

**SELÜLOZ TEMELLİ İLETKEN BİYOPOLİMER SENTEZİ VE 3B
BİYOPYAZICI UYGULAMALARI**

Çiçek KIR

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Arzu ERSÖZ

Eskişehir

Eskişehir Teknik Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ağustos 2021

ÖZET
SELÜLOZ TEMELLİ İLETKEN BİYOPOLİMER SENTEZİ VE 3B BİYOYAZICI
UYGULAMALARI

Çiçek KIR

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ağustos 2021

Danışman: Prof. Dr. Arzu ERSÖZ

Yapılan çalışma kapsamında, doku mühendisliğinde kullanılmak üzere, doku rejenerasyonuna yardımcı iletken bir biyomürekkep geliştirilmiştir. Bu amaçla asit hidrolizi yöntemi ile selüloz nanokristaller sentezlenmiştir. Dopant olarak elde edilen selüloz nanokristaller kullanılarak yeni bir iletken biyopolimer olan PEDOT:CNC sentezlenmiştir. Sentezlenen ürünlerin karakterizasyonu FT-IR, UV-Vis, Zeta boyut ve potansiyeli, SEM ve iletkenlik ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir.

Pluronic F-127 ve aljinattan oluşan hidrojele, elde edilen PEDOT:CNC eklenerek iletken biyomürekkep elde edilmiştir. Optimum 3B biyobasım değerleri belirlendikten sonra 3B doku iskeleleri üretilmiş ve bu iskeleler $CaCl_2$ ile çapraz bağlanmıştır. 3B yapılar SEM, optik mikroskop, şişme testi, degradasyon ve biyoyumluluk çalışmaları ile karakterize edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında sentezlenen iletken biyopolimer ve geliştirilen iletken biyomürekkep, iyi mekanik özellikleri, üstün elektriksel iletkenliği ve biyoyumluluğu sebebiyle doku mühendisliği alanında kullanılmaya uygun yenilikçi bir ürün olarak literatüre sunulmuştur.

Anahtar Sözcükler: Selüloz nanokristal, 3B biyoyazıcı, Doku mühendisliği, Pluronic F-127, Aljinat,

ABSTRACT

SYNTHESIS OF CELLULOSE BASED CONDUCTIVE BIOPOLYMER AND 3D BIOPRINTING APPLICATIONS

Çiçek KIR

Department of Chemistry

Programme in Biochemistry

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, August 2021

Supervisor: Prof. Dr. Arzu ERSÖZ

In this study, a conductive bioink that assists tissue regeneration has been developed for use in tissue engineering. For this purpose, cellulose nanocrystals were synthesized by acid hydrolysis method. A new conductive biopolymer, PEDOT:CNC, was synthesized using obtained cellulose nanocrystals as dopant. The characterization of the synthesized products was carried out by FT-IR, UV-Vis, Zeta size and potential, SEM and conductivity measurements.

Conductive bioink was obtained by adding the PEDOT:CNC to the hydrogel consisting of Pluronic F-127 and alginate. After the optimum 3D bioprinting values were determined, 3D tissue scaffolds were produced and these scaffolds were crosslinked with CaCl₂. The 3D structures were characterized by SEM, optical microscopy, swelling test, degradation and biocompatibility studies.

As a result, the synthesized conductive biopolymer and the developed conductive bioink have been presented to the literature as an innovative product that suitable for use in the tissue engineering applications due to their good mechanical properties, superior electrical conductivity and biocompatibility.

Keywords: Cellulose nanocrystal, 3D bioprinting, Tissue engineering, Pluronic F-127, Alginate

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca büyük ilgi, sabır ve anlayış ile deneyimlerini paylaştan, yol gösteren çok sevgili danışman hocam Sayın Prof. Dr. Arzu ERSÖZ'e,

Çalışmalarım süresince akademik bilgi ve birimi ile yol gösteren, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen çok sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Rıdvan SAY'a,

Yüksek lisans eğitimimin başladığı günden itibaren, bilgi ve tecrübelerini her fırsatta cömertçe paylaştan çok sevgili hocalarım Sayın Prof. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÜNLÜER'e,

Laboratuvara başladığım günden beri beni her konuda destekleyen, deneysel çalışmalarında yardımlarını ve bilgisini, ilgi ve sabırla paylaştan çok sevgili dostum Yiğitcan SÜMBELLİ'ye,

Yüksek lisans eğitimim süresince, yardımlarını esirgemeyen çok sevgili arkadaşlarım Semra Özgün KÖSE ve Ender KÖSE'ye,

Gerek özel, gerek eğitim hayatımda her zaman yanımda olan, sevgi ve desteklerini esirgemeyen çok sevgili dostlarım başta Zuhale Arzu ŞENER ve Kardelen ECEVİT olmak üzere İlgim AKPINAR ve Hande TAŞKIRAN'a,

Yüksek lisans eğitimi alma kararında, hiç tereddüt etmeden, hem maddi hem manevi olarak beni destekleyen, hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan, sevgi ve güvenlerini sürekli hissettiğim sevgili annem Bahar KIR, sevgili babam Cevdet KIR, sevgili ağabeyim Mehmet KIR ve sevgili eşi Esra IRMAK KIR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çiçek KIR

27/08/2021

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Çiçek KIR

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.	
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Doku Mühendisliği.....	2
1.2. 3B Biyobasım Teknolojisi.....	7
1.2.1. Mürekkep Püskürtmeli Biyoyazıcılar	8
1.2.2. Lazer Destekli Biyoyazıcılar	9
1.2.3. Mikroekstrüzyon Biyoyazıcılar	9
1.3. Biyomürekkep Seçimi	9
1.3.1. Doğal Polimerler	10
1.3.1.1. Aljinat.....	11
1.3.1.2. Selüloz.....	11
1.3.2. Sentetik Polimerler	12
1.3.2.1. Pluronic F-127.....	13
1.3.3. Hibrit Polimerler	13
1.4. İletken Polimerler.....	13
1.4.1. PEDOT ve Türevleri	15
1.4.1.1. PEDOT:Biopolimer Türevleri.....	17
1.5. İletken Hidrojeller.....	18

2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
2.1. Materyal.....	20
2.2. CNC ve PEDOT:CNC Sentezi	20
2.2.1. CNC Sentezi	20
2.2.2. PEDOT:CNC Sentezi	21
2.3. CNC ve PEDOT:CNC Karakterizasyonu.....	21
2.4. Biyomalzemelerin Hazırlanması ve 3B Biyobasım	22
2.4.1. Biyomalzemelerin Hazırlanması	22
2.4.2. Biyomalzemelerin 3B Biyobasımı	22
2.4.3. Karakterizasyon ve Biyouyumluluk Çalışmaları	22
2.4.3.1. 3B yapıların karakterizasyonu	22
2.4.3.2. İletkenlik çalışmaları	23
3. SONUÇLAR.....	24
3.1. CNC ve PEDOT:CNC Karakterizasyonu	24
3.1.1. FT-IR Analizi	24
3.1.2. UV-Vis Analizi	25
3.1.3. Zeta Boyut ve Potansiyel Analizi	26
3.1.4. SEM Analizi	28
3.1.5. İletkenlik Ölçümleri	28
3.2. Biyomalzeme Karakterizasyonu ve 3B Biyobasım Uygulaması	29
4. TARTIŞMA.....	34
KAYNAKÇA.....	37
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. İletken polimerlerin uygulama alanları.....	15
Tablo 2.1. 3B biyobasım parametreleri.....	22
Tablo 3.1. Farklı derişimlerdeki biyomürekkep optimizasyonu	30



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Doku mühendisliğinin uygulandığı alanlar; A) Vacanti Deneyi [21], B) kalp kapakçığı, C) mesane, D) trakea	3
Şekil 1.2. A) 2B hücre kültürü B) 3B hücre kültürü.....	5
Şekil 1.3. Doku iskelesi temelli doku mühendisliği	6
Şekil 1.4. 3B biyoyazıcıların uygulama alanları.....	8
Şekil 1.5. 3B biyoyazıcı çeşitleri	8
Şekil 1.6. Biyomürekkeplerin temel özellikleri.....	10
Şekil 1.7. Aljinik asitin kimyasal yapısı	11
Şekil 1.8. Selülozun kimyasal yapısı	12
Şekil 1.9. CNC'nin ekstraksiyonu	12
Şekil 1.10. Pluronik F-127'nin kimyasal yapısı	13
Şekil 1.11. En yaygın kullanılan iletken polimerler ve kimyasal yapıları.....	15
Şekil 1.12. PEDOT:PSS'nin kimyasal yapısı.....	16
Şekil 1.13. Literatürdeki PEDOT:biyopolimer çalışmaları	17
Şekil 1.14. PEDOT:CNC'nin kimyasal yapısı	18
Şekil 1.15. İletken hidrojellerin kullanıldığı alanlar	19
Şekil 3.1. FT-IR spektrumları A) CNC, B) PEDOT, C) PEDOT:CNC	25
Şekil 3.2. A) %2 (w/v) derişimdeki PEDOT'un UV-Vis spektrumu, B) %2 (w/v) derişimdeki PEDOT:CNC'nin UV-Vis Spektrumu C)Oksidatif polimerizasyon sonrasında reaksiyondaki renk değişimi	26
Şekil 3.3. %0,1 (w/v) derişimdeki PEDOT:CNC'nin zeta boyut analizi	27
Şekil 3.4. %0,1 (w/v) derişimdeki PEDOT:CNC'nin zeta potansiyeli analizi.....	27
Şekil 3.5. SEM mikrografları A) CNC B) PEDOT:CNC.....	28
Şekil 3.6. A) İletkenlik grafiği B) 3B doku iskelesinin iletkenliğinin LED lamba ile gösterilmesi	29
Şekil 3.7. %8 aljinat (w/v) %20 Pluronik F-127 (w/v) içeren doku iskelesinin optik mikroskop görüntüsü	30
Şekil 3.8. %8 (w/v) Aljinat %15 (w/v) Pluronik F-127 biyomürekkebinin sıcaklık optimizasyonu A) 20 °C, B) 26 °C, C) 37 °C	31
Şekil 3.9. %8 Aljinat %15 Pluronik F-127 içeren doku iskelesi A) SEM görüntüsü B)Optik mikroskop görüntüsü	31

Şekil 3.10. %8 Aljinat %15 Pluronik F-127 içerek biyomürekkebin jelleşmesi.....	32
Şekil 3.11. Doku iskelesinin biyobozunurluk grafiği	33



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

2B	: 2 Boyutlu
3B	: 3 Boyutlu
APS	: Amonyum persülfat
CAD	: Bilgisayar Destekli Yazılım (Computer Aided Design)
CNC	: Selüloz Nanokristal
EDOT	: 3,4-etilendioksitiyofen
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
FT-IR	: Fourier Dönüştümlü Kızılötesi (Fourier Transformed Infrared)
ITO	: İndiyum Kalay Oksit
PANI	: Polianilin
PEDOT	: Poli(3,4-etilendioksitiyofen)
PPy	: Polipirol
PSS	: Polistiren sülfonat
PTh	: Politiyofen
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy)
UV-Vis	: Ultraviyole-Görünür Bölge

1. GİRİŞ

Biyobasım teknolojisi, canlı dokusunun yapısını ve işlevselliğini taklit etmek amacıyla ile, biyomalzemelerin katman katman basılarak 3 boyutlu (3B) bir yapı oluşturması prensibi ile çalışan yenilikçi bir doku/organ mühendisliği yaklaşımıdır. Bilgisayar destekli tasarımlar kullanarak, karmaşık yapıları yüksek çözünürlükte ve uygun mekanik özelliklere sahip olarak üretebilmesi sebebi ile klasik doku/organ mühendisliğine yeni bir bakış açısı getirmiştir. Farklı 3B yazım yaklaşımları, hücrelerin canlılığını koruyabileceği, uygun gözeneklilikte ve geometride 3B yapıların üretilmesine ve bu sayede laboratuvar ortamında bir doku taklidinin oluşturulmasına olanak sağlamaktadır. Kişiyeye özgü doku/organ tasarımından, biyoyumlu sensörlerin geliştirilmesine kadar geniş uygulama alanı bulunan 3B biyoyazıcılar, son yıllarda önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir [1].

3B biyobasım çalışmalarında kullanılan biyomürekkepler genellikle hidrojel olarak tercih edilmektedir. Hidrojeller, yüksek su tutma kapasiteleri, geliştirilebilir basılabilirlik özellikleri, tercih edilen biyomalzemeye göre biyoyumlu olmaları ve uygun mekanik, fizikokimyasal özellikleri sebebi ile biyobasım sürecinin en önemli unsurlarından biri olarak kabul edilmektedir [2]. pH, sıcaklık, ışık gibi çevresel uyarılara duyarlı hidrojeller, kendi kendini yenileyebilen hidrojeller, şekil hafızasına veya iletken özelliğe sahip gibi çeşitli hidrojeller “akıllı” materyaller olarak adlandırılır. Bunların 3B biyoyazıcılara uyarlanması, biyobaskı çalışmalarına yeni bir boyut getirmiştir [3].

Bu hidrojeller arasından iletken hidrojeller, hem iletken polimerlerin hem de hidrojellerin kabiliyetlerini biraraya getiren önemli bir malzemedir [4]. Özellikle sinir ve kardiyak doku [5] uygulamalarında önemli yere sahip olan iletken hidrojeller, aynı zamanda biyosensör tasarımı, biyomedikal uygulamalar, ilaç çalışmaları gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır [6–8]. Doku iskelesi üretiminde kullanılan bir iletken hidrojel, insan vücudu tarafından üretilen biyoelektriği taklit ederek doku rejenerasyonuna yardımcı olabilir [9].

İletken hidrojellerin sentezlenmesinde en sık kullanılan polimerlerden biri olan Poli(3,4-etilendioksitiyofen):poli(stirensülfonat) (PEDOT:PSS)'nin uzun süreli bozunumunda biyoyumlu olmayan yan ürünlerin ortaya çıkması sebebi ile biyomürekkep uygulamalarında kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu sebeple son yıllarda

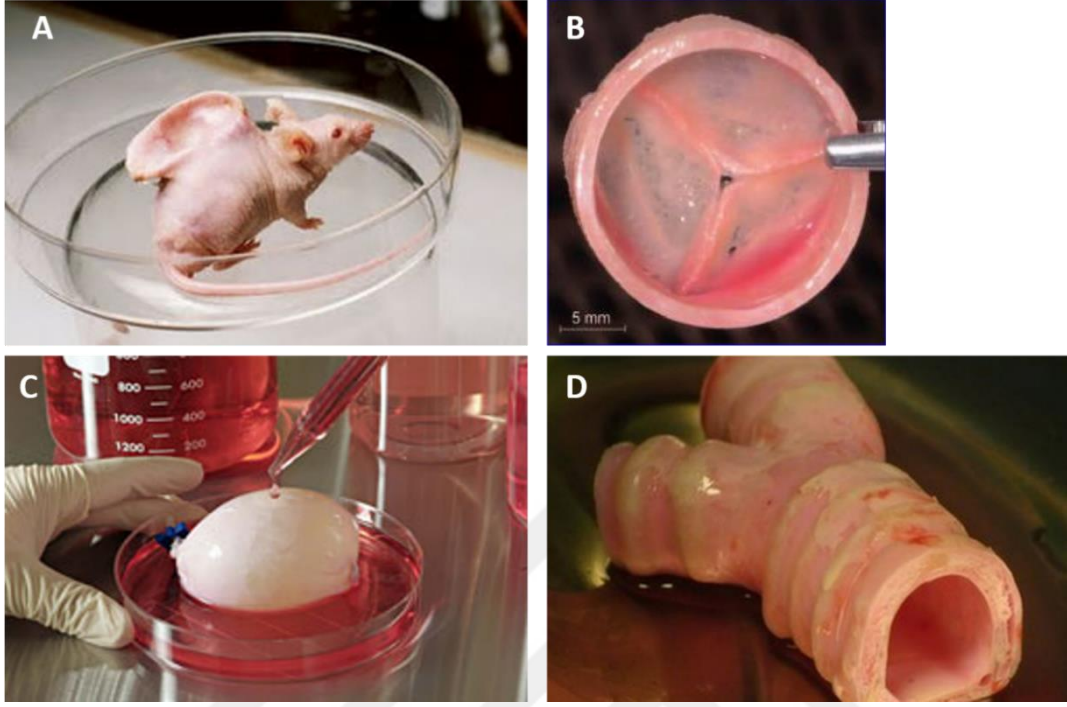
dopant olarak biyopolimerlerin kullanıldığı PEDOT:biyopolimer yaklaşımı geliştirilmiştir [10]. Bu çalışma kapsamında PEDOT:PSS'ye alternatif yenilikçi bir yaklaşım olarak, selüloz nanokristal (CNC) dopant olarak kullanılmış, hem iletken hem de biyoyumlu olması beklenen Poli(3,4-etilendioksitiyofen):selüloz nanokristal (PEDOT:CNC) sentezlenmiştir. Ayrıca basılabilir bir biyomürekkep oluşturması amacı ile, doğal bir polimer olan aljinat, basılabilirliği artırması amacı ile sentetik bir polimer olan Pluronik F-127 kullanılmıştır.

1.1. Doku Mühendisliği

Doku mühendisliği 1993 yılında Langer ve Vacanti [11] tarafından '*doku fonksiyonunu onaran, koruyan veya iyileştiren biyolojik ikamelerin geliştirilmesine yönelik, mühendislik ve yaşam bilimleri ilkelerini uygulayan disiplinler arası bir alan*' olarak tanımlanmıştır. Doku mühendisliğinin temel amacı, yaralı veya hasarlı dokunun - kişiye özgü yöntemlerle- rejenerasyonunu desteklemek, böylece organ naklinin nakil sırası beklemek veya doku uyumsuzluğu gibi dezavantajlarını ortadan kaldırmaktır. Son yıllarda, doku veya organların *in vitro* modellerinin tasarımlarını sağlaması veya ilaç araştırmalarında yeni tedavilerin değerlendirilmesine ön ayak olması sebebiyle, doku mühendisliği oldukça ilgi gören bir alan haline gelmiştir. Doku mühendisliği yaklaşımı sunduğu bilimsel olanakların yanında hem etik hem de ekonomik olarak bazı avantajlar da sağlamaktadır. Hayvan testleri günümüzde hala etik tartışmalara sebebiyet vermektedir. Ayrıca biyomedikal uygulamalarda kullanılan, hayvanlar üzerinde etkili olan fakat insanlarda başarısız sonuç veren tedavi yöntemleri, hayvan testlerinin insan fizyolojisini taklit etmekteki yetersizliğini göstermektedir. Bu sebeple doku mühendisliği gibi alternatif çalışmalar umut vadetmektedir.

1970'li yılların sonlarında laboratuvar ortamında deri dokusunun üretilmesi ve hastalara başarılı bir şekilde uygulanması doku mühendisliği adına atılan en önemli adımlardan biridir. Deri dokusunda elde edilen başarı, alana olan ilginin artmasına sebep olmuştur. Daha sonra 1997 yılında bir kobay farenin derisinin altına nakledilen insan kulağı çalışması Vacanti deneyi [12] olarak adlandırılmış ve doku mühendisliğini dünya çapında bilinir hale getiren çalışma olarak tarihe geçmiştir. 21 yy'a gelindiğinde ise mesane [13], damar [14], deri [15], kıkırdak [16] ve trakea [17] gibi dokuların hastalara başarı ile nakledilmesi, doku mühendisliğinde klinik uygulamaların ne kadar geliştiğini göstermektedir (Şekil 1.1.). Bunun yanı sıra literatürde kalp [18], böbrek

[19], akciğer [20] gibi karmaşık dokuların da başarı ile üretildiği çalışmalar yer almaktadır.



Şekil 1.1. *Doku mühendisliğinin uygulandığı alanlar; A) Vacanti Deneyi [21], B) kalp kapakçığı [22], C) mesane [23], D) trakea [24]*

Doku mühendisliği yaklaşımı 3 temel bileşenden oluşur; canlı hücreler, hücre davranışını kontrol eden biyoaktif malzemeler, biyouyumlu ve biyobozunur malzemeler [25].

Hücre kaynağı doku mühendisliğinin başarılı olabilmesi için önemli bir adımdır. Canlı tür farkına göre, doku mühendisliğine uygun hücre kaynakları otolog, allojenik ve ksenojenik olarak sınıflandırılabilir. Otolog hücrelerin direkt olarak hastadan toplanması ve çoğaltılması, hücre elde etmek için en iyi yöntemlerden biridir. Bu yöntem, transplantasyon sonrası bir bağışıklık tepkisine neden olmadığı için tercih edilmektedir. Fakat bu tür hücrelerin toplanmasındaki zorluk ve maliyet uygulamasını kısıtlamaktadır. Allojenik hücreler, bir donörden alınan hücrelerin toplanıp çoğaltılması ile elde edilmektedir. Bu kaynaktan elde edilen dokunun transplantasyonu sonrasında bir bağışıklık tepkisi oluşmaması için immün sistem baskılayıcı ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Hem bu ‘doku reddi’ ihtimali hem de donör sayısının az olması gibi sebepler bu yöntemin uygulamasını kısıtlamaktadır. Ksenojenik hücreler, bir hayvan donörden alınan hücrelerdir. Bu şekilde elde edilen hücreler ile üretilen dokunun

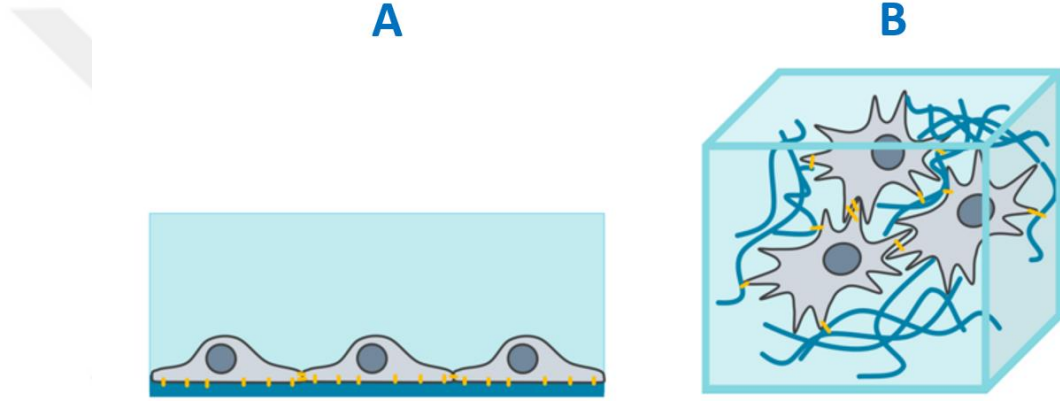
transplantasyonunda başışıklık tepkisi oluşma riski oldukça yüksektir. Bu sebeple allojenik hücrelerdeki gibi immün baskılayıcı ajanlar kullanılması gerekmektedir. Ayrıca hayvan kullanımını konusundaki etik tartışmalar da bu yöntemin uygulamasını kısıtlamaktadır [26].

Doku mühendisliğinde kullanılan bir diğer hücre kaynağı kök hücrelerdir. Vücudun birçok dokusunda bulunan kök hücreler, hem kendilerini yenileyebilmekte hem de bir çok vücut hücresinin fenotipine farklılaşabilmektelerdir. Erişkin mezenkimal kök hücreleri ve embriyonik kök hücreler doku mühendisliği alanında baskın olarak kullanılan kök hücre tipleridir. Kök hücreler, yönlendirilerek farklılaşmanın sağlanabilmesi ve genetik olarak modifiye edilebilmesi gibi avantajlara sahip olmakla birlikte, başışıklık tepkisi engelini de üstesinden gelmek için de kullanılabilir. Kök hücrelerin elde edilme süreci çeşitli etik, dini ve politik konularda tartışmalara sebep olması, alternatif kök hücre kaynaklarının araştırılmasına yol açmıştır. Shinya ve Yamanka, 2012 yılında Nobel Fizyoloji ve Tıp dl alan çalışmalarında, yetişkin farklılaşmış hücreleri, pluripotent kök hücreler haline getirmeyi başarmışlardır. İndüklenmiş pluripotent kök hücre (iPS) olarak adlandırılan bu hücreler yeni bir otolog kök hücre kaynağı sağlayarak etik tartışmalara yeni bir bakış açısı getirmiştir. Kök hücrelerde farklılaşmanın yönlendirilerek istenilen fenotipin seçilebilmesi için protokoller oluşturmak bu alanda karşılaşılan önemli bir zorluktur [27,28].

Hücre davranışı ekstrasellüler matriksten gelen biyolojik, biyokimyasal ve biyofiziksel sinyallerden önemli düzeyde etkilenir. Hücrenin davranışını düzenleyecek biyoaktif malzemelerin kullanımı doku mühendisliğinin bir diğer bileşenidir. Bu biyoaktif malzemeler büyüme faktörleri, sitokinler, ekstrasellüler matriks molekülleri ve diğer küçük molekülleri içeren ve hücrenin g, çoğalması, farklılaşması ve hayatta kalması gibi fonksiyonlarını düzenleyen malzemelerdir. Bu malzemeler, hem in vivo hem in vitro doku oluşumunu indüklemek ve düzenlemek için gereken biyokimyasal veya biyofiziksel uyaranları içermektedir [25].

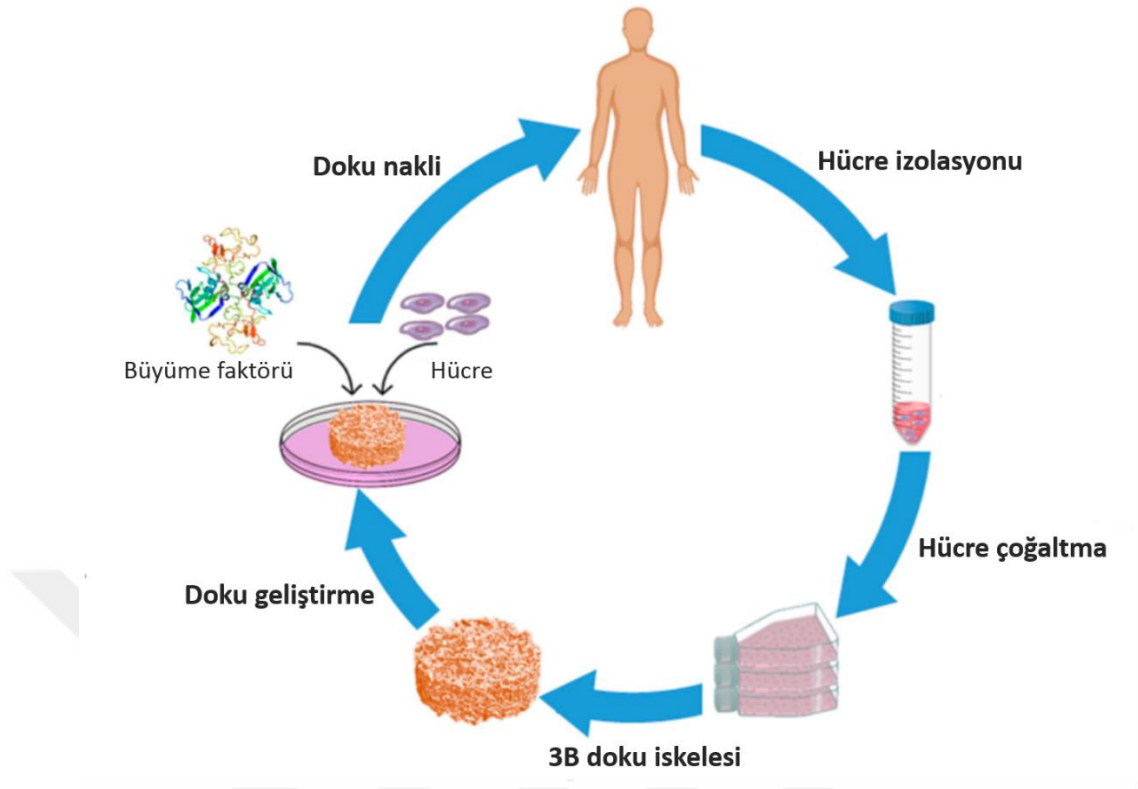
Hasarlı dokunun yerini alacak yeni doku oluşumunda hücrelerin in vitro kültürlenmesi ana adımlardan biridir. Geleneksel 2 boyutlu (2B) hücre kültüründe hücreler plastik bir petri kabının yüzeyine tutunarak tek bir katman olarak büyürler. Bu yöntemin ucuz olması, kolaylığı ve hızlı uygulanabilmesi gibi avantajları olsa da birçok dezavantajı bulunmaktadır. 2B hücre kültürü ortamı doğal bir dokuyu taklit

edemediğinden, hücre-hücre veya hücre-ekstrasellüler matriks etkileşimleri kısıtlıdır. Bu etkileşimler hücre farklılaşması, gen ekspresyonu, hücre canlılığı gibi hücresel işlevlerden sorumludur. Bu sebeple, dokudan izole edilen hücrenin 2B ortamda çoğaltılması hücre morfolojisinin ve fenotipinin değişmesine neden olabilir. Bu kısıtlamaların üstesinden gelmek ve *in vivo* koşulları daha iyi taklit etmek amacı ile 3B hücre kültürü platformları oluşturulmaktadır (Şekil 1.2.). Yapılan araştırmalar, 3B hücre kültüründe hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matriks etkileşimlerinin daha yüksek olduğunu dolayısıyla hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve canlılığını önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir [29].



Şekil 1.2. A) 2B hücre kültürü B) 3B hücre kültürü [30]

3B hücre kültüründe hücreleri desteklemek ve yapışacak bir yüzey sağlamak için kullanılan doku iskeleleri *scaffold* olarak adlandırılır. Scaffold temelli doku mühendisliği uygulaması Şekil 1.3.'de özetlenmiştir.



Şekil 1.3. Doku iskelesi temelli doku mühendisliği [31]

İşlevsel bir doku iskelesinin;

- Biyoyumlu ve biyobozunur malzemelerden oluşması, seçilen malzemenin toksik etki yaratmaması
- Hücre büyümesine izin veren, besinlerin ve metabolik atıkların hücrelere difüzyonunu sağlayan gözenekli yapılar olması
- Hücre bağlanması, çoğalması, farklılaşması ve diğer hücre işlevleri için uygun kimyasal ve biyolojik özelliklere sahip olması
- Yapısal bütünlüğü desteklemek için yeterli mekanik dayanıma sahip olması gerekmektedir [32].

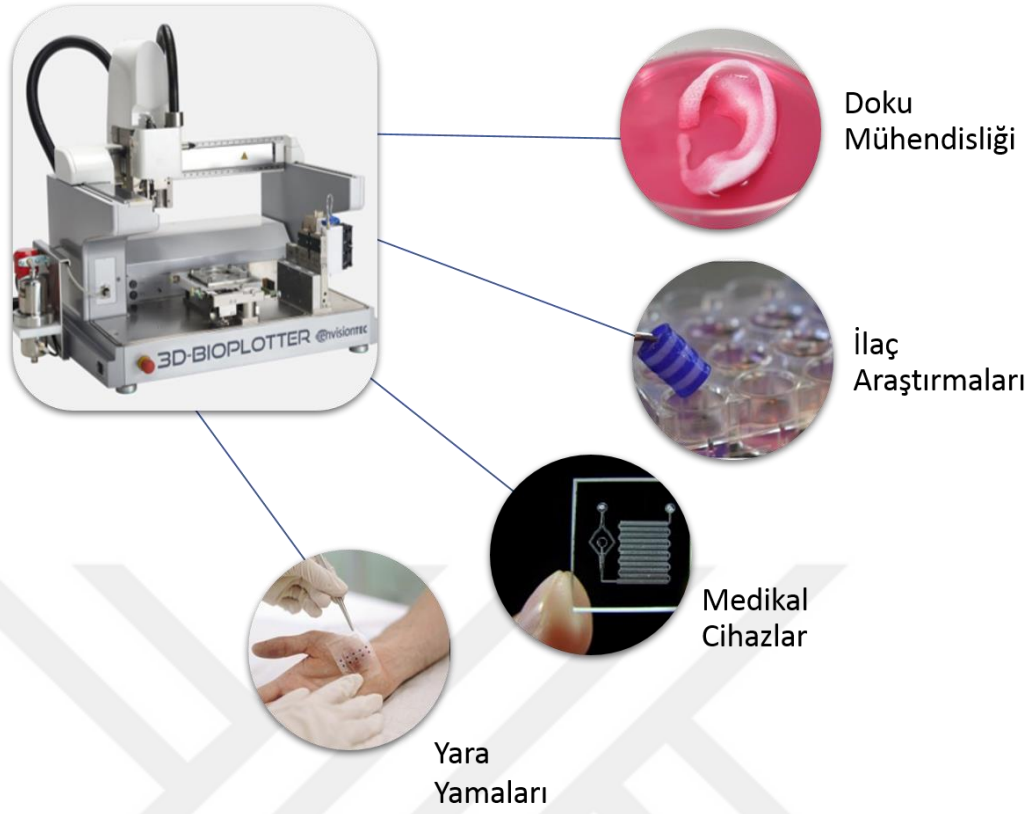
Doku iskelesi üretim teknikleri geleneksel ve modern yöntemler olmak üzere 2 başlıkta toplanmıştır. Geleneksel yöntemlerde; çözücü kaplama, emülsifikasyon, liyofilizasyon, faz ayırma ve elektroçekim gibi teknikler bulunmaktadır. Bu yöntemlerle mikro ölçekli ve karmaşık doku iskelelerini elde etmenin zor olması uygulama alanlarını da kısıtlamıştır. Bunun yanında modern yöntemler, sterolitografi, eriyik yığıma modelleme (Fused Deposition Modelling), seçici lazer sinterleme (Selective laser

sintering), 3B basım gibi katmanlı imalat (additive manufacturing) tekniklerini içermektedir. Bu teknikler bilgisayar destekli tasarımlar kullanılarak doku iskelelerinin hassas bir şekilde üretilmesine ve hedeflenen dokuya göre müdahale edilebilmesine olanak sağlamaktadır [33].

Doku mühendisliğinde “yukarıdan aşağıya” ve “aşağıdan yukarıya” olmak üzere 2 farklı yaklaşım söz konusudur. Yukarıdan aşağıya yaklaşımı, bahsedilen özelliklere sahip bir doku iskelesine hücrelerin ekilmesi, hücrelerin bu iskeleye yerleşmesi ve kendi ekstrasellüler matriksini oluşturması temeline dayanan bir yöntemdir. Bu yaklaşım deri, mesane ve kıkırdak gibi ince veya vasküler olmayan dokularda başarılı bir şekilde uygulanırsa da daha karmaşık yapıdaki dokularda yüksek hücre yoğunluğu sebebiyle uygulanması zorlaşmaktadır. Son yıllarda ortaya çıkan aşağıdan yukarıya yöntemi ise mikro ölçekli doku yapı taşlarının, aşağıdan yukarıya doğru bir araya getirilmesi ile daha büyük doku yapılarının elde edilmesine odaklanır. Bu yöntem sayesinde farklı hücre yoğunlukları ve metabolik özellikleri kullanılarak karmaşık doku yapıları elde edilebilir. 3B biyobasım teknolojisi, hassasiyeti ve karmaşık yapıları üretebilme kabiliyeti sayesinde aşağıdan yukarıya yöntemiyle doku iskelesi oluşturmakta en çok tercih edilen teknik haline gelmiştir [34].

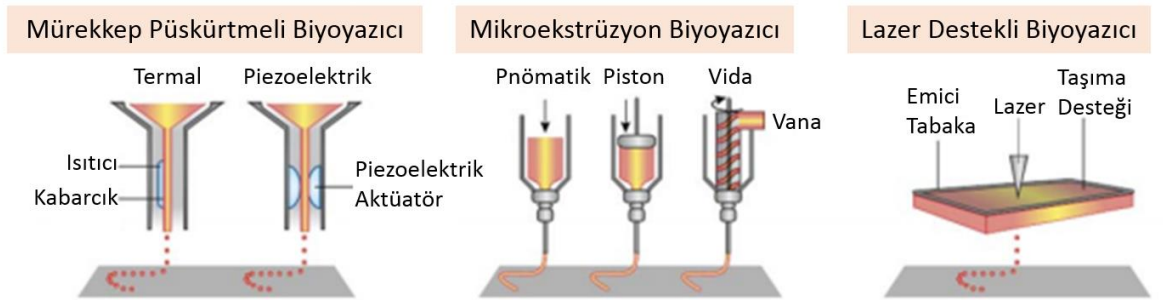
1.2. 3B Biyobasım Teknolojisi

3B basım teknolojisi, ilk kez 1986 yılında, Charles W. Hull [35] tarafından “stereolitografi” adı verilen bir yöntem ile, morötesi ışınlar ile sertleşebilen malzemelerin, katman katman basılması olarak tanımlanmıştır. Temelde, bir malzemenin, bilgisayar destekli tasarımlar (Computer Aided Design (CAD)) kullanılarak 3B’lu nesnelerin üretilmesi prensibi ile çalışır. 3B basım, istenilen tasarımın uygulanabilmesi, hızlı, düşük maliyetli ve ulaşılabilir olması gibi avantajları sebebiyle, son yıllarda, mühendislik, sanat, biyoloji bilimleri gibi geniş çalışma alanlarında ön plana çıkmaktadır [36]. 3B biyobasım hücre, protein, ekstrasellüler matriks ve biyomalzemelerin katman katman işlenerek 3B doku/organ taklitlerinin elde edilmesine olanak sağlar. Doku mühendisliği adına önemli bir yere sahip olan 3B biyobasım, ilaç araştırma çalışmalarından biyomedikal cihaz üretilmesine kadar çok geniş uygulama alanına sahiptir (Şekil 1.4) [37].



Şekil 1.4. 3B biyoyazıcıların uygulama alanları [37]

3B biyoyazıcılar, çalışma prensiplerine göre mürekkep püskürtmeli, mikroekstrüzyon ve lazer destekli biyoyazıcılar olmak üzere 3'e ayrılır (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. 3B biyoyazıcı çeşitleri [38]

1.2.1. Mürekkep Püskürtmeli Biyoyazıcılar

Mürekkep püskürtmeli biyoyazıcılar, hem biyolojik hem de biyolojik olmayan uygulamalarda en yaygın kullanılan yazıcı türüdür. Termal, piezoelektrik veya elektromanyetik güç kullanarak biyomürekkebin damlacık şeklinde katman katman

işlenmesi prensibine dayanarak çalışır. Bu yöntemin, düşük maliyet, hız gibi avantajları bulunsa da termal ve mekanik uygulamaların hürelere zarar vermesi ve biyomürekkebin viskozitesinin düşük olması zorunluluğu kullanımını kısıtlamaktadır [39].

1.2.2. Lazer Destekli Biyoyazıcılar

Lazer destekli biyoyazıcılar, biyomürekkebin 3B yapıyı oluşturması için, enerji kaynağı olarak lazeri kullanır. Bu yöntemin en önemli avantajı yüksek çözünürlüğe sahip olmasıdır. Ayrıca iğne ucu gerektirmediği için yüksek viskoziteli biyomürekkeplerin basımına da olanak sağlar. Fakat üretim süresinin uzun olması, kullanım karmaşıklığı ve yüksek maliyeti sebebiyle kullanımı kısıtlıdır. [39]

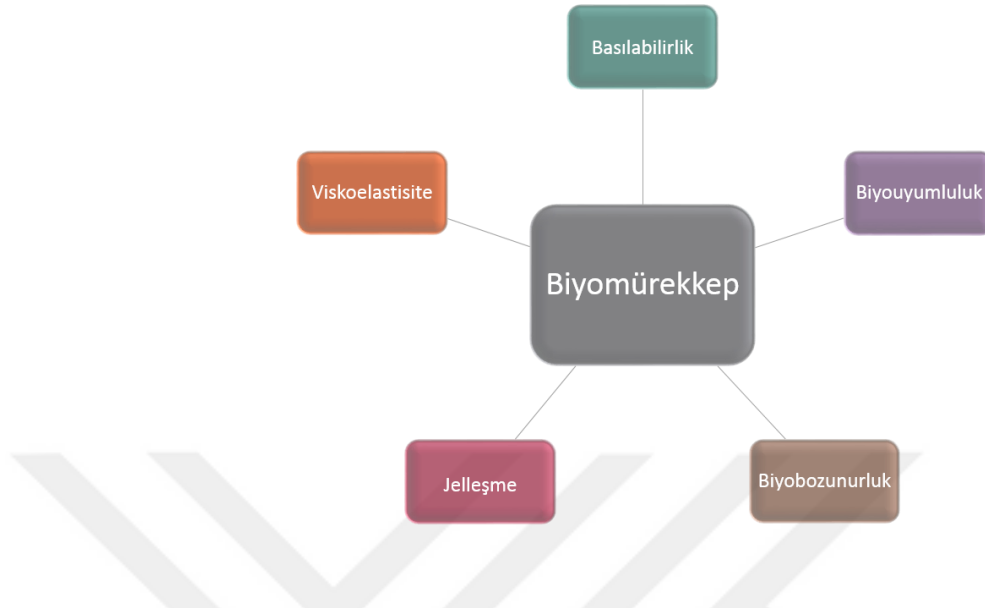
1.2.3. Mikroekstrüzyon Biyoyazıcılar

Mikroekstrüzyon biyoyazıcılar, biyomürekkebin bir pnömatik pompa veya mekanik vidalı bir piston ile itilmesi ile yapının katman katman işlenmesi prensibi ile çalışır. Hücre uygulamalarına uygun olması ve farklı çeşitlerde biyomürekkeplerin basımına olanak sağlayabilmesi sebebi ile en yaygın kullanılan biyoyazıcılarıdır [38,39].

1.3. Biyomürekkep Seçimi

Biyomürekkepler, içerisinde biyomalzemeler bulunduran ve katman katman yazılarak 3B yapı oluşturmak amacıyla kullanılan malzemelerdir [40]. Uygulanacak biyofabrikasyon metoduna ve yapıda istenilen özelliklere göre, uygun biyomürekkep seçimi büyük önem arz etmektedir.

3B biyobasım sürecinde biyomürekkeplerin sahip olması gereken bazı temel özellikler, biyolojik, mekanik, reolojik ve kimyasal özellikler olarak ayrılabilir (Şekil 1.6). Biyolojik olarak, biyoyazım sürecinde seçilen biyomürekkep, dokuların mikroçevrelerini taklit etmeleri amacı doğrultusunda, hücre yapışması ve çoğalmasına elverişli olmalı ve bozunum sürecinde toksik etki oluşturmamalıdır. Mekanik olarak; hedeflenen yapının özelliklerine uygun olacak mekanik mukavemet ve sağlamlığa sahip olması gereklidir. Reolojik olarak, basılabilir olması amacıyla, tercih edilen biyofabrikasyon yöntemine uygun ayarlanabilen jelleşmeyi ve viskoziteyi sağlaması gerekmektedir. Kimyasal olarak ise; hedeflenen yapıya özgü ihtiyaçları karşılamak için gerçekleştirilecek modifikasyonların veya çapraz bağlama yöntemlerinin toksik etki göstermemesi gereklidir [40,41].



Şekil 1.6. *Biyomürekkeplerin temel özellikleri*

3B biyobasım sürecinde bu özellikleri sağlayan biyomürekkepler, genellikle hidrojel olarak tercih edilmektedir. Hidrojeller çok yüksek su tutma kapasitesine sahip, çapraz bağlı polimerik yapılardır. Ayarlanabilir basılabilirlikleri ve genellikle biyoyumlu olmaları sebebiyle 3B biyobasım teknolojisi için oldukça kullanışlı biyomalzemelerdir.

Hidrojel oluşturmak için kullanılan biyomalzemeler 3 ana başlıkta toplanır; doğal polimerler, sentetik polimerler ve hibrit polimerler [42].

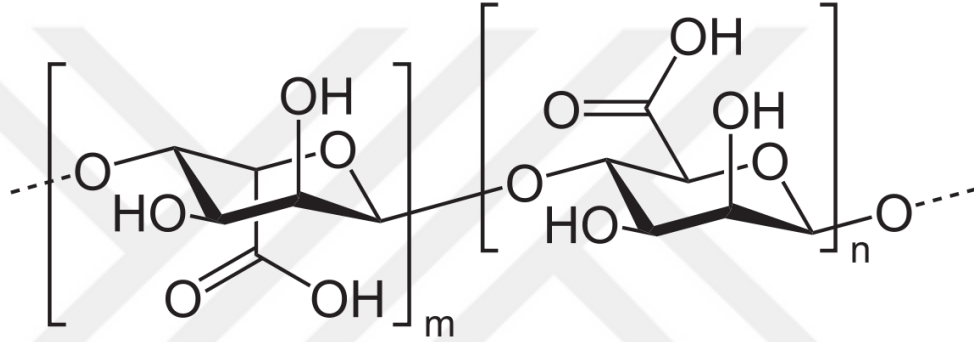
1.3.1. Doğal Polimerler

Doğal polimerler, bitkiler, hayvanlar veya mikroorganizmalar gibi kaynaklardan, fiziksel veya kimyasal yöntemler kullanılarak elde edilen polimerlerdir [43,44]. Bu doğal polimerler arasında protein, ipek ve selüloz bulunur. Doğal polimerler, organik çözücü ya da yüksek sıcaklık gibi işlemlere ihtiyaç duymadıkları için hücre biyoyumluluğuna olanak sağlarlar. Ayrıca; ekstrasellüler matrikse benzer bir ortam sağlamaları ve geliştirilebilir fizikokimyasal özelliklere sahip olmaları sebebiyle 3B biyobasım uygulamalarında oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptirler. Fakat bu biyomalzemelerin mekanik mukavemetinin zayıf olması ve hızlı bozunması gibi

dezavantajları da bulunmaktadır. Jelatin, kolajen, aljinat, kitosan ve selüloz en yaygın kullanılan doğal polimerler arasındadır.

1.3.1.1. Aljinat

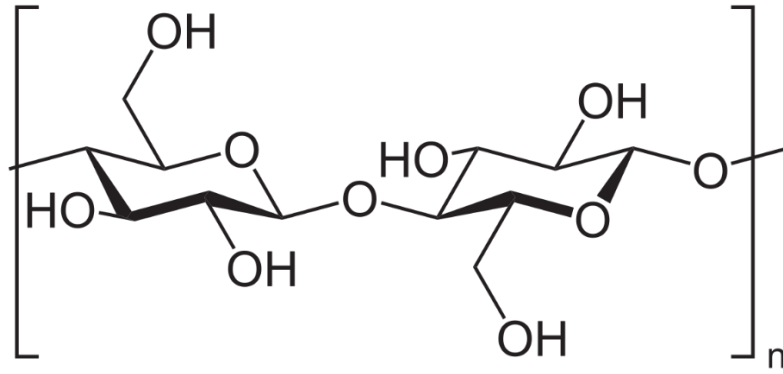
Aljinat (Şekil 1.7), kahverengi alglerin hücre duvarında bulunan, suda çözünebilir, doğal bir anyonik polisakkarittir. Yapısındaki karboksil grupları, kalsiyum, baryum gibi katyonlar ile etkileşime girerek, iyonik olarak çapraz bağlanabilir. Yaygın olarak ilaç salım çalışmaları, yara iyileştirme ve doku mühendisliği alanlarında kullanılmaktadır. Hızlı jelleşme özelliği sayesinde 3B biyobasım çalışmalarında sıklıkla yer bulmaktadır [45].



Şekil 1.7. Aljinik asitin kimyasal yapısı

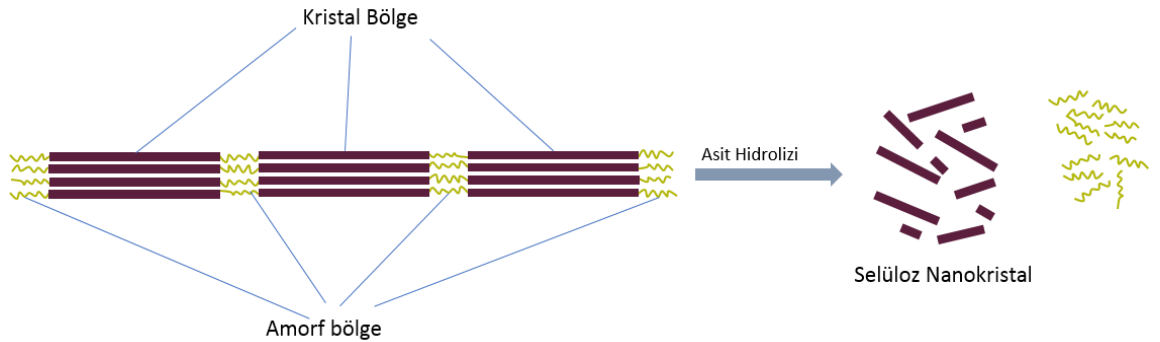
1.3.1.2. Selüloz

Selüloz (Şekil 1.8), toksik olmayan, biyobozunabilir ve doğada en yaygın bulunan bir polisakkarittir. Bitkilerde hücre duvarının ana bileşenini oluşturur. $\beta(1\rightarrow4)$ glikozidik bağları ile bağlı D-glikoz birimlerinden oluşan doğrusal zincir yapıda bir polimerdir. Selüloz zincirleri, hidroksil grupları arasında hidrojen bağı ile birbirine bağlanarak mikrofibril bir yapı oluşturur ve bu mikrofibril yapı amorf ve kristal bölge olarak sıralanmıştır [46].



Şekil 1.8. Selülozun kimyasal yapısı

Selüloz zincirlerinin çeşitli mekanik, enzimatik veya kimyasal işlemlere maruz kaldıktan sonra amorf ve kristal bölgenin birbiriyle ayrılması ile nano boyutta selüloz yapıları ortaya çıkar (Şekil 1.9). CNC'ler asit hidrolizi yöntemi ile amorf bölge ile kristal bölgenin ayrılması ile elde edilir [47]. Son yıllarda, CNC'ler, biyoyoumlu olmaları ve mekanik-fizikokimyasal özelliklerinin sağladığı avantajlar sebebi ile oldukça ilgi gören bir malzeme haline gelmiştir. Biyosensör [48], enzim immobilizasyonu [49], ilaç hedefleme ve kontrollü salımı [50–52], doku mühendisliği [53–55], biyomedikal mühendisliği [56] gibi birçok çalışma alanında kendine yer bulmuştur.



Şekil 1.9. CNC'nin ekstraksiyonu

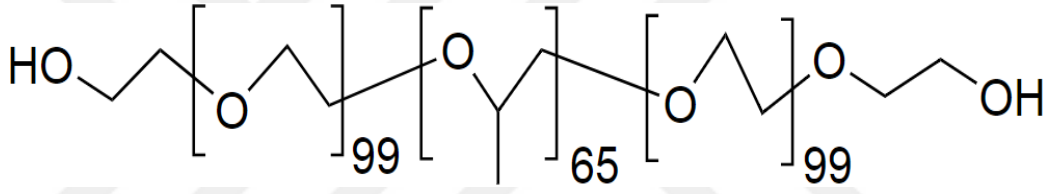
1.3.2. Sentetik Polimerler

Sentetik polimerler, laboratuvar koşullarında, kimyasal reaksiyonlar sonucunda sentezlenen, insan yapımı polimerler olarak tanımlanmaktadır. Doğal polimerlerin aksine mekanik özellikleri oldukça iyidir [57]. Fakat organik çözücüye ihtiyaç duyması, yüksek ısıda işlem görebilmesi gibi özellikleri sebebiyle hücrenin canlılığına zarar verebilir. Bu sebeple 3B biyobasım uygulamalarında kullanım alanı olarak sınırlı

kalmıştır. Bazı polimerler bozunma süreçlerinde toksik etki yaratmazlar. Literatürde bu polimerlerin modifiye edilerek kullanımı yaygınlaşmıştır.

1.3.2.1. Pluronik F-127

Pluronik F-127 (Şekil 1.10) toksik olmayan, Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration (FDA)) onaylı, hidrofilik poli(etilen oksit) ve hidrofobik poli(propilen oksit) (PEG/PPO/PEG) üçlü bloğundan oluşan, ısıya duyarlı bir kopolimerdir [57]. Jelleşme sıcaklığının düşük olması sebebiyle oda sıcaklığında ve vücut sıcaklığında (10-40 °C) viskozitesi sabit olması basılabilirliğini de artırır. Pluronik F-127'nin, 10 °C altında sıvılaşması basım işleminden sonra ortamdan yıkanarak kolayca ayrılmasına olanak sağlar. Bu nedenle 3B biyobasım uygulamalarında kurban (sacrificial) yapı olarak kullanılmaktadır. Fakat mekanik özelliklerini hızlıca kaybetmesi sebebi ile tek başına kullanımı uygun değildir [58].



Şekil 1.10. Pluronik F-127'nin kimyasal yapısı

1.3.3. Hibrit Polimerler

Biyomalzeme seçiminde doğal polimerler yapıya biyoyumluluk sağlasa da mekanik özelliklerinin kötü olması sebebiyle sağlıklı bir 3B yapı oluşturmaya uygun değildirler. Bunun yanında sentetik polimerlerin ise biyoyumlu olmamaları ve yüksek sıcaklık, yüksek basınç gerektirmeleri, biyomürekkep olarak tek başına kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Bu sebeple biyoyumluluğu sağlayacak doğal bir polimer ile yapısal mukavemeti sağlayacak sentetik bir polimerin karıştırılması sıklıkla kullanılan bir yöntem haline gelmiştir [42].

1.4. İletken Polimerler

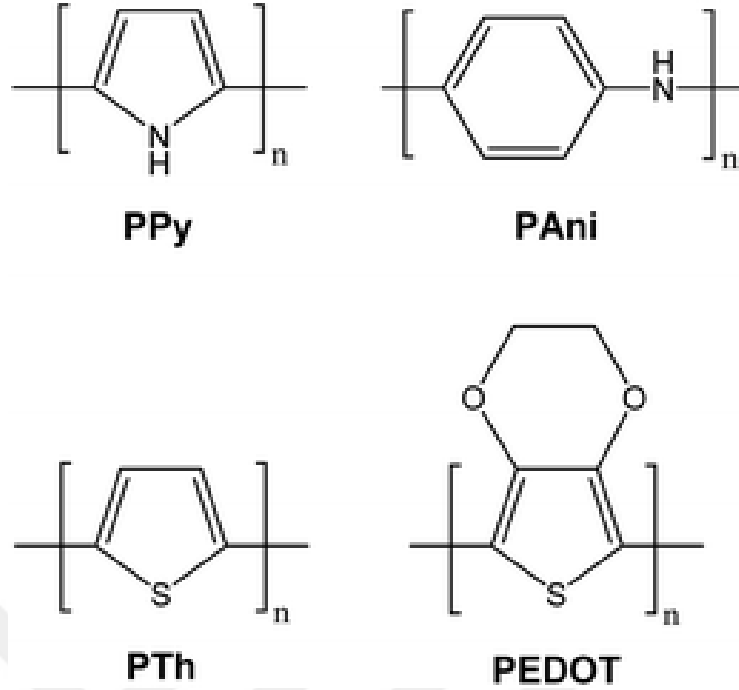
İletkenlik, bir malzemenin elektriksel akımı geçirme yeteneğini ifade etmektedir. Bir malzeme elektrik alana maruz bırakıldığında pozitif yükler uygulanan elektrik alan yönünde ilerlerken, negatif yükler tersi yönünde hareket etmektedir. İyonların bu akışkanlığı elektriksel iletkenliği meydana getirmektedir. Elektriksel iletkenliğin birimi Siemens/metre (Sm^{-1})'dir. Elektriksel iletkenliği 10^{-8} Scm^{-1} 'den küçük olan malzemeler yalıtkan olarak kabul edilmektedir [59].

İletken polimerler, yarı iletkenler ve metallere benzer şekilde elektriği ileten polimerlerdir. Basit ve uygun maliyetli polimerizasyon teknikleri ile sentezlenebilirler. Bu polimerlerin kolay kimyasal modifikasyonu, mekanik yumuşaklığı, porozitesi sayesinde biyomühendislik, biyosensör uygulamaları ve doku mühendisliği gibi alanlarda kullanımı yaygınlaşmıştır [60].

İletken polimerler, elektriği iletme özelliklerini, elektronların polimer zinciri üzerinde hareket ederek yük iletmesinden alırlar. Polimer zinciri bir dizi tekli ve çiftli bağdan oluşan konjuge bir yapıdadır. Her bağ kimyasal olarak kuvvetli olan σ -bağı içerirken çiftli bağlar aynı zamanda daha zayıf lokalize olmuş π -bağı içerir. Polimerizasyon sürecinde bu π -bağlarındaki p-orbitallerinin üst üste gelmesi, elektronların atomlar arasında kolayca hareket edebilmesini sağlamaktadır. Fakat bu konjugasyon iletkenliği sağlamak için yeterli değildir. Bu sebeple, genellikle anyonlar veya yüklü yan gruplar içeren ve dopant olarak adlandırılan malzemeler kullanılarak iletkenlik artırılabilir. Dopant malzemelerin amacı iletken polimer zincirine yeni bir yük taşıyıcı sokarak, elektron kopmasını veya eklenmesini sağlamak ve bu sayede elektron boşlukları oluşturmaktır. Böylece bu elektron boşluklarında, polimer zinciri boyunca, sürekli olarak elektron transferi sağlanmaktadır [61].

1977 yılında H. Shirakawa ve arkadaşlarının poliasetilenin yüksek iletkenliğini keşfi [62] ve bu çalışmaları ile 2000 yılında Nobel ödülü almaları, iletken polimerlere olan ilginin artmasına yardımcı olmuştur. Son yıllarda ise polianilin (PANI), politiyofen (PTh), polipirol (PPy) ve poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT) en sık kullanılan iletken polimerler arasında yer almaktadır (Şekil 1.11) [61].

İletken polimerler, kendilerine özgü elektriksel ve mekanik özellikleri ve geliştirilebilir biyoyumlulukları sayesinde, rejeneratif tıp, biyosensör uygulamaları, kontrollü ilaç salımı, biyomedikal uygulamaları gibi alanlarda oldukça yenilikçi yaklaşımlara sebep olmuşlardır (Tablo 1.1). Çeşitli çalışmalar, iletken polimerlerin, elektriksel olarak aktif doku iskeleleri olarak kullanılmasının, adhezyon, büyüme gibi hücre davranışlarının düzenlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir [63].



Şekil 1.11. En yaygın kullanılan iletken polimerler ve kimyasal yapıları

Tablo 1.1. İletken polimerlerin uygulama alanları

Polimerler	Uygulama Alanları
Poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT)	Biyosensör [64], biyoelektrot [65], doku mühendisliği [66,67]
Polipirol (PPy)	Sinir yenilenmesi [68], biyosensör [69], hücre çalışmaları [70]
Polianilin (PANI)	Biyosensör [71], sinir yenilenmesi [72,73], ilaç hedefleme [74]
Politiyofen (PTh)	Doku mühendisliği [75,76], biyosensör [77,78]

1.4.1. PEDOT ve Türevleri

Bir politiyofen türevi olan PEDOT ilk olarak, 1980'lerin sonlarında Almanya'daki Bayer AG araştırma laboratuvarı tarafından geliştirilmiştir [79]. 3,4-Etilendioksitiyofen (EDOT) monomerinin kimyasal oksidatif veya elektrokimyasal polimerizasyonu ile sentezlenen, π -konjuge iletken polimerlerden bir tanesidir.

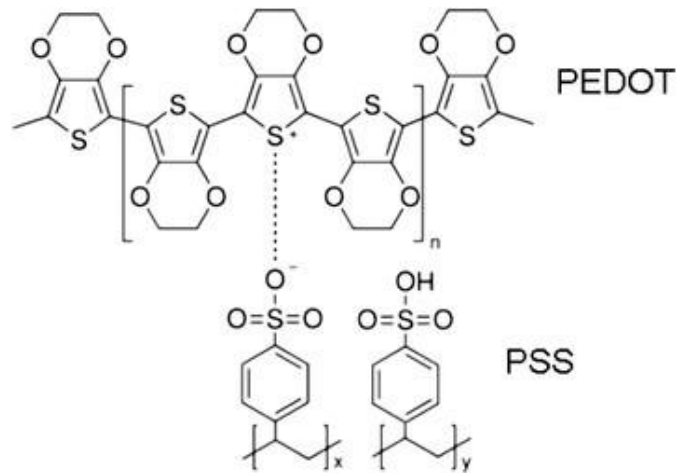
- Elektrokimyasal polimerizasyonda karşı elektrot, referans elektrot ve çalışma elektrodu olmak üzere 3 elektrot kullanılır. Polimerizasyon işlemi sırasında EDOT monomerleri polimerleşerek çalışma elektrodu üzerinde birikmektedir. Çalışma elektrodu olarak genellikle platin, karbon veya

indiyum kalay oksit (ITO) kullanılır. Bu yöntemin, az miktarda monomer kullanılabilmesi ve kısa reaksiyon süresi gibi avantajları olmasına rağmen iletken bir çalışma elektrodu gerekliliği kullanım alanlarını kısıtlamaktadır.

- Kimyasal oksidatif polimerizasyon; EDOT monomerinin, genellikle, amonyum persülfat veya demir (III) klorür gibi okside edici ajanlar tarafından oksitlenmesi ile meydana gelen polimerizasyon yöntemidir. Hem yüksek verimde PEDOT elde edilebilmesi hem de özel bir ekipman gerektirmemesi sebebiyle daha çok tercih edilmektedir [80].

PEDOT, kolay sentez yöntemleri ve geniş yüzey alanı, yüksek iletkenlik, kimyasal kararlılık ve biyoyumluluğu gibi özellikleri sayesinde süperkapasitörler, güneş pilleri, biyosensörler gibi çok çeşitli araştırma alanlarında tercih edilmektedirler [81–83].

PEDOT temelli iletken polimerler arasında PEDOT:PSS sıklıkla araştırılan başka bir polimerdir (Şekil 1.12). Dopant olarak polianyonik PSS'deki hidrofilik $-SO_3H$ grupları kullanılır. EDOT'un oksidatif polimerizasyonunda reaksiyon ortamına, PSS'nin eklenmesi ile PEDOT:PSS sentezlenir. Bu şekilde PEDOT zincirinin PSS ile çevrelendiği polimerik kompleks oluşur [10]. PEDOT temelli polimerler arasında PEDOT:PSS, suda iyi dispers olması, daha kararlı ve daha iyi iletken olması, film oluşturma özelliğine sahip olması gibi avantajları sayesinde, biyoelektroniklerden doku mühendisliğine kadar kendine birçok uygulama alanı bulmuştur [84–90].

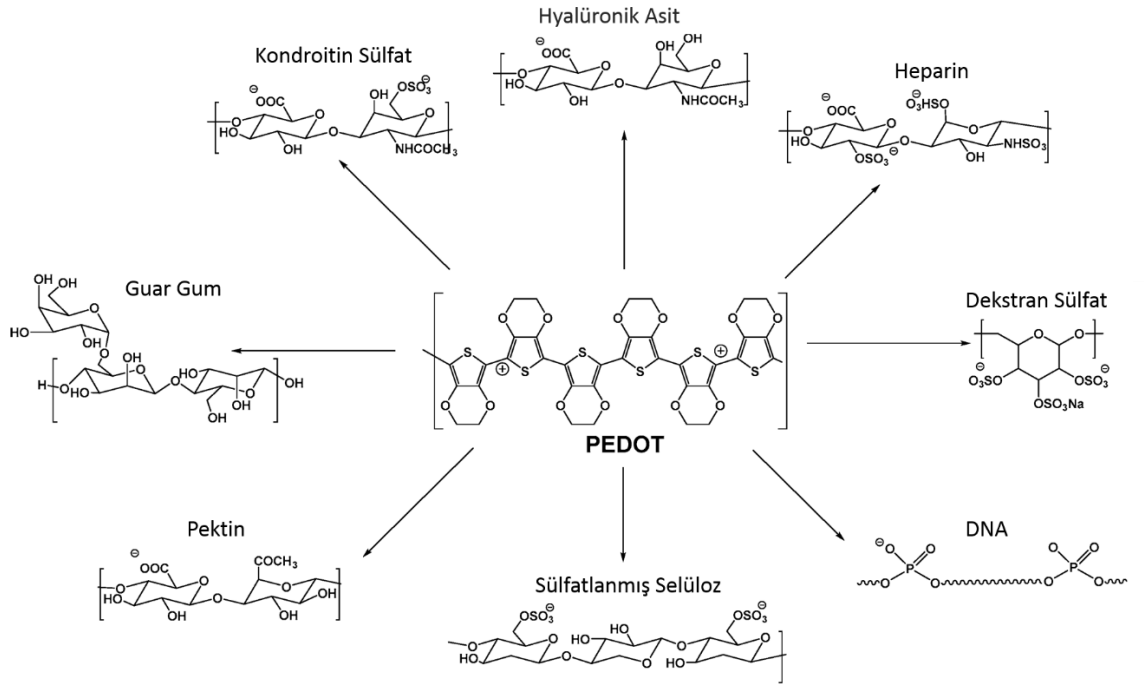


Şekil 1.12. PEDOT:PSS'nin kimyasal yapısı

Konjuge iletken polimerler, biyoloji ve elektroniği bir araya getirmesi sebebiyle doku mühendisliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Ticari olarak temin edilebilen bir polimer olan PEDOT:PSS de bu alandaki çeşitli biyoelektronik çalışmalarında büyük potansiyel göstermiş olsa da sınırlı biyouyumluluğu kullanımının sınırlandırılmasına sebep olmaktadır.

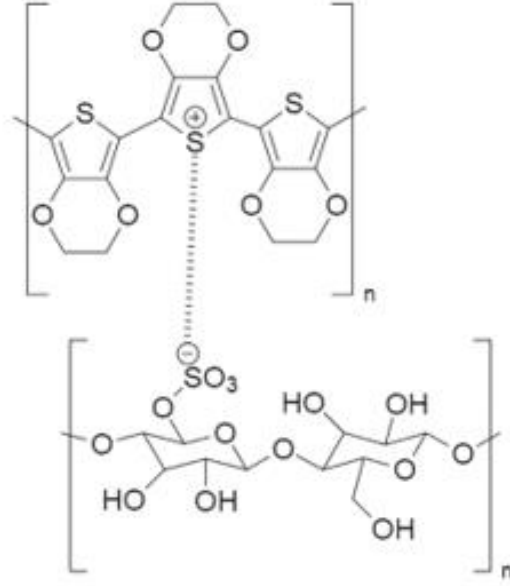
1.4.1.1. PEDOT:Biyo-polimer Türevleri

PEDOT:PSS, epitel hücre, fibroblast hücre, sinir hücresi gibi çeşitli hücre tipleri ile uygulamalarda yer bulmuştur [5,91–93]. Her ne kadar başarılı sonuçlar göstermiş olsa da uzun vadede PEDOT zincirlerinin bozunması ile aktivite kaybı ve PSS'nin bozunması ile asidik yan ürünlerin ortaya çıkması sorun teşkil etmeye devam etmektedir. PEDOT'un iletkenliğini artırmanın ve sitotoksitesini azaltmanın bir yolunun, dopant olarak biyomoleküllerin kullanılması olduğu kanıtlanmıştır. PEDOT:PSS ile kıyaslandığı zaman, PEDOT:biyo-polimer dispersiyonunun hücre yapışmasını ve çoğalmasını arttırdığı görülmüştür. Genellikle PEDOT:biyo-polimer dispersiyonu, EDOT'un oksidatif polimerizasyonunun bir biyo-polimer varlığında gerçekleşmesi ile sentezlenir. Şekil 1.13'de kullanılan biyo-polimer örnekleri gösterilmiştir [94–100].



Şekil 1.13. Literatürdeki PEDOT:biyo-polimer çalışmaları [101]

Bu çalışma kapsamında dopant olarak CNC biyopolimer olarak seçilmiş ve PEDOT:CNC kompleksi olarak sentezlenmiştir (Şekil 1.14).



Şekil 1.14. PEDOT:CNC'nin kimyasal yapısı

1.5. İletken Hidrojeller

Hidrojeller, polimerik zincirlerin çapraz bağlanarak oluşturduğu, yüksek su tutma kapasitesine sahip yapılardır. Hidrojellerin yüksek su tutma kapasiteleri sayesinde, kimyasal ve biyolojik unsurların kolayca taşınmasına olanak sağlaması, ekstrasellüler matriks benzeri bir ortam yaratmaktadır [102]. Doku rejenerasyonu sürecinde, biyokimyasal sinyaller, mekanik sinyaller, elektrik sinyalleri gibi çeşitli fizyolojik sinyaller dokunun işlevini yeniden kazanması için önemli rol oynamaktadır. İnsan vücudu tarafından üretilen 'biyoelektrik', kök hücrelerin hasarlı bölgeye göç etmesine ve orada farklılaşmalarına yol açabilir. Doku hasarı sırasında genellikle bu biyoelektrik sistem de hasar gördüğünden hücreler arası elektrik sinyallerinin iletiminde değişim meydana gelir. Dışarıdan bir elektrik sinyali ile müdahale edildiği zaman kök hücrelerin yeniden hasarlı bölgeye göç etmesine ve orada farklılaşmasına, dolayısıyla dokunun onarılmasına olanak sağlanabilir. Bu nedenle, bu elektriksel olarak aktif mikro ortamı taklit edebilecek iletken malzemelerin, doku iskelesi tasarımlarında kullanılması büyük önem taşımaktadır [103–105].

İletken hidrojeller, iletken polimerlerin elektriksel özellikleri ile hidrojellerin mekanik, kimyasal ve biyolojik özelliklerini bir araya getirmesi sebebiyle doku mühendisliğinde doku iskelesi olarak kullanılabilir. İletken hidrojellerden elde edilen

doku iskeleleri, sadece hasarlı dokuya mekanik destek sağlamakla kalmaz aynı zamanda hücreler arası sinyal iletimini tekrar kurarak doku rejenerasyonunu destekler. Ayrıca bu özellikleri ile iletken hidrojeller birçok farklı çalışma alanında kendine yer bulmuştur [106–109] (Şekil 1.15).



Şekil 1.15. İletken hidrojellerin kullanıldığı alanlar

1994 yılında Langer ve Inber yaptıkları çalışmada, PPy temelli iletken bir filmin üzerine memeli hücreleri ekerek iletken polimerler ile hücre etkileşimini doğrulamışlardır [110]. Daha sonra Williams ve Doherty çalışmalarında PPy temelli bir sinir kılıfı üreterek iletken polimerlerin doku iskeleleri olarak kullanılabilirliklerini göstermişlerdir [111]. Son 10 yılda literatürde yer alan çalışmalar, iskelet kası [112], kalp kası [113], kemik [114], sinir [115] gibi dokuların in vitro doku iskeleleri üzerine yoğunlaşmış ve bu alanda önemli gelişmeler kaydedilmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan CNC'nin sentezinde kullanılan pamuk ticari olarak elde edilmiştir. Sentez aşamasında kullanılan sülfürik asit (H_2SO_4), sodyum hidroksit ($NaOH$), hidrojen peroksit (H_2O_2) Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır.

PEDOT:CNC sentezinde kullanılan EDOT, amonyum persülfat (APS), demir (III) klorür ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır.

Sentezlenen PEDOT:CNC'nin karakterizasyonu Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FT-IR) (Perkin Elmer Spectrum 100), Ultraviyole-Görünür Bölge Spektroskopisi (UV-Vis) (Shimadzu uV-3150), zeta boyut ve potansiyeli (Malvern Instruments, Nano ZS Model ZEN3600) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İletkenlik ölçümlerinde Thermo Scientific Orion 145A+ kondüktometre kullanılmıştır.

Biyomürekkep yapımında kullanılan jelatin Santa Cruz Biotechnology'den, sodyum aljinat Alfa Aesar'dan, Pluronic F-127 Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır. Elde edilen yapıların çapraz bağlanması için kullanılan kalsiyum klorür ($CaCl_2$) Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır.

3B yapıların üretiminde 3B biyoyazıcı olarak EnvisionTEC 3D-Bioplotter® Developer Series, 4. nesil kullanılmıştır. Üretilen 3B yapıların karakterizasyonunda ZEISS Ultraplus SEM cihazı ve Leica Microsystems MZ6 optik mikroskop kullanılmıştır.

2.2. CNC ve PEDOT:CNC Sentezi

2.2.1. CNC Sentezi

CNC, asit hidrolizi yöntemi ile sentezlenmiştir. Öncelikle, 2 g ticari pamuk saf su ile yıkanmış ve bir gece kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra 50 °C'de 90 dakika %20'lik NaOH çözeltisi ile merserizasyon işlemine tabi tutulmuş ve saf su ile yıkanarak pH nötral seviyeye getirilmiştir. Bir gece kurutma yapıldıktan sonra pH'ı 11,5 olarak ayarlanan %5'lik (v/v) H_2O_2 çözeltisi ile 3 saat 50 °C'de ağartma işlemi gerçekleştirilmiştir. pH, saf su ile nötral hale getirilip, tekrar bir gece kurutma işlemi yapılmış ve sonra asit hidrolizi basamağına geçilmiştir. Hidroliz işlemi 50 °C'de 5 saat 1:1 (v/v) oranında $H_2SO_4:dH_2O$ asidik çözeltisi içerisinde sürekli karıştırılarak gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, CNC çözeltisi nötr pH'a ulaşana kadar, 3500 kDa

snake skin diyaliz tüpü kullanılarak, deiyonize suya karşılık diyaliz işlemi gerçekleştirilmiştir. Final çözelti 5000 rpm'de 10 dakika 5 kere santrifüj edilmiş ve kurutulmuştur. Elde edilen numuneye kullanımdan önce 5 dakika %50 güç ile ultrasonikasyon (Bandelin Sonopuls UW 2070) uygulanmıştır [116–118].

2.2.2. PEDOT:CNC Sentezi

PEDOT:CNC oksidatif polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir. 2,11 mmol EDOT monomeri 5 mL dH₂O ile 2 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. EDOT çözeltisine ayrı ayrı 100 mg 5 mL⁻¹, 300 mg 5 mL⁻¹ ve 500 mg 5 mL⁻¹ CNC çözeltileri eklenmiştir. Daha sonra 3 mmol APS ve katalizör miktarı kadar FeCl₃.6H₂O eklenmiştir. Reaksiyon oda sıcaklığında 24 saat devam ettirilmiştir. Daha sonra farklı CNC oranları içeren PEDOT:CNC'ler -80 °C'de dondurulduktan sonra liyofilize edilerek kurutulmuştur. PEDOT:CNC'ler her kullanımdan önce ultrasonik banyoda sonikasyon işlemine tabi tutulmuşlardır [119].

2.3. CNC ve PEDOT:CNC Karakterizasyonu

Sentezlenen CNC ve PEDOT:CNC'nin fonksiyonel gruplarının analizi için FT-IR kullanılmıştır. Numuneler toz haline getirilerek KBr ile karıştırılmış ve basınç kullanılarak pelet haline getirilmiştir. Hazırlanan pelet, cihaza yerleştirildikten sonra 400-4000 cm⁻¹ aralığında ölçüm alınmıştır.

CNC ve PEDOT:CNC'nin moleküler yapılarının analizi için, UV-Vis spektrofotometresi kullanılmıştır. Numunelerin %2'lik (w/v) sulu çözeltileri hazırlanmış ve ultrasonikasyon uygulanmıştır. Hazırlanan numuneler kuvars küvetlere doldurulmuş ve 180-800 nm aralığında UV-Vis analizi gerçekleştirilmiştir.

PEDOT:CNC'nin zeta boyut ve potansiyeli analizi zeta potansiyeli ölçüm cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen PEDOT:CNC'nin %0,1'lik (w/v) çözeltisi saf su ile hazırlanmış ve ultrasonikasyon uygulanmıştır. Hazırlanan numuneler parçacık boyutu ölçümü için kuvars küvete, zeta potansiyeli ölçümü için kapiler küvete doldurulmuştur.

Sentezlenen CNC ve PEDOT:CNC'nin morfolojik yapısı SEM kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz öncesi numuneler kurutulmuş ve 1 dakika boyunca 50 mA akım uygulanarak altın ile kaplanmıştır. Daha sonra numuneler cihaza yerleştirilmiş, SE2 dedektörü ile 30000X ve 40000X büyütme ölçeklerinde, 7 kV gerilim uygulanarak incelenmiştir.

2.4. Biyomalzemelerin Hazırlanması ve 3B Biyobasım

2.4.1. Biyomalzemelerin Hazırlanması

Pluronic F-127 %40 (w/v) derişimde stok çözelti olacak şekilde, 0 °C'de 3 saat karıştırılarak hazırlanmıştır. Sodyum aljinat çözeltisi %3, %5 ve %8 (w/v) olacak şekilde 60 °C'de 3 saat karıştırılarak hazırlanmıştır. Daha sonra Pluronic F-127'nin final derişimi %15, %20 ve %30 olacak şekilde stok çözeltiden alınmış ve sodyum aljinat çözeltileri ile önce oda sıcaklığında homojenite sağlanana kadar, ardından 0 °C'de 3 saat karıştırılmıştır. Hazırlanan her biyomalzemeye 10 mgmL⁻¹ derişimde olacak şekilde PEDOT:CNC eklenmiş ve 1 saat karıştırılmıştır.

2.4.2. Biyomalzemelerin 3B Biyobasımı

Tablo 2.1.'de verilen parametreler, %8 (w/v) aljinat, %20 (w/v) Pluronic F-127 içeren biyomürekkep ve %8 (w/v) aljinat, %15 (w/v) Pluronic F-127 içeren biyomürekkep üzerinde denenmiştir. Optimum değerler seçildikten sonra 3B doku iskelesi (scaffold) yapıları basılmış ve elde edilen yapılar %2'lik (w/v) CaCl₂ ile çapraz bağlanmıştır.

Tablo 2.1. 3B biyobasım parametreleri

Parametre	Değer
İğne Ucu	22G-25G
Sıcaklık	16-27 °C
Basınç	0,5-1,5 bar
Basım Hızı	9 mm/s

2.4.3. Karakterizasyon ve Biyoyumluluk Çalışmaları

2.4.3.1. 3B yapıların karakterizasyonu

Sentezlenen PEDOT:CNC ile üretilen 3B yapıların morfolojik özellikleri SEM kullanılarak karakterize edilmiştir. Analiz öncesi, hazırlanan numuneler 1 dakika boyunca 50 mA akım altında altın ile kaplanmıştır. Hazırlanan numuneler farklı büyütme ölçeklerinde incelemeye alınmıştır.

Şişme testi kapsamında, hazırlanan numunenin önce kuru ağırlığı belirlenmiştir. 24 saat su içerisinde yapının şişmesi sağlandıktan sonra tekrar tartım işlemi yapılmıştır. Aşağıda verilen denklem kullanılarak yapının şişme derecesi hesaplanmıştır. Denklemde Ws yapının şişmiş ağırlığını, Wd ise yapının kuru ağırlığını ifade etmektedir.

$$\text{Şişme Derecesi (\%)} = \frac{Ws - Wd}{Wd} \times 100$$

Biyobozunurluk testleri kapsamında, hazırlanan 3B yapılar liyofilizatörde dondurularak kurutulduktan sonra tartılmıştır. Daha sonra numuneler, 10 mL fosfat tamponu içerisinde (pH:7,4) 37 °C'de inkübe edilmiştir. Önceden belirlenen zaman periyotlarında, tampon çözelti içerisinde alınıp tekrar liyofilizatörde dondurularak kurutulan numuneler tartılmıştır. Aşağıda verilen denklem ile yapının yüzde kütle kaybı belirlenmiştir. Denklemde W_0 yapının ilk kuru ağırlığını, W_1 ise yapının bozunmadan sonraki ağırlığını ifade etmektedir.

$$\text{Kütle Kaybı (\%)} = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100$$

3B yapılarda çapraz bağlanmanın etkisini görmek adına numuneler 3 gün boyunca pH:7,2 fosfat tamponu içerisinde bırakılmış ve bu süre içerisindeki yapısal değişiklikleri gözlemlenmiştir.

2.4.3.2. İletkenlik çalışmaları

İletkenlik ölçümleri kondüktometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PEDOT:PSS, PEDOT:100CNC, PEDOT:300CNC ve PEDOT:500CNC'nin 20 mL'lik çözeltileri ile yapılan ölçümlerde artan CNC oranının iletkenliğe olan etkisi incelenmiş ve PEDOT:PSS ile kıyaslanmıştır. Daha sonra Pluronik/Aljinat/PEDOT:CNC ile ölçüm alınarak biyomürekkep içerisindeki iletkenlik ile karşılaştırılmıştır.

3. SONUÇLAR

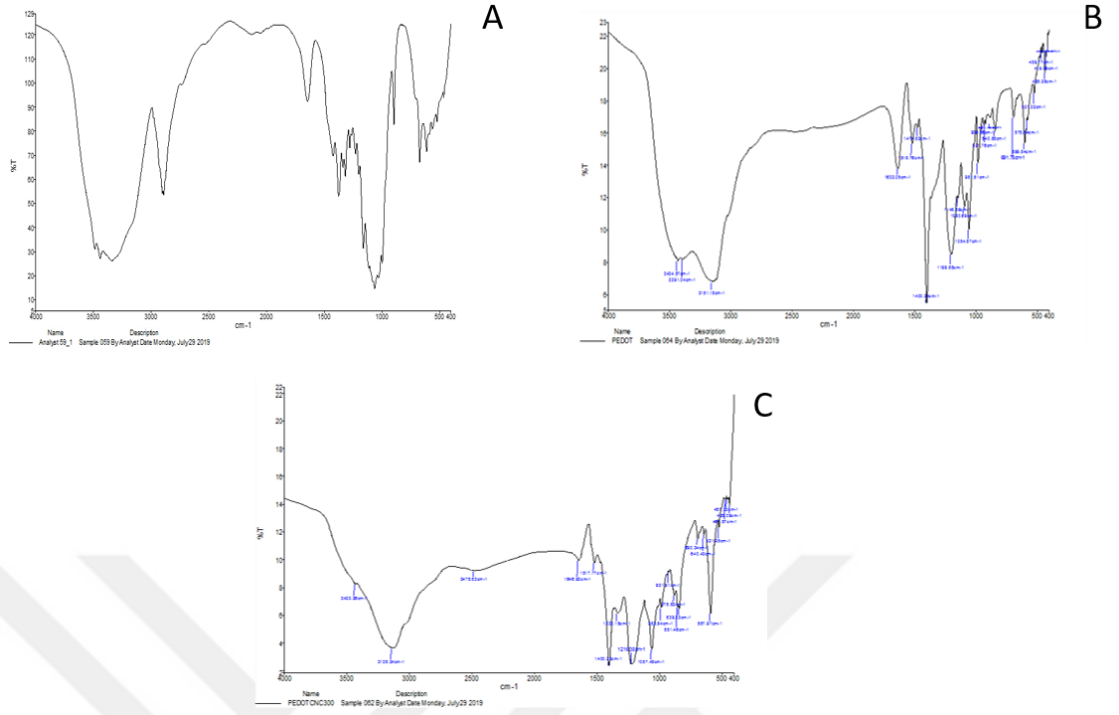
3.1. CNC ve PEDOT:CNC Karakterizasyonu

3.1.1. FT-IR Analizi

Sentezlenen CNC'nin ve PEDOT:CNC'nin fonksiyonel gruplarının analizi FT-IR kullanılarak gerçekleştirilmiştir. CNC'nin yapısındaki O-H gerilmesi ve C-H gerilmesine ait bantlar sırasıyla 3339 cm^{-1} ve 2900 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. 1160 cm^{-1} 'de görülen pikin CNC'nin ana karakteristik bandı olan S=O grubuna ait olduğu belirlenmiştir. Ayrıca 894 cm^{-1} 'de görülen S-O gerilmesinin yapıdaki sülfat gruplarına ait olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1. A).

PEDOT:CNC ile kıyaslama yapılması için PEDOT'un karakterizasyonu FT-IR ile gerçekleştirilmiştir. 1532 cm^{-1} ve 1400 cm^{-1} 'de gözlenen pikler sırasıyla C=C ve C-C gerilme bantlarına aittir. C-O-C bükülme titreşimine ait pikler 1199 cm^{-1} ve 1054 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. 981 cm^{-1} , 840 cm^{-1} ve 691 cm^{-1} 'de görülen piklerin tiyofen halkasında bulunan C-S-C bağının gerilme bantları olduğu saptanmıştır (Şekil 3.1 B).

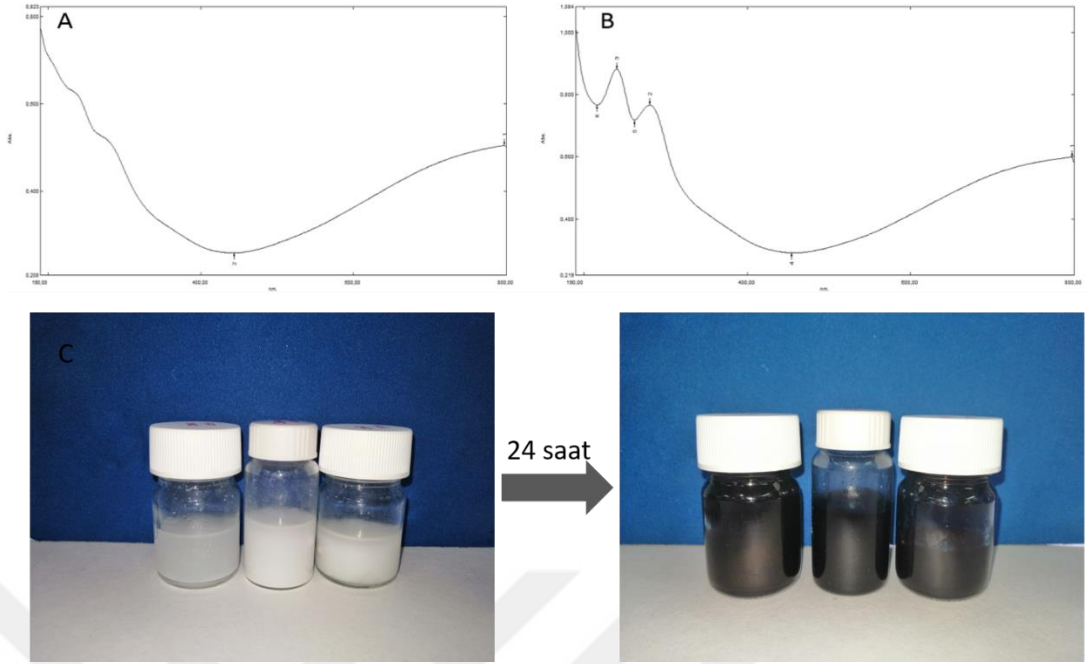
PEDOT ve CNC'ye ait olan tüm karakteristik pikler PEDOT:CNC'ye ait FT-IR spektrumunda da gözlenmektedir. PEDOT ile CNC arasındaki kimyasal bağlar sebebiyle pik yerlerinde kaymalar tespit edilmiştir (Şekil 3.1 C). PEDOT'tan kaynaklanan tiyofen halkasının pikleri 921 cm^{-1} , 831 cm^{-1} ve 630 cm^{-1} 'de, CNC'den kaynaklanan S=O grubunun piki 1057 cm^{-1} 'de gözlenmiştir.



Şekil 3.1. FT-IR spektrumları A) CNC, B) PEDOT, C) PEDOT:CNC

3.1.2. UV-Vis Analizi

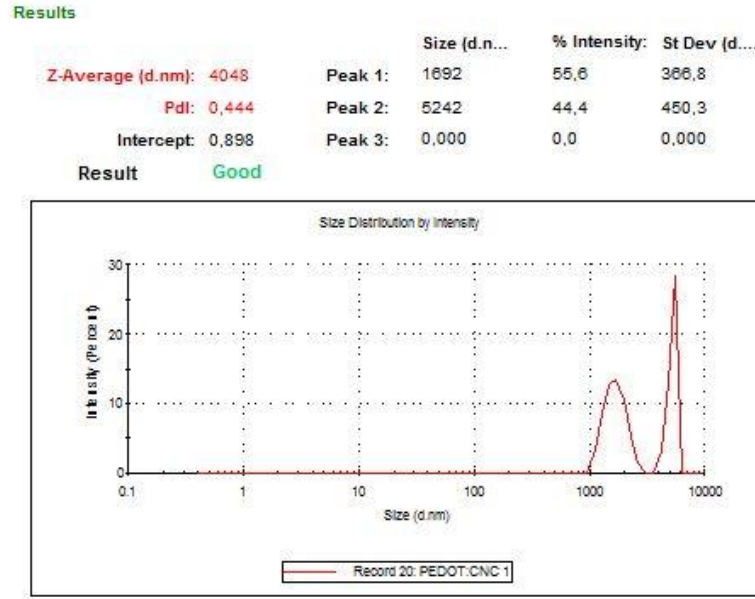
PEDOT:CNC'nin spektrofotometrik karakterizasyonu UV-Vis spektrumları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PEDOT'un karakteristik $\pi \rightarrow \pi^*$ absorpsiyon bandı 500 nm civarında görülmektedir. Bunun yanında dopant kullanılmış PEDOT'un polaron ve bipolaron absorpsiyon bandınının 800 ve 1300 nm'de bulunduğu bilinmektedir [94,95]. Yapılan analizde, yaklaşık 210 nm ve 320 nm'de görülen piklerin, CNC'nin elektron donörü gruplarından kaynaklanan pikler olduğu belirlenmiştir. Elde edilen PEDOT:CNC spektrumunda absorbansın daha yüksek olması yapının iletkenliğinin bir işareti olarak kabul edilebilir. Aynı zamanda karakteristik PEDOT pikinin görülmesi PEDOT'un oksidatif polimerizasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini ifade etmektedir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. A) %2 (w/v) derişimdeki PEDOT'un UV-Vis spektrumu, B) %2 (w/v) derişimdeki PEDOT:CNC'nin UV-Vis Spektrumu C)Oksidatif polimerizasyon sonrasında reaksiyondaki renk değişimi

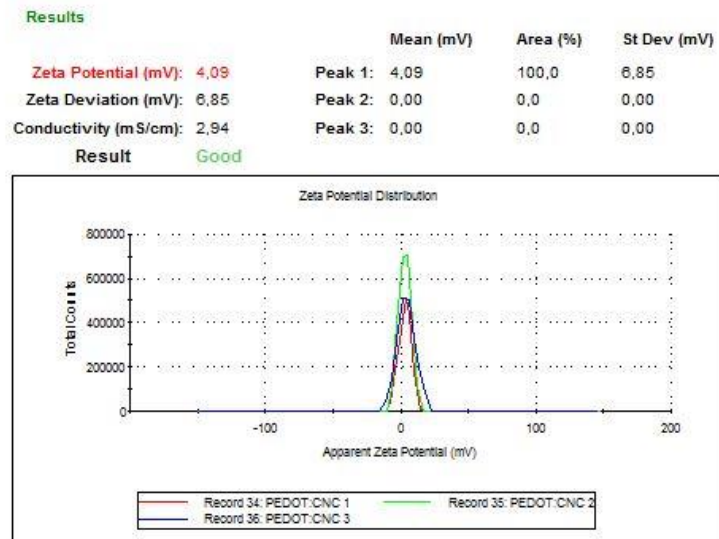
3.1.3. Zeta Boyut ve Potansiyel Analizi

PEDOT:CNC %0,1'lik (w/v) derişimde, ultrasonikasyon işlemi ile dispers edildikten sonra, Zetasizer cihazında boyut analizi ve potansiyel analizi yapılmıştır. Şekil 3.3.'te görüldüğü üzere ortalama boyut (z-average) 4048 nm olarak ölçülmüştür. pDI değeri ise 0,444 olarak belirlenmiştir. Boyutların büyük olmasının sebebi, PEDOT:CNC nano parçacıklarının agregasyon sebebi ile bir araya gelmelerinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 3.3. %0,1 (w/v) derişimdeki PEDOT:CNC'nin zeta boyut analizi

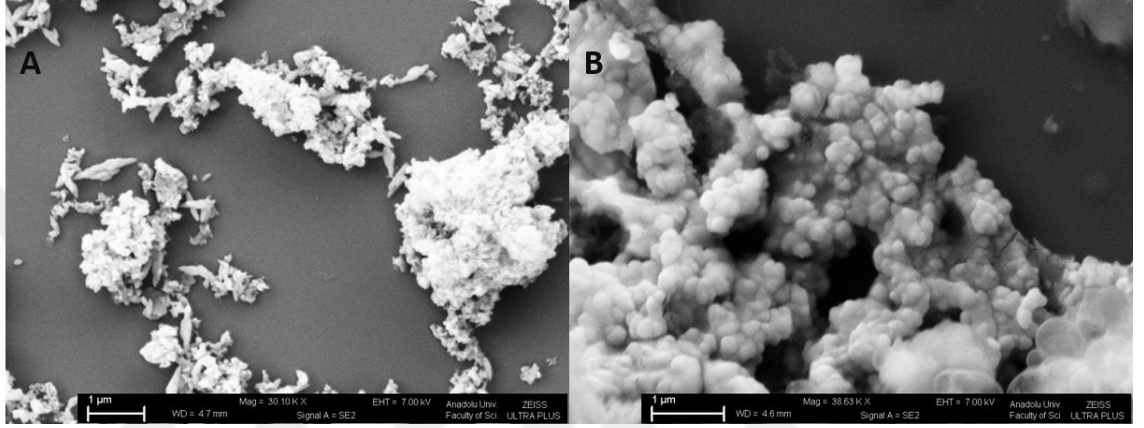
Zeta potansiyeli, dispersiyon ortamındaki nano parçacıkların, yüzeyindeki net yükü ve stabilitesi hakkında bilgi vermektedir. +30 mV'dan yüksek veya -30 mV'dan düşük zeta potansiyeli sistemin kararlı olduğunu göstermektedir. Şekil 3.4'te PEDOT:CNC'nin zeta potansiyeli 100 tekrarlı 3 analiz sonucunda 4,09 mV olarak ölçülmüştür. Bu sonuç dispersiyonun agregasyona ve çökmeye meyilli olduğunu, bu yüzden de kararsız olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 3.4. %0,1 (w/v) derişimdeki PEDOT:CNC'nin zeta potansiyeli analizi

3.1.4. SEM Analizi

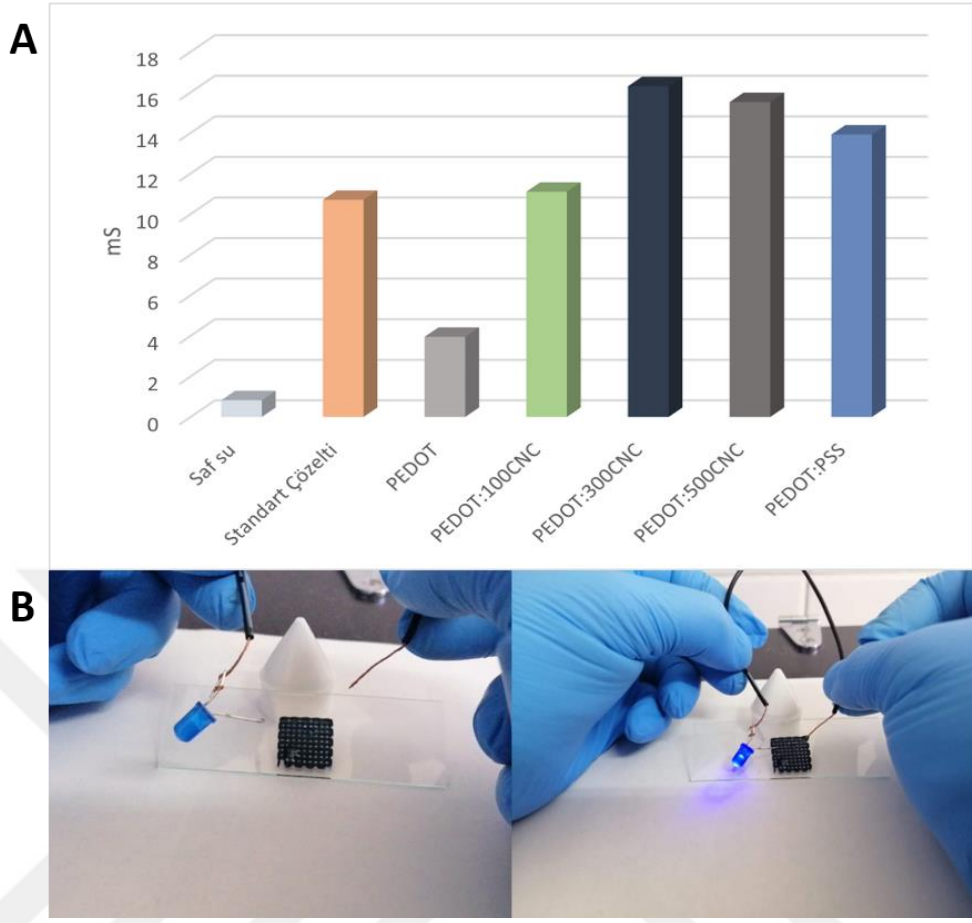
Sentezlenen CNC ve PEDOT:CNC'nin kristalin yapısı ve yüzey morfolojisi SEM ile karakterize edilmiştir. Şekil 3.5.A'da görüleceği üzere selüloz nanokristalleri nano boyutta iğne benzeri yapılara sahiptir. Agredasyon problemi, numunenin analiz öncesinde yeterince ultrasonikasyon işlemine tabi tutulmamasından kaynaklanmaktadır. Şekil 3.5.B'de CNC'lerin PEDOT tarafından sarılmasıyla, PEDOT:CNC nano boyutta partiküller olarak görülmektedir.



Şekil 3.5. SEM mikrografları A) CNC B) PEDOT:CNC

3.1.5. İletkenlik Ölçümleri

İletkenlik çalışmaları farklı CNC oranları içeren PEDOT:CNC üzerinde gerçekleştirilmiş ve ticari olarak alınan PEDOT:PSS ile karşılaştırılmıştır. Analizlerin sonucunda 300 mg CNC ile sentezlenen PEDOT:CNC'nin iletkenliğinin 16,30 mS ile en yüksek iletkenliğe sahip olduğu görülmüştür. CNC oranının artmasının iletkenliğe katkı sağlamamasının sebebi PEDOT'un yeterli dopant doygunluğuna ulaşmış olması ve fazla dopant molekülün yapıdan ayrılması olarak değerlendirilmiştir. PEDOT:PSS'nin iletkenliği 13,86 mS olarak ölçülmüştür ve yapılan karşılaştırmada PEDOT:300CNC'nin daha yüksek iletkenliğe sahip olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.6).



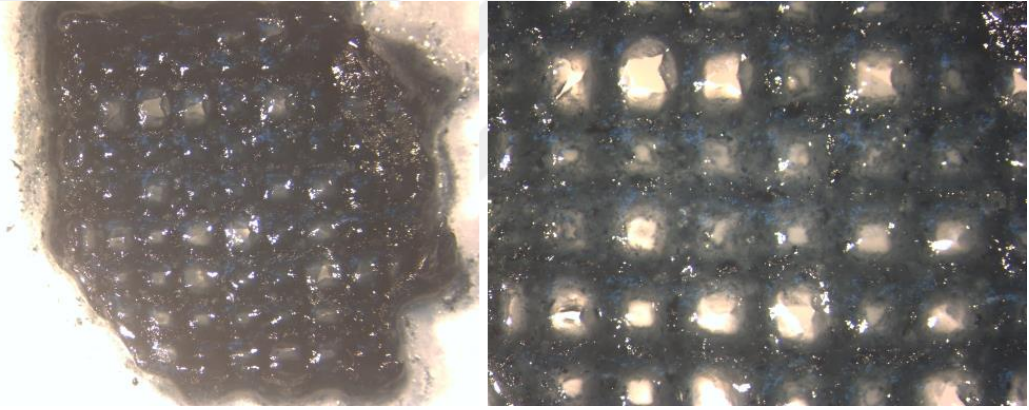
Şekil 3.6. A) İletkenlik grafiği B) 3B doku iskelesinin iletkenliğinin LED lamba ile gösterilmesi

3.2. Biyomalzeme Karakterizasyonu ve 3B Biyobasım Uygulaması

Tablo 3.1., farklı Pluronik F-127 ve Aljinat derişimlerinin, basılabilirliğe ve elde edilen iskele yapısına olan etkisini göstermektedir. %8 sodyum Aljinat (w/v) ve %20 Pluronik F-127 (w/v) içeren karışım üzerinde çeşitli sıcaklık, iğne ucu ve basınç denemeleri yapılmış, biyobasılabilir olduğu görülmüş ancak biyobasım sonrası yapının stabil olmadığı görülmüştür (Şekil 3.7).

Tablo 3.1. Farklı derişimlerdeki biyomürekkep optimizasyonu

Aljinat Derişimi (w/v)	Pluronik F-127 Derişimi (w/v)	Basılabilirlik	Yapı stabilitesi
%3	%20	✗	✗
%5	%30	✗	✗
%8	%20	✓	✗
%8	%15	✓	✓



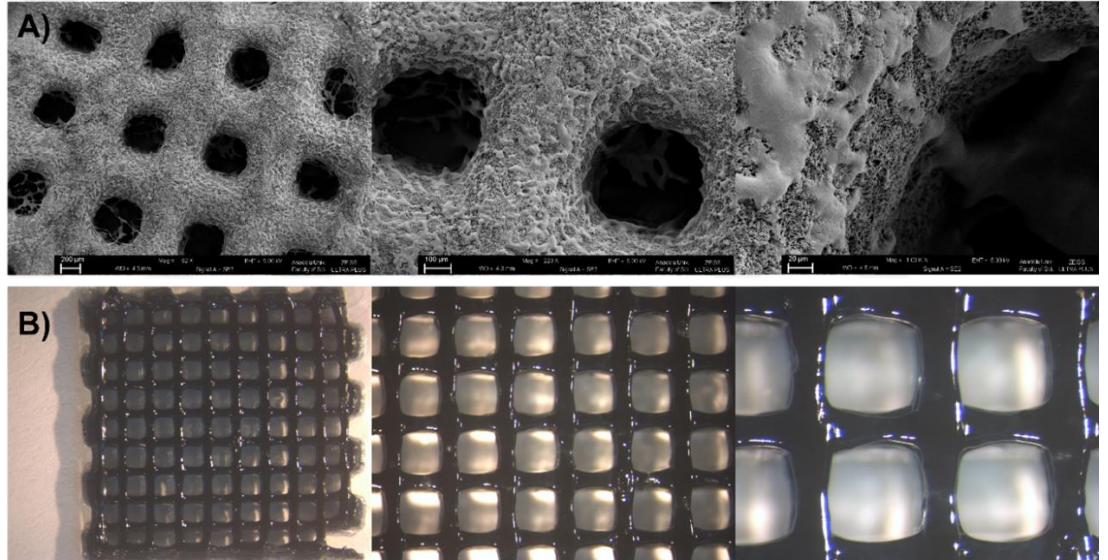
Şekil 3.7. %8 aljinat (w/v) %20 Pluronik F-127 (w/v) içeren doku iskelesinin optik mikroskop görüntüsü

%8 sodyum Aljinat (w/v) ve %15 Pluronik F-127 (w/v) içeren karışım üzerinde yapılan sıcaklık çalışmaları sonrasında, uygun jelleşme 26 °C'de elde edilmiştir (Şekil 3.8). Farklı iğne ucu ile yapılan çalışmalarda 22G iğne ucu ile elde edilen 3B yapının istenen poroziteye sahip olmaması sebebiyle 25G optimum iğne ucu olarak belirlenmiştir. Bu sıcaklık ve iğne ucu değerlerinde, 0,5-0,7 bar basınç aralığında biyobasım işlemi gerçekleştirilmiştir. Çalışılan basınç aralığı hücrelerin zarar görmemesi için gerekli olan $\leq 1,5$ bar değerine uygun olacak şekilde ayarlanmıştır. Optimum biyomalzeme içeriği ve çalışma koşullarına karar verildikten son 25 mg PEDOT:CNC çözelti ile karıştırılarak 3B iskele yapısı basılmıştır. Yazım işleminden sonra elde edilen yapı %2 CaCl₂ ile çapraz bağlanmıştır.



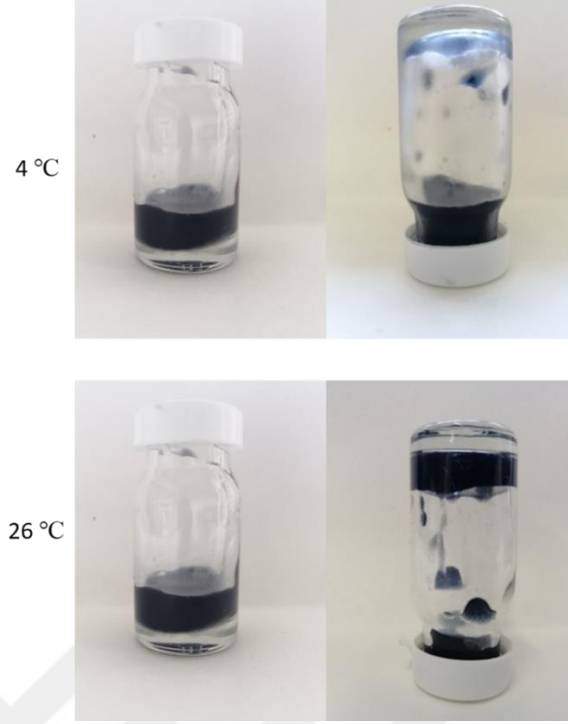
Şekil 3.8. %8 (w/v) Aljinat %15 (w/v) Pluronik F-127 biyomürekkebinin sıcaklık optimizasyonu A) 20 °C, B) 26 °C, C) 37 °C

Elde edilen 3B iskele SEM ve optik mikroskop kullanılarak analiz edilmiştir. Optimum çalışma parametreleri ile elde edilen yapıda, üretim aşamasından sonra, herhangi bir bozulma veya yığılma olmadığı, istenilen poröz iskele yapısını koruduğu gözlenmiştir. (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. %8 Aljinat %15 Pluronik F-127 içeren doku iskelesi A) SEM görüntüsü B)Optik mikroskop görüntüsü

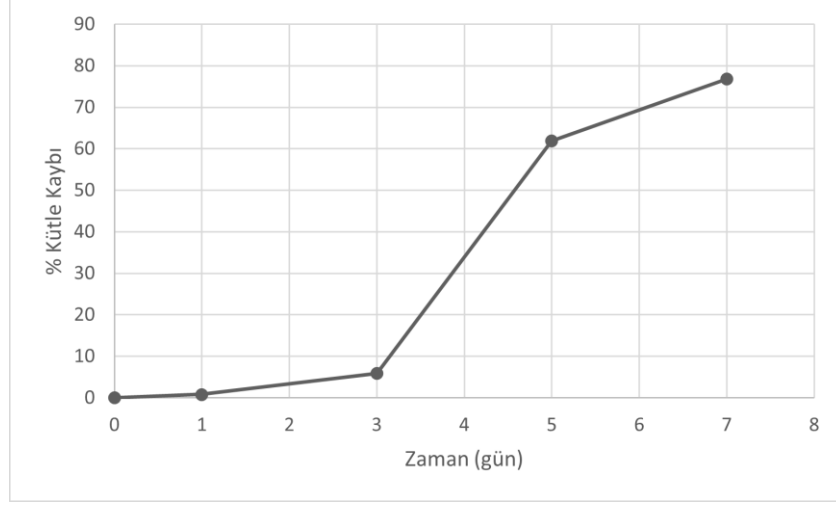
Şekil 3.10'da Pluronik/Aljinat/PEDOT:CNC biyomürekkebinin jelleşmesi görülmektedir. 4 °C'de sıvı halde bulunan ve basılabilir olmayan biyomürekkebin sıcaklığının artması ile viskozitesinin de arttığı gözlenmiştir. Oda sıcaklığına (26 °C) geldiğinde biyomürekkep basılabilir viskoziteye ulaşmıştır.



Şekil 3.10. %8 Aljinat %15 Pluronik F-127 içerek biyomürekkebin jelleşmesi

Elde edilen yapının şişme ve degradasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan şişme testi sonucunda kuru ağırlığı 11,7 mg olan yapının şişmiş ağırlığı 101,2 mg olarak ölçülmüştür. Elde edilen değerler şişme testi denkleminde yerine konulduğu zaman yapının şişme derecesinin %764,96 olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu değer yapının iyi bir su tutma kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca çapraz bağlanmayan 3B yapının tampon çözelti içerisinde 3 günün sonunda parçalandığı, CaCl_2 ile çapraz bağlanan 3B iskelelerin ise 14 güne kadar yapısını koruduğu gözlenmiştir.

Biyobozunurluk çalışmaları kapsamında doku iskelelerinin 7 günlük kütle kaybı incelenmiştir. 1, 3, 5 ve 7. günlerde tartılan numunelerin yüzde kütle kaybı hesaplandıktan sonra, % kütle kaybı grafiği zamana karşı çizilmiştir (Şekil 3.11). İlk günün sonunda, doku iskelelerinin başlangıç kütlelerinin %0,8'ini kaybettiği gözlenmektedir. 3. günden itibaren yapının hızlıca bozunmaya başladığı, 7 günün sonunda ise maksimum kütle kaybının %76,75'e ulaştığı görülmüştür.



Şekil 3.11. *Doku iskelesinin biyobozunurluk grafiği*

4. TARTIŞMA

Bu tez kapsamında doğal bir polimer olan selüloz tabanlı iletken biyopolimer sentezlenmiş, bu polimer kullanılarak biyoyumlu ve biyobozunabilir bir hidrojel hazırlanmış ve bu hidrojinin basılabilirlik çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda öncelikle CNC ticari pamuktan asit hidrolizi yöntemi ile sentezlenmiştir. Bu çalışma kapsamında, literatürde dopant olarak kullanılan dekstran sülfat, heparin, hyalüronik asit ve DNA gibi biyomoleküllere alternatif olarak CNC kullanılmıştır. PEDOT'un oksidatif polimerizasyonu dopant olarak CNC'nin kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen CNC ve PEDOT:CNC'lerin karakterizasyonu FT-IR, UV-Vis, SEM ve iletkenlik ölçümleri ile yapılmıştır. FT-IR spektrumlarında fonksiyonel grupların tayini yapılmış olup CNC ve PEDOT:CNC'ye ait karakteristik piklerinin görülmesi sentezlerin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Aynı şekilde UV-Vis spektrumlarından elde edilen sonuç da dopant olarak CNC'nin başarılı bir şekilde kullanıldığını göstermiştir. PEDOT:CNC'nin SEM görüntüleri incelendiğinde nano boyutta kristallerin başarılı bir şekilde sentezlendiği görülmüştür. PEDOT:CNC'nin kondüktometre kullanılarak gerçekleştirilen iletkenlik çalışmalarında, CNC'nin, PEDOT'un iletkenliğini arttırdığı görülmüştür. Literatürde yaygın olarak kullanılan bir iletken polimer olan PEDOT:PSS ile karşılaştırıldığında elde edilen iletkenlik sonuçları, PEDOT:300CNC'nin PEDOT:PSS'den yaklaşık 3mS daha fazla iletkenliğe sahip olduğunu göstermektedir. PEDOT:PSS'nin, bozunması sırasında asidik yan ürünlerin oluşması, biyoyumluluğunu tartışmalı bir hale getirmektedir. Bu yüzden elde edilen sonuçlar PEDOT:CNC'nin, PEDOT:PSS'ye alternatif bir iletken polimer olabileceğini göstermektedir.

3B biyoyazıcı çalışmalarında, biyomalzeme olarak, CaCl_2 ile kolayca çapraz bağlanabilen, basılabilirliği yüksek bir doğal polimer olan aljinat ve $10\text{ }^\circ\text{C}$ 'de sıvı olarak bulunan, oda sıcaklığında jelleşen ısıya duyarlı bir sentetik polimer olan Pluronik F-127 seçilmiştir. Birbirinden farklı termal özelliğe sahip bu polimerler karıştırılarak optimum sıcaklıkta 3B basılabilir hidrojel oluşturmuşlardır. PEDOT:CNC'nin bu polimerik karışıma eklenmesi ile iletken bir biyomürekkep elde edilmiştir. Bu iletken biyomürekkebin basılabilirlik çalışmaları farklı oranlarda aljinat ve pluronik kullanılarak, farklı iğne uçları ile gerçekleştirilmiştir. Optimum biyomürekkep karışımı belirlendikten sonra doku iskelelerinin 3B basım işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen doku iskelelerinin karakterizasyonu şişme testi, degradasyon testi, SEM ve optik

mikroskop görüntüleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Doku iskelelerinin karakterizasyon çalışmaları hidrojinin iyi bir şişme derecesine sahip olduğu, CaCl_2 ile çapraz bağlanma gerçekleştirildiği zaman kontrollü degradasyonun sağlanabileceğini ve hidrojinin optimum koşullarda iyi bir basılabilirliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Doku iskelelerinin biyobozunurluğu doku rejenerasyonu sürecinde kritik bir parametredir. İdeal olarak, doku iskelelerinin bozunma hızı, yeni dokunun oluşma hızına eşit olmalıdır. CaCl_2 ile çapraz bağlanarak hazırlanan Aljinat/Pluronik/PEDOT:CNC doku iskelelerinin kütle kaybı incelenerek biyobozunurluk çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Doku iskeleleri, fosfat tamponu içerisinde bekletilmiş ve önceden belirlenen zaman aralıklarında tartılarak yüzde kütle kaybı hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, doku iskelelerinin kütlede üçüncü günün sonuna kadar önemli bir kayıp gözlenmemiştir. Üçüncü günden itibaren PEDOT:CNC'nin ve aljinatin tampon ortamında dağılması ile bozunma hızında artış meydana gelmiştir. Böylece Aljinat/Pluronik/PEDOT:CNC doku iskelelerinin biyobozunurluğunun kontrol edilebilir olduğu belirlenmiştir.

Literatürde yer alan bir çalışmada [120] Pluronik F-127 ve aljinat kullanılarak hazırlanan mezenkimal kök hücre yüklü biyomürekkebin 3B biyobasım çalışması yapılmış ve kondrojenik farklılaşma ortamında hücre kültürü gerçekleştirilmiştir. Bu hibrit hidrojel kullanılarak üretilen trakea benzeri halka şeklindeki yapı üzerinde kıkırdak doku mühendisliği çalışmaları uygulandığında, 3 hafta sonra, glikozaminoglikan açısından zengin ekstrasellüler matriks ortamı oluşmaya başlamıştır. Bu sonuç bu hibrit hidrojinin doku mühendisliği çalışmalarında kullanılabileceğine dair güçlü bir kanıt olarak sunulmuştur.

Literatürdeki PEDOT:biyopolimer örnekleri incelendiğinde, dekstran sülfatın dopant biyopolimer (PEDOT:DS) [96] olarak kullanıldığı bir çalışmada fibroblast hücreleri ile biyoyumluluk deneyleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar PEDOT:PSS'nin biyoyumluluğu ile karşılaştırılmıştır. 96 saat boyunca gerçekleştirilen hücre kültüründen elde edilen sonuçlar, PEDOT:PSS'ye maruz bırakılan hücrelerin daha yavaş çoğaldığını PEDOT:DS'ye göre daha az hücrenin yaşayabildiğini göstermiştir. Bir başka çalışmada, dopant biyopolimer olarak karragenan kullanılmıştır [98]. PEDOT temelli iletken yapı üzerinde, nöronal fenotipe farklılaştırılmış insan nöroblastom hücreleri ile hücre kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Canlılık

analizine göre 3 günlük hücre farklılaşmasından sonra malzeme üzerinde >%80 hücre canlılığı tespit edilmiştir. Ayrıca optik mikroskop ile nöron uzantılarının olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalar ışığında, tez kapsamında sentezlenen PEDOT:CNC'nin, biyoyumlu bir iletken polimer olarak, doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabileceği öngörülmektedir.

Bu yapılan çalışmada Aljinat/Pluronik/PEDOT:CNC hidrojeli yenilikçi, biyoyumlu ve biyobasılabilir bir hidrojel olarak sunulmuştur. İlerleyen aşamalarda kalp, sinir, kemik, iskelet kası gibi elektriksel iletkenliğin önemli olduğu doku mühendisliği alanlarında doku iskelesi olarak kullanılıp, doku rejenerasyonuna katkı sağlaması ön görülmektedir.

Doku mühendisliği çalışmalarında iletken hidrojellerin kullanılması her ne kadar çok fazla avantaja sahip olsa da hala daha kısıtlı çalışmaya sahiptir. İletken hidrojellerin sahip oldukları elektriksel iletkenlik özelliğinin, hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matris arasındaki iletişimi nasıl etkilediği ve doku rejenerasyonunu nasıl yönlendirdiği henüz tam anlamıyla aydınlatılmış değildir. Bu sebeple daha fazla hidrojel bileşiminin üretilmesi ve uygulanması, ayrıca bu çalışmaların 3B biyoyazıcı teknolojilerine adapte edilmesi hem doku mühendisliğinin önünü açmaya hem de bu hücre etkileşimlerini anlamaya yardımcı olacaktır.

KAYNAKÇA

- [1] Zhu W, Ma X, Gou M, Mei D, Zhang K and Chen S 2016 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering *Curr. Opin. Biotechnol.* **40** 103–12
- [2] Gopinathan J and Noh I 2018 Recent trends in bioinks for 3D printing *Biomater. Res.* **22** 11
- [3] Wang S, Lee J M and Yeong W Y 2015 Smart hydrogels for 3D bioprinting *Int. J. Bioprinting*
- [4] Guo B, Ma Z, Pan L and Shi Y 2019 Properties of conductive polymer hydrogels and their application in sensors *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **57** 1606–21
- [5] Min J, Patel M and Koh W-G 2018 Incorporation of Conductive Materials into Hydrogels for Tissue Engineering Applications *Polymers (Basel)*. **10** 1078
- [6] Pyarasani R D, Jayaramudu T and John A 2019 Polyaniline-based conducting hydrogels *J. Mater. Sci.* **54** 974–96
- [7] Bansal M, Dravid A, Aqrave Z, Montgomery J, Wu Z and Svirskis D 2020 Conducting polymer hydrogels for electrically responsive drug delivery *J. Control. Release* **328** 192–209
- [8] Peng Q, Chen J, Wang T, Peng X, Liu J, Wang X, Wang J and Zeng H 2020 Recent advances in designing conductive hydrogels for flexible electronics *InfoMat* **2** 843–65
- [9] Jiang L, Wang Y, Liu Z, Ma C, Yan H, Xu N, Gang F, Wang X, Zhao L and Sun X 2019 Three-Dimensional Printing and Injectable Conductive Hydrogels for Tissue Engineering Application *Tissue Eng. Part B Rev.* **25** 398–411
- [10] Sanchez-Sanchez A, del Agua I, Malliaras G G and Mecerreyes D 2019 Conductive Poly(3,4-Ethylenedioxythiophene) (PEDOT)-Based Polymers and Their Applications in Bioelectronics *Smart Polymers and their Applications* (Elsevier) pp 191–218
- [11] Langer R and Vacanti J 1993 Tissue engineering *Science (80-.)*. **260** 920–6
- [12] Cao Y, Vacanti J P, Paige K T, Upton J and Vacanti C A 1997 Transplantation of Chondrocytes Utilizing a Polymer-Cell Construct to Produce Tissue-

- Engineered Cartilage in the Shape of a Human Ear *Plast. & Reconstr. Surg.* **100** 297–302
- [13] Oberpenning F, Meng J, Yoo J J and Atala A 1999 De novo reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering *Nat. Biotechnol.* **17** 149–55
- [14] Daniel J, Abe K and McFetridge P S 2005 Development of the Human Umbilical Vein Scaffold for Cardiovascular Tissue Engineering Applications *ASAIO J.* **51** 252–61
- [15] Vivcharenko V, Wojcik M and Przekora A 2020 Cellular Response to Vitamin C-Enriched Chitosan/Agarose Film with Potential Application as Artificial Skin Substitute for Chronic Wound Treatment *Cells* **9** 1185
- [16] Yang X, Lu Z, Wu H, Li W, Zheng L and Zhao J 2018 Collagen-alginate as bioink for three-dimensional (3D) cell printing based cartilage tissue engineering *Mater. Sci. Eng. C* **83** 195–201
- [17] Chiang T, Pepper V, Best C, Onwuka E and Breuer C K 2016 Clinical Translation of Tissue Engineered Trachea Grafts *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **125** 873–85
- [18] Mombini S, Mohammadnejad J, Bakhshandeh B, Narmani A, Nourmohammadi J, Vahdat S and Zirak S 2019 Chitosan-PVA-CNT nanofibers as electrically conductive scaffolds for cardiovascular tissue engineering *Int. J. Biol. Macromol.* **140** 278–87
- [19] Ali M, PR A K, Yoo J J, Zahran F, Atala A and Lee S J 2019 A Photo-Crosslinkable Kidney ECM-Derived Bioink Accelerates Renal Tissue Formation *Adv. Healthc. Mater.* **8** 1800992
- [20] Rezaei F S, Khorshidian A, Beram F M, Derakhshani A, Esmaili J and Barati A 2021 3D printed chitosan/polycaprolactone scaffold for lung tissue engineering: hope to be useful for COVID-19 studies *RSC Adv.* **11** 19508–20
- [21] Cao Y, Vacanti J P, Paige K T, Upton J and Vacanti C A 1997 Transplantation of Chondrocytes Utilizing a Polymer-Cell Construct to Produce Tissue-

- Engineered Cartilage in the Shape of a Human Ear *Plast. & Reconstr. Surg.* **100** 297–302
- [22] Schmidt D, Mol A, Odermatt B, Neuenschwander S, Breymann C, Gössi M, Genoni M, Zund G and Hoerstrup S P 2006 Engineering of Biologically Active Living Heart Valve Leaflets Using Human Umbilical Cord–Derived Progenitor Cells *Tissue Eng.* **12** 3223–32
- [23] Oberpenning F, Meng J, Yoo J J and Atala A 1999 De novo reconstitution of a functional mammalian urinary bladder by tissue engineering *Nat. Biotechnol.* **17** 149–55
- [24] Gao M, Zhang H, Dong W, Bai J, Gao B, Xia D, Feng B, Chen M, He X, Yin M, Xu Z, Witman N, Fu W and Zheng J 2017 Tissue-engineered trachea from a 3D-printed scaffold enhances whole-segment tracheal repair *Sci. Rep.* **7** 5246
- [25] Ikada Y 2006 Challenges in tissue engineering *J. R. Soc. Interface* **3** 589–601
- [26] Heath C A 2000 Cells for tissue engineering *Trends Biotechnol.* **18** 17–9
- [27] Almouemen N, Kelly H M and O’Leary C 2019 Tissue Engineering: Understanding the Role of Biomaterials and Biophysical Forces on Cell Functionality Through Computational and Structural Biotechnology Analytical Methods *Comput. Struct. Biotechnol. J.* **17** 591–8
- [28] Murphy C, O’Brien F, Little D and Schindeler A 2013 Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad *Eur. Cells Mater.* **26** 120–32
- [29] Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, Ibbs M, Bliźniak R, Łuczewski Ł and Lamperska K 2016 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures *Arch. Med. Sci.*
- [30] Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, Filas V, Ibbs M, Bliźniak R, Łuczewski Ł and Lamperska K 2016 2D and 3D cell cultures – a comparison of different types of cancer cell cultures *Arch. Med. Sci.*
- [31] Asadian M, Chan K V, Norouzi M, Grande S, Cools P, Morent R and De Geyter N 2020 Fabrication and Plasma Modification of Nanofibrous Tissue Engineering Scaffolds *Nanomaterials* **10** 119

- [32] Subia B, Kundu J and C. S 2010 Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications *Tissue Engineering* (InTech)
- [33] Eltom A, Zhong G and Muhammad A 2019 Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review *Adv. Mater. Sci. Eng.* **2019** 1–13
- [34] Lu T, Li Y and Chen T 2013 Techniques for fabrication and construction of three-dimensional scaffolds for tissue engineering *Int. J. Nanomedicine* 337
- [35] Hull C W and Arcadia C 1984 United States Patent (19) Hull (54) (75) (73) 21) 22 (51) 52) (58) (56) APPARATUS FOR PRODUCTION OF THREE-DIMENSIONAL OBJECTS BY STEREO THOGRAPHY
- [36] Poomathi N, Singh S, Prakash C, Subramanian A, Sahay R, Cinappan A and Ramakrishna S 2020 3D printing in tissue engineering: a state of the art review of technologies and biomaterials *Rapid Prototyp. J.* **26** 1313–34
- [37] Ozbolat I T, Peng W and Ozbolat V 2016 Application areas of 3D bioprinting *Drug Discov. Today* **21** 1257–71
- [38] Murphy S V. and Atala A 2014 3D bioprinting of tissues and organs *Nat. Biotechnol.* **32** 773–85
- [39] Malda J, Visser J, Melchels F P, Jüngst T, Hennink W E, Dhert W J A, Groll J and Huttmacher D W 2013 25th Anniversary Article: Engineering Hydrogels for Biofabrication *Adv. Mater.* **25** 5011–28
- [40] Hölzl K, Lin S, Tytgat L, Van Vlierberghe S, Gu L and Ovsianikov A 2016 Bioink properties before, during and after 3D bioprinting *Biofabrication* **8** 032002
- [41] Gungor-Ozkerim P S, Inci I, Zhang Y S, Khademhosseini A and Dokmeci M R 2018 Bioinks for 3D bioprinting: An overview *Biomater. Sci.* **6** 915–46
- [42] Mehrban N, Teoh G Z and Birchall M A 2016 3D bioprinting for tissue engineering: Stem cells in hydrogels *Int. J. Bioprinting* **2**
- [43] Aljohani W, Ullah M W, Zhang X and Yang G 2018 Bioprinting and its applications in tissue engineering and regenerative medicine *Int. J. Biol.*

Macromol. **107** 261–75

- [44] Liu F, Chen Q, Liu C, Ao Q, Tian X, Fan J, Tong H and Wang X 2018 Natural polymers for organ 3D bioprinting *Polymers (Basel)*. **10**
- [45] Bedell M L, Navara A M, Du Y, Zhang S and Mikos A G 2020 Polymeric Systems for Bioprinting *Chem. Rev.* **120** 10744–92
- [46] Heinze T 2015 Cellulose: Structure and properties *Adv. Polym. Sci.* **271** 1–52
- [47] George J and Sabapathi S N 2015 Cellulose nanocrystals: Synthesis, functional properties, and applications *Nanotechnol. Sci. Appl.* **8** 45–54
- [48] Dong S and Roman M 2007 Fluorescently labeled cellulose nanocrystals for bioimaging applications *J. Am. Chem. Soc.* **129** 13810–1
- [49] Saeed A A, Abbas M N, Singh B, Abou-Zeid R E and Kamel S 2019 Cellulose nanocrystals decorated with gold nanoparticles immobilizing GOx enzyme for non-invasive biosensing of human salivary glucose *Anal. Methods* **11** 6073–83
- [50] Madhusudana Rao K, Kumar A and Han S S 2017 Polysaccharide based bionanocomposite hydrogels reinforced with cellulose nanocrystals: Drug release and biocompatibility analyses *Int. J. Biol. Macromol.* **101** 165–71
- [51] Cheng M, Qin Z, Hu S, Dong S, Ren Z and Yu H 2017 Achieving Long-Term Sustained Drug Delivery for Electrospun Biopolyester Nanofibrous Membranes by Introducing Cellulose Nanocrystals *ACS Biomater. Sci. Eng.* **3** 1666–76
- [52] Evdokimova O, Svensson F, Agafonov A, Håkansson S, Seisenbaeva G and Kessler V 2018 Hybrid Drug Delivery Patches Based on Spherical Cellulose Nanocrystals and Colloid Titania—Synthesis and Antibacterial Properties *Nanomaterials* **8** 228
- [53] Ghorbani M, Roshangar L and Soleimani Rad J 2020 Development of reinforced chitosan/pectin scaffold by using the cellulose nanocrystals as nanofillers: An injectable hydrogel for tissue engineering *Eur. Polym. J.* **130** 109697
- [54] Patel D K, Dutta S D, Hexiu J, Ganguly K and Lim K T 2020 Bioactive electrospun nanocomposite scaffolds of poly(lactic acid)/cellulose nanocrystals for bone tissue engineering *Int. J. Biol. Macromol.* **162** 1429–41

- [55] Dutta S D, Hexiu J, Patel D K, Ganguly K and Lim K T 2021 3D-printed bioactive and biodegradable hydrogel scaffolds of alginate/gelatin/cellulose nanocrystals for tissue engineering *Int. J. Biol. Macromol.* **167** 644–58
- [56] Du H, Liu W, Zhang M, Si C, Zhang X and Li B 2019 Cellulose nanocrystals and cellulose nanofibrils based hydrogels for biomedical applications *Carbohydr. Polym.* **209** 130–44
- [57] Liu F and Wang X 2020 Synthetic polymers for organ 3D printing *Polymers (Basel)*. **12**
- [58] Gioffredi E, Boffito M, Calzone S, Giannitelli S M, Rainer A, Trombetta M, Mozetic P and Chiono V 2016 Pluronic F127 Hydrogel Characterization and Biofabrication in Cellularized Constructs for Tissue Engineering Applications *Procedia CIRP* vol 49 (Elsevier B.V.) pp 125–32
- [59] Sharaf S M 2020 Smart conductive textile *Adv. Funct. Prot. Text.* 141–67
- [60] Nezakati T, Seifalian A, Tan A and Seifalian A M 2018 Conductive Polymers: Opportunities and Challenges in Biomedical Applications *Chem. Rev.* **118** 6766–843
- [61] Kaur G, Adhikari R, Cass P, Bown M and Gunatillake P 2015 Electrically conductive polymers and composites for biomedical applications *RSC Adv.* **5** 37553–67
- [62] Chiang C K, Fincher C R, Park Y W, Heeger A J, Shirakawa H, Louis E J, Gau S C and MacDiarmid A G 1977 Electrical Conductivity in Doped Polyacetylene *Phys. Rev. Lett.* **39** 1098–101
- [63] Khan M, Cantù E, Tonello S, Serpelloni M, Lopomo N and Sardini E 2019 A Review on Biomaterials for 3D Conductive Scaffolds for Stimulating and Monitoring Cellular Activities *Appl. Sci.* **9** 961
- [64] Çetin M Z and Camurlu P 2018 An amperometric glucose biosensor based on PEDOT nanofibers *RSC Adv.* **8** 19724–31
- [65] Tsai N-C, She J-W, Wu J-G, Chen P, Hsiao Y-S and Yu J 2019 Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) Polymer Composite Bioelectrodes with Designed

Chemical and Topographical Cues to Manipulate the Behavior of PC12 Neuronal Cells *Adv. Mater. Interfaces* **6** 1801576

- [66] Dominguez-Alfaro A, Alegret N, Arnaiz B, González-Domínguez J M, Martín-Pacheco A, Cossío U, Porcarelli L, Bosi S, Vázquez E, Mecerreyes D and Prato M 2020 Tailored Methodology Based on Vapor Phase Polymerization to Manufacture PEDOT/CNT Scaffolds for Tissue Engineering *ACS Biomater. Sci. Eng.* **6** 1269–78
- [67] Wang S, Guan S, Li W, Ge D, Xu J, Sun C, Liu T and Ma X 2018 3D culture of neural stem cells within conductive PEDOT layer-assembled chitosan/gelatin scaffolds for neural tissue engineering *Mater. Sci. Eng. C* **93** 890–901
- [68] Brett Runge M, Dadsetan M, Baltrusaitis J, Knight A M, Ruesink T, Lazcano E A, Lu L, Windebank A J and Yaszemski M J 2010 The development of electrically conductive polycaprolactone fumarate-polypyrrole composite materials for nerve regeneration *Biomaterials* **31** 5916–26
- [69] Uang Y M and Chou T C 2003 Fabrication of glucose oxidase/polypyrrole biosensor by galvanostatic method in various pH aqueous solutions *Biosens. Bioelectron.* **19** 141–7
- [70] Garner B, Georgevich A, Hodgson A J, Liu L and Wallace G G 1999 Polypyrrole-heparin composites as stimulus-responsive substrates for endothelial cell growth *J. Biomed. Mater. Res.* **44** 121–9
- [71] Palsaniya S, Nemade H B and Dasmahapatra A K 2019 Mixed Surfactant-Mediated Synthesis of Hierarchical PANI Nanorods for an Enzymatic Glucose Biosensor *ACS Appl. Polym. Mater.* **1** 647–56
- [72] Kim H J, Lee J S, Park J M, Lee S, Hong S J, Park J S and Park K H 2020 Fabrication of Nanocomposites Complexed with Gold Nanoparticles on Polyaniline and Application to Their Nerve Regeneration *ACS Appl. Mater. Interfaces* **12** 30750–60
- [73] Shrestha B K, Shrestha S, Baral E R, Lee J Y, Kim B S, Park C H and Kim C S 2019 Π -Conjugated polyaniline-assisted flexible titania nanotubes with controlled surface morphology as regenerative medicine in nerve cell growth

Chem. Eng. J. **360** 701–13

- [74] Hamzah M S A, Austad A, Razak S I A and Nayan N H M 2019 Tensile and wettability properties of electrospun polycaprolactone coated with pectin/polyaniline composite for drug delivery application *Int. J. Struct. Integr.* **10** 704–13
- [75] Jaymand M, Sarvari R, Abbaszadeh P, Massoumi B, Eskandani M and Beygi-Khosrowshahi Y 2016 Development of novel electrically conductive scaffold based on hyperbranched polyester and polythiophene for tissue engineering applications *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **104** 2673–84
- [76] Massoumi B, Abbasian M, Khalilzadeh B, Jahanban-Esfahlan R, Samadian H, Derakhshankhah H and Jaymand M 2021 Electrically Conductive Nanofibers Composed of Chitosan-grafted Polythiophene and Poly(ϵ -caprolactone) as Tissue Engineering Scaffold *Fibers Polym.* **22** 49–58
- [77] Qu K, Kondengaden S M, Li J, Wang X, Sevilla M D, Li L and Zeng X 2019 Carbohydrate-functionalized polythiophene biointerface: design, fabrication, characterization and application for protein analysis *Appl. Surf. Sci.* **486** 561–70
- [78] Hashemi S A, Mousavi S M, Bahrani S and Ramakrishna S 2020 Polythiophene silver bromide nanostructure as ultra-sensitive non-enzymatic electrochemical glucose biosensor *Eur. Polym. J.* **138** 109959
- [79] Anon No Title
- [80] Abdelhamid M E, O'Mullane A P and Snook G A 2015 Storing energy in plastics: a review on conducting polymers & their role in electrochemical energy storage *RSC Adv.* **5** 11611–26
- [81] Lin K C, Tsai T H and Chen S M 2010 Performing enzyme-free H₂O₂ biosensor and simultaneous determination for AA, DA, and UA by MWCNT-PEDOT film *Biosens. Bioelectron.* **26** 608–14
- [82] Pringle J M, Armel V and MacFarlane D R 2010 Electrodeposited PEDOT-on-plastic cathodes for dye-sensitized solar cells *Chem. Commun.* **46** 5367–9
- [83] Rajesh M, Raj C J, Manikandan R, Kim B C, Park S Y and Yu K H 2017 A high

- performance PEDOT/PEDOT symmetric supercapacitor by facile in-situ hydrothermal polymerization of PEDOT nanostructures on flexible carbon fibre cloth electrodes *Mater. Today Energy* **6** 96–104
- [84] Sultana N, Chang H C, Jefferson S and Daniels D E 2020 Application of conductive poly(3,4-ethylenedioxythiophene):poly(styrenesulfonate) (PEDOT:PSS) polymers in potential biomedical engineering *J. Pharm. Investig.* **50** 437–44
- [85] Karagkiozaki V, Karagiannidis P G, Gioti M, Kavatzikidou P, Georgiou D, Georganaki E and Logothetidis S 2013 Bioelectronics meets nanomedicine for cardiovascular implants: PEDOT-based nanocoatings for tissue regeneration *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **1830** 4294–304
- [86] ElMahmoudy M, Inal S, Charrier A, Uguz I, Malliaras G G and Sanaur S 2017 Tailoring the Electrochemical and Mechanical Properties of PEDOT:PSS Films for Bioelectronics *Macromol. Mater. Eng.* **302** 1600497
- [87] Guex A G, Puetzer J L, Armgarth A, Littmann E, Stavriniidou E, Giannelis E P, Malliaras G G and Stevens M M 2017 Highly porous scaffolds of PEDOT:PSS for bone tissue engineering *Acta Biomater.* **62** 91–101
- [88] Zhang S, Chen Y, Liu H, Wang Z, Ling H, Wang C, Ni J, Çelebi-Saltik B, Wang X, Meng X, Kim H, Baidya A, Ahadian S, Ashammakhi N, Dokmeci M R, Travas-Sejdic J and Khademhosseini A 2020 Room-Temperature-Formed PEDOT:PSS Hydrogels Enable Injectable, Soft, and Healable Organic Bioelectronics *Adv. Mater.* **32** 1904752
- [89] Abedi A, Hasanzadeh M and Tayebi L 2019 Conductive nanofibrous Chitosan/PEDOT:PSS tissue engineering scaffolds *Mater. Chem. Phys.* **237** 121882
- [90] Marzocchi M, Gualandi I, Calienni M, Zironi I, Scavetta E, Castellani G and Fraboni B 2015 Physical and Electrochemical Properties of PEDOT:PSS as a Tool for Controlling Cell Growth *ACS Appl. Mater. Interfaces* **7** 17993–8003
- [91] Furukawa Y, Shimada A, Kato K, Iwata H and Torimitsu K 2013 Monitoring neural stem cell differentiation using PEDOT-PSS based MEA *Biochim. Biophys.*

- [92] Inal S, Hama A, Ferro M, Pitsalidis C, Oziat J, Iandolo D, Pappa A-M, Hadida M, Huerta M, Marchat D, Mailley P and Owens R M 2017 Conducting Polymer Scaffolds for Hosting and Monitoring 3D Cell Culture *Adv. Biosyst.* **1** 1700052
- [93] Ramuz M, Hama A, Huerta M, Rivnay J, Leleux P and Owens R M 2014 Combined Optical and Electronic Sensing of Epithelial Cells Using Planar Organic Transistors *Adv. Mater.* **26** 7083–90
- [94] Del Agua I, Mantione D, Casado N, Sanchez-Sanchez A, Malliaras G G and Mecerreyes D 2017 Conducting Polymer Ionogels Based on PEDOT and Guar Gum *ACS Macro Lett.* **6** 473–8
- [95] Mantione D, del Agua I, Schaafsma W, Diez-Garcia J, Castro B, Sardon H and Mecerreyes D 2016 Poly(3,4-ethylenedioxythiophene):GlycosAminoGlycan Aqueous Dispersions: Toward Electrically Conductive Bioactive Materials for Neural Interfaces *Macromol. Biosci.* **16** 1227–38
- [96] Harman D G, Gorkin R, Stevens L, Thompson B, Wagner K, Weng B, Chung J H Y, In Het Panhuis M and Wallace G G 2015 Poly(3,4-ethylenedioxythiophene):dextran sulfate (PEDOT:DS) - A highly processable conductive organic biopolymer *Acta Biomater.* **14** 33–42
- [97] Ner Y, Invernale M A, Grote J G, Stuart J A and Sotzing G A 2010 Facile chemical synthesis of DNA-doped PEDOT *Synth. Met.* **160** 351–3
- [98] Zamora-Sequeira R, Ardao I, Starbird R and García-González C A 2018 Conductive nanostructured materials based on poly-(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) and starch/ κ -carrageenan for biomedical applications *Carbohydr. Polym.* **189** 304–12
- [99] Hofmann A I, Katsigiannopoulos D, Mumtaz M, Petsagkourakis I, Pecastaings G, Fleury G, Schatz C, Pavlopoulou E, Brochon C, Hadziioannou G and Cloutet E 2017 How to Choose Polyelectrolytes for Aqueous Dispersions of Conducting PEDOT Complexes *Macromolecules* **50** 1959–69
- [100] Horikawa M, Fujiki T, Shiroasaki T, Ryu N, Sakurai H, Nagaoka S and Ihara H

- 2015 The development of a highly conductive PEDOT system by doping with partially crystalline sulfated cellulose and its electric conductivity *J. Mater. Chem. C* **3** 8881–7
- [101] Mantione D, del Agua I, Sanchez-Sanchez A and Mecerreyes D 2017 Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) derivatives: Innovative conductive polymers for bioelectronics *Polymers (Basel)*. **9** 354
- [102] Caló E and Khutoryanskiy V V. 2015 Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products *Eur. Polym. J.* **65** 252–67
- [103] Mostafavi E, Medina-Cruz D, Kalantari K, Taymoori A, Soltantabar P and Webster T J 2020 Electroconductive Nanobiomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine *Bioelectricity* **2** 120–49
- [104] Vandghanooni S and Eskandani M 2019 Electrically conductive biomaterials based on natural polysaccharides: Challenges and applications in tissue engineering *Int. J. Biol. Macromol.* **141** 636–62
- [105] Walker B W, Portillo Lara R, Mogadam E, Hsiang Yu C, Kimball W and Annabi N 2019 Rational design of microfabricated electroconductive hydrogels for biomedical applications *Prog. Polym. Sci.* **92** 135–57
- [106] Li L, Wang Y, Pan L, Shi Y, Cheng W, Shi Y and Yu G 2015 A Nanostructured Conductive Hydrogels-Based Biosensor Platform for Human Metabolite Detection *Nano Lett.* **15** 1146–51
- [107] Qu J, Liang Y, Shi M, Guo B, Gao Y and Yin Z 2019 Biocompatible conductive hydrogels based on dextran and aniline trimer as electro-responsive drug delivery system for localized drug release *Int. J. Biol. Macromol.* **140** 255–64
- [108] Hassarati R T, Dueck W F, Tasche C, Carter P M, Poole-Warren L A and Green R A 2014 Improving Cochlear Implant Properties Through Conductive Hydrogel Coatings *IEEE Trans. Neural Syst. Rehabil. Eng.* **22** 411–8
- [109] Park J, Jeon J, Kim B, Lee M S, Park S, Lim J, Yi J, Lee H, Yang H S and Lee J Y 2020 Electrically Conductive Hydrogel Nerve Guidance Conduits for Peripheral Nerve Regeneration *Adv. Funct. Mater.* **30** 2003759

- [110] Wong J Y, Langer R and Ingber D E 1994 Electrically conducting polymers can noninvasively control the shape and growth of mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **91** 3201–4
- [111] Williams R L and Doherty P J 1994 A preliminary assessment of poly(pyrrole) in nerve guide studies *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **5** 429–33
- [112] Ge J, Li Y, Wang M, Gao C, Yang S and Lei B 2021 Engineering conductive antioxidative antibacterial nanocomposite hydrogel scaffolds with oriented channels promotes structure-functional skeletal muscle regeneration *Chem. Eng. J.* **425** 130333
- [113] Li X-P, Qu K-Y, Zhou B, Zhang F, Wang Y-Y, Abodunrin O D, Zhu Z and Huang N-P 2021 Electrical stimulation of neonatal rat cardiomyocytes using conductive polydopamine-reduced graphene oxide-hybrid hydrogels for constructing cardiac microtissues *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **205** 111844
- [114] Amiryaghoubi N, Noroozi Pesyan N, Fathi M and Omidi Y 2020 Injectable thermosensitive hybrid hydrogel containing graphene oxide and chitosan as dental pulp stem cells scaffold for bone tissue engineering *Int. J. Biol. Macromol.* **162** 1338–57
- [115] Jafarkhani M, Salehi Z and Nematian T 2018 Preparation and characterization of chitosan/graphene oxide composite hydrogels for nerve tissue Engineering *Mater. Today Proc.* **5** 15620–8
- [116] Thambiraj S and Ravi Shankaran D 2017 Preparation and physicochemical characterization of cellulose nanocrystals from industrial waste cotton *Appl. Surf. Sci.* **412** 405–16
- [117] Lu P and Hsieh Y-L 2010 Preparation and properties of cellulose nanocrystals: Rods, spheres, and network *Carbohydr. Polym.* **82** 329–36
- [118] Shaheen T I and Emam H E 2018 Sono-chemical synthesis of cellulose nanocrystals from wood sawdust using Acid hydrolysis *Int. J. Biol. Macromol.* **107** 1599–606
- [119] Ng C A and Camacho D H 2015 Polymer electrolyte system based on

carrageenan-poly(3,4- ethylenedioxythiophene) (PEDOT) composite for dye sensitized solar cell *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* **79** 012020

- [120] Armstrong J P K, Burke M, Carter B M, Davis S A and Perriman A W 2016 3D Bioprinting Using a Templated Porous Bioink *Adv. Healthc. Mater.* **5** 1724–30



ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı :Çiçek KIR

Yabancı Dil :İngilizce

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

2017, Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü

Bilimsel Faaliyetleri:

2019, 13. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, MADOPA Temelli, Kendini Yenileyebilen Biyoink Geliştirilmesi ve 3 Boyutlu Patch Basımı, Poster Sunumu

2018, 12. Ulusal Afinite Kongresi, 3 Boyutlu Biyoyazıcı ile Mimik Kulak Modeli geliştirilmesi, Poster Sunumu

2017-2020, Biyoparçalanır ve Biyoabsorbe Olabilen Polimerler ile Sentetik Dura İkamesi Eldesi, TÜBİTAK, 1511