

**T.C.**  
**BAHÇEŞEHİR ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**  
**MÜHENDİSLİK YÖNETİMİ ANA BİLİM DALI**

**YARA DOKU YENİLENMESİNE YÖNELİK NANOTEKNOLOJİK  
KOMPOZİT MEMBRAN ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**GÜLSEREN SAKARYA BULUŞ**

**İSTANBUL, 2023**



**T.C.**  
**BAHÇEŞEHİR ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**  
**MÜHENDİSLİK YÖNETİMİ ANA BİLİM DALI**

**YARA DOKU YENİLENMESİNE YÖNELİK NANOTEKNOLOJİK  
KOMPOZİT MEMBRAN ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**GÜLSEREN SAKARYA BULUŞ**

**TEZ DANIŞMANI**

**DR.ÖĞR.ÜYESİ ÇAĞLAR SİVRİ**

**İSTANBUL, 2023**



**BAHÇEŞEHİR ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU**

<b>Program Adı:</b>	MÜHENDİSLİK YÖNETİMİ
<b>Öğrencinin Adı Soyadı:</b>	GÜLSEREN SAKARYA BULUŞ
<b>Tezin Adı:</b>	YARA DOKU YENİLENMESİNE YÖNELİK NANOTEKNOLOJİK KOMPOZİT MEMBRAN ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU
<b>Tez Savunma Tarihi:</b>	07.04.2023

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları yerine getirmiş olduğu Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tarafından onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Ahmet ÖNCÜ**  
**Enstitü Müdürü**

Bu Tez tarafımızca okunmuş, nitelik ve içerik açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak yeterli görülmüş ve kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	İmza
<b>Tez Danışmanı:</b>	Dr. Öğr. Üyesi Çağlar Sivri	
<b>2. Üye :</b>	Doç.Dr. Adnan ÇORUM	
<b>3. Üye :</b>	Doç.Dr. Mehmet Akkaş	



**Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.**

Ad, Soyad: GÜLSEREN SAKARYA BULUŞ

İmza:

## ÖZET

### YARA DOKU YENİLENMESİNE YÖNELİK NANOTEKNOLOJİK KOMPOZİT MEMBRAN ELDESİ VE KARAKTERİZASYONU

Sakarya Buluş, Gülseren

Mühendislik Yönetimi Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Çağlar SİVRİ

Nisan 2023, 54 sayfa

Deri vücudumuzu dış etmenlere karşı koruyan en büyük yüzey alanına sahip bir organdır. Dıştaki epidermis vücudu yanık, yaralanma gibi hasarlara karşı korurken iç kısımdaki dermis vücudu travmalara karşı korumaktadır. Yaralanan dokular kısmi ya da tam olarak onarılır. Bu çalışmada, enfeksiyon riskinin yanı sıra bakteri oluşumunu da engelleyebilecek nefes alabilen, akıntıyı absorbe edebilecek, yara iyileşme sürecini kontrol edebileceğimiz şeffaflıkta yeni nesil yara örtücüler yonca, kasık otu, papatya, sarımsak, ciğer otu, kudret narı, sarı kantaron (*H. perforatum L.*) ve aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*) gibi farklı maddeler polietilen oksit (PEO) ve polivinil alkol (PVA) gibi suda çözünebilen polimer çözeltilerine takviye edilerek nanoteknolojik elektroegirme sistemi kullanılarak üretilmiştir. Doku iskelelerinin morfolojik analizi (Alan Emisyon Tabancalı Taramalı Elektron Mikroskobu (FEGSEM)), mekanik analizi (Çekme Testi) ve biyolojik analizleri (Hücre Kültürü) gerçekleştirilerek yara örtücü uygulamalarda kullanılacak malzeme özellikleri belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Yara, Polimer, Bitki, Nanoteknoloji, Kompozit Malzeme

## ABSTRACT

### OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF NANOTECHNOLOGICAL COMPOSITE MEMBRANES FOR WOUND TISSUE REGENERATION

Sakarya Bulus, Gulseren

Engineering Management Master's Program

Thesis Supervisor: Assist. Prof. Caglar SIVRI

April 2023, 54 page

The skin is an organ with the largest surface area that protects our body against external factors. While the outer epidermis protects the body against damage such as burns and injuries, the inner dermis protects the body against trauma. Injured tissues are partially or completely repaired. In this study, new generation wound dressings that can breathe, absorb the flow, and control the wound healing process, which can prevent the formation of bacteria as well as the risk of infection, were examined and calendula (*Calendula officinalis*) were produced using nanotechnological electrospinning system by reinforcing into water-soluble polymer solutions such as polyethylene oxide (PEO) and polyvinyl alcohol (PVA). Morphological analysis (Field Emission Gun Scanning Electron Microscopy (FEGSEM)), mechanical analysis (Tensile Test) and biological analysis (Cell Culture) of tissue scaffolds were performed to determine the material properties that can be used in wound dressing applications.

**Keywords:** Wound, Polymer, Plant, Nanotechnology, Composite Material

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalıőmamı bilimsel temeller ışığında őekillendiren Sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi ağlar SİVRİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tüm süreçte bana araştırma ve kaynaklara erişim imkanı sağlayan kurumum Bahçeşehir Üniversitesine őükranlarımı sunarım.

Tüm eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen her zaman yanımda olan annem Lütfiye SAKARYA, babam Ümit SAKARYA ve kardeőim Kadir Ufuk SAKARYA'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Son olarak kendisi ile birçok başarıya imza attığım canım eşim Öğr.Gör. Erdi BULUŞ ve biricik evladımız Eymen Uras BULUŞ'a atfediyorum tezimi.

# İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SEMBOLLER LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
BÖLÜM 1: Giriş.....	1
BÖLÜM 2: Genel Bilgiler.....	3
2.1 Doku Mühendisliği.....	3
2.2 Doku Mühendisliğinde Temel Faktörler.....	4
2.3 Biyomalzemeler.....	7
BÖLÜM 3: Literatür Araştırması.....	18
BÖLÜM 5: Materyal ve Metot.....	23
5.1 Kullanılan Malzemeler.....	23
5.2 Deneysel Plan ve Teknikler.....	23
5.3 Karakterizasyon Çalışmaları.....	26
BÖLÜM 6: Bulgular ve Tartışma.....	27
6.1 Karakterizasyon Sonuçları.....	27
BÖLÜM 7: Sonuçlar ve Öneriler.....	33
KAYNAKÇA.....	35

## TABLÖLAR LİSTESİ

### TABLÖLAR

Tablo 1 Doku İskelesi Üretimi İçin Farklı Yaklaşımlar.....	14
Tablo 2 Doku İskelesi Üretim Teknikleri.....	14
Tablo 3 Kompozit Doku İskelelerinin Üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	23
Tablo 4 Kompozit Doku İskelelerinin Üretiminde Kullanılan.....	24
Elektroegirme Parametreleri	
Tablo 5 Doku İskelelerinin Arimetik Fiber Çap Değerleri.....	29
Tablo 6 Doku İskelelerinin Çekme Mukavemet Değerleri.....	30
Tablo 7 Nanofiber Membranların Hücre Canlı/Ölü Değerleri.....	31

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### ŞEKİLLER

Şekil 1 Doku Mühendisliği Alanının Şematik Gösterimi.....	4
Şekil 2 Üretimde Kullanılan Elektroğirme Cihazı (Inovenso Marka... NS24XPPro Model Elektroğirme Cihazı)	25
Şekil 3 Doku Iskelelerinin Elektroğirme Tekniği İle Üretim Aşamaları...	26
Şekil 4 Doku Iskelelerinin FEGSEM Morfolojik Görüntüleri; A. %10..... PVA B. %10 PEO, C. %10 PVA-%10 PEO, Ç. %10 PVA-%10 PEO - %5 Yonca, D. %10 PVA-%10 PEO -%5 Kasık Otu, E. %10 PVA-%10 PEO -%5 Papatya, F. %10 PVA-%10 PEO -%5 Sarımsak, G. %10 PVA- %10 PEO -%5 Ciğer Otu, Ğ. %10 PVA-%10 PEO -%5 Kudret Narı, H%10 PVA-%10 PEO- Sarı Kantaron ( <i>H. Perforatum L.</i> ), I. %10 PVA- %10 PEO- Aynısefa Çiçeği ( <i>Calendula Officinalis</i> ), I. %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu- %1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- % 1 Aynısefa Çiçeği ( <i>Calendula Officinalis</i> )-%1 Sarı Kantaron ( <i>H. Perforatum L.</i> )	28

## SEMBOLLER LİSTESİ

°C	Santigrad Derece
%	Yüzde
$\alpha$	Alfa
ml	Mililitre
mm	Milimetre
$\mu\text{m}$	Mikrometre
cm	Santimetre
nm	Nanometre
m/s	Metre/Saniye
N	Newton
$\lambda$	Lamda
g	Gram
$\theta$	Teta
Vc	Votlaj
Fe	Elektrik Kuvveti
Fg	Yer Çekimi Kuvveti
%T	Yüzde Transmittans
“ ”	Tırnak İçinde
°	Açı
\$	Dolar
™	Ticari Marka Simgesi
$\mu\text{g}$	Mikrogram
°C	Santigrad Derece
mm <sup>2</sup> /dk	Milimetrekare/Dakika
MPa	Megapaskal

## KISALTMALAR LİSTESİ

S.K.	Sarı Kantaron
PEO	Polietilen Oksit
PVA	Polivinil Alkol
FEGSEM	Alan Emisyon Tabancalı Taramalı Elektron Mikroskobu
PE	Polietilen
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
A.Ç.	Aynısefa Çiçeği
NaCl	Sodyum Klorür
PBS	Fosfat Tampon Salin
CPE	Hücrelerde Meydana Gelen Değişiklikler
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
KTS	Kitosan
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
HOBt	Hidroksibenzotriazol
TPP	Tiamin Pirofosfat
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
CAM	Civciv Korioallantoin Membran
Ar	Argon
PLA	Polilaktik Asit
PCL	Polikaprolakton
PF	Polifumaratlar
PGS	Poli(Gliserol-Sebakat)
PGA	Poliglikolik Asit
FDA	ABD Gıda Ve İlaç İdaresi
SnO <sub>2</sub>	Katalizör
HAp	Hidroksiapatit
PLGA	Poli (Laktik-Ko-Glikolik Asit)
PU	Poliüretan
ECM	Ekstraselüler Matriks
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
GT	Gentamisin
CPE	Soğuk Levha Elektrospinleme
TE	Elektrospinleme
SLE	Tuz Liçi Elektrospinning
PEG	Polietilen Glikol
PPG	Polipropilen Oksit
3B	3 Boyutlu
CAD	Bilgisayar Destekli Tasarım
PS	Polistiren
PAN	Poliakrilonitril



## Bölüm 1

### Giriş

Travma, yaranın durumu, ödem gibi mahallî etkenler yaranın iyileşmesini büyük ölçüde etkiler. Yaş, beslenme durumu gibi faktörlerin yanında genel sağlık durumu da yaranın iyileşmesini farklı şekilde sağlar. Hayvanlar aleminde solucanlar ve semenderlerde tam rejenerasyonu olayı gerçekleştirmektedir. Fakat memelilerde tam rejenerasyon sadece bazı dokularda mümkün olmaktadır. İnsanlarda bu dokulara örnek olarak epitel dokusu (epidermis, sindirim ve solunum mukozası epiteli), karaciğer parankimi, kemik, düz kaslar ve bazı çizgili kaslar verilebilir. Venöz ülserler, bası yaraları, diyabetik yaralar gibi kronik yaralar bulunmakla birlikte düşme, çarpma gibi durumlarda oluşan geçici yaralar da mevcuttur. Derinin üst ve iç tabakasındaki rejenerasyonla birlikte deri yaralarında iyileşme gözlenmektedir. Fakat özellikle kronik yaraların iyileşmesi son derece zordur. Yaraların daha hızlı iyileşmesini sağlayan, ilacı salabilen, irini emebilen, doku rejenerasyonu sağlayabilen diğer bir taraftan da bakteri girişini engelleyecek yara iyileştirici bantların üretimi oldukça önemlidir. Aynı zamanda nefes aldırabilen yara bantlarının iyileşme sürecini desteklediği bilinmektedir. Bütün bu amaçlarla, yüzey alanı geniş, nanoteknolojik yara bantları diğer bantların yerini almıştır (Bayat vd., 2019, ss.57-66.) Tez çalışmamız kapsamında kullanılacak maddelerin yara iyileşiminde etkilerinin olduğu literatür araştırmalarımız ile ortaya konulmuştur.

Sağiroğlu ve arkadaşları (2017), Sapanca/Sakarya ve yakın illerinde yetişen tıbbi bitkilerden sarı kantaronu (S.K.) yara iyileşmesinde kullandıklarını saptamışlardır. Kanama durdurucu ve yara izi giderimi üzerine etkilerinin olduğunu da ortaya koymuşlardır (Sağiroğlu vd., 2017, ss. 527-539).

Jaric ve arkadaşları (2018), Balkan Yarımadası bölgesinde yara tedavisinde kullanılan özellikle aralarında sarı kantaronun da (S.K.) yer aldığı şifalı bitkileri analiz etmişlerdir. S.K.'nin deri problemlerinde yaralarda ve yanıklarda kullanıldıklarını ortaya koymuşlardır. Çalışma sonuçlarını esas aldıklarında S.K.'nin doku rejenerasyonunu hızlandırdığını saptamışlardır (Jaric vd., 2018, ss. 311-328).

Volkan ve Dinler (2016), Ordu/Kumru ilçe ve civarında yaralarda tercih edilen kuzu kulağı dana dili, karga otu, S.K., damar otu, kuzu pıtrağı ve sinir otu olduklarını belirlemişlerdir (Volkan ve Dinler, 2016, ss. 146-156).

Yücel ve arkadaşları (2017), bası yarası şikayeti üzerine hastanın yarasına S.K. yağı ekstresi sürmüşlerdir ve bası yaralarının rejenerasyonunda etkili olduğunu belirlemişlerdir (Yücel vd., 2017, ss. 236-241).

Bu çalışmada, enfeksiyon riskinin yanı sıra bakteri oluşumunu da engelleyebilecek nefes alabilen, akıntıyı absorbe edebilecek, yara iyileşme sürecini kontrol edebileceğimiz şeffaflıkta yeni nesil yara örtücüler yonca, kasık otu, papatya, sarımsak, ciğer otu, kudret narı sarı kantaron (*H. perforatum L.*) ve aynisefa çiçeği (*Calendula officinalis*) gibi farklı maddeler polietilen oksit (PEO) ve polivinil alkol (PVA) gibi suda çözünebilen polimer çözeltilerine takviye edilerek nanoteknolojik elektroegirme sistemi kullanılarak üretilmiştir. Doku iskelelerinin morfolojik analizi (Alan Emisyon Tabanlı Taramalı Elektron Mikroskopu (FEGSEM)), mekanik analizi (Çekme Testi) ve biyolojik analizleri (Hücre Kültürü) gerçekleştirilerek yara örtücü uygulamalarda kullanılabilecek malzeme özellikleri belirlenmiştir. Yaraların iyileşmesi için vitamin kaynağı önemlidir. Hem bu ihtiyacı karşılayabilecek hem de olası alerjik reaksiyonlara sebebiyet vermeksizin nanoteknoloji farkı ile ideal yara iyileştirici malzeme olarak kullanılması hedeflenmektedir.

## Bölüm 2

### Genel Bilgiler

#### 2.1 Doku Mühendisliği

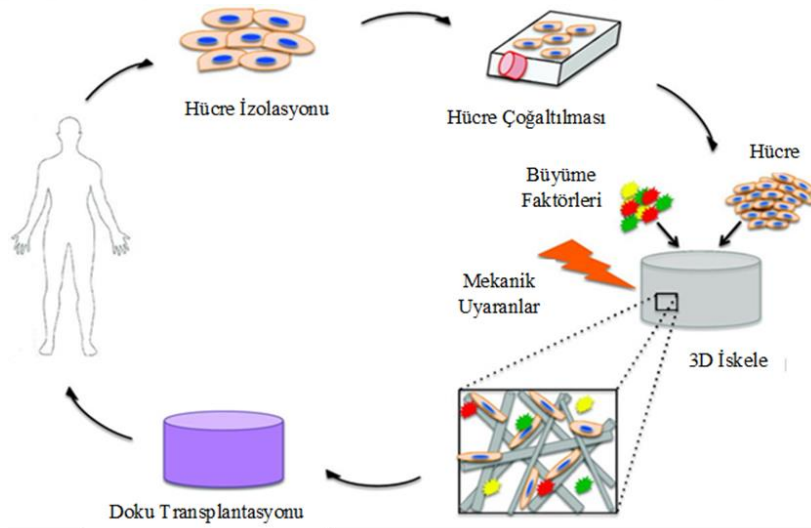
Herkesçe bilinen ‘Frankenstein’ öyküsü, bir doktor adayı gencin hayalindeki kusursuz insanı yaratmak için; farklı ceset parçalarını, simya ve elektriği kullanarak başarıya ulaşmak için kullanmıştır. İkinci Dünya Savaşı yıllarında ise birçok bilim adamı hayvanlarda organ transplantasyonu deneyleri yapar. Bu bilim adamlarından biri olan Rus Nikolai Petrovich Sinitsyn, ilk kez köpeklerde kafa nakli yapmıştır ve iki başlı bir kurbağa modeli yaratmıştır (Cheremisova vd., 2018, ss. 151-168). Zaman ilerledikçe bu hikayeler ve gizli deneyler yerini tıbbi gerçeklere bırakır. 1993 yılına geldiğimizde ise Langer ve Vacanti belki de insanlığın seyrini değiştirecek bir tanımlama yapmıştır: ‘Doku Mühendisliği’ (Langer ve Vacanti, 1993, ss. 920-926).

Transplantasyon, vücutta fonksiyonel görevlerini tamamen veya bir kısmını yerine getiremeyen hasar almış dokunun veya organın vücuttan çıkartılıp, aynı bölgeye sağlıklı doku veya organın yerleştirilmesi işlemidir. Transplantasyonun üç çeşidi vardır. Hastanın sağlıklı doku veya organının tekrardan hastaya transplante edilmesi ototransplantasyondur. Ototransplantasyonda immün cevabı riski olmasa bile rejenerasyon becerisi istenilen seviyede değildir ve hasta birçok kez operasyon geçirmek durumundadır. Allotransplantasyon aynı türde olan fakat birbirinden farklı canlılar arasında gerçekleşen transplantasyon işlemidir. Allotransplantasyonda, doku veya organın kendisine aktarılan canlıda immün cevabı problemi oluşabilir. Son yöntem ksenotransplantasyon yöntemidir ve farklı türler arası transplantasyon yapılır. Ancak bu yöntemin dezavantajları fazladır ve bunlardan birkaçı; doku/organ reddi, ksenojenik enfeksiyon benzeri problemlerdir (Billingham vd., 1956, ss. 357-414; Yi vd., 2017, ss. 233-246). ABD’de 2013 yılında 54.000’den fazla insan böbrek, 12.000 insan karaciğer, 2200 insan kalp ve 1300 insan akciğer nakli için beklemesine rağmen yeterli sayıda verici bulunulamamıştır (Yi vd., 2017, ss. 233-246). Tam bu noktada doku mühendisliği hayat kurtaran bir işlev görür. Doku mühendisliği, doku/organ nakli olmaksızın mühendisliğin ve diğer bilimlerin yöntemlerini/bilgilerini kullanarak, fonksiyonel

görevlerini yerine getirmeyen, zarara uğramış veya doğuştan itibaren normal olmayan organ veya dokuların işlevlerinin destelenmesi açısından ilgilenen bilim dalıdır (Kadıpaşaoğlu, 2014, ss. 452-492). Bunun sonucunda hastaların nakil bekleme problemi ortadan kalkar hem de tranplantasyonlarda oluşan immün cevabı ve doku reddi sorunları, hastanın kendi hücreleri kullanıldığı için çözülmüş olur.

Doku mühendisliğinde stratejik adımlar;

1. Hasta bazlı hücrelerin in vitro ortamda çoğaltılması
2. Çoğaltılan hücrelerin, problemlili bölgenin anatomik ve mekanik yapısıyla uyumlu şekilde hazırlanmış biyobozunur doku iskelesi (taşıyıcı iskelet) üzerine ekilmesi
3. Ekilen hücrelerin doku oluşturması için, hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını destekleyen büyüme faktörleri in vitro ortamda eklenir
4. Oluşturulan yeni dokunun hedef bölgeye nakli (Kadıpaşaoğlu, 2014, ss. 452-492).



Şekil 1 Doku Mühendisliği Alanının Şematik Gösterimi (Serbo ve Gerecht, 2013, s. 8)

## 2.2 Doku Mühendisliğinde Temel Faktörler

Doku mühendisliğinde üç önemli faktör vardır. Bunlar; hücreler,

biyomalzemeler ve biyoaktif moleküllerdir. Hasarlı dokunun/organın tekrar işlevsel hale dönmesi için hücreler kullanılır ve genellikle kullanılan hücreler kök hücrelerdir. Biyoaktif moleküller ise doku iskelesine ekilen hücreleri yönlendirir ayrıca büyüme ve yayılmasını destekleyip ekstraselüler ortam oluşturur. Biyomalzeme ise doku iskelesinin (yapı iskelesi) oluşturulduğu malzemelerdir ve biyobozunur olmalıdır (Serbo ve Gerecht, 2013, s. 8).

### *Hücreler*

Hücre kaynağı doku mühendisliği için önemli bir konudur. Doku mühendisliğinde kullanılan hücreler üç ana tipte sınıflandırılabilir: Otolog (hastanın kendi hücreleri), Allojenik (bir donörden elde edilen insan hücreleri) ve Ksenojenik (hayvansal kökenli hücreler).

Allojenik doku, immünoşüpresif ilaç tedavilerinin gelişmesine bağlı olarak transplantasyon için rutin olarak kullanılmıştır. Allojenik dokuların kullanımındaki en ileri gelişmeler bağ dokusu replasmanı, kıkırdak ve deri alanındadır Peretti vd., 2001, ss. 278-285). Ksenotransplantasyon (türler arası transplantasyon) alanında çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ksenotransplantasyon, Langerhans'ın domuz adacık hücrelerinin tip 1 diyabetes mellituslu hastalara (Rood ve Cooper, 2006, ss. 1269-1274). enjeksiyonu ve domuz nöronal hücrelerinin klinik olarak parkinson hastalığı ve huntington hastalığı olan hastalarda transplantasyon ile kullanım sağlanmıştır (Fink vd., 2000, ss. 273-278).

Doku mühendisliği çalışmalarında onarımı hedeflenen dokuya özgü hücrelerin veya farklılaştırılmış kök hücrelerin doku iskelesine ekildikten sonra hedef dokuya yönelik işlevsel özelliklerin kazandırılmaya çalışıldığı görülmektedir. Kök hücreler, farklı hücrelere dönüşme kapasitesine göre ve kökeni olduğu dokuya göre sınıflara ayrılan hücrelerdir. Farklı uyanların kök hücreyi etkilemesi üzerine bu hücreler bölünürler (Khademhosseini ve Langer, 2016, ss. 1775-1781; Baer ve Geiger, 2012, ss. 1-11).

Farklılaşma yeteneğine göre kök hücreler beş gruba ayrılır:

- Totipotent kök hücreler: Döllenmenin bitiminde ortaya çıkan tek hücreli

zigotun çokça bölünmesinin ardından oluşan 'morula' içerisindeki bulunan hücreler (insanda döllenmeden yaklaşık 4-6 gün sonra) totipotent kök hücrelerdir.

- Pluripotent kök hücreler: Embriyo dışı plesenta ve göbek kordonu benzeri dokular hariç kök hücrelere pluripotent kök hücreler denilmektedir. Embriyonun blastokist aşamasındaki iç hücre kütle hücreleri pluripotenttir. Embriyonik kök hücre ise belirtilen aşamada blastokist dışına çıkarılan bu hücrelerdir.
- Multipotent kök hücreler: Yer aldıkları doku türüne göre bir veya birden fazla hücre çeşidine dönüşebilme yeteneği olan hücrelere multipotent kök hücreler denir.
- Oligopotent kök hücreler: Beyinde bulunan nöral kök hücreler farklı tip nöronları oluşturmak üzere dönüşebilir.
- Unipotent kök hücreler: Hücreler dokularda yerleşik durumdadırlar. İskelet kası dokusunu oluşturan uydu hücreleri değişerek myoblast hücrelerini oluşturur (Yi vd., 2017, ss. 233-246).

Literatürde kök hücrelerin kullanımının haricinde deri doku mühendisliğinde kullanılan keratinositler ve fibroblastlar, karaciğer doku mühendisliğinde hepatosit ve fibroblastların kullanımının örnekleri bulunmaktadır (Gümüşderelioğlu vd., 2011, ss. 461-472; Lee vd., 2016, s. 015007) Farklı hücrelerin uygulamalarda bir arada kullanılması dokuların anatomik yapısına uygun çalışmaların ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Bu sayede laboratuvaradan kliniğe kadar ki süreçte istenilen dokuya en benzer ve en uygun dokunun ortaya çıkması amaçlanmaktadır (Badhe vd., 2017, ss. 1215-1225).

### *Biyoaktif Moleküller ve Büyüme Faktörleri*

Dokuların iyileşme aşamasında aktif olan hücreler hakkında histolojik yöntemler bilgi verse de yara iyileşmesi hakkında çözüme kavuşmayan durumlar söz konusu olmuştur. Yapılan araştırmalarda büyüme faktörleri ve diğer sitokinlerin özellikleri de baz alınarak, yara iyileşmesi aşamasında önemli ve aktif rol oynadıkları sonucu ortaya çıkmıştır (Deuel ve Chang, 2014, ss. 291-308).

Büyüme faktörleri, transmembran reseptörlerinin hedef hücrelere spesifik bağlanması yoluyla hücre sel yanıtları kontrol eden çözünür sinyal molekülleridir. Hücre iskelesi yapısına uygulanan büyüme faktörleri, büyüme faktörlerinin kullanılmasına kıyasla doku yenilenmesini desteklemeye yardımcı olabilir (Ikada, 2016, ss. 589-601; Yun vd., 2011, ss. 1893-1902).

### **2.3 Biyomalzemeler**

Biyomalzeme seçiminde oluşabilecek herhangi yanlışlık, üretilen doku veya organın vücuda implantı sonrası oluşabilecek istenmeyen etkilere sebep olabilir. Bu yüzden seçilen malzemenin biyouyumlu olması gerekmektedir. Biyouyumluluk, bir biyomateryalin, o terapinin alıcısında veya faydalanıcısında istenmeyen veya sistemik etkiler ortaya çıkarmadan ve bu spesifik durumda en uygun yararlı hücre sel veya doku tepkisinin üretilmesi ve tedavinin klinik olarak uygun performansının optimize edilmesi olarak tanımlanır (Kulkarni ve Rao, 2013, ss. 27-63). Aynı zamanda seçilen malzemenin sadece doku ile beraber durağan olması değil dokuyla etkileşim halinde olması gerekmektedir. Canlı vücudunda biyomalzemenin etkileşimde olacağı yerin özellikleri, kullanılması gereken biyomalzemenin özelliklerini belirlemede önemlidir. Burada önem verilmesi gereken konu, malzemenin kullanılacağı bölgede ki doğal doku ile özelliklerinin benzeridir. Biyomalzeme seçiminde; metallerin istenilen düzeyde işlenebilirliği olmaması ve biyouyumluk problemlerinin olması, seramiklerin ise kırılabilir bir yapıda olmalarından ötürü, doku mühendisliğinde genellikle biyobozunur ve biyouyumlu polimerler tercih edilmektedir (Yi vd., 2017, ss. 233-246).

#### *Doku İskelesi Yapımında Kullanılan Biyomalzemeler*

Dokunun gerçek mikroçevresine benzer yapıda olan ve 3 boyutlu olarak üretilen destek malzemesine doku iskelesi (yapı iskelesi) denir. Yeni doku oluştuktan sonra, yeni dokunun çevreleyen konakçı doku ile entegrasyonuna izin verecek şekilde bozunmalıdır. Üstelik ekilen hücrelerin, in vitro yetiştirme sırasında ve implantasyondan sonra kültür ortamından besinler ile beslenmesine izin vermeli ve yeni kılcal damarlar tarafından beslenmelidir. Ayrıca, iskelenin bileşimi, yapısı ve dolayısıyla mekanik özellikleri, doku ve organla eşleşmelidir. Örneğin,

ekstraselüler matriksin (ECM) taklidi olarak, ideal iskeleler sadece moleküler ve yapısal ipuçlarını içermemelidir; bu sinyallerin uzayda düzenlenmesi ve matrisin dinamik olması ve çevresel değişikliklere yanıt vermesi gerekir (Gelse vd., 2003, ss. 1531-1546). Doku iskelelerinin gözeneklerinin boyutu ve sayısı da önem teşkil eder. Çünkü por olarak adlandırılan bu gözenekler sayesinde hücreler doku iskelesinin içinde ilerler, hücreler arasında besin geçişi olur ve atık maddeler ortamdaki uzaklaştırılır. porların boyutu istenilenden küçük olursa, hücreler porları kapatır ve doku iskelesinin içerisine hücre penetrasyonu ve besin/atık madde difüzyonu engellenmiş olur (Tıǧlı, 2009).

Doku mühendisliği uygulamaları için kullanılan çok gözenekli (porlu) seramik ve cam yapı iskelelerinin farklı mikro yapıları veya mimarileri vardır. Bunlar geniş ölçüde iki sınıfa ayrılabilir: rastgele gözeneklilik ve tasarlanmış gözeneklilik. Rastgele gözenek mimarileri, gözenek dağılımına önemli bir uzun menzil sırası veya hizalama göstermeyen bir yapı gösterir, gözeneklerin boyutu ve şekli ortalama değerlere nazaran önemli farklılıklar içerir. Bu tür yapılara genellikle seramik köpükler denir ve bunlar, bir tuz çözeltisinin bir polimer köpük şablonunun etrafına dökülmesi, çözünür bir tuz veya polimer mikro boncuklar gibi poro-jeneratörler kullanılarak ve yüzey aktif madde köpürtücü ajanların ve stabilizatörlerin ilave edilmesiyle elde edilebilir (gaz köpükleştirme yöntemi) (Sabree vd., 2015, ss. 8425-8432).

Yeşil ve sürdürülebilir kaynaklardan türetilen bitki bazlı doğal polimerler, endüstriyel uygulamalar için minimum kimyasal işleme gerektiren doku mühendisliği için yeni biyomalzemeler gereksinimleri karşılar. Yenilenebilir, seri üretimleri kolaydır ve nispeten ucuzdurlar. Yapılan çalışmalar, bitkilerin ve bitki bazlı polimerlerin kullanımını açıklamakta ve bu biyomalzemelerin doku mühendisliği için daha yeşil ve doğal bazlı iskelelerin montajındaki kolektif rollerini vurgulamaktadır (Iravani ve Varma, 2019, ss. 4839-4867).

#### *\*Polimerik Biyomalzemeler*

Biyomalzemeler kullanım amacına göre doğal veya sentetik polimerler bulunmaktadır.

## *Doğal Polimerler*

Doğal polimerler sıcaklık duyarlılığı nedeniyle, doğal polimerler erime noktasına ulaşmadan yok edilir ve karmaşık yapısı işlenmeyi zorlaştırır. Bitki ve hayvan kaynakları tarafından çeşitli doğal polimerlerin hazırlanması nedeniyle diğer turlerden insana hastalık bulaşma olasılığı, bu polimerlerin dezavantajları olarak bilinmektedir.

### *Kitin*

Kitin hayvan iskelet sisteminde, göz merceğinde, tendonlarda, eklem bacaklıların ve böceklerin dış katmanında ve araknidlerde ve kabuklularda vücutta (yengeç, karides ve ıstakoz) ve yumuşakçalar gibi bazı hayvanlarda vücutun iç kısımlarında ve bitkilerde, mantar hücre duvarında bulunur. Kitin ve kitosan (kitinin türevi), yüksek mukavemet, biyobozunurluk ve toksik olmayan gibi birçok kimyasal ve fiziksel özelliğe sahiptir. Kitin beyaz bir görünüme sahiptir. Kitinin doku mühendisliğinde birçok uygulaması vardır. Kitin, biyolojik olarak parçalanabilirlik nedeniyle yara iyileşmesi için kullanılabilir (Asghari vd., 2017, ss. 185-192).

### *Kitosan*

Kitosan, tekrarlanan kitin monomerleri tarafından üretilen bir Glocan türevidir. Kitinin potasyum hidroksit içinde kaynatılması, kitosan ile sonuçlanır. Gerçekten de deasetillenmiş kitin ve en doğal aminopolisakarittir. Kitosan, biyoyumluluk, toksik olmayan ve biyobozunurluk gibi özelliklere sahiptir. Kitosan yüksek kan uyumluluğuna sahiptir ve makrofajlar daha az aktiftir. Tıp ve eczacılık bilimleri alanında birçok uygulaması vardır. Toksik çözelti kullanılmadan kitosan enjekte edilebilir formda hazırlanabilir (Malafaya vd., 2007, ss. 207-233).

### *Aljinat*

Aljinat, polisakkarit doğrusal, homojen ve doğaldır. Aljinat esas olarak koyu ve kahverengi algler tarafından hazırlanır. Doğal yapısı nedeniyle, tıp alanında, toksik metalleri emmek için kandaki detoksifikasyon, birçok ilacın işlenmesine yardımcı

olmak, diş protezlerinde kalıp malzemeleri, stabilize edici hücreler ve hücre kapsüllenmesi, yanıkların iyileşmesi ve yanıkların iyileşmesi gibi birçok uygulamaya sahiptir (Malafaya vd., 2007, ss. 207-233).

### *Kolajen*

Kolajen memelilerin hücrelerinden üretilir. Vücut proteininin % 35'ini oluşturan ve bağ doku, cilt, kıkırdak, tendon ve kemiğin ana elementini oluşturan son derece özel bir proteindir. Aynı zamanda orijinal kalp kapakçıklarının hücre dışı matriksin ana proteindir. Kolajen, önemli bir gerilme mukavemetine sahiptir ve kas dokusunda, ince kasların kütesinin yaklaşık % 6'sını oluşturur; endomisyum önde gelen bir bileşeni olarak faaliyet göstermektedir (Willerth ve Sakiyama-Elbert, 2008, ss. 1-25). Kolajen, yumuşak keratin ile birlikte; cildin elastik olmasından ve gücünden sorumludur ayrıca azlığı yaşlılarda buruşukluk ile sonuçlanır. Kozmetikte, yanık ameliyatlarında ve doku gelişiminde yaygın olarak kullanılır, doku mühendisliğinde ise kan damarları ve kalp kapakçıkları dahil çeşitli uygulamalarda hücre yapışmasını arttırmak için kullanılır. Olumsuz yönü ise kolajen patojenleri iletebilir ve immün reaksiyonu indükleyebilir. Daha az antijenik hale getirmek için hücre ekiminden önce tamamen saflaştırılması gerekir. Dahası, mekanik mukavemeti yoktur, biyobozunurluğunu kontrol etmek zordur ve üretimi kolay değildir. Farklı kolajen türleri, yaklaşık 20 gen tarafından birleştirilir ve ana artıklar olarak glisin, Prolin ve Hidroksiprolin mevcudiyetinde 1.000 amino asit içeren üç polipeptit zincirinden oluşur (Deuel ve Chang, 2014, ss. 291-308).

### *Jelatin*

Jelatin katı maddedir, yani kolajenlerin hayvanların derisi ve kemikleri içindeki yarı saydam ve renksizdir. Jelatin suda kolloid ve jel oluşturur. Jelatinin birçok kimyasal özelliği kolajen gibidir ve kolajenin mekanik özellikleri sıcaklığa bağlıdır. Jelatin ayrıca ilaç dağıtım sistemleri, farmasötik kapsül kabukları, hücre kültürü ve doku mühendisliği iskelelerinin hazırlanması gibi tıp bilimleri alanında birçok uygulamaya sahiptir (Iravani ve Varma, 2019, ss. 4839-4867; Asghari vd., 2017, ss. 185-192).

### *Sentetik Polimerler*

Sentetik polimerler kabul edilebilir işlem esnekliğine sahiptir ve doğal ECM proteinlerine kıyasla immünolojik kaygıları yoktur (Liu vd., 2012, ss. 911-919).

Polilaktik asit (PLA), polikaprolakton (PCL), polifumaratlar (PF), Poli(Gliserol-Sebakat) (PGS) ve poliglikolik asit (PGA), gibi sentetik biyobozunur polimerlerin kardiyovasküler doku mühendisliğinde kullanışlı olduğu bildirilmiştir. Bahsedilen tüm malzemeler ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmış biyoyumlu polimerik malzemeler olarak bilinmektedir. Özellikle PLA ve PGA doku mühendisliği uygulamalarında yaygındır. PCL ve PF, çoğunlukla ilaç salınımında kullanılır. PCL'nin bozulma süresi (yaklaşık 3 yıldan fazla) diğer polimerlere kıyasla (PLA'dan (2 yıl) ve PGA'dan (2-3 ay)) daha uzundur (Fallahiarezoudar vd., 2015, ss. 556-565).

### *Poliglikolik asit (PGA)*

Poliglikolik asit / veya poliglikolit (PGA), biyolojik olarak parçalanabilen ve biyoyumlu alifatik poliesterlerden biridir, yani tıbbi uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. PGA'dan yapılan doku mühendisliği iskeleleri tıbbi uygulamalarda kullanılmıştır. Doku mühendisliği alanında birçok çalışma PGA nanofiberleri kullanılarak yapılmıştır. Kobayashi ve arkadaşları (2013), PGA ve kolajenin kombine nanokompozitini hazırlamışlardır. Hayvan modellerinin sonuçları, implantasyondan sonraki 5 gün içinde PGA-kolajen nanokompozitlerinin tamamen işgal edildiğini ve vaskülarize edildiğini saptamışlardır (Kobayashi vd., 2013, ss. 1318-1326). Patrascu ve arkadaşları (2013), üretilen poliglikolik asit-hiyalüronan (PGA-HA) iskeleleri ve in vitro olarak ve bir tavşan eklem kırıkta defekt modelinde önceden dondurularak kurutulmuş (PGA-HA) implantların kondrojenik potansiyelini analizini etmişlerdir (Patrascu vd, 2013, ss.1310-1320).

### *Polilaktik Asit (PLA)*

PLA, biyolojik olarak parçalanabilen, biyolojik olarak adsorbe edilebilir, PLA laktitten halka açıcı polimerizasyon ile hazırlanabilir. PLA, vidalar, pimler, çubuklar,

ortopedik cihaz şeklinde tıbbi implantlar olarak kullanılır. Chang (1976), çalışmasında PLA'nın tıbbi uygulamalarından biri uygulamıştır. Bu çalışmada PLA, enzimler, hormonlar, aşılarda ve diğer biyolojik ürünler içeren yarı geçirgen bir mikrokapsül olarak kullanılmıştır. Yarı geçirgen mikrokapsüller olarak polilaktik asidin kullanılmasının nedenleri biyolojik olarak parçalanabilirliği olup ayrıca yok edildikten sonra vücutta toksik olmayan metabolit gerçekleştirmiştir (Chang, 1976, ss. 25-32). Nanofiberler, osteoblastın büyümesi ve farklılaşması için bir iskele olarak kullanılabilir. Ancak Mi ve arkadaşları (2013), tarafından yüzey pürüzlülüğü ve ayarlanabilir olması gibi iyi özelliklere sahip iskele tasarımı için PLA ve PU birleştirilmiştir. Pürüzlülük ve ayarlanabilir olma gibi özelliklere sahip bu iskele yumuşak ve sert doku rejenerasyonu için uygun bir aday olduğunu ortaya koymuşlardır (Mi vd., 2013, ss. 4767-4776).

#### *Polikaprolakton (PCL)*

PCL, bir katalizör ( $\text{SnO}_2$ ) ve ısı kullanılarak kaprolaktonun halka açıcı polimerizasyonu ile sentezlenir. PCL doku mühendisliğinde kullanılır. Zheng ve arkadaşları (2014), farklı gentamisin (GT)/PCL oranlarına sahip elektrospun membranlar üretmişlerdir. Sonuçları incelediklerinde, çeşitli GT/PCL oranlarına sahip üç çeşit membranın kondrositlerle biyoyumluluk sergilediğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca çalışmalar yüksek PCL içeriğinin 3 boyutlu kıkırdak rejenerasyonu için elverişsiz olduğunu saptamışlardır. Elektrospun GT/ PCL'nin kıkırdak ve diğer doku rejenerasyonları için daha iyi bir aday olduğu sonucuna varmışlardır (Zheng vd., 2014, ss. 151-164). Maheshwari ve arkadaşları (2014), kemik rejenerasyonu için hidroksiapatit nanopartiküller (HAp) ile karıştırılmış elektrospun polikaprolakton (PCL)/polivinil alkol (PVA) iki tabakalı nanofiberlere dayanan polimer-seramik iki tabakalı nanokompozit bir iskele üretmişlerdir. Sonuçları incelediklerinde PVA /HAp)/PCL nanofiberlerin kemik dokusu mühendisliği uygulaması için biyoyumlu iskeleler olduğunu belirlemişlerdir (Maheshwari vd., 2014, ss. 8469-8477). Nanofiberler, diğer polimerler ile kombinasyon halinde polikaprolaktondan hazırlanır ve doku mühendisliği için uygun iskeleler sağlar. Son çalışmalar, PLC'in kemik ve kıkırdak rejenerasyonunda kullanılacak biyoyumlu bir iskele olduğunu göstermektedir.

### *Poli (laktik-ko-glikolik asit)(PLGA)*

Tıbbi uygulamada, terapötik araçlarda ve ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılan biyolojik olarak parçalanabilen ve biyoyumlu kopolimere PLGA denilmektedir. PLGA, iki farklı glikolik asit ve laktik asit monomerinin halka açıcı kopolimerizasyonu ile sentezlenir. PLGA doku mühendisliğinde kullanılır. Qian ve arkadaşları (2014), yaptıkları çalışmada poli (dl-laktik-co-glikolik asit)/nano-hidroksiapatit (PLGA/nHA) yapı iskeleleri üretmişlerdir. Sonuçları incelediklerinde, nHA'nın PLGA ile birleştirilmesinin PLGA'nın kristallik derecesini azalttığını ve biyomorfik iskelelerin kompaktif modülünü önemli ölçüde arttırdığını belirlemişlerdir (Qian vd., 2014, ss. 95-101). PLGA içeren nHA'ların yapılmış iskeleler, kemik rejenerasyonu için önemli olan osteoblastları uyurabilir.

### *Poliüretan (PU)*

Poliüretan (PU), yapay cilt, vasküler greftler, nöral bağlantılar, kemik greftleri ve eklem kıkırdağı onarımı için malzemeler olarak kullanıldı. PU'lar, biyoyumlu oldukları ve mükemmel mekanik özelliklere ve mekanik esnekliğe sahip oldukları için doku iskelesi imalatı için cazip adaylardır. İskele üretimi için bir malzeme olarak PU biyolojik olarak yeniden emilebilir olmalıdır, bu nedenle poliester-üretanlar esas olarak PCL, PLA veya PGA'dan sentezlenirken polieter-üretanlar polietilen glikol (PEG) veya polipropilen oksit (PPG) gibi poliollerden yapılır (Janic ve Marzec, 2015, ss. 586-591).

### *Doku İskelesi Üretim Teknikleri*

Doku mühendisliği için uygun bir iskele hazırlamak için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Doku mühendisliğinde kullanılan iskeleler yüksek bir gözenekliliğe, biyolojik uyumluluğa sahip, büyüme ve hücre farklılaşmasını artırabilir. İskele hazırlamak için kullanılan yöntemler arasında elektrospinning yöntemi, solvent dökümü, dondurarak kurutma ve gaz köpürtme bulunmaktadır.

Tablo 1 Doku İskelesi Üretimi İçin Farklı Yaklaşımlar (Chan ve Leong, 2008, ss. 467-479)

Doku İskelesi Yaklaşımları	
Önceden üretilmiş doku iskelesine hücre ekimi	Gözenekli yapı iskeleleri hücre ekilmeden önce imal edilmelidir
Hüresizleştirilmiş hücre dışı matris (ECM)	Bu yöntem, hücrel antijenleri dokulardan uzaklaştırır (immünojenikliğı azaltır), ancak ECM bileşenlerini korur.
Kendiliğinden salgılanan ECM ile birbirine karışan hücreler	Hücreler birleşene kadar bir polimer üzerinde kültürlenebilir. Hücreler kendi ECM'lerini salgılar ve membran tabakaları oluşur. Hücre tabakaları daha sonra ayrılabilir ve implante edilebilir.
Hücre kapsülleme	Hücreler, enjekte edilmeden önce genellikle hidrojellerde tutulur.

Tablo 2 Doku İskelesi Üretim Teknikleri (Akter, 2016, ss. 3-16; Jana ve Lerman, 2015, ss. 1503-1521; Sachlos ve Czernuszka, 2003, ss. 29-40; Ma vd., 2015, ss. 101-109; Chung ve Park, 2007, ss. 249-262; Badami vd., 2006, ss. 596-606)

Doku İskelesi Üretim Teknikleri	
Solvent dökümü/Partikül liçi	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Polimer organik çözücü içinde çözülür.</li><li>✓ Porojen olarak işlev gören parçacıklar (örn. Tuz) eklenir.</li><li>✓ Solvent buharlaşarak gömülü parçacıklar içeren bir polimer matrisi bırakır.</li></ul>
Gaz köpürtme	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Polimerler, karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ile doyuruluncaya ve bir köpük varlığı ortaya çıkana kadar yüksek basınçlarda gaz köpürtücü ajanlara (örn. CO<sub>2</sub>) maruz bırakılır.</li><li>✓ Basınç düşürülerek polimerden CO<sub>2</sub> salınımı sağlanır.</li><li>✓ Çekirdeklenme ve polimerin içinde gözeneklerin büyümesi sağlanır.</li></ul>

Elektrospinning (Elektroğirme)	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Bir spinneret'e pompalanan bir polimer çözeltilisine, yüksek voltaj ile birlikte yerçekimi kuvveti veya mekanik basınç uygulanır.</li><li>✓ Elektrik yükü polimer çözeltilisi yüzey gerilimini aştığında, bir polimer püskürtme ortaya çıkarılır.</li><li>✓ Bunu, katı nanofiberleri oluşturan solvent buharlaşması izler.</li></ul>
Lif yapıştırma	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Polimer fiberleri, 3 boyutlu (3B) gözenekli bir matris ile sonuçlanan ikincil bir polimer kullanarak çapraz noktalarında bağlanır.</li></ul>
Hızlı prototipleme	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Bir polimer toz tabakası üzerine mürekkep püskürtmeli baskı ile bileşenler üretir.</li><li>✓ Püskürtme aparatı konumu bir bilgisayar destekli tasarım (CAD) programı ile kontrol edilir.</li><li>✓ Gözenekleri oluşturmak için polimer tozu katmanına tuz ilave edilebilir.</li></ul>
Eriyik kalıplama	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Polimerler camsı geçişinin üzerinde ısıtılarak daha sonra şekillendirme işlemi uygulanır.</li></ul>
Membran laminasyon	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Polimerik membranların hazırlanmasını ve ardından membranların istiflenmesini içerir.</li><li>✓ Ayrı membranların özellikleri, son yapı iskelesinin yığın özelliklerini belirler.</li></ul>
Dondurarak kurutma	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Bir emülsiyon oluşturmak için bir polimer çözücü çözeltilisinin su ile homojenleştirilmesini içerir.</li><li>✓ Daha sonra sıvı hal yapısını sabitlemek için emülsiyon hızla soğutulur.</li><li>✓ çözücü ve su dondurularak - kurutularak uzaklaştırılır.</li></ul>
3 boyutlu yazıcı	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Malzemelerin kat kat üst üste bindiği katmanlı üretim ilkesine dayanır.</li></ul>

## *Elektrospinning ile Nanofiber Üretimi*

Elektrostatik eğirme veya elektrospinning, normal dokuma olmayan fiber imalat teknikleri ile değerlendirilebilen, onlarca nanometreden mikron çaplarına kadar, dokunmamış ve ultra ince nanosaleli fiberler üretebilen iyi bilinen bir işlemdir. Elektrospinning teknolojisi 1990'lar da Reneker ve arkadaşları tarafından üretilmiştir.

Nanofibröz malzemeler incelenmekte ve geliştirilmektedir, çünkü bunlar çeşitli uygulamalar için önemli umutlar içermekte ve nanoyapılı malzemelerin bazı avantajlarını sağlamaktadır. Nanofibröz materyaller, biyoyumlu ve biyolojik olarak bozunabilir polimerlerin sentezlenmesi ve elektrospinning işlemleriyle üretilmektedir.

## *Nanofiberlerin Üretim Yöntemleri*

Kalıp sentezi çizme, öztoplanma, elektrospinning (rastgele, hizalı ve çekirdek-kabuk nanofiberleri) ve faz ayırma gibi nanofiberlerin imal edilmesi için birçok yol vardır. Nanofiberlerin üretilmesi için en önemli üç yöntem kendinden montaj, elektrospinning ve faz ayırmadır çünkü kalıp sentezi sürekli fiber üretmediğinden çekme işleminde sadece uygulanan gerilimleri tolere eden viskoelastik malzemeler kullanılabilir (Ito vd., 2005, ss. 43-49; Ashammakhi vd., 2007, ss. 3-17).

## *Faz Ayrımı*

Çözücünün donma noktasının altında söndürülen polimer çözeltisi, gözenekli bir yapı oluşturmak üzere dondurularak kurutulur (Venugopal vd., 2008, ss. 34-48). Termodinamik ve kinetik faktörler değiştirilerek bu işlemle çeşitli nanoporöz köpükler kolayca elde edilir. Nanoporöz morfolojinin etkileri jelasyon ile belirlenir. Nanoölçekli fiber kompleksinin oluşturulmasına düşük jelasyon sıcaklığı neden olurken, kristallerin çekirdeklenmesi ve trombosit benzeri yapıların oluşturulmasını sağlar (Merritt vd., 2012, ss. 266-278).

## *Öztoplanma*

Bu yöntemde moleküller ve atomlar kararlı bir yapı oluşturur. Öztoplanma yöntemi, örneğin unilamellar ve multilamellar veziküller, bilayer, nanopartiküller, membranlar, lifler, filmler, miseller ve kapsül gibi farklı yapıları yapmak için kullanılabilir. Öztoplanma yöntemiyle elde edilen fiber, elektrospinning ile üretilenlerden çok daha ince olabilir, ancak yöntemin düşük üretkenlikle komplikasyonu, öztoplanma yöntemiyle ilişkili en büyük sorundur (Badami vd., 2006, ss. 596-606; Ito vd., 2005, ss. 43-49; Ashammakhi vd., 2007, ss. 3-17; Venugopal vd., 2008, ss. 34-48; Merritt vd., 2012, ss. 266-278).

## *Elektrospinning*

Elektrospinning, basitlik, uygun fiyat, yüksek gözeneklilik (iyi gözenek boyutu dağılımı) gibi benzersiz özelliklere sahiptir ve sürekli fiberler üretir. Elektrospinning yöntemi kullanılarak üretilen fiberlerin çapı 3 nm ile birkaç mikrometre arasında değişirken, diğer prosedürler kullanılarak elde edilen fiberlerin çapı ise 500 nm ile birkaç mikron arasındadır (Venugopal vd., 2008, ss. 34-48; Merritt vd., 2012, ss. 266-278).

## *Elektrospinning Tekniği ve Elektrospinning İşlemi Kullanılarak Nanofiberlerin Sentezi*

Standart elektrospinning makinesi spinneret (veya iğne), geniş bir voltaj aralığına sahip yüksek voltajlı güç kaynağı, küçük iğneli bir cam şırınga ve bir metal toplayıcıdan oluşur. Polimerin akış hızını ve hacmini yönetmek için kullanılan bir şırınga pompası tarafından tutturulan iğne polimeri çıkarır. Polimer çözeltisini sabit bir hızda çıkaran şırıngaya bir polimer çözeltisi doldurulur. Polimer çözeltisi doldurulduktan sonra çözelti elektrik ile yüklenir ve şırınganın ucunda elektrik yüklü bir polimer damlacık oluşur. İlk olarak elektrik potansiyelinin artması, iğnenin ucundaki yarım daire şeklindeki çözeltinin dışa doğru uzamasına neden olur ve Taylor konisini oluşturur. Yüksek voltajın temasıyla nanolif üretimi toplayıcı üzerinde birikim ile gerçekleştirilir (Taylor, 1969, ss. 453-475; Reneker vd., 2000, ss. 4531-4547; Huang vd., 2013, ss. 2223-2253; Eatemadi vd., 2016, ss. 111-121).

### **Bölüm 3:**

#### **Literatür Araştırması**

Shimizu ve Nonomura (2018), insan derisini taklit edebilecek yapay deri üzerine çalışmışlardır. Yapay deri; Sert bir yüzey filmi yumuşak bir alt tabakadan oluşan suni deri modelleri oluşturmuşlardır. Farklı yüzey kalınlıklarına ve substrat sertliğine sahip A'dan D'ye suni deri modelleri hazırlamak için, substratlardan birine a veya b filmi tutturmuşlardır. Akrilik yapıştırıcı a ve b filmlerinin bir tarafına kaplandığından, filmi üretilen substrat üzerine sabitlemek mümkün olduğunu belirtmişlerdir. Poliüretan (PU) substratları elde etmek için 90g ana bileşen ve 30g sertleştirici akrilik reçine kalıbına dökülerek floresan levha ile kaplanarak 24 saat oda sıcaklığına bırakılmışlardır. Modelin dokunsal skorunun insan derisinin geleneksel suni deriden daha yakın olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmalarında geliştirilen suni derinin, sıvı kozmetik kullanırken yaşanan hisleri değerlendirecek bir sistem oluşturulmasında faydalı olmasını vurgulamışlardır (Shimizu ve Nonomura, 2018, ss. 47-54).

Sheikh ve arkadaşları (2015), çalışmalarında elektroöğirme tekniğinin eksikliklerinin üstesinden gelmek için suda çözünür bir polimer yani ipek fibroin için hücrelerde meydana gelen değişiklikler Soğuk levha elektrospinleme (CPE) teknolojinin kullanımını esas almışlardır. Bu teknik kullanılarak elde edilen nanolifler elektrospinleme (TE) ile üretilen 2 boyutlu nanolif levhalar ve tuz liçi elektrospinning (SLE) teknikleri kullanılarak üretilen 3 boyutlu nanolif yapı iskeleleri ile karşılaştırma yapmışlardır. Çalışmada CPE ile 3 boyutlu nanofiberleri kullanarak deri yerine kullanılması geliştirmeyi amaçlamışlardır. CPE ile üretilen nanofiber diğer tekniklerle üretilen nanofiberlere göre kalınlığı daha mükemmel olduğunu belirtmişlerdir. CPE kullanılarak yapılan elektroöğirme, TE ve SLE teknikleri kullanılarak elde edilenlerden daha yüksek gözenekli nanolifler üretebildiğini savunmuşlardır. CPE tekniği kullanılarak 10 mm'den daha büyük bir tam kalınlıkta 3 boyutlu nanofiber iskele elde etmek mümkün görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu teknik, kesin şekil ve morfolojilere sahip biyomalzemelerin üretimini kolaylaştırmak için doğrudan uygulanabilir; özellikle, bu tür nanolifler, dermise, burna veya kulağa benzeyen yapılar oluşturmak veya diğer yüz kusurlarını onarmak için kullanılabilir olduğunu belirtmişlerdir (Sheikh vd., 2015, ss. 681-691).

Buluş ve Buluş (2021), çalışmalarında doğal yara iyileştirici özelliği olan maddelere ilave ederek elektroğirme tekniği ile nanofiber membran üretimi gerçekleştirmişlerdir. FEGSEM ile yüzey özelliklerini saptamışlardır. Papatya, bal, sarımsak, Çam sakızı, nar, yonca gibi bitkiler. Polikaprolakton (PCL), polivinil alkol (PVA), polietilen oksit (PEO), poliüretan (PU), polistiren (PS), polilaktik asit (PLA), poliakrilonitril (PAN) ve çeşitli çözücüler kullanmışlardır. Yara iyileştirmek için solüsyonlar hazırlamışlardır. Elektroğirme yöntemi ile yara iyileştirici nanofiber membran üretimi sağlamışlardır. Sonuçları incelediklerinde nanofiber membranın morfolojik karakteri incelenerek nanolif çap aralıklarını belirlemişlerdir. Ürettikleri polimerik matrisli kompozitlerin iyi birer yara iyileştirici olacağını vurgulamışlardır (Buluş ve Buluş, 2021, ss. 12-20).

Sung ve arkadaşları (2010), iyileştirme özelliği bulunan minosiklin yüklü bir yara örtüsü geliştirmeyi amaçlamışlardır. Çapraz bağlı hidrojel filmler, donma-çözme yöntemi kullanılarak PVA ve kitosan (KTS) polimerleri kullanarak hazırlamışlardır. Jel özellikleri, in vitro protein adsorpsiyonu, salıverilmesi, in vivo yara iyileştirici etki ve histopatolojik olarak değerlendirmişlerdir. KTS, PVA hidrojelinin şişme kabiliyetini, su buharı iletim hızını, elastikiyetini ve gözenekliliğini arttırırken, jel fraksiyonunu, maksimum mukavemeti ve PVA hidrojelinin termal stabilitesini azalttığını gözlemlemişlerdir. Minosiklin eklenmesi (% 0.25) jel özelliklerini etkilememiş ve kitosan ilaç salımını ve protein adsorpsiyonunu pek etkilemediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, %5 PVA, % 0.75 KTS ve % 0.25 ilaçtan oluşan minosiklin yüklü yara örtüsü, KTS'nin PVA ile nispeten zayıf çapraz bağlanma etkileşimi nedeniyle, sadece PVA'dan daha şişebilir, esnek ve elastik olduğu saptanmıştır. Yara iyileşme testinde, bu minosiklin yüklü PVA-KTS hidrojel, sıçan dorsumunda yapılan yaranın, kitosanın antifungal aktivitesine bağlı olarak geleneksel ürün veya kontrolden (steril gazlı bez) daha hızlı iyileşmesini sağladığını belirlemişlerdir. Özellikle, histolojik incelemelerden sonra, minosiklin yüklü hidrojel in iyileştirici etkisi, ilaç yüklü hidrojelinkinden daha büyük olduğu ve bu, minosiklin potansiyel iyileştirici etkisini gösterdiğini saptamışlardır. Bu nedenle, % 5 PVA, % 0,75 KTS ve % 0,25 ilaçtan oluşan minosiklin yüklü yara örtüsü, mükemmel şekillendirme ve geliştirilmiş yara iyileşmesi ile potansiyel bir yara örtüsü olarak kullanılabilirliğini belirlemişlerdir (Sung vd., 2010, ss. 232-240).

Hwang ve arkadaşları (2010), gentamisin yüklü bir yara örtüsü geliştirmek için, donma-çözme yöntemi kullanılarak PVA ve dekstran ile çapraz bağlı hidrojel filmler hazırlamışlardır. Jel fraksiyonu, şişme, su buharı iletim testi, morfoloji, çekme dayanımı ve termal özellik gibi jel özelliklerini incelenmişlerdir. In vitro protein adsorpsiyon testi, in vivo yara iyileşme testi ve histopatoloji testleri yapmışlardır. Dekstran jel fraksiyonunu, maksimum mukavemeti ve hidrojellerin termal stabilitesini azalttığını belirlemişlerdir. Bununla birlikte, şişme kabiliyeti, su buharı iletim hızı, elastikiyet, gözeneklilik ve protein adsorpsiyonu özelliklerinin arttığını tespit etmişlerdir. % 2.5 PVA, % 1.13 dekstran ve % 0.1 ilaçtan oluşan gentamisin yüklü yara örtüsü, sadece PVA ile olandan daha şişebilir, esnek ve elastik olduğunu belirlemişlerdir. Özellikle, yeterli bir nem seviyesi sağlayabilir ve yara bölgesindeki sızıntıları biriktirebilir olduğunu düşünmüşlerdir. In vivo yara iyileşmesi ve histolojik sonuçlardan, bu gentamisin yüklü yara sargısı, gentamisinin potansiyel iyileştirici etkisi nedeniyle, geleneksel ürüne kıyasla iyileşme etkisini daha da arttırmış olduğunu saptamışlardır. Bu nedenle, bu gentamisin (GT) yüklü yara sargısı, yara bakımında mükemmel şekillendirme ve iyileştirici etkisi olan potansiyel bir yara sargısı olarak kullanılabilceği sonucuna varmışlardır (Hwang vd., 2010, ss. 1092-1103).

Charernsriwilaiwat ve arkadaşları (2014), PVA nanolifli matlarla harmanlanmış KTS sulu tuzu elektrospinning yöntemi ile hazırlanmışlardır. KTS, hidroksibenzotriazol (HOBt), tiamin pirofosfat (TPP) ve etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ile distile suda toksik veya tehlikeli çözücüler kullanılmadan çözmüşlerdir. KTS sulu tuzları, PVA ile farklı ağırlık oranlarında harmanlamış ve çözelti oranlarının etkisini araştırmışlardır. Üretilen liflerin morfolojileri, mekanik ve şişme özelliklerini analiz etmişlerdir. Doku hasarından sonra ilk hafta boyunca akut yara boyutunu azaltmada etkili olduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak biyobozunur, biyoyumlu ve antibakteriyel KTS - EDTA/PVA nano elyaf paspaslar, yara sargı malzemeleri olarak kullanım potansiyeline sahip olduğunu belirlemişlerdir (Charernsriwilaiwat vd., 2014, ss. 215-222).

Fahey ve arkadaşları (1991), Diabetes mellitus üzerine normal ve diyabetik farelerin kenarları boyunca bir şerit PVA süngerini içeren delikli silikon yara odaları

yerleştirmişlerdir. Her ne kadar yara sıvısındaki lökosit sayısı, implantasyondan sonraki 1. gün ve 3. günde benzer olsa da, yara hayvanlarındaki iltihaplı hücreler normal hayvanlardan (28.5x10<sup>6</sup>/ml) olan yara sıvısında diyabetik hayvanlardan (13.8 x 10<sup>6</sup> / ml) daha az ml) implantasyondan sonra 7. günde olduğu tespit etmişlerdir. Hücresiz eksüda sıvısındaki Tümör Nekroz Faktörü (TNF) seviyeleri, çalışılan tüm günlerde iki grup arasında benzer olduğunu saptamışlardır. Daha fazla IL-6 olduğu implantasyondan sonra 7. günde belirlemişlerdir. İmplantasyondan 8 gün sonra odaların histolojik olarak değerlendirilmesi neovaskülarizasyonun azaldığını ve daha az granülasyon dokusu organizasyonunu ortaya çıkardığını tespit etmişlerdir. Bu veriler, diyabette gecikmiş iyileşmenin, yara iyileşmesinin geç enflamatuvar evresi sırasında değişen lökosit sızıntısı ve yara sıvısı IL-6 seviyeleri ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (Fahey vd., 199, ss. 308-313).

Fronza ve arkadaşları (2009), farmakolojik alaka çizik testinin bitki özütlerinin ve doğal bileşiklerin yara iyileşme potansiyeliyle ilgili ilk bilgileri elde etmek için en ideal in vitro araç olduğunu tespit etmişlerdir. Yapmış oldukları çalışmanın amacı, yaralı bölgeye fibroblast göçünün ve çoğalmasının ölçülmesinde in vitro bir model olarak kullanılabilen çizilme testinin optimizasyonu ile ilgilidir. Ham bitkisel ekstratların, izole edilmiş bileşiklerin ve farmasötik müstahzarların yaranın yeniden epitelizasyon potansiyelinin ilk değerlendirmesi için uygun olduğunu belirlemişlerdir. Konseptin bir kanıtı olarak, geleneksel şifalı bitkilerden yapılan üç hazırlık araştırmışlardır. Pozitif kontrol olarak mono tabakalarda ve trombosit kaynaklı büyüme faktöründe Swiss 3T3 albino fare fibroblastları kullanmışlardır. A.Ç. ve *Matricaria recutita*, *Hypericum* yağı, triterpenoidler faradiol miristat ve palmitattan heksan ve etanolik ekstratları incelemişlerdir. Proliferasyon ve göç arasındaki farkı ayırt etmek için antimitotik mitomisin C eklemişlerdir. Her iki A.C. özütü, düşük konsantrasyonlarda fibroblastların çoğalmasını ve göçünü uyardığı; 10 µg / ml hücre sayılarını sırasıyla % 64,35 ve% 70,53 arttırdığını belirlemişlerdir. Proliferasyonun inhibisyonu, bu etkinin esas olarak göçün uyarılmasından kaynaklandığını gözlemlemişlerdir. Faradiol miristat ve palmitat, *Calendula* preparatlarının yara iyileştirici etkilerine kısmen, ancak en önemlisi değil, önemli ölçüde katkıda bulunmadıklarını gösteren, yaklaşık 50 µg/ml konsantrasyonda karşılaştırılabilir stimülasyon hızları verdiğini gözlemlemişlerdir. *Matricaria recutita*'dan elde edilen ekstratlar sadece orta derecede aktif, *Hypericum* yağı, 0.5 µg

/ ml'den daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik olduğunu gözlemlemişlerdir. Mevcut formdaki çizilme deneyi, yara iyileşmesiyle bilinen bitki özleri ve iltihap önleyici özellikleri arasında ayırım yapmak için umut verici bir bilimsel yaklaşım ve platform olarak kullanılabilirliği sonucuna varmışlardır (Fronza vd., 2009, ss. 463-467).

Süntar ve arkadaşları (2011), S.K. yağının ratlara uygulanan modellerde yara iyileşmesini hızlandırdığını gözlemlemişlerdir. Birinci derece yanıkların 48 saat içinde iyileştiğini tespit etmişlerdir. Diğer yanık evrelerinde daha hızlı yara iyileşmesi gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Aynı zamanda da keloid oluşumunu inhibe ettiklerini saptamışlardır (Suntar vd., 2011, ss. 89-96)



## Bölüm 5

### Materyal ve Metot

#### 5.1 Kullanılan Malzemeler

Doku iskelesi üretimi için 85,000-124,000 g/mol molekül ağırlığındaki polivinil alkol (PVA), 300,000 g/mol molekül ağırlığındaki polietilen oksit (PEO) polimeri Sigma-Aldrich (Türkiye) firmasından satın alınmıştır. Polimeri çözmek için saf su ve elektroğirme sisteminde altlık malzeme olarak yağlı kağıt kullanılmıştır. Yonca, kasık otu, papatya, sarımsak, ciğer otu, kudret narı, sarı kantaron (*H. perforatum L.*) ve aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*) çevremizdeki işletmelerden temin edilmiştir.

#### 5.2 Deneysel Plan ve Teknikler

##### 5.2.1 Elektroğirme Tekniği İçin Çözeltilerin Hazırlanması

Kompozit doku iskelesi üretiminde kullanılmak üzere PVA ve PEO safsu da ısıtıcılı manyetik karıştırıcı yardımı ile çözelti haline getirilmiştir. Ağırlıkça 10 g PVA ve 10 gr PEO ayrı ayrı kaplarda 100 ml saf su içinde 70°C sıcaklıkta 150 dakika boyunca karıştırılarak çözelti haline getirilmiştir. Tablo 3'deki değerlere göre kompozit doku iskelelerinin üretimi için gerekli çözeltiler hazırlanmıştır.

Tablo 3 Kompozit Doku Iskelelerinin Üretiminde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Polimer / Katkı maddesi	Çözücü	Karıştırma sıcaklığı (°C)	Karıştırma süresi (dk)
%10 PVA	Saf su	70	150
%10 PEO	Saf su	70	150
%10 PVA-%10 PEO	Saf su	70	150
%10 PVA-%10 PEO -%5 Yonca	Saf su	70	150
%10 PVA-%10 PEO -%5 Kasık Otu	Saf su	70	150
%10 PVA-%10 PEO -%5 Papatya	Saf su	80	150
%10 PVA-%10 PEO -%5 Sarımsak	Saf su	80	150
%10 PVA-%10 PEO -%5 Ciğer Otu	Saf su	70	150
%10 PVA-%10 PEO -%5 Kudret Narı	Saf su	70	150

% 10 PVA-% 10 PEO- sarı kantaron ( <i>H. perforatum L.</i> )	Saf su	80	160
% 10 PVA-% 10 PEO- aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )	Saf su	80	160
% 10 PVA-% 10 PEO-% 1 Yonca-% 1 Kasık Otu-% 1 Papatya-% 1 Sarımsak- % 1 Ciğer Otu-% 1 Kudret Narı-% 1 Çam Sakızı- % 1 aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )-% 1 sarı kantaron ( <i>H. perforatum L.</i> )	Saf su	80	160

### 5.2.2 Elektroğirme Tekniği ile Kompozit Doku İskelesi Üretimi

Tablo 3'deki değerlerle hazırlanan çözeltiler için Tablo 4'de yer alan çalışma parametreleri uygulanarak elektroğirme tekniğiyle kompozit nanofiber membranlar elde edilmiştir. Membranlardaki çözücünün uzaklaştırılması amacıyla etüvde 45°C'de 24 saat kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Şekil 2'de kullanılan elektroğirme cihazı yer almaktadır. Tablo 4'de kompozit doku iskelelerinin üretiminde kullanılan elektroğirme çalışma parametreleri gösterilmiştir. Şekil 3'de doku iskelelerinin elektroğirme tekniği ile üretim aşamaları yer almaktadır. Tablo 4'de elektroğirme çalışma parametrelerinden besleme hızı ve voltaj değerleri sabit tutularak çalışma mesafesi değiştirilerek üretim sağlanmıştır.

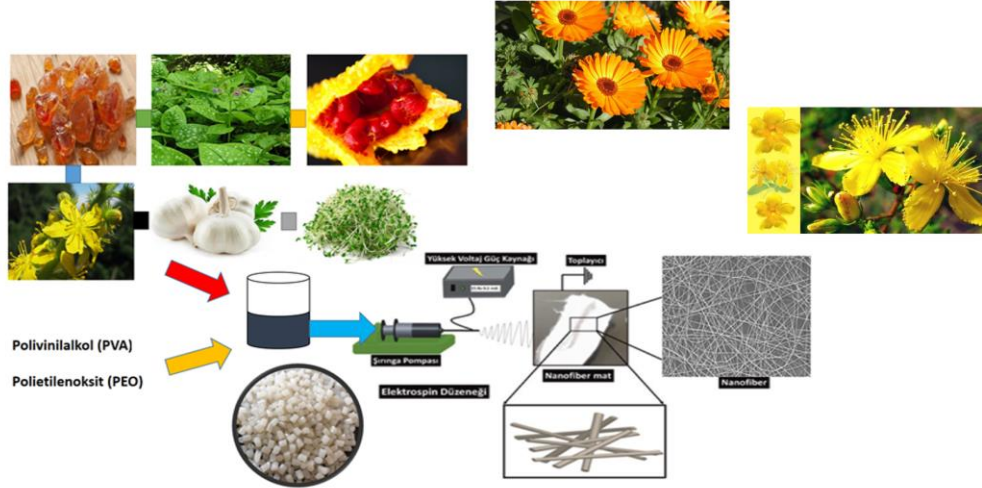
Tablo 4 Kompozit Doku İskelelerinin Üretiminde Kullanılan Elektroğirme Parametreleri

Polimer / Katkı maddesi	Besleme hızı (ml/saat)	Çalışma mesafesi (cm)	Voltaj (kV)
% 10 PVA	3.0	12	27.5
% 10 PEO	3.0	12	27.5
% 10 PVA-% 10 PEO	3.0	12	27.5
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Yonca	3.0	12	27.5
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Kasık Otu	3.0	12	27.5

% 10 PVA-% 10 PEO -%5 Papatya	3.0	12	27.5
% 10 PVA-% 10 PEO -%5 Sarımsak	3.0	12	27.5
% 10 PVA-% 10 PEO -%5 Ciğer Otu	3.0	15	30
% 10 PVA-% 10 PEO -%5 Kudret Narı	3.0	15	30
% 10 PVA-% 10 PEO- sarı kantaron ( <i>H. perforatum L.</i> )	3.0	15	30
% 10 PVA-% 10 PEO- aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )	3.0	15	30
% 10 PVA-% 10 PEO-% 1 Yonca-% 1 Kasık Otu-% 1 Papatya-%1 Sarımsak- %1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-% 1 Çam Sakızı- % 1 aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )-%1 sarı kantaron ( <i>H. perforatum L.</i> )	3.0	15	30



Şekil 2 Üretimde Kullanılan Elektroeğirme Cihazı (Inovenso Marka NS24XPro Model Elektroeğirme Cihazı)



Şekil 3 Doku Iskelelerinin Elektroğirme Tekniği İle Üretim Aşamaları

### 5.3 Karakterizasyon Çalışmaları

#### Morfolojik Karakterizasyon (FEGSEM Analizi)

Kompozit doku iskeleleri argon (Ar) gazı altında on dakika altın-paladyum malzemesi ile kaplanmıştır. Kaplama işleminin ardından FEI Quanta marka FEG450 model Çevresel Taramalı Elektron Mikroskobunda (FEGSEM) yüksek vakum (high vacuum) dedektörü ile 12.00-15.00 kV potansiyelde, numunelerin 100-500 nm, 1-40  $\mu\text{m}$  skalasındaki görüntüleri alınmıştır. Görüntüler üzerinden 40 adet nanolifin çapı ölçülerek aritmetik ortalamaları hesaplanmış ve nanoliflerin çap dağılımları belirlenmiştir.

#### Mekanik Karakterizasyon (Çekme Testi)

Kompozit doku iskelelerine ASTM D882-10 standartlarındaki çekme testi işlemi, DEVOTRANS marka DVT UZM K3 çekme cihazında 500 N yük altında, çekme hızı 5  $\text{mm}^2/\text{dk}$  uygulanarak 10 mm çene aralığı ayarlanarak numunelerin mekanik özellikleri belirlenmiştir.

#### Biyolojik Karakterizasyonu (Hücre Kültürü)

Kompozit doku iskelelerinin hücre canlılık değerleri mezankimal hücre ekimi sonrası 24, 48 ve 72 saat sürelerde canlı/ölü değerleri incelenmiştir.

## Bölüm 6

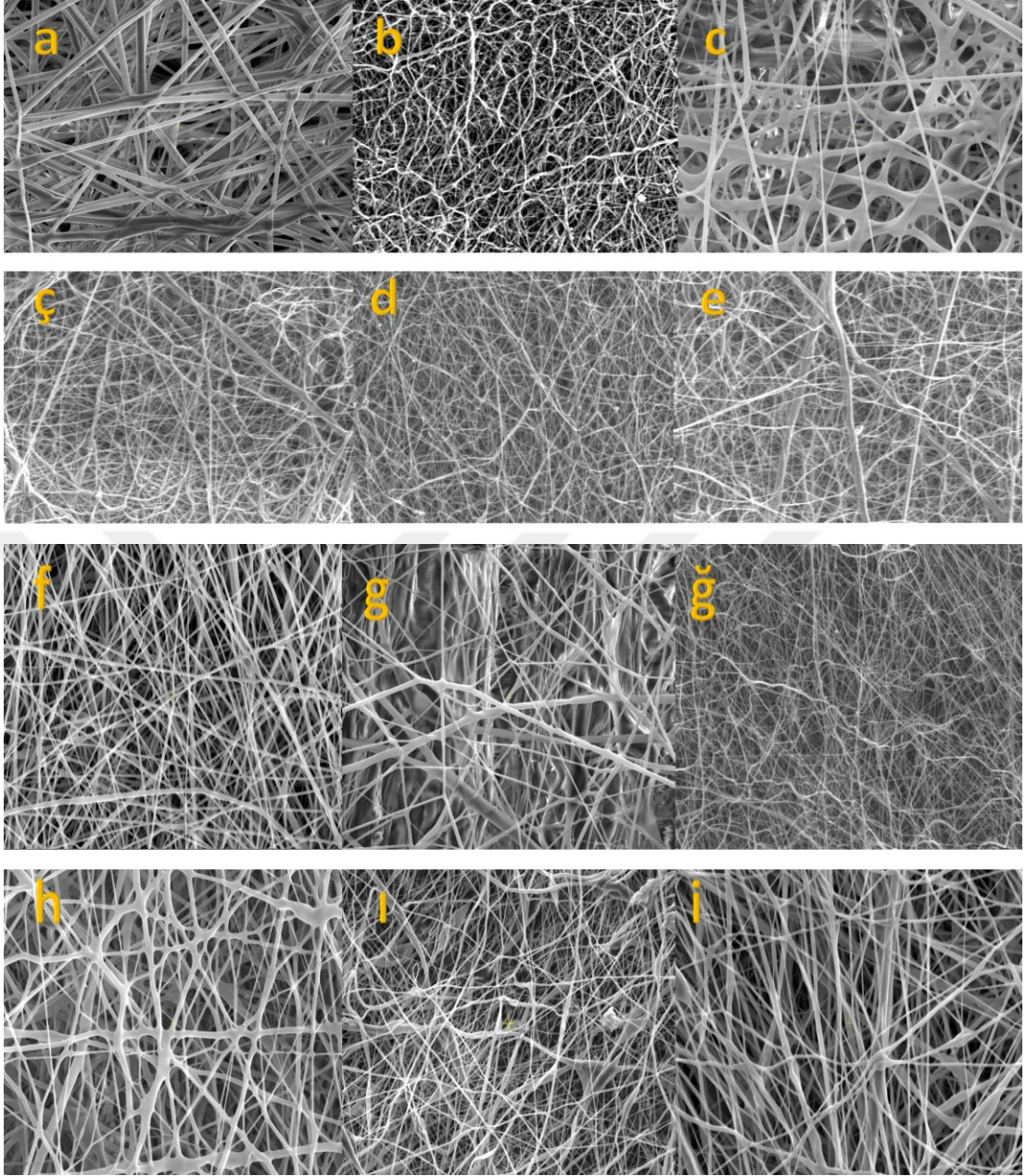
### Bulgular ve Tartışma

#### 6.1 Karakterizasyon Sonuçları

Bu bölümde üretilen membranların morfolojik, mekanik ve biyolojik karakterizasyon sonuçları tartışılmıştır. Membranların yüzey özellikleri olan lif kalınlıkları, dağılımları tespit edilirken, mekanik özelliklerde ASTM D882 standardına göre çekme mukavemet değerleri belirlenmiştir. 24, 48 ve 72 saat süre sonunda canlı/ölü hücre değerleri ölçülerek biyolojik uyumluluk saptanacak ve böylelikle biyolojik karakterizasyon gerçekleştirilmiştir.

##### *Morfolojik Karakterizasyon (FEGSEM Analizi)*

Doku iskelelerinin FEGSEM morfolojik görüntüleri Şekil 4’de yer almaktadır. Doku iskelelerinin FEGSEM morfolojik görüntüleri incelendiğinde PVA ve PEO nanolifleri fiber çapları daha 300-500 nm aralığındayken katkı maddesi katıldıkça lif çapları azalmıştır. %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- % 1 aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*)-%1 sarı kantaron (*H. perforatum L.*) numunesi çalışmadaki en ince lif yapılanması göstermiştir. Bunun sebebi katkı maddesinin polimer etrafını homojen sararak daha sıkı paketli hale getirilmesidir. Bu ince lif yapılanması dolaylı olarak mekanik özellikleride doğrudan etkilemiştir. Mekanik özellikler açısından saf polimer ve katkılı maddelere göre %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- % 1 aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*)-%1 sarı kantaron (*H. perforatum L.*) kompoziti 150-200 nm lif çapı özelliği ile çalışmadaki en ince lif yapılanması vermiştir. Mekanik özellikler açısından da aynı kompozit yapısı çalışmadaki en mukavemetli malzeme özelliği göstermiştir (Sharma vd., 2020, ss. 1-13; Alavi ve Nokhodchi, 2022, ss. 1-17). Doku iskelelerinin aritmetik fiber çap değerleri Tablo 5’de gösterilmektedir.



Şekil 4 Doku İskelelerinin FEGSEM Morfolojik Görüntüleri;

A. %10 PVA B. %10 PEO, C. %10 PVA-%10 PEO, Ç. %10 PVA-%10 PEO -%5 Yonca, D. %10 PVA-%10 PEO -%5 Kasık Otu, E. %10 PVA-%10 PEO -%5 Papatya, F. %10 PVA-%10 PEO -%5 Sarımsak, G. %10 PVA-%10 PEO -%5 Ciğer Otu, Ğ. %10 PVA-%10 PEO -%5 Kudret Narı, H%10 PVA-%10 PEO- Sarı Kantaron (*H. Perforatum L.*), I. %10 PVA-%10 PEO- Aynısefa Çiçeği (*Calendula Officinalis*), I. %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- % 1 Aynısefa Çiçeği (*Calendula Officinalis*)-%1 Sarı Kantaron (*H. Perforatum L.*)

Tablo 5 Doku Iskelelerinin Arimetik Fiber Çap Değerleri

Polimer / Katkı maddesi	Nanolif Çapı (nm)
%10 PVA	300-500
%10 PEO	350-600
%10 PVA-%10 PEO	285-450
%10 PVA-%10 PEO-%5 Yonca	240-420
%10 PVA-%10 PEO-%5 Kasık Otu	220-400
%10 PVA-%10 PEO-%5 Papatya	230-360
%10 PVA-%10 PEO-%5 Sarımsak	235-350
%10 PVA-%10 PEO-%5 Ciğer Otu	230-340
%10 PVA-%10 PEO-%5 Kudret Narı	220-340
%10 PVA-%10 PEO- sarı kantaron ( <i>H. perforatum L.</i> )	200-260
%10 PVA-%10 PEO- aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )	180-220
%10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- %1 aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )-%1 sarı kantaron ( <i>H. perforatum L.</i> )	150-200

#### Mekanik Karakterizasyon (Çekme Testi)

ASTM D882-10 standartlarına göre üçer kez çekme testi işlemi uygulanıp çekme mukavemetlerinin aritmetik ortalaması alınmıştır. Lif incilmesi ve katkı maddesinin lif etrafını sarması ile mekanik mukavemet sağlamıştır. Çalışmadaki en mukavemetli malzeme %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- %1 aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*)-%1 sarı kantaron (*H. perforatum L.*) kompoziti ile 25.89 MPa olduğu yapılan çekme testi sonuçlarına göre belirlenmiştir. Tüm etken maddelerin sinerjik etkisi mekanik mukamet artışında etkili olmuştur (Alven vd., 2020, ss. 2286;

Manatunga vd., 2020, ss. 201266; Knox ve O'boyle, 2021, s. 105055; Bueno vd., 2021, s. 113832). Doku iskelelerinin çekme mukavemet değerleri Tablo 6 da yer almaktadır.

Tablo 6 Doku Iskelelerinin Çekme Mukavemet Değerleri

Polimer / Katkı maddesi	Mukavemet Değerleri (MPa)
% 10 PVA	15.75
% 10 PEO	13.22
% 10 PVA-% 10 PEO	14.89
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Yonca	15.05
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Kasık Otu	15.23
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Papatya	17.45
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Sarımsak	17.80
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Ciğer Otu	18.00
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Kudret Narı	18.45
% 10 PVA-% 10 PEO- sarı kantaron ( <i>H. perforatum L.</i> )	22.05
% 10 PVA-% 10 PEO- aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )	22.78
% 10 PVA-% 10 PEO-% 1 Yonca-% 1 Kasık Otu-% 1 Papatya-% 1 Sarımsak-% 1 Ciğer Otu-% 1 Kudret Narı-% 1 Çam Sakızı- % 1 aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )- % 1 sarı kantaron ( <i>H. perforatum L.</i> )	25.89

### Biyolojik Karakterizasyon (Hücre Kültürü)

96'lık platelere alınan nanofiber membranlara mezankimal kök hücreler yavaş yavaş ekilmiş ve hücre canlılık/ölülük durumları gözlemlenmiştir. %10 PVA daha düşük hücre canlılığı vermiştir. Ancak katkı maddesi ilavesi ve nanoteknolojik yöntem ile kompozit eldesi sonrası hücrelerdeki canlılık değerleri artış göstermiştir. Sinerjik etkilerinden dolayı doğal yara iyileştiricilerin birarada olması ile %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- %1 aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*)-%1 sarı kantaron (*H. perforatum L.*) kompozitinde hücre canlılık değerleri en uzun süre sonunda %97'ye ulaşmıştır (Yousefi vd., 2021, ss. 12-19; Gunawan, 2021; Reich, 2018). Yara iyileştirici nanofiber membranların hücre canlı/ölü değerleri Tablo 7'de gösterilmektedir.

Tablo 7 Nanofiber Membranların Hücre Canlı/Ölü Değerleri

Numune adı	24 saat	24 saat	48 saat	48 saat	72 saat	72 saat
	Hücre canlılık değeri (%)	Hücre ölülük değeri (%)	Hücre canlılık değeri (%)	Hücre ölülük değeri (%)	Hücre canlılık değeri (%)	Hücre ölülük değeri (%)
%10 PVA	92	8	90	10	88	12
%10 PEO	94	6	93	7	92	8
%10 PVA-%10 PEO	97	3	97	3	95	5
%10 PVA-%10 PEO -%5 Yonca	94	6	93	7	92	8
%10 PVA-%10 PEO -%5 Kasık Otu	97	3	97	3	95	5
%10 PVA-%10 PEO -%5 Papatya	94	6	93	7	92	8
%10 PVA-%10 PEO -%5 Sarımsak	97	3	97	3	95	5

% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Ciğer Otu	94	6	93	7	92	8
% 10 PVA-% 10 PEO -% 5 Kudret Narı	98	2	97	3	95	5
% 10 PVA-% 10 PEO- sarı kantaron ( <i>H. perforatum</i> <i>L.</i> )	99	1	98	2	96	4
% 10 PVA-% 10 PEO- aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )	98	2	97	3	97	3
% 10 PVA-% 10 PEO-% 1 Yonca-% 1 Kasık Otu-% 1 Papaty-a-% 1 Sarımsak-% 1 Ciğer Otu-% 1 Kudret Narı-% 1 Çam Sakızı- % 1 aynısefa çiçeği ( <i>Calendula officinalis</i> )- % 1 sarı kantaron ( <i>H.</i> <i>perforatum L.</i> )	99	1	98	2	98	2

## Bölüm 7

### Sonuçlar ve Öneriler

Doku iskelesi üretimi için polivinil alkol (PVA), polietilen oksit (PEO) polimeri, yonca, kasık otu, papatya, sarımsak, ciğer otu, kudret narı, sarı kantaron (*H. perforatum L.*) ve aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*) kullanılarak yeni nesil yara örtücüler elektroğirme sistemiyle elde edilmiştir. Tüm numunelerde nanofiber oluşumu gözlemlenmiştir. Membranlar 3 farklı analiz cihazı kullanılarak karakterize edilmiştir. Morfolojik yüzey özellikleri ile membranların lif çapları ve etken madde dağılım özellikleri saptanmıştır. Çalışmadaki en ince lif yapılanması %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- %1 aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*)-%1 sarı kantaron (*H. perforatum L.*) kompozitinde olduğu ölçüm sonuçlarına göre belirlenmiştir. 150-200 nm aralığında olan kompozit membrane nanolifleri diğer kompozitlere göre en ince lif yapısına ve en düzgün kompozit yapılanması göstermiştir. Ayrıca liflerin yönlendiği de tespit edilmiştir. Fiberlerin çekme yönünde yönlendiği belirlenmiştir. Bu yönlenmeye bağlı olarak 25.89 MPa çekme mukavemetine sahip sinerjik etkili %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- %1 aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*)-%1 sarı kantaron (*H. perforatum L.*) kompozitin çalışmadaki en mukavemetli malzeme olmasını sağlamıştır. Etken madde katkısız polimer membranın mekanik özelliği zayıftır ancak etken madde katılımı ile polimer liflerinin etrafı homojen sarılarak liflerin incelmelerini ve etken maddenin homojen dağılımı ile liflerin mukavemeti artmıştır. Liflerdeki mukavemet artışı toplam kompozitin mukavemetini arttırmış ve özelliklede çekme yönünde oryante olan kompozitin çekme mukavemeti artmıştır. Çalışmadaki en mukavemetli malzeme %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- %1 aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*)-%1 sarı kantaron (*H. perforatum L.*) kompoziti ile 25.89 MPa çekme mukavemet değeri çekme testi sonrası gözlemlenmiştir. Etken maddelerin sinerjik etkilerinden yararlanarak mekanik özelliklerin iyileştirilmesi sağlanmıştır. Ayrıca etken madde katılımı ile fiber çapları incelmıştır. Bu inceleme ile mekanik mukavemetin arttığı çekme test sonuçlarından da gözlemlenmektedir. Fiberlerin incelmesi ile sıkı paketli bir malzeme yapısı oluşturulmuştur, böylelikle çekme yönünde polimer lifleri arasına etken madde

girerek doğrusal bir çekme mukavemeti sağlamıştır. Maksimum noktaya geldiğinde ise yırtılma, yırtılma ile birlikte kopma meydana gelmiştir. Literatür araştırmaları incelendiğinde üretmiş olduğumuz membranımız benzer formülasyona sahip birçok çalışmadan daha üstün mekanik özellik göstermiştir. Burada esas olan kullanılan elektroegirme sistemi, malzeme formülasyonu, ortamdaki nem gibi fiziksel parametreler ve voltaj, çalışma mesafesi, besleme hızı gibi üretim parametrelerinin değişkenliğinden kaynaklanmaktadır. Hücre kültürü çalışmalarına göre 72 saat süre sonunda %98 hücre canlılığı yaşanan kompozit %10 PVA-%10 PEO-%1 Yonca-%1 Kasık Otu-%1 Papatya-%1 Sarımsak-%1 Ciğer Otu-%1 Kudret Narı-%1 Çam Sakızı- % 1 aynısefa çiçeği (*Calendula officinalis*)-%1 sarı kantaron (*H. perforatum L.*) numunesi olmuştur. Hücre canlılığının uzun süreli olması bir avantaj ve istenen bir durumdur. Böylelikle yaraların hızlı rejenerasyonunda önemli bir katkı sunulacaktır. Tüm maddelerin literatür araştırmalarımızca yara iyileştirme özellikleri belirlenmiş olsa da kompozit membrane üretimince hücre canlılık değerleri artış göstermiştir. Bu durumun asıl kaynağı sinerjik etki göstermeleridir. Sinerjik etkiler sebebi ile nanoteknolojik üretimle katkı maddeleri polimerik liflerin etrafını sararak her yerde eşit özellik göstermesini sağlamıştır. Tüm analiz sonuçları birbirleri ile uyumlu sonuçlar göstermiştir. Çalışma sonuçları dikkate alındığında, üretilen yara örtücü doku iskelelerinin ideal özelliklere sahip umut verici yara iyileştirici biyomalzemeler olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

### **Öneriler**

Tez çalışmasının devamında:

- farklı polimer ve katkı maddelerinin kullanımı ile fonksiyonel özellikler kazandırılarak geniş kullanım olanağı sağlanabilir,
- In vivo ve in vitro testler yapılarak doku iskelelerinin özellikleri belirlenebilir ve test sonuçlarına bağlı olarak malzeme özellikleri iyileştirilebilir,
- Elektroegirme çalışma parametreleri optimize edilerek ideal gözenek boyutu, üstün mekanik özellikler ve biyoyumluluk kazandırılabilir,
- Sitotoksisite testleri, antimikrobiyal duyarlılık testleri, temas açısı ölçümü gibi farklı prosedürler uygulanarak malzemelerin vücudun farklı bölgelerinde, ayrıca çeşitli sektörlerde kullanılma potansiyeli araştırılabilir.

## KAYNAKÇA

- Akter, F. (2016). *Tissue engineering made easy*. Academic Press. Elsevier, pp. 3–16.
- Alven, S., Nqoro, X., & Aderibigbe, B. A. (2020). Polymer-based materials loaded with curcumin for wound healing applications. *Polymers*, 12(10), 2286.
- Alavi, M., & Nokhodchi, A. (2022). Antimicrobial and wound healing activities of electrospun nanofibers based on functionalized carbohydrates and proteins. *Cellulose*, 29(3), 1331-1347.
- Asghari, F., Samiei, M., Adibkia, K., Akbarzadeh, A., & Davaran, S. (2017). Biodegradable and biocompatible polymers for tissue engineering application: a review. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 45(2), 185-192.
- Ashammakhi, N., Ndreu, A., Yang, Y., Ylikauppila, H., Nikkola, L., & Hasirci, V. (2007). Tissue engineering: a new take-off using nanofiber-based scaffolds. *Journal of Craniofacial Surgery*, 18(1), 3-17.
- Badami, A. S., Kreke, M. R., Thompson, M. S., Riffle, J. S., & Goldstein, A. S. (2006). Effect of fiber diameter on spreading, proliferation, and differentiation of osteoblastic cells on electrospun poly (lactic acid) substrates. *Biomaterials*, 27(4), 596-606.
- Badhe, R. V., Bijukumar, D., Chejara, D. R., Mabrouk, M., Choonara, Y. E., Kumar, P., ... & Pillay, V. (2017). A composite chitosan-gelatin bi-layered, biomimetic macroporous scaffold for blood vessel tissue engineering. *Carbohydrate polymers*, 157, 1215-1225.
- Baer, P. C., & Geiger, H. (2012). Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: tissue localization, characterization, and heterogeneity. *Stem cells international*, 2012.
- Bayat, S., Amiri, N., Pishavar, E., Kalalinia, F., Movaffagh, J., & Hashemi, M. (2019). Bromelain-loaded chitosan nanofibers prepared by electrospinning method for burn wound healing in animal models. *Life sciences*, 229, 57-66.
- Billingham, R. E., Brent, L., & Medawar, P. B. (1956). Quantitative studies on tissue transplantation immunity. III. Actively acquired tolerance. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 357-414.
- Bueno, G., Rico, S. L. C., Périco, L. L., Ohara, R., Rodrigues, V. P., Emílio-Silva, M. T., ... & Hiruma-Lima, C. A. (2021). The essential oil from *Baccharis*

- trimera (Less.) DC improves gastric ulcer healing in rats through modulation of VEGF and MMP-2 activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 271, 113832.
- Buluş, E. ve Buluş, G.S. (2021). Doğal Yara İyileştirme ile Nanofiber Membran Üretimi ve Morfolojisi Karakterizasyonu. *Putech&Composites Dergisi*, 55, 12-20.
- Chan, B. P., & Leong, K. W. (2008). Scaffolding in tissue engineering: general approaches and tissue-specific considerations. *European spine journal*, 17, 467-479.
- Chang, T. M. (1976). BiODEGRADABLE SEIPERMEABLE MICROCAPSULES CONTAINING ENZs. *Journal of Bioengineering*, 1, 25-32.
- Charernsriwilaiwat, N., Rojanarata, T., Ngawhirunpat, T., & Opanasopit, P. (2014). Electrospun chitosan/polyvinyl alcohol nanofibre mats for wound healing. *International wound journal*, 11(2), 215-222.
- Cheremisova, D. A., Kordzaya, E. L., & Glyantsev, S. P. (2018). Professor Nikolai Petrovich Sinitsyn (1900–1972)—surgeon, physiologist, experimental transplantologist and cardiac surgeon (to the 50th anniversary of the first heart transplantation to a man). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*, 19(4), 151-168.
- Chung, H. J., & Park, T. G. (2007). Surface engineered and drug releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering. *Advanced drug delivery reviews*, 59(4-5), 249-262.
- Deuel, T. F., & Chang, Y. (2014). Growth factors. In *Principles of tissue engineering* (pp. 291-308). Academic Press.
- Eatemadi, A., Daraee, H., Zarghami, N., Melat Yar, H., & Akbarzadeh, A. (2016). Nanofiber: Synthesis and biomedical applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(1), 111-121.
- Fahey III, T. J., Sadaty, A., Jones II, W. G., Barber, A., Smoller, B., & Shires, G. T. (1991). Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing. *Journal of Surgical Research*, 50(4), 308-313.

- Fallahiarezoudar, E., Ahmadipourroudposht, M., Idris, A., & Yusof, N. M. (2015). A review of: application of synthetic scaffold in tissue engineering heart valves. *Materials Science and Engineering: C*, 48, 556-565.
- Fink, J. S., Schumacher, J. M., Ellias, S. L., Palmer, E. P., Saint-Hilaire, M., Shannon, K., ... & Isacson, O. (2000). Porcine xenografts in Parkinson's disease and Huntington's disease patients: preliminary results. *Cell transplantation*, 9(2), 273-278.
- Fronza, M., Heinzmann, B., Hamburger, M., Laufer, S., & Merfort, I. (2009). Determination of the wound healing effect of Calendula extracts using the scratch assay with 3T3 fibroblasts. *Journal of ethnopharmacology*, 126(3), 463-467.
- Gelse, K., Pöschl, E., & Aigner, T. (2003). Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Advanced drug delivery reviews*, 55(12), 1531-1546.
- Gunawan, I. (2021). *Perbandingan waktu penyembuhan luka bersih antara penggunaan lidah buaya (aloe vera) dengan povidone iodine 10% pada tikus wistar* (Doctoral dissertation, Wijaya Kusuma Surabaya University).
- Gümüşderelioğlu, M., Dalkıranoğlu, S., Aydın, R. S. T., & Çakmak, S. (2011). A novel dermal substitute based on biofunctionalized electrospun PCL nanofibrous matrix. *Journal of biomedical materials research Part A*, 98(3), 461-472.
- Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites science and technology*, 63(15), 2223-2253.
- Hwang, M. R., Kim, J. O., Lee, J. H., Kim, Y. I., Kim, J. H., Chang, S. W., ... & Choi, H. G. (2010). Gentamicin-loaded wound dressing with polyvinyl alcohol/dextran hydrogel: gel characterization and in vivo healing evaluation. *Aaps Pharmscitech*, 11, 1092-1103.
- Ikada, Y. (2006). Challenges in tissue engineering. *Journal of the Royal Society Interface*, 3(10), 589-601.

- Iravani, S., & Varma, R. S. (2019). Plants and plant-based polymers as scaffolds for tissue engineering. *Green Chemistry*, 21(18), 4839-4867.
- Ito, Y., Hasuda, H., Kamitakahara, M., Ohtsuki, C., Tanihara, M., Kang, I. K., & Kwon, O. H. (2005). A composite of hydroxyapatite with electrospun biodegradable nanofibers as a tissue engineering material. *Journal of bioscience and bioengineering*, 100(1), 43-49.
- Jana, S., & Lerman, A. (2015). Bioprinting a cardiac valve. *Biotechnology advances*, 33(8), 1503-1521.
- Janik, H., & Marzec, M. (2015). A review: Fabrication of porous polyurethane scaffolds. *Materials Science and Engineering: C*, 48, 586-591.
- Jarić, S., Kostić, O., Mataruga, Z., Pavlović, D., Pavlović, M., Mitrović, M., & Pavlović, P. (2018). Traditional wound-healing plants used in the Balkan region (Southeast Europe). *Journal of ethnopharmacology*, 211, 311-328.
- Kadıpaşaoğlu, A. K., (Editör) (2014) *Biyomedikal Mühendisliği Nedir*. Biyomedikal Mühendisliğin Temelleri Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, pp.452-492.
- Khademhosseini, A., & Langer, R. (2016). A decade of progress in tissue engineering. *Nature protocols*, 11(10), 1775-1781.
- Knox, S., & O'Boyle, N. M. (2021). Skin lipids in health and disease: A review. *Chemistry and Physics of Lipids*, 236, 105055.
- Kobayashi, H., Terada, D., Yokoyama, Y., Moon, D. W., Yasuda, Y., Koyama, H., & Takato, T. (2013). Vascular-inducing poly (glycolic acid)-collagen nanocomposite-fiber scaffold. *Journal of biomedical nanotechnology*, 9(8), 1318-1326.
- Kulkarni, A. A., & Rao, P. S. (2013). Synthesis of polymeric nanomaterials for biomedical applications. In *Nanomaterials in tissue engineering* (pp. 27-63). Woodhead Publishing.
- Lanza, R., Langer, R., Vacanti, J. P., & Atala, A. (Eds.). (2020). *Principles of tissue engineering*. Academic press. Elsevier, p. 1355-1368.

- Langer, R. & Vacanti, J. P. (1993). Tissue engineering. *Science (New York, N.Y.)*, 260 (5110), 920–926, 1993.
- Lee, J. W., Choi, Y. J., Yong, W. J., Pati, F., Shim, J. H., Kang, K. S., ... & Cho, D. W. (2016). Development of a 3D cell printed construct considering angiogenesis for liver tissue engineering. *Biofabrication*, 8(1), 015007.
- Liu, X., Holzwarth, J. M., & Ma, P. X. (2012). Functionalized synthetic biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Macromolecular bioscience*, 12(7), 911-919.
- Ma, Z., Kotaki, M., Inai, R., & Ramakrishna, S. (2005). Potential of nanofiber matrix as tissue-engineering scaffolds. *Tissue engineering*, 11(1-2), 101-109.
- Maheshwari, S. U., Samuel, V. K., & Nagiah, N. (2014). Fabrication and evaluation of (PVA/HAp/PCL) bilayer composites as potential scaffolds for bone tissue regeneration application. *Ceramics International*, 40(6), 8469-8477.
- Malafaya, P. B., Silva, G. A., & Reis, R. L. (2007). Natural–origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications. *Advanced drug delivery reviews*, 59(4-5), 207-233.
- Manatunga, D. C., Godakanda, V. U., Herath, H. M. L. P. B., de Silva, R. M., Yeh, C. Y., Chen, J. Y., ... & Nalin de Silva, K. M. (2020). Nanofibrous cosmetic face mask for transdermal delivery of nano gold: synthesis, characterization, release and zebra fish employed toxicity studies. *Royal Society open science*, 7(9), 201266.
- Merritt, S. R., Exner, A. A., Lee, Z., & von Recum, H. A. (2012). Electrospinning and imaging. *Advanced Engineering Materials*, 14(5), B266-B278.
- Mi, H. Y., Salick, M. R., Jing, X., Jacques, B. R., Crone, W. C., Peng, X. F., & Turng, L. S. (2013). Characterization of thermoplastic polyurethane/polylactic acid (TPU/PLA) tissue engineering scaffolds fabricated by microcellular injection molding. *Materials Science and Engineering: C*, 33(8), 4767-4776.
- Patrascu, J. M., Krüger, J. P., Böss, H. G., Ketzmar, A. K., Freymann, U., Sittinger,

- M., ... & Kaps, C. (2013). Polyglycolic acid-hyaluronan scaffolds loaded with bone marrow-derived mesenchymal stem cells show chondrogenic differentiation in vitro and cartilage repair in the rabbit model. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 101(7), 1310-1320.
- Reich, S. (2018). *Herstellung, Charakterisierung und Anwendungen von funktionalen Polymer/Bakterien Vliesstoff-Kompositen* (Doctoral dissertation).
- Reneker, D. H., Yarin, A. L., Fong, H., & Koombhongse, S. (2000). Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. *Journal of Applied physics*, 87(9), 4531-4547.
- Peretti, G. M., Caruso, E. M., Randolph, M. A., & Zaleske, D. J. (2001). Meniscal repair using engineered tissue. *Journal of Orthopaedic Research*, 19(2), 278-285.
- Rood, P. P. M., & Cooper, D. K. C. (2006). Islet xenotransplantation: are we really ready for clinical trials?. *American Journal of Transplantation*, 6(6), 1269-1274.
- Sabree, I., Gough, J. E., & Derby, B. (2015). Mechanical properties of porous ceramic scaffolds: influence of internal dimensions. *Ceramics International*, 41(7), 8425-8432.
- Sachlos, E., & Czernuszka, J. T. (2003). Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur Cell Mater*, 5(29), 39-40.
- Sağıroğlu, M., Turna, M., & Köseoğlu, S. T. (2017). İkramiye vadisi (Sapanca/Sakarya/Türkiye) florasında bulunan tıbbi bitkiler. *Sakarya University Journal of Science*, 21(3), 527-539.
- Serbo, J. V., & Gerecht, S. (2013). Vascular tissue engineering: biodegradable scaffold platforms to promote angiogenesis. *Stem cell research & therapy*, 4(1), 1-8.

- Sharma, A., Mittal, A., Puri, V., Kumar, P., & Singh, I. (2020). Curcumin-loaded, alginate–gelatin composite fibers for wound healing applications. *3 Biotech*, *10*, 1-13.
- Sheikh, F. A., Ju, H. W., Lee, J. M., Moon, B. M., Park, H. J., Lee, O. J., ... & Park, C. H. (2015). 3D electrospun silk fibroin nanofibers for fabrication of artificial skin. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *11*(3), 681-691.
- Shimizu, R., & Nonomura, Y. (2018). Preparation of artificial skin that mimics human skin surface and mechanical properties. *Journal of Oleo Science*, *67*(1), 47-54.
- Sung, J. H., Hwang, M. R., Kim, J. O., Lee, J. H., Kim, Y. I., Kim, J. H., ... & Choi, H. G. (2010). Gel characterisation and in vivo evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan. *International journal of pharmaceutics*, *392*(1-2), 232-240.
- Süntar, I., Akkol, E. K., Keleş, H., Oktem, A., Başer, K. H. C., & Yeşilada, E. (2011). A novel wound healing ointment: a formulation of *Hypericum perforatum* oil and sage and oregano essential oils based on traditional Turkish knowledge. *Journal of ethnopharmacology*, *134*(1), 89-96.
- Taylor, G. I. (1969). Electrically driven jets. *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences*, *313*(1515), 453-475.
- Tıǧlı, R. S. (2009). *Kıkkırdak doku rejenerasyonunda kitosan doku iskelesi destekli biyoreaktör performansının incelenmesi* (Doktora Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Venugopal, J., Low, S., Choon, A. T., & Ramakrishna, S. (2008). Interaction of cells and nanofiber scaffolds in tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, *84*(1), 34-48.
- Volkan, G. Ü. L., & DİNLER, B. S. (2016). Kumru (Ordu) yöresinde doğal olarak yetişen bazı tıbbi ve aromatik bitkiler. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, *11*(1), 146-156.

- Willerth, S. M., & Sakiyama-Elbert, S. E. (2019). Combining stem cells and biomaterial scaffolds for constructing tissues and cell delivery. *StemJournal*, 1(1), 1-25.
- Yi, S., Ding, F., Gong, L., & Gu, X. (2017). Extracellular matrix scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Current stem cell research & therapy*, 12(3), 233-246.
- Yousefi, M., Adineh, H., Reverter, M., Hamidi, M. K., Vatnikov, Y. A., Kulikov, E. V., ... & Van Doan, H. (2021). Protective effects of black seed (*Nigella sativa*) diet supplementation in common carp (*Cyprinus carpio*) against immune depression, oxidative stress and metabolism dysfunction induced by glyphosate. *Fish & shellfish immunology*, 109, 12-19.
- Yücel, A., Kan, Y., Yesilada, E., & Akin, O. (2017). Effect of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) oily extract for the care and treatment of pressure sores; a case report. *Journal of ethnopharmacology*, 196, 236-241.
- Yun, J., Im, J. S., Lee, Y. S., & Kim, H. I. (2011). Electro-responsive transdermal drug delivery behavior of PVA/PAA/MWCNT nanofibers. *European Polymer Journal*, 47(10), 1893-1902.
- Zheng, R., Duan, H., Xue, J., Liu, Y., Feng, B., Zhao, S., ... & Zhou, G. (2014). The influence of Gelatin/PCL ratio and 3-D construct shape of electrospun membranes on cartilage regeneration. *Biomaterials*, 35(1), 152-164.