

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GAZ KÖPÜKLENDİRME YÖNTEMİ KULLANILARAK POLİETİLEN GLİKOL
BAZLI DOKU İSKELELERİNİN SENTEZİ**

BEGÜM AYTUĞRUL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
YRD. DOÇ. DR. MEHMET MURAT ÖZMEN**

İSTANBUL, 2016

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GAZ KÖPÜKLENDİRME YÖNTEMİ KULLANILARAK POLİETİLEN GLİKOL
BAZLI DOKU İSKELELERİNİN SENTEZİ**

Begüm AYTUĞRUL tarafından hazırlanan tez çalışması Temmuz 2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Biyomühendislik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Murat ÖZMEN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Murat ÖZMEN
Yıldız Teknik Üniversitesi

(jüri üyesinin ismi yazılmalıdır)

Yıldız Teknik Üniversitesi

(jüri üyesinin ismi yazılmalıdır)

Yıldız Teknik Üniversitesi

Yüksek lisans eğitimine başladığım ilk günden itibaren bilgi ve tecrübesi ile bana her zaman yol gösteren danışman hocam sevgili Yrd. Doç. Dr. Mehmet Murat ÖZMEN'e tüm emekleri için sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmalarım esnasında, bilgilerini benimle paylaşarak yardımlarını esirgemeyen, uzaktan tüm desteğini hissettiğim sevgili Berkay ÖZÇELİK'e teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

Yüksek lisans hayatımın bana kazandırdığı, tez çalışmalarımın tüm aşamalarında çok büyük emeği ve desteği olan kıymetli arkadaşım Tuğçe ŞEN'e dostluğu ve yardımları için en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Dr. Murat TOPUZOĞULLARI'na ve arkadaşlarım Tayfun ACAR, Pelin Pelit ARAYICI, Kübra Burcu AKKAYA ve Damla GÖKKAYA'ya teşekkür ederim.

Her zaman desteğini hissettiğim kıymetli dostum Özlem ÇEŞMECİOĞLU'na da tüm yardımları ve emekleri için çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca, desteğini ve varlığını bir gün olsun esirgemeyen, maddi ve manevi bütün imkânları koşulsuzca sunan, bu hayattaki en büyük şansım kıymetli annem Gülay AYTUĞRUL'a minnetlerimi sunarım. Sevgili babam Bülent AYTUĞRUL'a, değerli ağabeyim Aytağ AYTUĞRUL'a, öteki yarım ikizim Buğra AYTUĞRUL'a, dualarını esirgemeyen anneannem Jale ARZOĞLU'na ve her zaman yanı başımda olan Fulya TURNA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz, 2016

Begüm AYTUĞRUL

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ.....	vii
KISALTMA LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	3
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİ	4
2.1 Doku Mühendisliği	4
2.2 Doku İskelesi	5
2.3 Doku İskelesinde Kullanılan Malzemeler	6
2.3.1 Doğal Polimerler	6
2.3.2 Sentetik Polimerler	6
2.3.2.1 Polietilen Glikol (PEG)	7
2.3.3 Metaller ve Seramikler	8
2.3.3.1 Hidroksiapatit	8
2.3.4 Kompozitler.....	9
2.4 Doku İskelesinde İstenilen Özellikler	9
2.5 Doku İskelesi Üretim Teknikleri	11
2.5.1 Faz Ayrımı (Phase Separation)	11
2.5.2 Eriyik Kalıplama.....	12
2.5.3 Parçacık Uzaklaştırma	12

2.5.4	Fiber Bağlama (Fiber Bonding)	13
2.5.5	Elektro Eğirme (Elektro Spinning).....	13
2.5.6	Dondurarak Kurutma (Freeze-Drying)	14
2.5.7	Emülsiyon Dondurarak Kurutma (Emulsion Freeze-Drying).....	14
2.5.8	Gaz Köpüklendirme (Gas Foaming)	14
2.6	Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Gaz Köpüklendirme Yöntemleri.....	15
2.6.1	Karbondiyoksit (CO ₂) Kullanımı ile Gaz Köpüklendirme Yöntemi	15
2.6.2	Köpüklendirme Ajanı Kullanımı ile Gaz Köpüklendirme Yöntemi	16
2.6.3	Asit Klorür/ Alkol Kimyası Kullanılarak Gözenekli Doku İskelesi Elde Edilmesi.....	16
BÖLÜM 3		
MATERYAL VE YÖNTEM		18
3.1	Materyal ve Ekipman	18
3.1.1	Kullanılan Materyal.....	18
3.1.2	Kullanılan Ekipman	21
3.2	Yöntem.....	21
3.2.1	PEG Bazlı Süngerlerin Elde Edilmesi	22
3.2.2	Hidroksiapatit İlaveli (PEG-HA) Süngerlerin Elde Edilmesi	22
3.2.3	Sodyum Klorür İlaveli (PEG-NaCl) Süngerlerin Elde Edilmesi	24
3.2.4	Pudra Şekeri İlaveli (PEG-PŞ) Süngerlerin Elde Edilmesi.....	25
3.3	Karakterizasyon Testleri.....	26
3.3.1	ATR-Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR) Analizi	26
3.3.2	Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi	26
3.3.3	Gözenek Boyutunun Belirlenmesi	27
3.3.4	Şişme Ölçümleri	27
3.3.5	Mekanik Dayanım Testleri	28
3.3.6	Sünger Oluşum Reaksiyonlarının Termodinamik İncelenmesi	29
BÖLÜM 4		
SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....		31
4.1	PEG Bazlı Süngerlerin Oluşumu	31
4.2	Sünger Oluşum Reaksiyonlarının Takibi ve Termodinamik Değerlendirilmesi	33
4.3	ATR-Fourier Transform Infrared Spektrometresi (FTIR) Analizleri	34
4.4	SEM Analizleri ile Gözenek Yapısının ve Boyutlarının Değerlendirilmesi .	36
4.5	Şişme Testlerinin Değerlendirilmesi	40
4.6	Süngerlerin Mekanik Dayanımlarının Değerlendirilmesi	44
BÖLÜM 5		
SONUÇ VE ÖNERİLER		47

KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	54



SİMGE LİSTESİ

μm	Mikrometre
A	Alan
F	Kuvvet
GPa	Gegapascal
L	Süngere kuvvet uygulanmadan önceki ilk uzunluk
MPa	Megapascal
Pa	Pascal
w/v	Ağırlık/Hacim Oranı
w ₀	Süngerin kuru durumdaki ağırlığı
w _t	Süngerin şişmiş durumdaki ağırlığı
ΔL	Süngere kuvvet uygulanma esnasındaki boy değişimi
ΔT	Sıcaklık değişimi

KISALTMA LİSTESİ

Dk	Dakika
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GAG	Glikozaminoglikon
HA	Hidroksiapatit
HCl	Hidrojen Klorür
HDM	Hücre Dışı Matris
NaCl	Sodyum Klorür
PE	Pentaeritritol Etoksilat
PEG	Polietilen Glikol
PEGDA	Polietilen Glikol Diakrilat
PGA	Poliglikolik Asit
PLA	Polilaktik Asit
PLLA	Poli (L-laktik) Asit
PŞ	Pudra Şekeri SebCISebasoil Klorür
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
Sn	Saniye

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1	Doku mühendisliği yaklaşımı şematik gösterimi: Hastadan alınan hücrenin uygun kültür koşullarında çoğaltılması, ardından üç boyutlu bir doku iskelesine ekilmesi ve hücrelerin çoğalarak kendi hücre dışı matrislerini oluşturması[6]	5
Şekil 2. 2	Polietilen glikolün (PEG) yapısı	7
Şekil 2. 3	Çok kollu PEG'lerin kimyasal yapısı a) 4 kollu PEG ve b) 6 kollu PEG [26]	8
Şekil 2. 4	Faz ayırımı yönteminin şematik gösterimi[36]	12
Şekil 2. 5	Çözücü dökümü-parçacık uzaklaştırma yönteminin şematik gösterimi[36] .	13
Şekil 2. 6	Elektro eğirme yönteminin şematik gösterimi[36].....	14
Şekil 2. 7	CO ₂ kullanımı ile gaz köpüklendirme yönteminin şematik gösterimi[36]	16
Şekil 3. 1	Çok kollu PEG olan Pentaeritritol etoksilatın (PE) kimyasal yapısı	19
Şekil 3. 2	Sebasoil klorürün (SebCl) yapısı.....	19
Şekil 3. 3	Hidroksiapatitin (HA) yapısı	20
Şekil 3. 4	PEG bazlı süngerlerin elde edilme prosedürünün şematik gösterimi	22
Şekil 3. 5	HA ilaveli Süngerlerin elde edilmesinin şematik gösterimi	24
Şekil 3. 6	PEG bazlı süngerlerin plate üzerindeki görüntüleri a) Sentezlenen PEG-HA süngerinin FTIR analizi için yüzeyinden alınan kesit görüntüsü b) Numunelerin altın-paladyum kaplama öncesi görüntüleri c) Numunelerin altın-paladyum kaplama sonrası görüntüleri.....	27
Şekil 3. 7	Mekanik dayanım testleri için kullanılan Stable Micro Systems cihazının görüntüsü.....	29
Şekil 3. 8	Reaksiyon esnasındaki sıcaklık değişimini ölçmek amacıyla vial içerisine yerleştirilmiş prob termometreye ait görüntü	30
Şekil 4.1	PEG bazlı sünger doku iskelesinin vorteks işleminden sonra reaksiyonun gerçekleşme süresine ait görüntüsü.....	32
Şekil 4. 2	Sebasoil klorüree ait asit klorür grupları ve pentaeritritol etoksilatın hidroksil grupları arasındaki reaksiyon ile ester çapraz bağlarının oluşumunun şematik gösterimi ([3] 'den değiştirilerek)	33
Şekil 4. 3	PEG-Kontrol ve %20 w/v konsantrasyonlu PEG-HA, PEG-NaCl, PEG-PŞ süngerlerine ait reaksiyonların gerçekleşme sürecindeki zamana karşı ısı değişim grafiği.....	34
Şekil 4. 4	PEG bazlı süngerlerin ana bileşenleri olan PE ile SebCl'e ve PEG-Kontrol örneğine ait FTIR spektrumlarının görüntüsü.....	35
Şekil 4. 5	PEG-Kontrol ve PEG-HA numunelerine ait FTIR spektrum görüntüsü.....	36

Şekil 4. 6	PEG bazlı süngerlere ait SEM görüntüleri (X100) a) PEG-Kontrol b) PEG-HA37	
Şekil 4. 7	HA ilaveli süngerlere ait SEM görüntüleri a) PEG-HA (X500) b) PEG-HA (X5000).....	38
Şekil 4. 8	PEG bazlı süngerlere ait SEM görüntüleri (X35) a)PEG-Kontrol b)PEG-NaCl c)PEG-PŞ.....	39
Şekil 4. 9	Pudra şekeri ilaveli süngere ait hiyeraşik yapının SEM görüntüleri a) PEG-PŞ (X100), b) PEG-PŞ (X3000).....	40
Şekil 4. 10	PEG bazlı süngerlerin kuru ve şişmiş durumdaki görüntüsü: a) kuru durumdaki PEG-HA, b) kuru durumdaki PEG-Kontrol, c) şişmiş durumdaki PEG-HA, d) şişmiş durumdaki PEG-Kontrol.....	41
Şekil 4. 11	PEG-HA sünger serisine ait zamana karşı denge şişme oranları	42
Şekil 4. 12	PEG-NaCl sünger serisine ait zamana karşı denge şişme oranları.....	43
Şekil 4. 13	%20 w/v oranında farklı ilaveler ile elde edilmiş süngerlere ait şişme oranları.....	44
Şekil 4. 14	PEG-HA sünger örneğine ait mekanik dayanım testi aşamalarının görüntüleri	45
Şekil 4. 15	PEG-Kontrol ve aynı oranlara sahip farklı içerikli PEG-HA, PEG-NaCl, PEG-PŞ süngerlerine ait gerilim-gerinim eğrisi.....	46

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 3. 1 PEG-HA süngerlerinin hazırlanmasında kullanılan bileşenler.....	24
Çizelge 3. 2 PEG-NaCl süngerlerinin hazırlanmasında kullanılan bileşenler.....	25
Çizelge 3. 3 PEG-PŞ süngerlerinin hazırlanmasında kullanılan bileşenler.....	25
Çizelge 4. 1 Aynı oranlarda farklı içeriklere sahip PEG bazlı süngerlere ait ortalama gözenek boyutu ve standart sapma değerleri.....	36
Çizelge 4. 2 PEG bazlı süngerlerin elastik modül değerleri	45

**GAZ KÖPÜKLENDİRME YÖNTEMİ KULLANILARAK POLİETİLEN GLİKOL
BAZLI DOKU İSKELELERİNİN SENTEZİ**

Begüm AYTUĞRUL

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Mehmet Murat ÖZMEN

Doku mühendisliği uygulamaları için istenen özelliklere sahip gözenekli doku iskelelerinin üretimi, karmaşık ve zorlu bir süreç olmaya devam etmektedir. Uygun doku iskelelerinin geliştirilmesi doku mühendisliği araştırmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Doku mühendisliği iskelelerinin istenilen hücresel etkileşimler ve doku rejenerasyonu için belirli yapısal ve fiziko-kimyasal özelliklere sahip olması gerekmektedir. Doku iskelelerinin sahip olması gereken en önemli özellik içyapılarının gözenekli olması gerekliliğidir. Bu gözenekler, in vitro ortamda doku iskelelerine yerleştirilen hücrelerin besin-oksijen transferi ve hücrelerde üretilen atıkların uzaklaştırılması için kullanılmaktadır.

Bu tezin amacı, alternatif bir gaz köpüklendirme yöntemi ile üç boyutlu ve birbirleriyle bağlantılı gözenek yapısı olan yeni doku iskeleleri üretmektir. Literatürde, böyle bir yaklaşımla doku iskelesi elde edilmesini içeren çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. İlk başta yapılan deneysel çalışmalarda, mevcut gaz köpüklendirme yöntemlerinden farklı olarak, bir inert gaza gereksinim duymadan, tek bir kap içerisinde, asit klorür/alkol kimyasıyla, polietilen glükol (PEG) bazlı süngerler üretilmiştir. Çok kollu bir PEG olan Pentaeritritol etoksilat (PE) ve sebasoil klorürün (SebCl) çapraz bağlanmasıyla gerçekleşen ekzotermik reaksiyon sonucunda HCl gazının açığa çıkmasıyla gözenekli bir

yapıya sahip olan PEG bazlı sünger doku iskeleleri elde edilmiştir. Sadece PE ve SebCl arasındaki reaksiyonla elde edilen süngerler kontrol numuneleri olarak ele alınmıştır. Daha sonra ise, reaksiyon sistemine hidroksiapatit (HA), sodyum klorür (NaCl) ve pudra şekeri (PŞ) ilave edilerek farklı özelliklerde ve literatürde bulunmayan üç yeni tip PEG bazlı sünger sentezlenmiştir. Referans olarak kabul ettiğimiz süngerin mekanik özelliklerini iyileştirmek amacı ile sisteme HA ilave edilerek PEG-HA süngerleri sentezlenmiştir. Daha sonra, gözenek yapıcı olarak düşünülen NaCl ve pudra şekeri ise referans süngerin sistemine eklenerek PEG-NaCl ve PEG-PŞ süngerleri elde edilmiştir. Üretilen tüm sünger formundaki doku iskelelerinin yapısı Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR), gözeneklilikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM), mekanik dayanımları Stable Micro System Texture Cihazı ve denge şişme miktarları kuru-şişmiş ağırlıkları tartılarak belirlenmiştir.

FTIR analizi ile PE ve SebCl arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonlarının başarılı bir şekilde gerçekleştiği anlaşılmıştır. SEM analizleri sonucunda, üretilen süngerlerin 200-500 µm gözenek çapına ve birbirleriyle bağlantılı gözenek yapısına sahip oldukları görülmüştür. PEG-HA süngerlerine ait SEM görüntülerinde gözenek duvarında HA tozu ve topaklanmalarının olduğu yani HA'nın homojen bir şekilde dağılmadığı tespit edilmiştir. Pudra şekeri ilaveli süngerlerde doku mühendisliği uygulamaları için oldukça önemli olan hiyerarşik bir gözenek yapısı, yani gaz çıkışından ötürü oluşan büyük gözeneklerin yanı sıra, PŞ'nin reaksiyon tamamlandıktan sonra sistemden uzaklaştırılmasıyla küçük gözeneklerin oluştuğu belirlenmiştir. NaCl katkısıyla ise süngerlerin gözenek boyunun arttığı görülmüştür. Mekanik özellikler en fazla HA katkısı ile değişmiş oldukları bulunmuştur. Şişme özellikleri açısından değerlendirilme yapıldığında ise farklı katkı maddeleri ilave edilerek üretilen süngerlerin denge şişme oranları arasında büyük farklılıklar olmadığı görülmüştür.

Sonuç olarak, çok basit ve hızlı bir şekilde gerçekleşen asit klorür/alkol kimyası reaksiyonu ile doku mühendisliğinde doku iskelesi olarak kullanılabilecek üstün mekanik özelliklere ve birbirleriyle bağlantılı gözenek yapısına sahip yeni biyomalzemeler elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Doku iskelesi, gaz köpüklendirme, polietilen glikol, hidroksiapatit

SYNTHESIS OF POLYETHYLENE GLYCOL BASED SCAFFOLDS USING GAS FOAMING METHOD

Begüm AYTUĞRUL

Department of Bioengineering

MSc. Thesis

Adviser: Assist. Prof. Mehmet Murat ÖZMEN

The preparation of a scaffold for tissue engineering applications is a complex and difficult process. Key requirements for scaffold fabrication methods include control of the porosity, pore size, shape and interconnectivity, mechanical properties as well as the biodegradability and biocompatibility of the scaffolds. In order to produce a well-defined scaffold, numerous methods have been proposed. Among the fabrication technologies that have been used to obtain 3D porous scaffolds, gas foaming has been extensively utilized in the past decade. However, the necessity to use a pore foaming agent /gases limits the application of this method.

The aim of this thesis is to synthesize scaffolds with tunable porosity and mechanical properties by a contradictory gas foaming strategy without using gas foaming reagents or additionally added gases. Such an approach has been rarely used in the literature. To achieve this aim, acid chloride/alcohol chemistry was employed as a facile and rapid method to produce polyethylene glycol (PEG) based scaffolds. A hydroxyl functionalised multi-armed PEGs and an acid chloride cross-linker; sebacoyl chloride was reacted to form an ester cross-links resulting from the cross-linking between PEG and acid chloride. During the crosslinking reaction, the superfast exothermic reaction released HCl gas, which forms scaffolds with a highly interconnected porous internal structure. Here, the effects of additives, i.e. hydroxyapatite(HA), sodium chloride(NaCl) and powder sugar on the properties of the novel scaffolds was investigated. The obtained scaffolds were characterized using Fourier Transform

Infrared spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM), swelling and compression measurements.

FTIR results revealed that the crosslinking reactions between Pentaerythritol ethoxylate (PE) and sebacoyl chloride (SebCl) were successfully accomplished. SEM images exhibited that the pore size of the sponges was between 200-500 μm and the sponges possess an interconnected porous structure. The SEM images of the PEG-HA sponges showed that HA was agglomerated on the pores and thus it was unhomogeneously distributed. Powder sugar included sponges showed a hierarchical pore structure, that is, large pores due to the gas foaming while small pores because of the removal of the powder sugar upon completion of the reaction. Furthermore, addition of NaCl increased the pore sizes. Among the various additives incorporation, the drastic change in the mechanical properties was for PEG-HA sponges. However, there was no significant change in the equilibrium swelling ratios of the sponges by an additive inclusion.

In conclusion, the results revealed that the newly prepared scaffolds are suitable candidates as tissue engineering scaffolds due to their improved mechanical properties as well as the pore structure capable of supporting tissue penetration and vascularization.

Keywords: Scaffold, gas foaming, polyethylene glycol, hydroxyapatite

1.1 Literatür Özeti

Doku mühendisliği multidisipliner bir alan olmakla beraber klasik tedavi yöntemlerine alternatif olarak, hasar görmüş veya işlevini kaybetmiş doku ya da organların yenilenmesini hedeflemektedir[1]. Hasarlı dokunun yenilenmesi veya iyileştirilmesinde çeşitli doku mühendisliği uygulamaları bulunmakta ve farklı yaklaşımlar sunulmaktadır. Mevcut yaklaşımlardan birinde, doku oluşumunu sağlamak amacı ile biyomalzemeler kullanılmaktadır. Diğer bir yaklaşımda ise hastanın kendisinden veya uygun bir vericiden alınmış olan hücrelerin hasarlı dokunun ya da organın bulunduğu bölgeye yerleştirilmesi sağlanmaktadır. Doku veya organın yenilenmesini, fonksiyonlarının onarılmasını ve desteklenmesini sağlamak amacı ile doku iskelelerinin kullanılması ise doku mühendisliğindeki en önemli yaklaşım olmaktadır. Yapay hücre dışı matris olarak da ifade edilen doku iskelesi hücrelerin tutunması, çoğalması, farklılaşması için gerekli desteği sağlayarak yeni doku oluşumuna uygun ortam sağlamaktadır.

Literatürde, elektrospinning, dondurarak kurutma ve çözücü döküm / tuz süzme, faz ayırma, dondurarak kurutma, gaz tabanlı gibi çeşitli yöntemler gözenekli doku iskeleleri oluşturmak için kullanılmaktadır[2]. Fakat bu tekniklerin toksik organik çözücünün kullanılması, ince iki boyutlu (2D) yapıları, homojen olmayan ve sınırlı gözeneklilik, düzensiz şekilli gözeneklerin oluşması ve gözenekler arası bağlantının yetersiz olması gibi dezavantajları olmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan gaz köpüklendirme yöntemi, gaz kabarcıklarını elde etmek için karbon dioksit (CO_2) ve azot (N_2) gibi inert gazların kullanılmasını ya da bazı maddelerin (yüzey aktif maddelerin, çözücülerin ve

porojenlerin) ilave edilmesini gerektirmektedir. Son zamanlarda, mevcut gaz köpüklendirme yöntemlerinden farklı olarak, bir inert gaza gereksinim duymadan, tek bir kap içerisinde, asit klorür/alkol kimyasıyla poli(etilen glikol) (PEG) bazlı sünger doku iskeleleri üretilmiştir. Pentaeritritol etoksilat (PE) ve sebasoil klorür (SebCl) çapraz bağlanma reaksiyonu ile yan ürün olarak hidrojen klorür gazı (HCl) açığa çıkmış ve gözenekli bir yapıya sahip poliestere PEG süngerler sentezlenmiştir[3]. Ayrıca, doku iskelesi üretim yöntemi kadar doku iskelesi için kullanılacak malzeme de oldukça önemlidir. Son zamanlardaki doku iskelesi çalışmalarında üzerinde yoğunlaşılacak poli(etilen glikol) (PEG) suda çözülebilen hidrofilik bir polimer olmakla beraber, düşük toksisite, düşük immünojenlik gibi birçok özelliğinden dolayı biyomedikal uygulamalar için dikkat çekmektedir.

Yukarıda bahsedildiği gibi doku iskelesi elde etmek için yapılan yoğun çalışmalara rağmen, istenilen özelliklerdeki doku iskelesi üretiminde halen zorluklar yaşanmaktadır. Çünkü doku iskelesinin bir özelliğini optimum sağlanması için uğraş verilirken bir diğer özellik zarar görmektedir. Bu nedenle, biyoy uyumlu ve biyobozunur özelliklere sahip olmasının yanı sıra, hem yüksek mekanik dayanım gösteren hem de birbiri ile içsel bağlantılı, üç boyutlu gözenekliliği olan yeni tür biyomalzemelere ihtiyaç duyulmaktadır.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında, bir doku iskelesinde olması gereken optimum özelliklere sahip yeni bir gözenekli biyomalzemenin kontra bir gaz köpüklendirme yöntemiyle üretimi amaçlanmıştır. Burada, literatürdeki geleneksel gaz köpüklendirme yöntemlerinden farklı olarak, köpüklendirme ajanı veya gazı ilave etmeden sadece reaksiyon bileşenlerinin çapraz bağlanması sonucu gaz çıkışı ile gözenekli bir yapı oluşturulmak istenmektedir. Reaksiyon sistemine, mekanik ve gözeneklilik özelliklerini iyileştirmek amacı ile çeşitli katkı maddeleri (HA, NaCl ve pudra şekeri) ilave edilerek yeni tür çapraz bağlı süngerlerin sentezlenmesi ve karakterize edilmesi hedeflenmiştir.

1.3 Hipotez

Bu tez kapsamında, literatürde doku iskelesi üretim çalışmalarında çok az sayıda kullanılan, asit klorür/alkol kimyasıyla gerçekleştirilmiş gaz köpüklendirme yönteminden yola çıkılarak, farklı katkı maddeleri ilavesiyle doku mühendisliği uygulamalarında kullanılacak sünger formunda birbirinden farklı özelliklere sahip yeni biyomalzemelerin üretilebileceği öngörülmüştür. Bu katkı maddelerinin, biyomalzemelerin içyapısını değiştirebileceği örneğin hiyerarşik yapıda ikili bir gözenek yapısını oluşturabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, katkı maddelerinin süngerlerin elastik özellikleri üzerinde oldukça büyük bir etkisi olabileceği tahmin edilmiştir. Oldukça basit ve hızlı bir yöntem olan asit klorür/alkol reaksiyon sistemine ucuz ve kolay bulunabilen katkı maddelerinin ilavesiyle, yeni tür biyomalzemelerin avantajlı bir yaklaşımla hazırlanabilecekleri varsayılmıştır.

BÖLÜM 2

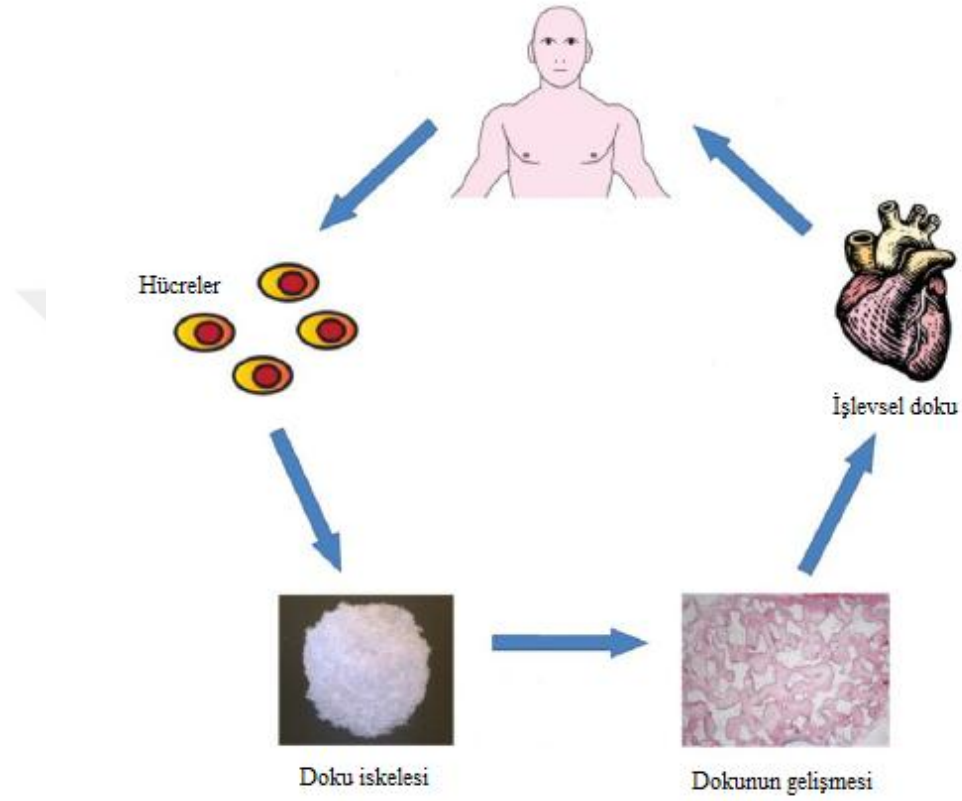
GENEL BİLGİ

2.1 Doku Mühendisliği

İnsan vücudu karmaşık sistemlerden oluşan bir yapıya sahiptir. Sistemler organlardan, organlar dokulardan, dokular ise hücre ve hücre dışı matrinden (HCM) meydana gelmektedir[4]. Bir dokunun ya da organın hasar görmesi veya kaybedilmesi, canlı vücudunda görülebilecek ve yaşam kalitesini etkileyecek en önemli sorunlardan biri olmaktadır. İnsan yaşamını etkileyen bu probleme çözüm olmak ve geleneksel tedavi yöntemlerindeki sınırları aşmak amacıyla ortaya çıkan doku mühendisliği kavramı günümüzde çok büyük ilgi görmektedir ve birçok alanda farklı uygulamaları yapılmaktadır.

İlk olarak Langer ve Vacanti tarafından 1993'te ortaya çıkmış olan doku mühendisliği kavramı bilim ve mühendislik ilkelerini uygulayarak farklı disiplinleri bir araya getirmektedir. Doku mühendisliğinin temel amacı bir organ veya dokunun görevini yerine getirmek, korumak ve iyileştirmektir[1]. Doku mühendisliği doku iskelesi, biyosinyal molekülleri ve hücreler olmak üzere üç temel bileşenden oluşmaktadır. Biyosinyal molekülleri yeni doku oluşumu süresince yapışma, çoğalma, yayılma ve farklılaşma gibi hücresel işlevleri desteklemek amacıyla kullanılırken, hücre dışı matrisi taklit edebilen doku iskeleleri ise bu hücresel işlevlerin gerçekleşebileceği uygun ortamın sağlanması için kullanılmaktadır. Şekil 1.1' de görüldüğü gibi, hastadan alınan hücreler uygun kültür koşulları altında çoğaltılmakta, ardından üç boyutlu bir doku iskelesine ekilmekte ve hücreler çoğalarak kendi hücre dışı matrislerini (HDM) sentezledikten sonra oluşan yeni doku hastanın istenilen bölgesine yerleştirilmektedir.

Doku mühendisliği yaklaşımı, insan vücudunda bulunan yumuşak doku (kas, deri, organlar vb.) ve sert doku (kıkırdak, kemik) için uygulanmaktadır[5]. Doku mühendisliği uygulamalarının en temel ögesi, hedef dokuyu oluşturabilme potansiyeline sahip hücrelerin tutunmasını ve çoğalmasını sağlayan ve oluşturulması hedeflenen dokunun üç boyutlu yapısını belirleyen doku iskelesidir.



Şekil 2. 1Doku mühendisliği yaklaşımı şematik gösterimi: Hastadan alınan hücrenin uygun kültür koşullarında çoğaltılması, ardından üç boyutlu bir doku iskelesine ekilmesi ve hücrelerin çoğalarak kendi hücre dışı matrislerini oluşturması[6]

2.2 Doku İskelesi

Doku mühendisliği yaklaşımının ana bileşenlerinden bir olan doku iskelesi, hücre dışı matriksi (HDM) taklit ederek, hücrelerin yapışması, çoğalması, farklılaşması ve büyümesi için uygun bir ortam yaratmak, sağlıklı dokunun mekanik özelliklerini iyileştirmek ve sağlıklı yeni doku oluşumunu sağlanıncaya kadar bu özellikleri korumak doku iskelelerinin temel görevleri olmaktadır. İmplant edilebilen doku iskeleleri şekil ve implantasyon bölgesinin konumuna bağlı olarak, iki boyutlu (2D) film biçiminde ya

da üç boyutlu (3D) gözenekli yapılar olarak hazırlanmaktadır. Doku iskeleleri, kalp valfleri, kan damarları, cilt, tendonlar, sinirler, kaslar ve karaciğer gibi birçok farklı dokudan türetilmektedir[2]. Oluşturulmak istenilen dokuya göre doku iskelesi özellikleri farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle doku iskelesinin üretimi sırasında kullanılacak yöntem ve malzemelerin seçimine dikkat edilmesi gerekmektedir. Aşağıdaki bölümlerde doku iskelesinin sahip olması gereken özelliklerden, üretiminde kullanılan malzemelerden ve üretim yöntemlerinden bahsedilmektedir.

2.3 Doku İskelesinde Kullanılan Malzemeler

Doku iskelesi yerine kullanılacağı dokuya benzer özelliklere sahip olması gerektiği için uygun malzeme seçimi yapmak oldukça önemlidir. İstenilen özelliklere sahip potansiyel doku iskele malzemeleri temel olarak, doğal polimerler, sentetik polimerler, metaller, seramikler ve bu malzemelerin kombinasyonları olarak sayılabilmektedir[7]. Bu malzemeler kullanılacak dokuya göre tercih edilmektedir. Örneğin, kemik gibi sert doku uygulamaları için doku iskele malzemesi olarak polimer, seramik ya da kompozitlerden kullanılırken, deri gibi yumuşak doku uygulamalarında ise doğal polimerler veya sentetik polimerler kullanılmaktadır[8].

2.3.1 Doğal Polimerler

Doğal polimerlerin vücut içerisinde bulunmaları, vücuttaki hücre dışı matrise (HDM) olan benzerlikleri ve yüksek biyouyumlulukları nedeniyle doku iskele malzemesi olarak oldukça fazla tercih edilmektedir. Bununla birlikte doğal polimerlerin yüksek sıcaklıkta bozunmaları, işlemedeki zorlukları, immünojenisitesi ve hayvan kökenli patojen aktarımından kaynaklı bazı dezavantajları bulunmaktadır. Kolajen, nişasta, glikozaminoglikan (GAG), kitin ve kitosan gibi doğal polimerler kıkırdak, kemik, deri ve sinirleri tamir etmek için kullanılmıştır. Bunlar arasından kollajen, kitosan ve ipek kemik doku mühendisliği uygulamaları için sıklıkla tercih edilen doğal polimerlerdir[9].

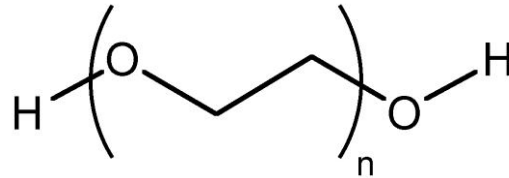
2.3.2 Sentetik Polimerler

Sentetik polimerler, doğal polimerler ile karşılaştırıldığında doku iskeleleri üretimi için gerekli olan tekrarlanabilir fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler. Yüksek

dayanıklılık, biyobozunurluk ve biyoyumluluk, şekillendirme kolaylığı, zararlı olmayan parçalanma ürünü, uzun süreli uygulamalarda kullanım avantajı ve yüksek gözeneklilik oranı gibi pek çok özelliğe bulunmaktadır[10], [11]. Poli (glikolik asit) (PGA), poli (laktik asit) (PLA), bunların kopolimerleri poli [(laktik asit -CO- (glikolik asit)] (PLGA) ve polikaprolakton (PCL) gibi alifatik poliesterler, doku mühendisliği uygulamalar için en yaygın olarak kullanılan sentetik polimerlerdir[12], [13]. Farklı malzeme gruplarıyla birleştirilerek kompozit oluşturan sentetik polimerlerin biyoyumluluklarını arttırmak mümkündür [14].

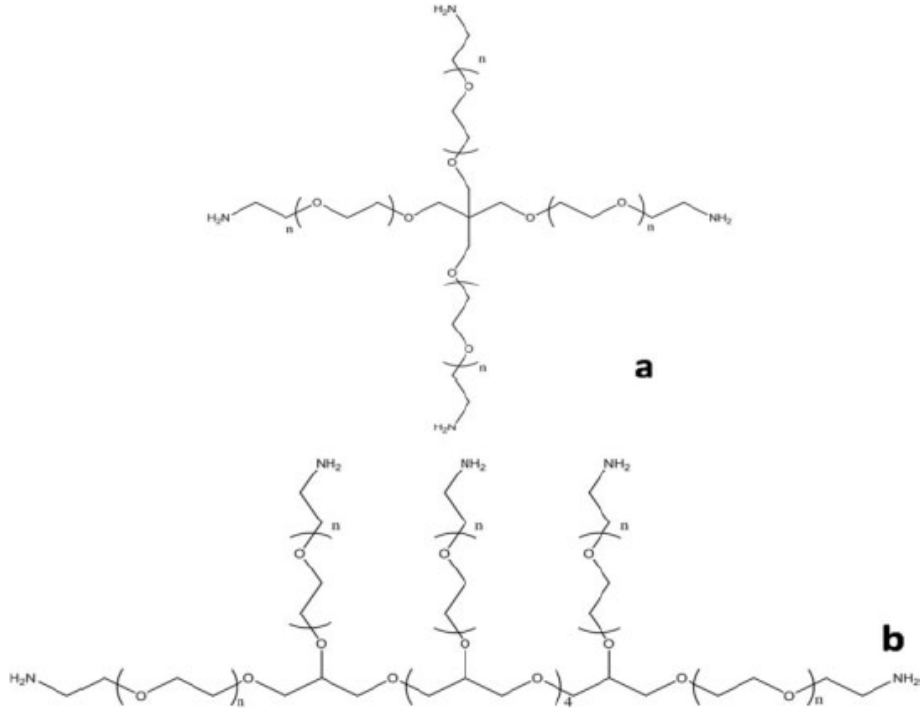
2.3.2.1 Polietilen Glikol (PEG)

Polietilen glikol (PEG) yüksüz, suda çözünen, uçucu olmayan, renksiz ve hidrofilik karakterli bir polimerdir [15], [16]. Bu özelliklerinin yanısıra düşük toksisite, düşük immünojenisite ve protein direnci gibi yararlı özellikler sergileyen birçok farklı molekül ağırlıklarına sahip bir yapısı mevcuttur[17]. Şekil 2.2’ deki, PEG iki hidroksil uç grup içeren bir yapıdadır. Doğrusal PEG zincirlerinin yanısıra, iki veya daha fazla PEG zincirleri bağlayıcılar ile bir araya gelerek dallanmış PEG zincirleri de Şekil 2.3’ görüldüğü gibi oluşturmaktadır. [19], [20].



Şekil 2. 2 Polietilen glikolün (PEG) yapısı

Doğrusal veya dallanmış formda bulunan PEG gıda, ilaç ve kozmetik uygulamaları için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış bir polimerdir[21]. PEG bazlı hidrofilik çapraz bağlı polimer matrisler, ya da hidrojeller, doku mühendisliği için popüler bir doku iskelesi olmaktadır [22]. Biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılan PEG hidrojelleri, kemik rejenerasyonu, kırık onarımı ve vaskülarize doku oluşumu da dâhil olmak üzere doku mühendisliği alanında çalışmaları mevcut olup, farklı potansiyel uygulamaları için araştırılmaktadır [23], [24], [25].



Şekil 2. 3 Çok kollu PEG'lerin kimyasal yapısı a) 4 kollu PEG ve b) 6 kollu PEG [26]

2.3.3 Metaller ve Seramikler

Metaller ve seramikler tıpta büyük gelişmelere katkıda bulunmuş doku iskele malzemeleridir. Paslanmaz çelikler, kobalt bazlı alaşımlar ve titanyum bazlı alaşımlar implant metalleridir[27]. Çok sert ve kırılgan bir yapıya sahip olan en tipik seramikler ise alüminyum, zirkonyum, kalsiyum fosfat ve biyocamdır[28]. Biyoseramikler sahip oldukları bioaktiflik ve biyouyumluluk özellikleri ile kemik onarımı için dolgu malzemesi ve yapay kemik matriksi olarak kullanılmaktadır.

2.3.3.1 Hidroksiapatit

Kalsiyum fosfat esaslı bir biyoseramik bir malzeme olan hidroksiapatit $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, tıpta birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır[29]. Doğal kemik dokusunun inorganik bileşenine çok benzer bir kimyasal yapıya sahip olduğu için kemik doku mühendisliği uygulamalarında oldukça dikkat çekmektedir. Mükemmel biyouyumluluğu sayesinde çatlak ve kırık olan kemiklerin onarımında, yapay kemik olarak çeşitli protezlerde ve metalik biyomalzemelerin kaplanmasında uygulanmaktadır. HA non-toksik bir malzeme yani zehir etkisi olmadığı için meydana

gelebilecek vücut reaksiyonları minimumdur. HA'e ait mekanik özellikler aşağıdaki çizelge 2.1 ile verilmiştir.

Çizelge 2. 1 HA'nın mekanik özellikleri [30]

Elastisite modülü (GPa)	4.0-117
Bası mukavemeti (MPa)	294
Eğilme mukavemeti (MPa)	147
Sertlik (Vickers, GPa)	3.43
Poisson oranı	0.27
Yoğunluk (teorik, g/cm ³)	3.16

2.3.4 Kompozitler

İki veya daha fazla sayıdaki malzemenin birleşmesi ile meydana gelen kompozitler, kendi yapısını oluşturan temel malzemelerden bağımsız olarak farklı özellikler taşımaktadır[31]. Günümüzde, polimerlerin ve seramiklerin kompozitleri doku iskelesinin mekanik dayanıklılığını arttırmak ve doku etkileşimini iyileştirmek amacı ile geliştirilmektedir [32].Genellikle, doku iskeleleri tasarlanırken polimerlere, güçlendirici madde olarak toz seramikler, cam, karbon ya da polimer lifler ilave edilmektedir. Böylelikle doku iskelesinin yüksek dayanıklılığa ve düşük elastik modüle sahip olması hedeflenmektedir. Kompozitlerin yapısal içeriklerinde yapılan değişikliklerle kırılma direnci, aşınma direnci ve metal iyonların organizmaya yayılması önlenmektedir ya da azaltılabilmektedir. Yapısal sağlamlıklarına rağmen hafif olmaları da önemli bir avantaj sağlamaktadır.

2.4 Doku iskelesinde İstenilen Özellikler

Üretilen doku iskelesinin istenilen özelliklere sahip olması ve kullanılan malzemelerin buna uygun olarak seçilmesi çok önemlidir. Bu özelliklere sahip olmayan doku iskelelerinin vücut içerisinde kullanılması istenmeyen sonuçlar doğurabilmektedir. Aşağıda bir doku iskelesinde olması istenen özellikler genel şekilde özetlenmiştir[11], [33].

I.Biyouyumluluk

Doku iskelesi için en önemli özellik kullanılan malzemenin biyouyumluluğudur. Vücut içerisinde reaksiyona girmemeli; dokular için inert olmalı ve immünolojik herhangi bir tepkiye yol açmamalıdır. Doku iskelesine ait parçalanma ürünleri vücuda zarar vermemeli yani toksik etkisi olmamalıdır.

II.Biyobozunurluk

Doku iskelesinde kullanılan malzemenin biyobozunması, canlı organizmalar tarafından kimyasal olarak kırılması ve fiziksel özelliklerinin değişmesi sonucunda gerçekleşmektedir. Vücut içersine yerleştirildikten sonra istenilen sürede doğal olarak parçalanabilmeli ve böylece hücrelere kendi hücre dışı matrislerini (HDM) sentezlemeleri için gereken zamanı kazandırabilmelidir. Seçilen polimerin yapısına ve kullanılan hücre türüne göre bozunma süresi değişmektedir. İstenilen bozunma süresi uygun polimerlerin kullanılması ile ayarlanabilmektedir.

III.Mekanik Dayanım

Doku iskelelerinin yerleştirildiği ortam içerisinde mekanik etkiler sebebiyle parçalanıp dağılmaması gereklidir. Kullanılan malzemeler doğal süreç içerisinde yavaş yavaş bozunmalı ve kendisini oluşturan monomerlere yıkılmalıdır.

IV.Uygun Yüzey Kimyası

Hücre bağlanmasının ilk olarak malzeme yüzeyinde başlamasından ve doku oluşumunun hücre-malzeme etkileşmesine bağlı olmasından dolayı doku iskelesinin sahip olduğu yüzey oldukça önemlidir. Bu nedenle, doku iskelesinin yüzeyindeki fonksiyonel gruplar hücre yapışmasını artırabilir veya azaltabilir.

V.Gözenekli Yapı

Yüksek gözenekliliğe sahip doku iskeleleri, hücre oluşturmaları, çoğalması ve 3 boyutlu yeni doku oluşumu için önemli bir rol oynar. Hücrelerin polimerik biyomalzemelerin üzerine yerleşmesi, oksijen ve besin maddelerinin geçişini sağlaması için yapının yüksek oranda gözeneklilik özelliğine sahip olması gerekmektedir. Doku iskelesi ya da sünger yapısı üretimi yapılırken istenilen gözenek miktarı ve boyutu için uygun teknikler kullanılmaktadır[9]. Değişik makro yapılarda üretilen doku iskeleleri, büyük yüzey

alanına sahip oldukları için hücre yapışmasına olanak sağlamaktadır[27]. Doku rejenerasyonu ise doku iskelelerinin sahip oldukları mikro yapılar ile bağlantılı olmaktadır[34].

2.5 Doku İskelesi Üretim Teknikleri

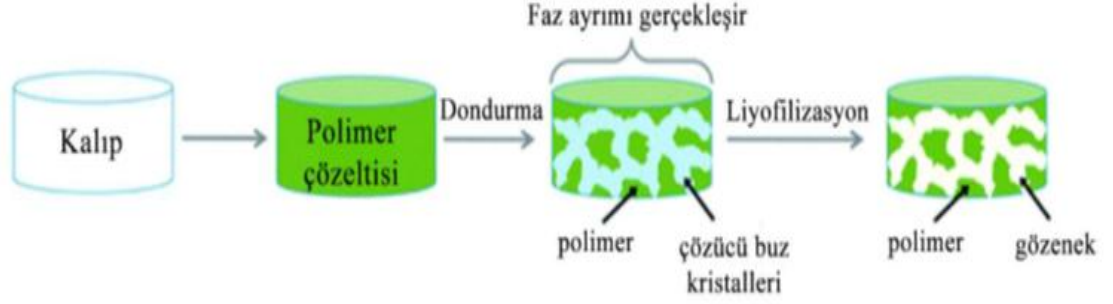
Doku iskelelerinin üretimi için faz ayırma (phase separation), eriyik kalıplama (porogen leaching), parçacık uzaklaştırma, fiber bağlanma (fiber bonding), elektro eğirme (electro spinning), dondurarak kurutma (freeze-drying), emülsiyon dondurarak kurutma (emulsion freeze-drying) ve gaz köpüklendirme (gas foaming) gibi birçok farklı yöntem kullanılmaktadır. Kullanılan yöntemlere göre birbirinden farklı özelliklere sahip doku iskeleleri elde edilmesi nedeniyle üretim esnasında yöntem seçimi çok büyük önem taşımaktadır. Aşağıda bu yöntemler hakkında kısa bilgiler sunulmaktadır.

2.5.1 Faz Ayrımı (Phase Separation)

Homojen birçok bileşenli bir sistem, bazı koşullar altında, termodinamik açıdan kararsız hale gelir ve sistemdeki serbest enerjiyi azaltmak için birden fazla faza ayrılma eğilimindedir. Bir polimer çözeltisinde, bir zengin faz ve bir hafif faz olmak üzere iki faz vardır. Sistemden çözücü uzaklaştırıldıktan sonra, polimer bakımından zengin faz katılaşır. Bu yöntem, katı-sıvı faz ayrımı (solid-liquid phase separation) ve sıvı-sıvı faz ayrımı (liquid-liquid phase separation) olmak üzere ikiye ayrılır[35].

Katı-sıvı faz ayrımında, sıcaklığın düşürülmesi ile bir polimer çözeltisinden çözücü kristaller oluşur. Ardından çözücü kristalleri yapıdan uzaklaştırılarak gözenekli doku iskeleleri elde edilir.

Sıvı-sıvı faz ayrımında ise, polimer düşük donma noktasına sahip bir çözücü içerisinde çözülür ve ardından bu çözelti çözücünün donma noktasının altında soğutulur. Vakumlu kurutma ile donmuş olan çözücü yapıdan uzaklaştırılarak gözenekli doku iskeleleri elde edilir.



Şekil 2. 4 Faz ayrımı yönteminin şematik gösterimi[36]

2.5.2 Eriyik Kalıplama

Eriyik kalıplama yönteminde, herhangi bir çözücü kullanılmaksızın polimer ve porojen madde karıştırılmaktadır. İstenilen geometriye sahip kalıba karışım döküldükten sonra kalıba uygulanan ısı ile polimer eriyik hale getirilmektedir. Porojen maddesinin içinde çözünebileceği çözücü ile etkileştirilmesi sonucu porojen yapıdan uzaklaştırılmakta ve böylece istenilen geometriye sahip, gözenekli ve üç boyutlu doku iskeleleri elde edilmektedir[37].

2.5.3 Parçacık Uzaklaştırma

Parçacık uzaklaştırma yönteminde, polimer uygun bir çözücü içerisinde çözündürüldükten sonra belirli parçacık boyutuna sahip bir porojen madde bu çözeltinin içine ilave edilmektedir. Sodyum klorür, şeker, parafin ve jelatin porojen olarak kullanılmaktadır[38]. Yapışmayacağı düz bir yere dökülen karışım, çözücü ile uzaklaştırılmaktadır. Böylece içinde porojenlerin bulunduğu katı polimerik yapı elde edilmektedir. Bu yapıdan porojenlerin uzaklaştırılması için porojen maddenin çözünebileceği herhangi bir çözücü ile etkileşmesi sağlanmaktadır. Su jelatin, sodyum klorür ve şeker için çözücü olarak kullanılırken parafin için hekzan kullanılmaktadır. Gözenekler porojenlerin terk ettiği bölgelerde meydana gelmektedir[39], [40]. Parçacık uzaklaştırma yöntemi ile gözenek boyutu ve özellikleri kullanılan porojen boyutuna göre değişebilen doku iskeleleri üretilmektedir.



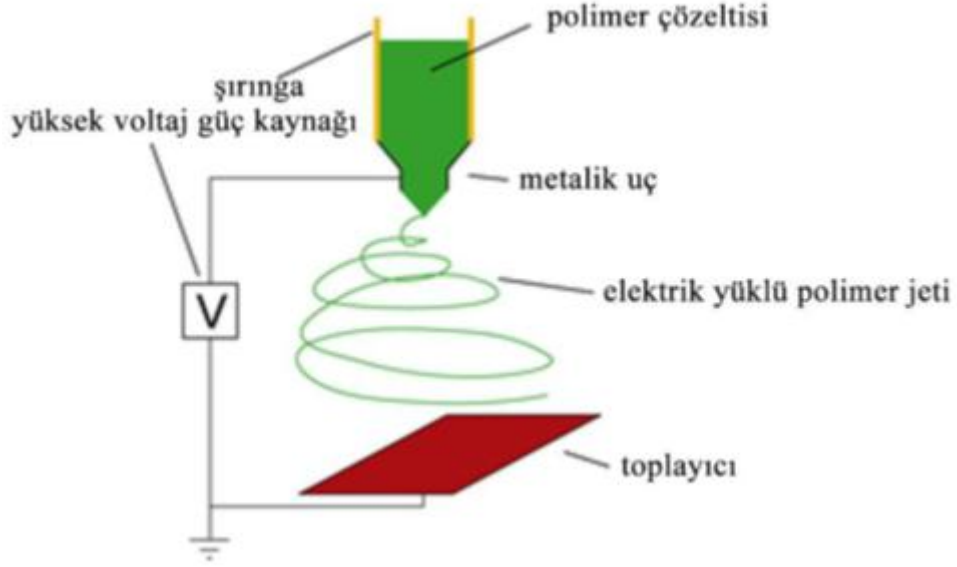
Şekil 2. 5 Çözücü dökümü-parçacık uzaklaştırma yönteminin şematik gösterimi[36]

2.5.4 Fiber Bağlama (Fiber Bonding)

En eski doku iskelesi üretim yöntemleri arasında fiber bağlama yöntemi yer almaktadır. Bu yöntem, biyobozunur bir polimer olan poli laktik-ko-glikolik asit (PGA) ameliyat ipliklerinin doku iskelesi olarak kullanılabilmesi amacı ile geliştirilmektedir. Ancak PGA ameliyat iplikleri kullanılması ile elde edilen örülmemiş ağ dokularının mekanik dayanımları yeterli olmamaktadır[37].

2.5.5 Elektro Eğirme (Elektro Spinning)

Elektro-eğirme yönteminde polimer çözeltisi damlatılmak için Şekil 2.6'da görüldüğü gibi bir enjektör ile bekletilir. Toplama plakasına ve polimer çözeltisine yüksek gerilim uygulanması ile eğirme işlemi başlar. Bu aşamada damlacığın damlamasını engel olan yüzey gerilim kuvvetleri ve damlacığı harekete geçirerek eğrilmesini sağlayan elektriksel kuvvetler olmak üzere iki farklı kuvvet grubu polimer çözelti damlası üzerine etki eder. Elektriksel kuvvetlerin yüzey gerilim kuvvetini yenmesi ile polimerik çözelti eğrilir ve toplama panelinde fiber formuna sahip ürün birikir. Toplama paneli ile damlatma noktası arasındaki mesafe bağlı olarak oluşan fiber kalınlığı doğrudan değişmektedir. Aradaki bu mesafenin artmasıyla orantılı fiberlerin çapı küçülmektedir. Nanofiberlerden oluşan ince membranların elde edilmesi için bu yöntem kullanılmaktadır[41].



Şekil 2. 6 Elektro eğirme yönteminin şematik gösterimi[36]

2.5.6 Dondurarak Kurutma (Freeze-Drying)

Dondurarak kurutma yönteminde, hazırlanan polimerik çözeltiler uygun şartlar altında dondurulur ve daha sonra liyofilize edilir. Polimer çözücüsü liyofilizasyon işlemiyle uzaklatırılarak makro gözenekli doku iskelesi üretilmiş olur. Bu yöntem ile yüksek gözenekliliğe sahip doku iskeleri elde edilmesi mümkündür.

2.5.7 Emülsiyon Dondurarak Kurutma (Emulsion Freeze-Drying)

Bu yöntemde, hidrofobik polimer çözeltisinde sulu bir faz eklenerek emülsiyon hazırlanmaktadır. Bu emülsiyon önce dondurulup daha sonra liyofilizasyon işlemi uygulanır ve çözücünün uzaklaştırılmasıyla birlikte üç boyutlu doku iskeleleri elde edilmektedir[42].

2.5.8 Gaz Köpüklendirme (Gas Foaming)

Gazı köpük haline getirme yöntemi temel olarak bir polimer fazı boyunca dağılmış gaz kabarcıklarının büyümesini ve nükleasyonunu içermektedir[43]. Gaz kabarcıklarının oluşumu, düşük ya da yüksek basınç altında polimer fazına bir inert gaz ilave edilmesiyle veya bir köpüklendirme ajanı tarafından kimyasal reaksiyon ile gerçekleşebilmektedir. Aşağıdaki bölümde, gaz tabanlı doku iskelesi üretim

tekniklerden ve tez çalışmasında kullanılan gaz köpüklendirme yönteminden detaylı olarak bahsedilmektedir.

2.6 Doku İskelesi Üretiminde Kullanılan Gaz Köpüklendirme Yöntemleri

Doku mühendisliği uygulamaları için istenilen bütün özelliklere sahip doku iskelelerinin üretimi oldukça zorlu bir süreç olmaya devam etmektedir. Doku iskelesi üretimi için bir önceki bölümde bahsedilen teknikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler kullanıldığında 3 boyutlu yapı eksikliği, kontrol edilemeyen gözenek boyutu ve birbirine bağlı olmayan gözeneklilik gibi bazı dezavantajlar ile karşılaşmaktadır. Tez çalışması kapsamında kullanılan yeni gaz köpüklendirme tekniğinin de içinde bulunduğu birçok farklı gaz tabanlı teknik doku iskelesi üretiminde karşılaşılan olumsuzluklara çözüm olmayı hedeflemekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında, sünger formundaki doku iskelelerinin üretimi için literatürdeki geleneksel gaz köpüklendirme yöntemlerine göre daha basit ve hızlı bir yaklaşım olan asit klorür/alkol kimyası yöntemi temel alınmıştır ve bu yöntemle alakalı genel bilgiler aşağıda Bölüm 2.6.4'te verilmektedir.

2.6.1 Karbondioksit (CO₂) Kullanımı ile Gaz Köpüklendirme Yöntemi

Karbondioksit (CO₂) kullanımı ile gaz köpüklendirme yönteminde, Şekil 2.7'de görüldüğü gibi yüksek basınçlı CO₂ gazı polimerin doygunluğa ulaşmasını sağlamaktadır. Kullanılan basıncın ortam seviyesine gelene kadar düşürülmesi ve çekirdeklenme ile polimer matriksin yapısında CO₂ gazından dolayı gözenekler oluşmaktadır[44], [45], [46], [47]. Yüksek basınçlı CO₂ kullanımı hidrofobik polimerlerde [44], [45], hidrofilik polimerlerde[48], [49], [46]ve hidrofobik / hidrofilik kompozitlerde [47] gözeneklilik üretimi için uygulanmıştır. Polimer içerisinde çözünen gazın miktarına bağlı olarak gözeneklilik ve gözenek boyutu değişim göstermektedir. Ancak, bu yöntem yüzeylerin gözenekliliği için uygun olmakla beraber kapalı gözenekler oluşturmaktadır. Birbiriyle bağlantılı olmayan gözenek yapılarına sahip olması doku iskeleleri için tercih edilmeyen bir özellik olmaktadır. İstenildiği gibi içsel bağlantılı gözenek sağlanamadığı için başka yöntemler ile beraber kullanılarak gözenekli bir doku iskelesi elde edilmektedir.



Şekil 2. 7 CO₂ kullanımı ile gaz köpüklendirme yönteminin şematik gösterimi[36]

2.6.2 Köpüklendirme Ajanı Kullanımı ile Gaz Köpüklendirme Yöntemi

Geleneksel gaz köpürtme tekniğinde, sodyum bikarbonat(NaHCO_3) veya sodyum karbonat (Na_2CO_3) gibi bir köpürtme ajanı, orta asidik çözeltilerde N_2 ve CO_2 gibi bir atıl gaz oluşturmak için bir polimer fazına ilave edilmektedir. Bu köpüklendirme ajanlarının asit ile etkileşmesi sonucu veya yüksek sıcaklıkta bozunması ile CO_2 gaz baloncukları meydana gelmekte ve polimerik yapı içerisinde yayılan gaz kabarcıkları gözenekli yapıyı oluşturmaktadır[50], [51], [52], [53]. Polimerin gözenekli yapısı, dağılmış gaz fazından (süreksiz faz) polimerin sürekli fazı çıkarıldığında oluşmaktadır. Bu yöntemde, üretilmiş polimerik köpükler gaz ve sıvı yoğunluğu arasındaki büyük farktan dolayı kinetik kararlılığa düşük olmaktadır. Sıvı faz aşağı doğru akma eğilimindeyken, gazın yukarı doğru hareket etme eğilimi; gözeneksiz alt tabaka ve oldukça gözenekli üst yüzeye sahip homojen olmayan bir köpük oluşumuna yol açmaktadır[54], [55], [56]. Çözeltinin viskozitesinin artırılması, sıcaklık değişimlerinde hızlı katılaşmaya uğrayan polimerlerin kullanılması (örneğin jelatin) ve son olarak da, gaz kabarcıklarının üretiminden sonra polimerizasyonu çabuk başlatması için polimer çözeltisine çapraz bağlayıcı ve başlatıcı eklenmesi ile polimerik köpüklerin destabilizasyonu en aza indirilebilmektedir. Bu teknik, alginat[57], jelatin[56], poli (etilen glikol) diakrilat (PEGDA) [58], ve poli (L-laktik) asit (PLLA) [59] gibi polimerlerde gözeneklilik oluşturmak için kullanılmaktadır.

2.6.3 Asit Klorür/ Alkol Kimyası Kullanılarak Gözenekli Doku İskelesi Elde Edilmesi

Mevcut gaz köpüklendirme yöntemleri, gaz üretmek için kullanılan inorganik karbonatlar ve asidik çözeltilerin ilave edilmesi doku iskelelerin uygulama alanlarını sınırlandırmaktadır. Ayrıca kullanılan yüzey aktif maddeler ve gözenek yapıcılar yeterince iskeleden uzaklaştırılmaz ise biyouyumluluk ile ilgili sorunlara neden

olabilmektedir[43]. Ozcelik ve ark. tarafından polyester PEG süngerlerinin üretimi için bir tek-kap sentez yaklaşımı sunulmuştur. Bu yaklaşımda, SebCl ve PE'in hidroksil uç grupları arasındaki reaksiyon ile çapraz bağlanması sonucu, ester bağları oluşmakta ve eş zamanlı olarak hidrojen klorür (HCl) gazı açığa çıkmıştır. HCl gazının açığa çıkmasıyla eş zamanlı olarak birbirine bağlı oldukça büyük gözenekleri olan sünger formundaki yapı meydana gelmiştir. Böylelikle, asit klorür/alkol kimyası kullanılarak bir inert gaz olmadan gözenekli süngerler elde edilmiştir [3], [60].



MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada, gaz köpüklendirme yöntemi ile poli(etilen glikol) bazlı süngerler temel alınarak farklı içeriklere sahip sünger formundaki doku iskelelerinin sentezi, karakterizasyonu ve mekanik özelliklerinin incelenmesi için gerekli çalışmalar yapılmıştır. Bu bölümde, tez kapsamında yapılan deneysel çalışmalar hakkında ayrıntılı olarak bilgi verilmiştir. İlk olarak, tez çalışması esnasında kullanılan materyaller ve ekipmanlar sıralanmıştır. Ardından poli(etilen glikol) bazlı ve farklı ilaveler yapılarak üretilen süngerlerin elde edilme prosedürü anlatılmıştır. Bir sonraki kısımda ise süngerlerin yapısal karakterizasyonu için yapılan yürütülen SEM analizleri, mekanik dayanım testleri, şişme çalışmaları ve FTIR analizlerinden bahsedilmiştir.

3.1 Materyal ve Ekipman

3.1.1 Kullanılan Materyal

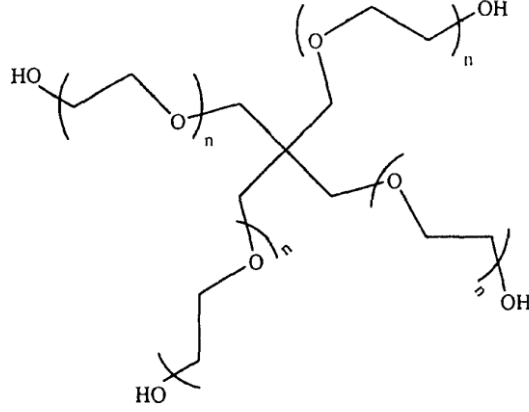
PEG bazlı süngerlerin sentezi için kullanılan materyaller hakkında temel bilgiler aşağıda verilmiştir:

Pentaeritritol Etoksilat (PE)

Firma: Aldrich

Ortalama Molekül Ağırlığı: 797

Aldrich firmasından temin edilen pentaeritritol etoksilat (Şekil 3.1), herhangi bir işlem yapılmadan kullanılmıştır.



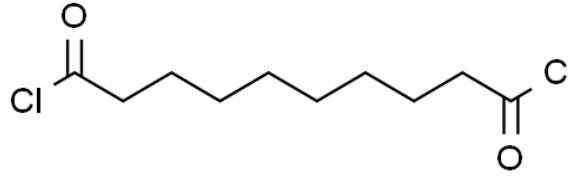
Şekil 3. 1 Çok kollu PEG olan Pentaeritritol etoksilatın (PE) kimyasal yapısı

Sebasoil Klorür (SebCl)

Firma: Sigma-Aldrich

Ortalama Molekül Ağırlığı: 239.14

Sigma-Aldrich firmasından temin edilen sebasoil klorür (Şekil 3.2), herhangi bir işlem yapılmadan, temin edildiği gibi kullanılmıştır.



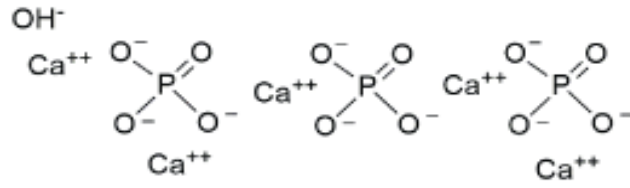
Şekil 3. 2 Sebasoil klorürün (SebCl) yapısı

Hidroksiapatit (HA)

Firma: Sigma-Aldrich

Molekül Ağırlığı: 502.31

Sigma-Aldrich firmasından temin edilen hidroksiapatit (Şekil 3.3), herhangi bir işlem yapılmadan kullanılmıştır.



Şekil 3. 3 Hidroksiapatitin (HA) yapısı

Sodyum Karbonat (Na₂CO₃)

Firma: Merck

Molekül Ağırlığı: 105.99 g/mol

Merck firmasından temin edilen sodyum karbonat (Şekil 3.4), herhangi bir işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Etanol (C₂H₅OH)

Firma: Merck

Molekül Ağırlığı: 46.07 g/mol

Merck firmasından temin edilen etanol, süngerlerin yıkama prosedürü için herhangi bir işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Sodyum Klorür (NaCl)

Firma: Sigma-Aldrich

Molekül Ağırlığı: 58.44

Sigma-Aldrich firmasından temin edilen NaCl, farklı içerikli doku iskelelerinin elde edilmesinde katkı malzemesi olarak herhangi bir işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Pudra Şekeri

Marketten temin edilen pudra şekeri, farklı içerikli doku iskelelerinin elde edilmesinde katkı malzemesi olarak herhangi bir işlem yapılmadan kullanılmıştır.

Distile Su (Milipore)

Distile su, hazırlanmış doku iskeleleri için yıkama prosedürü ve şişme çalışmaları esnasında Yıldız Teknik Üniversite Biyomühendislik Bölümü'nde bulunan Milli-Q cihazından kullanılmıştır.

3.1.2 Kullanılan Ekipman

Doku iskelelerinin sentezlenme işlemleri sırasında kullanılan temel ekipmanlar aşağıdaki gibi sıralamıştır.

- Vial (30 ml)
- Pipet (1 ml)
- Kronometre
- Hassas Terazı
- Kumpas
- Probu Termometre
- Vorteks Cihazı
- Etüv-Vakum Cihazı
- Stable Micro Systems Cihazı
- SEM

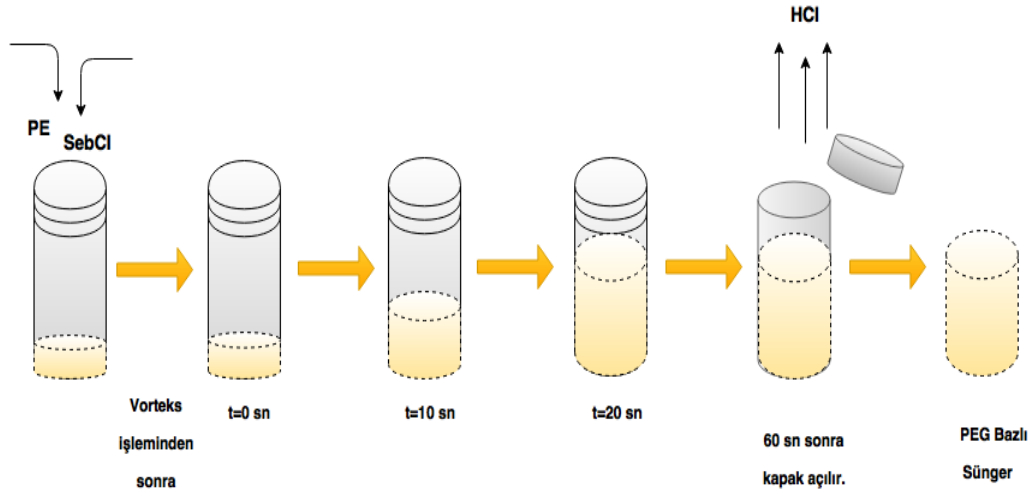
3.2 Yöntem

Poli (etilen glikol) (PEG) bazlı süngerler, yeni gaz köpüklendirme yöntemi kullanılarak pentaeritritol etoksilat (PE) ve sebasoil klorürün (SebCl) belirli oranda karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Bu tez çalışmasında, belirli bir orana sahip PEG bazlı sünger kontrol örneği olarak alınmış ve farklı içeriklere sahip PEG bazlı doku iskelelerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Hidroksiapatitin (HA) , sodyum klorürün (NaCl) ve pudra şekerinin (PŞ) değişik miktarlarda ilave edilmesiyle birbirinden farklı özelliklere sahip doku iskeleleri sentezlenmiştir. Böylelikle, tez kapsamında kontrol örneğimiz poli(etilen glikol) bazlı süngerler PEG-Kontrol, HA ilaveli olan süngerler PEG-HA, NaCl ilaveli olan

süngerler PEG-NaCl ve pudra şekeri ilaveli olanlar ise PEG-PŞ olarak kodlandırılmıştır. Elde edilen süngerlerin sentezleri ve oluşan serileri hakkında ayrıntılı bilgiler aşağıda verilmiştir.

3.2.1 PEG Bazlı Süngerlerin Elde Edilmesi

Kontrol örneği olarak PEG bazlı süngerlerin üretilmesi için, 1:2 mol oranında Pe/SebCl karışımı kullanılmış ve toplam hacim 4 ml olarak belirlenmiştir. Şekil 3.5’de görüldüğü gibi, öncelikle PE ve SebCl bir pipet yardımı ile vial e ilave edilmiştir. Ağzı sıkıca kapatılmış vial içerisindeki PE ve SebCl 30 sn vorteks ile karıştırıldıktan sonra çeker ocak içerisinde düz bir zemine bırakılmış ve reaksiyonun tamamlanarak gaz kabarcıklarının oluşması için 60 sn beklenilmiştir. 60 sn sonunda vialin kapağı açılarak 30 dk boyunca reaksiyonun yan ürünü olan hidrojen klorür (HCl) gazının açığa çıkması sağlanmıştır. Daha sonra, vial içerisinden sentezlenen sünger dikkatli bir şekilde çıkarılmış ve alt-üst yüzeyleri temizlenmiştir. Elde edilen PEG bazlı süngere, Bölüm 3.2.2’de detaylıca anlatıldığı gibi nötralize edildikten sonra yıkama, kurutma ve saklanma prosedürü uygulanmıştır.

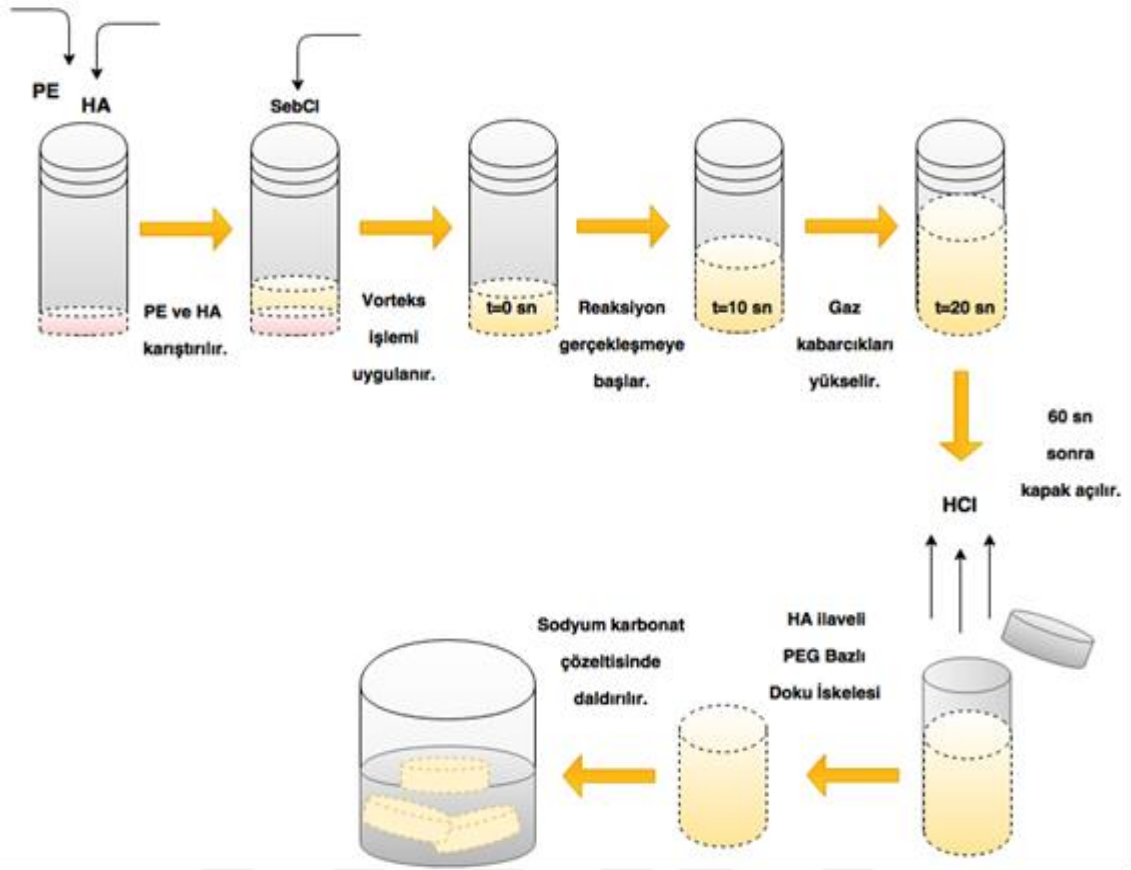


Şekil 3. 4 PEG bazlı süngerlerin elde edilme prosedürünün şematik gösterimi

3.2.2 Hidroksiapatit İlaveli (PEG-HA) Süngerlerin Elde Edilmesi

Hidroksiapatit ilaveli PEG süngerlerin üretilmesi için, Şekil 3.6’da görüldüğü gibi öncelikle 2,44 ml hacminde PE bir pipet yardımıyla 30 ml hacmine sahip plastik vial içerisine alınmıştır. Hidroksiapatitin mekanik dayanıma olan etkisini incelemek için

belirlediğimiz miktarlarda (Çizelge 3.1) HA viallere ilave edilmiştir. HA'ın PE içerisinde homojen olarak dağılmasını sağlamak için 90 sn boyunca PE VE HA bileşenleri vortekslenmiştir. Karıştırma işleminden sonra PE-HA karışımı üzerine 1,57 ml SebCl eklenmiştir. PE-HA-SebCl bileşenleri olan vialin kapağı sıkıca kapatılarak 30 sn boyunca vortekslenmiştir. Vorteks cihazından alınan vial düz bir zemine koyulmuş ve reaksiyonun gerçekleşerek gaz kabarcıklarının oluşması için 60 sn beklenilmiştir. Gerçekleşen reaksiyon sonucu vial içerisinde sünger oluşumu meydana gelmiş ve reaksiyonun yan ürünü olarak hidrojen klorür (HCl) gazı açığa çıkmıştır. Gaz çıkışının sağlanması için çeker ocakta vial, ağzı açılarak 30 dk boyunca bekletilmiştir. Daha sonra oluşan süngerler viallerden çıkarılmış ve bisturi bıçağı yardımıyla alt-üst yüzeyleri temizlenmiştir. Süngerler istenilen büyüklükteki parçalara ayrılmıştır. Her bir süngerin nötralizasyonu için 30 mM sodyum karbonat çözeltisi hazırlanmış ve bu çözeltide 1 saat bekletilmişlerdir. Çözeltiden alınan süngerler 10 dk boyunca distile su ile yıkandıktan sonra %80 etanol ve %20 distile su karışımı içerisinde 10 dk dehitre edilmişlerdir. Distile su ardından etanol-su karışımı ile yıkama prosedürü en az 3 defa tekrarlandıktan sonra süngerler %100 etanol içerisinde 5 dk bekletilmiştir. Etanol içerisinde çıkarılan süngerler temiz bir saat camı üzerine alınarak etüv-vakum (30°C, 20 mbar) cihazına yerleştirilmiştir. 24 saat boyunca kurutma işlemi yapılan süngerler karakterizasyon analizlerinde kullanılmak üzere plastik vialler içinde saklanmıştır.



Şekil 3. 5 HA ilaveli Süngerlerin elde edilmesinin şematik gösterimi

Çizelge 3. 1 PEG-HA süngerlerinin hazırlanmasında kullanılan bileşenler

Numune İsmi	% W/V	PE		SebCl (ml)		HA Miktarı (gr)
		Hacim (ml)	Mol (mmol)	Hacim (ml)	Mol (mmol)	
PEG-Kontrol	-	2,44	3,67	1,57	7,33	-
PEG-HA10	10	2,44	3,67	1,57	7,33	0,4
PEG-HA20	20	2,44	3,67	1,57	7,33	0,8
PEG-HA30	30	2,44	367	1,57	7,33	1,2

3.2.3 Sodyum Klorür İlaveli (PEG-NaCl) Süngerlerin Elde Edilmesi

Sodyum klorür (NaCl) ilaveli PEG süngerlerin sentezi, katkı maddesi olarak NaCl eklenmesi sonucu gerçekleştirilmiştir. Tüm aşamalar bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı gibi tek tek uygulanarak PEG-NaCl sünger oluşumu sağlanmış, ardından yıkama, kurutma ve

saklanma prosedürleri uygulanmıştır. Farklı miktarlardaki NaCl ilavesi ile elde edilen PEG-NaCl sünger serisine ait içerik bilgileri (çizelge 3.2) aşağıdaki gibidir.

Çizelge 3. 2 PEG-NaCl süngerlerinin hazırlanmasında kullanılan bileşenler

Numune İsmi	% W/V	PE		SebCl (ml)		NaCl Miktarı (gr)
		Hacim (ml)	Mol (mmol)	Hacim (ml)	Mol (mmol)	
PEG-Kontrol	-	2,44	3,67	1,57	7,33	-
PEG-NaCl10	10	2,44	3,67	1,57	7,33	0,4
PEG-NaCl20	20	2,44	3,67	1,57	7,33	0,8
PEG-NaCl30	30	2,44	3,67	1,57	7,33	1,2

3.2.4 Pudra Şekeri İlaveli (PEG-PŞ) Süngerlerin Elde Edilmesi

Farklı içeriklere sahip süngerleri birbiriyle kıyaslamak amacı ile HA ilaveli ve NaCl ilaveli PEG bazlı süngerlere ek olarak %20 w/v konsantrasyonuna sahip pudra şekeri ilaveli süngerin sentezi yapılmıştır. Bu aşamada, katkı maddesi olarak pudra şekeri ilave edilmiş ve ardından Bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı gibi tüm aşamalar aynı şekilde yapılarak pudra şekeri ilaveli sünger oluşumu sağlanmış, ardından yıkama, kurutma ve saklanma prosedürleri uygulanmıştır.

Çizelge 3. 3 PEG-PŞ süngerlerinin hazırlanmasında kullanılan bileşenler

Numune İsmi	% W/V	PE		SebCl (ml)		Pudra Şekeri Miktarı (gr)
		Hacim (ml)	Mol (mmol)	Hacim (ml)	Mol (mmol)	
PEG-Kontrol	-	2,44	3,67	1,57	7,33	-
PEG-PŞ20	20	2,44	3,67	1,57	7,33	0,8

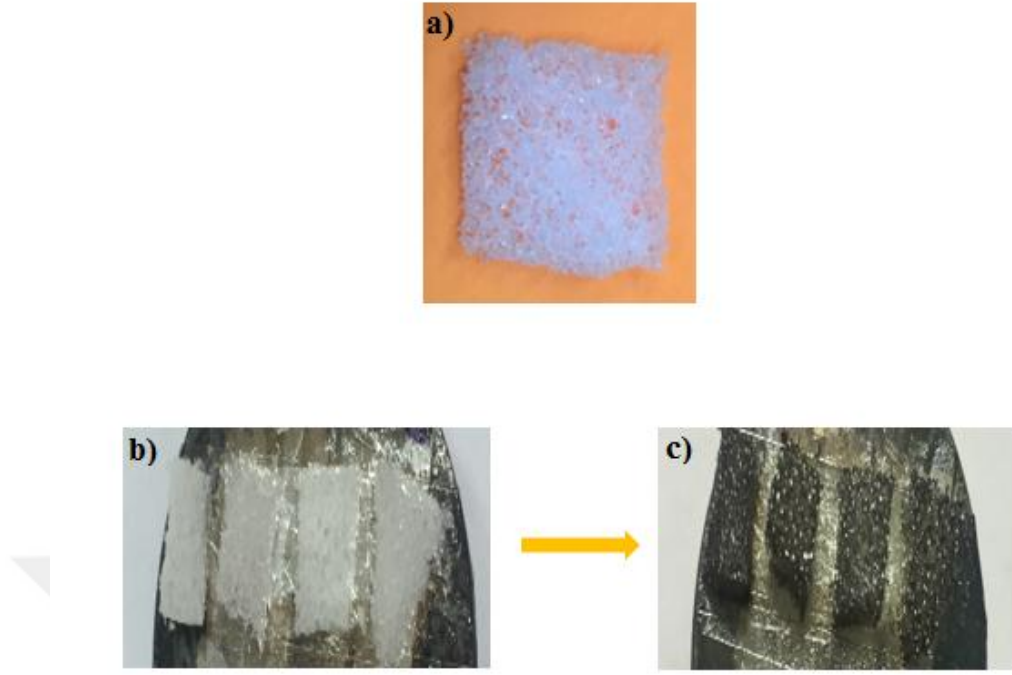
3.3 Karakterizasyon Testleri

3.3.1 ATR-Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR) Analizi

Gaz köpüklendirme yöntemi ile elde edilen süngerlerin yapısal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla ATR-Fourier Transform Infrared Spektrometre (FTIR) cihazı (Shimadzu-IR prestige 21) kullanılmıştır. Kurutulmuş örneklerin yüzeyinden kesit alınarak küçük parçalar halinde analiz için hazırlanmıştır. PEG-Kontrol örneği, PEG-HA örneği ve reaksiyonun temel bileşenleri (PE, SebCI, HA) için FTIR spektrumları alınmıştır. FTIR spektrumları $750-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında değerlendirilmiştir.

3.3.2 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile hazırlanan süngerlerin gözenek boyutu, gözenek yapısı ve gözenekler arası bağlantıları değerlendirilmiştir. SEM görüntüleri için taramalı elektron mikroskobu cihazı (Jeol, JSM-6510LV) kullanılmıştır. Kuru durumdaki süngerden jilet kullanılarak bir iç kesit alınmıştır. Bu iç kesitler, Şekil 3.7’de görüldüğü gibi plate üzerine yerleştirilmiş ve numunelerin üzeri Sputter-coater S150 B Edwards cihazında altın-paladyum ile kaplanmıştır. Yüksek vakuma (10^{-8} Pa) maruz bırakılan numuneler istenilen büyüklüğe getirilerek görüntülenmiştir.



Şekil 3. 6 PEG bazlı süngerlerin plate üzerindeki görüntüleri a) Sentezlenen PEG-HA süngerinin FTIR analizi için yüzeyinden alınan kesit görüntüsü b) Numunelerin altın-paladyum kaplama öncesi görüntüleri c) Numunelerin altın-paladyum kaplama sonrası görüntüleri

3.3.3 Gözenek Boyutunun Belirlenmesi

Gözenek boyutunun belirlenmesinde, numunelerin SEM cihazı ile alınan iç kesit görüntülerinden yararlanılarak Image J programı kullanılmıştır. Sentezlenen kontrol örneği ve farklı içeriklere sahip süngerlerin her biri için ortalama gözenek boyutları hesaplanmış ve standart sapmaları belirlenmiştir. Elde edilen bu değerler SEM görüntüleri ile birlikte değerlendirilmiştir.

3.3.4 Şişme Ölçümleri

Vakum-etüv cihazında (30°C , 20 mbar) kurutulmuş süngerin kuru ağırlığı hassas terazi ile ölçüldükten sonra sünger şişmesi için ditile su içerisine koyularak bekletilmiştir. Belirli zamanlarda (2, 4, 24, 48, 72 saat) şişmiş ağırlıkları ölçülmüş ve her ağırlık ölçümünden sonra ditile su değiştirilmiştir. Şişme çalışmaları her bir sünger için aynı

prosedür uygulanarak yapılmıştır. Süngerlere ait şişme oranı Eşitlik 3.1'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Denge şişme Oranı} = W_t / W_0 \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte W_0 , süngerin kuru ağırlığını, W_t ise süngerin t zamandaki şişmiş ağırlığını ifade etmektedir.

3.3.5 Mekanik Dayanım Testleri

PEG bazlı süngerlerin mekanik özelliklerinin incelenmesi amacıyla yapılan mekanik dayanım testleri için Şekil 3.8'de görülen Stable Micro Systems cihazı kullanılmıştır. Mekanik dayanım testleri için ditile su içerisinde denge şişme oranına ulaşmış, çapları 15 mm ve kalınlıkları 15 mm olan numuneler kullanılmıştır. Sıkıştırma testleri 1mm/dk sabit başlık hızı ile 5 kg yük altında gerçekleştirilmiştir. Gerçekleşen mekanik dayanım testi sonucunda, gerilim-gerinim eğrileri farklı içeriklere sahip her bir sünger için elde edilmiştir.

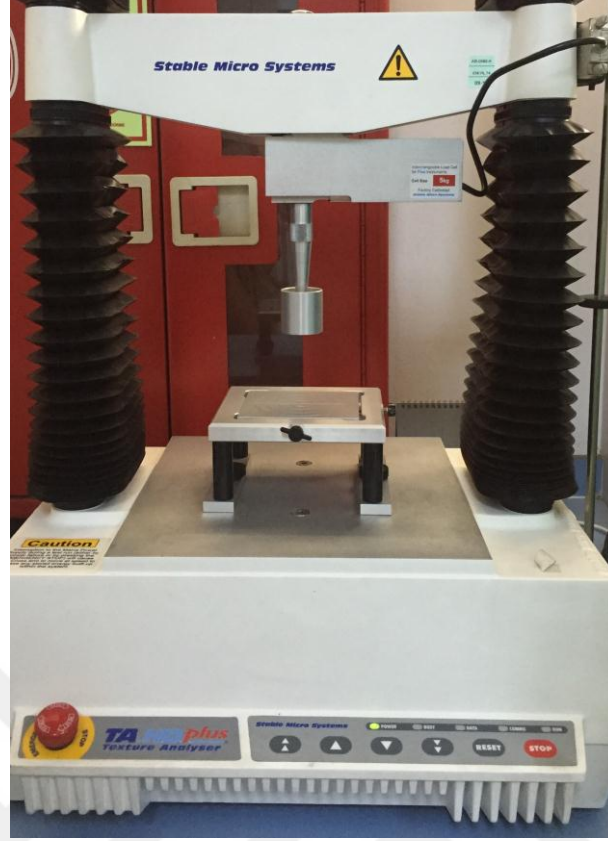
Her bir numunenin basma testi esnasında ölçülen gerilim, gerinim ve elastik modül aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

Gerilim, numune yüzeyine uygulanan kuvvetin (F), numune yüzey kesit alanına (A) bölünmesi ile hesaplanmıştır.

$$\text{Gerilim (MPa)} = \text{Kuvvet (F)} / \text{Alan (A)} \quad (3.2)$$

Gerinim, numunenin kuvvet uygulama esnasında uzunluk değişiminin (ΔL), kuvvet uygulanmadan önceki ilk uzunluğuna (L) bölünmesi ile elde edilmiştir.

$$\text{Gerinim (\%)} = \Delta L / L \quad (3.3)$$



Şekil 3. 7 Mekanik dayanım testleri için kullanılan Stable Micro Systems cihazının görüntüsü

3.3.6 Sünger Oluşum Reaksiyonlarının Termodinamik İncelenmesi

PEG bazlı süngerlerin üretimi sırasında, ekzotermik reaksiyon esnasında açığa çıkan ısı takip edilerek reaksiyonun ilerlemesi gözlemlenmiştir. İlave edilen malzemelerin (HA, NaCl ve pudra şekeri) reaksiyon koşullarına etkisini incelemek için, şekil 3.9’da görüldüğü gibi viallerin kapakları üzerine küçük bir delik açılarak prob termometre daldırılmıştır. Vorteks aşamasından, süngerlerin oluşumuna kadar geçen sürede belirlenen zaman aralıkları için sıcaklık değerleri kaydedilmiştir. Kontrol örneği ve farklı içerikli süngerlere ait zamana karşı sıcaklık değişim değerleri grafik çizilerek değerlendirilmiştir. Termodinamik değerlendirme yapılırken $t=0$ anı vorteksten önceki sıcaklık değeri olarak kabul edilmiş ve sıcaklık değişimi (ΔT) her 10 saniyede bir prob termometreden okunan t değerlerine göre hesaplanarak grafiğe aktarılmıştır.



Şekil 3. 8 Reaksiyon esnasındaki sıcaklık değişimini ölçmek amacıyla vial içerisine yerleştirilmiş prob termometreye ait görüntü

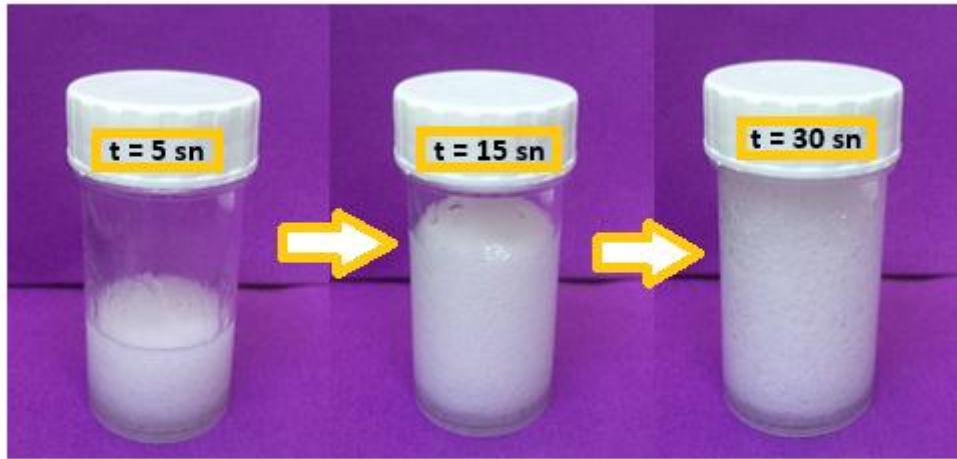
SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 PEG Bazlı Süngerlerin Oluşumu

Bu çalışmada, geleneksel gaz köpüklendirme yöntemlerinin dışında bir teknik kullanılarak, sadece iki ana bileşenin reaksiyonu sonucu gaz çıkışının sağlanmasıyla farklı özelliklere sahip, biyouyumlu ve biyobozunur, oldukça gözenekli biyomalzemelerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç için, asit klorür/alkol kimyası kullanılarak, PEG bazlı süngerlerin oluşumu tek bir kap içerisinde hiçbir toksik özelliği olmayan PE ve SebCl bileşenlerinin çapraz bağlanması sonucu sağlanmıştır. Bu temele dayanarak, PEG bazlı süngerlerin üretimi, Şekil 4.2' de görüldüğü gibi, dört kollu PEG ile sebasoil klorür arasındaki ekzotermik olan asit klorür/alkol reaksiyonu sırasında açığa çıkan HCl gazı sonucu gerçekleşmiştir. Reaksiyon sistemine ilave edilen HA, NaCl ve pudra şekeri gibi katkı maddelerinin üretilen biyomalzemelerin mekanik ve şişme özelliklerine etkisi incelenmiştir. Aşağıdaki bölümlerde görüleceği üzere doku mühendisliği uygulamaları için açık, birbiriyle bağlantılı ve üç boyutlu gözenekliliği olan iç yapıya sahip doku iskeleleri elde edilmiştir.

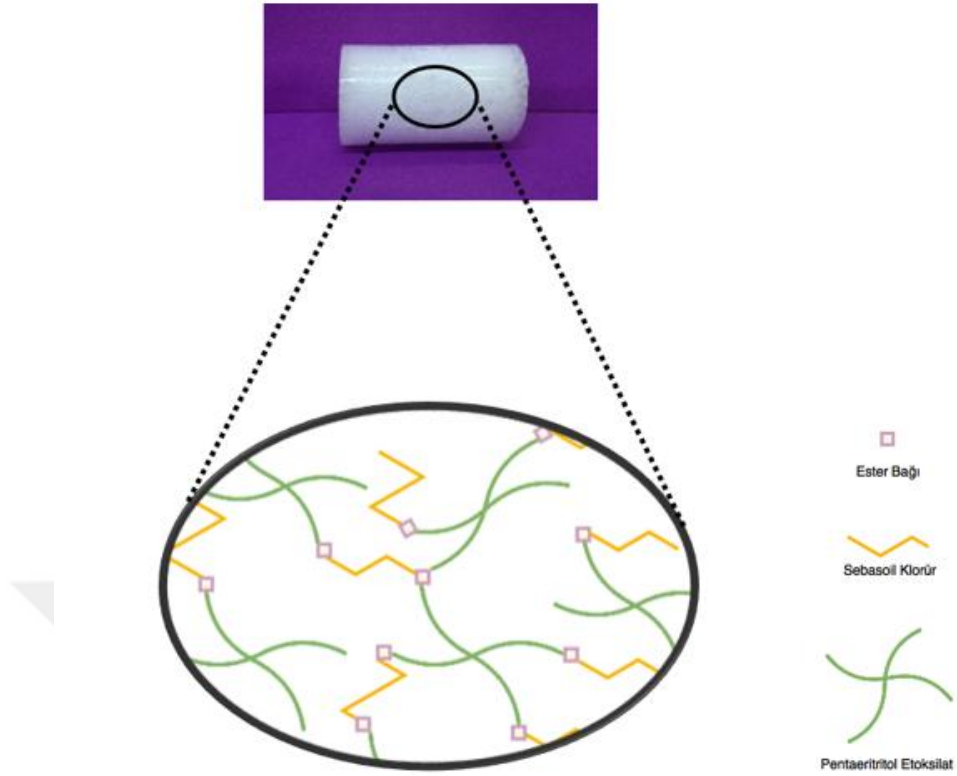
Ön denemelerimizde, PE ve SebCl arasındaki çapraz bağlanma sonucu gerçekleşen reaksiyon için farklı oranlarda denemeler yapılmış ve optimum PE/SebCl oranı 1:2 mol olarak belirlenmiştir. Bu oranda sentezlenen süngerler referans olarak kabul edilmiş ve PEG-Kontrol olarak adlandırılmıştır. Sisteme katkı maddelerinin ilave edilmesiyle üretilen diğer süngerler bu kontrol numunesiyle mukayese edilmiştir. Süngerlerin gözenek oluşumu esnasında, iç yapıyı etkileyen en önemli aşamalardan birinin PE ve SebCl'e uygulanan vorteksleme hızı vesüresi olduğu tespit edilmiştir. Bunun için

vorteks işlemi farklı sürelerde ve değişik hızlarda gerçekleştirilerek, PE ve SebCl karışımı için optimum koşullar 30 sn (hızlı) olarak belirlenmiştir. Vorteks işleminin ardından, vialin çeker ocak içerisine bırakıldığı ilk an $t=0$ olarak kabul edilmiştir. Şekil 4.1’ de görüldüğü gibi gaz kabarcıkları oluşumu ekzotermik reaksiyon sıcaklığı etkisiyle $t= 5$ sn itibaren başlayarak, kabarcıklar yukarı doğru yükselmiş ve 30 sn gibi çok kısa bir sürede reaksiyon tamamlanarak sünger formundaki doku iskelesi olan biyomalzemeyi oluşturmuştur.



Şekil 4. 1 PEG bazlı sünger doku iskelesinin vorteks işleminden sonra reaksiyonun gerçekleşme süresine ait görüntüsü.

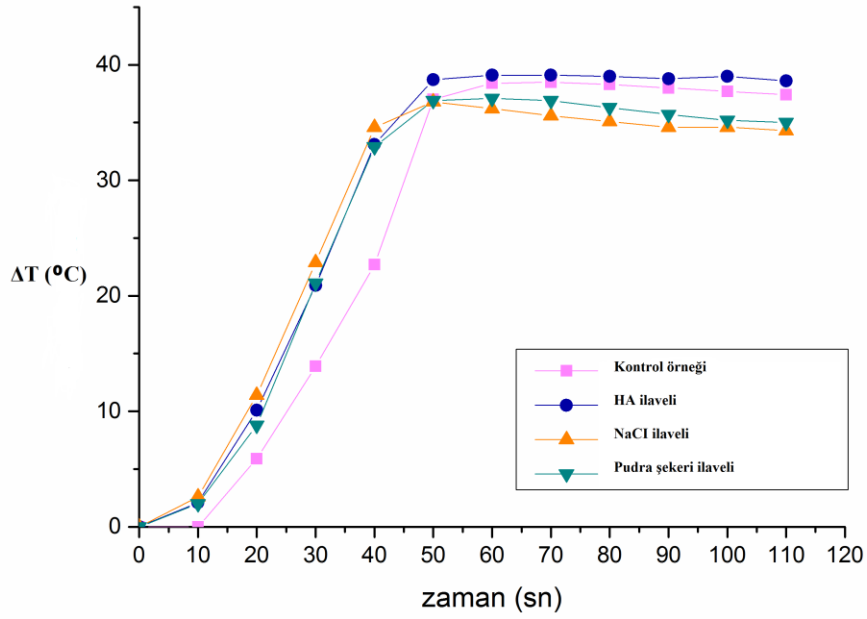
Bu aşamadan sonra vialin kapağı açılarak HCl gazının çıkışı sağlanmış ve sentez sonucu elde edilen süngerler vial içerisinden çıkarılarak, düzgün olmayan alt-üst yüzeyler temizlenmiş, Şekil 4.2’de yukarıda görüldüğü gibi düzgün silindirik bir yapı elde edildikten sonra Bölüm 3.2.2’de belirtildiği gibi nötralizasyon ve yıkama işlemleri sonrasında kurutularak potansiyel doku mühendisliği uygulamaları için kullanıma hazır bir hale getirilmiştir. Şekil 4.2, ayrıca reaksiyona giren temel bileşenler arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonları ile ester bağlarının oluşumunu şematik olarak göstermektedir. Süngerin biyobozunurluğu bu tür ester bağlarının kırılması yoluyla gerçekleştiğinden, yapıda oluşan bu bağlar doku mühendisliği yaklaşımları açısından oldukça önem arz etmektedir. Dolayısıyla, bu çalışmada üretilen ester bağlı sentetik PEG bazlı süngerler bir doku iskelesi olarak, doku mühendisliği için ciddi bir potansiyel teşkil etmektedir.



Şekil 4. 2 Sebasoil klorüree ait asit klorür grupları ve pentaeritritol etoksilatın hidroksil grupları arasındaki reaksiyon ile ester çapraz bağlarının oluşumunun şematik gösterimi ([3] 'den değiştirilerek)

4.2 Sünger Oluşum Reaksiyonlarının Takibi ve Termodinamik Değerlendirilmesi

PEG bazlı süngerlerin oluşumu sırasında bileşenler arasında ekzotermik bir reaksiyon gerçekleşmiş ve bu nedenden dolayı zamana bağlı olarak ısı değişimleri görülmüştür. Bu ısı değişimleri Bölüm 3.9'da verildiği gibi vialin içine daldırılan bir termometre probu yardımıyla izlenmiştir. Ana bileşenlere uygulanan vorteks işleminden sonra reaksiyonun başlaması ile eşzamanlı olarak sıcaklığın artması, gaz kabarcıklarının oluşmasına ve vial içerisinde yukarı doğru ilerlemesine neden olmuştur. Sisteme dahil edilen farklı ilavelerin (HA, NaCl ve pudra şekeri) reaksiyon üzerindeki etkisini incelemek amacıyla sünger oluşumu sırasında ısı değerlerindeki değişimin takibi yapılmıştır. Bu işlem PEG-Kontrol örneği ve %20 w/v oranıyla elde edilmiş PEG-HA, PEG-NaCl ve PEG-PŞ süngerleri için yapılmış ve sonuçlar mukayese edilmiştir. Elde edilen veriler zamana karşı ısı değişimini göstermek amacı ile Şekil 4.3'de görüldüğü gibi grafiğe aktarılmıştır.



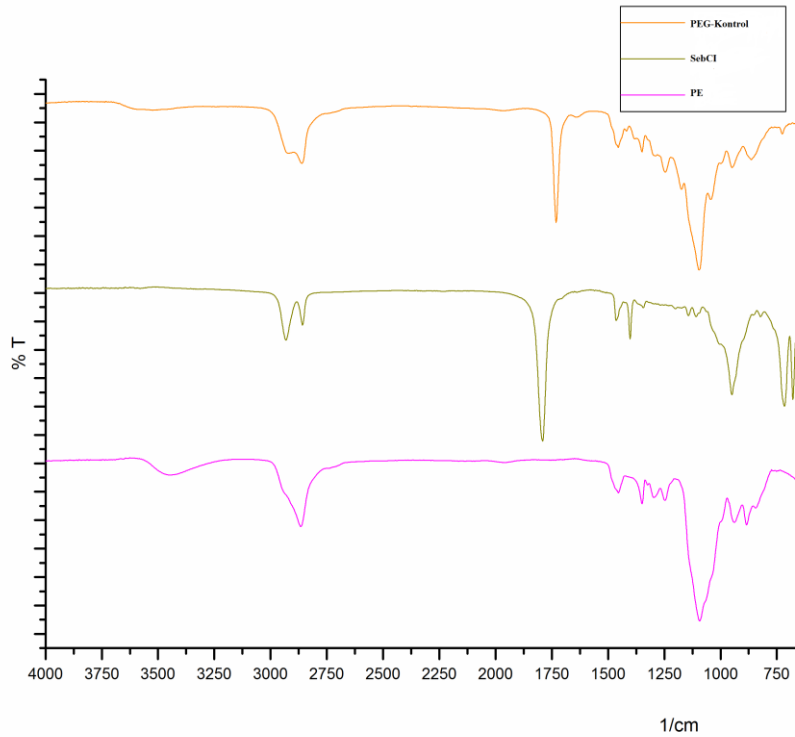
Şekil 4. 3 PEG-Kontrol ve %20 w/v konsantrasyonlu PEG-HA, PEG-NaCl, PEG-PŞ süngerlerine ait reaksiyonların gerçekleşme sürecindeki zamana karşı ısı değişim grafiği

Şekil 4.3’de görüldüğü gibi kontrol örneğinin ve farklı içeriklere sahip süngerlerin reaksiyon boyunca sıcaklık değişimlerinde çok büyük sapmalar olmamıştır. Buna rağmen, HA, NaCl ve pudra şekeri katkısıyla elde edilen süngerlerin sıcaklık değişim eğrilerinde sola doğru bir kayma olduğu yani reaksiyon sistemindeki ısı yükselmesinin kontrol numunesine göre daha hızlı gerçekleştiği görülmektedir. Bunun sebebi; kontrol örneğinden farklı olarak, ilave edilen maddenin PE ile iyice karışması için 90 sn boyunca çok hızlı bir vorteks işlemine tabi tutulmuş olmasına bağlanmış ve böylece hızlı karışmanın etkisiyle vial içerisinde bulunan PE ile katkı maddesinin başlangıç sıcaklığının arttığı düşünülmüştür. Şekil 4.3 incelendiğinde, PEG-HA, PEG-NaCl ve PEG-PŞ süngerlerinin sıcaklık değişim değerlerinde önemli bir fark olmamasıyla birlikte PE ile SebCl arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonlarının 60 sn içerisinde tamamlandığı ve sistemin dengeye ulaştığı anlaşılmaktadır.

4.3 ATR-Fourier Transform Infrared Spektrometresi (FTIR) Analizleri

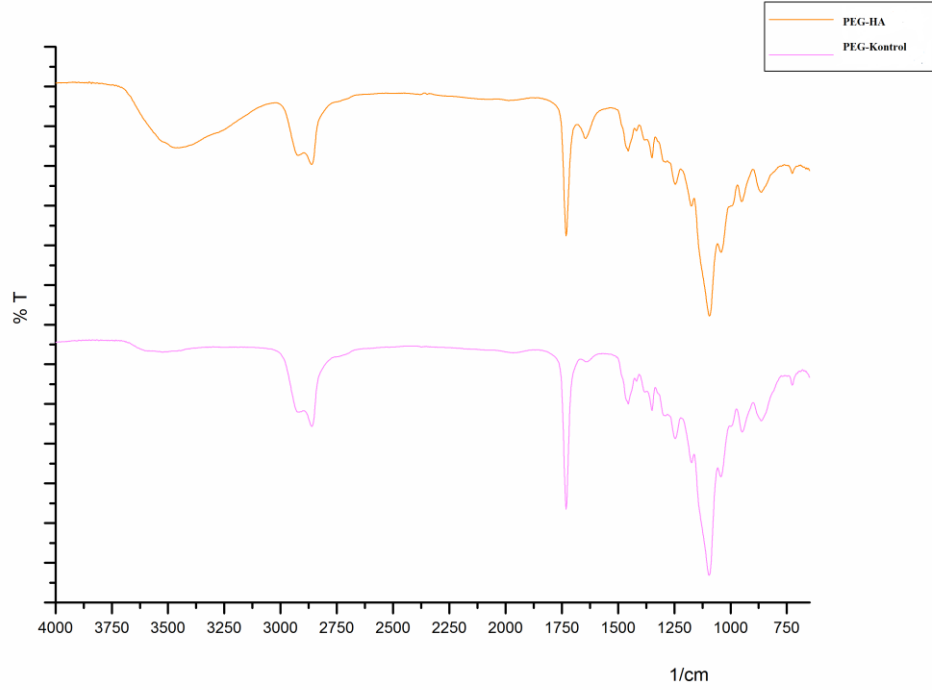
PE ve SebCl arasındaki çapraz bağlanma reaksiyonunun neticesini incelemek ve reaksiyon ortamına ilave edilen katkı maddelerinin varlığını tespit etmek için,

sentezlenen PEG-kontrol ve PEG-HA numuneleri ATR-FTIR ile analiz edilmiştir. Süngerlere ait FTIR spektrumları $750-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında eşit koşullar altında incelenmiş ve değerlendirilmiştir. Şekil 4.4'te PEG bazlı süngerlerin oluşum reaksiyonunun temel bileşenleri olan PE ile SebCl'e ve bu iki bileşenin reaksiyonu sonucu elde edilen kontrol örneğine ait FTIR spektrumları verilmiştir. Reaksiyondan önce PE'a ait hidroksil grupları 3500 cm^{-1} 'de bulunurken, SebCl ile reaksiyonundan sonra hidroksil gruplarından azalma görülmüştür. Diğer taraftan, reaksiyon öncesi SebCl'ün karboksil piki 1800 cm^{-1} 'de iken, reaksiyon sonrası ester oluşumu nedeni ile karboksil pikleri 1400 cm^{-1} 'e kaymıştır. Böylece, PE ile SebCl bileşenlerinin çapraz bağlanması sonucu oluşan kontrol örneğine ait spektrum incelendiğinde reaksiyonun başarıyla gerçekleştiği belirlenmiştir.



Şekil 4. 4 PEG bazlı süngerlerin ana bileşenleri olan PE ile SebCl'e ve PEG-Kontrol örneğine ait FTIR spektrumlarının görüntüsü

Şekil 4.4' de PEG-Kontrol ve PEG-HA (%30 w/v) örneğine ait FTIR spektrumlarına yer verilmiş ve HA'nın sünger yapısına katılıp katılmadığı değerlendirilmiştir. PEG-HA için FTIR spektrumuna bakılırken HA'nın sahip olduğu OH ve PO_4^{3-} titreşim modları incelenmiştir. HA'nın karakteristik pikleri olan 3446 cm^{-1} deki O-H gerilme titreşimleri görülmüştür.



Şekil 4. 5 PEG-Kontrol ve PEG-HA numunelerine ait FTIR spektrum görüntüsü

4.4 SEM Analizleri ile Gözenek Yapısının ve Boyutlarının Değerlendirilmesi

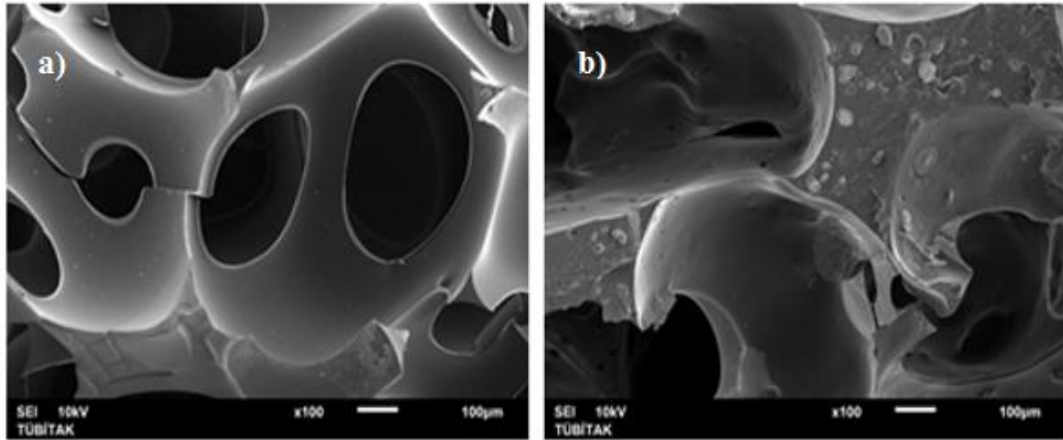
Tez çalışması kapsamında sentezlenen farklı içeriklere sahip PEG bazlı süngerlerin iç kesit yapıları SEM ile incelenmiş ve örneklerin çekilen görüntüleri bu bölümde sunulmuştur. Gözenek yapısı ve içsel bağlantılı incelenmiş olan PEG bazlı süngerlere ait görüntülere Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9' de yer verilmiştir.

Çizelge 4. 1 Aynı oranlarda farklı içeriklere sahip PEG bazlı süngerlere ait ortalama gözenek boyutu ve standart sapma değerleri

Numune Kodu	Ortalama Gözenek Boyutu (μm)	Standart Sapma Değeri
PEG-Kontrol	275	92
PEG-HA	425	110
PEG-NaCl	370	135
PEG-PŞ	165	48

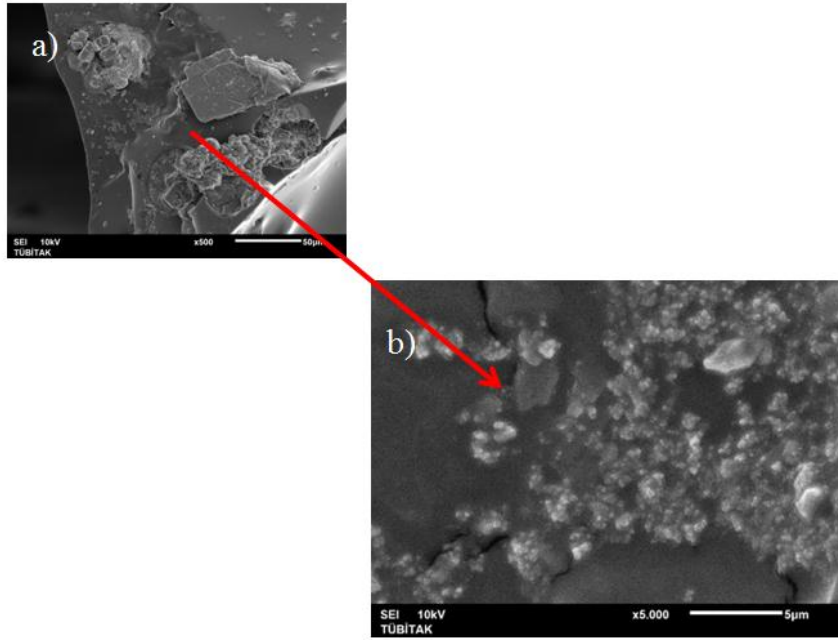
SEM analizlerinden yararlanarak gözenek boyutu hesaplanırken, katkı maddelerinin etkisinin aynı koşullar altında incelenmesi için %20 w/v konsantrasyona sahip PEG-HA, PEG-NaCl, PEG-PŞ numuneleri seçilerek SEM görüntüleri alınmıştır. Çizelge 4.1'de, bu

SEM görüntüleri kullanılarak Image J programı yardımıyla hesaplanan ortalama gözenek boyutları standart sapma değerleriyle verilmiştir.



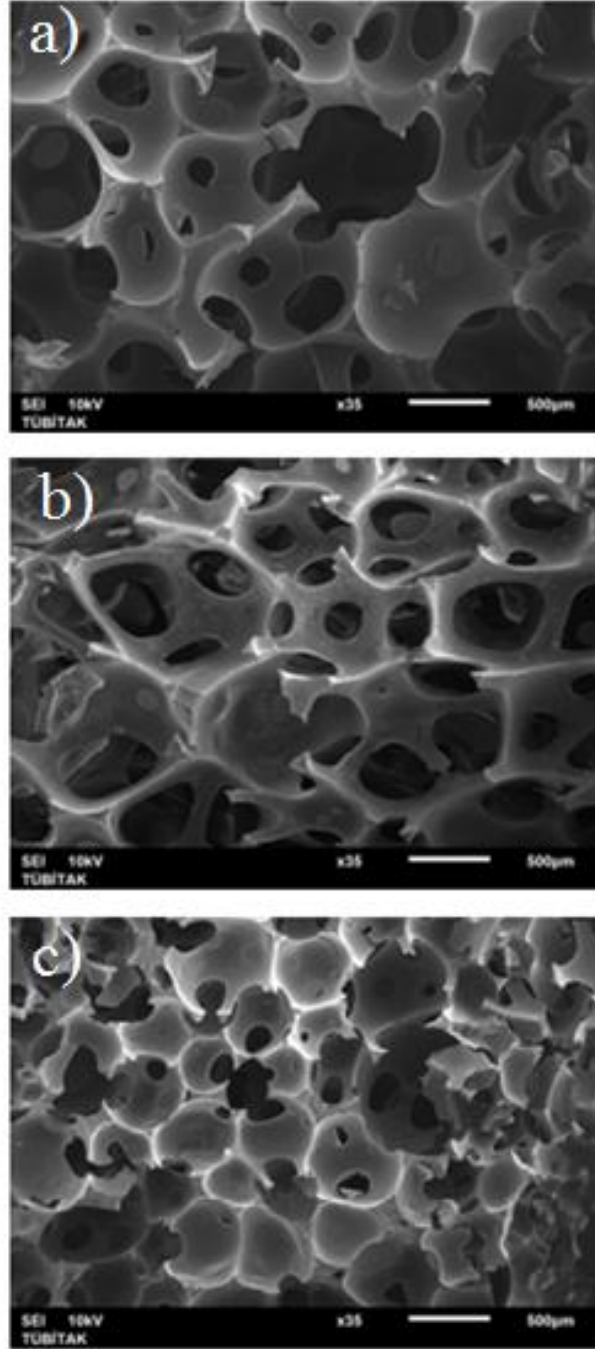
Şekil 4. 6 PEG bazlı süngerlere ait SEM görüntüleri (X100) a) PEG-Kontrol b) PEG-HA

Şekil 4.6' da aynı büyötmeye sahip HA ilavesiz PEG-kontrol örneği ve HA ilaveli PEG-HA sünger örneğine ait SEM görüntüsü verilmiştir. Şekil 4.6.a'da göröleceği gibi referans olarak kabul ettiğimiz PEG-Kontrol birbiriyle içsel bağlantılı, makro gözenekli bir yapıya sahip olmakla birlikte ortalama gözenek boyutu Image J programı kullanılarak 275 ± 92 µm olarak hesaplanmıştır. HCl gazının açığa çıkması sonucu birbirine bağlı oldukça büyük gözenekler olduğu gözlemlenmiştir. Şekil 4.6.b 'de ise %20 w/v oranına sahip PEG-HA süngeri x100 büyötmeye incelenmiş ve PEG-Kontrol örneğinin mekanik özelliklerini geliştirmek amacı ile sisteme ilave ettiğimiz toz formundaki HA taneciklerinin yapıya tamamen katıldığı açıkça görölmüştür. PEG-HA süngerlerine ait farklı büyötmeye ölçekleri ile çekilmiş diğer SEM görüntülerine Şekil 4.7' de yer verilmiştir. Şekilde göröldüğu gibi, HA'ın gözenek duvarında yer aldığı ancak homojen bir şekilde dağılım sağlayamadığı gözlemlenmiştir. PEG-HA örneğine ait gözenek boyutunun 425 ± 110 µm olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4. 7 HA ilaveli süngerlere ait SEM görüntüleri a) PEG-HA (X500) b) PEG-HA (X5000)

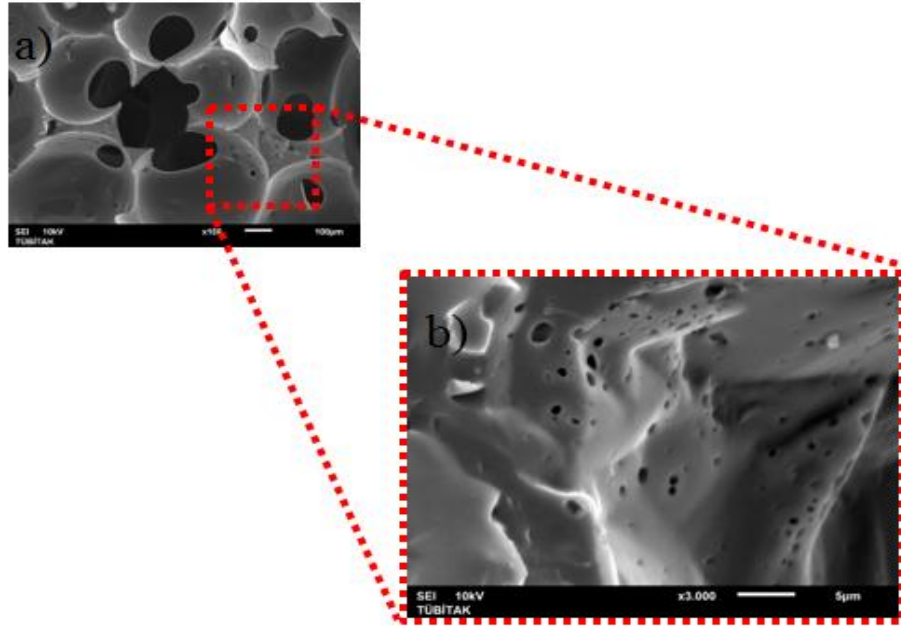
Şekil 4.8’de ise hem PEG-Kontrol örneğine hem de aynı büyütme ölçeğindeki %20 w/v oranında katkı maddesi ilave edilerek sentezlenmiş olan PEG-NaCl ve PEG-PŞ ait görüntülere yer verilmiştir. Gözenek boyutunda farklılık yaratması hedeflenerek ilave edilen NaCl ve pudra şekeri katkılı süngerlere ait SEM görüntüleri incelendiğinde hem gözenek tipindeki hem de gözenek boyutundaki değişimler görülmüştür. Kontrol örneğine göre gözenekliliğin arttığı, NaCl ilaveli süngerlerin ortalama gözenek boyutunun $370 \pm 110 \mu\text{m}$ olduğu belirlenmiştir. Ancak Şekil 4.8.b’ye ait SEM görüntüleri incelendiğinde NaCl parçacıklarının beklenilenin aksine sistem içerisinde hiyerarşik (ikincil) bir gözenek yapısı yaratmadığı gözlemlenmiştir. Şekil 4.8.c ’de görülen pudra şekeri ilaveli süngerde ise gözenekliliğin homojen olmadığı ve gözenek boyutunun kontrol örneğine kıyasla küçüldüğü görülmüştür.



Şekil 4. 8 PEG bazlı süngerlere ait SEM görüntüleri (X35) a)PEG-Kontrol b)PEG-NaCl c)PEG-PŞ

PEG-PŞ' ye ait farklı büyütmedeki görüntülere ise Şekil 4.9'da yer verilmiştir. Şekil 4.9.a'daki SEM görüntüleri incelendiğinde, büyük çaplı gözeneklerin yanısıra küçük gözeneklerin de yer aldığı hiyerarşik bir gözenek yapısının olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.9.b'de x3000 büyütmedeki SEM görüntüsünde küçük gözenekler daha net bir şekilde görülmüştür. Oluşan küçük gözeneklerin ortalama gözenek boyutu $1,2 \pm 0,5 \mu\text{m}$ iken

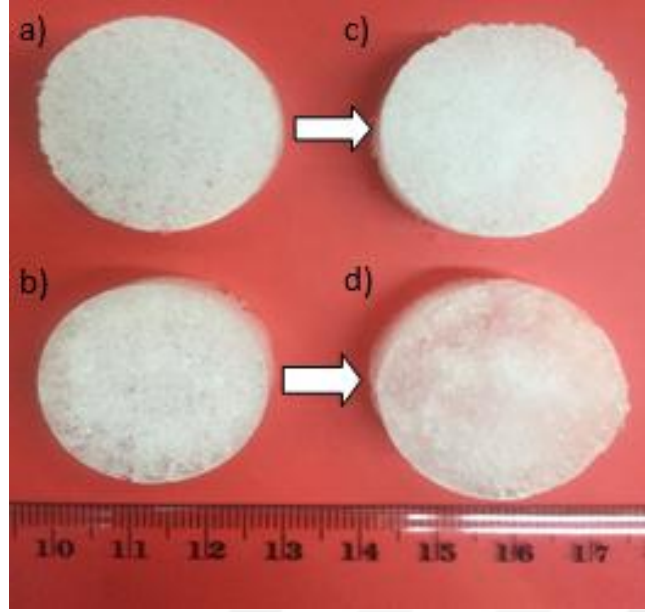
büyük gözeneklerin ortalama gözenek boyutu $165 \pm 48 \mu\text{m}$ olarak ölçülmüştür. Burada, büyük gözenekler HCl gazının sistemden ayrılması sonucu oluşurken küçük gözenekler ise gözenek yapıcı madde olarak davranan pudra şekerinin reaksiyon sonucunda çözünmesinden dolayı oluşmuştur. Bu tür hiyeraşik yapıli malzemeler doku mühendisliğı uygulamaları için ciddi avantajlar sağlamaktadır [61], [62].



Şekil 4. 9 Pudra şekeri ilaveli süngere ait hiyeraşik yapının SEM görüntüleri a) PEG-PŞ (X100), b) PEG-PŞ (X3000)

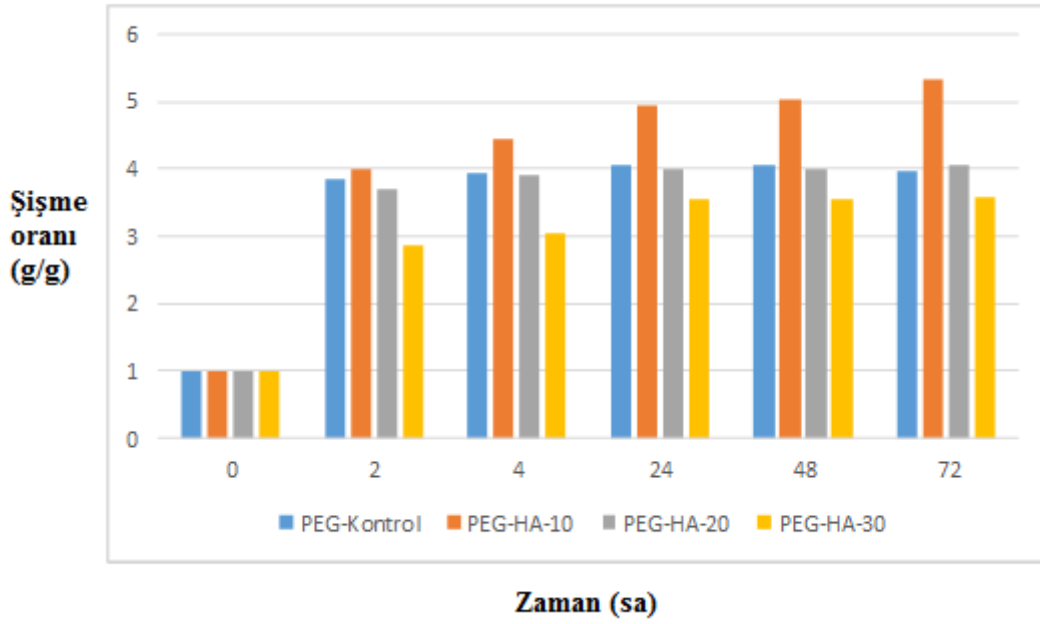
4.5 Şişme Testlerinin Değerlendirilmesi

Doku iskelesi olarak kullanılacak biyomalzemenin gerekli süre içerisinde sulu bir ortamda şişebilme kabiliyetinin incelenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, hazırlanan gözenekli süngerlere ait şişme deneyleri kuru halde olan disk formundaki süngerler ile yürütülmüştür. Distile su içerisinde bekletilen numunelerin şişmiş ağırlıkları ölçülmüş ve denge şişme oranları hesaplanarak değerlendirilmiştir.



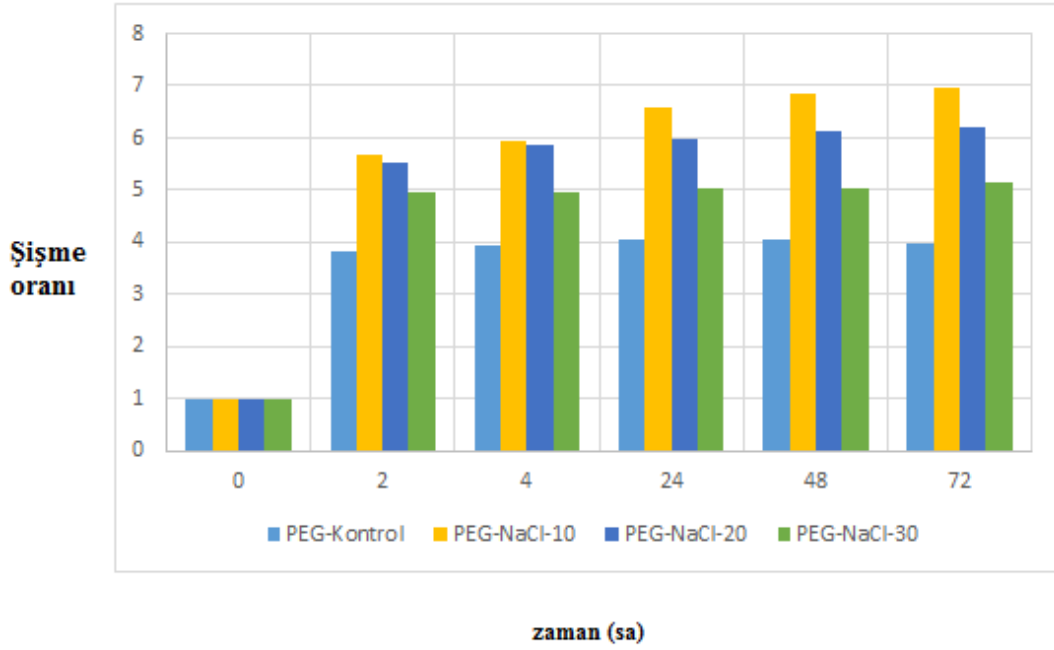
Şekil 4. 10 PEG bazlı süngerlerin kuru ve şişmiş durumdaki görüntüsü: a) kuru durumdaki PEG-HA, b) kuru durumdaki PEG-Kontrol, c) şişmiş durumdaki PEG-HA, d) şişmiş durumdaki PEG-Kontrol

Öncelikle, Şekil 4.10' da kontrol örneği ile HA ilaveli süngerlere ait şişme öncesi ve distile su içerisinde bekletilmiş süngerlerin şişme sonrası görüntüleri verilmiştir. PEG bazlı süngerlere ait görüntülerden anlaşılabacağı gibi, hacimsel olarak kuru ve şişmiş formları arasında büyük bir fark görülmemiştir. Ayrıca, süngerlerin distile su ile şişmiş duruma geçtikten sonrada sahip oldukları kuru durumdaki orijinal şekillerini korudukları gözlemlenmiştir.



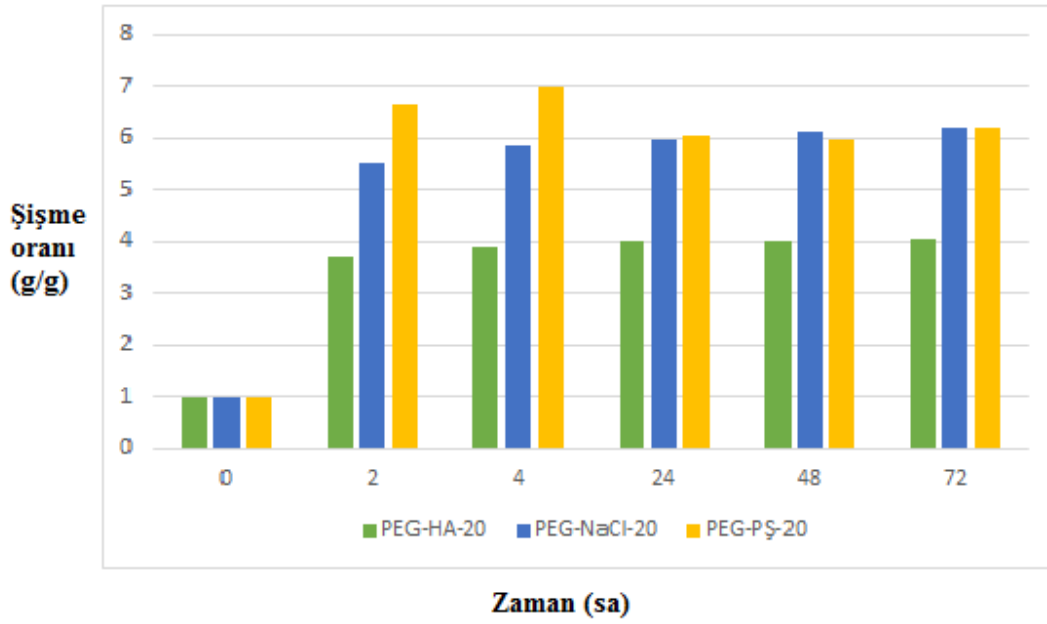
Şekil 4. 11 PEG-HA sünger serisine ait zamana karşı denge şişme oranları

Daha sonra, HA miktarının süngerin denge şişme oranı üzerindeki etkisini incelemek amacı ile HA serisindeki numunelerin her biri için şişme testi uygulanmış ve bu seri kontrol örneği ile kıyaslanarak değerlendirilmiştir. PEG-Kontrol ve PEG-HA serisine ait denge şişme oranlarının zamana karşı değişim grafiğine Şekil 4.11’de yer verilmiştir. PEG-HA serisine ait grafik incelendiğinde tüm numunelerin yaklaşık 24 saat içerisinde denge şişme oranına ulaştığı görülmüştür. HA serisine bakıldığında, %10 w/v oranında HA ilave edilerek sentezlenen PEG-HA-10 en yüksek denge şişme oranına sahip olduğu ve kontrol örneği ile mukayese edildiğinde denge şişme oranında artış olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, PEG-HA-20 sünger, kontrol örneği ile hemen hemen aynı denge şişme değerine sahip iken PEG-HA-30 sünger, kontrol örneğinden daha küçük bir değere sahip olduğu görülmüştür. Buna göre, sistemdeki HA miktarı artıkcı süngerin denge şişme oranı azalmıştır. Bunun nedeninin, HA tozlarının süngerlerin gözeneklerini tıkayarak suyun gözenek yapısı içine girmesini engellemesi olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4. 12 PEG-NaCl sünger serisine ait zamana karşı denge şişme oranları

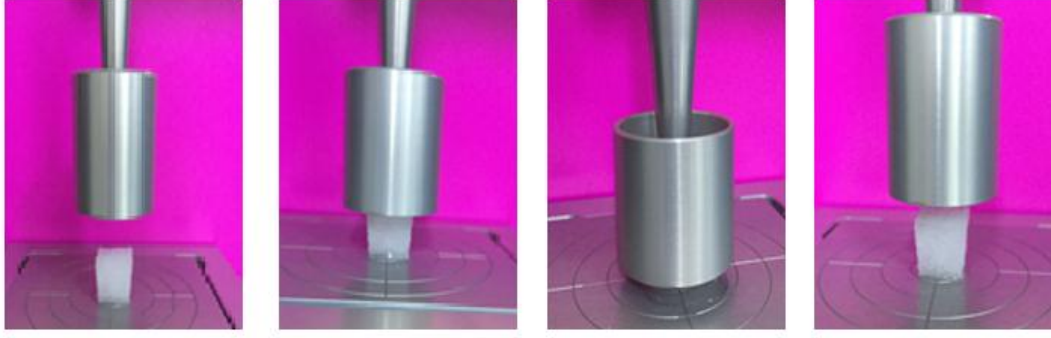
Şekil 4.12’de görüldüğü gibi, farklı miktarda NaCl ilave edilmesiyle sentezlenen PEG-NaCl serisine ait denge şişme oranları kontrol örneği ile kıyaslanmıştır. PEG-NaCl serisine ait tüm süngerlerin, kontrol örneğine göre daha yüksek denge şişme oranına sahip olduğu görülmüştür. Sisteme dahil edilen NaCl miktarı arttıkça denge şişme oranı azalmıştır.



Şekil 4. 13 %20 w/v oranında farklı ilaveler ile elde edilmiş süngerlere ait şişme oranları Aynı oranlarda farklı içeriklere sahip süngerlerin şişme oranlarındaki değişimi kıyaslamak amacı ile %20 w/v oranında HA, NaCl ve pudra şekeri katkılı süngerler incelenmiştir. Şekil 4.13’de görüldüğü gibi 24 saat sonunda denge şişme oranına ulaşan süngerlerden HA ilaveli olana ait şişme oranı diğerlerine kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür.

4.6 Süngerlerin Mekanik Dayanımlarının Değerlendirilmesi

Doku iskeleleri olarak kullanılacak PEG bazlı süngerlerin yeni doku oluşumu sırasında uygun desteği sağlayabilmesi için sahip oldukları mekanik özellikler dikkat edilmesi gereken parametreler arasındadır. Bu sebeple, sentezlediğimiz PEG-Kontrol örneğimiz ve diğer PEG bazlı süngerler eşit koşullar altında mekanik dayanım testine tabi tutulmuşlardır. Şekil 4.14’de görüldüğü üzere, şişmiş durumdaki numuneler 5 kg’lık yük altına yerleştirilmiş ve 1 mm/dk sabit hızlı başlık ile oda sıcaklığında sıkıştırılmıştır.



Şekil 4. 14 PEG-HA sünger örneğine ait mekanik dayanım testi aşamalarının görüntüleri

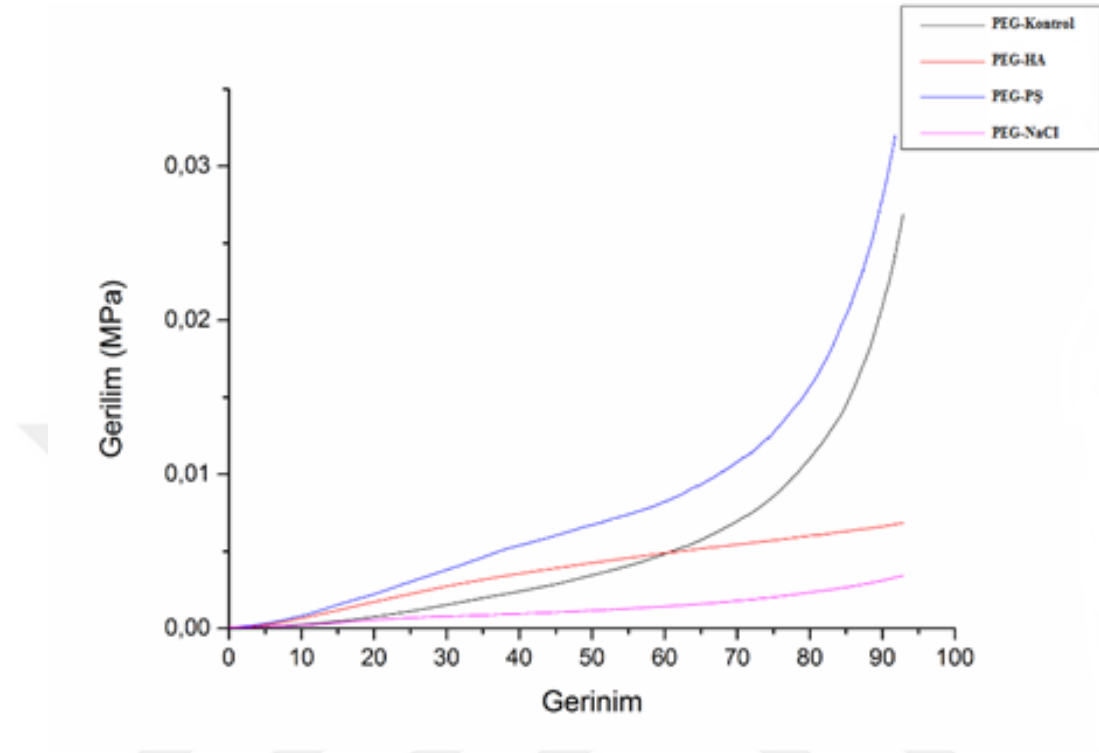
Ardından sıkıştırma testi sonucu elde edilen veriler ile Şekil 4.15’de görülen gerilim-gerinim eğrileri olarak çizilmiş ve bu verilerden yararlanılarak %50 gerinim değerlerindeki gerilim değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Şekil 4.14 görüldüğü gibi ve 4.15’ten de anlaşılacağı üzere, numuneler yük uygulandığı süre boyunca parçalanmadan bütünlüğünü korumuş ve uygulanan yük kaldırıldığında ilk baştaki orjinal haline dönmüştür.

Çizelge 4. 2 PEG bazlı süngerlerin %50 gerinim altında gösterdikleri gerilim değerleri

Numune Kodu	Gerilim Değeri (kPa)
PEG-Kontrol	3,45
PEG-HA-20	6,71
PEG-HA-30	7,21
PEG-NaCl-20	2
PEG-PŞ-20	7,41

Çizelge 4.2’deki değerler incelendiğinde PEG bazlı süngerlere HA ilavesi ile %50 gerinim değerinde altında gösterdikleri gerilim değerinde PEG-Kontrol örneğine göre yaklaşık 2 kat kadar bir artış gözlemlenmiştir. Böylece, PEG bazlı süngerlerin mekanik dayanımlarını arttırmak için yaptığımız çalışmaların amacına uygun olduğu doğrulanmıştır. Elde ettiğimiz biyomalzemelerin mekanik dayanımları HA ile arttırılmış ve özellikle kemik gibi sert doku mühendisliği uygulamaları için kullanılabileceği düşünülmektedir. Diğer sünger numunelerine bakıldığında, aynı oranlardaki farklı

içerikli süngerlerin elastik modül değerleri incelendiğinde ilave edilen pudra şekeri katkısı ile %50 gerinimde görülen gerilim değeri artmış iken, NaCl ilaveli süngerde gerilim değerinde azalış olduğu görülmüştür.



Şekil 4. 15 PEG-Kontrol ve aynı oranlara sahip farklı içerikli PEG-HA, PEG-NaCl, PEG-PŞ süngerlerine ait gerilim-gerinim eğrisi

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez kapsamında, iki ana bileşenin ekzotermik reaksiyonu sonucu açığa çıkan HCl gazı ile oluşan gözenekli PEG bazlı süngerler temel alınmış ve bu süngerlerin sahip olduğu özelliklerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, başarılı bir asit klorür/alkol kimyası yaklaşımı ile PEG bazlı süngerlerin elde edildiği sisteme HA, NaCl ve pudra şekeri gibi katkı maddeleri ilave edilerek birbirinden farklı özelliklere sahip yeni biyomalzemeler üretilmiştir. Sentezlenen bu malzemelerin karakterizasyon çalışmaları yapılmış ve elde edilen genel sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenmiştir:

- Doku iskelelerinin sentezlenmesi için literatürdeki mevcut gaz köpüklendirme yöntemlerinde kullanılan köpürme ajanlarına ve inert gazlara olan gereksinimi ortadan kaldıran bu yöntem ile mekanik dayanımları ve gözenek yapıları birbirinde farklı üç yeni biyomalzeme üretilmiştir.
- SebCl ve PE arasındaki çapraz bağlanma sonucu olan ester bağından ötürü bu çalışmada elde edilen tüm numunelerin biyobozunurluk özelliğine sahip olduğu değerlendirilmektedir. Böylelikle çalışmamızda, bir doku iskelesinin sahip olması gereken biyobozunurluk şartını sağlayan yeni tür sentetik biyomalzemeler üretilmiştir.
- Sentezlenen PEG-HA süngerlerinin gözenek boyutu $425 \pm 110 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, PEG-HA numunesinin %50 gerinim değerinde göstermiş olduğu gerilim değerindeki yaklaşık 2 kat artış olduğu belirlenmiştir. Buna göre, mekanik dayanımı iyi ve birbiriyle bağlantılı oldukça büyük gözenekli yapısı ile

gelecekte yapılacak kemik gibi sert doku mühendisliği uygulamaları için potansiyel oluşturmıştır.

- %20 w/v oranıyla sentezlenen PEG-PŞ süngerinde HCl gazının açığa çıkması ile büyük çaplı gözenekliliğin yanısıra pudra şekerinin ilavesiyle de küçük gözeneklerinde olduğu belirlenmiştir. Böylelikle, doku mühendisliğinde hücre için besin ve gaz alışverişini kolaylaştıran hiyeraşik gözeneklilik yapısında kullanılma potansiyeli olan yeni bir tür doku iskelesi geliştirilmiştir.
- NaCl ilave edilerek sentezlenen PEG-NaCl süngerlere ait SEM görüntülerine göre, kontrol örneğine kıyasla PEG-NaCl numunelerinin gözenek boyutunda artış olmasına rağmen NaCl ilavesinin mekanik dayanım testi sonuçlarında elde edilen gerilim-gerinim eğrisine göre en düşük gerilim değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, sisteme dahil edilen NaCl ile hazırlanmış PEG-NaCl serisinin tüm süngerlerinin, kontrol örneğine göre daha yüksek bir denge şişme oranına sahip olduğu bulunmuştur.
- Kontrol örneğinde olduğu gibi %20 w/v oranında sentezlenmiş HA, NaCl ve pudra şekeri ilaveli süngerlerde 24 saat içerisinde denge şişme oranına ulaşmıştır. Aynı oranlarda farklı içeriklere sahip süngerlerin denge şişme oranlarındaki değişim kıyaslandığında ise PEG-HA süngerine ait değer en düşük iken, PEG-NaCl ve PEG-PŞ için yaklaşık aynı değerler olduğu görülmüştür. Bu süngerlerin kuru ve şişmiş haldeki hacimleri arasında bir farklılık görülmemiştir.
- Tüm numuneler sıkıştırma testi boyunca yapısal bütünlüğünü koruyarak herhangi bir parçalanmaya uğramamış ve orijinal formunu korumuş olduğu görülmüştür.

Yukarıda görüldüğü gibi, bu çalışmada kullanılan asit klorür/alkol kimyası ile hızlı ve çok basit bir şekilde ve ucuz katkı maddeleri kullanılarak gözenekli yeni tür doku iskeleleri geliştirilebilmiştir. Bu yaklaşımla, bundan sonraki çalışmalar için, başka polimerler de denenerek, örneğin kemik doku mühendisliği için kıymetli bir polimer olan polikaprolakton diol ile birlikte HA katkı maddesi kullanılarak üstün mekanik özellikleri olan doku iskelelerinin üretimi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

-
- [1] Langer, R., Vacanti, J.P., (1993). "Tissue Engineering", Science New Series, 260: 920-926.
 - [2] Hutmacher, D.W., (2001). "Scaffold Design and Fabrication Technologies for Engineering Tissues — State of The Art and Future Perspectives", J. Biomater. Sci. Polymer Edn, 12: 107-124.
 - [3] Ozcelik, B., Blencowe, A., Palmer, J., Ladewig, K., Stevens, G.W., Abberton, K.M., Morrison, W.A., Qiao, G.G., (2014). "Highly Porous and Mechanically Robust Polyester Poly(ethylene glycol) Sponges as Implantable Scaffolds", Acta Biomaterialia, 10: 2769-2780.
 - [4] Nazife, Ü., (2013). Işık-Etkili Kemik Doku Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
 - [5] Bilici, Ç., (2013) Miseller Polimerizasyonu Tekniği İle Şekil Hafızalı Hidrojellerin Sentezi Ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi ve Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
 - [6] Ozcelik, B., (2013). Novel Biocompatible and Biodegradable Poly(ethylene glycol)-based Scaffolds for Soft Tissue Engineering, Doktora Tezi, Melbourne Üniversitesi.
 - [7] Lee, H.B., Khang, G., Lee, J.H., (2006). Biomaterials: Tissue Engineering and Scaffold, in Webster J (ed.), Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation, 2nd ed., Wiley Press, New York.
 - [8] Vats, A., Tolley, N.S., Polak, J.N., Gough, J.E., (2003). "Scaffolds and Biomaterials For Tissue Engineering: a Review of Clinical Applications", Clin. Otolaryngol, 28: 165-172.
 - [9] Karageorgiou, V., Kaplan, D., (2005). "Porosity of 3D Biomaterial Scaffolds and Osteogenesis", Biomaterials, 26: 5474-5491.
 - [10] Gunatillake, P.A., Adhikari, R., (2003). "Biodegradable Synthetic Polymers For Tissue Engineering ", European Cells and Materials, 5: 1-16.
 - [11] Eczacıoğlu, N., (2015). Mandibular Kemik Defektlerinde Sıralı VEGF165 ve BMP-2 Salımı Gerçekleştiren Gözenekli PLA-PEG Kopolimer Doku İskelelerinin

Üretilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.

- [12] Sabir, M.I., Xu, X., (2009). "A Review on Biodegradable Polymeric Materials for Bone Tissue Engineering Applications", J Mater Sci, 44: 5713-5724.
- [13] 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, 2126-2146.
- [14] Gunatillake, P.A., Adhikari, R., (2003). "Biodegradable Synthetic Polymers for Tissue Engineering ", Eur Cell Materials, 5: 1-16.
- [15] Park, C.H., Hong, Y.J., Park, K., Han, D.K., (2010). "Peptide-Grafted Lactide-Based Poly(ethylene glycol) Porous Scaffolds for Specific Cell Adhesion", Macromolecular Research, 18: 526-532.
- [16] Park, J.S., GyunWoo, D., Sun, B.K., Chung, H., Im, S.J., Choi, Y.M., Park, K., Huh, K.M., Park, K., (2007). "In Vitro and In Vivo Test of PEG/PCL-based Hydrogel Scaffold for Cell Delivery Application", Journal of Controlled Release, 124 51–59.
- [17] Zhang, M., Li, X.H., Gong, Y.D., Zhao, N.M., Zhang, X.F., (2002). "Properties and Biocompatibility of Chitosan Films Modified by Blending with PEG", Biomaterials, 23: 2641–2264.
- [18] Dehghani, F., Annabi, N., (2011). "Engineering Porous Scaffolds Using Gas-based Techniques", Curr Opin Biotechnol, 22: 661-666.
- [19] Bailon, P., Berthold, W., (1998). "Polyethylene Glycol-conjugated Pharmaceutical Proteins", PSTT, 1: 352-356.
- [20] Li, B.-q. Dong, X. Fang, S.-h. Gao, J.-y. Yang, G.-q. ve Zhao, H., (2011). "Systemic Toxicity and Toxicokinetics of a High Dose of Polyethylene Glycol 400 in Dogs Following Intravenous Injection", Drug and chemical toxicology, 34: 208-212.
- [21] Ronda, L., Bruno, S., Abbruzzetti, S., Viappiani, C., Bettati, S., (2008). "Ligand Reactivity and Allosteric Regulation of Hemoglobin-based Oxygen Carriers", Biochimica et Biophysica Acta, 1784 1365–1377.
- [22] Aimetti, A.A., Machena, A.J., Anseth, K.S., (2009). "Poly(ethylene glycol) Hydrogels Formed by Thiol-ene Photopolymerization", Biomaterials Science, 30: 6048–6054.
- [23] Han, K.H., Park, K.D., Hubbell, J.A., Kim, Y. H. , (1998). "Surface Characteristics and Biocompatibility of Lactide-based Poly(ethylene glycol) Scaffolds for Tissue Engineering", J. Biomater. Sci. Polymer Edn., 9: 667-680.
- [24] Tan, H., DeFail, A.J., Rubin, J.P., Chu, C.R., Marra, K.G., (2010). "Novel Multiarm PEG-based Hydrogels for Tissue Engineering", J Biomed Mater Res, 92A: 979–987.

- [25] Chiu, Y., Chengb, M., Engel, H., Kaob, S., Larson, J.C., Gupta, S., Brea, E.M., (2011). "The Role of Pore Size on Vascularization and Tissue Remodeling in PEG Hydrogels", *Biomaterials*, 32: 6045-6051.
- [26] Tan, H., DeFail, A.J. Rubin, J.P. Chu, C.R. ve Marra, K.G., (2010). "Novel Multiarm PEG-based Hydrogels for Tissue Engineering", *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 92: 979-987.
- [27] Yang, S., Leong, K., M.S.E., M.S.M.E., DU, Z., CHUA, C., (2001). "The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional Factors", *Tissue Engineering*, 7: 679-689.
- [28] Vallet-Regi, M., (2001). "Ceramics for Medical Applications", *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 97–108.
- [29] Beşkardeş, I.G., Demirtaş, T.T., Dağlı Durukan, Gümüşderelioğlu, M., (2012). "Microwave-Assisted Fabrication of Chitosan–Hydroxyapatite Superporous Hydrogel Composites as Bone Scaffolds", *J Tissue Eng Regen Med*.
- [30] Pasinli, A., Aksoy, R.S., (2010). "Yapay Kemik Uygulamaları İçin Hidroksiapatit", *Electronic Journal of BioTechnology* 1: 41-51.
- [31] Nair, L.S. ve Laurencin, C.T., (2007). "Biodegradable Polymers as Biomaterials", *Prog Polym Sci*, 32: 762-798.
- [32] Rezwana, K., Chena, Q.Z., Blakera, J.J., Boccaccini, A.R., (2006). "Biodegradable and Bioactive Porous Polymer/Inorganic Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering", *Biomaterials*, 27 3413-3431.
- [33] Emin, N., (2006). İzole Edilmiş Sıçan Kondrositleri ve Polimerik Biyomalzemelerin Kullanımıyla Kıkırdak Doku Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- [34] Thomson, R.C. Yaszemski, M.J. Powers, J.M. ve Mikos, A.G., (1996). "Fabrication of Biodegradable Polymer Scaffolds to Engineer Trabecular Bone", *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 7: 23-38.
- [35] Lee, K.-W.D. Chan, P.K. ve Feng, X., (2004). "Morphology Development and Characterization of The Phase-Separated Structure Resulting from The Thermal-induced Phase Separation Phenomenon in Polymer Solutions Under A Temperature Gradient", *Chemical engineering science*, 59: 1491-1504.
- [36] Levengood, S.L., Zhang, M., (2014). "Chitosan-Based Scaffolds for Bone Tissue Engineering", *Journal of Materials Chemistry B*, 2: 3161-3184.
- [37] Thomson, R.C., Shung, A. K., Yaszemski, M. J., Mikos, A. G., (2000). "Polymer Scaffold Processing", *Principles of Tissue Engineering*, 2: 251-262.
- [38] Mikos, A.G., Sarakinos, G., Leite, S.M., Vacanti, J.P. ve Langer, R., (1993). "Laminated Three-dimensional Biodegradable Foams for Use in Tissue Engineering", *Biomaterials*, 14: 323-330.
- [39] Mikos, A.G. ve Temenoff, J.S., (2000). "Formation of Highly Porous Biodegradable Scaffolds for Tissue Engineering", *Electronic Journal of BioTechnology*, 3: 23-24.

- [40] Weigel, T., Schinkel, G. ve Lendlein, A., (2006). "Design and Preparation of Polymeric Scaffolds for Tissue Engineering", *Expert Review of Medical Devices*, 3: 835-851.
- [41] Chen, G., Ushida, T., Tateishi, T., (2002). "Scaffold Design for Tissue Engineering", *Macromolecular Bioscience*, 2: 67-77.
- [42] Hutmacher, D.W., (2000). "Scaffolds in Tissue Engineering Bone and Cartilage", *Biomaterials*, 21: 2529-2543.
- [43] Dehghani, F. ve Annabi, N., (2011). "Engineering Porous Scaffolds Using Gas-Based Techniques", *Current Opinion in Biotechnology*, 22: 661-666.
- [44] Barry, J.J., Silva, M.M., Cartmell, S.H., Guldberg, R.E., Scotchford, C.A. ve Howdle, S.M., (2006). "Porous Methacrylate Tissue Engineering Scaffolds: Using Carbon Dioxide to Control Porosity and Interconnectivity", *Journal of materials science*, 41: 4197-4204.
- [45] Xu, Z.-M., Jiang, X.-L., Liu, T., Hu, G.-H., Zhao, L., Zhu, Z.-N. ve Yuan, W.-K., (2007). "Foaming of Polypropylene with Supercritical Carbon Dioxide", *The Journal of supercritical fluids*, 41: 299-310.
- [46] Partap, S., Rehman, I., Jones, J.R. ve Darr, J.A., (2006). "“Supercritical Carbon Dioxide in Water” Emulsion-Templated Synthesis of Porous Calcium Alginate Hydrogels", *Advanced Materials*, 18: 501-504.
- [47] Annabi, N., Fathi, A., Mithieux, S.M., Martens, P., Weiss, A.S. ve Dehghani, F., (2011). "The Effect of Elastin on Chondrocyte Adhesion and Proliferation on Poly (ϵ -caprolactone)/Elastin Composites", *Biomaterials*, 32: 1517-1525.
- [48] Annabi, N., Mithieux, S.M., Weiss, A.S. ve Dehghani, F., (2009). "The Fabrication of Elastin-Based Hydrogels Using High Pressure CO₂", *Biomaterials*, 30: 1-7.
- [49] Annabi, N., Mithieux, S.M., Weiss, A.S. ve Dehghani, F., (2010). "Cross-Linked Open-Pore Elastic Hydrogels Based on Tropoelastin, Elastin and High Pressure CO₂", *Biomaterials*, 31: 1655-1665.
- [50] Annabi, N., Nichol, J.W., Zhong, X., Ji, C., Koshy, S., Khademhosseini, A. ve Dehghani, F., (2010). "Controlling The Porosity and Microarchitecture of Hydrogels for Tissue Engineering", *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 16: 371-383.
- [51] Chen, J., Park, H. ve Park, K., (1999). "Synthesis of Superporous Hydrogels: Hydrogels with Fast Swelling and Superabsorbent Properties", *Journal of Biomedical Materials Research*, 44: 53-62.
- [52] Özarpat, Ö., (2011). Stronsiyum Katkılı Biyoaktif Cam Malzeme Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [53] Gümüşderelioğlu, M., Erce, D. ve Demirtaş, T.T., (2011). "Superporous Polyacrylate/Chitosan IPN Hydrogels for Protein Delivery", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 22: 2467-2475.

- [54] Barbetta, A., Gumiero, A., Pecci, R., Bedini, R. ve Dentini, M., (2009). "Gas-in-liquid Foam Templating as a Method for the Production of Highly Porous Scaffolds", *Biomacromolecules*, 10: 3188-3192.
- [55] Barbetta, A., Carrino, A., Costantini, M. ve Dentini, M., (2010). "Polysaccharide Based Scaffolds Obtained by Freezing the External Phase of Gas-in-liquid Foams", *Soft Matter*, 6: 5213-5224.
- [56] Barbetta, A., Rizzitelli, G., Bedini, R. Pecci, R., ve Dentini, M., (2010). "Porous Gelatin Hydrogels by Gas-in-liquid Foam Templating", *Soft Matter*, 6: 1785-1792.
- [57] Barbetta, A., Barigelli, E. ve Dentini, M., (2009). "Porous Alginate Hydrogels: Synthetic Methods for Tailoring The Porous Texture", *Biomacromolecules*, 10: 2328-2337.
- [58] Keskar, V., Marion, N.W., Mao, J.J. ve Gemeinhart, R.A., (2009). "In Vitro Evaluation of Macroporous Hydrogels to Facilitate Stem Cell Infiltration, Growth, and Mineralization", *Tissue Engineering Part A*, 15: 1695-1707.
- [59] Ju, Y.M., Park, K., Son, J.S. Kim, J.J. Rhie, J.W. ve Han, D.K., (2008). "Beneficial Effect of Hydrophilized Porous Polymer Scaffolds in Tissue-engineered cartilage formation", *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 85: 252-260.
- [60] Ozcelik, B., (2013). Novel Biocompatible and Biodegradable Poly(ethylene glycol)-based Scaffolds for Soft Tissue Engineering, Doktora Tezi, Melbourne Üniversitesi, Avustralya.
- [61] Zhang, Q., Luo, H., Zhang, Y., Zhou, Y., Ye, Z., Tan, W., Lang, M., (2013). "Fabrication of Three-Dimensional Poly(E-Caprolactone) Scaffolds With Hierarchical Pore Structures for Tissue Engineering", *Materials Science and Engineering C*, 33 2094-2103
- [62] Akbarzadeh, R., Minton, J. A., Janney, C. S., Smith, T. A., James, P. F., Yousefi, A. M., (2015). "Hierarchical Polymeric Scaffolds Support The Growth of MC3T3-E1 Cells", *J Mater Sci Mater Med*, 26: 116.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Begüm AYTUĞRUL
Doğum Tarihi ve Yeri : 06.09.1990, İstanbul
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : begum_aytugrul@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Biyomühendislik	Yıldız Teknik Üniversitesi	-
Lisans	Fizik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2013
Lise	Fen-Matematik	50. Yıl Tahran Lisesi	2008

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2016 -	Çelebi Yer Hizmetleri	İş Güvenliği Uzmanı
2014 - 2015	Hava Harp Okulu	Laboratuvar Asistanı
2013 - 2013	Çerrahpaşa Tıp Fakültesi	Stajyer Asistan

YAYINLARI

Bildiri

1. Aytuğrul, B., Özçelik, B.,Özmen, M.M., (2016). “Polietilen Glikol Bazlı Biyokompozit Süngerlerin Gaz Köpüklendirme Yöntemi ile Üretimi”, 12. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, 23-26 Ağustos, İzmir.

