üretilen doku iskelelerinin hücre büyüme ve çoğalmasını geliştirme yeteneği olduğu ispatlanmıştır (Vaz, 2005).

Williamson ve arkadaşları (2006), çalışmalarında küçük çaplı damar doku nakilleri için endotelial hücrelerin güçlü şekilde yapışmasını sağlayan uyumlu PCL-PU kompozit doku iskeleleri üretmişlerdir. Kompozit doku iskelelerinin luminal yüzeyini oluşturan PCL lifleri ıslak eğirmeyle, daha sonra damar duvarını temsil eden gözenekli poliüretan (PU) PCL liflerinin arkasına elektroçekim ile üretilmiştir. İnsan endotelial hücreleri, kompozit doku iskelesine güçlü bir yapışma göstermiştir. Doku iskelesinin luminal PCL yüzeyi tek katmanlı stabil fonksiyonel endotelial hücrelerin (EC) oluşumunu desteklemiştir. Biyoaktif moleküllerin kontrollü salınımı ile kombine edilen bu kompozit doku iskele yapının damar doku mühendisliği için uygun bir yapı olduğu belirlenmiştir (Williamson, 2006).

Wu ve arkadaşları (2007), çalışmalarında kollajen ile poli-laktik glikolik asit (PLGA) bileşenlerinden oluşan ağ yapılı mat ile trake dokunun oluşturulmasını amaçlamışlardır. Kollajen çözeltisi ile kaplı PLGA lifleri oluşturulmuş ve insan trakeasının şablonunda üretilmiştir. Ardından kurutma ve çapraz bağlama işlemi yapılmıştır. Trakeal halkayı oluşturmak için biyouyumlu yapıstırıcı olarak PLA çözeltisi yerine kollajen çözeltisi kullanılmıştır. Sonuçlar; iç destek olmadan kollajen ile PLGA ağ yapılı mat ve kondrosit kullanılması ile trakea dokunun başarılı bir şekilde oluşturulabildiğini göstermiştir. Bu çalışmada, kimyasal çapraz bağlama yöntemlerinin toksikolojik etkisi göz önüne alınarak ultraviyole ışın ile bağlama yapılmıştır. Çapraz bağlama işleminden sonra liflerin yüzeyindeki kollajen kaplamanın, lifin yüzeyini değiştirmeden doku iskelesinin mekanik özelliklerini geliştirdiği, implantasyondan sonra doku iskelesinin deformasyona

karşı direnç sağladığı ve bir iç desteğe gerek kalmadığı görülmüştür. SEM görüntüleri; doku iskelesinin ağısı lif yapısı üzerindeki hücre yapışmasının ve yayılmasının iyi olduğunu göstermiştir (Wu, 2007).

Jeong ve arkadaşları (2007), çalışmalarında kollajen ve PLGA liflerinden boru şeklinde doku iskeleleri üretmişlerdir. Damar doku nakilleri için önerilen bu yapılar, dondurarak kurutma ve elektroçekim yöntemiyle elde edilmiştir. Gözenekli boru şeklinde kollajen doku iskelesinin yüzeyi üzerinde elektroçekim işlemi ile oluşturulan lifli PLGA tabakası, hem kuru hem de ıslak durumda kollajen yapının mekanik dayanımını geliştirmiştir. Düz kas hücreleri (SMCs) ve endotelyal hücreler (ECs) kültürlenmiş kollajen/PLGA doku iskeleleri, hücreler ile ekilmemiş kollajen/PLGA doku iskelelerine benzer mekanik özellikler sergilemiştir (Jeong, 2007).

Schneider ve arkadaşları (2008), çalışmalarında elektroçekimi yapılan, poli(laktid-ko-glikolid) (PLGA) / amorf trikalsiyum fosfat (ATCP) nanokompozitin in vitro biyomedikal performansını değerlendirmiştir. İn vitro biyomineralizasyon sayesinde insan mezenkimal hücreler ile hücre kültürü çalışması için bir kemik doku nakli denenmiştir. Elde edilen nanokompozit yapıdaki doku iskelelerin üzerine ekilmiş insan mezenkimal hücreler morfolojik değişimler göstermemiştir ve in vitro çoğalma, saf PLGA doku iskeleleri ile karşılaştırıldığında değişmemiştir (Schneider, 2008).

Choi ve arkadaşları (2008), çalışmalarında implante edilebilir tasarlanmış kas için doku iskele sistemi olarak elektroçekim ile poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) / kollajen esaslı nanofiberlerin uygulanabilirliğini incelemiştir. Elektroçekimi yapılan nanofiberlerin, iskelet kas hücrelerine morfojeniz kılavuz olup olmadığı ve hücre organizasyonu geliştirip geliştirmediği araştırılmıştır. Farklı lif oryantasyonlarında PCL ve kollajen karışımı nanofiberler elektroçekim işlemiyle üretilmiştir. İnsan iskelet kas hücreleri elektroçekimi yapılan PCL/kollajen nanofiber ağları üzerine ekilmiş ve hücre yapışması, çoğalması ve dizilimi analiz edilmiştir. Sonuçlar; tek yönlü dizilmiş nanofiberler üzerindeki kas hücreleri sıralaması ve miyotüb oluşumu, rastgele hizalanmış nanofiberler ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde desteklediği belirlenmiştir (Choi, 2008).

Jose ve arkadaşları (2009), çalışmalarında Poli(D,L-laktid-ko-glikolid) (PLGA) ve nano-hidroksiapatit (nano-HA) nanofiber yapıları doku iskeleleri kemik doku mühendisliği için elektroçekim işlemiyle üretilmiştir. Düşük konsantrasyonda HA içeren çözeltilerde

aglomerasyon olmadığı ve bu sayede düzgün bir nanofiber dağılımının başarıldığı belirtilmiştir. Fakat HA'nın daha yüksek konsantrasyonları, nanofiber çaplarında artışa sebep olmuştur. Ayrıca, aglomerasyon nedeniyle lif kopuşları gözlenmiştir. Elde edilen doku iskelelerinin camsı geçiş sıcaklığının saf polimere kıyasla düştüğü belirlenmiştir. Ancak iyi yayılmış nano boyuttaki HA partiküllerin varlığının bu düşüşü bir miktar önlediği ifade edilmiştir (Jose, 2009).

Ju ve arkadaşları (2010), çalışmalarında PCL/kollajenin elektroçekimiyle üretilen damar doku iskelelerini yeterli yapısal destek sağlamak amacıyla tasarlamışlardır. Küçük çaplı gözeneklerin varlığı düz kas hücrelerinin (SMC) ekilmesinin verimliliğini sınırlar, bu hücreler doku iskelesinde yeterli şekilde içeri sızamaz. Bu zorluğun üstesinden gelmek adına yeterli hücrel etkileşimlere olanak sağlamak için farklı gözenek boyutları sağlayan çift katmanlı doku iskele sistemleri geliştirilmiştir. Gözenek boyutu; lif çapındaki artış ile artmaktadır. Bu nedenle, farklı lif çaplarında nanofiber matlar üretilmiştir. Nano ölçekli lifler üzerine ekilmiş endotel hücreler, gelişmiş hücrel oryantasyon ve odaksal yapılaşma göstermiştir. Buna karşılık daha büyük lif çapı üretimi doku iskelelerinde SMC infiltrasyonunu geliştirmiştir. Doku iskelesinde bu özelliklerin her ikisini birleştirmek için çift katmanlı yapılar üretilmiştir. Çift katmanlı doku iskeleleri lümen üzerindeki EC yapılaşmasına ve dış tabakada SMC infiltrasyonuna olanak verir. Bu çalışma gelişmiş damar oluşumuna yol gösterebilir (Ju, 2010).

Xu ve arkadaşları (2012), çalışmalarında damar stentlerde kullanılmak üzere elektroçekim yöntemiyle Poli (laktid- ϵ -kaprolakton)/kollajen/nano-hidroksiapatit (PLCL/Col/nHA)'ten mat üretmişlerdir. Yüzey morfolojisi ve kopma dayanımı ölçülmüştür. Stentlerin anti-pıhtılaşma özellikleri değerlendirilmiştir. Ayrıca PLCL/Col/nHA damar stentler üzerinde PLGA-PCL-nHA doku iskeleleri oluşturularak nano kompozit yapı elde edilmiştir. Sonuçlar; PLCL/Col/nHA stentlerin ve PLGA-PCL-nHA nano kompozit yapıların yüzey yapısının, mekanik özelliklerinin ve biyouyumluluğunun iyi olduğunu göstermiştir. Bu yapıların kemik rejenerasyonuna kılavuzluk edebileceği belirtilmiştir (Xu, 2012).

Meng ve arkadaşları (2013), çalışmalarında konsantre yapay beden sıvısı metodu, aşırı doygun kalsitleşme çözeltisi metodu ve değişken sıvıya daldırma metodu ile kemik doku tasarlanmış yapılar üretmek için nanofiberlerin yüzeyi üzerine kalsiyum fosfat apatit kaplama depolama yoluyla mineralleştirilmiş poli(D,L-laktid-ko-glikolid) (PLGA) ve

PLGA/jelatin elektroçekimi yapılan nanofiberler hazırlamışlardır. Kalsiyum fosfat apatitin büyük bir miktarı dikalsiyum fosfat dihidrat (DCPD)' den oluşmuştur, hidroksiapatit (HA) ve oktakalsiyum fosfat 3 mineralleşme yoluyla kısa zamanda nanofiberlerin yüzeyi üzerinde depolanmıştır. Kalsiyum fosfatın daha büyük bir miktarı PLGA nanofiberlerinden ziyade PLGA/jelatin nanofiberlerinin yüzeyi üzerinde depolanmıştır. Hücre kültürü çalışmaları morfolojisinin farklı olduğunu ve kalsiyum fosfat apatit bileşenlerinin hücre yapışması, çoğalması ve aktivitesi üzerinde çok etki göstermediği görülmüştür (Meng, 2013).

Farokhi ve arkadaşları (2014), çalışmalarında vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) taşıyıcı sistemleri olarak biyohibrid ipek fibroin/kalsiyum fosfat/PLGA nanokompozit doku iskelelerinin etkinliğini araştırmışlardır. Doku iskeleleri dondurarak kurutma ve elektroçekim yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Doku iskelelerine yakın osteoblast hücrelerinin iyi biyouyumluluğu hücrelerin yapışma, çoğalma ve alkalin fosfataz üretimi ile onaylanmıştır. 28 gün boyunca VEGF' in sürekli salımının sağlandığı ve doku iskelelerinin bir dağıtım sistemi olarak kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Açığa çıkan VEGF' in biyoaktivitesi yaklaşık %83 korunmuştur. Histoloji analizi, implantasyondan 10 hafta sonra hasarlı bölgede yeni kemik doku oluşumunun olduğunu göstermiştir. Bu çalışma; üretilen doku iskelelerin kemik doku mühendisliği uygulamaları için etkin bir doku iskelesi olarak değerlendirilebileceğini göstermiştir (Farokhi, 2014).

4. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada iki farklı türde Poli(D,L-Laktid-ko-glikolid) biyobozunur polimer elektroçekim işlemiyle nanofiber yapılı mat eldesinde kullanılmıştır. Seçilen polimerlerde laktid/glikolid oranı 50:50 $[C_3H_4O_2]_x[C_2H_2O_2]_y$ (P2191) ve 65:35 $[C_3H_4O_2]_x[C_2H_2O_2]_y$ (P2066) 'dir. Kullanılan polimerlerin moleküler ağırlıkları; (P2191) ve (P2066) için sırasıyla (30000–60000 ve 40000–75000) aralığındadır. Çözücü olarak Kloroform ($CHCl_3$) (C2432) ve N,N-Dimetilformamid (DMF) (C_3H_7NO) (D158550) kullanılmıştır. Polimerler ve çözücüler Sigma Aldrich' ten satın alınmıştır.

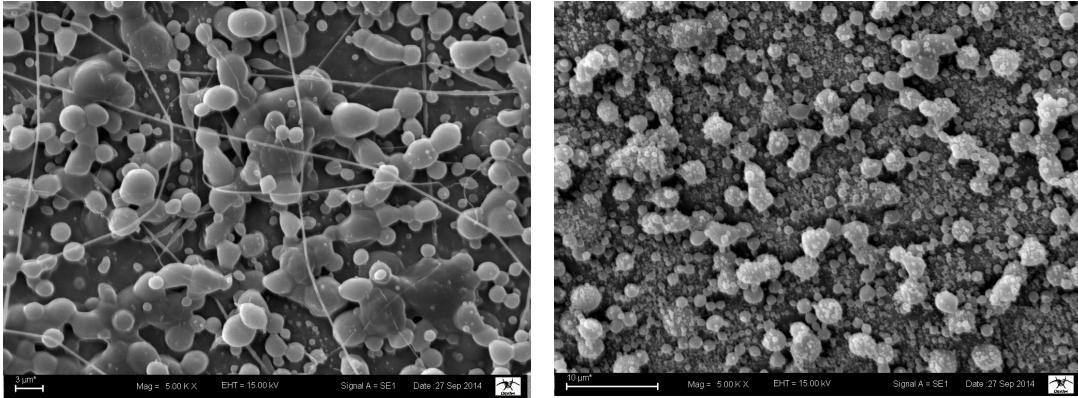
Hücre kültür çalışmalarında kullanılan insan mezenkimal hücreler(hMSC) Lonza' dan satın alınmıştır. Uygun şartlar altında gelen hücreler %1 Penisilin-Streptomisin-Amfoterisin B (PSA), %1 L-glutamin ve %10 Fetal Bovine Serum (FBS) ile desteklenmiş DMEM besi yerinde kültüre alınmıştır. 37⁰C' de %5 CO₂ varlığında üretilmiştir.

4.1 Poli(D,L-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) Doku İskelelerin Hazırlanması

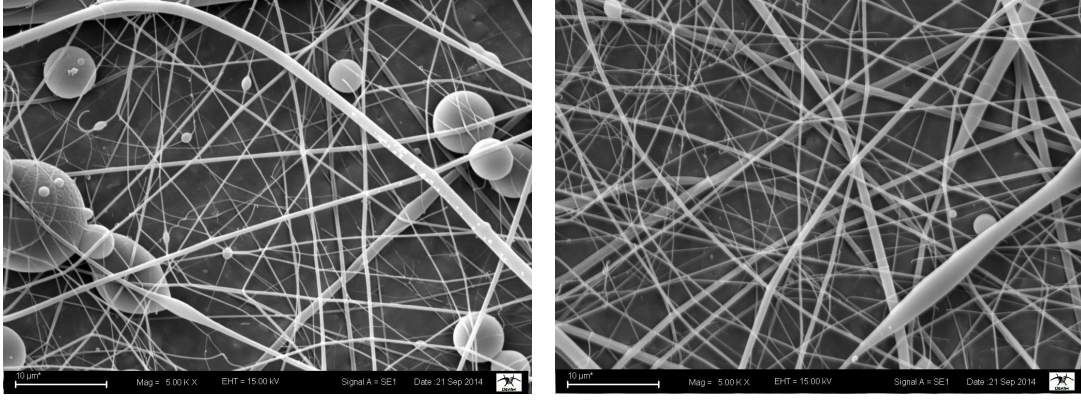
Nanofiber doku iskeleleri elektroçekim yöntemiyle oluşturulmuştur. Kullanılan düzenek Şekil 4.3' de gösterilmiştir. Üretilen numunelerin tamamı ve üretim parametreleri Çizelge 4.2' de gösterilmiştir. Yapılan ön çalışmalar etkin çekim alanının 20 cm'nin üzerinde olduğunu göstermiştir. Bu nedenle üretim parametrelerinde iğne ucu toplayıcı arasındaki mesafe 22,5 ve 25 cm olarak belirlenmiştir. Düşük moleküler ağırlıklı PLGA polimeri DMF çözücüsüyle çalışılabilmiştir. Tüm çalışmalara rağmen yüksek moleküler ağırlıklı (laktid/glikolid oranı 65:35) PLGA-DMF çözeltisinden %15 konsantrasyonda 0,03 ml.sa⁻¹ ve 0,07 ml.sa⁻¹ -24 kV - 22,5 cm çalışma şartlarında düzgün nanofiber bir mat yüzeyi elde edilememiştir (Şekil 4.1). Bu nedenle dielektrik sabiti DMF' e göre daha düşük olan kloroform çözücüsü kullanılarak (Çizelge 4.1) daha kararlı bir iğne ucundan çözelti çıkışının sağlanabileceği düşünülmüş ve molekül ağırlığı yüksek (laktid/glikolid 65:35) PLGA numuneleri kloroformda çözülerek %50-%5 arasındaki konsantrasyonlarda ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.2' de 0,03 ml.sa⁻¹ ve 0,07 ml.sa⁻¹ - 24 kV - 22,5 cm çalışma şartlarında elektroçekim işlemi gerçekleştirilen numuneye ait görüntü sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Bazı çözücülerin dielektrik sabitleri (Çakmak, 2011)

Çözücü	Dielektrik sabiti
2-Propanol	18,3
Asetik Asit	6,15
Aseton	20,7
Asetonitril	35,92 – 37,06
Kloroform	4,8
Diklorometan	8,93
Dimetilformamid	36,71
Etil asetat	6,0
Etanol	24,55
Metanol	32,6
Piridin	12,3
Tetrahidrofur	7,47
Toluen	2,438
Trifloroetanol	27,0
Su	80,2



Şekil 4.1. %15 konsantrasyonda laktid/glikolid oranı (65:35) PLGA-DMF çözeltisinden elde edilen SEM görüntüleri (x5000)



Şekil 4.2. %15 konsantrasyonda laktid/glikolid oranı (65:35) PLGA-kloroform çözeltisinden elde edilen SEM görüntüleri (x5000)

Yapılan ön çalışmalarda nanofiber yapı elde etmek için PLGA(50:50)-DMF çözeltisinde besleme oranının 0,05 ml/sa.' ten daha az, PLGA(65:35)-Kloroform çözeltisi için ise besleme oranının 0,07 ml/sa.' ten daha az olması gerektiği göstermiştir. Besleme oranlarında üç seviye kullanılmıştır. Elektrik alan ile lif çekimindeki toplam süre, her numune için şırıngadan eşit malzeme akışını sağlayacak şekilde belirlenmiştir.

İdeal konsantrasyon değerleri birçok ön deneme sonucunda PLGA(50:50)-DMF çözeltisi için kütlece %33 olarak, PLGA(65:35)-Kloroform çözeltisi için ise kütlece %10 olarak belirlenmiştir. Moleküler ağırlıkları göz önüne alındığında bu beklenen bir sonuçtur. Yapılan ön çalışmalarda da benzer durum SEM analizlerinde tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Sisteme uygulanan gerilim değerleri de yine ön çalışmalar sonucunda PLGA(50:50)-DMF çözeltisi ve PLGA(65:35)-Kloroform çözeltisi için sırasıyla 20 kV ve 24 kV olarak seçilmiştir. Moleküler ağırlığa ve kullanılan konsantrasyonlara bağlı olarak PLGA(65:35)-Kloroform çözeltilerinde 20 kV' un nanofiber oluşumu için yeterli olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 4.3. Çalışmada kullanılan elektroçekim düzeneği

Çizelge 4.2. Elektroçekim yöntemi ile üretilen numuneler ve üretim parametreleri

Numune	Polimer	Çözücü	Konsantrasyon (%)	Mesafe (cm)	Besleme oranı (ml.sa. ⁻¹)	Gerilim (kV)	Süre (saat)
P1	PLGA (50:50)	DMF	33	22,5	0,02	20	20sa.
P2					0,03		13sa.20dk.
P3					0,04		10sa.
P4				25	0,02		20sa.
P5					0,03		13sa. 20dk.
P6					0,04		10sa.
P7	PLGA (65:35)	Kloroform	10	22,5	0,03	24	10sa.
P8					0,04		7sa. 30dk.
P9					0,05		6sa.
P10				25	0,03		10sa.
P11					0,04		7sa. 30dk.
P12					0,05		6sa.

4.2. Nanofiber Yapılı Doku İskelelerin Karakterizasyonu

Nanofiber yapılı doku iskelelerinin morfolojisini anlamak ve kalınlığını belirlemek için taramalı elektron mikroskop (SEM) analizleri yapılmıştır. SEM analizleri Carl Zeiss Evo LS10 tipi SEM cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.4). SEM analizi öncesinde numuneler standart alüminyum yuvalara yerleştirilip ve ince bir iletken altın tabaka ile kaplanmıştır.

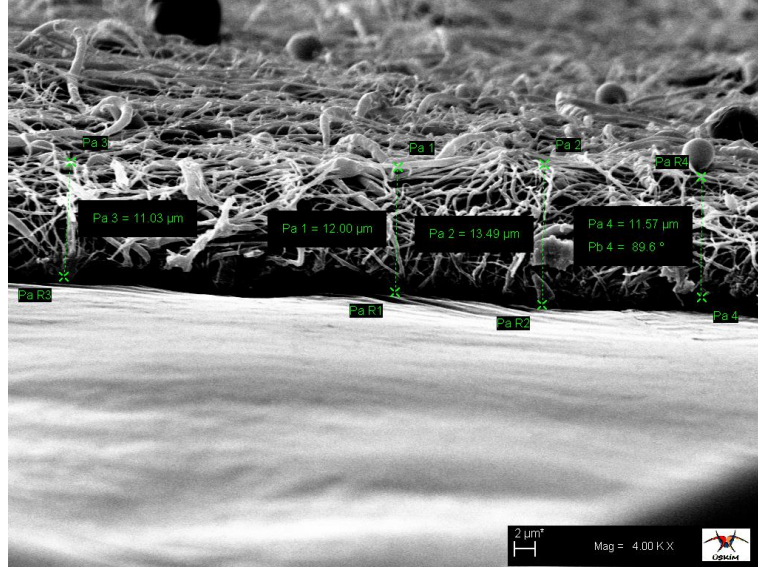


Şekil 4.4. Carl Zeiss Evo LS10 taramalı elektron mikroskobu

Numunelerin kopma dayanımı, kopma uzaması ve Young modülü ASTM-D 638 standardına göre, 25 mm çene mesafesi, 50 mm.dk.⁻¹ çene hızında ve 25N yük hücresi kullanılmak suretiyle Zwick-Roell BT-1 universal test makinesinde ölçülmüştür (Şekil 4.5). Testler her numune için 3 kez tekrarlanmıştır ve sonuçlar nanofiber yapılı matların gerilme-uzama ilişkisini belirlemek için kullanılmıştır. Numuneler 20±2 °C ve % 65 bağıl nemde kondüsyonlanarak gerçekleştirilmiştir. Numunelerin genişliği 5 mm olacak şekilde hazırlanmış ve kalınlığı SEM kesit görüntülerinden tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.5. Zwick-Roell BT-1 Üniversal çekme dayanımı test cihazı



Şekil 4.6. Numunelerin kalınlıklarının SEM kesit görüntüsü üzerinden belirlenmesi

Gerilme değerleri ve buna bağlı olarak elastik modül değerleri, numunelerin kesitleri pürüzsüz dikdörtgen kabul edilerek Eşitlik 4.1' e göre hesaplanmıştır. Kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri elde edilmiştir. Elde edilen gerilme uzama eğrilerinin elastik deformasyon bölgesinden Young Modül değerleri tespit edilmiştir. (Şekil 4.7).

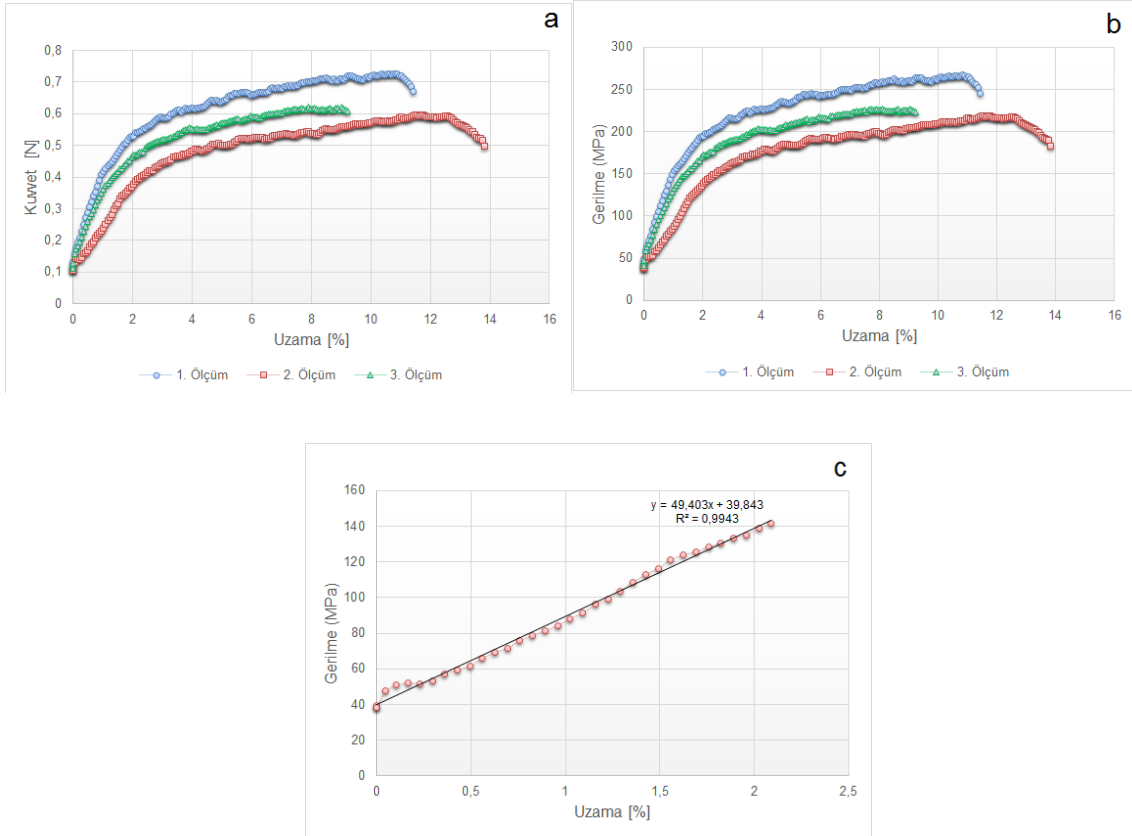
$$\text{Bu denklem } \sigma = F / A \quad (4.1)$$

şeklinde olup, burada:

σ : Gerilme (Pa)

F: Kuvvet (N)

A: Alan (m^2)' dir.



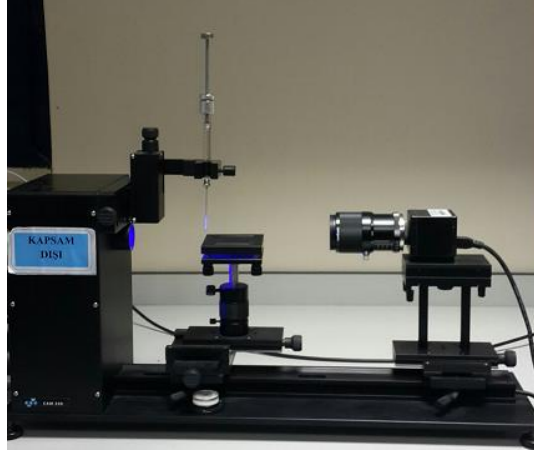
Şekil 4.7. Çekme dayanım sonuçlarından elde edilen kuvvet-uzama grafiği (a), kuvvet değerleri kullanılarak hesaplanan sonuçlardan elde edilen gerilme-uzama grafiği (b) ve her bir ölçüm için yapılan elastik bölgeden Young Modülü'nün tespiti (c).

FT-IR analizleri $4000-450 \text{ cm}^{-1}$ aralığında ve 4 cm^{-1} ayırma duyarlılığında Universal Attenuated Total Reflection (ATR) aksesuarı ile donatılmış PerkinElmer Spektrum 400 FT-IR Spektrometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. PerkinElmer Spektrum 400 FT-IR Spektrofotometre

Üretilen nanofiber matların ıslanabilirliğinin belirlenmesi adına temas açısı ölçümü KSV Cam 200 cihazı yardımıyla gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.9). Numuneler 20 ± 2 °C ve % 65 bağıl nemde 24 saat kondüsyonlanıp ve aynı koşullar altında temas açısı ölçümleri gerçekleştirilmiştir.



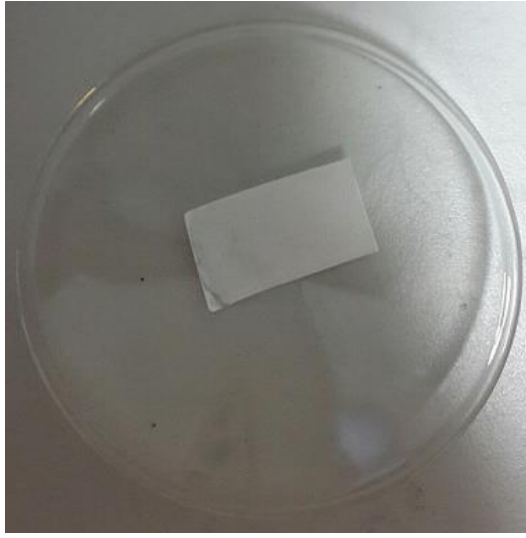
Şekil 4.9. KSV Cam 200 Temas açısı ölçüm cihazı

4.3. Polimerik Doku İskelelerine Hücre Ekimi

Hücre canlılığını değerlendirmek amacı ile günümüzde en yaygın olarak kullanılan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) canlı hücrelerin mitokondriyal dehidrogenazlar tarafından bir tetrazolyum tuzunun bir formazan ürününe çevrilmesi ve ortaya çıkan bu ürünün miktarının spektrofotometrede kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanan hızlı, güvenilir bir yöntemdir. Yaklaşık 1 saat nanofiberler ultraviyole ışığı altında sterilize edilmiştir (Şekil 4.11). Bu amaçla hücreler 6-kuyucuklu plakalara her bir kuyucukta 50.000 kemik iliği kökenli mezenkimal kök hücre (MSCs) olacak şekilde besiyeri ortamında ekilmiştir. 24 saat sonra bir gruba 4 cm^2 büyüklüğündeki PLGA doku iskeleleri konmuş ve kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Plakalar 37°C 'de %5 CO_2 varlığında inkübatöre bırakılıp 72. saatlerde plakalardaki besiyeri ve PLGA uzaklaştırılmıştır. Her kuyucuğa 0,5 mg/ml konsantrasyondaki MTT solüsyonundan eklenip 37°C ' de 4 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda plakadaki her bir kuyucuğa, çözücü olarak 100 μl dimetil sülfoksit (DMSO) ilave edilmiştir. 490 nm dalga boyunda her bir kuyucuğun absorbans değeri (OD), (ELx800-BioTek)' de spektrofotometre kullanılarak okunmuştur (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. ELx800-BioTek spektrofotometre

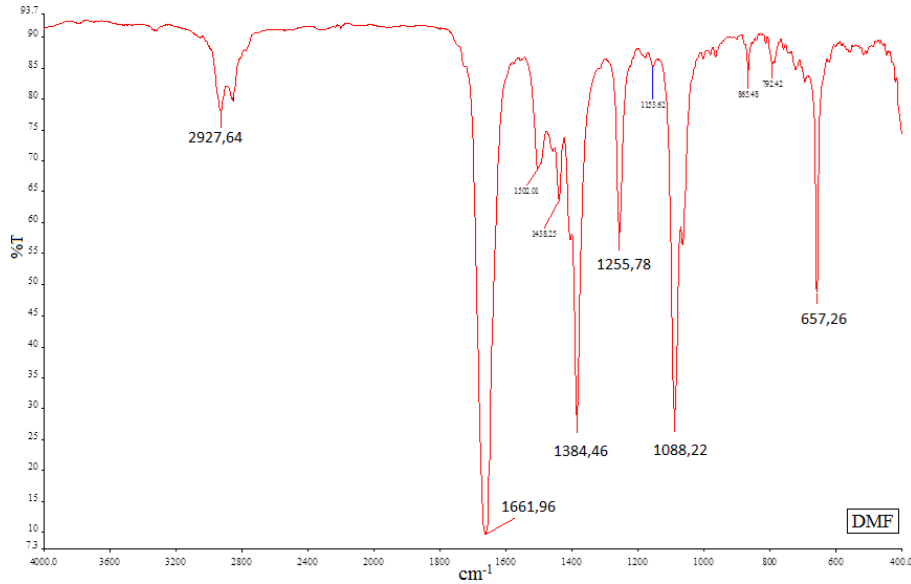


Şekil 4.11 Hücre kültürü ekimi için hazırlanan bir PLGA nanofiber numunesi

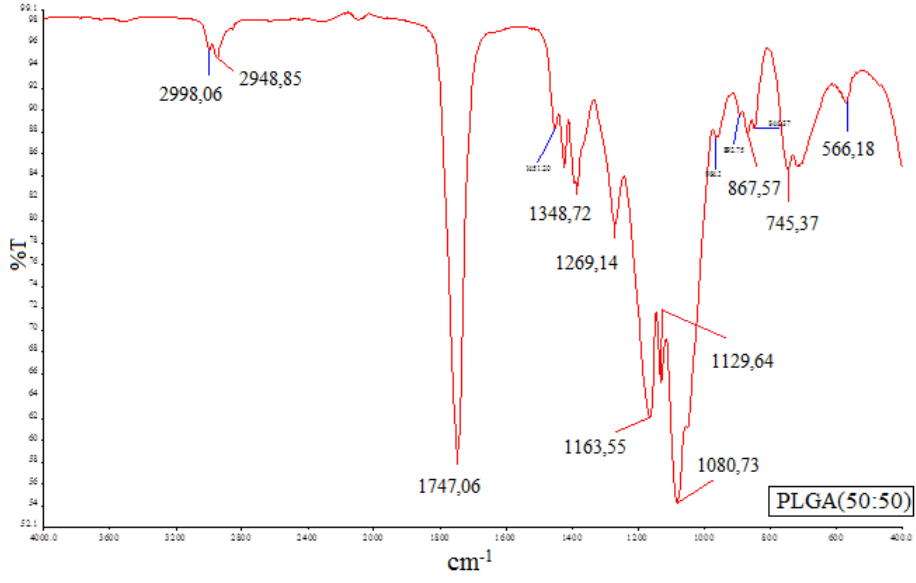
5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. FT-IR Analizleri

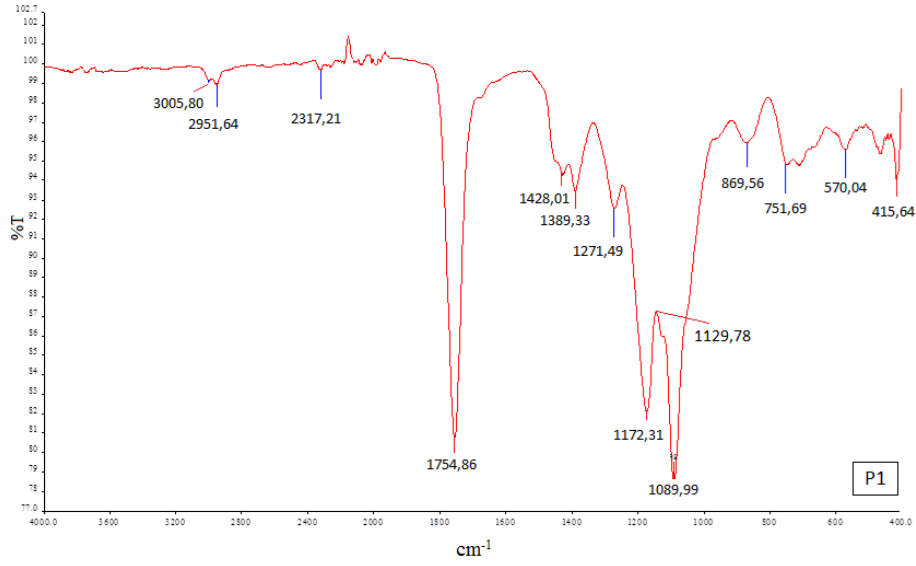
Belirli bir polimer kullanılarak üretilen numunelerde, sadece elektroçekim şartları değiştiği için her bir numuneye ait FT-IR grafiği verilmesine gerek duyulmamıştır. Üretilen doku iskelelerin bütün FT-IR spektrumlarında benzer pikler gözlenmiştir. Saf laktid/glikolid (50:50-65:35) (PLGA) ve tüm elektroçekim ile üretilen doku iskelelerinde 1747 cm^{-1} ' de ester karbonil gerilimi (C=O), 1129 cm^{-1} ' de C–O gerilme titreşimi ve 1081 cm^{-1} ' de C–O–C grubu tipik bandlar bulunmuştur (Şekil 5.2, 5.3, 5.5, 5.6). 1747 cm^{-1} ' den 1754 cm^{-1} ' e kadar PLGA' nın ester karbonil piklerinde küçük bir değişim ve aynı zamanda daha yüksek bir dalga sayısı PLGA' nın diğer karakteristik piklerinde küçük bir değişim tüm matlarda gözlenmiştir. DMF çözücüsünün FT-IR spektrumu incelendiğinde 1662 cm^{-1} ve 657 cm^{-1} dalga sayılarında karakteristik pikler görülmektedir (Şekil 5.1). 1662 cm^{-1} karbonil bağına (C=O), 657 cm^{-1} ise C-N bağına denk gelmektedir. Bu çözücü kullanılarak üretilen numunelerin (P1-P6) hiçbirinde bu pikler gözlenmemiştir. Bu durum elektroçekim esnasında ve sonrasında DMF' in mat yapıdan tamamen uzaklaştırıldığını göstermektedir (Şekil 5.3).



Şekil 5.1. DMF (C₃H₇NO) çözücüsünün FT-IR spektrumları

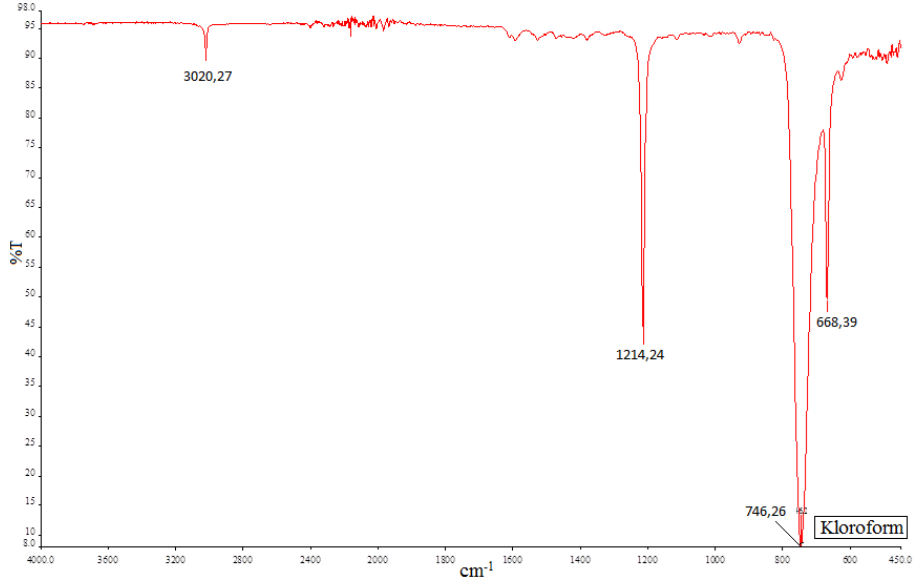


Şekil 5.2. PLGA(50:50) polimerinin FT-IR spektrumları

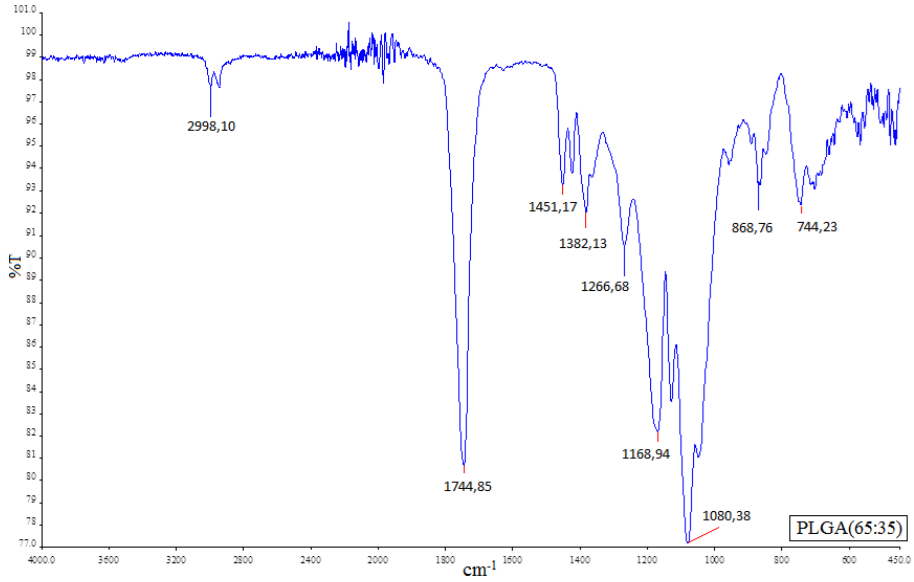


Şekil 5.3. P1 numunesine ait FT-IR spektrumları

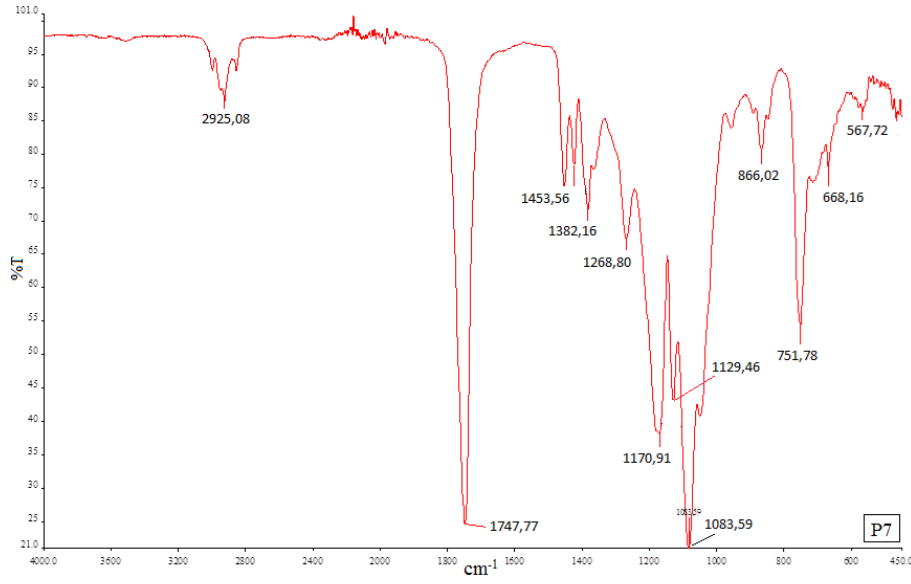
Kloroform çözücüsünün karakteristik pikleri olan 4 temel pik değeri 3020 cm^{-1} , 1214 cm^{-1} , 746 cm^{-1} , 668 cm^{-1} dalga sayılarında tespit edilmiştir (Şekil 5.4). Yüksek moleküler ağırlıklı PLGA ile üretilen numunelerde (P7-P12) bu karakteristik piklerin kaybolduğu görülmüştür. Bu durum elektroçekim esnasında ve sonrasında kloroformun mat yapıdan tamamen uzaklaştırıldığını göstermektedir (Şekil 5.6).



Şekil 5.4. Kloroform (CHCl₃) çözücüsünün FT-IR spektrumları



Şekil 5.5. PLGA(65:35) polimerinin FT-IR spektrumları



Şekil 5.6. P7 numunesine ait FT-IR spektrumları

5.2. SEM Analizleri

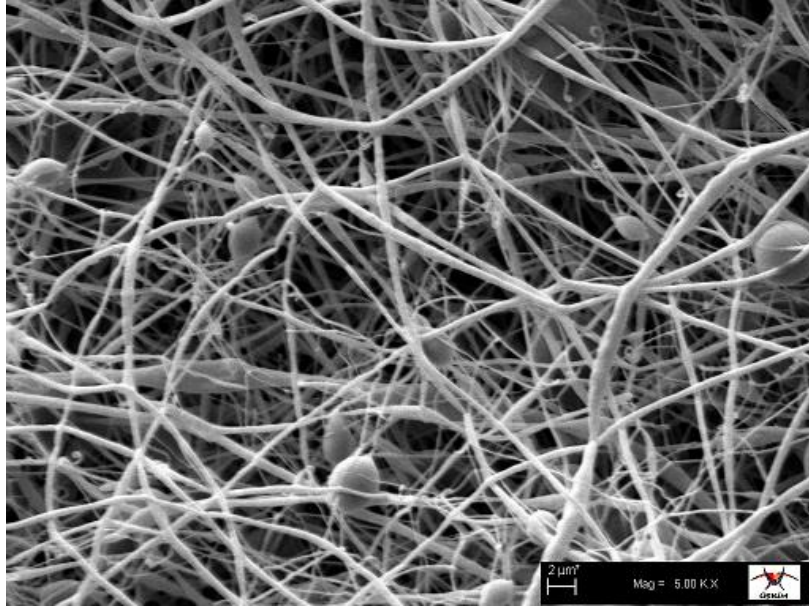
Düşük moleküler ağırlıklı PLGA-DMF çözeltisinden elde edilen numunelere ait SEM analizleri incelendiğinde; şırıngadan toplam malzeme çıkışı her numune için aynı olmasına rağmen, besleme oranı ve iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe gibi değişkenlere bağlı olarak nanofiber matların kalınlığı 13,2 μm ' den 113,6 μm ' ye kadar çeşitlilik göstermiştir (Çizelge 5.1). Bu durum toplam karşı plakaya ulaşan malzeme miktarının ve nanofiberin toplandığı alanın oldukça değişken olduğunu ortaya koymaktadır. Ortalama lif çapları Çizelge 5.1' de verilmiştir. İğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin lif çapı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu açıktır. İğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin 22,5 cm olduğu P1, P2 ve P3 numunelerinde ortalama nanofiber çapları sırasıyla 668 nm, 560 nm ve 230 nm olarak ölçülmüştür. İğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin 25 cm olduğu P4, P5 ve P6 numunelerinde ise ortalama nanofiber çapları sırasıyla 246 nm, 290 nm ve 188 nm olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar; iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin arttırıldıkça ortalama lif çapının düştüğünü göstermektedir. İğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafeye bağlı olarak P1, P2, P3 ve P4, P5, P6 numuneleri kendi içlerinde kıyaslandığında en düşük ortalama nanofiber çapına sahip numunelerin 0,04 ml/sa. besleme oranlarına sahip olan P3 ve P6 numuneleri olduğu görülmektedir. Bu durum şırıngadan çözelti akışının düzenli olması ile açıklanabilir. İğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin 22,5 cm olduğu numunelerde besleme oranı ve lif çapı arasında bir korelasyon belirlenmiştir. Bu numunelerde lif çapı besleme oranının azaltılması ile azalmıştır. Bu sonuç literatür ile

oldukça uyumludur (Armentano, 2010). Diğer taraftan benzer sonuç iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin 25 cm olduğu numunelerde elde edilememiştir. Ancak bu numunelerde ise besleme oranını arttırdıkça yüzeyde biriktirilen nanofiber matın kalınlığında düzenli bir artış olduğu belirlenmiştir. Tüm bunlar göz önüne alındığında iğne ucu-toplayıcı arasındaki 25 cm mesafenin daha kontrollü bir nanofiber oluşumuna izin verdiği gözlemlenmiştir.

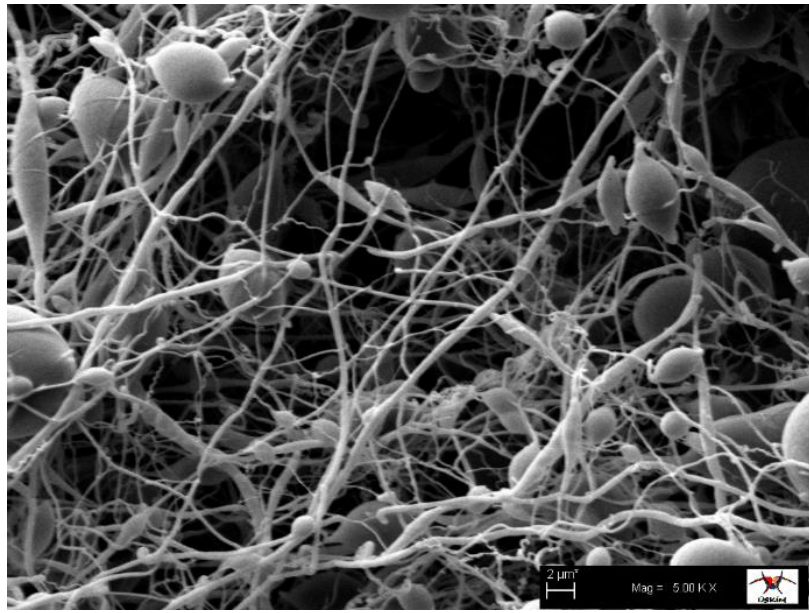
Düşük moleküler ağırlıklı PLGA-DMF çözeltilisinden elde edilen tüm numunelerde boncuk yapılar gözlemlenmiştir (Şekil 5.7-Şekil 5.12). Boncukların yoğunluğu daha düşük besleme oranına sahip (P1 ve P4) numunelerinde diğer numunelere göre daha azdır. Bu durum düşük besleme oranında iğne ucundan çözelti çıkışının daha düzenli olduğunu ve bu sebeple de boncuk yapı oluşumuna neden olan kararsız bir Taylor konisi oluşumunu engellediği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 5.1 Üretilen numunelerin lif çapı ve kalınlık değerleri

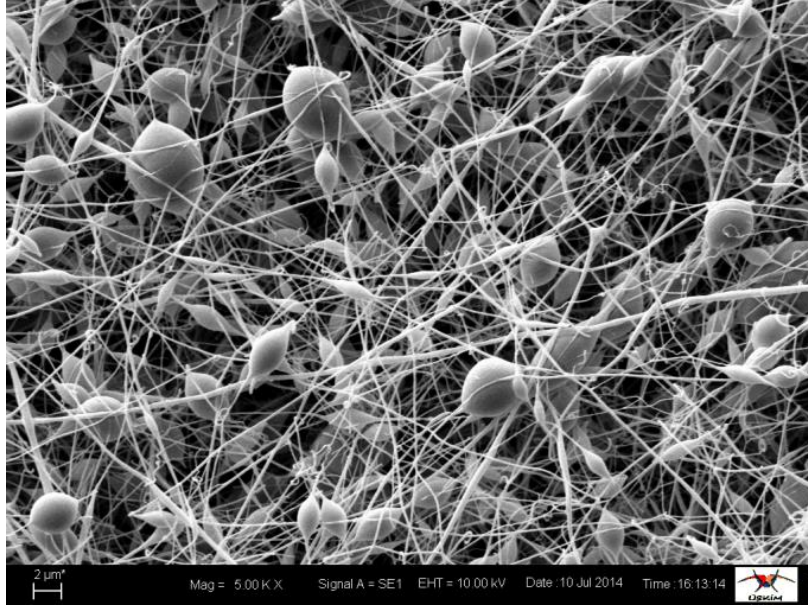
Numune Kodu	Mat kalınlığı (µm)	Ortalama Nanofiber Çapı (nm)	Numune Kodu	Mat kalınlığı (µm)	Min - Maks. Lif Çapları (µm)
P1	54,5	668	P7	84,1	0,8 – 4,2
P2	113,6	560	P8	73,9	0,8 - 5
P3	31,5	230	P9	101,6	0,8 - 5,8
P4	13,2	246	P10	45,9	0,8 – 4,4
P5	19,8	290	P11	145,0	0,8 – 6
P6	30,3	188	P12	112,2	0,8 – 4,5



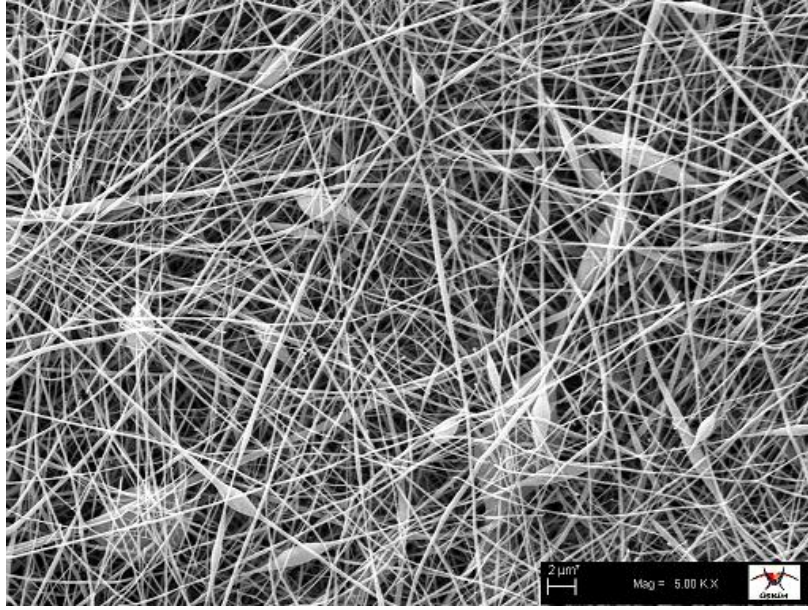
Şekil 5.7. P1 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000)



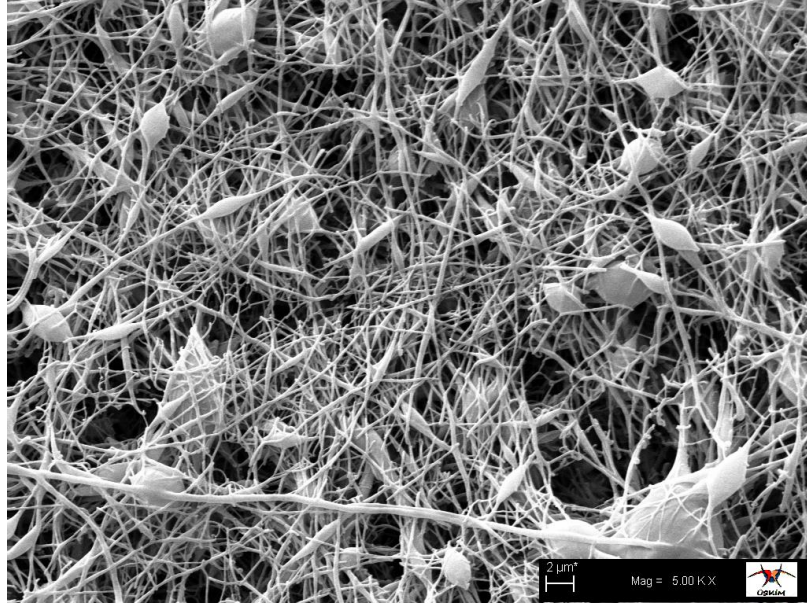
Şekil 5.8. P2 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000)



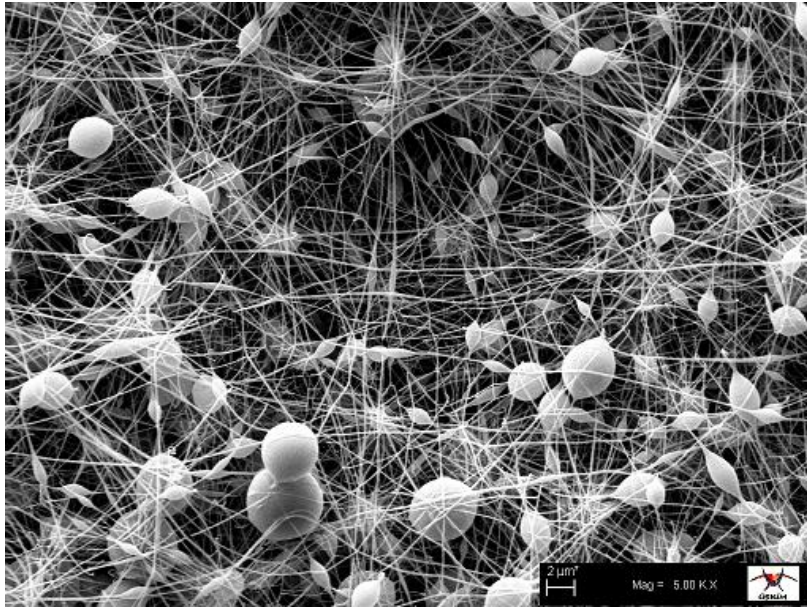
Şekil 5.9. P3 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000)



Şekil 5.10. P4 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000)



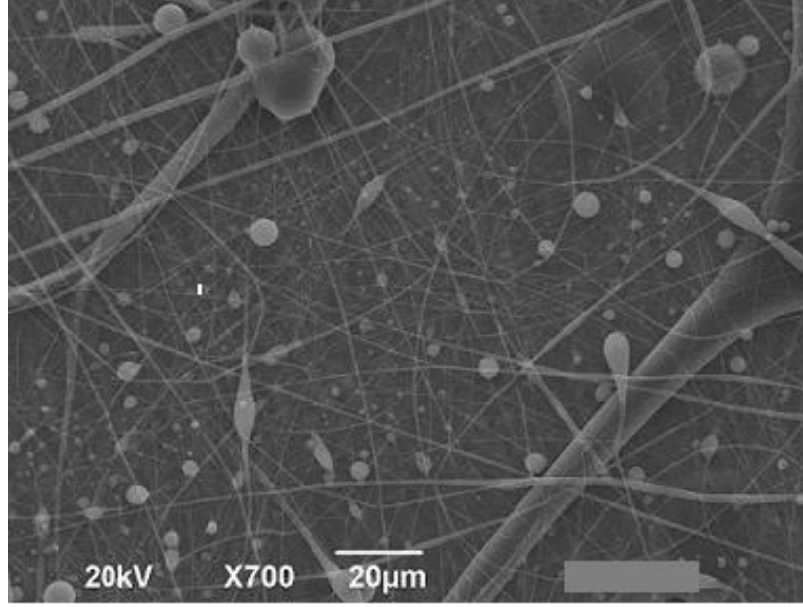
Şekil 5.11. P5 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000)



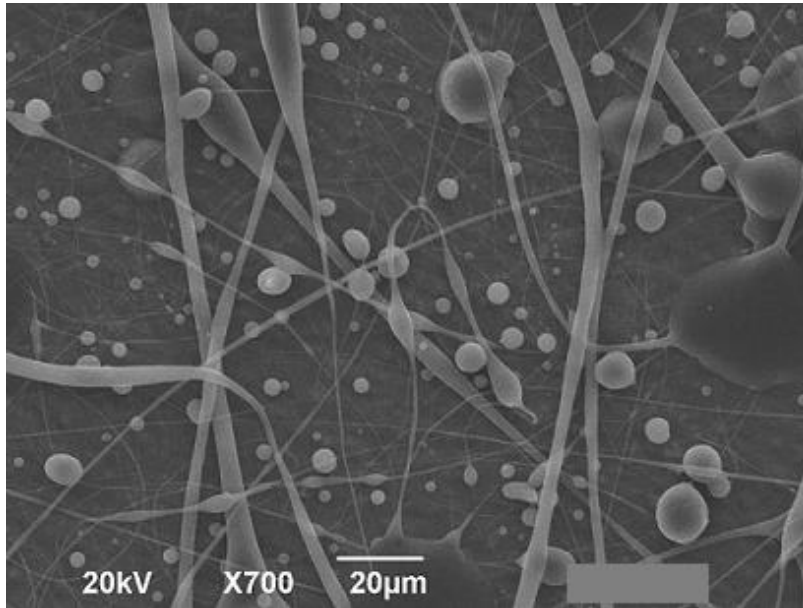
Şekil 5.12. P6 numunesine ait SEM görüntüsü (x5000)

Yüksek moleküler ağırlıklı PLGA-kloroform çözeltisinden elde edilen numunelere ait SEM analizleri incelendiğinde; şırıngadan toplam malzeme çıkışı her numune için aynı olmasına rağmen, besleme oranı ve iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe gibi değişkenlere bağlı olarak nanofiber matların kalınlığı $45,9 \mu\text{m}$ ' den $145,0 \mu\text{m}$ ' ye kadar çeşitlilik göstermiştir. Bu durum toplam karşı plakaya ulaşan malzeme miktarının ve nanofiberin toplandığı alanın oldukça değişken olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen matların kalınlıkları Çizelge 5.1' de verilmiştir. Bu numunelerde nanofiberlerin oldukça değişken

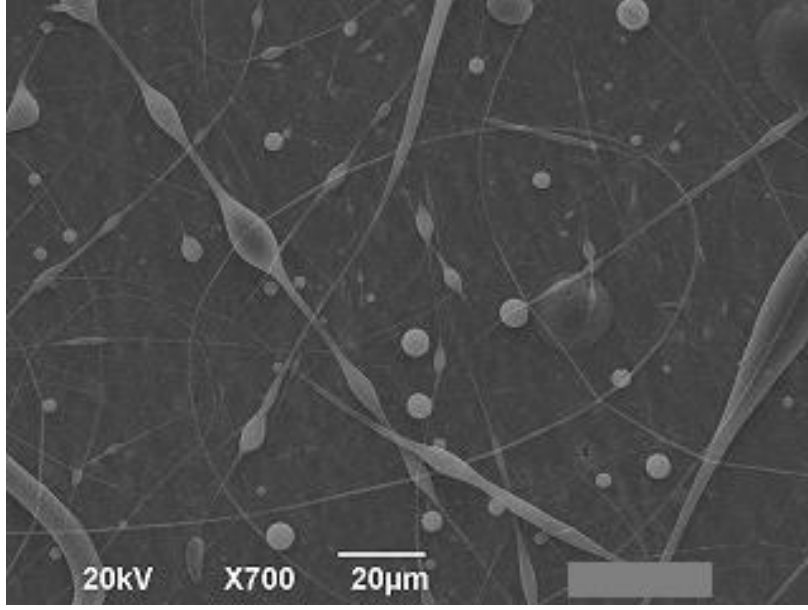
çaplarda olduğu düzenli bir mat yapısı oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle bu numuneler için ortalama nanofiber çapı belirlenememiş, bunun yerine maksimum ve minimum lif çapları belirlenmiştir. Tüm numunelerde lif çapları μm düzeyinde oluşmuştur. Dielektrik katsayısı DMF' e göre daha düşük olan kloroform çözücüsü elektrik alanda DMF' li çözeltilere göre daha düşük çekim kuvvetlerine maruz kaldığı bu nedenle de lif çaplarının nanometre seviyesine düşürülemediği ve 0,8-6 μm çap aralığında lif yapıları elde edildiği belirlenmiştir.



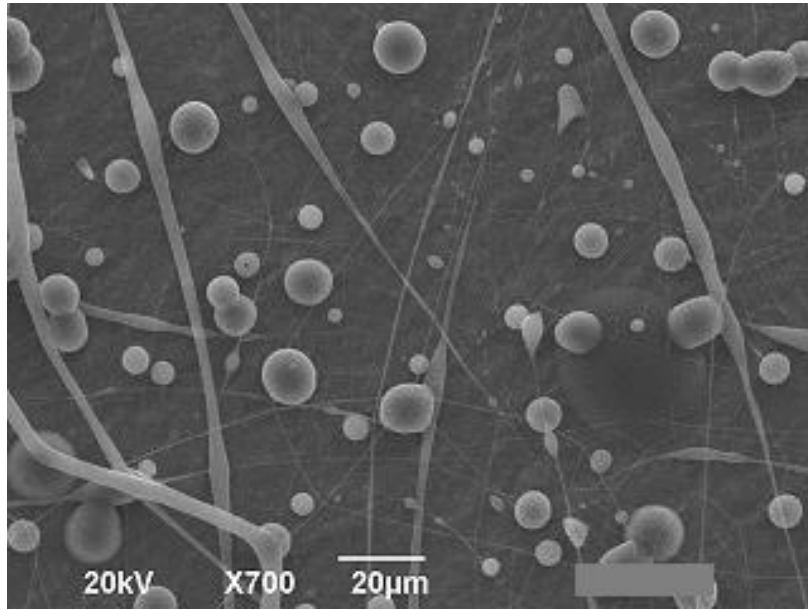
Şekil 5.13. P7 numunesine ait SEM görüntüsü (x700)



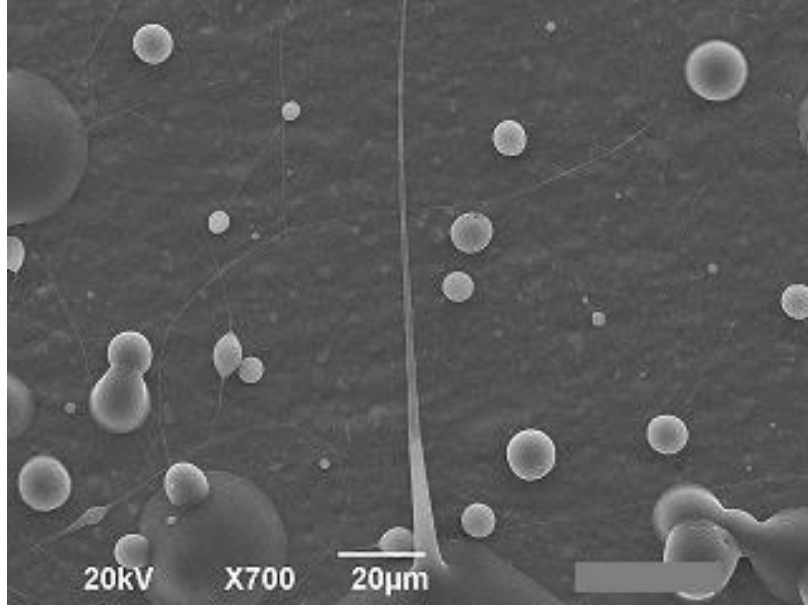
Şekil 5.14. P8 numunesine ait SEM görüntüsü (x700)



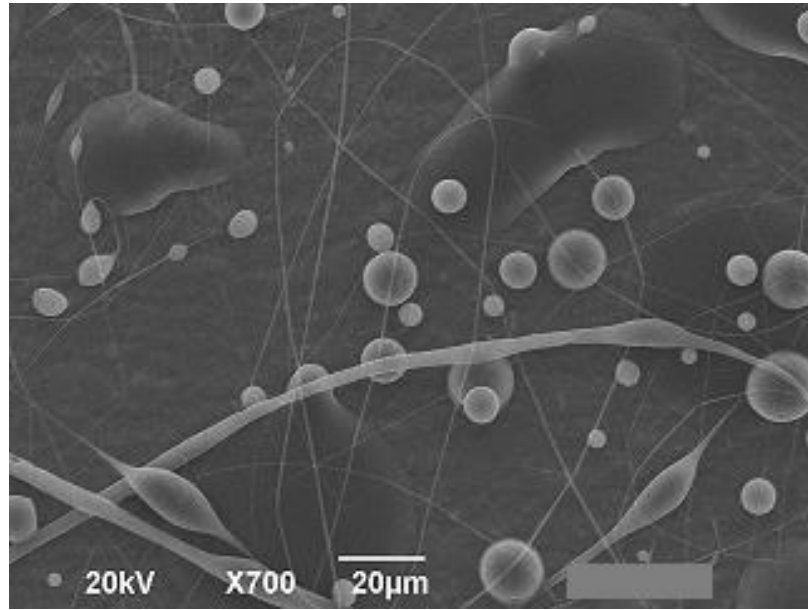
Şekil 5.15. P9 numunesine ait SEM görüntüsü (x700)



Şekil 5.16. P10 numunesine ait SEM görüntüsü (x700)



Şekil 5.17. P11 numunesine ait SEM görüntüsü (x700)



Şekil 5.18. P12 numunesine ait SEM görüntüsü (x700)

Yüksek moleküler ağırlıklı PLGA-kloroform çözeltisinin iyi bir çekime uğraması için iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe parametresi tek başına yeterli olmamıştır. Mesafe ile birlikte besleme oranı arttıkça lif çaplarının arttığı ve lif çap dağılımının düzensizleştiği belirlenmiştir. Bu gruptaki numunelerde kloroform kullanılmasından dolayı boncuk oluşumunun oldukça azaltıldığı görülmüştür. Boncuk yapıların besleme oranı arttıkça daha çok oluştuğu görülmüştür. P7-P12 numuneleri arasında 22,5 cm iğne ucu-toplayıcı mesafesi ve $0,03 \text{ ml.s}^{-1}$ besleme oranı kullanılan P7 numunesinde daha düzgün mikro lif

yapılı mat elde edilmiştir. Genel olarak sabit besleme oranında iğne ucu-toplayıcı mesafe parametresi ele alındığında 22,5 cm ile üretimi yapılan P7, P8 ve P9 numunelerinin 25 cm ile üretimi yapılan P10, P11 ve P12 numunelerinden daha düzgün lifli yapıda bir yüzey elde edildiği açık şekilde görülmektedir (Şekil 5.13-5.18). Ancak $0,05 \text{ ml.sa}^{-1}$ besleme oranı kullanılan P9 ve P12 numuneleri arasında önemli bir farklılık görülmemiştir.

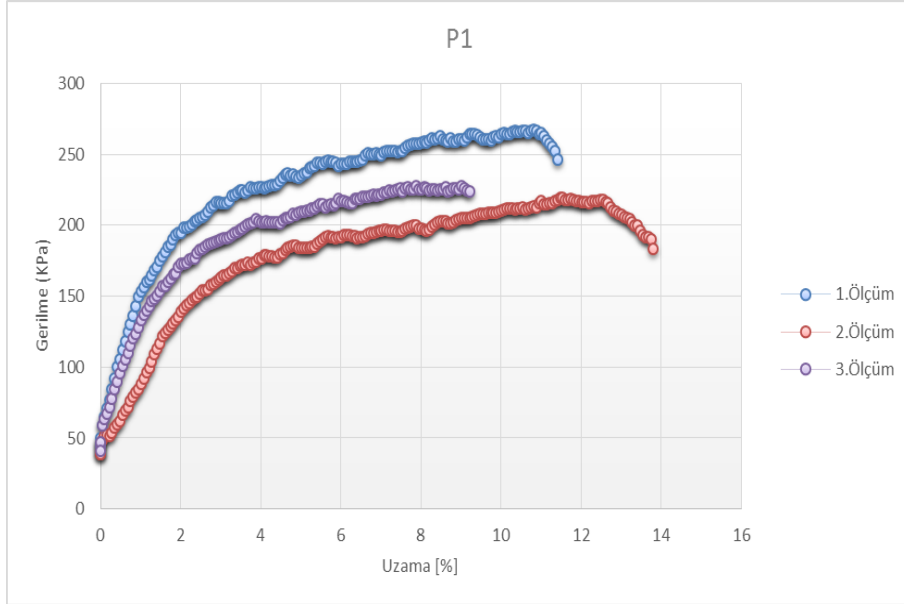
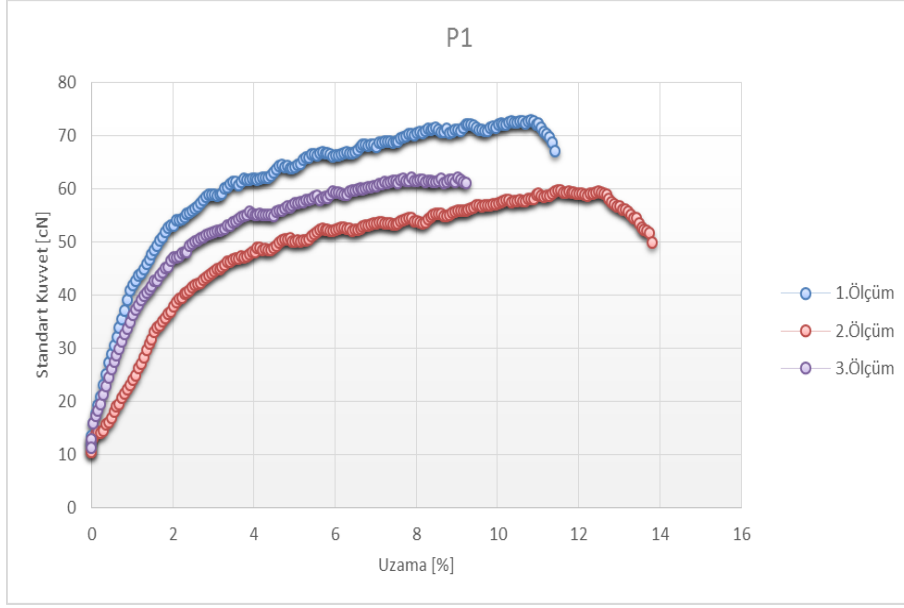
5.3. Çekme Dayanım Analizleri

Çekme dayanım testleri düşük moleküler ağırlıklı PLGA nanofiber matların kopma dayanımlarının 17,3cN - 64,8cN arasında gerçekleştiğini göstermektedir (Çizelge 5.2). Bu grup için elde edilen mat kalınlıkları da ($13,2\mu\text{m} - 113,6\mu\text{m}$) göz önüne alındığında tek başına kopma dayanımlarının anlamlı olmayacağı açıktır. Bu nedenle hesaplanan kopma gerilmesi değerleri üzerinden numunelerin mekanik özellikleri tartışılmıştır. P1-P6 numunelerinin kopma gerilmesi değerleri sırasıyla 237,5 kPa, 86,7 kPa, 228,9 kPa, 262,5 kPa, 274,8 kPa ve 313,5 kPa olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 5.2). Bu gruptaki P2 numunesi haricinde kopma gerilmesi değerlerinin doku iskelesi uygulamaları için yeterli düzeyde olduğu görülmektedir. P2 numunesinin düşük kopma gerilmesi değerine sahip olması, bu numunenin kalınlığının diğer numunelere kıyasla oldukça yüksek olmasıyla ilişkilidir.

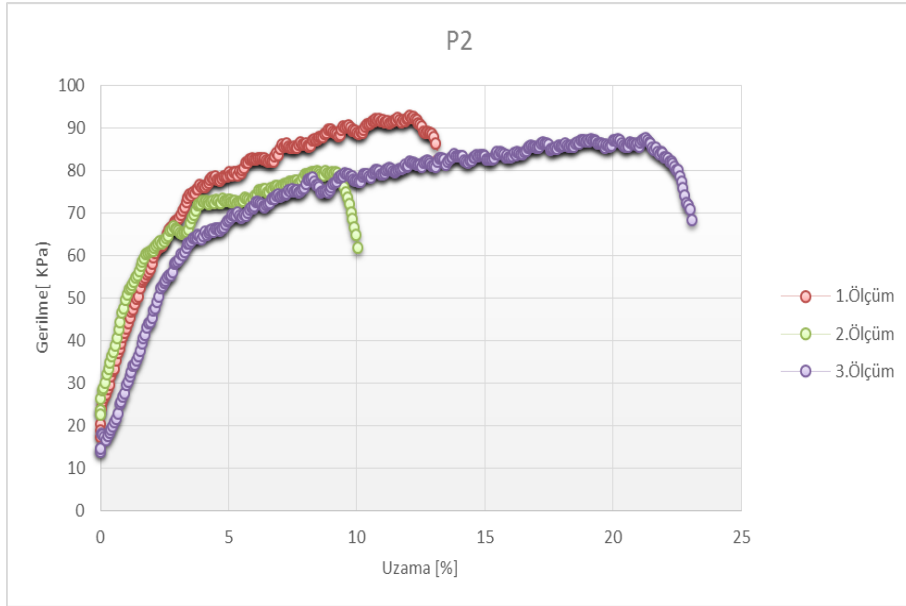
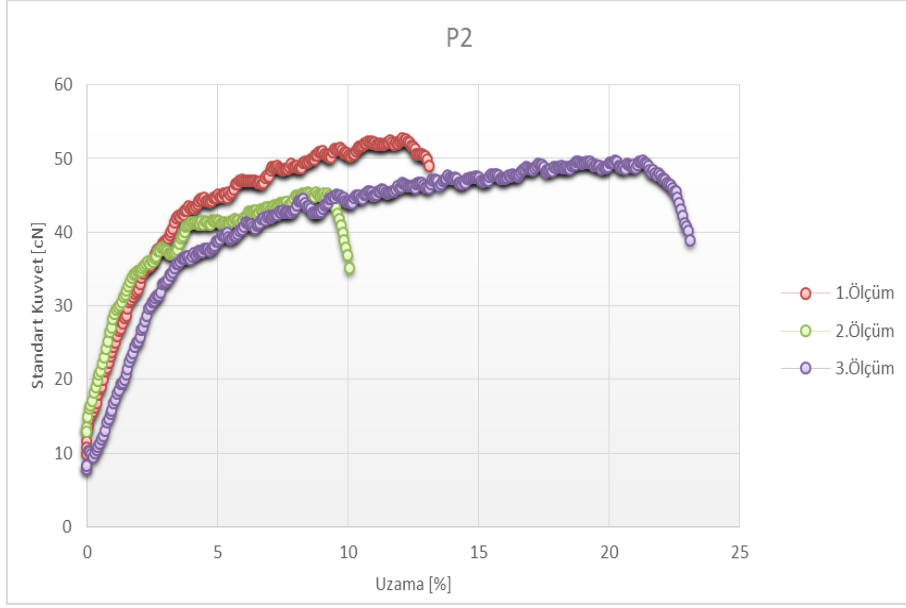
İğne ucu-toplayıcı arasında 25 cm ile üretilen numunelerde (P4,P5 ve P6) doku iskele kalınlığı ve besleme oranı arasında bir korelasyon belirlenmiştir. Bu numunelerde yapı iskele kalınlığı besleme oranının artmasıyla artmıştır. Bunun bir sonucu olarak kopma dayanımlarında bir artış gözlenmiştir. Benzer durum Young modülü değerleri için de geçerlidir. Bu gruptaki numunelerin kopma uzaması değerleri incelendiğinde %10 - %21,7 aralığında kopmanın gerçekleştiği görülmektedir. Bu düzeydeki kopma uzamaları doku iskelelerinin vücut içerisindeki hareketlilikleri kompanse edecek düzeyde olduğu düşünülmektedir. Elastik bölge uzama değerleri ise tüm numuneler için yaklaşık olarak %2 düzeyinde gerçekleşmiştir (Şekil 5.19- 5.24).

Çizelge 5.2. Üretilen numunelerin mekanik özellikleri

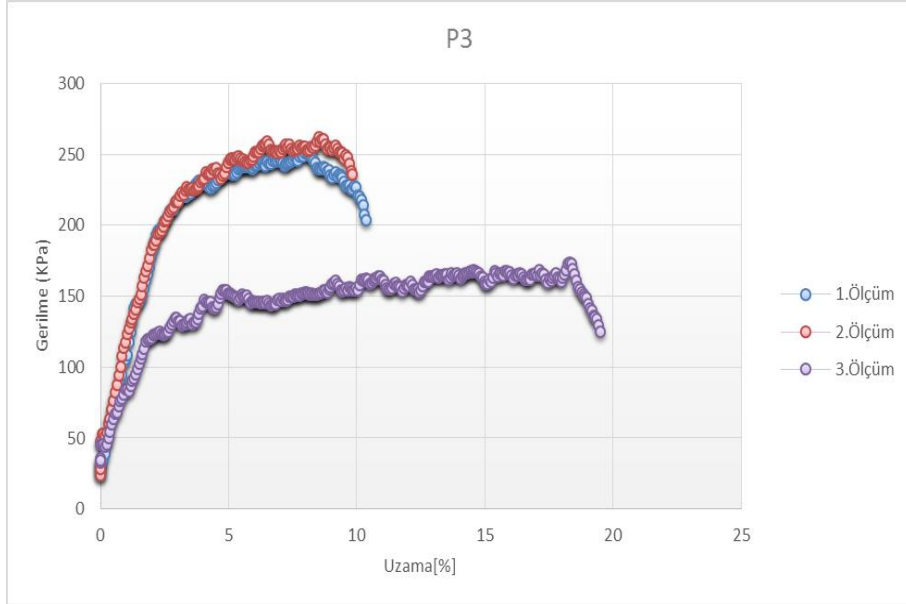
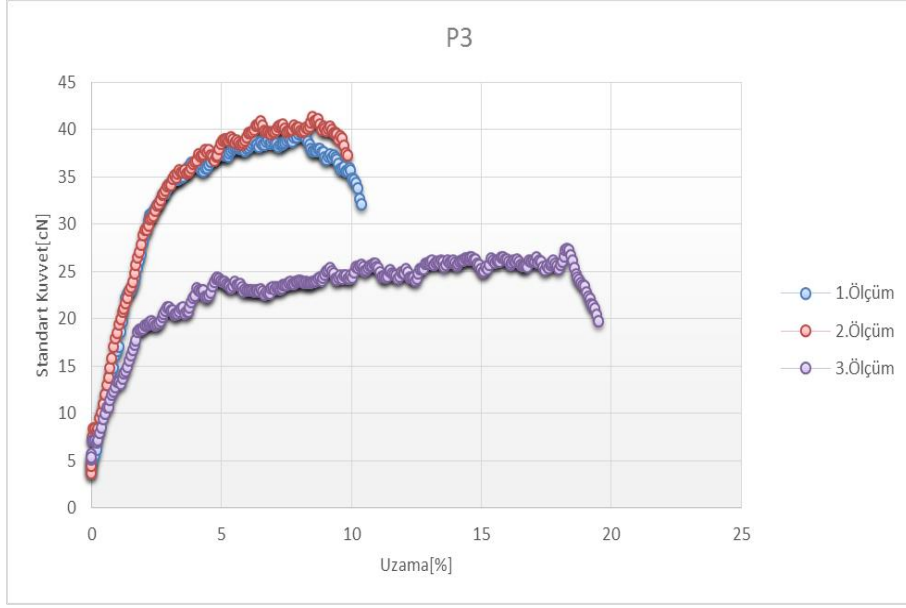
Numune Kodu	Kopma Uzaması (%)		Kopma Dayanımı (cN)		Kopma Gerilmesi (kPa)		Young Modülü (kPa)	
		Ort.		Ort.		Ort.		Ort.
P1	11,4		72,7		266,6		72,4	
	13,8	11,5	59,7	64,8	218,8	237,5	49,4	60,8
	9,2		61,9		227,2		60,6	
P2	13,2		52,6		92,7		18,5	
	10,1	15,4	45,3	49,2	79,8	86,7	19,0	17,7
	23,1		49,7		87,5		15,5	
P3	10,4		39,7		251,6		75,7	
	9,9	13,3	41,2	36,1	261,5	228,9	73,6	63,9
	19,5		27,4		173,5		42,3	
P4	21,7		18,9		286,5		83,7	
	16,4	18,1	17,1	17,3	258,6	262,5	59,4	65,1
	16,1		16,0		242,6		52,3	
P5	29,7		25,1		254,3		51,7	
	13,6	21,7	28,9	27,2	292,7	274,8	82,4	69,7
	21,9		27,4		277,6		74,9	
P6	11,6		45,5		300,2		88,3	
	7,2	10,0	35,2	42,7	232,1	281,9	79,0	86,2
	11,3		47,5		313,4		91,2	
P7	108,7		103,3		245,7		79,4	
	34,2	126,6	86,6	101,5	205,8	241,4	79,9	71,7
	236,9		114,6		272,6		55,8	
P8	122,5		119,0		322,1		100,5	
	35,8	61,4	95,9	101,0	259,5	273,2	98,1	97,1
	25,9		88,0		238,0		92,6	
P9	45,5		63,8		125,6		29,3	
	133,0	69,1	99,8	84,2	196,5	165,8	52,3	41,1
	97,7		89,1		175,4		41,6	
P10	6,2		95,4		415,8		235,2	
	3,0	6,1	74,3	87,3	324,0	380,7	143,7	174,3
	9,1		92,3		402,4		144,0	
P11	26,0		53,7		74,0		17,3	
	12,0	37,9	58,3	66,6	80,4	91,8	31,0	26,6
	75,6		87,8		121,1		31,6	
P12	217,3		150,1		267,5		59,2	
	58,0	173,8	89,9	134,5	160,2	239,8	41,0	52,3
	246,2		163,6		291,6		56,9	



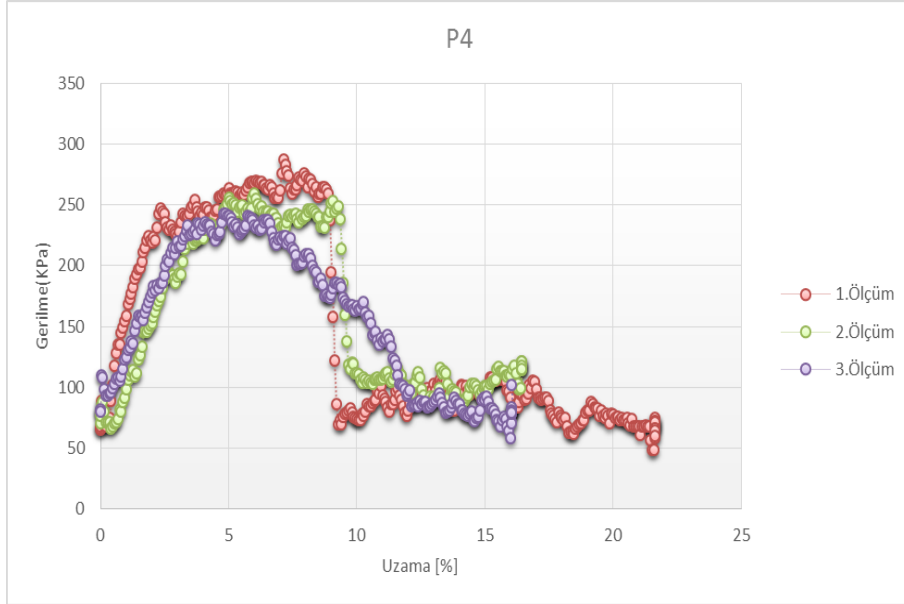
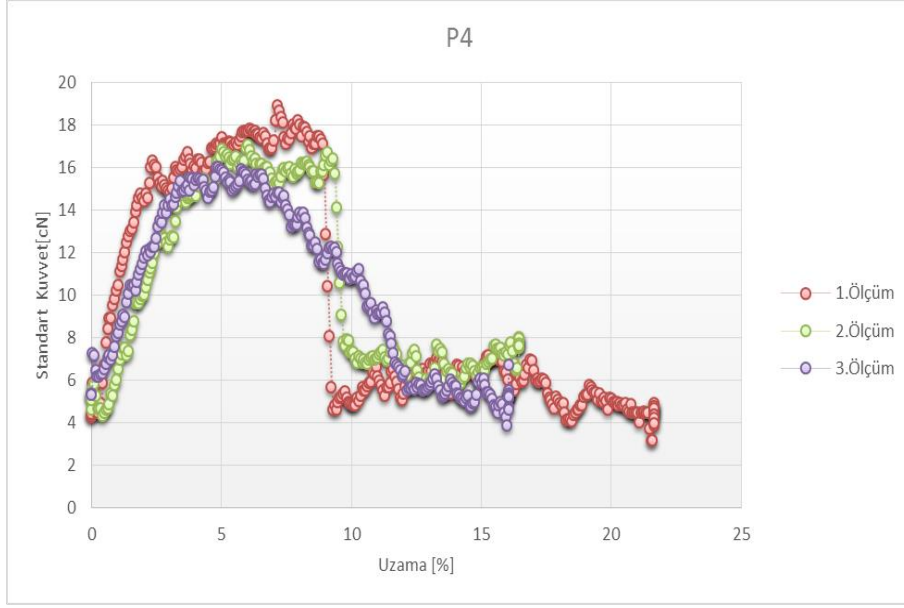
Şekil 5.19. P1 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



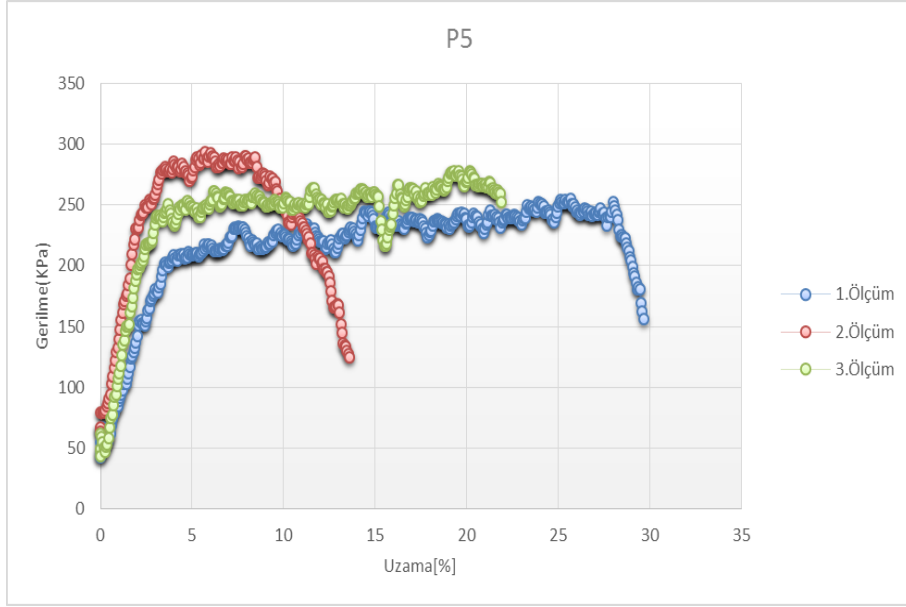
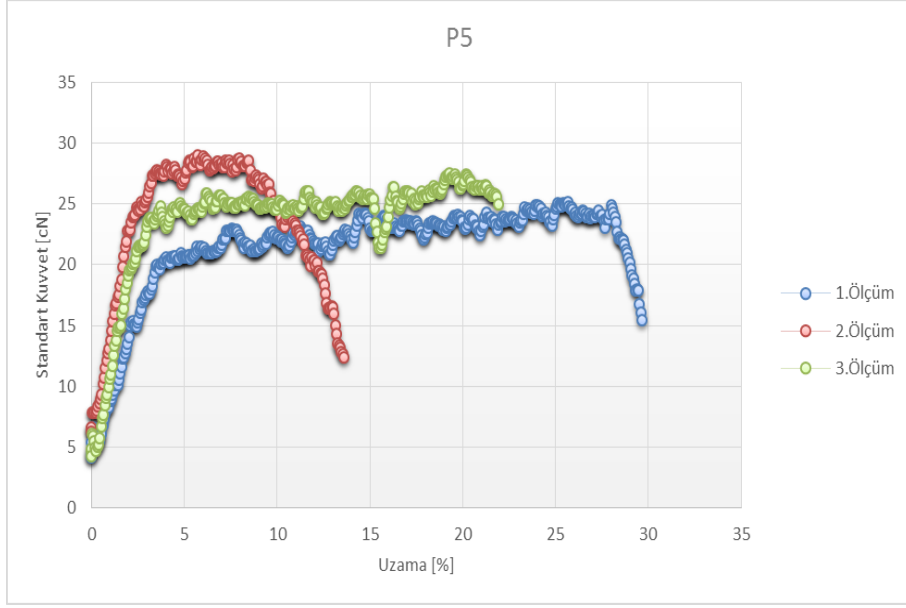
Şekil 5.20. P2 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



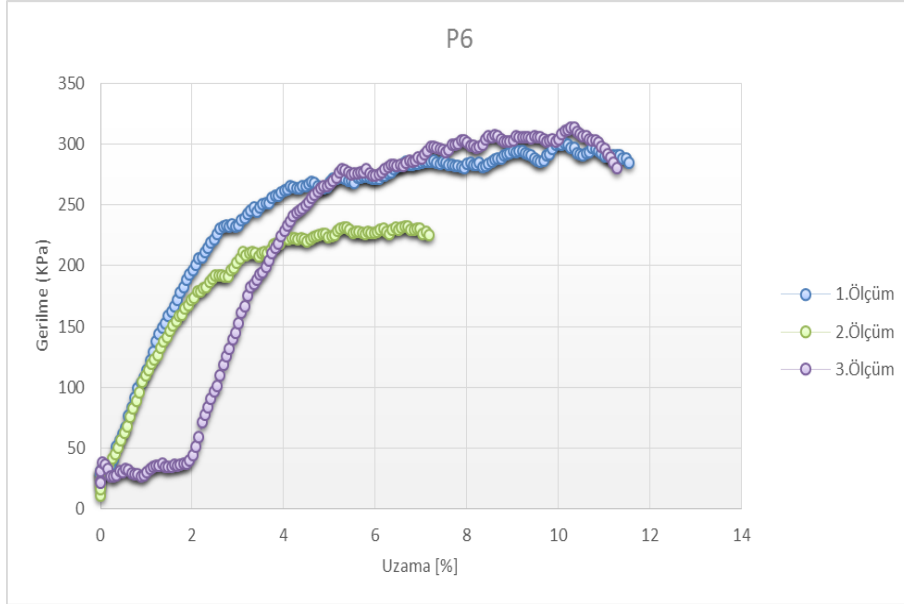
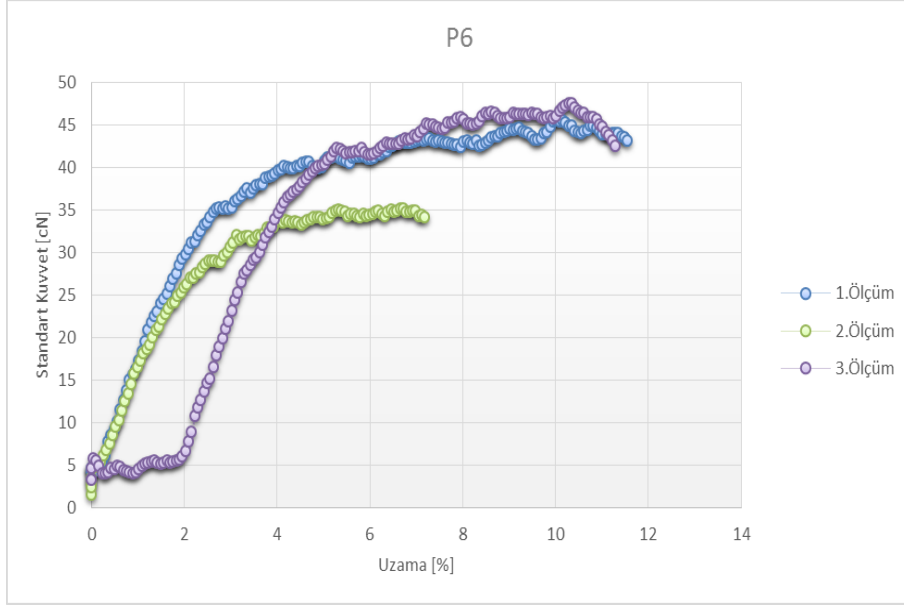
Şekil 5.21. P3 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



Şekil 5.22. P4 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



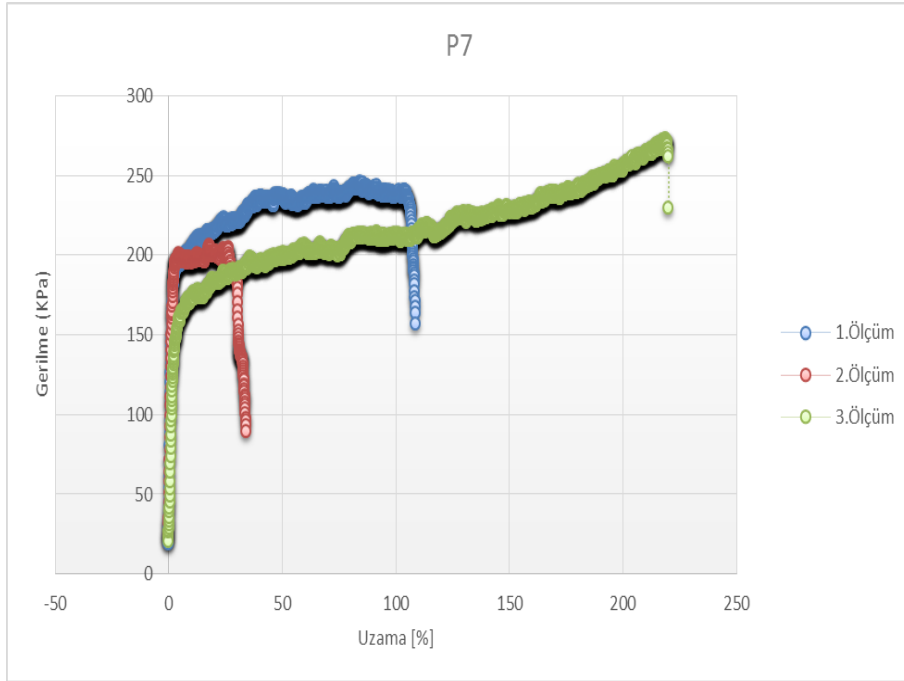
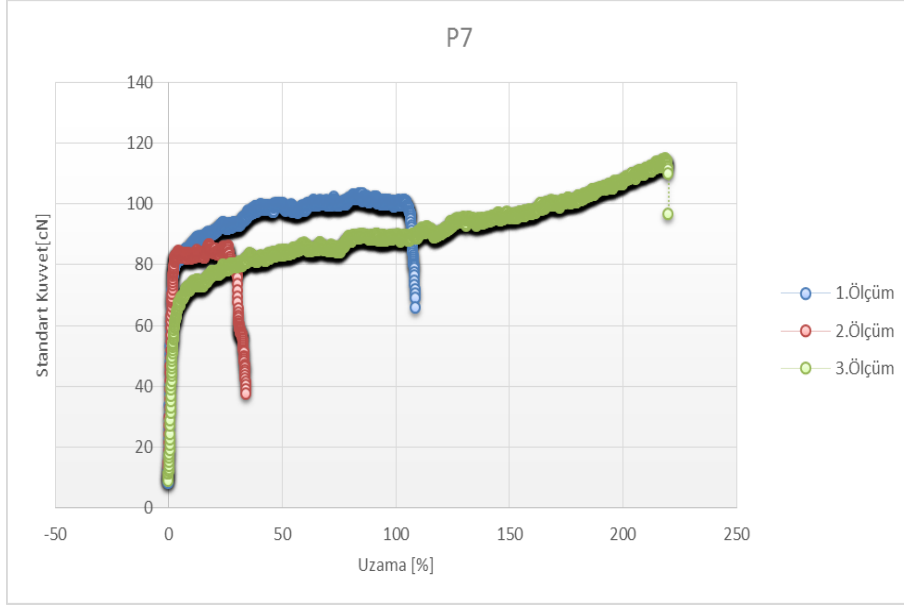
Şekil 5.23. P5 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



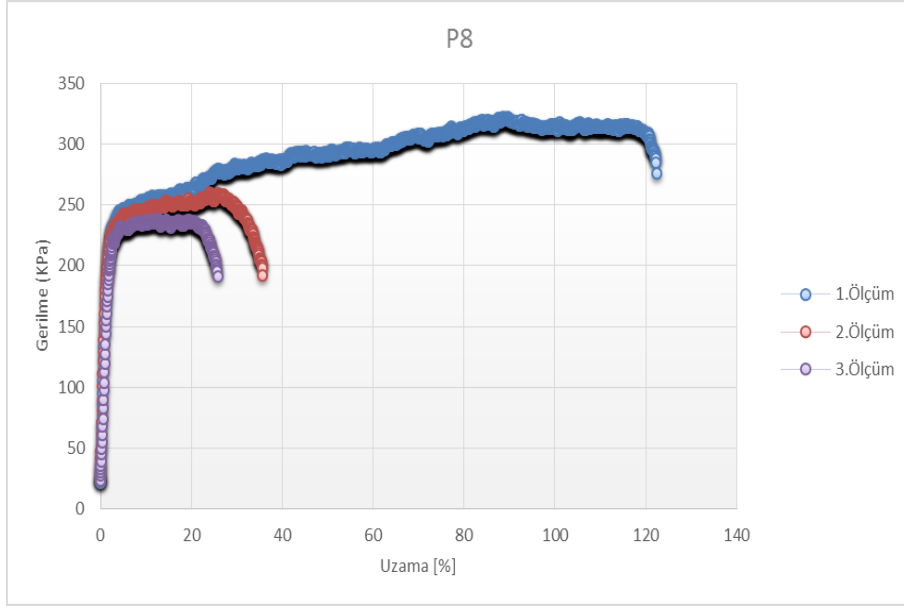
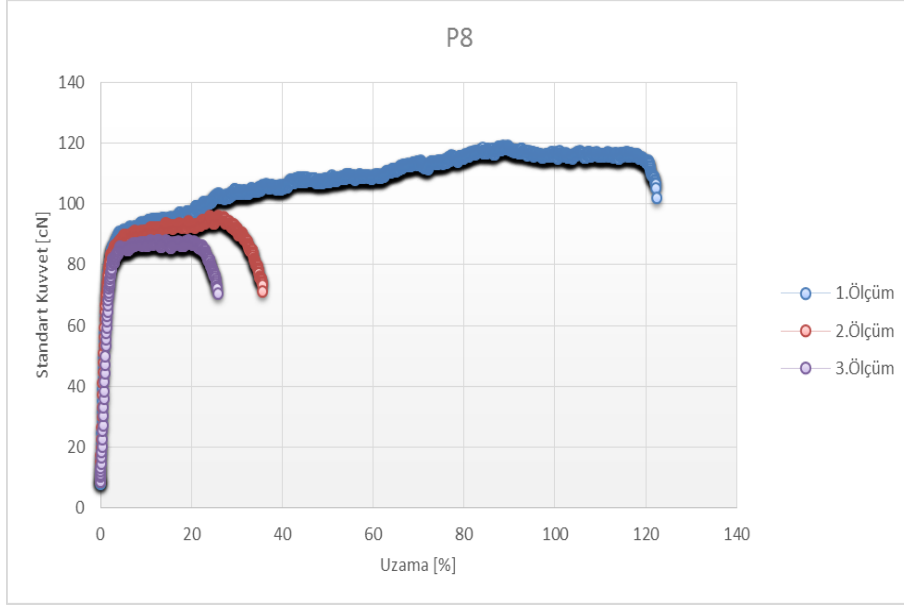
Şekil 5.24. P6 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri

Yüksek moleküler ağırlıklı PLGA matların kopma dayanımlarının 66,6 cN – 134,5 cN arasında gerçekleştiğini göstermektedir. Bu gruptaki numunelerin kalınlıkları ise 45,9µm – 145,0µm aralığında gerçekleşmiştir. Bu gruptaki numunelerde de kalınlıklar çok değişkendir. Bu nedenle yine kopma gerilmesi değerleri üzerinden gerekli tartışma yapılmıştır. P7-P12 numunelerinin kopma gerilmesi değerleri sırasıyla 241,4 kPa, 273,2 kPa, 165,8 kPa, 380,7 kPa, 91,8 kPa ve 239,8 kPa olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 5.2). Bu gruptaki P10 ve P11 numunelerinin dayanım kopma gerilmeleri matların kalınlığına bağlı olarak sırasıyla 380,7 kPa ve 91,8 kPa olarak gerçekleşmiştir ki bu değerlerin diğer

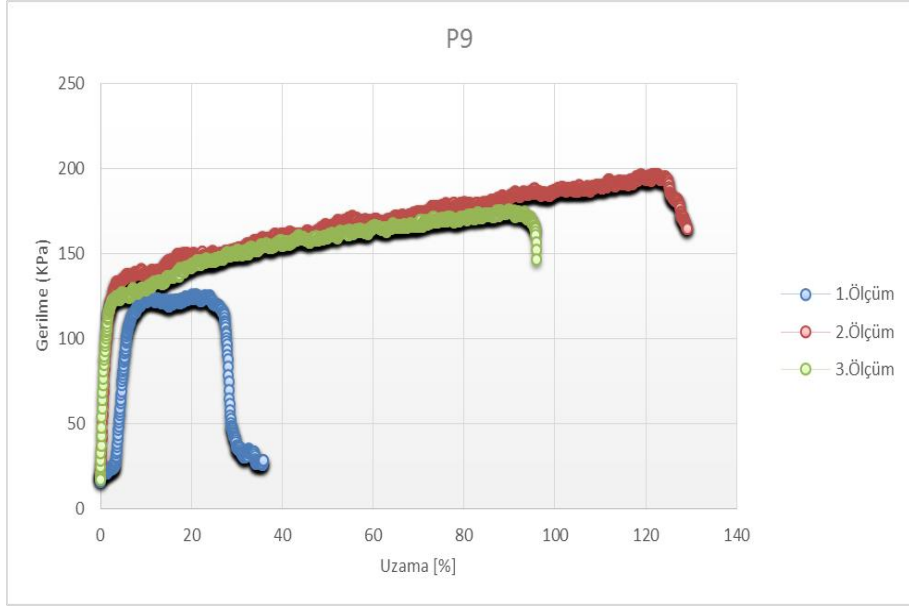
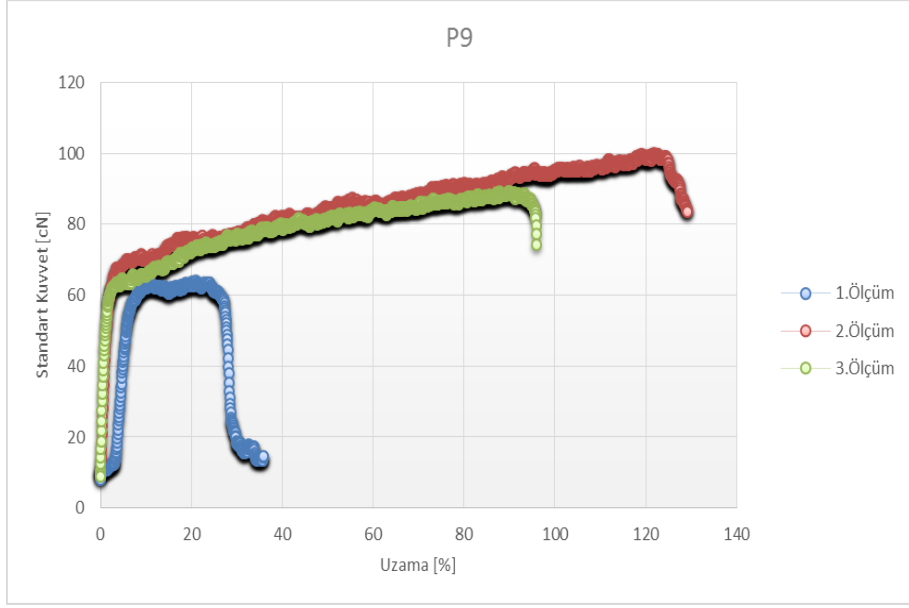
numunelerin kopma gerilmesi değerlerinden oldukça farklı olduğu görülmüştür. Bu iki numune dışındaki numunelerin kopma gerilmesi değerlerinin 165,8 kPa – 273,2 kPa aralığında olduğu tespit edilip doku iskelesi uygulamaları için yeterli dayanıma sahip olduğu düşünülmektedir. Kopma uzaması değerleri incelendiğinde bu gruptaki doku iskelelerinin oldukça farklı kopma uzaması değerlerine sahip olduğu görülmüştür. P10 numunesi %6,1 kopma uzaması değeriyle en düşük, P12 numunesi ise %173,8 kopma uzaması değeriyle en yüksek kopma uzamasına sahip olduğu belirlenmiştir (şekil 5.25-5.30). Ancak kopma uzaması lmleri P12 numunesi için tek tek incelendiğinde %246,2 gibi çok yüksek uzama miktarlarının yanı sıra %58 gibi çok düşük uzama değerleri de gözlenmiştir. Bu durum P12 mat yapıda dayanım ve esneklik açısından çok değişken bölgelerin varlığını göstermektedir. Tüm numunelerin kopma uzaması değerlerinde bu varyasyon söz konusudur. Sadece P10 numunesinde kopma uzaması %6,1 gibi oldukça düşük bir değerde gerçekleşmiştir. Bu kopma uzaması değeri kopma gerilmesi değeri (380,7 kPa) ile ele alındığında diğer numunelere kıyasla oldukça rijit bir yapı elde edildiği sonucuna varılmıştır.



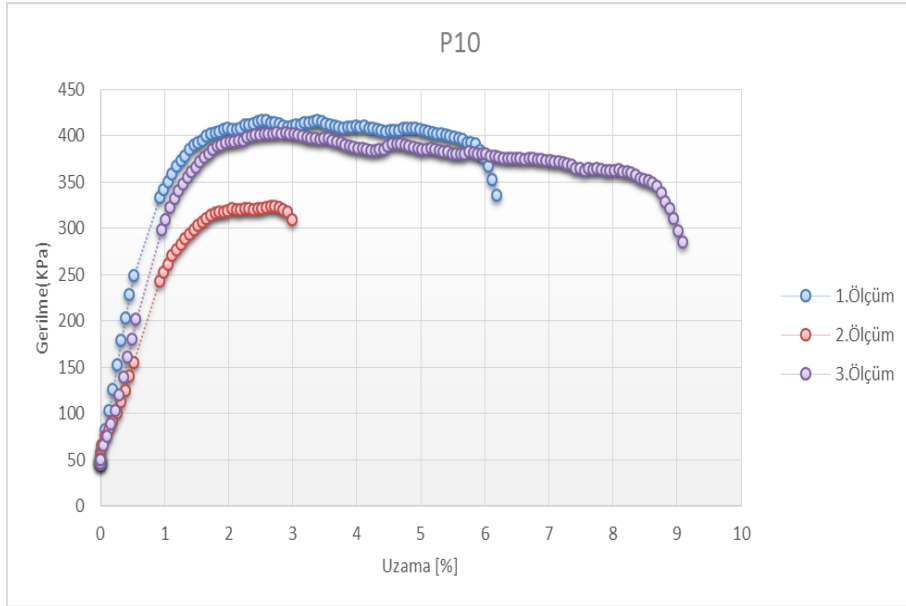
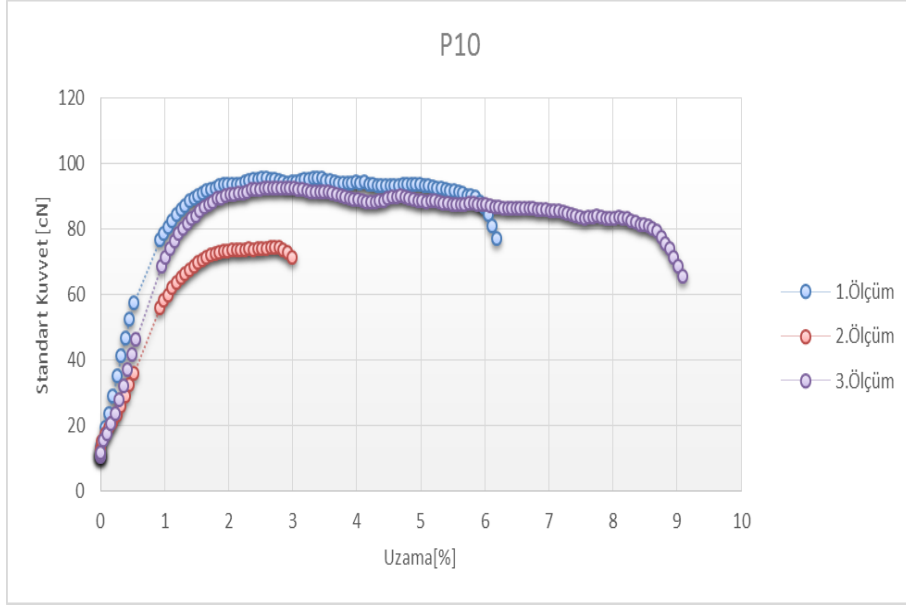
Şekil 5.25. P7 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



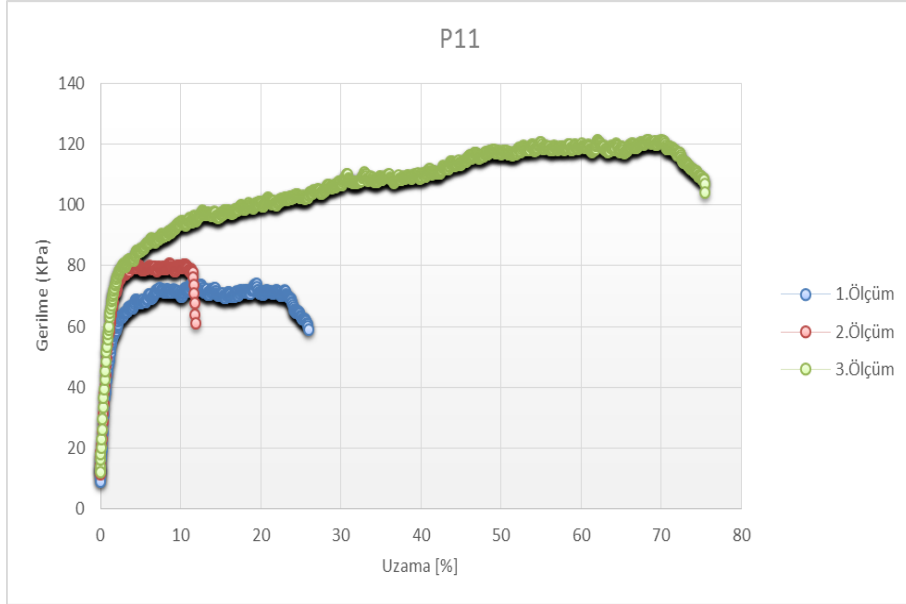
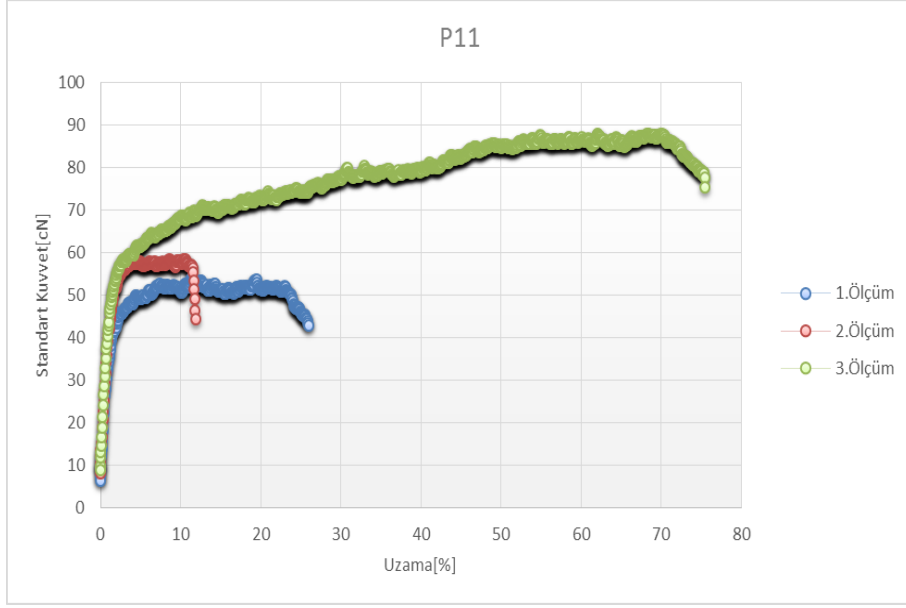
Şekil 5.26. P8 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



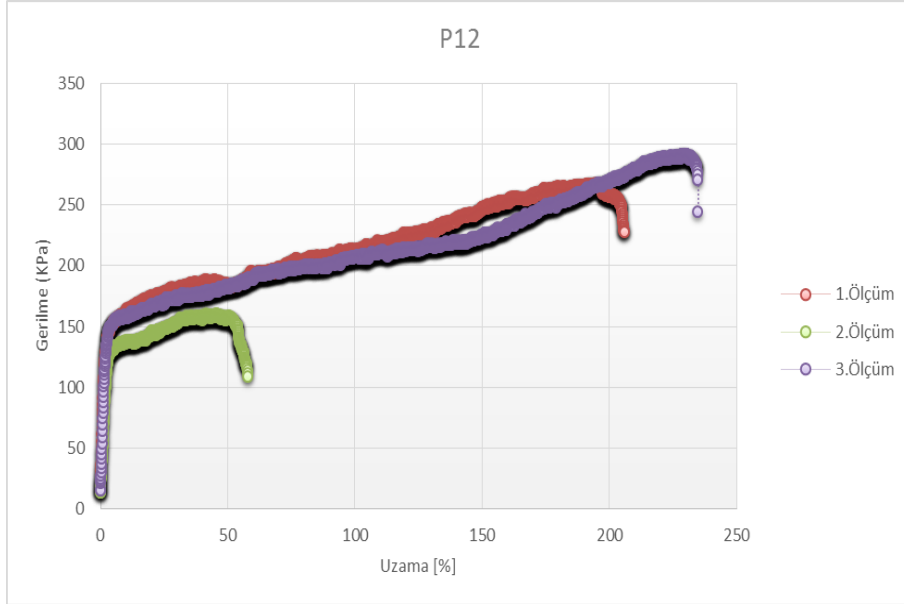
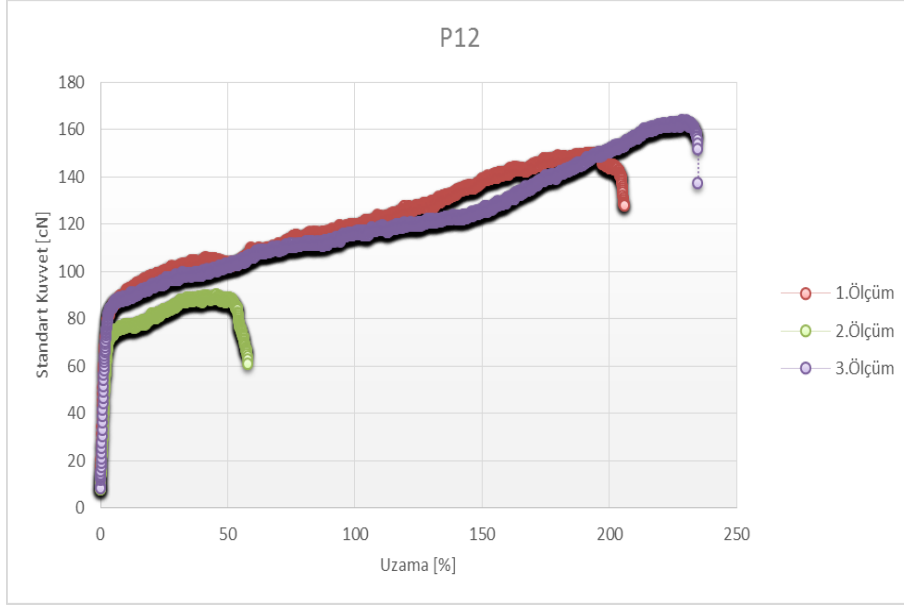
Şekil 5.27. P9 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



Şekil 5.28. P10 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



Şekil 5.29. P11 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri



Şekil 5.30. P12 numunesine ait kuvvet-uzama ve gerilme-uzama eğrileri

5.4. Temas Açısı Ölçümleri

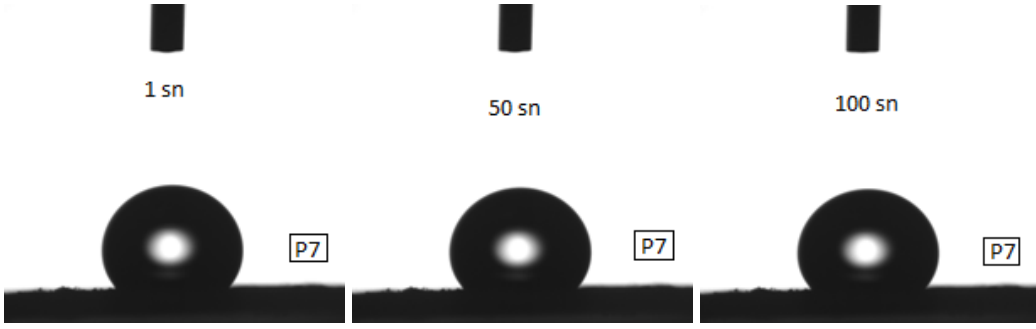
Islanabilirlik, su ile temas açısı (WCA) ölçümü ile belirlenmektedir. Su ile temas açısı 90^0 'nin altında olan yüzeyler hidrofilyk, 90^0 'nin üzerinde olan yüzeyler ise hidrofob olarak tanımlanırlar. Doku iskelesi uygulamalarında, hücrelerin doku iskelesine kolay tutunması adına islanabilirlik oldukça önemli bir özelliktir.

Düşük moleköl ağırlığına sahip PLGA numunelerinin hücre ekimi denemelerinde oldukça kısa bir sürede hücre kültür çözeltisi içerisinde çözündüklerinden bu doku

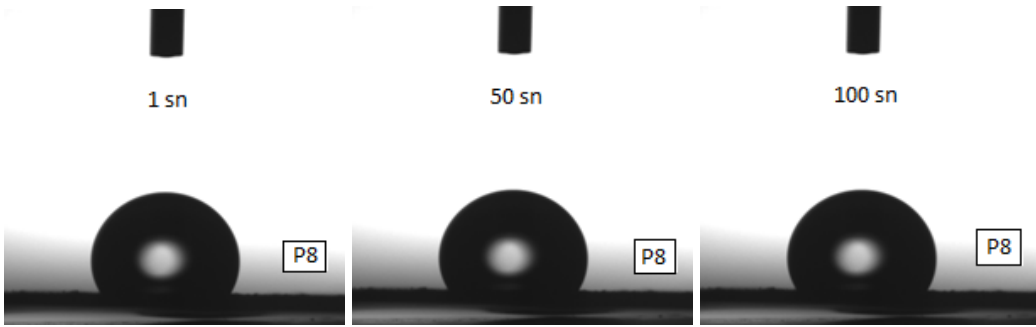
iskelelerinin temas açısı ölçümlerinin yapılmasına gerek duyulmamıştır. Yüksek molekül ağırlığına sahip PLGA numunelerinin temas açısı ölçüm sonuçları Çizelge 5.3’ de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, PLGA yapılı matların hidrofob yapıda olduğu görülmektedir. P7, P8 ve P9’ da minimum-maksimum lif çaplarının artışıyla (Çizelge 5.3) hidrofilliklerinin arttığı belirlenmiştir. P10, P11 ve P12 numunelerinde temas açısı değerleri sırasıyla 122,0⁰ 122,5⁰ 110,6⁰ olarak gerçekleşmiştir. P12 numunesinde bir miktar iyileşme olduğu görülmektedir. Aynı besleme oranı, farklı iğne ucu-toplayıcı mesafesi kullanılan numuneler (“P7 ve P10”, “P8 ve P11”, “P9 ve P12”) birbirileriyle kıyaslandığında iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin artışının, matların hidrofilliğini arttırdığını göstermiştir. Üretilen numunelerin temas açısı ölçüm görüntüleri Şekil 5.31-Şekil 5.36’ da verilmiştir.

Çizelge 5.3. Üretilen numunelerin temas açısı ölçümleri

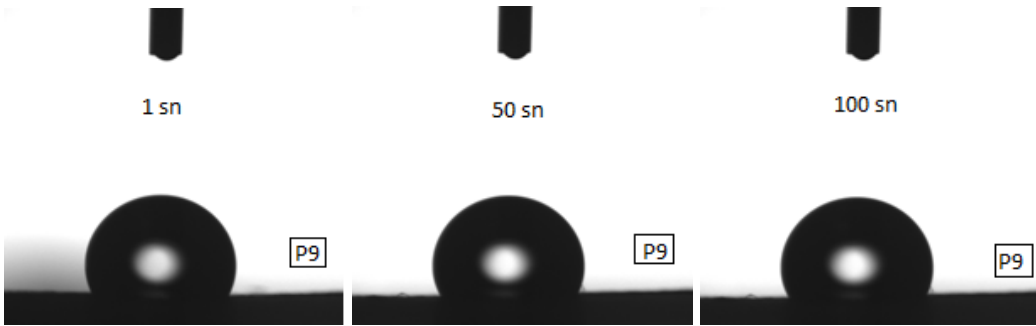
Numune Kodu	Min - Maks. Lif Çapları (µm)	Temas Açısı (°) Ort.	Std.Sapma (σ)
P7	0,8 – 4,2	130,7	4,92
		140,5	
		134,8	
P8	0,8 – 5	121,7	5,29
		126,4	
		132,3	
P9	0,8 – 5,8	116,8	6,14
		124,9	
		112,8	
P10	0,8 – 4,4	124,2	2,15
		119,9	
		121,8	
P11	0,8 – 6	120,3	3,89
		127,0	
		120,1	
P12	0,8 – 4,5	111,6	1,50
		108,9	
		111,4	



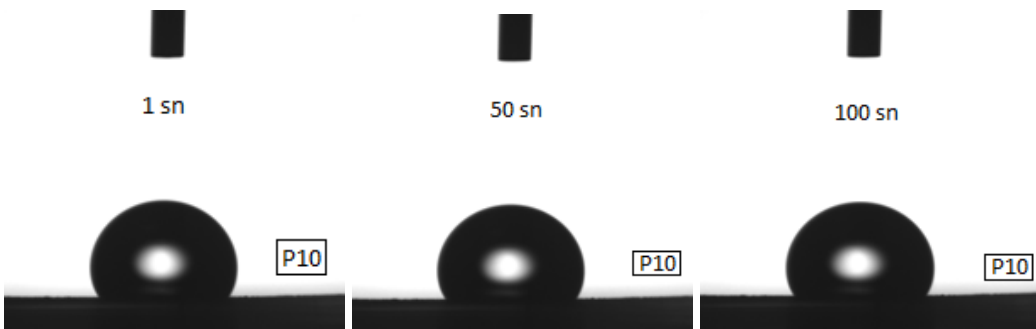
Şekil 5.31. P7 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü



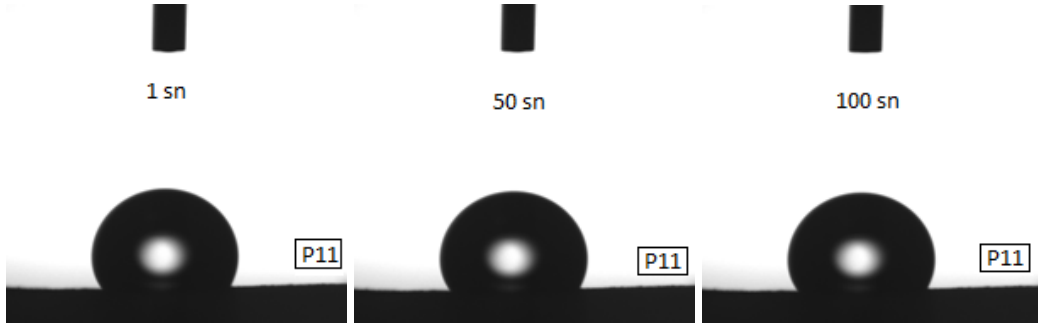
Şekil 5.32. P8 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü



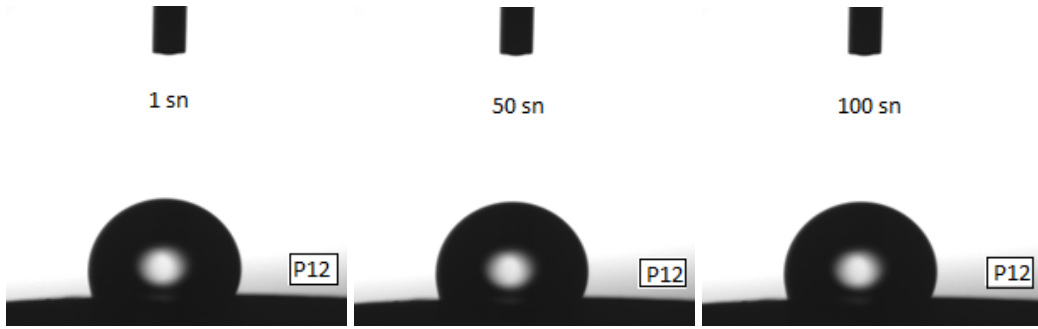
Şekil 5.33. P9 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü



Şekil 5.34. P10 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü



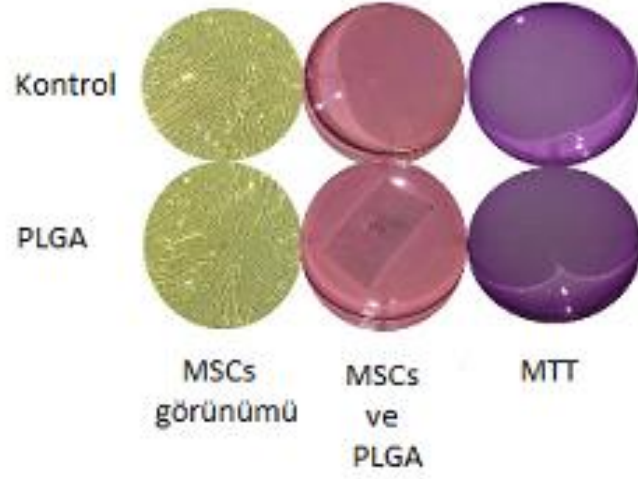
Şekil 5.35. P11 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü



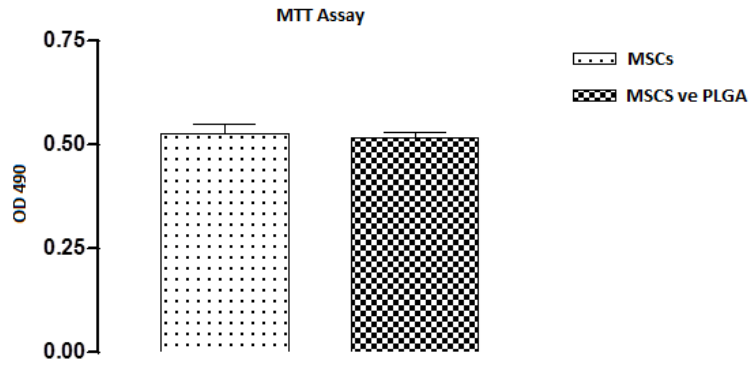
Şekil 5.36. P12 numunesine ait temas açısı ölçüm görüntüsü

5.5. Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizler

Hücre canlılığının değerlendirilmesi adına P1 numunesi hücre kültürü içerisine konularak, nanolif matın toksisitesi incelenmiştir. MTT Assay sonuçları üretilen numunelerin 72 saat süreyle hücre kültürü içerisinde inkübasyonu sonucunda, mezenkimal kök hücrelerin canlılığı üzerinde önemli bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Şekil 5.37). Hücre canlılığı istatistiksel olarak Student's T-testi kullanılarak analiz edilmiş ve $p < 0,05$ olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (Şekil 5.38). Üretilen PLGA matların toksik bir etkisi olmadığı çeşitli hücre yapıştırıcıları (kollajen gibi) kullanılarak hücre çoğalmasına uygun bir hale getirilebileceği sonucuna varılmıştır.



Şekil 5.37. Kontrol grubu ve P1 numunesine ait MTT Assay test sonuçları



Şekil 5.38. Mezenkimal kök hücreler ve PLGA doku iskelelerinin MTT sonuçları

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, elektroçekim işlemi ile farklı molekül ağırlıklarına sahip Poli(D,L-Laktid-ko-glikolid) biyobozunur polimerler (50:50 ve 65:35) ve bu sistemlerin çözücüsü olarak önerilen Kloroform ve Dimetilforamid (DMF) kullanılarak nanolif ve mikrolif yapıları doku iskeleleri üretilmiştir.

Üretilen doku iskelelerin bütün FT-IR spektrumlarında benzer pikler gözlenmiştir. Saf PLGA (50:50-65:35) ve tüm elektroçekim ile üretilen doku iskelelerinde 1747 cm^{-1} de ester karbonil gerilimi (C=O), 1129 cm^{-1} de C-O gerilme titreşimi ve 1081 cm^{-1} de C-O-C grubu tipik bandlar bulunmuştur. 1747 cm^{-1} den 1754 cm^{-1} e kadar PLGA'nın ester karbonil piklerinde küçük bir değişim ve aynı zamanda daha yüksek bir dalga sayısı PLGA'nın diğer karakteristik piklerinde küçük bir değişim P1-P6 numunelerine ait matlarda gözlenmiştir. DMF çözücüsünün FT-IR spektrumu incelendiğinde 1662 cm^{-1} ve 657 cm^{-1} dalga sayılarında karakteristik pikler görülmektedir. 1662 cm^{-1} karbonil bağına (C=O), 657 cm^{-1} ise C-N bağına denk gelmektedir. DMF çözücüsü kullanılarak üretilen numunelerin (P1-P6) hiçbirinde bu pikler gözlenmemiştir. Bu durum elektroçekim esnasında ve sonrasında DMF'in mat yapıdan tamamen uzaklaştırıldığını göstermiştir. Kloroform çözücüsünün karakteristik pikleri olan 4 temel pik değeri 3020 cm^{-1} , 1214 cm^{-1} , 746 cm^{-1} , 668 cm^{-1} dalga sayılarında tespit edilmiştir. Yüksek moleküler ağırlıklı PLGA ile üretilen numunelerde (P7-P12) bu karakteristik piklerin kaybolduğu görülmüştür. Bu durum elektroçekim esnasında ve sonrasında kloroformun mat yapıdan tamamen uzaklaştırıldığını göstermiştir.

Üretilen yüzeylerin morfolojik özellikleri SEM analizleri yardımıyla belirlenmiştir. Düşük moleküler ağırlıklı PLGA-DMF çözeltisinden elde edilen numunelere ait SEM analizleri incelendiğinde; şırıngadan toplam malzeme çıkışı her numune için aynı olmasına rağmen, besleme oranı ve iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe gibi değişkenlere bağlı olarak nanofiber matların kalınlığı $13,2\text{ }\mu\text{m}$ ' den $113,6\text{ }\mu\text{m}$ ' ye kadar çeşitlilik göstermiştir. Bu durum toplam karşı plakaya ulaşan malzeme miktarının ve nanofiberin toplandığı alanın oldukça değişken olduğunu ortaya koymaktadır. P1-P6 numunelerinde $188\text{ nm} - 668\text{ nm}$ aralığında lif çapları görülmüştür. Bu sonuçlar; iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin arttırıldıkça ortalama lif çapının düştüğünü göstermektedir. İğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafeye bağlı olarak P1, P2, P3 ve P4, P5, P6 numuneleri kendi içlerinde kıyaslandığında en düşük ortalama nanofiber çapına sahip numunelerin $0,04\text{ ml/sa.}$ besleme oranlarına

sahip olan P3 ve P6 numuneleri olduğu görülmektedir. Bu durum şırıngadan çözelti akışının düzenli olması ile açıklanabilir. İğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin 22,5 cm olduğu numunelerde besleme oranı ve lif çapı arasında bir korelasyon belirlenmiştir. Bu numunelerde lif çapı besleme oranının azaltılması ile azalmıştır. Diğer taraftan benzer sonuç iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin 25 cm olduğu numunelerde elde edilememiştir. Ancak bu numunelerde ise besleme oranını arttırdıkça yüzeyde biriktirilen nanofiber matın kalınlığında düzenli bir artış olduğu belirlenmiştir. Tüm bunlar göz önüne alındığında iğne ucu-toplayıcı arasındaki 25 cm mesafenin daha kontrollü bir nanofiber oluşumuna izin verdiği gözlemlenmiştir. Düşük moleküler ağırlıklı PLGA-DMF çözeltisinden elde edilen numunelerde (P1-P6) boncuk yapılar gözlemlenmiştir. Boncukların yoğunluğu daha düşük besleme oranına sahip (P1 ve P4) numunelerinde diğer numunelere göre daha azdır. Bu durum düşük besleme oranında iğne ucundan çözelti çıkışının daha düzenli olduğunu ve bu sebeple de boncuk yapı oluşumuna neden olan kararsız bir Taylor konisi oluşumunu engellediği sonucuna varılmıştır. Yüksek moleküler ağırlıklı PLGA-kloroform çözeltisinden elde edilen numunelere ait SEM analizleri incelendiğinde; şırıngadan toplam malzeme çıkışı her numune için aynı olmasına rağmen, besleme oranı ve iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe gibi değişkenlere bağlı olarak nanofiber matların kalınlığı 45,9 μm ' den 145,0 μm ' ye kadar çeşitlilik göstermiştir. Bu durum toplam karşı plakaya ulaşan malzeme miktarının ve nanofiberin toplandığı alanın oldukça değişken olduğunu ortaya koymaktadır. Bu numunelerde nanofiberlerin oldukça değişken çaplarda olduğu düzenli bir mat yapısı oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle bu numuneler için ortalama nanofiber çapı belirlenememiş, bunun yerine maksimum ve minimum lif çapları belirlenmiştir. P7-P12 numunelerinde lif çapları μm düzeyinde oluşmuştur. Dielektrik katsayısı DMF' e göre daha düşük olan kloroform çözücüsü elektrik alanda DMF' li çözeltilere göre daha düşük çekim kuvvetlerine maruz kaldığı bu nedenle de lif çaplarının nanometre seviyesine düşürülemediği ve 0,8-6 μm çap aralığında lif yapıları elde edildiği belirlenmiştir. Yüksek moleküler ağırlıklı PLGA-kloroform çözeltisinin iyi bir çekime uğraması için iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe parametresi tek başına yeterli olmamıştır. Mesafe ile birlikte besleme oranı arttıkça lif - çaplarının arttığı ve lif çap dağılımının düzensizleştiği belirlenmiştir. P7-P12 numunelerinde çözücü olarak kloroform kullanılmasından dolayı boncuk oluşumunun oldukça azaltıldığı görülmüştür. Boncuk yapıların besleme oranı arttıkça daha çok oluştuğu görülmüştür. P7-P12 numuneleri arasında 22,5 cm iğne ucu-toplayıcı mesafesi ve 0,03 ml.sa⁻¹ besleme oranı kullanılan P7 numunesinde daha düzgün mikro lif yapıları mat elde

edilmiştir. Genel olarak sabit besleme oranında iğne ucu-toplayıcı mesafe parametresi ele alındığında 22,5 cm ile üretimi yapılan P7, P8 ve P9 numunelerinin 25 cm ile üretimi yapılan P10, P11 ve P12 numunelerinden daha düzgün lifli yapıda bir yüzey elde edildiği açık şekilde görülmektedir. Ancak 0,05 ml.sa⁻¹ besleme oranı kullanılan P9 ve P12 numuneleri arasında önemli bir farklılık görülmemiştir.

Üretilen matların mekanik dayanımları çekme testi uygulanarak belirlenmiştir. Düşük moleküler ağırlıklı PLGA nanofiber matların kopma dayanımları 17,3 cN – 64,8 cN arasında gerçekleşmiştir. P1-P6 numunelerinin kopma gerilmesi değerleri sırasıyla 237,5 kPa, 86,7 kPa, 228,9 kPa, 262,5 kPa, 274,8 kPa ve 313,5 kPa olarak gerçekleşmiştir. Bu gruptaki P2 numunesi haricinde kopma gerilmesi değerlerinin doku iskelesi uygulamaları için yeterli düzeyde olduğu görülmektedir. P1-P6 numunelerinin kopma değerleri incelendiğinde %10 - %21,7 aralığında kopmanın gerçekleştiği görülmüştür. Bu düzeydeki kopma uzamaları doku iskelelerinin vücut içerisindeki hareketlilikleri kompanse edecek düzeyde olduğu düşünülmektedir. Elastik bölge uzama değerleri ise P1-P6 numuneleri için yaklaşık olarak %2 düzeyinde gerçekleşmiştir. Yüksek moleküler ağırlıklı PLGA matların kopma dayanımlarının 66,6 cN – 134,5 cN arasında olduğu görülmüştür. P7-P12 numunelerinin kopma gerilmesi değerleri sırasıyla 241,4 kPa, 273,2 kPa, 165,8 kPa, 380,7 kPa, 91,8 kPa ve 239,8 kPa olarak gerçekleşmiştir. P10 ve P11 numunelerinin kopma gerilme değerleri (380,7 kPa ve 91,8 kPa) diğer numunelerin kopma gerilmesi değerlerinden oldukça farklı olduğu görülmüştür. Bu iki numune dışındaki numunelerin (P7, P8, P9 ve P12) kopma gerilmesi değerlerinin 165,8 kPa – 273,2 kPa aralığında olduğu tespit edilip doku iskelesi uygulamaları için yeterli dayanıma sahip olduğu düşünülmektedir. P7-P12 numunelerinin kopma uzaması değerleri incelendiğinde; P10 numunesi %6,1 kopma uzaması değeriyle en düşük, P12 numunesi ise %173,8 kopma uzaması değeriyle en yüksek kopma uzamasına sahip olduğu belirlenmiştir. P10 numunesinde kopma uzaması %6,1 gibi oldukça düşük bir değerde gerçekleşmiştir. Bu kopma uzaması değeri kopma gerilmesi değeri (380,7 kPa) ile ele alındığında diğer numunelere kıyasla oldukça rijit bir yapı elde edildiği sonucuna varılmıştır.

Düşük molekül ağırlığına sahip PLGA numunelerinin (P1-P6) hücre ekimi denemelerinde oldukça kısa bir sürede hücre kültür çözültisi içerisinde çözündüklerinden bu doku iskelelerinin temas açısı ölçümlerinin yapılmasına gerek duyulmamıştır. Sonuçlar incelendiğinde, PLGA yapılı matların hidrofob yapıda olduğu görülmektedir. P7, P8 ve P9'

da minimum-maksimum lif çaplarının artışıyla hidrofilliklerinin arttığı belirlenmiştir. P10, P11 ve P12 numunelerinde temas açısı değerleri sırasıyla 122,0° 122,5° 110,6° olarak gerçekleşmiştir. P12 numunesinde bir miktar iyileşme olduğu görülmektedir. Aynı besleme oranı, farklı iğne ucu-toplayıcı mesafesi kullanılan numuneler (“P7 ve P10”, “P8 ve P11”, “P9 ve P12”) birbirileriyle kıyaslandığında iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafenin artışının, matların hidrofilliğini arttırdığını göstermiştir.

Hücre ekimi çalışmalarında, mezenkimal kök hücre kültürleri kullanılmıştır. Elde edilen matların toksik etkisinin olmadığı ve bu matların bazı hücre yapıştırıcı malzemeler kullanılarak hücre çoğalması için uygun bir doku iskelesi haline getirilebileceği sonucuna varılmıştır.

Bu tezde elde edilen sonuçlar şöyle özetlenebilir;

- ✓ Biyobozunur sahip olan PLGA (50:50 ve 65:35) kullanılarak farklı formlarda doku iskelesi hazırlamak mümkündür.
- ✓ Kullanılan PLGA polimerinin molekül ağırlığı, kullanılan çözücü, besleme oranı, iğne ucu-toplayıcı arasındaki mesafe, uygulanan gerilim değeri gibi parametrelerin hazırlanan doku iskelesinin morfoloji, mekanik dayanım, hücre canlılığı üzerinde önemli bir etkisi görülmektedir.
- ✓ Hazırlanan doku iskeleleri hücre kültür çalışmalarında toksik bir etki göstermemektedir. Bu sonuç bizim ileriki çalışmalarımız için bir ışık olarak görülmektedir. Ancak mevcut durumda mezenkimal kök hücrelerin doku iskelelerine tutunma, yapışma ve çoğalma davranışları istenilen düzeyde olmadığından öncelikle daha ince nanofiberler ve daha ağ formunda boncuksuz yapıların eldesine yoğunlaşılacaktır. Bunun içinde sistem parametrelerinde iyileşmeye ve karışım polimer çözeltiler (kollajen/PLGA gibi) ile bu sorunların aşılacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdal-hay, A., Tijing, L.D., Lim, J.K., 2013. Characterization of the Surface Biocompatibility of an Electrospun Nylon 6/CaP Nanofiber Scaffold using Osteoblasts. *Chemical Engineering Journal*, 215–216, 57–64.
- Agarwal, S., Wendorff, J.H., Greiner, A., 2008. Use of Electrospinning Technique for Biomedical Applications. *Polymer*, 49, 26, 5603–5621.
- Armentano I., Dottori M., Fortunati E., Mattioli S., Kenny J.M., 2010. Biodegradable Polymer Matrix Nanocomposites for Tissue Engineering: A review. *Polymer Degradation and Stability*, 95, 11, 2126-2146.
- Boland, E.D., Matthews J.A., Pawlowski K.J., Simpson D.G., Wnek G.E., Bowlin G.L., 2004. Electrospinning Collagen And Elastin: Preliminary Vascular Tissue Engineering. *Frontiers in Bioscience*, 9, 1422-1432.
- Chen, G., Sato, T., Ushida, T., Hirochika, R., Shirasaki, Y., Ochiai, N., Tateishi, T., 2003. The Use of a Novel PLGA Fiber/Collagen Composite Web as a Scaffold for Engineering of Articular Cartilage Tissue with Adjustable Thickness. *Journal of Biomedical Materials Research*, 67A, 4, 1170–1180.
- Chen, S., Hou, H., Hu, P., Wendorff, J.H., Greiner, A., Agarwal, S., 2009. Polymeric Nanosprings by Bicomponent Electrospinning. *Macromolecular Materials and Engineering*, 294, 4, 265–271.
- Choi, J.S., Lee, S.J., Christ, G.J., Atala, A., Yoo, J.J., 2008. The Influence of Electrospun Aligned Poly(ϵ -Caprolactone)/Collagen Nanofiber Meshes on The Formation of Self-Aligned Skeletal Muscle Myotubes. *Biomaterials*, 29, 2899–2906.
- Çakmak, S., 2011 Mayıs. Polimerik Nanofiber Üretim Yöntemleri. URL (erişim tarihi: 05.05.2015) http://www.nanott.hacettepe.edu.tr/nanobulten/13/nanobulten13_hr.pdf
- Çallıoğlu, F.C., Jırsak, O., 2013. Elektro Lif Çekim Yöntemi İle Poliüretan Nano Lif Üretiminde Polimer ve Tuz Konsantrasyonunun Lif Özelliklerine Etkisi. *Tekstil ve Mühendis*, 20, 90, 1-16.
- Çaydamlı, Y., 2012. Elektrospinning Yöntemi ile Biyopolimer Esaslı Nanoyapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir. 162s.
- Deliloğlu-Gürhan, S.İ., Özen, M.Ö., Sözer, P., Lüleci, İ., 2009. Kök Hücreler ve Doku Mühendisliği, *Sağlıkta Birikim Dergisi*, ISSN:1306-2891, Cilt:1, Sayı: 5, s143-168.
- Durukan, M.D., 2012. Mikrodalga-destekli Kitosan/Hidroksiapatit Doku İskelesi Üretimi ve İn-vitro Kemik Doku Mühendisliği. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 110s.

- Farokhi, M., Mottaghitalab, F., Shokrgozar, M.A., Ai, J., Hadjati, J., Azami, M., 2014. Bio-Hybrid Silk Fibroin/Calcium Phosphate/PLGA Nanocomposite Scaffold to Control the Delivery of Vascular Endothelial Growth Factor. *Materials Science and Engineering C*, 35, 401–410.
- Formhals, A., 1934. Process and Apparatus for Preparing Artificial Threads, US patent, 1,975,504.
- Goonoo, N., Bhaw-Luximon, A., Bowlin, G.L., Jhurry, D., 2013. An Assessment of Biopolymer- and Synthetic Polymer-Based Scaffolds for Bone and Vascular Tissue Engineering. *Polymer International*, 62, 4, 523–533.
- Gümüşderelioğlu, M., Maviş, B., Karakeçili, A., Kahraman, A. S., Çakmak, S., Tıǧlı, S., Demirtaş, T. T., Aday, S. 2007. Ekim. Doku Mühendisliğinde Nanoteknoloji. URL(erişimtarihi:03.04.2015)<http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bdergi/yeniufuk/icerik/ekDokuMuhNano.pdf>
- Hasırcı V., 2011. BIOMATEN Araştırma Merkezi Tanıtım Sunumu. URL (erişim tarihi: 02.06.2015)https://biomaten.metu.edu.tr/sites/biomaten.metu.edu.tr/files/Vasif_Hasirci_BIOMATEN.pdf
- Huang, Z.M., Zhang, Y.Z., Kotakic, M., Ramakrishna, S., 2003. A Review on Polymer Nanofibers by Electrospinning and Their Applications in Nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63, 15, 2223–2253.
- Jeong, S.I., Kim, S.Y., Cho, S.K., Chong, M.S., Kim, K.S., Kim, H., Lee, S.B., Lee, Y.M., 2007. Tissue-Engineered Vascular Grafts Composed of Marine Collagen and PLGA Fibers using Pulsatile Perfusion Bioreactors. *Biomaterials*, 28,1115–1122.
- Jeong, S.I., Ko, E.K., Yum, J., Jung, C.H., Lee, Y.M., Shin, H., 2008. Nanofibrous Poly(Lactic Acid)/Hydroxyapatite Composite Scaffolds for Guided Tissue Regeneration. *Macromolecular Bioscience*, 8, 328-338.
- John, M.J., Thomas, S., 2008. Biofibres and Biocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 71, 3, 343–364.
- Jose, M.V., Thomas, V., Johnson, K.T., Dean, D.R., Elijah, N., 2009. Aligned PLGA/HA Nanofibrous Nanocomposite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Acta Biomaterialia*, 5, 305–315.
- Ju, Y.M., Choi, J.S., Atala, A., Yoo, J.J., Lee, S.J., 2010. Bilayered Scaffold for Engineering Cellularized Blood Vessels. *Biomaterials*, 31 (15): 4313–4321.
- Khan, N., 2012. Applications of Electrospun Nanofibers in the Biomedical Field. *Studies by Undergraduate Researchers at Guelph*, 5, 2, 63-73.
- Kilic, A., Oruc, F., Demir, A., 2008. Effects of Polarity on Electrospinning Process. *Textile Research Journal*, 78, 6, 532-539.
- Kim, T.G., Shin, H., Lim, D.W., 2012. Biomimetic Scaffolds for Tissue Engineering. *Advanced Functional Materials*, 22, 12, 2446–2468.

- Koç, A., 2008. Mezenkimal Kök Hücrelerinin ve Kompozit İskelelerin Kullanımıyla Kemik Doku Mühendisliği. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 105s.
- Li, W.J., Laurencin, C.T., Caterson, E.J., Tuan, R.S., Ko, F.K., 2002. Electrospun Nanofibrous Structure: A Novel Scaffold for Tissue Engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*, 60 (4): 613–621.
- Liang, D., Hsiao, B.S., Chu, B., 2007. Functional Electrospun Nanofibrous Scaffolds for Biomedical Applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 1392–1412.
- Lin, T.(Ed.), 2011. Nanofibers - Production, Properties and Functional Applications, Chapter 14., InTech. Open Access Publisher
- Martina, M., Hutmacher, D.W., 2007. Biodegradable Polymers Applied in Tissue Engineering Research: A review. *Polymer International*, 56, 2, 145–157.
- Meng, Z.X., Li, H.F., Sun, Z.Z., Zheng, W., Zheng, Y.F., 2013. Fabrication of Mineralized Electrospun PLGA and PLGA/Gelatin Nanofibers and Their Potential in Bone Tissue Engineering. *Materials Science and Engineering C*, 33, 699-706.
- Nair, L.S., Laurencin, C.T., 2007. Biodegradable Polymers as Biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 32, 8-9, 762–798.
- Norton, C.L., 1936. Method of and Apparatus for Producing Fibrous or Filamentary Material, US patent, 2,048,651.
- Patel, H., Bonde, M., Srinivasan, G., 2011. Biodegradable Polymer Scaffold for Tissue Engineering. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, 25 (1): 20-29.
- Puppi, D., Chiellini, F., Piras, A.M., Chiellini, E., 2010. Polymeric Materials for Bone and Cartilage Repair. *Progress in Polymer Science*, 35, 4, 403–440.
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W-E., Lim, T-C., Ma, Z., 2005. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapur.
- Ravichandran, R., Sundarrajan, S., Venugopal, J.R., Mukherjee, S., Ramakrishna, S., 2012. Advances in Polymeric Systems for Tissue Engineering and Biomedical Applications. *Macromolecular Bioscience*, 12, 3, 286–311.
- Rezwan, K., Chen, Q.Z., Blaker, J.J., Boccaccini, A.R., 2006. Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biomaterials*, 27, 18, 3413–3431.
- Schneider, O.D., Loher, S., Brunner, T.J., Uebersax, L., Simonet, M., Grass, R.N., Merkle, H.P., Stark, W.J., 2008. Cotton Wool-Like Nanocomposite Biomaterials Prepared by Electrospinning: In vitro Bioactivity and Osteogenic Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 84B, 2, 350–362.

- Shin, Y.M., Hohman, M.M., Brenner, M.P., Rutledge, G.C., 2001. Experimental Characterization of Electrospinning: *The Electrically Forced Jet and Instabilities*. *Polymer*, 42, 25, 9955-9967.
- Stevens, M.M., George, J.H., 2005. Exploring and Engineering the Cell Surface Interface. *Science*, 310, 5751, 1135-1138.
- Tuzlakoglu, K., Bolgen, N., Salgado, A.J., Gomes, M.E., Piskin, E., Reis, R.L., 2005. Nano- and Micro-Fiber Combined Scaffolds: A New Architecture for Bone Tissue Engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16, 12, 1099-1104.
- Vaz, C.M., Tuijl, S.V., Bouten, C.V.C., Baaijens, F.P.T., 2005. Design of Scaffolds for Blood Vessel Tissue Engineering using a Multi-Layering Electrospinning Technique. *Acta Biomaterialia*, 1, 5, 575-582.
- Wang, H-S., Fu, G-D., Li, X-S., 2009. Functional Polymeric Nanofibers from Electrospinning. *Recent Patents on Nanotechnology*, 3, 1, 21-31.
- Williamson, M.R., Black, R., Kielty, C., 2006. PCL-PU Composite Vascular Scaffold Production for Vascular Tissue Engineering: Attachment, Proliferation and Bioactivity of Human Vascular Endothelial Cells. *Biomaterials*, 27, 3608-3616.
- Wu, W., Feng, X., Mao, T., Feng, Xi., Ouyang, H-W., Zhao, G., Chen, F., 2007. Engineering of Human Tracheal Tissue With Collagen-Enforced Poly-Lactic-Glycolic Acid Non-Woven Mesh: A Preliminary Study in Nude Mice. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 45, 272-278.
- Xu, H., Su, J., Sun, J., Ren, T., 2012. Preparation and Characterization of New Nano-Composite Scaffolds Loaded With Vascular Stents. *International Journal of Molecular Sciences*, 13 (3): 3366-3381.
- Zong, X., Ran, S., Fang, D., Hsiao, B.S., Chu, B., 2003. Control of Structure, Morphology and Property in Electrospun Poly(Glycolide-Co-Lactide) Non-Woven Membranes via Post-Draw Treatments. *Polymer*, 44, 4959-4967.
- Zong, X., Li, S., Chu, B., Chen, E., Garlick, B., Kim, K., Fang, D., Chiu, J., Zimmerman, T., Brathwaite, C., Hsiao, B.S., Chu, B., 2004. Prevention of Postsurgery-Induced Abdominal Adhesions by Electrospun Bioabsorbable Nanofibrous Poly(lactide-co-glycolide)-based Membranes. *Annals of Surgery*, 240 (5): 910-915.
- Zorlutuna, P., Annabi, N., Unal, G.C., Nikkhah, M., Cha, J.M., Nichol, J.W., Manbachi, A., Bae, H., Chen, S., Khademhosseini, A., 2012. Microfabricated Biomaterials for Engineering 3D Tissues. *Advanced Materials*, 24, 14, 1782-1804.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Nilay CAN
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 03.08.1987, Ankara
Medeni hali : Bekâr
Telefon : 0 (535) 850 91 23
e-posta : nily_cans@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	KSÜ /Tekstil Müh. Bölümü	2015
Lisans	KSÜ/ Tekstil Müh. Bölümü	2011
Lise	Özel Seçkin Okulları	2005

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011-2012	Sanko Havlu	Kalite Kontrol-Laboratuvar-İplik Boya Mühendisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Nilay CAN, Mehmet Sabri ERSOY (2014): Nanolif Yapılı Polimerik Doku İskeleleri, Tekstil ve Mühendis, 21: 95, 38-50.

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

1. Ersoy M.S., Kurt A.H., Can N., Çetiner S., 2014: Optimization of Structural Parameters of Nanofiber Scaffolds for Mesenchymal Stem Cells, 2. International Congress on Healthcare and Medical Textiles, September 25-26, İzmir, Turkey (Sözlü sunum).