T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YARA ÖRTÜSÜ UYGULAMALARI İÇİN NANOPARTİKÜL VE ANTİBİYOTİK YÜKLÜ DOKU İSKELELERİNİN 3D BASIMI

Sema Tuğçe AYDIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Danışman
Dr. Öğretim Üyesi Esra YÜCA YILMAZ
Eş Danışman
Doç. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ

Haziran, 2021

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YARA ÖRTÜSÜ UYGULAMALARI İÇİN NANOPARTİKÜL VE ANTİBİYOTİK YÜKLÜ DOKU İSKELELERİNİN 3D BASIMI

Sema Tuğçe AYDIN tarafından hazırlanan tez çalışması 30.06.2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Dr. Öğretim Üyesi Esra YÜCA YILMAZ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Dr. Öğretim Üyesi Esra YÜCA YILMAZ, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ, Eş Danışman
Marmara Üniversitesi _____

Prof. Dr. Semiha ERİŞEN, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğretim Üyesi Mustafa ŞENGÖR, Üye
Marmara Üniversitesi _____

Danışmanım Dr. Öğretim Üyesi Esra YÜCA YILMAZ sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Yara örtüsü uygulamaları için nanopartikül ve antibiyotik yüklü doku iskelelerinin 3D basımı başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve kaynaklarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Sema Tuğçe AYDIN

İmza

Kardeşlerime…

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince beni yönlendiren ve çalışmalarımda destek olan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Esra YÜCA YILMAZ'a tüm desteği için çok teşekkür ediyorum. Her türlü konuda bilgisine başvurabildiğim ve laboratuvarının kapısı her daim açık olan eş danışman hocam Sayın Doç. Dr. Oğuzhan GÜNDÜZ'e yardımlarından dolayı çok teşekkür ediyorum.

Ne zaman bir sorunla gitsem bıkmadan ilgilenen ve bu tez çalışmam boyunca en az danışmanlarım kadar bana danışmanlık yapmış hem arkadaşım hem hocam Dr. Songül ULAĞ'a çok teşekkür ediyorum. Deney dönemim boyunca bana bir bakıma mühendislik bakış açısı kazandıran ve her türlü manevi desteği, bilgi birikimi ile yanımda olan Dr.Öğr.Üyesi Mustafa ŞENGÖR'e ve Dr. Semra ÜNAL YILDIRIM'a çok teşekkür ediyorum.

Laboratuvarı kendisinin arkadaşlığı ile daha çok sevdiğim, birlikteyken asla sıkılmadan saatlerce çalışabildiğim, sabah 8.30 akşam 20.30 laboratuvar arkadaşım, dostum ve hocam Aslıhan ÇALHAN'a tüm desteği için çok teşekkür ediyorum. Laboratuvarımızın ornitorenk Perry'si, canım arkadaşım Ramazan DEMİRHAN'a çok teşekkür ediyorum. Her konuya ve her gruba kolayca uyumlanabilen canım lab oğlum Yasin Emin KARAÇELEBİ'ye çok teşekkür ediyorum. YTÜ'deki şansım olarak gördüğüm hocalarıma, -1'den kalan aileme ve NBUAM aileme çok teşekkür ediyorum.

Hayatımın en büyük şanslarından biri olan ve hayatımın en küçük halkasını oluşturan canım dostum, vertexim Hilal CİVELEK'e, benzer kaderleri paylaştığımız ve aşırı eğlenmemizden asla ödün vermediğimiz canım ajan dostum Maide ŞEKER'e, lisans eğitimim sırasında ilk tanıştığımızda her şeyimi paylaştığım dostum Melike Binnur BAHÇEKAPILI'ya, bilgi ve hayat birikimi ile hocam olarak gördüğüm dostum Sinem KURT'a teşekkürü borç bilirim.

Son olarak, bu garip pandemi dönemine denk gelen yüksek lisans eğitimim sırasınca psikolojik olarak da verdikleri desteklerden ötürü her daim arkamda olan ve beni destekleyip yüreklendiren babam Sinan AYDIN'a, tüm eğitim hayatımın bu denli güzel gitmesini sağlayan ve sayesinde bilim insanı olma yoluna girdiğim annem Deniz AYDIN'a ve canım kardeşlerim Enis Toprak AYDIN ve Ada Tual AYDIN'a çok teşekkür ediyorum.

Varlığınız ve desteğiniz için her birinize minnettarım…

Sema Tuğçe AYDIN

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ x

KISALTMA LİSTESİ xi

ŞEKİL LİSTESİ xii

TABLO LİSTESİ xiv

ÖZET xv

ABSTRACT xvii

1 GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti 1

1.2 Tezin Amacı 4

1.3 Hipotez 5

2 GENEL BİLGİLER 6

2.1 Yaralar 6

2.1.1 Geleneksel Yara Örtüleri 7

2.1.2 Modern Yara Örtüleri 8

2.1.3 Yara-Yanık Örtüsü Malzemeleri 9

2.1.4 İlaç İçeren Yara Örtüleri 12

2.2 Biyomalzemeler 13

2.2.1 Biyouyumluluk 14

2.2.2 Metaller 14

2.2.3 Seramikler 15

2.2.4 Polimerler 15

2.2.5 Kompozitler 17

2.3 Nanoteknoloji 17

2.3.1 Nanoteknolojinin Çevre Üzerine Etkisi 21

2.3.2 Nanomalzemeler 22

2.4 Üç Boyutlu Biyoyazıcılar 24

2.4.1 Üç Boyutlu Yazıcıların Sağladığı Avantajlar ve Aşılması Gereken Sınırlamalar 26

2.4.2 Üç Boyutlu Yazıcıların Çalışma Prensibi 27

2.4.3 Mürekkep Püskürtmeli Tabanlı Biyobasım 28

2.4.4 Lazer Destekli Biyobasım 29
2.4.5 Ekstrüzyon Bazlı Biyobasım 30
2.4.6 Akustik Biyobasım.....31
2.4.7 Stereolitografi Biyobasım 31
2.4.8 Manyetik Biyobasım.....32
2.4.9 Üç Boyutlu Biyobasım Sürecini Etkileyen Parametreler.....32
3 MATERYAL VE METOD 36
3.1 Materyal 36
3.1.1 Genel Laboratuvar Malzemeleri 36
3.1.2 Kullanılan Cihazlar 37
3.1.3 Kullanılan Bilgisayar Programları.....37
3.2 Metod 38
3.2.1 3B Yazıcı ile Basımı Yapılacak Solüsyonların Hazırlanması 38
3.2.2 Basımı Yapılacak Doku İskelelerin Tasarımı Ve Üretilmesi 42
3.2.3 Doku İskelelerinin Fourier-dönüştürülmüş kızılötesi (FT-IR) analizi.....44
3.2.4 Doku İskelelerinin X Işını Kırınım Analizi (XRD) 45
3.2.5 Doku İskelelerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntülenmesi 45
3.2.6 Doku İskelelerinin Mekanik Testi 46
3.2.7 Doku İskelelerinin Degredasyon Davranışlarının Ölçülmesi 47
3.2.8 İn vitro AMP ve Gümüş Nanopartiküllerinin İlaç Salım Profillerinin Belirlenmesi 47
3.2.9 Antibakteriyel Test.....49
3.2.10 Hücre Canlılık Testi.....49
4 SONUÇ VE ÖNERİLER 51
4.1 Sonuç.....51
4.1.1 Polimer Çözeltilerinin Fiziksel Karakterizasyonu.....51
4.1.2 Doku İskelelerinin Kimyasal Analizi 51
4.1.3 Doku İskelelerinin X Işını Kırınım Analizi 54
4.1.4 Doku İskelelerinin Morfolojik Analizi 55
4.1.5 Doku İskelelerinin Mekanik Testi 57
4.1.6 Doku İskelelerinin Degredasyon Davranışlarının Ölçülmesi 58
4.1.7 Hücre Canlılık Testi.....59
4.1.8 Kompozit Doku İskeleleri için Antibakteriyel Test Sonuçları 61
4.1.9 Kompozit Doku İskelelerden AMP Ve Gümüş Nanopartikül Salınımı63
KAYNAKÇA 72

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR 107

SİMGE LİSTESİ

μL	Mikrolitre
mL	Mililitre
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece
θ	Theta

KISALTMA LİSTESİ

3B	3 Boyutlu
Ag NP	Gümüş Nanopartikülü
AMP	Ampisilin
BJ	Bağlayıcı Yazdırma
CAD/CAM	Bilgisayar destekli tasarım ve imalat
CDM	Kıkırdak Hücresizleştirilmiş Matris
Ch	Kitosan
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DNA	Deoksiribo nükleik asit
ECM	Hücre dışı matriks
FBS	Fetal bovine serum
FDA	Gıda ve ilaç dairesi
FDM	Katmanlı Yığın Modelleme
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GTA	Gluteraldehit
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür
PBS	Fosfat tamponlu salin
PVA	Polivinil Alkol
SA	Sodyum Aljinat
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SLS	Seçici Lazer
STL	Standart Mozaikleme Dili
UV	Ultraviyole ışınım
XRD	X Işınları Difraktometresi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Mürekkep püskürtmeli tabanlı biyobasım şeması [196] 29
Şekil 2.2 Lazer destekli biyobasım şeması [201] 30
Şekil 2.3 Ekstrüzyon bazlı biyobasım şeması [206] 31
Şekil 3.1 Çözünmüş PVA.....39
Şekil 3.2 PVA-SA karışımı 39
Şekil 3.3 Kitosan - AMP - AgNP karışımı 40
Şekil 3.4 Yoğunluk ölçümü 41
Şekil 3.5 Yüzey gerilimi ölçümü.....41
Şekil 3.6 Viskozite ölçümü 42
Şekil 3.7 Simplify3d yazılımı ile doku iskelesi tasarımı 42
Şekil 3.8 3B basım cihazı 43
Şekil 3.9 Basım sonucu doku iskelesi 43
Şekil 3.10 Basımı tamamlanan örneklerin desikatörde çapraz bağlanması 44
Şekil 3.11 FT-IR cihazı 44
Şekil 3.12 XRD cihazı 45
Şekil 3.13 Au/Pd kaplama cihazı 46
Şekil 3.14 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 46
Şekil 3.15 Mekanik test cihazı 46
Şekil 3.16 Liyafilizatör cihazı ile kurutma işlemi.....47
Şekil 3.17 Çalkalamalı inkübatör cihazı.....48
Şekil 3.18 UV spektroskopi cihazı 48
Şekil 3.19 Spektroskopik ölçüm öncesinde mikrotitrasyon kabından alınan görüntü.....50
Şekil 4.1 FTIR Analizi: (a-I) PVA-SA, (a-II) PVA–SA-Ch, (a-III) PVA–SA–Ch-%0,005 AgNP, (a-IV) PVA-SA–Ch–%0,005 Ag NP–AMP; (b-I) PVA-SA, (b-II) PVA–SA-Ch, (b-III) PVA–SA-Ch–%0,1 Ag NP, (b-IV) PVA-SA–Ch–%0,1 Ag NP–AMP; (c-I) PVA-SA, (c-II) PVA–SA-Ch, (c-III) PVA–SA–Ch–%1 Ag NP, (c-IV) PVA-SA–Ch–%1 Ag NP–AMP 53
Şekil 4.2 XRD analizi: (a-I) PVA-SA, (a-II) PVA–SA-Ch, (a-III) PVA–SA–Ch-%0,005 Ag NP, (a-IV) PVA-SA–Ch–%0,005 Ag NP–AMP; (b-I) PVA-SA, (b-II) PVA–SA-Ch, (b-III) PVA–SA-Ch–%0,1 Ag NP, (b-IV) PVA-SA–Ch–%0,1

Ag NP–AMP; (c-I) PVA-SA, (c-II) PVA–SA-Ch, (c-III) PVA–SA–Ch–%1 Ag NP, (c-IV) PVA-SA–Ch–%1 Ag NP–AMP 54
Şekil 4.3 SEM görüntüleri – Histogram grafikleri: a) PVA-SA, b) PVA-SA-Ch, c) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP, d) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP, e) PVA-SA-Ch %1 AgNP, f) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP-AMP, g) PVA-SA-Ch %0,01 AgNP-AMP, h) PVA-SA-Ch %1 AgNP-AMP 55
Şekil 4.4 Degredasyon grafiği 58
Şekil 4.5 Hücre Canlılık Grafiği 60
Şekil 4.6 Hücreli SEM görüntüleri: a) PVA-SA-Ch % 0,005 AgNP, b) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP, c) PVA-SA-Ch %1 AgNP, d) PVA-SA-Ch % 0,005 AgNP-AMP, e) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP- AMP, f) PVA-SA-Ch %1 AgNP- AMP 60
Şekil 4.7 Antibakteriyel test sonuçları 62
Şekil 4.8 AMP kalibrasyon eğrisi grafiği 63
Şekil 4.9 %0,005 AgNP kalibrasyon eğrisi grafiği 64
Şekil 4.10 %0,1 AgNP kalibrasyon eğrisi grafiği 64
Şekil 4.11 %1 AgNP kalibrasyon eğrisi grafiği 65
Şekil 4.12 AMP kalibrasyon doğrusu 66
Şekil 4.13 %0,005 AgNP kalibrasyon doğrusu 66
Şekil 4.14 %0,1 AgNP kalibrasyon doğrusu 67
Şekil 4.15 %1 AgNP kalibrasyon doğrusu 67
Şekil 4.16 AMP kümülatif emisyon grafiği 68
Şekil 4.17 %0,005 AgNP kümülatif emisyon grafiği 69
Şekil 4.18 %0,1 AgNP kümülatif emisyon grafiği 69
Şekil 4.19 %1 AgNP kümülatif emisyon grafiği 70

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1 Laboratuvar genel malzemeleri 36
Tablo 3.2 Laboratuvarda Kullanılan Cihazlar 37
Tablo 3.3 PVA-SA oranının optimizasyonu 38
Tablo 3.4 PVA-SA-Ch oranının optimizasyonu 38
Tablo 3.5 AgNP ve AMP katkılı doku iskelelerinin üretilmesi 40
Tablo 4.1 Fiziksel test sonuçları 52
Tablo 4.2 Mekanik test sonuçları 57

ÖZET

Yara Örtüsü Uygulamaları İçin Nanopartikül ve Antibiyotik Yüklü Doku İskelelerinin 3D Basımı

Sema Tuğçe AYDIN

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Esra YÜCA YILMAZ

Günümüzde nanoteknolojik yaklaşımların özellikle doku mühendisliği, malzeme bilimi ve buna bağlı olarak biyomedikal alanına sağladığı üstün katkılarla birlikte, doğal yöntemlerle iyileşemeyen ya da iyileşmesi uzun süren kronik yaraların iyileşme sürecini hızlandıracak yara-yanık örtü malzemeleri geliştirilmektedir. Doğal, sentetik veya kompozit malzemelerin bir yara örtüsü oluşturmak amacıyla 3 Boyutlu (3B) olarak basımı, 3B yazıcıların geliştirilmesiyle mümkün hale gelmiştir. Yara örtüleri, yarayı kontaminasyondan korumanın yanı sıra yara bölgesine biyoaktif molekülleri vermek için de bir platform olarak kullanılabilir. Böylece, yara iyileştirme işleminde hem malzemenin kendine has özellikleri ile yara bölgesine destek olması sağlanır hem de ilaç gibi biyoaktif moleküllerin salımı ile bu süreç hızlandırılabilir.

Bu tez çalışmasının amacı, sodyum aljinat (SA), kitosan (Ch) gibi doğal polimerlerin, polivinil alkol (PVA) gibi sentetik polimer ile desteklenerek, antibiyotik ve gümüş nanopartikül içerikli antibakteriyel bir yara örtüsünün 3B basımını sağlamaktır. Malzemenin fiziksel özellikleri için yoğunluk, yüzey gerilimi ve viskozite ölçümleri ve mekanik özellikleri için çekme testi yapılmıştır. 3B basımı yapılan doku iskelelerinin morfolojik analizi için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır ve doku iskelesinde bulunan her bir por boyutu histogram grafiği ile gösterilmiştir. Doku iskelelerinin kimyasal analizi için Fourier

dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi kullanılmıştır ve kullanılan her bir polimer ve antibiyotiğe ait literatürle uyumlu spesifik pikler gösterilmiştir. Özellikle doku iskelesi içerisinde bulunan farklı oranlardaki gümüş nanopartiküllerinin ve kitosanın birbiriyle olan etkileşimine göre değişen yapısal analizleri X-ışını kırınımı (XRD) ile ölçülmüştür. Antibiyotik ve nanopartiküllerin antibakteriyel özellikleri, gram pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus*'a karşı disk difüzyon metodu ile incelenmiştir. Ayrıca doku iskelelerinin çapraz bağlanma etkisini ve bozunma davranışlarının analizi için degredasyon testi yapılmıştır ve *in vitro* sitotoksik özellikleri L929 hücre kültüründe MTT metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. Antibiyotik ve farklı oranlardaki nanopartiküllerin her biri için farklı zamanlardaki salım davranışlarının ölçümü UV spektroskopisi ile yapılmış ve bu salım davranışlarına göre kümülatif salım grafikleri hazırlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Yara örtüsü, 3B yazım, Gümüş nanopartikül, Hidrojeller, Antibiyotik

ABSTRACT

3D Printing of Nanoparticle and Antibiotic-Loaded Scaffolds for Wound Dressing Applications

Sema Tuğçe AYDIN

Department of Molecular Biology and Genetics

MSc. Thesis

Adviser: Assistant Prof. Esra YÜCA YILMAZ

Nowadays, with the contributions of tissue engineering and materials science, wound-burn dressing materials are being developed that will accelerate the healing process of chronic wounds that cannot be healed by natural methods or that take a long time to heal. 3D printing of natural, synthetic, or composite materials to create a wound dressing has become possible with the development of 3D printers. In addition to protecting the wound from contamination, dressings can be used as a platform to deliver bioactive molecules to the wound site. Thus, in the wound healing process, the material provides support to the wound area with its unique properties, and this process can be accelerated by the release of bioactive molecules such as drugs.

This thesis aims to provide 3D printing of an antibacterial wound dressing with natural polymers such as sodium alginate (SA), chitosan (Ch) with such a supporting synthetic polymer such as polyvinyl alcohol (PVA), containing antibiotics and silver nanoparticles. Density, surface tension, and viscosity measurements were made for the physical properties of the material and tensile tests were analyzed for the mechanical properties. Scanning electron microscopy (SEM) was used for the morphological analysis of 3D printed scaffolds and each pore size in the scaffold was shown with histogram graph. Fourier transformation infrared spectroscopy (FT-IR) was used for chemical analysis of scaffolds and specific peaks compatible with the literature for each polymer and used antibiotic are shown. In particular, the structural analyzes of silver nanoparticles and

chitosan in different proportions in the tissue scaffold were measured by X-ray diffraction (XRD). Antibacterial properties of antibiotics and nanoparticles were investigated against *Staphylococcus aureus* gram-positive bacteria by disk diffusion method. In addition, degradation test was performed for the analysis of the cross-linking effect and degradation behavior of the scaffolds. It was evaluated using the MTT method in L929 cell culture for the analysis of its *in vitro* cytotoxic properties. The measurement of the release behavior at different times for each of the antibiotics and nanoparticles in different ratios was made by UV spectroscopy. According to these emission behaviors, cumulative emission graphs were prepared.

Keywords: wound dressing, 3D printing, silver nanoparticles, hydrogels, antibiotics

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Yaralar, deri gibi bir organın yapısında basit veya şiddetli kopmadan kaynaklanan anatomik yapı ve fonksiyonda bir yaralanma veya bozulma olarak tanımlanabilir. Yaralanma; deri altı dokusu, kaslar, tendonlar, sinirler, damarlar gibi diğer dokulara ve yapılara uzanabilir [1–3]. Tüm vücut dokularına göre; yaralanma, sıyrık ve yanıklara en yatkın bölgemiz olan cilt, travma veya ameliyat nedeniyle hasara en çok maruz kalan dokumuzdur. Tam lezyon onarımının sağlanabilmesi için, fizyolojik olarak düzenli ve hızlı bir onarım gerekmektedir.

Genel sınıflandırmaya bakıldığında yaralar, onarım işleminin sürecine göre sınıflandırılır. Bu sınıflandırmaya göre, akut yaralar genelde tamamen iyileşebilen, olabilecek en az yara izi ile ve çoğunlukla 8-12 hafta süren bir iyileşme süreci olan doku yaralanmalarıdır. Cilt ile sert, keskin yüzeyler arasındaki temastan dolayı akut yaralar meydana gelir. Bunun yanı sıra mekanik yaralanmalar ayrıca bıçak ve silah atışlarının neden olduğu delici yaraları ve cerrahi yaraları (örneğin tümörleri çıkartılması), radyasyon, elektrik, aşındırıcı kimyasallar ve termal kaynaklar gibi çeşitli kaynakların neden olduğu yanıklar ve kimyasal yaralanmalar yine akut yaralar içinde sınıflandırılabilmektedirler.

Kronik yaralar ise, aksine, yavaş iyileşen (yaklaşık 12 hafta içinde iyileşmeyen) ve sıklıkla tekrarlayan doku yaralanmalarından kaynaklanır [4]. Kronik yaralar çoğunlukla enfeksiyon sebebiyle iyileşemezler ve enfeksiyonların yanı sıra, hayati yapıları etkileyebilecek önemli doku kaybını içerirler. Bu tür yaralar, yaralı bölgeye tekrarlanan travma veya diyabet, kalıcı enfeksiyonlar, zayıf birincil tedavi ve hasta ile ilgili diğer faktörler gibi altta yatan fizyolojik durumlar nedeniyle iyileşemez [5]. Bunlar, doku yenilenmesi sırasında düzenli olay dizisinin bozulmasına neden olur. Ayrıca, yara iyileşmesindeki herhangi bir yanlış düzenlenme, yaranın etrafındaki sağlıklı olan cilt dokusunun maserasyonuna dolayısıyla aşırı eksüdasyon üretimine yol açabilir [6].

Yara iyileşmesi, obezite ve tip II diyabet insidansının artması, yaşlanan bir nüfus (özellikle düşük doğum oranlarına sahip gelişmiş ülkelerde) ve daha etkili ancak aynı zamanda ekonomik malzeme gereksinimi gibi çeşitli zorluklarla küresel bir tıbbi endişe teşkil etmektedir. Doku rejenerasyonu, birbiriyle ilişkili birkaç biyolojik ve moleküler aktiviteyi içeren karmaşık süreçlerden meydana gelir [7].

Bir yaranın başarılı bir şekilde iyileşmesi için, yaralanan dokuyu yenilemek ve kaybolan dokuyu değiştirmek için farklı tipte hücreler ve reaksiyon yolları gerekir [8, 9]. Yara iyileşme süreci, kanamanın durdurulması (hemostaz), iltihaplanma (inflamasyon), hücre çoğalması (proliferasyon) ve doku yeniden modellenmesi (olgunlaşma) olmak üzere dört zincirleme ve birbirine bağlı fazdan oluşur [7–14].

Bir yaralanma sonrası cilt bütünlüğünün yeniden sağlanması, büyük ameliyatlar, kaza sonrasında yapılan müdahale ve acil servisler gibi ortamlar da dahil olmak üzere tıbbi uygulamada önemli bir durum arz etmektedir [15].

Yanlış veya düzenli olmayan yara iyileşmesini önlemede her faz için yeterli zaman ayırarak ilerlenmelidir. Yara iyileştirme sürecine yardımcı olan ve bunları destekleyen yardımcı sargılar ve cihazlar, yara bakımının yönetimi için önemli bir bölüm oluşturur. Yara örtüleri, hasarlı dokunun yeniden oluşturulması için optimum koşulları oluşturmayı ve sürdürmeyi amaçlamaktadır [8]. Bu hususta bir ideal yara örtüsü, alerjik ve toksik olmamalı, nemli ortamı korumalı, etkili oksijen değişimini desteklemeli, yarayı mikrobiyal organizmalara karşı korumalı ve yara eksüdasını emmelidir [16].

Yara örtüleri geleneksel olarak yarayı özellikle de bakteriyel enfeksiyonlara karşı korumak için kullanılır, ayrıca yara örtüleri, yaranın oluştuğu dokuya ilaç gibi biyoaktif moleküller vermek için de bir platform olarak da kullanılabilirler. Günümüzde bu tarz yara örtüleri, yara iyileştirme sürecinde çok da aktif bir rol almayan gazlı bez gibi geleneksel malzemeler yerine, malzemenin kendi başına ya da malzemenin de içine dahil edilen biyoaktif bileşenlerin salımıyla biyolojik aktiviteye sahip olacak şekilde tasarlanmıştır [2]. Dahil edilen ilaçlar nekrotik dokunun çıkarılması için temizleme aracı olarak yaranın iyileşme sürecinde doğrudan rol oynayabilir ya da dolaylı olarak doku rejenerasyonuna yardımcı olmak için enfeksiyon büyüme ajanlarını (büyüme faktörleri) önleyen ya da tedavi eden antimikrobiyal ilaçlar olarak aktif bir rol oynayabilir. Hastaların genellikle uzun tedavilere ve sık yara örtüsü değişikliklerine

maruz kaldığı kronik yara iyileştirilmesinde, kontrollü bir şekilde bir yara bölgesine ilaç ileten bir sistem, biyouyumluluğu ve terapötik sonuçları iyileştirebilir. Biyoyapışkan, polimerik (sentetik, yarı sentetik veya doğal olarak türetilmiş) yara örtüleri, yüksek sistemik dozları da belli ölçüde önler. Bu yara örtüleri, yara bölgesinde olması gerekenden fazla lokal antibiyotik konsantrasyonlarından kaçınmayı sağladığı gibi lokal enfeksiyonların tedavisinde de potansiyel olarak yararlıdır ve böylece hastanın maruz kalacağı fazla ilaç miktarını azaltır [17].

Biyomedikal uygulamalar için özellikle ilaçların gözenekli bir polimer matris ile kaplanmasına yönelik çeşitli yöntemler bulunmaktadır [18–22]. Bunlar arasında, hidrojeller nemli bir ortam sağlayabilirler ve uygun iyileşmeyi teşvik etmeye, dolayısıyla yara örtüsündeki saf olmayan nekrotik dokunun temizlenmesine yardımcı olurlar [23]. Fiziksel olarak çapraz bağlı hidrojeller tıbbi ve farmasötik uygulamalar için özellikle tercih edilirler, çünkü bunların hazırlanmasında toksik özellikli kimyasal çapraz bağlar kullanılmaz.

Şu anda pazarda yer alan yara örtülerinin çoğu, belirli koşullara uyacak şekilde veya hasta ihtiyacına göre belirli bir dozda ilaç sağlar. 3 Boyutlu (3B) basımı sağlanarak oluşturulan ilaç dağıtım sistemleri, medikal alanında özel ve kişi bazında yenilikçi çözümler sunabilirler [24].

Yara iyileşmesi için 3B baskılı hidrojel doku iskeleleri sayısız avantaj sunar. Bu avantajlar arasında formülasyonlar veya dozların, bireyin ihtiyaçlarına göre özelleştirilebilmesi, yara örtüsünün alan, kalınlık veya gözenek boyutu gibi boyutsal özelliklerinin uyarlanabilmesi, basit bir ilaç yükleme sürecinin olması, çok farklı türden ve çok çeşitli malzemelerin kullanılabilmesi sayılabilir. Ayrıca liyofilize hidrojel yara sargılarının süngerimsi yapısının yara eksüdalarını etkili bir şekilde emebilir olması ve uygun bir yara iyileşmesi için nemli bir ortam sağlayabilmesi diğer bir avantajdır.

Biyomateryallerin istenilen bölgeye özel geometrik şekillerle basılıp hücre ile muamelesi sağlanarak fonksiyonelliğine bakılır [25,26]. Fonksiyonel hale gelmiş bir basımın sağlayabileceği özellikler, hasarlı doku veya organların tedavisi ve naklinin sağlanabilmesi, kişiye özel olarak üretilen dokuların eldesi, toksik veya etkisi bilinmeyen tepkilerin kontrol altına alınmasına yönelik deneysel analizler, hayvan deneyleri için kullanılan hayvan miktarının en aza indirilmesi, *in vivo* denemelerdeki

risk ve maliyetin daha makul oluşu ve yeni malzeme, ilaç ve akıllı ilaç sistemlerinin test edilebilmesi şeklinde sıralanabilir [27].

Fonksiyonel hale getirilme sürecinde karşılaşılabilecek kısıtlamalar ise, yapay dokunun hücre üzerinde toksik bir parçalanma gösterebilmesi, tek hücre seviyesinde damarlanma gereksinimi, iç içe geçmiş ve karmaşık yapıda bulunan dokuların analizi ve taklit edilmesindeki zorluk, hücre canlılığının uzun vadede korunma zorluluğu ve hücre metabolizmasının işlev görebilmesi şeklindedir [28–30].

1.2 Tezin Amacı

Yara iyileşmesi süreci, obezite ve tip II diyabet görülme sıklığının özellikle gelişmiş ülkelerde yüksek bir oranla artışı, ayrıca uygun maliyetli ve güvenli malzemelerin gereksinimi gibi zorluklar sebebiyle tüm dünya çapında endişe veren bir sağlık sorunu haline gelmektedir [7]. Öyle ki, bu hastalıklara sahip kişilerde sıklıkla tekrarlanan doku yaralanmalarının oluşturduğu kronik yaralar, aşırı derecede kontamine olmasının yanı sıra genellikle eklemler, kemikler ve sinirler gibi hayati yapıları da etkilediklerinden ölümcül olabilirler [4, 5]. Bu yüzden kronik yaraların onarım sürecini hızlandırmak ve desteklemek amacıyla birçok araştırma yapılmaktadır.

Son yıllarda “geleneksel” olarak adlandırılan ve işlevi yalnızca yara ile dış ortamı ayıran sargı bezi türevi yara örtülerinin yerine “modern-gelişmiş” bir türü olan fonksiyonel yara örtüleri geliştirilmiştir. Bu tip yara örtülerinin geliştirilme amacı, kronik yaralar gibi yavaş iyileşen yaraların onarım sürecini kısaltarak, yaranın yinelenmesini engellemek ve sağlıklı şekilde onarımı için uygun koşulları sağlamaktadır. Ayrıca bu tür modern-gelişmiş ve fonksiyonel yara örtülerinin yapımında kullanılan polimerler antimikrobiyal etkisinin olmasının yanı sıra biyouyumluluğu ve biyoçözünürlüğü sayesinde hastaya zarar vermeyip yaranın iyileşmesine bağlı olarak vücutta çözünerek iz bırakmadan kaybolacaktır. Ek olarak gümüş nanopartiküllerin ilave edilmesiyle de planlanandan çok daha kısa sürede yaranın iyileşmesini sağlayacak, ayrıca ortamın kontaminasyonunu da önleyecektir [31].

Bu tez kapsamında yukarıda bahsedilen özelliklere sahip, 3B bir yazıcı vasıtasıyla basımı gerçekleştilen, antibakteriyel ve antienflamatuar özelliklere sahip, ampisilin ve gümüş

nanopartikül içeren polivinil alkol / sodyum aljinat / kitosan bazlı çok fonksiyonlu bir yara örtüsü üretilerek karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Diğer üretim yöntemleriyle üretilen yara örtülerinde ayarlanamayan, hücrelerin belirlenen en uygun geometrik şekle göre 3B basımı sağlamıştır.

1.3 Hipotez

Mekanik mukavemeti artıran sentetik bir polimer olan polivinil alkol (PVA), hücresel yapışma ve büyümeyi artırıcı etkisi nedeniyle sodyum aljinat (SA) ve yara iyileştirici ve yara bırakmayan özellikleri ile kitosan (Ch) ve enfeksiyona karşı yarayı korumak için antibakteriyel ajan olarak ampisilin ve gümüş nanopartiküller kullanılabilir. Bu kompozit yapının, istenilen geometrik ve yapısal özelliklere göre 3B basımının sağlanmasıyla antibakteriyel ve iz bırakmayan bir yara örtüsü oluşturulacaktır.

2
GENEL BİLGİLER

2.1 Yaralar

Yaralar, etkilenen cildin alanına göre de karakterize edilir [32]. Sadece epidermal cilt yüzeyini etkileyen yaralanma, “yüzeysel bir yara” olarak adlandırılırken hem epidermisi hem de kan damarları, ter bezleri ve saç folikülleri dahil olmak üzere daha derin dermal tabakaları içeren yaralanma “kısmi kalınlıkta yara” olarak adlandırılır. Epidermis ve dermal tabakalara ek olarak altta yatan deri altı yağı veya daha derin dokular hasar gördüğünde ise “tam kalınlıkta yaralar” adını almaktadır. Ayrıca, iyileşmesi zor olan hem akut hem de kronik yaralar, cilt, saç ve ilişkili bezleri içeren bütünlüğün kapsamlı kaybı "karmaşık yaralar" olarak tanımlamıştır; doku kaybına neden olabilecek bir enfeksiyon meydana geldiğinde, doku ölümü veya ölüm gibi daha ciddi sonuçlar doğurabilir [33].

Enfeksiyon, çoğunlukla bakteri ve bazen mantarlar gibi konakçı patojenlerin doğal bağışıklık sistemi ile rekabet ettiği durumlarda yaralarda ortaya çıkar. Açık yaralanmalardaki sıkça görülen enfeksiyon, gecikmiş yara iyileşmesinin nedeni olarak belirtilir [34–38]. Enfekte yaraların iyileşme yönetimindeki önlemler yetersiz ise bakteriyemi ve septisemi oluşabilir. Bu mikroorganizmalar tarafından canlı dokunun istilası, pürülan akıntı, ağrılı yayma eritem veya yumuşak doku tahribatına yol açabilecek bir yara etrafındaki semptomatik tabaka gibi bir dizi lokal ve sistemik konakçı tepkisini kışkırtır [39, 40]. Yüksek mikrobiyal yükün yara iyileşmesini geciktirmede ciddi etkileri vardır ve bakteriyel biyofilm oluşumu, kritik kronik yaraların aracılarından biridir [41]. Ter bezleri ve saç köklerindeki mikroorganizmalar, gastrointestinal ve üst solunum yolları ve *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'un varlığı, yanıkların neden olduğu yaraların yaklaşık %75'inin kontaminasyon yoluyla cilt greftinin iyileşmesini önemli ölçüde azaltmıştır [42, 43]. Biyolojik yük ve lökositlerin göç, fagositoz ve hücre içi öldürme ile başa çıkamaması lokal doku nekrozu, hipoksi, iskemi ve insan immün yetmezlik virüsünün veya kemoterapisinin neden olduğu gibi bazı bağışıklık eksiklikleri, yara enfeksiyonunu teşvik eden faktörlerdir.

Dünya çapında milyonlarca hasta dış epitel dokusu yani deri kaynaklı yaralardan müzdariptir. Bu yaralar, hastaların sosyal yaşamları ve ekonomik düzenleri üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu gibi sakatlık ve ölümle sonuçlanabilir [44–46].

2.1.1 Geleneksel Yara Örtüleri

Şu anda piyasada bulunan yara örtülerinin çoğu, yara iyileşme sürecinde sadece pasif bir rol oynamaktadır. Geleneksel yara örtü malzemeleri içerisinde genelde pamuk, doğal veya sentetik bandajlar ve gazlı bezler bulunur. Bu tarz malzemeler, belirli bir işlevi yerine getirmesi için bir kompozit yara örtüsünün parçası olarak kullanılabilirler. Geleneksel yara sargıları, daha gelişmiş sargılarla, kronik yaralar ve yanıklar için nemli bir ortam sağlamadıklarından büyük ölçüde değiştirilmiştir.

Geleneksel yara örtüleri bir miktar bakteriyel koruma sağlayabilir, ancak yara örtüsünün dış yüzeyi ya yara eksüdasyonu ya da harici sıvılarla nemlendiğinde kaybolur [47]. Ayrıca, geleneksel yara örtüleri çok az oklüzyon sağlar ve nemin buharlaşmasına izin verir, bu da susuz kalmaya neden olur ve buna bağlı olarak, sıvı üretimi azaldıkça çıkarılması ağrılı olduğu için yaralara daha yapışık olma eğilimindedirler. Antibiyotikler, güçlü anti-mikrobiyal ajanlar veya seyreltilmiş konsantrasyonlarda mikroorganizmaları inhibe eden veya öldüren yüksek özgüllü kimyasallardır. Genellikle belirli bir hücre hedefine etki ederler, çoğunlukla toksik değildirler [34, 49].

Geçmişte, ciltteki enfeksiyonu önlemek için ana amaç yaranın bulunduğu yeri kuru tutmaktı, ancak gelişmiş yara yönetimindeki temel amaç, yaranın iyileşmesini sağlayan dengeli bir nemli ortamının sürdürülmesidir [8]. Nem açısından zengin bir ortam, hızlı yara iyileşmesine yardımcı olan hücre hareketlerini güçlendirerek istenilen yara iyileşme sürecini hızlandırabilir.

Gazlı bez ve türevleri, yara örtüsü değişiklikleri sırasında enfeksiyona sebebiyet verebilen biyolojik yükü azaltabilen antimikrobiyal ajanlarla da işlevselleştirilebilir. Yaygın olarak kullanılan antiseptik ajanlar arasında gümüş salan ajanlar da bulunur ve yara bölgesindeki mikroorganizmaların büyümesini öldürmek için kullanılabilir [39]. Bununla birlikte, fibroblastlar, keratinositler ve muhtemelen lökositler gibi etkili yara

iyileşmesi için gerekli olan sağlıklı dokulara ve hücre bileşenlerine zararlı olabilirler [49].

2.1.2 Modern Yara Örtüleri

Kronik yaraların hızlı ve tamamen iyileşmesini sağlamak için yara iyileşmesinde aktif rol oynayan ileri terapötik yara örtüleri ciddi bir araştırma konusudur. Dünya çapında muazzam finansal yük nedeniyle hızlı yara iyileşmesini sağlamak için yeni strateji arayışı var [50].

Yara tedavisi hem cerrahi hem de cerrahi olmayan yaklaşımları içerebilir; bu hususta yara örtüleri en yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Modern yara örtüsü, sadece yarayı kaplamaktan ziyade yaranın iyileşme sürecini de kolaylaştırmalıdır [51, 52]. Bu nedenle, gazlı bez ve bandaj dahil yaygın yara örtüleri, yara yatağında kimyasal madde birikimini önlemek ve aynı zamanda yara eksüdasını dengeli bir şekilde kontrol ederek iyileşmeyi teşvik eden ve minimum yara izi oluşumu ile optimum cilt dokusu rejenerasyonu olasılığını artıran uygun miktarda nem oranını sağlayan daha yeni yara örtüleriyle (örneğin filmler, köpükler, hidrojeller, hidrokolloidler) değiştirilmiştir [53–55].

Yara örtüleri, yaraları doğrudan tedavi etmek için kullanılırlar ve enfeksiyonlarla mücadele için antimikrobiyal ilaçları yara bölgesine vermek için kullanılabilirler [56, 57]. Yara örtüleri, genellikle biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak bozunur ve esnek mekanik davranışları nedeniyle eklemler (dizler, ayak bilekleri ve dirsekler) gibi zor alanlara uygulanmasını kolaylaştırırlar [58]. Yara üzerine uygulandığında, yara eksüdasının aşırı üretimini önleyebileceği gibi yara bölgesinde yeni bir enfeksiyon gelişimini de azaltabilir [59]. Ayrıca, filmler saydam oldukları için yara yatağının çıkarılmasına gerek kalmadan kolayca gözlemlenmesini sağlarlar, bu da yara örtülerinin yenileme sıklığının azalması nedeniyle hastayı iyileştirmek için yararlı olur.

Yara bölgelerine kontrollü ilaç dağıtımı için hem sentetik hem de doğal olarak oluşan polimerleri içeren kompozit örtüler de vardır. Çapraz bağlama ve degradasyon oranına göre de, istenen ilaç salım programına göre polimer oranları uyarlanabilir [60]. Polimerik formülasyonlardan ilaç salımında, polimerin sıvılarla hidrasyonu, bir jel

oluşturmak amacıyla şişme özelliği, ilacın polimer matrisi yoluyla difüzyonu ve polimerik sistemin degredasyonu ölçülerek kontrol edilir [12, 17, 61].

2.1.3 Yara-Yanık Örtüsünde Kullanılabilen Malzemeler

Yara örtüleri formülasyonunda kullanılan polimerik malzemeler doğal inert, doğal biyoaktif ve sentetik polimerler olarak genel bir şekilde sınıflandırılabilir. Bu tezde doğal biyoaktif polimer olarak SA ve Ch, sentetik polimer olarak ise PVA kullanıldı.

SA, glukuronik ve mannuronik asitten doğal olarak oluşan bir kopolimerdir ve kahverengi yosundan türetilmektedirler. Tıpkı kitosan gibi kolay işlenebilirler ve çok az toksik olması, biyobozunur olması ve por yapısının kontrol edilebilmesi sebebiyle yara örtülerinde ve gıda ürünlerinde kullanılırlar [62–64]. Aljinat içerikli yara örtü malzemeleri, özellikle yüksek eksüdanslı yaralarda yüksek emme kabiliyetinden dolayı oldukça kullanışlıdır [65]. Aljinat bazlı malzemeleri kan pıhtılaşmasını teşvik ettiği [66] ve cilt yenilenme kabiliyetini arttırdığı keşfedilmiştir [67, 68]. Biyouyumluluk, biyo-rezorpsiyon ve jelasyon kolaylığı nedeniyle biyomedikal bilim ve biyomühendislikte muhtemelen en fazla uygulamaya sahiptir. Aljinat genellikle ilaç verilmesi ve doku mühendisliği uygulamaları da dahil olmak üzere yara iyileşmesi için bir hidrojel formunda kullanılır [60].

Kitin, doğada selülozdan sonra en çok bulunan polimerdir ve çoğunlukla ıstakoz, karides gibi kabuklu deniz hayvanlarından elde edilen, yapıdan asetil uzaklaştırılmasıyla elde edilen polimerlerdendir [64, 69]. Kitosan yara örtüleri ve ilaç salım sistemlerinde çok fazla kullanılan, toksik olmayan ve iyi bir katalizör özelliği taşımasından dolayı doğa dostu olan bir polimerdir. En büyük dezavantajı ise iskelet yapısında dayanıklılığının düşük olmasıdır ancak yine de hücrelere kolayca bağlanması en büyük avantajıdır.

Ch, hemostaz ve antibakteriyel aktivite de dahil olmak üzere ideal yara iyileşme özelliklerine sahiptir [70, 71]. Dermal ve epidermal yaraların onarımını daha da geliştirmek için granülasyon dokusu oluşumunu ve ardından kolajen liflerinin birikmesini uyarabilme yeteneği vardır. Ch, kitinin alkali deasetilasyonu ile yaygın olarak elde edilen ve biyouyumluluk, biyobozunurluk, toksik olmama, antimikrobiyal

ve anti-mantar etkileri gibi ayırt edici özellikleri nedeniyle yaygın olarak biyomedikal malzeme olarak kullanılan yarı kristal bir polisakkarittir [16, 72]. Ch ayrıca hemostaz simüle ettiği ve doku oluşumunu hızlandırdığı için yara iyileşmesi için de yararlıdır. Bazı çalışmalar, Ch çözeltilerinin asidik koşullarda karıştırılmasının, sıcaklığı düşürerek fiziksel olarak çapraz bağlanmış, ısıya dayanıklı hidrojeller oluşturabileceğini göstermiştir [73, 74]. Hipertrofik skar oluşumu, Tip I ve tip III kollajenlerin dengesiz aktivitesi sebebiyle oluşur. Ch kullanıldığı açık yaralarda bu türden yara izlerinin de iyileştiği tespit edilmiştir, bu da Ch'nin yara izi önleyen bir özellikte olduğunu göstermektedir [75].

PVA, hidrofobik olma ve yüksek kristalinite özelliklerine rağmen biyobozunurluğu sırasında polimerin molekül ağırlığında azalmayla sonuçlanan ve ilk aşamada rastgele zincir kesilmesi, ardından ikinci aşamada ise fagositoz ya da vücut sıvısında çözünmeye maruz kalan bir poliester türü polimeridir. Bu dezavantajlarından dolayı çok fazla tercih edilmese de uzun süreli kullanımlar için daha kullanışlıdır [75–77]. PVA hidrojelleri, doku iskelelerine yüksek hidrofiliklik, elastikiyet ve biyouyumluluk gibi özellikler sağlar ve bu bakımdan doku için uygulanabilir haldedir [79]. PVA, hazırlanan hidrojel iskelelerin mekanik özelliklerini iyileştirir ve böylece hidrojellerin stabilitesini artırır [80]. PVA pek çok farklı medikal uygulamalarda karşımıza çıkmaktadır. Örneğin, lens malzemelerinde, yapay kalp kapakçıklarında, yapay kıkırdak dokularında, pankreas zarı gibi yapılarda ve yara örtü malzemesi olarak kullanılabilir [80–82]. Buna ek olarak, genellikle biyolojik olarak uyumlu olmaları ve yukarıda tarif edilen doğal polimerlerden daha yüksek mekanik mukavemete sahip olmalarının yanı sıra uzun süreli tutunma imkânı sağlayan biyo-yapışkanlardır.

Bir hidrojel, üç boyutlu bir hidrofilik polimer ağı olarak tanımlanabilir ve çeşitli sulardan hazırlanabilirler [84]. Hidrojeller, jelatinimsi doğalarını değiştirmeden geniş ölçüde şişmelerine izin veren hidrofilik zincirlerin varlığı nedeniyle büyük miktarlarda suyu emebilir [85]. Jöle benzeri doğaları nedeniyle kuru, pürüzlü veya nekrotik yaralarda kullanılabilirler, ancak genellikle yara yatağına yakın tutmak için ikincil bir sargıya ihtiyaç duyarlar. Hidrojeller, toksik ve partikülat içerik göstermeyen, yapışkan olmayan malzemelerdir. Gama radyasyon çapraz bağlanması, yara bakımında kullanılan steril hidrojelleri elde etmek için kullanılan malzemeler agar gibi doğal polimerleri ve polivinilpirolidon (PVP) ve PVA gibi sentetik polimerleri içermektedir.

İyi tanımlanmış mimariye ve fiziksel yönelime sahip olan, potansiyel yara örtüleri olarak doku iskeleleri üretmek için 3B basım gibi yöntemler literatürde sıkça kullanılmıştır [86]. 3B baskı spesifik olarak, biyouyumlu doku iskelelerini tasarlamak için uygun polimer solüsyonlarının basılmasını içerir. Basımı biten doku iskelelerinin mikro yapıları, doku rejenerasyonuna sağlayan malzeme kullanımını ve sonrasında hücre bağlanmasını sağlayarak iyileşme sürecini oldukça hızlandırır [51, 86]. Ayrıca, doku iskelesi (film) imalatı için diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, 3B baskı, 3B mimariler kullanılarak tasarlanabileceğinden, önceden belirlenmiş gözenek boyutlarına sahip daha esnek matrislerin üretilmesini kolaylaştırır [28, 88].

Bu konuda bazı çalışmalar yapılmıştır; Leong ve arkadaşları, sağlıklı ve optimal doku rejenerasyonunu kolaylaştırabilen 3B baskılı doku iskelelerinin ideal fiziksel özelliklerini belirlediler [89]. Araştırmaları, katı serbest biçimli tasarlanmış scaffoldların, biyomedikal bir ortamda doku mühendisliği için gerekli genel ve spesifik mimari özelliklerin çoğunu karşıladığını gösterdi. Liu ve arkadaşları ise, *in vivo* fareler modelinde tam kalınlıkta yaralara uygulandığında sodyum aljinat ve jelatin bazlı 3B biyobaskılı matrislerin etkisini araştırdılar ve ayrıca yara iyileşme ilerlemesi sırasında meydana gelen histopatolojik değişiklikleri gözlemlediler [90]. Terapötik 3B biyo-baskılı matris, düzenli boyutlu gözeneklere sahip katmanlardan oluşan jelatin-aljinat iskelesinden oluşuyordu. Araştırmacılar, tedavi edilmeyen fareler için ortalama 15-17 gün ve 3B baskılı yara örtüleri ile tedavi edilen hayvanlar için 13-15 gün iyileşme süresi bildirmiştir. Ayrıca, mikroskop altında histolojik gözlemler, tedavi edilen farelerde 3B baskılı doku iskelenin daha iyi iyileşme performansını doğruladı. Biyolojik olarak aktif jelatin-aljinat baskılı yara örtüsünün, granülasyon oluşumunu arttırarak iyileşme sürecini hızlandırdığı sonucuna varmışlardır. Muwaffak ve arkadaşları, 3B baskı kullanarak polikaprolakton bazlı antimikrobiyal yüklü yara örtüleri ürettiler ve farklı metallerle (bakır, gümüş ve çinko) yüklediler ve bunları fiziksel ve antimikrobiyal özellikler için karakterize ettiler [91]. Araştırmacılar, çeşitli formüle edilmiş yara örtülerinin 24 saat boyunca hızlı bir ilk salım ve ardından sonraki 48 saat içinde daha yavaş salım ile çift salım profili sergilediğini gösterdi. 3B baskılı doku iskelelerinin kişiye özel yara örtüleri olarak kullanım potansiyeline sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Bu özellik, biyokimyasal ve fizyolojik olarak kompleks olan ve farklı hasta gruplarında farklı kronik yaralarda da uygulanabilir olduğunu gösterdiler.

2.1.4 İlaç İçeren Yara Örtüleri

Farklı yara tipleri, sıvı emilimi, yara üzerinde kalma süresi ve mekanik mukavemet gibi farklı özelliklere sahip farklı sargı malzemeleri gerektirir. Yara iyileşmesine nispeten yeni bir yaklaşım, yara iyileşme sürecinde aktif rol alabilen çeşitli çoğunlukla antibakteriyel ajanları içeren polimerik yara örtülerinin kullanımıdır. Bu bileşiklerin materyaldeki fiziksel özellikleri ile birlikte aktiviteleri, yara iyileşme oranını artırabilirken, aynı zamanda yara iyileşmesini bozabilecek bazı faktörleri de ortadan kaldırabilir. Hidrojeller, hidrokolloidler, köpükler ve filmler, antimikrobiyaller, anti-enflamatuar ajanlar, analjezikler, büyüme faktörleri (GF's), proteinler ve takviyeler gibi çeşitli bileşikleri doğrudan yara bölgesine vermek için kullanılabilir, böylece verimi arttırır [57].

Antimikrobiyal ilaçlarla yüklü birçok yara örtüsü, enfekte olmuş yaralarda bakteri-mantar kaynaklı biyolojik yükünü azaltmak ve iyileşme sırasında yeniden enfeksiyonu önlemek için antimikrobiyal özellikteki polimerik yara örtüleri kullanılarak geliştirilmiştir. Özellikle antibiyotik içeren yara örtüleri, isteğe göre düzenlenebilir, hızlandırılabilir salım özellikleri ile spesifik gereksinimleri karşılayarak ilaç endüstrisinin maliyetini düşürebilir [92]. Bu tez çalışmasında kullanılan ampisilin, ilk olarak 1987 yılında ABD'de geliştirilen ve pazarlanan bir β-laktam/β-laktamaz inhibitörü kombinasyonudur [93]. Ampisilin genişletilmiş spektrumlu penisilin türündendir. Kronik bronşit, solunum yolu enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, salmonelloz ve endokardit gibi birçok bakteriyel enfeksiyonu önlemek ve tedavi etmek için kullanılır. Ampisilin, penisiline göre sadece ek bir amino grubuna sahiptir ve bu sayede gram pozitif ve bazı gram negatif bakterilere karşı aktiftir [94]. İlacın ana mekanizması ise; hücre duvarı yapısının oluşumundan sorumlu enzimler olan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) bağlanarak bakteri hücre duvarı sentezini inhibe eder. Ampisilin, tüm penisilinler gibi, açil-D-alanil-D alaninin yapısal bir analoğu olarak görev yapar ve hücre duvarının ana bileşeni olan peptidoglikan oluşumunun son aşamasından sorumlu olan transpeptidaz enzimini asile eder [93].

2.2 Biyomalzemeler

İnsan vücudundaki doku veya sistemlerle etkileştiğinde uyum sağlayabilecek ve yan etki göstermeyecek biyomedikal ürün ihtiyacını karşılamaya yönelik malzemeler üzerine yoğun bir araştırma yapılmaktadır. Özellikle biyomedikal ihtiyaçların karşılanması için kullanılan malzemelere "biyomalzemeler" denir ve günümüzde biyouyumlu, güvenilir ve etkin olan biyomalzemelerin önemi ve uygulama alanı gün geçtikçe artmaktadır. Biyomalzemeler, sürekli veya belli aralıklarla vücut sıvılarıyla etkileşim halindedirler [95]. Hiçbir zaman doku, organ veya fonksiyonların orijinallerinin yerine geçemeseler de biyomalzemeler, herhangi bir hastalık veya sakatlıkla ortaya çıkan hasarların tedavisini sağlamak, geliştirmek veya fonksiyonunu yerine getirmek üzere destek sağlamaktadır [96].

Yeni bir kavrammış gibi görünse de biyomalzemelerin kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır. 2000 yıl öncesine bakıldığında Mısır'daki mumyalarda bulunan yapay göz, burun ve yine aynı zamanda diş için kullanılan altın buna verilecek en güzel örneklerindendir.

Yine tarihe baktığımızda 1938 yılında, insan vücudundaki kemik kırıklarında plaka ve vida olarak kullanılan ilk metal vanadyum çeliğidir. İskelet kırıklarının tedavisinde kullanılan ilk sentetik protezler başarılı olsalar da korozyona uğradıklarında ciddi tehlikeler oluşturmuşlardır.

Ardından 1950'lerde kan damarlarının değiştirilmesi ve yapay kalp vanalarının bir polimer türü olan poliüretanla yapımı ve 1960'larda ise kalça protezlerinin paslanmaz çeliklerle yapımı bu tarihsel süreci izlemektedir.

Kullanılan bu malzemeler yalnızca protez olarak değil, ekstrakorporeal cihazlarda da yani vücut dışında fakat vücutla etkileşim halindeki cihazlarda, çeşitli eczacılık ürünlerinde ve tanı kitlerinde de kullanılmaktadırlar. Henüz tam olarak çözülemeyen bazı sorunlar olsa da bu sorunlara çözüm üretmek için moleküler biyoloji ve doku mühendisliği alanlarıyla, özellikle nanoteknolojinin etkin kullanımıyla bu problemlerin çözülmesi hedeflenmiştir [97].

2.2.1 Biyouyumluluk

Malzemelerin kullanımındaki en büyük etken malzemenin seçimi olup, kullanılan malzemenin vücut koşullarında herhangi bir korozyon oluşturup oluşturmadığı, biyouyumluluk derecesi, alerjik reaksiyon oluşturma biçimi göz önüne alınır [96].

Bir biyomalzemenin vücut dokularına göre fiziksel, kimyasal, biyolojik uyumu en önemli özelliğidir bu bağlamda biyouyumluluk özelliği, bir biyomalzemenin vücuda uygun cevap verebilme ve vücudun biyomalzemeyi kabul edebilme özelliğidir. Bazı biyomalzemeler, kullanıldığı organ veya dokuda hücrelerin gelişimine engel olabilecek ve istenmeyen bazı tepkiler oluşturabilir, bu nedenle bir biyomalzemenin en önemli özelliği "biyouyumlu" yani vücut ile uyuşur olmasıdır [98]. Bir biyouyumlu malzeme, etrafını çevreleyen dokularda iltihap, pıhtı gibi olumsuz etki göstermeyen malzeme sınıfıdır.Doğal dokuların rejenerasyonunu sağlayan biyomalzemeler vücut sıvılarıyla uyum göstermesi için geliştirilmektedir. [99].

Öncelikle vücut dışında ve daha sonra vücut içerisindeki testler yapılmalı, bunu takiben klinik denemelerle malzemenin biyolojik güvenilirliği ve etkinliği tespit edilmelidir. Biyomalzeme çevresinden alınan doku örneklerinin morfolojik incelemesi, biyomalzemenin biyolojik uyumluluğu hakkında fikir sahibi olabilmemizi sağlamaktadır. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan biyomalzemeler birçok testten geçtikten ve biyouyumluluğu onaylandıktan sonra sahada kullanımı mümkündür. Tüm bu testlere rağmen biyomalzemelerin alerjik, immün, immün olmayan, mutajenik, karsinojenik ve inflamatuar etkileri olabilir. Bu yüzden, kullanılacak biyomalzemenin test sonuçları çok önemlidir [100].

Biyomalzemenin türlerini metaller, seramikler, polimerler ve kompozitler olmak üzere 4 ana gruba ayırabiliriz.

2.2.2 Metaller

Kristal yapıları ve güçlü metalik bağlara sahip olması sebebiyle üstün mekanik özellikler taşıyan bu malzemelerin (titanyum ve titanyum alaşımları, paslanmaz çelikler, altın kobalt, metal ve metal alaşımları gibi) biyomalzeme alanında katkıları büyük olmasına rağmen biyouyumluluklarının düşük olması, korozyona uğramaları, dokuya göre sert olması, yüksek yoğunlukları ve alerjik doku reaksiyonlarına sebep olan metal

iyonlarının salımı [101] gibi bazı ciddi dezavantajlara sahiptir [41]. Bugün ortopedide eklem protezi ve kemik yenilenmesi, yüz ve çene cerrahisinde, diş implantında, kalp ve damar cerrahisinde kullanılmaktadırlar [95]. İnsan vücut sıvılarında bulunan su, çözünmüş oksijen, protein, hidroksit gibi iyonlar içermektedir, bu yüzden de oldukça korozif bir ortamdır [101]. Malzeme geçirdiği korozyon sonucunda zayıflar, fakat daha da önemlisi bu korozyon hücrelere zarar verebilir. Bu sebeple test edilmeleri oldukça önemlidir [102, 103]. Metal biyomalzemeler çelikler, kobalt ve alaşımları, amalgam, altın, nikel-titanyum alaşımları ve titanyum-alaşımları olmak üzere 6 grupta incelenir.

2.2.3 Seramikler

İnsanlığın yerleşik hayata geçmesiyle ve ateşin keşfiyle birlikte kilin seramiğe dönüştürülmesiyle seramikler, vücudun zarar gören veya işlevini yitiren organların onarımı ve yerini alabilmesi için özel seramiklerin geliştirilmesinin önünü açmıştır. Bu amaçla kullanılan seramikler "biyoseramikler" olarak adlandırılırlar ve bunlar polikristalin yapılı seramik, biyoaktif cam, biyoaktif cam seramikler veya biyoaktif kompozitler olarak hazırlanabilirler. Seramikler; sağlık sektöründe çeşitli uygulamaların yanı sıra, gözlük camları, tanı cihazları, termometreler, doku-hücre kültür kapları ve endoskopide kullanılmaktadır. Ayrıca sert doku implantı olarak bağ dokunun tamiri ve yenilenmesinde, dişçilikte ise dolgu malzemesi olarak kullanılırlar. Biyoseramiklerin dezavajları ise, klinik kullanımlarında çatlak oluşumu, mekanik dayanıklılıklarının çok az oluşu, kırılgan ve işlenmesi zor yapılarından kaynaklanmaktadır [104]. Biyoseramik türleri, alümina, zirkonya, kalsiyum-fosfat seramikler ve cam, cam seramikler olmak üzere sınıfladırılabilir [105].

2.2.4 Polimerler

Polimerler, doğal olarak canlı organizmalardaki selüloz, protein ve nükleik asitlerde ve sentetik olarak, üretilen çimento, cam, kâğıt ve plastik olarak bulunur. Bazı polimerler tek bir monomerden oluşmuşken, kopolimer olarak adlandırılan doğal ve sentetik, iki veya daha fazla monomer tarafından da oluşmuş olabilir. Özellikle biyomedikal alanında kullanılan polimerler farklı polimer katkılarıyla fizikokimyasal özellikleri

geliştirilereklif, film, boncuk ve nanopartikül gibi biyomalzeme yapımında kullanılmaktadırlar [59].

Polimerler, üretim amacına göre farklı şekillerde sınıflandırılabilirler.

Polimerlerin kaynağına göre sınıflandırılması: Organik ve inorganik polimerler olarak sınıflandırılabilir [106].

Endüstride kullanılan polimerlerin sınıflandırılması: Genel olarak elyaflar (fiberler), sert plastikler, Esnek plastikler ve elastomerler olarak 4 ana sınıfa ayrılabilir [106].

Polimerlerin monomer çeşidine göre sınıflandırılması: Homopolimer, Komopolimerler ve Terpolimerler olarak 3 grupta sınıflandırılabilir [107].

Polimerlerin zincir şekline göre sınıflandırılması: Doğrusal, dallanmış ve çapraz bağlı polimerler olarak 3 grupta sınıflandırılırlar [106, 108], [109].

Genel sınıflandırılma ise şu şekildedir:

1. **Doğal Polimerler**

Doğal polimerler özellikle doku mühendisliği ve ilaç salım sistemlerinin oluşturulmasında yan etkileri azaltmak veya tamamen ortadan kaldırmak amacıyla kullanılırlar. Polisakkaritler ve proteinler doğal polimer olarak sınıflandırılırlar. Doğal inert polimerler biyouyumlu olmalarından dolayı yaygın olarak bitki, bakteri, mantar veya hayvanlardan elde edilebilirler. Doğal biyoaktif polimerler, biyouyumlulukları ve biyobozunurlukları nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır ve ayrıca yara iyileşme süreci üzerinde aktif bir terapötik etkiye sahiptirler. Çoğu doğal vücut matrisinin bir parçasını oluşturur ve doğal yara iyileşme sürecinin bir parçası olarak fizyolojik aktiviteye sahip bileşenler içerir. En yaygın biyoaktif polimer sargı malzemeleri arasında Ch ve SA bulunur.

2. **Sentetik polimerler**

Doğal polimerlerle karşılaştırıldığında benzer kimyasal özelliklere sahip olmalarından dolayı sentezlenen malzemelerin tekrar üretilmesi kolaylık sağlamaktadır. Yara örtülerinde sentetik polimerler arasında PVA yaygın olarak bulunur. Hidrofilik yapıları, aşırı eksüdasyon birikmesini önlerken nemli bir yara ortamının bakımını sağlayan nem

emme kapasitesi ve su buharı iletimi gibi önemli fonksiyonel yara iyileştirme özellikleri kazandırır [110].

Sentetik polimerin bulunduğu yara örtüleri, elektrospinning ve 3B doku iskelesi tasarımı gibi çeşitli teknikler kullanılarak üretilebilir [111]. Genellikle, sentetik malzemeler, yara örtüsünün mekanik özelliklerini geliştirmek için doğal veya biyoaktif polimerler ile çeşitli karışımlar halinde hazırlanılır. Örneğin, poliüretan-dekstran nanofiber matlar [112] veya poli etilen glikol ve Ch [113], bunların her ikisi de siprofloksasin hidroklorürün varlığı nedeniyle antibakteriyel aktiviteye sahip yara örtü malzemesidir.

2.2.5 Kompozitler

Yukarıda bahsedilen metaller, seramikler ve çeşitli polimerler kullanılarak biyomalzemelerin, tek başına uygulandığında ortaya çıkan eksiklerini ortadan kaldırılıp daha gelişmiş türde bir biyomalzeme elde edildiği sınıftır. Örneğin ortopedide karşılaşılan en büyük problemlerden biri kemik yapımı için kullanılan metal veya seramik materyallerin sertlik ve kırılganlık derecelerinin uyuşmamasından kaynaklanır. Kullanımlarındaki olumsuzlukları ortadan kaldırmak amacıyla farklı kimyasal yapıda farklı sayıdaki malzemenin bir araya getirilerek oluşturulan kompozit malzeme bu sorunu önemli bir derecede çözmüştür [114]. Kompozitler, matris olarak adlandırılan bir malzeme içerisine çeşitli güçlendirici malzemelerin katılmasıyla hazırlanır.

2.3 Nanoteknoloji

Tanım olarak teknoloji: "Bir bilim dalıyla ilgili yapım yöntemlerini, kullanılan araç, gereç ve aletleri, bunların kullanım biçimlerini kapsayan uygulama bilgisi" olarak literatüre geçmiştir [115]. Ana amacı, insanların yaşamlarını daha kolay bir hale getirerek bir işte harcanılan zamanı azaltmak, insanoğlunun yararına göre mevcut yapıları değiştirmek ve bu yapıların amacına uygun olarak geliştirilme işlemlerini kapsayan tüm alanlar bu teknoloji terimine bağlı olarak tanımlanmaktadır. Bu yüzden bugün bu terimi nano dediğimiz yani bir metrenin milyarda birinde uyguladığımızda bu teknoloji "Nanoteknoloji" adını almaktadır.

Biyoteknoloji ise, sağlık alanından tarım bilimlerine kadar çeşitli alanlarda yararlı ve kolaylık sağlayan hizmetler ve yeni ürünler geliştirmek için biyoloji biliminin çeşitli alt dalları; genetik, moleküler genetik ve hücresel işleyişi ihtiyaca ve tabi ki isteğe göre gerekli teknik bilgileri kullanan bir teknolojidir. Nanobiyoteknoloji ise, geleneksel olarak uygulanan mikroteknolojinin, moleküler yaklaşımlardan faydalanarak; nanoteknoloji ve biyoteknolojinin kombinasyonunu içeren yeni bir teknolojidir. Bu teknolojiyi kullanarak, moleküler ve atomik derecelerdeki makinelerle, biyolojik olayları direkt olarak etkileyen veya versiyonlarının laboratuvar ortamında üretildikten sonra, sistemin moleküler düzeyde ve çeşitli özelliklerini belli oranda manipülasyonunu sağlayan araçları üretilebilir [116].

Bir veya daha fazla dış ölçüsü nano boyutta olan malzemeler, Nano malzemeler/materyaller olarak adlandırılırlar [116, 117]. Eğer nano malzemelerin 3 dış ölçüsü de 100 nm'den küçükse buna "nanopartikül, quantum dots, nanoshell, nanoring ve nano kapsül", 2 dış ölçüsü 100 nm'den küçükse "nanotüp, nanotel ve fiber" ve yalnızca 1 dış ölçüsü 100 nm'den küçükse "ince film, katman ve kaplama" olarak isimlendirilir [119].

Aynı malzemenin farklı üretim yöntemleriyle üretilmesi, farklı özelliklerin elde edilebilmesini sağlar. Malzemelerin özellikleri makro anlamda renk ve parlaklık, mikro anlamda mekanik, fiziksel ve kimyasal ve nano anlamda ise atomsal boyutu ifade etmektedir. Bu sebeple de makro/mikro ve nano boyutta sahip olduğu özellikler her boyutta farklılık gösterir. Yani aynı malzemenin optik, mekanik, elektriksel ve renk gibi özellikleri nano boyutta farklı veya tam tersi bir özellik gösterebilir. Ki bunun başlıca nedeni makro ve nano boyutlarda ölçülerin sürekliliğinin değişmesi ve boyutun küçülmesiyle birlikte malzeme yüzey alanlarının hacimlerine oranın artmasıdır [119–121].

Kısaca;

-Makro yapılar: Gözle görülebilen ve rahatça ölçülebilen sistemlerdir.

-Mikro yapılar: Gözle görülemeyen ve mikroskop altında tanımlanabilen sistemlerdir.

Temele bakıldığında, aynı tür malzemelerin makro ve mikro özellikleri eştir.

-Nano yapılar ise atomsal ve nano boyuttaki sistemleri ifade eder. Mekanik, kimyasal, fiziksel ve ayrıca termal süreçler neticesinde nanoboyutlar elde edilirler.

Geleceğin teknolojisi olarak düşünsek de aslında nanoteknolojik ürünlerin üretimi antik dönemlerden başlar. 4. yüzyılda yapılmış Lycurgus Kupası nanoteknolojinin en büyük başarı örneklerindendir. Bu kupanın en önemli özelliği renk değiştirmesidir; önden aydınlatıldığında yeşil, arkadan aydınlatıldığında kırmızı renge değişir. Kupanın sırrı ise ancak 1990 yılında çözülebilmiştir. Kupa soda-kireç camıyla yapılmıştır bu cam içerisinde %1 oranında altın ve gümüş ve %0,5 oranında da manganez bulunduğu gösterilmiştir. Daha sonraki yıllarda ise elektron mikroskobu ve radyograf kullanılarak yapılan incelemelerde kupa camında 50-100 nm boyutlarında altın ve gümüş parçacıkların ihtiva edildiği kanıtlandı. H.A Atwer ise bu renk değişiminin metal nanopartiküllerin plasmon uyarımı ile açıklanmıştır.

21. yüzyıla geldiğimizde, hastalık tanı ve tedavisinde, çevresel etkenlerin izlenmesi ve korunumunda, enerji üretim ve depolamada, tarımda verim artışına sağlamakta, gıda kalitesinin ve raf ömrünün uzatılmasında ve komplike yapıların inşasında nanoteknoloji bize en yeni uygulamaları sunmaktadır. Geliştirilen ürünler daha az malzemeyle, daha az enerji kullanılarak yapılabilir ayrıca maliyetlerinin düşük olması ve kolayca taşınabilmeleri açısından hem çok fonksiyonlu özellik sunar hem de kullanımda kolaylık sağlar [117].

Boyutları 1-100 nm arasında olan nanopartiküller metal, seramik, polimer ya da kompozit sistemlerin özelliklerinin geliştirilmesiyle nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır. Bu bağlamda, günlük yaşamda da sık bir şekilde bu nanopartiküllerin, özellikle kaplama, yüzeyler ve bazı fonksiyonel özellikli yapılarda yaygın olarak kullanıldığını görmekteyiz. Başka bir örnek ise oda sıcaklığında hızlı ve tekrar tekrar kendini yenileyebilen nikel nanopartikül takviyeli kompozitlerden oluşan sentetik materyallerdir. Bu materyaller kesildikten sonra yaklaşık 30 dakika içerisinde eski haline dönebilirler, yani kendi kendine bir onarım sistemi oluşturmalarından dolayı akıllı protezlerde kullanılması öngörülmektedir. Ayrıca nanopartikül katkılı kumaşlarda yapılan kaplama su geçirmeyen, kendi kendini temizleyebilen ve hatta güneş ışınlarını engelleyen kıyafetler üretmek mümkündür [124].

Cüce anlamına gelen nanos sözcüğünden gelen “Nano” ön eki Uluslararası Birimler Sisteminde milyarda bir veya 10^{-9} anlamına gelir [125]. Nano ölçekteki ölçümlerde kullanılan bazı görüntüleme cihazları; Tarayıcı Elektron Mikroskopları, Geçirimli Elektron Mikroskopları, Tarama Tünelleme Mikroskopları, Alan İyon Mikroskopları, Atomik Kuvvet Mikroskopları şeklinde sıralanabilir. Bu cihazların hepsi nano ölçekte görüntüleme için kullanılmaktadır ve bu sayede nanometrik ölçümler alınabilmektedir [126].

Günümüzde doğru tedavinin yapılabilmesi için hem erken hem de doğru teşhisin konulması çok elzem bir ihtiyaçtır. Kanser, Alzheimer, Diyabet, Parkinson gibi birçok hastalıkların tanı ve tedavisinde, seyrinin incelenmesi gibi farklı amaçlar doğrultusunda nano ölçekli mateyaller ve nano elektronik biyosensörler üretilmektedir. Nanoteknolojinin, tıp alanıyla ilgilenen dalına Nanotıp denir ve en önemli uygulamalarından biri de ilaç salınımıdır. Günümüzde pek çok araştırmacı tarafından çalışılan bu uygulamalar, nanopartiküllerin ilaçları bir taşıyıcı araç olarak taşıması ve hasarlı-hastalıklı hücrelere hedeflendirilmesini içerir. Bu sayede taşıdıkları ilaç, sağlıklı hücreler üzerinde bir etki göstermeden yalnızca hasta hücrelere etki etmesini sağlayacaktır. Kemoterapi ilaçlarının nanopartikül sistemlerince taşınımı, kanser tedavisinde uygulanabilecek etkin bir yöntemdir.

Nanobiyoteknolojinin farklı *in vitro* ve *in vivo* stratejiler kullanılarak sağlık bilimlerindeki uygulamaları arasında; hedeflenmiş ilaç taşınımı, hastalıkların tanısı, moleküler görüntüleme, nano farmasötikler, nanoarray’ler ve hücre-gen terapisi sayılabilir [127–129].

İltihaplı veya hastalıklı dokuların farklı anatomik varyasyonları, farklı türlerde ve kapsamlı, hedeflenmiş nano-yapılı ürünlere olan ihtiyacı gösterir. Nanobiyoteknolojinin bu bağlamdaki avantajları, hastalıklı dokuların farklı fizyolojik veya patolojik parametrelerinden yola çıkılarak farklı ilaçların dokuya hedeflenmesi [130], normal şekilde alınan ilaçların fazla kullanılmasındaki israfın önüne geçmesi [131], bozulmuş lenfatik drenaj ile birleştiğinde tümörlerde vasküler geçirgenlik artışı, ayrıca iltihaplı dokularda nanosistemin sadece o dokulara girişini sağlayarak, sağlıklı hücrelere bu yapıların girmesinin önüne geçer [132, 133]. Yani, Nanosistemler tümör veya iltihaplı dokuların seçici lokalizasyonunu yapabilir [134], nanopartiküller kan-beyin bariyerini geçebilir, bu nedenle beyne taşınması gereken ilaçları bir ilaç taşıyıcısı olarak taşıyabilir

[135–137], ilaç yüklü nanopartiküller dokuya veya hücreye özgü nakliyeyi değiştirir ve potansiyel toksik etkileri azaltarak ilaç etkinliğini artıran hedefli ilaç dağıtımı olarak kullanılabilir [138, 139], nanodiamondlar ise, hastalıkların tespiti için (örneğin; Alzheimer hastalığında) floresan biyobelirteçler olarak işlev görebilir [140].

2.3.1 Nanoteknolojinin Çevre Üzerine Etkisi

Çevre için nanoteknolojinin uygulamalarında en dikkat çekeni su arıtım süreçlerindeki uygulamalardır. Nano membranlar, karbon nanotüpler, nano killer ve alumina fiberler gibi malzemelerin düşük maliyetli, taşınabilir ve kolayca temizlenebilmesinden dolayı kullanılan sistemlerdir. Özellikle nanofiltreler atık sulardaki kimyasal atıkları, bakterileri, virüsleri, zehirli eser elementleri ve petrol-yağ gibi sıvı kirlilikleri de temizleyebilir [141]. Bilim insanları nanoteknolojik malzemeleri sentezlemek için klasik yöntemler dediğimiz kimyasal yöntemleri kullanılırlardı. Ancak günümüzde artık "Yeşil enerji ve çevre" olarak adlandırdığımız (Green energy & environment) "Çevre Dostu" metodlar ile nano yapılar maya, mantar bakterileri veya bitkilerden elde edilen özütler ve metal iyonları sayesinde *in vitro* veya *in vivo* şekilde sentezlenebilir. Aslında onları bu kadar kullanışlı hale getiren özellikleri; makro yapılarındaki yüzey kimyası, yüzey alanı, boyut, şekil ve fonksiyonelleştirme gibi özelliklerin nano yapıdaki olan değişimidir ve bu sayede de çok çeşitli ticari ve medikal uygulamalara entegre olan nano yapıların, çevreye dolayısıyla insan sağlığına olan etkileri ve olası riskleri hakkında ne yazık ki hala çok fazla bilgi bulunmamaktadır. [142].

Sentezin "Çevre Dostu" olabilmesi için uygulanması gereken bazı kurallar vardır; Atığı önlemek, sentezin daha az tehlikeli kimyasallarla yapılması ve bu bağlamda daha güvenli kimyasalların tasarlanması, enerji verimliliğinin kontrolünün sağlanması, yenilenebilir ham maddelerin kullanımının teşviki ve ekstra reaktif gerektiren, atık madde miktarını arttıran gereksiz türevlendirme işlemlerinin en aza indirgenmesi [143].

Özetle, nano-tabanlı biyoteknoloji, ilaçlarda geniş bir uygulama yelpazesi ve günümüzde tedavisi mümkün olmayan hastalıklar için, gelecekte nano ölçekli cihazlar tarafından etkili bir şekilde tedavi potansiyeli sunmaktadır.

Nanobiyoteknolojik tıbbi tanı ve tedavilerdeki uygulamalar yüksek düzeyde fayda sunmasına karşın, güvenlik ve risk faktörlerinin yeterli şekilde değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir.[144].

2.3.2 Nanomalzemeler

Yaklaşık olarak 100 nm ve altında ölçeklere sahip olan malzemelerdir ve bu ölçekleri sayesinde eşsiz özellikler sağlamaktadırlar. Nanomalzemeler, organik ve inorganik olmak üzere iki grupta incelenebilir. İnorganik nanomalzemeler, yapılarında karbon elementi bulunmayan ve farklı elementlerden meydana gelen nanoyapılardır. Organik nanomalzemeler ise bileşiminde karbon elementi bulunan nanoyapılardır [145]. Nanomalzemeler, ölçeksel özellikleri bakımından sınıflandırılmışlardır.

Nanomalzemelerin elde edilmesinde iki ana yaklaşım bulunmaktadır;

1- Aşağıdan yukarıya yaklaşımı ("bottom-up"), moleküler nanoteknolojiyi belirtir, maddenin en temel birimi olan atomlardan başlayarak atom atom, molekül molekül inşa edilmesi yöntemini ifade eder.

2- Yukarıdan aşağıya yaklaşımı ("top down"), makineler, asitler ve benzeri mekanik ve kimyasal yöntemler kullanılarak nano yapıların üretimini ve işlenmesini ifade eder. Teknolojinin bugünkü seviyesi dikkate alındığında yapılan çalışmaların birçoğu yukarıdan aşağıya (top-down) yaklaşımıyla gerçekleştirilmektedir [145].

Nanopartiküller: Aynı zamanda nanoküre veya nanokapsül olarak da isimlendirilen nanomalzemeler büyüklükleri 10-100 nm arasında değişen koloidal partiküller şeklindedir. İnorganik antibakteriyel ajanlar grubuna ait olan gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), geniş bir antibakteriyel etki spektrumuna sahiptir. AgNP'lerin yüksek miktarlarda kullanıldığında bile ilaç direncini azaltmazlar [146]. AgNP'ler; mikroorganizmaların hücre zarından geçerler ve bu şekilde mikroorganizmanın DNA'sındaki kükürt ve fosfor gruplarına bağlanmasıyla DNA'nın hasar görmesine neden olurlar [147]. AgNP'lerin genel etki mekanizmaları ise öncelikle bakterilerle doğrudan bir etkileşim kurarak membran bütünlüğünün bozulmasını sağlar. Konakçı hücrede immün yanıtlarının tetiklenmesini sağlar ve biyofilm oluşumunu inhibe edici özellik gösterir. Ayrıca, reaktif oksijen türlerinin üreterek, hücre içi protein sentezinin

inhibisyonuna sebebiyet verir. Genel olarak etkili olsalar da etkilerini artırmak için ilaç katkısı gibi modifikasyonlar hala mümkündür. Nanopartikül boyutu ile yüzey alanı/hacim oranı ile antibakteriyel etki arasındaki ilişki incelenmiştir ve buna göre AgNP dağılımı ve boyutu, toplam antibakteriyel yüzey alanı antibakteriyel etkinliği doğrudan etkiler [148].

Nanomalzemelerin üretimindeki gelişmelerle nanotıp alanında, ticari olarak temin edilebilen nanopartikül katkılı ilaçların sayısı hızla artmıştır.Nanopartiküller aracılığı ile ilaç dağıtımı bu alanlardan biridir. Birçok hastalık tedavisinde ana engel, terapötik ilacın hedef bölgeye taşınmasıdır. Seçicilik eksikliği, sınırlı etkinlik ve kötü dağılım gibi bu dezavantajlar ve sınırlamaların üstesinden kontrollü ilaç dağıtım sistemi yoluyla, sadece etki etmesi gereken bölgeye ilacın taşınması, hayati dokular üzerindeki istenmeyen etkileri azaltılabilir [149]. İlaç verme sistemi ilacı hızlı bozulmadan koruyarak sadece hedef dokularda ilacın oranını arttırır [150, 151]. Bu tedavi şekli, özellikle ilaç oranı ile oluşturduğu terapötik etkisi arasında tutarsızlık olduğunda önem kazanmıştır.

Nano-ölçekli hale getirilmiş ilaç kapsülleme ile (örneğin içi boş kapsüller ve organik dendrimerler), kontrollü ilaç salımı hiç olmadığı kadar hassas hale getirilebilir. Kapsülleme işlemi, terapötik olarak önem arz eden bir maddeyi (gen terapisi, kemoterapi, radyasyon terapisi) taşımak ve ayrıca görüntüleme uygulamaları sayesinde daha doğru bir görüntülemeyi sağlamaktadır [152]. Ayrıca oral yoldan uygulanamayan bazı ilaçların artık nanobiyoteknoloji yardımıyla kullanılması mümkün olacaktır [153, 154]. Nanolaştırılmış formülasyonlara yüklenen ilaçlar, biyo-yapışma yoluyla retansiyonu arttırarak yüksek pH ve artan ilaç ömrünün varlığında denatürasyon veya bozunmaya karşı duyarlı ajanlara koruma sağlar [155]. Nanobiyoteknolojinin uygulamalarından biri de aşılar için antijenlerin verilmesidir [156], [157].

Nanomalzemelerin diğer bir terapötik uygulaması nanoboyutlu gen taşıyısı olarak kullanılmalarıdır. Kistik fibroz, kanser, kas yıkımı ve Parkinson gibi hastalıklarla ilişkili genlerin terapisi yolu ile insan hastalıklarının etkili tedavisini sağlamıştır [158].

2.4 Üç Boyutlu Biyoyazıcılar

İnsan vücudunun rejenerasyon yeteneği oldukça kısıtlıdır bu sebeple meydana gelebilecek herhangi bir hasarda ya uygun donörün bulunması ya da kadavradan nakil alınması ve bu şekilde kişideki hasarın onarımının sağlanması gerekir. Bu hasar onarımında uygun donörün bulunabilmesi ve vücudun dokuyu kabul edip bir immünolojik yanıt göstermemesi gerekir. Buna karşın, bu şartları sağlamak ve kısa sürede ihtiyaca yönelik doku elde etmek oldukça zordur. Özellikle doku mühendisliği ve rejeneratif tıp gibi alanlar hasarlı doku-organ üzerine çalışmalar yaparak bu zorlukların önüne geçmeyi amaçlamaktadırlar. Günümüzde, 3B biyoyazıcıların geliştirilmesi ve biyolojik yapıların taklidini oluşturmak üzere çeşitli biyomalzemelerle basımının elde edilmesiyle birlikte, doğadaki işleyişe uygun hiyerarşik mimariyi sunabilen bir modern teknoloji haline gelinmiştir. Bir biyobasım işlemi, daha fazla hücresel ve fonksiyonel işlevi yerine getirebilmesi için biyouyumlu ve belirli bir ihtiyacı karşılayabilen farklı türdeki biyomalzemelerin ilave üretim tekniği ile katman-katman basımının yapılmasıdır [99].

Biyobasımı yapılacak malzemelere biyomürekkep adı verilir ve farklı malzemelerce farklı oranlarla kişiye özel olarak üretilir [26, 170]. Bilgisayar ortamında hasarlı dokuya yönelik 3B modelleme yapılarak, biyomürekkebin basımı gerçekleştirilir ki bu da, 3B fonksiyonel yapıların oluşturulmasının temelidir [171, 172,30]. Bu modern teknoloji sayesinde, canlı fonksiyonel doku ve organların, yapay yöntemlerce geliştirilmesiyle herhangi bir vücut hasarının onarımı kolayca sağlanabilir [28]. 3B basımı planlanan bir iskelede, por yapısı gibi ayarlamalar sayesinde hücre yapışması, hücre olgunlaşması, hücreler arası iletişim ve gaz-besin alınımının istenilen ölçüye göre belirlenmesini sağlar [162].

3B yazım, bilgisayarda çizilen bir veriyi alarak, biyolojik doku veya organların muadillerine benzer olarak taklit eden ve elle tutulabilir olarak basımını sağlayan modern bir teknolojidir [28, 174, 175]. Ortaya çıkan ürünlerin tasarım değeri yüksek, özgün ve kullanıcıların ihtiyacına cevap verebilecek optimum özelliklere sahip olması önemlidir.

3B biyoyazıcıların kullanımıyla kazanılan avantajlar başlıca şunlardır: 3B yazıcıların kullanılmasıyla geleneksel yöntemlerle üretimde ihtiyaç duyulan makine, teçhizat ve

işçilik oldukça azalır, bu bağlamda işçilik azaldığı için zamandan kazanç sağlanır. Kişiye özel medikal ürünlerin 3B olarak basımı sağlanabilir, ham madde kullanımı ve buna bağlı enerji tüketimi azalabilir [165].

Üretim sektöründe, tedarik zincirinin yeniden şekillenmesi için bir fırsat oluşturabilir ve bu şekilde daha az kaynak kullanarak tüketicilere daha hızlı ve ucuz ürünlerin ulaşmasını sağlanabilir. Endüstri çağının getirdiği yenilikler arasında 3B yazıcılar örnek gösterilebilir. 3B yazıcılar, her geçen gün artan kullanımları ve farklı sektörlerde başarılı örnekleri sayesinde bugün, 3B yazıcıların sağlık alanındaki uygulamaları arasında canlı hücreler ile organ ya da doku oluşturulması, biyouyumlu metallerden ya da materyallerden implant geliştirilmesi sağlanmaktadır [25, 177, 178]. 3B yazıcılar bilgisayar verisini el ile tutulabilir gerçek nesnelere dönüştüren makinelerdir. Üretimi sağlanan ürünlerin tasarım değeri yüksek olması ve kullanıcıların ihtiyacına cevap verebilecek optimum özelliklere sahip olması önemlidir [174, 179].

1980'li yıllarda, 3B baskı teknolojisinin icat edilmesinden günümüze kadar birçok alanda kullanılmıştır. 3B yazıcılar günümüzde, üretim sektörü perspektifinde yıkıcı teknoloji (disruptive technology) olarak sınıflandırılmıştır. Bunun en büyük nedeni ise insanların ihtiyaç duydukları şeyleri bir firmadan yüksek fiyatlardan satın almak yerine daha düşük maliyetlere evinde ya da iş yerinde üretebiliyor olmasıdır.

Çok yönlü baskı teknolojisi ile çeşitli amaçlarda kullanılmak üzere modeller elde edilmektedir. Örneğin, fotoresist filmlerin kullanımı ile katman hassasiyeti yüksek modeller alınıp diş tedavisinde kullanılabilmektedir. Başka bir örnekte ise deri, kıkırdak, tendon, kalp kası ve kemik gibi canlı hücrelerin de kullanıldığı biyoyazıcılar ile 3B yapılar oluşturulabilmektedir [169].

3B doku örneklerinin oluşturulması sürecinde ön-işleme, işleme ve işlem sonrası aşamaları mevcuttur. Ön-işlem aşamasında organ formunun ortaya çıkartılması için MRI gibi biyogörüntüleme sistemleri kullanılır. Elde edilen görüntüler standart taslak kütüphanesine (STL) formatına dönüştürülür. İşlem aşamasında ise biyoyazıcılar canlı hücrelerin içinde barındırıldığı biyomürekkepler kullanır. Bu süreçte istenilen tasarımlar elde edilir ardından işlem sonrası sürecinde ortaya çıkan 3B doku örneği cerrahi yöntem kullanılarak implante edilir [26].

Üç boyutlu yazıcı teknolojisiyle tıp, uzay ve havacılık, kalıpçılık, otomotiv, askeri donanım, kişisel araç gereç, heykel gibi birçok alanda farklı amaçlar doğrultusunda kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknoloji ile yapılan akademik çalışmalara bakıldığında genelde ürün geliştirme, canlı doku ve organ baskısı gibi uzmanlık alanları gerektiren, kişiye özel cerrahi cihazlar, yüz ve bacak protezleri, işitme yardımcıları, diş alanında dental uygulamalar, ortopedik implantlar gibi değişik alanlarda özellikle çalışıldığı görülmektedir. Ayrıca sanat çalışmalarında ön modelleme aşamasında kullanılarak çalışmaların niteliğinin önceden belirlenmesine olanak sağlamıştır [170].

Eklemeli üretim (Additive Manufacturing = AM), web üzerinde tasarlanan 3B bir model verisinin, çoğunlukla katman katman basımının yapılarak materyallerin bir araya gelme işlemi olup, bu işleme hızlı üretim (rapid manufacturing) ya da hızlı prototipleme (rapid prototyping) de denmektedir. Yukarıdan aşağıya olan prensibin uygulanması makinada işleme ya da presleme gibi üretim esnasında daha büyük bir materyalden nihai ürünü elde etmek için materyallerin bir kısmını uzaklaştırmasını sağlamaktadır. Ancak aşağıdan yukarıya prensibin uygulanmasıyla meydana getirilen eklemeli üretim, ürünün son şeklini malzeme ekleyerek, katman katman oluşturmaktadır. Böylelikle verimli bir ham madde kullanımı ve istenilen geometrik şeklin basımı daha efektif biçimde elde edilir [171].

2.4.1 Üç Boyutlu Yazıcıların Sağladığı Avantajlar ve Aşılması Gereken Sınırlamalar

3B yazıcıların kullanılmasıyla geleneksel yöntemlerle üretimde ihtiyaç duyulan makine, teçhizat ve işçilik minimize edilir. Frezeleme, tornalama gibi talaşlı işleme üretim yöntemlerine gereksinim duyulmadığı için ciddi işçilik gerektiren işlemleri ortadan kaldırır ve bundan kaynaklı olarak işçilik azaldığı için zamandan kazanç sağlanır [165]. Sağlık ürünlerinin 3B basımı, bireysel müşterilerin ihtiyaçlarına göre özelleştirilebilir, böylelikle hızlı, doğru ve maliyeti düşük olarak kullanıcılara sunulabilir. Ham madde kullanımının ve enerji tüketiminin bu şekilde azaltılması, israfı belli ölçüde önleyebilir.

3B basım teknolojisinin getirdiği tüm bu yenilik ve avantajlara rağmen *in vivo* olarak kullanılması planlanan biyomalzemenin içeriği ve optimizasyonunun sağlanması, vaskülarizasyon ihtiyacı, doku içeriğinin karmaşık doğasının çözülmesi, hücre canlılığı ve rejenerasyonunun uzun vadede korunması gibi ciddi kısıtlamalar da bulunmaktadır.

2.4.2 Üç Boyutlu Yazıcıların Çalışma Prensibi

Karmaşık nesneler, dijital ortamdaki bilgisayar destekli tasarım dosyalarıyla 3B yazıcılar kullanarak elde edilebilmektedir. 3B yazıcı tasarımında Autocad, 3DS MAX, SketchUp, Thinkercad, Autodesk123D, Solid gibi yazılımlar kullanılmaktadır [182].

Yazdırılacak nesnenin 3B modeli bilgisayarda bir tasarım programı yardımıyla veya tarayıcılar kullanılarak oluşturulur. Oluşturulan bu model dosya olarak 3B yazıcıya aktarımı sağlanır ve bu aşamadan sonra özel katmanlama programları aracılığıyla işlem gerçekleştirilir. İnce tek (flament) olarak adlandırılan mürekkep hammaddesini kullanarak dijital modeller nesnelere dönüştürülür. 3B yazıcılarda hammadde olarak plastik toz, reçine, oyun hamuru, seramik, metal, yiyecek malzemeler, biyomateryal malzemeler, çimento, cam, çeşitli metaller, metal alaşımları ve bileşik malzemeler kullanılmaktadır [185, 186].

3B Yazıcı türleri genel olarak seçici lazer sinterleme (Selective Laser Sintering - SLS) , katmanlı yığın modelleme (Fused Deposition Modelling - FDM) [175], bağlayıcı yazdırma (Binder Jetting - BJ) [176] ve inkjet Yazdırma şekilnde 4 gruba ayırmamız mümkündür.

2.4.2.1. Seçici Lazer Sinterleme (Selective Laser Sintering – SLS)

Bu teknikte, STL dosyasındaki çizime göre lazer ışın toz formdaki maddeyi sinterleyerek, yazdırma yüzeyindeki platformun -Z yönüne olan hareketlerini takiben katman oluşturarak 3B bir basımı sağlamaktadır [177].

2.4.2.2. Katmanlı Yığın Modelleme (Fused Deposition Modelling – FDM)

Bu teknik ise öncelikle plastik materyallerin basımını sağlamak amacıyla geliştirilmiştir [178]. –x, -y ve – z eksenlerinde hareket kabiliyetine sahip yazdırma başlıkları kullanılarak bu başlıklarda ekstrüzyona uğratılan ve erime noktasının hemen üzerinde platforma aktarılan materyalinin hızlı bir şekilde katı forma geçmesi sağlanmaktadır. Daha sonra başlık, platforma aktardığı ve artık katı forma geçmiş olan materyalinin üzerine ikinci tabakayı yazdırmaya başlamaktadır. Bu şekilde katmanlar halinde 3B üretim tamamlanmaktadır [187, 191]. Bu sistemdeki önemli noktalardan biri, dış ortamın sıcaklığı ile yazdırılan materyalin sıcaklığı arasındaki ilişkidir.

2.4.2.3. Bağlayıcı Sıvılarla Yazdırma (Binder Jetting – BJ)

Bu teknikte, yazdırma platformu dizaynı ve materyal formu SLS yöntemi ile benzerlik göstermektedir. Ancak güç kaynağı olarak lazer kullanılmamaktadır. Toz formdaki ham maddelerden oluşan yazdırma platformunun üzerine, birden fazla yazıcı başlığı olan sistemler aracılığı ile –x ve –y eksenleri boyunca sıvı uygulanarak şekiller oluşturulmaktadır. Ardından ikinci katmana geçilmekte ve katmanlar oluşturuldukça, yazdırma platformu –z ekseninde aşağıda doğru hareket etmektedir [176]. Bu teknik nispeten diğer tekniklere göre oldukça hızlı olmasına rağmen kurulum maliyeti de oldukça yüksektir [180].

2.4.2.4. Inkjet Yazdırma (Inkjet Printing)

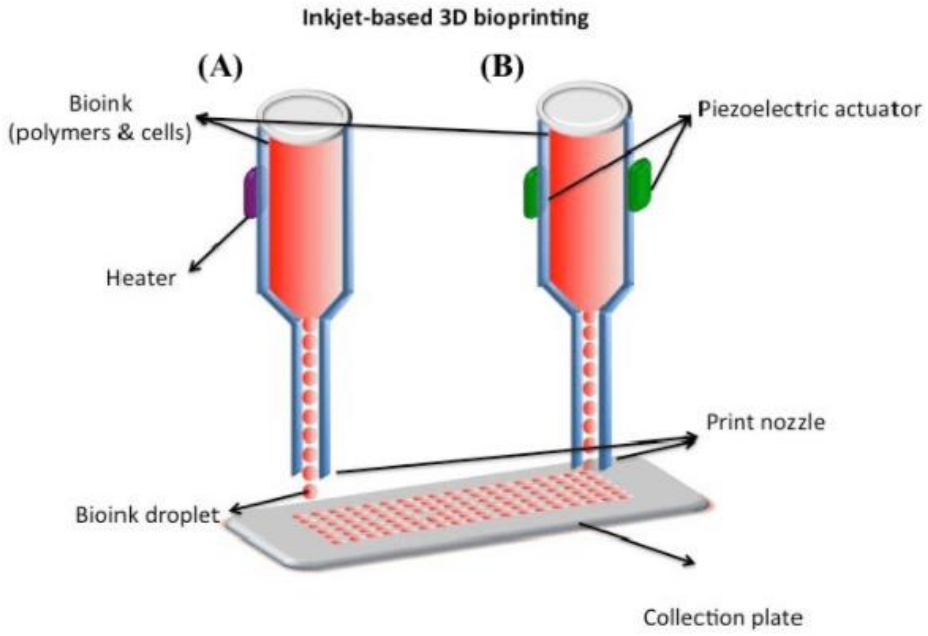
Teknik, günlük hayatta kullandığımız kartuş temelli klasik yazıcılardaki prensibe dayanmaktadır. Yazdırılacak materyal çok küçük damlacıklar halinde bir başlık aracılığıyla yazdırma platformuna püskürtülmektedir. Yazdırılması istenen geometrik şekle göre aralıklarla veya sürekli olarak dozlama yapılabilen bu yöntemde, önceden hazırlanmış ürünlerin tamamlanmasını sağlarlar [177].

Bir biyo-basım sürecinin nasıl ilerleyeceği hakkında karar verirken dikkat edilmesi gereken birçok nokta vardır. Bunların en başında seçilen canlı dokunun karmaşık doğasına uygun, biyouyumlu malzemenin seçilip dokuya özel ve basılabilir formülasyonunun optimize edilmesidir. Basım işlemine geçildiğinde ise amaç, por çapları, poların yapısı ve derinliği, malzemenin yoğunluğu gibi fizyolojik durumun kontrol edilmesidir. Tüm bu noktalara bakıldığında doku iskelesinin yapısal olarak çözülüp nasıl bir basım tekniğinin uygulanacağı son derecede önemlidir. Biyo-basım tekniklerine bakıldığında:

2.4.3. Mürekkep Püskürtmeli Tabanlı Biyobasım

2 boyutlu mürekkep püskürtmeli yazıcılardan ilham alınarak türetilen ve literatürde yaygın olarak karşılaşılan biyobasım teknolojisidir. İşlem özetle; bilgisayar yardımıyla seçilen substratın üzerine pikolitre hacimli (1-100 pL) içerisinde 104-304 hücre içeren damlacıklar ısı veya mekanik sıkıştırma yoluyla elektrik verilerek oluşturmaktır [193–196]. Bu damlacık oluşturma işlemi, Sürekli olarak damlacık oluşturma (CIJ) ve İsteğe

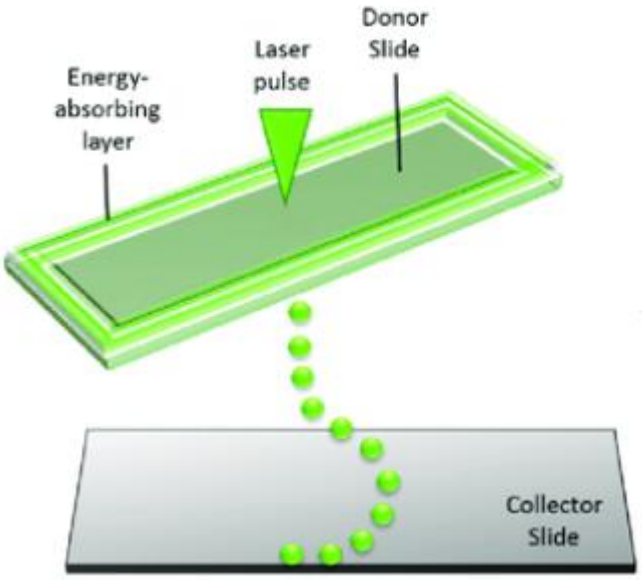
bağlı damlacık oluşturma (DOD) olarak ikiye ayrılır. CIJ, DOD'a oranla daha hızlı üretim sağlasa da kontaminasyon riski fazla olduğundan ve yüksek viskoziteli solüsyonlarda kullanılamadığından biyomedikal olarak kullanılmamaktadır.



Şekil 2.1 Mürekkep püskürtmeli tabanlı biyobasım şeması [185]

2.4.4. Lazer Destekli Biyobasım

Bu basım stratejisinde, hücreleri bir solüsyondan, daha hassas ve mikrometre çözünürlükte basmak için bir lazer tarafından solüsyon ısıtılarak bir hava cebi oluşturulur ve ardından bir yüzeye transferi sağlanır [186]. Herhangi bir iğne ucuna gerek duyulmadığından, bu strateji ile yüksek viskoziteli malzemelerin hassas basımı sağlanabilir. Başlangıçta metallerin doğrudan yazılımını sağlamak için geliştirilse de, hücreler, nükleik asitler ve peptitler gibi biyolojik materyallerin de basımı belli bir ölçüde sağlanmıştır [199–201].

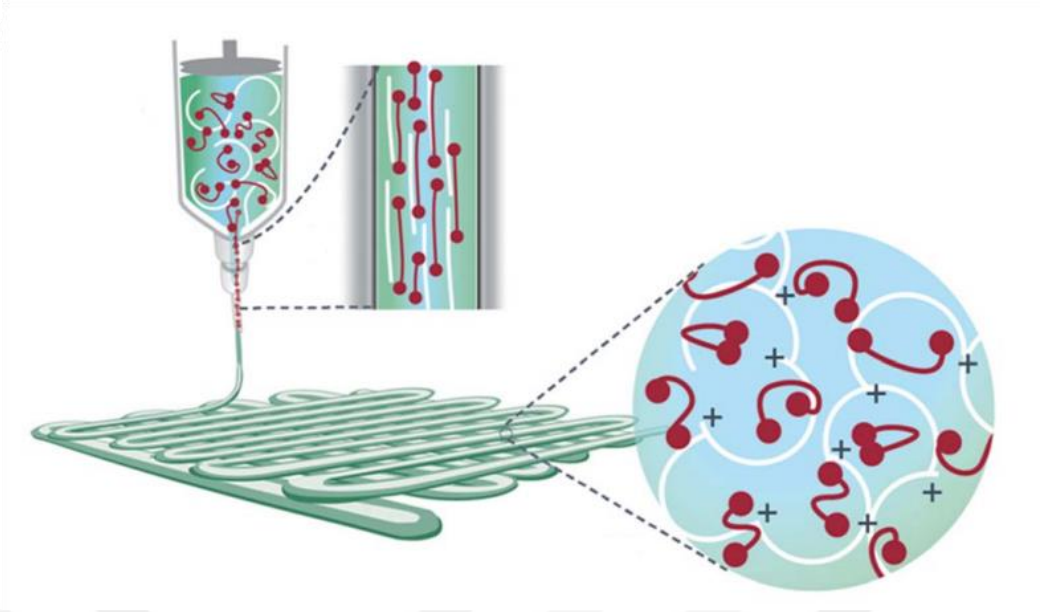


Şekil 2.2 Lazer destekli biyobasım şeması [190]

2.4.5. Ekstrüzyon Bazlı Biyobasım

En yaygın strateji ise, tıbbi sınıf bir şırınga içerisinde bulunan, basımı yapılacak solüsyonun bir tabla üzerine döner vida veya pistonla basınç yardımıyla basımının sağlanmasıdır [50, 169]. Basım yapılırken mekanik dayanıklılığı sağlamak üzere UV, enzim, kimyasal maddeler veya ısı ile çapraz bağlanması sağlanır [192]. Bu stratejide hava basıncı, ekstrüzyon hızı, mekanik basımın oranının kontrol altına alınması ve ayrıca solüsyonun formülasyonuna uygun şırınga ucunun seçilmesi gerekmektedir[193].

Ekstrüzyon bazlı biyobasımın sağlanabilmesi için, istenilen şeklin STL formatında bilgisayar destekli tasarımı (CAD/CAM) kullanılarak oluşturulur, ardından basım sağlanır [194]. Günümüzde birçok malzemenin basımı bu tarz programlarca yapılıp, kademeli olarak basımı sağlanmıştır [195].



Şekil 2.3 Ekstrüzyon bazlı biyobasım şeması [196]

2.4.6. Akustik Biyobasım

Bu uygulamada, akustik veya ses dalgalarının yönlendirilip dokuya benzer karmaşık 3B desenlerin üretilmesi amaçlanır. Şırınga ucu gerektirmediğinden tıkanma problemi ortadan kalkar ayrıca ısı veya mekanik etkilerden de hücreler korunmuş olur ve bu bağlamda hücrelerin ses dalgaları ile farklı yönlerde hareketi sağlanır [194]. Günümüzde bu strateji özellikle kombine sistemlerde farklı tiplerdeki hücrelerin bir doku iskelesi üzerinde toplanmasını sağlayabilir.

2.4.7. Stereolitografi Biyobasım

Stereolitografi (SLA) biyobasımı, farklı solüsyonların istenilen mikro veya nano boyutta 3B basımının aynı anda yapılmasını sağlayan bir stratejidir [197]. Aynı anda, farklı solüsyonların basımının sağlanması fonksiyonel bir dokudaki karmaşıklığın çözünmesi için bir avantaj sağlasa da por boyutu, çözünürlük ve mekanik özelliklerin kontrol edilememesi ayrıca ışık duyarlılığının sağlanamaması sebepleriyle henüz gelişim aşamasında olan bir stratejidir [209, 210,211].

2.4.8. Manyetik Biyobasım

Bu stratejide, herhangi bir ağırlığa sahip olsa da nesnelerin havada asılı kalması yani manyetik levitasyon prensibi esas alınmıştır. Sistemin en büyük avantajı yapay bir protein substratına gerek duyulmaksızın ECM'nin endojen ve diğer çok farklı doku tipinin sentezi, ayrıca malzemelerin hücrelerle birleştirilmesi temassız olarak ve hızlı bir şekilde sağlanabilmesidir [199].

2.4.9. Üç Boyutlu Biyobasım Sürecini Etkileyen Parametreler

Doku mühendisliği ve rejeneratif tıp alanındaki biyobasımla ilgili çalışmaların son yıllarda popüler hale gelmesi her ne kadar büyük bir çalışma alanı sunsa da bu alanda hala birçok konunun aydınlatılması gerekmektedir. Biyobasım süreci ile ilgili zorlukların çözülmesine yönelik çalışmalarla yakın gelecekte yapay doku ve organların hasta bireylere implantı sağlanabilir. Sürecin geliştirilmesi için parametreleri ve bu parametrelerin birbiriyle olan ilişkisini anlamak hem basımın doğruluğu hem de basımın tekrar edilebilirliği açısından önemlidir [201].

Polimer içeren çözelti veya hidrojellerin fonksiyonel hale getirilmesi için biyolojik materyallerle yüklenir ve biyomürekkep adını alır. Biyomürekkepler, basımı yapılmak istenen *in vivo* fonksiyonel dokuya benzer özellikte seçilmeli ve basımının sağlanabilmesi için formülasyonunun çok iyi oranlanması gerekir [86, 213]. Biyomürekkepleri birkaç farklı şekilde sınıflandırmak mümkündür. Fonksiyonel biyomürekkepler olarak ECM taklit edilmesini sağlayarak, hücre çoğalması, yapışması veya farklılaşması gibi görevleri destekler, yapının korunmasında önemlidir. Kısa ömürlü biyomürekkepler olarak, 3B basımda içte oluşturulmak istenen boşluk veya kanalların yapımı için kullanılır. Destekte görevli biyomürekkepler olarak, 3B basım yapılırken özellikle yumuşak veya karmaşık yapılarda destek amacıyla basılan biyolojik olmayan malzemeleri içerir. Birleşik biyomürekkepler olarak fonksiyonel bir yapının sağlanması sırasında hem mekanik desteğin hem de kısa ömürlü biyomürekkeplerin kullanıldığı malzemelerdir [69].

İçerik olarak bakıldığında ise doğal, sentetik veya bunların karışım halinde kullanıldığı polimerler tercih edilir [87]. Porlu yapının elde edilerek hücrelerin düzenli bir

yerleşiminin sağlanması en yaygın yaklaşım olarak kabul edilse de günümüzde bu porlara ek hücre katkılı biyomürekkeplerle de canlı dokuların taklit edilmesine yönelik çalışılmaktadır. Hücre katkılı biyomürekkepler bu bağlamda yenilikçi olsa da hücre yoğunluğu, çoğalması ve olgunlaşma süreçleri ayrıca oksijenin ve besinin dağılımının eş olarak sağlanması gibi sıkıntılar çözülememiştir [203].

3B biyobasım teknolojisinin ana amacı kişiler arasındaki organ nakli uyumunun zorluluğu, hasarlı doku yenilenmesinin uzun süreli ve sadece bazı dokularda doğal yolla meydana gelişi, ilaçların dozaj ayarlanma sorunu ve toksikolojide test edilebilecek dokunun olmayışı gibi sınırlamalara çözüm yolu sunarak özellikle doku mühendisliğinde farklı türde malzemelerle kişinin ihtiyaçlarına özel fonksiyonel yapıların basımını sağlar.

Günümüzde fonksiyonel hale getirilmek üzere en çok çalışılan ve büyük başarı elde edilen doku, vücudun en büyük, çok katmanlı ve en karmaşık yapı gösterenlerden biri olan deri/cilt dokusudur. Bir çalışmada baskı çözünürlüğünden etkilense de, keratinosit ve fibroblastların ekstrüzyon bazlı biyobasımla basılarak dermal benzeri katmanlar oluşturdukları ve yüksek canlılığa sahip hücre proliferasyonu gözlenmiştir [204]. Farklı bir çalışmada ise, yine fibroblast, keratinosit gibi deri hücre hatları ve insan mezankimal kök hücreleriyle basım yapılmış ve hücre proliferasyon davranışları, apoptoz, DNA hasarı taranmış fakat önemli bir fark bulunamamıştır [205]. Cilt üzerine olan çalışmaların geneli lazer destekli biyobasım stratejisi ile yapılmıştır.

Her ne kadar fonksiyonel bir dokunun elde edilmesine yönelik çalışmalar 3B biyobasım teknolojisinin gelişmesiyle klinik alanda ilerleme kaydetse de, bu çalışmaların çıktılarının klinik uygulamadan önce çok uzun bir kontrol aşamasından geçmesi gerekmektedir. Yine de literatüre bakıldığında klinik uygulamada kullanılmak üzere bazı çalışmalar kaydedilmiştir. Örneğin bir çalışmada, hasta bireyden elde edilen hücrelerden bir kardiyak yaması elde edilmiş ve canlılığı hakkında önemli sonuçlar kaydedilmiştir [206]. Hücresiz 3B basım teknolojisiyle elde edilen protez benzeri yapılar, ortopedik cerrahi, maksillofasiyal cerrahi ve diş hekimliği alanlarına örnek oluşturmaktadırlar [207]. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından acil durum olarak kabul edilen bir vakada ise bir bebekte trakeomalazinin tedavisini sağlamak üzere lazer tabanlı 3B baskı yoluyla elde edilen biyoemilebilir trakeal splint üretimi bildirilmiştir [208]. Yine de, mevcut ilerleme şimdilik klinik öncesi

araştırmalarla sınırlı olduğu için, transplante edilebilecek bir doku-organ eldesi henüz uygulanabilir değildir [209].

Klinik alanda uygulanabilinmesi için; *in vivo* kültürde çözünmezlik, yapısal stabilite, doku rejenerasyonu ile uyumlu bir bozunma hızı, hücre büyümesinin teşviki ve toksik olmayan özellikler bulunmalıdır. Bunlara ek olarak, biyomürekkepler hücrelerle entegrasyonu sağlamalı ve damarlanmaya izin vermelidir [209]. Ayrıca biyobasım süreçleri düşünüldüğünde, basım tekniğine göre kimyasal ve biyolojik bağlantılar etkilenebileceğinden hücre canlılığı da bu stratejilere göre değişkenlik gösterebilir. Klinik uygulamada kullanılabileceği düşünüldüğünde ameliyat sürecine entegre edilen ve sterilizasyonu koruyan bir yapıda bulunması da yine çözülmesi gereken sorunlardan biridir [209].

3B biyobasım teknolojisinin vaaddettiği yeniliklere bakıldığında, doku ve organ nakli, ilaç taramalarında hem test bazında hem de akıllı ilaç dağıtım sistemlerinin gömülü olduğu doku iskelesi modellerinde, rejeneratif tıp uygulamalarında devrim yaratacak potansiyele sahiptir [210]. Biyolojik ve kimyasal bağlantılarla basım materyaline gömülü hücrelerin canlılığının sürdürülmesi ve basım sürecinin neden olabileceği herhangi bir hasar durumundan korunulması için standardizasyon ve kalite kontrol yöntemlerinin oluşturulması gerekecektir. 3B basımı yapılan dokular üzerinde anjiyogenezi geliştirmeye yönelik girişimlerle mikrodamarlara sahip dallanmış sistemler elde edilmeye çalışılmaktadır. Bu damarlaşma ihtiyacı doku nekrozunun önlenmesini sağlamaktadır [211]. 3B biyobasım teknolojisinde doku mühendisliği, rejeneratif tıp alanlarına ek kanser araştırmaları, yüksek verimli tarama ve çip üzerinde organ cihazlarının üretimi gibi alanlar için özel yöntemler de oluşturulmaktadır. Günümüzde 3B biyobasımın geliştirilmesi ile 4 boyutlu baskıyla ısı, ultraviyole, ışık, akım, basınç ve diğer bir takım dış kaynaklara yanıt olarak şekillerini ve işlevlerini değiştiren “akıllı 3 boyutlu basımın” sağlanması alanında da çalışmalar mevcuttur [88, 167].

Klinikteki bir diğer zorluk, başarılı bir transplantasyonun sağlanması için yeteri kadar stabil ve mekanik olarak sert yapıların üretilmesi gerekir. Bunun yanı sıra elastik yapılar ise, normal hücre büyümesini ve canlılığını desteklemesi açısından gereklidir [213].

Basım yapıldıktan sonra hücre ile birleştirme, ardından olgunlaşma için çeşitli büyüme faktörleri ve gerekli fizyolojik faktörler eklenerek biyoreaktörlerce gerekli olgunlaşma

sağlanabilir. Doğru olgunlaşmanın sağlanması için doğru hücre dışı matriksinin (ECM) seçimi, mekanik yükleme, olgunlaşma sürelerinin seçimi, gerekirse bazı takviyeler yapılmalıdır ve bu şekliyle, bir bütün olarak klinikteki uygulamalarına bakılmalıdır [191].

3B biyobasım uygulamasında, çalışılmak istenen dokuya özgü materyal gereksinimi vardır. Örneğin hücrelerin uygun proliferasyonunu korumak ve karmaşık doku rejenerasyonunu istenilen oranda şekillendirmek üzere yapılan çalışmada dokuya özgü olarak kullanılan biyomateryal; Kıkırdak Hücresizleştirilmiş Matris (CDM)'dir [214]. Bu biyomateryalin kullanılma sebebi, hücrenin yaşamını ve hücre farklılaşma ve olgunlaşma evrelerini desteklemek amacıyla hem ihtiyaca uygun fizyolojik bir ortam hem de hücreler arası iletişim ve davranışı anlamak üzere biyokimyasal sinyalleri sağlayan bir hücre dışı matris türüne olan ihtiyaçtır [215]. CDM benzeri bir yapının kullanılması, özellikle doku içi yaralar üzerindeki tüm avantajlarının yanı sıra 3B biyobasım olarak üretilmesinde bazı zorluklar yaşanmaktadır. Örneğin CDM'nin yumuşak yapısı mekanik olarak basımı engeller ve bu yüzden ek malzemeye ihtiyaç duyar [216]. 3B biyobasım teknolojisi, doku ve boyutta değişimin kolaylıkla sağlanabilmesi ve doğadaki hazır işleyişi yüksek bir oranda taklit edebilmesi gibi avantajları ile, doğal biyomalzemelerle yapılan ECM'nin hücre dışı ortamının taklidi sağlanır ve birlikte kullanılabilirse günümüzdeki doku ve organ reddinin büyük oranda önüne geçilmesi sağlanabilir. Bu sebeplerden ötürü de ECM'nin bir doku iskelesi gibi basımına olanak sağlayabilmek için doğal malzemelerle bir kompozit olarak basımı sağlanmalıdır [217].

Günümüzde, araştırmacılar küçük ölçekteki fonksiyonel doku-organların basımı için çalışmaktadır. Bu bağlamda çalışmalar en çok; deri, kalp, böbrek ve karaciğer üzerinedir [25], [207, 219–221]. Fonksiyonel bir dokunun küçük ölçekte de olsa basılabilmesi sadece hasarlı doku onarımını değil ayrıca hücreler arası iletişim sağlandığı için insanda toksikolojik ve patofizyolojik sonuçları bilinmeyen deneyler için bir öncül oluşturarak hayvan deneylerinin yapılma ihtiyacını büyük bir ölçüde azaltır [221]. Ayrıca, *in vivo* deneylerin taklit edilebilmesinin zorluğu 3B biyo-basım ile nispeten giderilmiş ve deney doğruluğu üzerinde daha net sonuçlar sağlamaktadır [27].

3
MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Genel Laboratuvar Malzemeleri

Tablo 3.1 Laboratuvar genel malzemeleri

Sarf Malzeme	**Üretici Firma**
1000 μL'lik mikropipet	EPPENDORF
1000 V'lik pipet ucu	ISOLAB
PVA	SIGMA ALDRICH
Sodyum aljinat	SIGMA ALDRICH
Kitosan	SIGMA ALDRICH
$CaCl_2$	MERCK
Gümüş, dispersion	SIGMA ALDRICH
AMP	DUCHEFA BIOCHEMIE
PBS (pH: 7,4)	CHEMBIO
Gluteraldehit	MERCK
Asetik asit	MERCK
100V beher	ISOLAB
Şırınga	MEDISIN
PVC cilt kapağı	SARFF
Desikatör	ISOLAB

3.1.2 Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.2 Laboratuvarda kullanılan cihazlar

Ekipman	**Üretici Firma**
+4 °C Dolap	ARÇELİK
Hassas terazi	PRECISA
Manyetik karıştırıcı	HEIDOLPH
Vortex	FOUR E'S SCIENTIFIC
İnkübatör	BIOSAN TS-100
İnkübatör	BIOSAN TS-100
Çalkalamalı İnkübatör	BIOSAN
Liyafilizatör	CHRIST
3B yazıcı	3BOT
Bilgisayar	MAC
Viskometre	DV-E,Brookfield AMETEK
Yüzey gerilim ölçüm cihazı	SİGMA 703D, ATTENSION
Optik Mikroskop	ZEISS
SEM	EVO LS 10, ZEISS
FTIR	JASCO FT / IR-4700
XRD	SHIMADZU XRD-6100
Çekme cihazı	SHIMADZU
UV Spektrofotometre	SHIMADZU UV-3600,

3.1.3 Kullanılan Bilgisayar Programları

- Solidworks
- Simplify3D
- Origin

3.2 Metod

3.2.1 3B Yazıcı ile Basımı Yapılacak Solüsyonların Hazırlanması

Çeşitli konsantrasyonlarda 2 farklı çözelti Tablo 3.3 ve Tablo 3.4 gösterildiği gibi hazırlandı ve Tablo 3.5' de belirtilen oranlarla karıştırılarak optimizasyonu gerçekleştirmek üzere kullanıldı.

Tablo 3.3 PVA-SA oranının optimizasyonu

Basımı yapılacak doku iskelesi oranı	PVA içeriği (Wt. %)	SA içeriği (Wt. %)
15 PVA	15	0
15PVA/5SA	15	5
12PVA/8SA	12	8
10PVA/10SA	10	10
8PVA/12SA	8	12

Tablo 3.4 PVA-SA-Ch oranının optimizasyonu

Basımı yapılacak doku iskelesi oranı	PVA içeriği (Wt. %)	SA içeriği (Wt. %)	Ch içeriği (Wt. %)
10PVA/10SA	10	10	0
10PVA/10SA/5Ch	10	10	5
10PVA/10SA/3Ch	10	10	3
10PVA/10SA/1Ch	10	10	1

Optimum sonuçlara göre, 1,0 g PVA tozu, 10 mL distile su içinde 100 ° sıcaklıktaki manyetik karıştırıcıda (Wise Stir®, MSH-20 A, Almanya) yaklaşık 4 saat süreyle çözündürülerek elde edildi (Şekil 3.1).



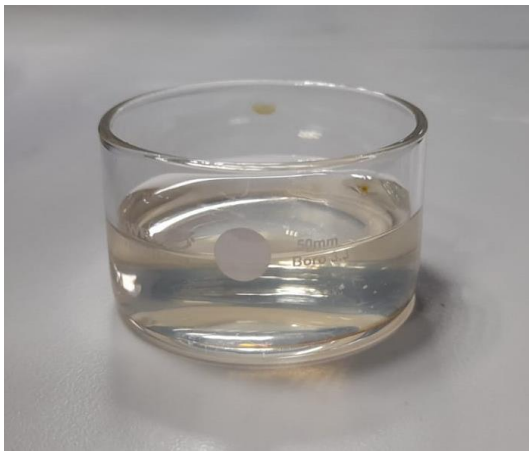
Şekil 3.1 Çözünmüş PVA

Çözüme işlemi tamamlandıktan sonra, PVA solüsyonu oda sıcaklığına ulaştığında 1,0 g SA eklendi ve homojen hale gelene kadar karıştırıldı (şekil 3.2).



Şekil 3.2 PVA-SA karışımı

Homojen karışım sağlandıktan sonra, yeni bir solüsyon hazırlamak için 0,1 g Ch tartılarak 10mL distile su ve 200 uL asetik asit içinde çözdürüldü. Hazırlanan Ch solüsyonundan 2 ml alınarak PVA-SA içeren solüsyonuna yavaşça karıştırılarak eklendi. PVA-SA-Ch karışımının optimizasyonu sağlandıktan sonra Tablo 3-2-3'teki gibi solüsyonlar hazırlandı. Bu amaçla, %0,005, %0,1 ve %1 gibi farklı oranlarda gümüş nanopartikül-distile su çözeltisinden 9 mL ve 1 mL AMP içeren 0,1 g Ch solüsyonu yaklaşık olarak 3 saat manyetik karıştırıcıda ısı uygulanmadan hazırlandı (şekil 3.3).



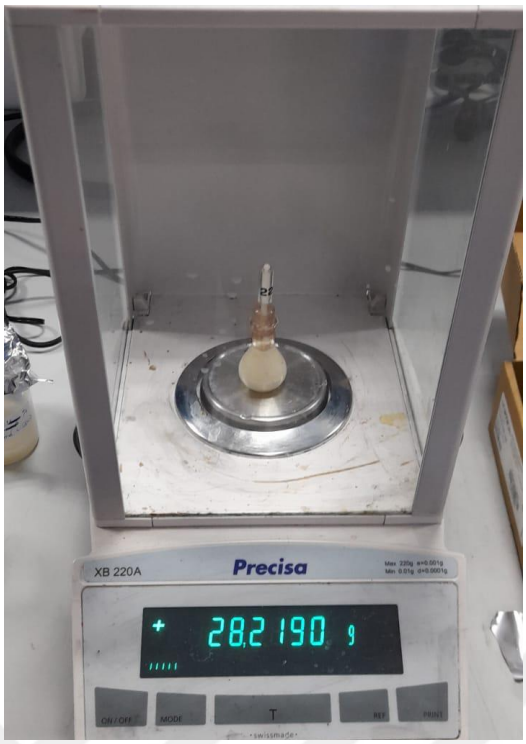
Şekil 3.3 Kitosan - AMP - AgNP karışımı

Bu solüsyonlar, daha sonra PVA-SA solüsyonuna 2mL alınarak, yavaşça karıştırılarak eklendi.

Tablo 3.5 AgNP ve AMP katkılı doku iskelelerinin üretilmesi

Basımı yapılmış doku iskelesi oranı	Ch içeriği (Wt. %)	Ag NP içeriği (Wt. %)	AMP içeriği (Wt. %)
10PVA/10SA	0	0	0
10PVA/10SA/1Ch	1	%0,005	0
10PVA/10SA/1Ch	1	0,1	0
10PVA/10SA/1Ch	1	1	0
10PVA/10SA/1Ch	1	%0,005	1
10PVA/10SA/1Ch	1	0,1	1
10PVA/10SA/1Ch	1	1	1

Hazırlanan solüsyonların fiziksel karakterizasyonunu belirlemek için yoğunluk, yüzey gerilimi ve viskozite değerleri ölçüldü. Yoğunluk, 10 mL'lik bir şişe yardımıyla ölçüldü (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Yoğunluk ölçümü

Yüzey gerilimi, bir kuvvet tansiyometresi kullanılarak ölçüldü (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Yüzey gerilimi ölçümü

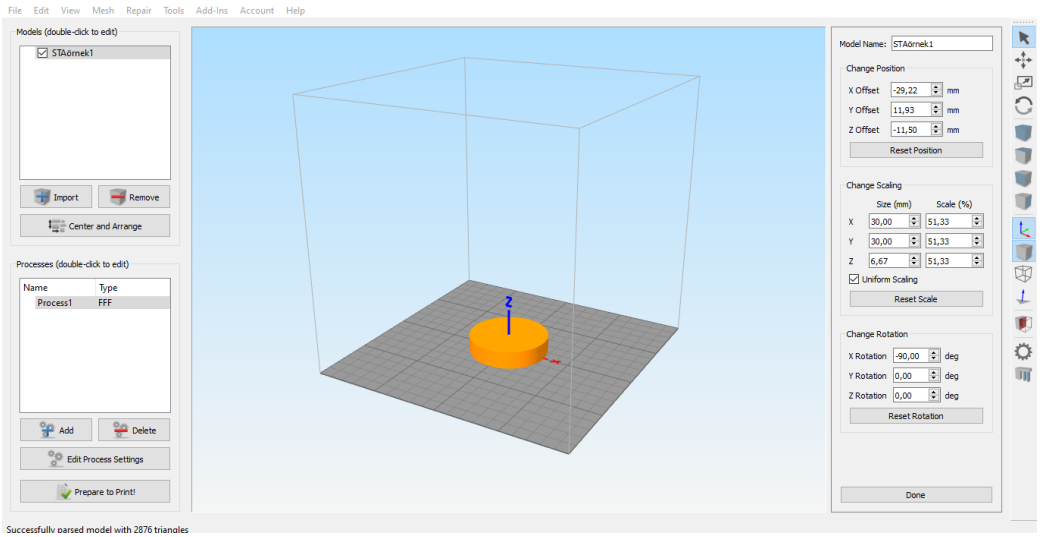
Viskozite, bir belirlendi (Şekil 3.6). Tüm deneyler ortam koşulunda (23 °C) gerçekleştirildi. Her test üç kez tekrarlandı.



Şekil 3.6 Viskozite ölçümü

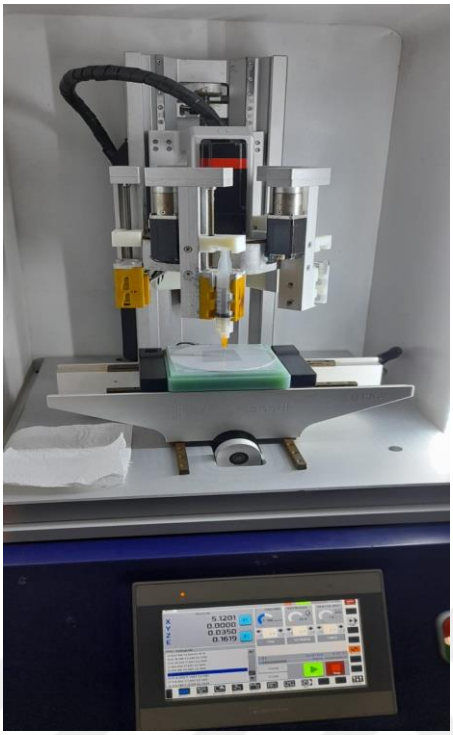
3.2.2 Basımı Yapılacak Doku İskelelerin Tasarımı ve Üretilmesi

Doku iskelesi, Solidworks ile tasarlandı ve ardından Simplify3d programı ile G kodlarına dönüştürüldü (Şekil 3.7). Doku iskelesi ise daire biçimli 30 mm x 30 mm x 1 mm boyutlarında olacak şekilde tasarlandı.



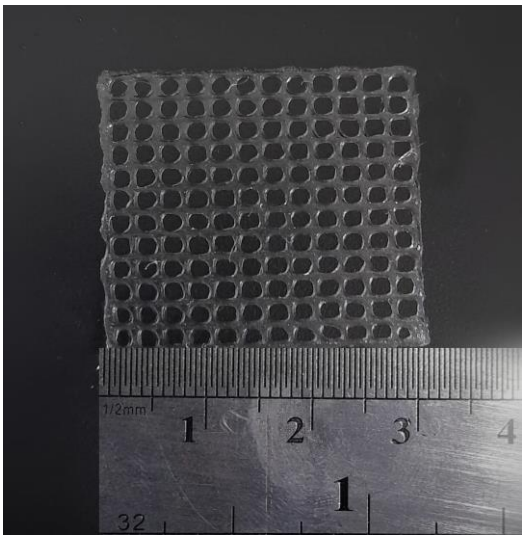
Şekil 3.7 Simplify3d yazılımı ile doku iskelesi tasarımı

3B kompozit doku iskeleleri, ekstrüzyon 3B yazıcı ile üretildi (şekil 3.8).



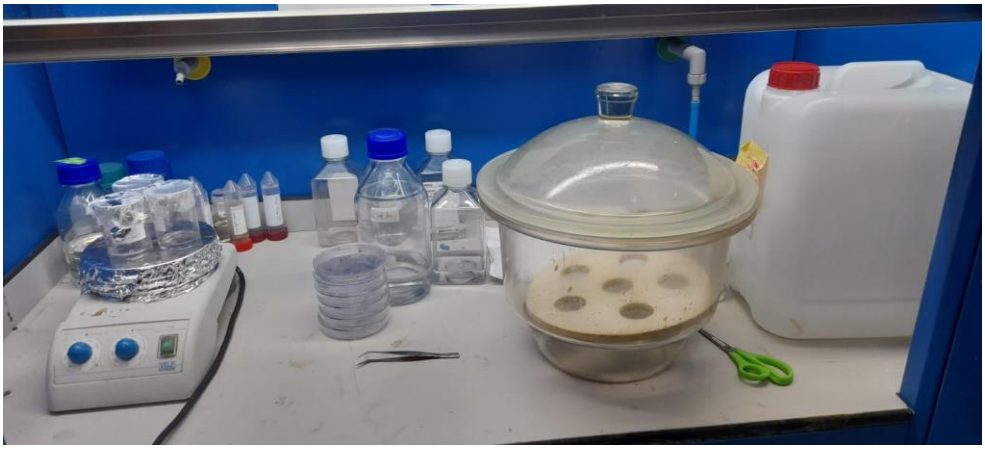
Şekil 3.8 3B basım cihazı

Optimizasyonu sağlanmış solüsyonlar, 10 ml'lik bir şırıngaya yüklendi ve 0,5 mm çaplı iğne kullanıldı. 3B yazım işleminde birçok farklı parametre değiştirildi, dolgu yoğunluğu: %60, toplam katman sayısı: 4, ekstrüzyon çarpanı: 7. Bu parametreler, solüsyonun fiziksel karakterizasyonuna göre optimize edildi. Baskı Şekil 3.9'daki gibi tamamlandıktan sonra, ilk çapraz bağlama işlemi bir kez %5'lik $CaCl_2$ ile püskürtüldü.



Şekil 3.9 Basım sonucu doku iskelesi

Daha sonra bir desikatörde 5 ml GTA buharı içinde 37 °C'de 4 saat çapraz bağlandı (Şekil 3.10).



Şekil 3.10 Basımı tamamlanan örneklerin desikatörde çapraz bağlanması

Son olarak, doku iskeleler -20 °C'de saklandı.

3.2.3 Doku İskelelerinin Fourier-dönüştürülmüş kızılötesi (FT-IR) analizi

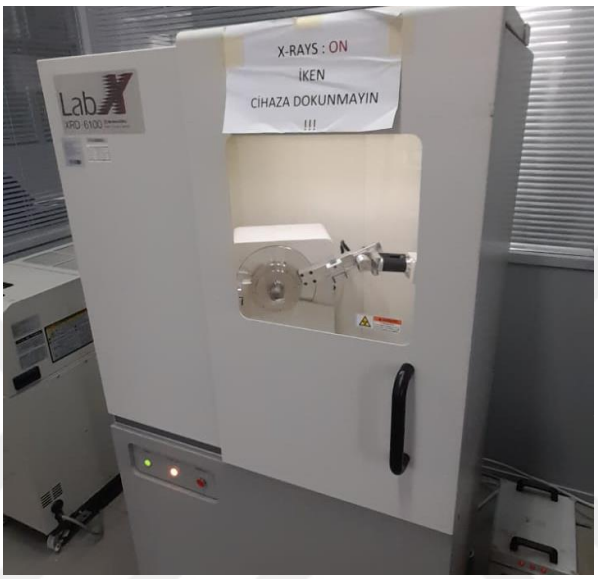
FT-IR spektroskopi analizi, 3B basımı yapılmış doku iskelelerinin fonksiyonel gruplarını belirlemek için gerçekleştirildi (Şekil 3.11). Ölçümler, oda sıcaklığında (23 °C) iletim modunda 4000-400 cm^{-1} aralığında gerçekleştirildi ve 4 cm^{-1} çözünürlükte 32 taramanın ortalaması alındı.



Şekil 3.11 FT-IR cihazı

3.2.4 Doku İskelelerinin X Işını Kırınım Analizi (XRD)

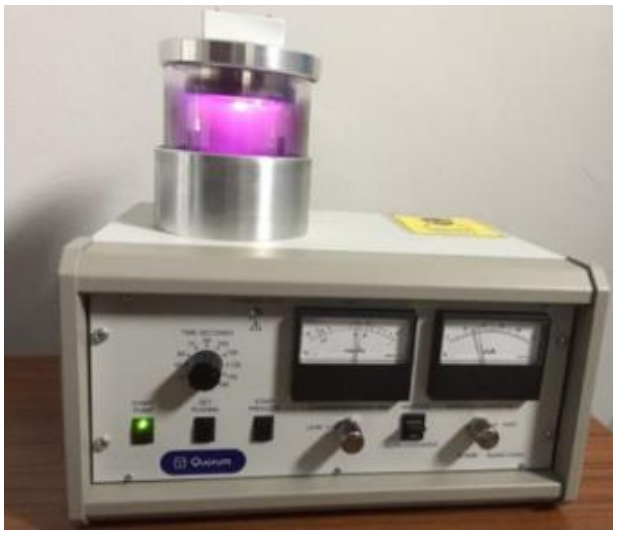
Kristal yapılarını gözlemlemek için her farklı numunenin XRD analizi yapılmıştır (Şekil 3.12). 2θ tarama kapsamı, oda sıcaklığında (25 °C) ve kırınım modeli 10° ile 80° arasında kaydedilmiştir



Şekil 3.12 XRD cihazı

3.2.5 Doku İskelelerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntülenmesi

Doku iskelelerinin morfolojik karakterizasyonu SEM kullanılarak incelenmiştir (Şekil 3.14). Görüntülemeden önce numuneler, kaplama cihazı ile 2 dakika boyunca altın-paladyum ile püskürtmeyle kaplanmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.13 Au/Pd kaplama cihazı



Şekil 3.14 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

3.2.6 Doku İskelelerinin Mekanik Testi

Üretilmiş doku iskelelerine mekanik test olarak çekme testi gerçekleştirilmiştir. Her çekme testi numunesinin boyutları, bir dijital mikrometre kullanılarak ölçülmüştür. 3B doku iskele örneklerinin gerilme mukavemeti ve gerilmesi, özel bir yazılım çalıştırılarak bir çekme test cihazı kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 3.15). Tüm numuneler, oda sıcaklığında (23 °C) kırılma noktasına kadar hız testine tabi tutuldu.



Şekil 3.15 Mekanik test cihazı

3.2.7 Doku İskelelerinin Degredasyon Davranışlarının Ölçülmesi

3B doku iskelelerinin, *in vitro* bozunma çalışması 37 ° C'de PBS solüsyonunda (pH 7.4) gerçekleştirilmiştir. Deney boyunca 2 ml PBS içine yerleştirilen 8 farklı doku iskele numunesi 37 ° C inkübatörde bekletildi. İskelelerin ilk ağırlıkları (Wo) ilk gün ölçüldü ve numuneler önce bir saat liyafilizatörle, dondurularak kurutulduktan sonra tartıldı (şekil 3.16). Bozunma indeksi denklem [222] kullanılarak hesaplandı.



Şekil 3.16 Liyafilizatör cihazı ile kurutma işlemi

3.2.8 *İn vitro* AMP ve Gümüş Nanopartiküllerinin İlaç Salım Profillerinin Belirlenmesi

İlk olarak, doğrusal bir kalibrasyon eğrisi oluşturmak için 5 farklı konsantrasyonda (0,25, 0,5, 1, 1,5 ve 2 µg / mL) farklı oranlarda AMP ve gümüş nanopartikül çözeltileri hazırlandı. Analiz, farklı oranlı kompozit yapı iskeleleriyle AMP ve gümüş nanopartikülün salım kinetiğini araştırmak için yapıldı. Kompozit yapı iskeleleri, her biri ortalama 5 mg ağırlığında kesildi. İlaç salım kinetiğini değerlendirmek için 1 gün boyunca 1 mL PBS (37 ° C'de pH 7.4) içerisine daldırıldı. Kompozit yapı iskeleleri için,

planlanan zamanlarda (15 dakika, 45 dakika, 2 saat, 3 saat, 5 saat, 24 saat) PBS, her numuneden çıkarıldı ve salım testine devam etmek için tekrar 1 mL taze PBS eklendi (Şekil 0.2).



Şekil 3.17 Çalkalamalı inkübatör cihazı

AMP ve AgNP salım profilini analiz etmek için UV spektroskopisi kullanıldı (Şekil 0.3). İskelelerin antibiyotik ve nanopartikül salım davranışları birinci dereceden modele göre analiz edildi.



Şekil 3.18 UV spektroskopi cihazı

3.2.9 Antibakteriyel Test

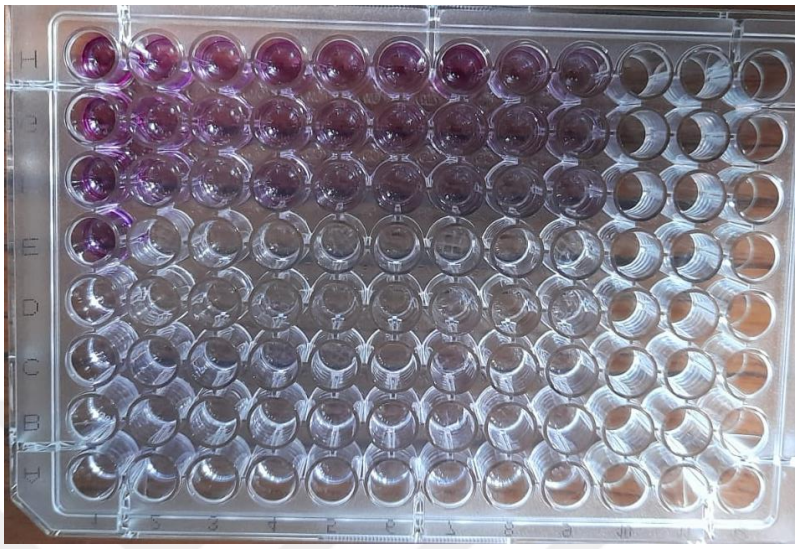
Her farklı numune için *in vitro* antibakteriyel aktiviteler incelenmiştir. Disk difüzyon yöntemi ile Gram-pozitif *S. aureus* (ATCC 29213) bakterisine karşı antibakteriyel aktivite deneyi yapıldı. *Mueller-Hinton Broth* (Sigma Aldrich, ABD) içinde *S.aureus* bakterisinin 16 saatlik kültürü, aynı *Broth* içinde bakteriyel süspansiyonlar hazırlamak için kullanıldı ve 0.5 McFarland türbidite standardına (1-2 x 10^6) ayarlandı. Diskler kompozit yapı iskelelerinden kesildi. Diskler, bakteri ekilmiş *Mueller -Hinton* agar plakalarının yüzeyine yerleştirildi. Ampisilinli disk (2 μg), *S.aureus* için pozitif kontrol olarak kullanıldı. 37 °C'de 18 saatlik inkübasyonun ardından disklerin etrafındaki büyüme inhibisyon bölgeleri ölçüldü ve Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi (EUCAST) kriterlerine göre değerlendirildi.

3.2.10 Hücre Canlılık Testi

Hücre-malzeme etkileşimlerini ve çeşitli miktarlardaki kompozit yapı iskelelerinin farklılıklarını görmek için, beş numaralı pasajda fare fibroblast hücre hattı kullanıldı. Tüm hücre kültürü testleri için kullanılan ortam, DMEM, FBS (%10), penisilin, streptomisin solüsyonu (%1) ve L-glutamin (%1 h / h) içeriğine sahiptir. Kompozit yapı iskeleleri 5 mm çapında dairesel şekillerde kesildi. Ardından malzemelerin bir saat UV uygulaması ile sterilizasyonu sağlandı. 3B basılan kompozit yapı iskeleleri, 96 kuyulu plakalara yerleştirildi ve fare fibroblast hücreleri, hazırlanan yapı iskeleleri üzerine ekimi sağlandı. Ayrıca TCPS (doku kültürü polistireni) kontrol olarak kullanıldı. Hücre ekimi yapılan kompozit yapı iskeleleri, bir hafta süreyle 37 ° C inkübatörde tutuldu.

Fibroblast (L929) hücrelerinin 3B baskılı kompozit yapı iskeleleri üzerindeki hücre canlılığı, ilk ekimin, ilk gününün sonundan başlayarak ve ardından dördüncü günlerin sonunda renk ölçümlü 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (MTT) deneyi ile kantitatif olarak belirlendi (Şekil 3.19). İnkübasyon süresinden sonra, kuyucukların içindeki besiyeri uzaklaştırıldı ve kompozit yapı iskeleleri üç kez PBS solüsyonu ile yıkandı. Yeni yıkanan numunelere 90 μL taze besiyeri ortamı ve 10 μL MTT çözeltisi (PBS çözeltisi içinde 5 mg / mL) ilave edildi ve 3 saat süre ile bir inkübatörde tutuldu. MTT'nin canlı hücreler tarafından indirgenmesi ile oluşan formazan kristalleri ortamı mor bir renge dönüştürdü. Yapı iskeleleri üzerindeki ortam atıldı ve numuneler temiz kuyulara alındı ve oluşan formazan kristallerini çözmek için

numunelere 200 μL DMSO konuldu ve 1 saat daha inkübatörde tutuldu. Son olarak, kuyulardan besiyeri ortam alındı ve çözeltinin absorbans değerleri 540 nm'de ölçüldü.



Şekil 3.19 Hücre canlılık analizi için spektroskopi ölçüm öncesinde mikrotitrasyon kabından alınan görüntü

Hücre canlılık analizi uygulanan örnekler aynı zamanda SEM'de incelenmiştir. SEM analizi öncesinde iskeleler Pt ile kaplanmıştır.

4
SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1 SONUÇ

4.1.1 Polimer Çözeltilerinin Fiziksel Karakterizasyonu

Bu çalışmada, çözeltilerin viskozitesi, yoğunluğu ve yüzey gerilimi gibi reolojik özellikleri incelenmiş ve Tablo 4.1'deki gibi optimize edilmiştir.

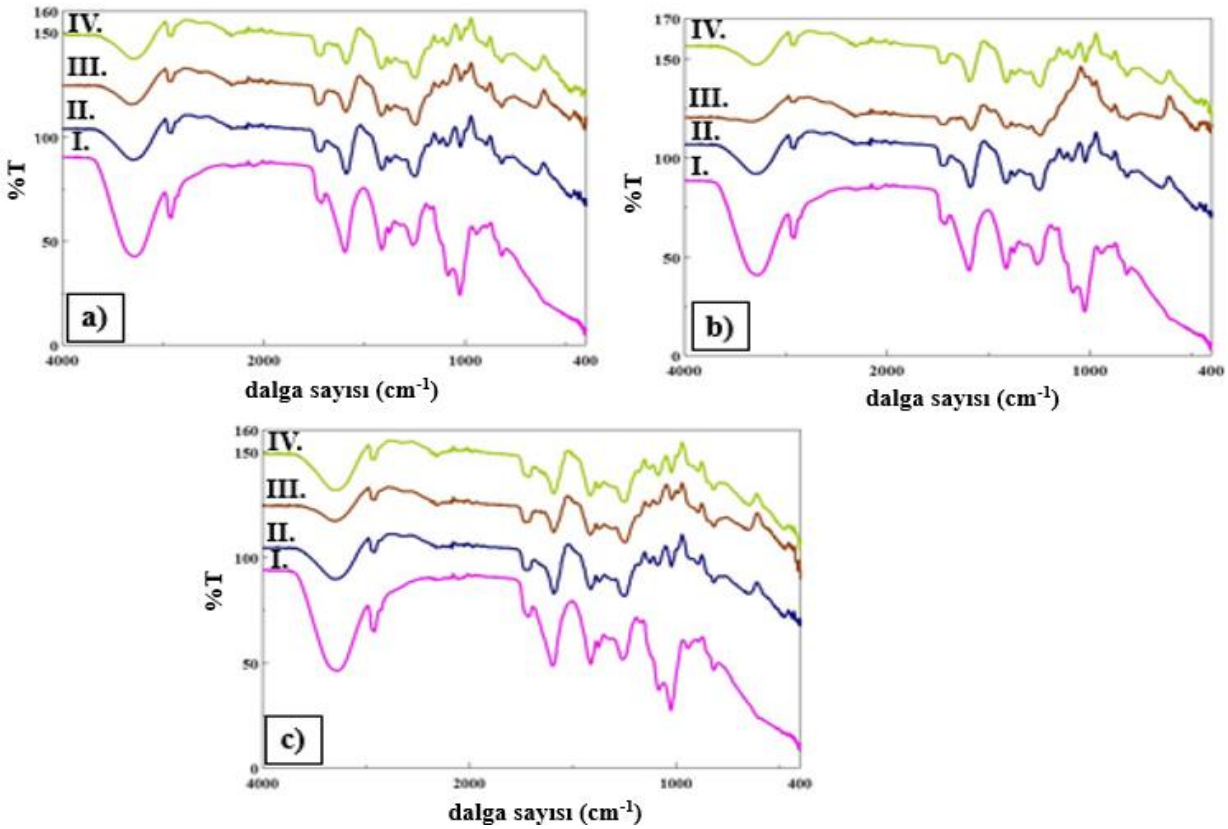
Ekstrüder 3B baskıda en önemli nokta hidrojelin viskozitesidir. Çünkü bir hidrojelin 3B baskı yapılabilmesi için ekstrüderden kolaylıkla akması ve iğnenin tıkanmasına neden olmaması gerekir. Ayrıca viskozite oranının 3B baskı için katman katman optimum olması gerekir, bu, istenilen dokuya özgü boyutlarda gözenek çapının belirlenmesi için çok önemlidir. Bir diğer önemli nokta ise, yüzey gerilimi ile doğru orantılı olmasıdır. Özellikle basınç esaslı 3B basımda yüzey gerilimi optimum oranda değilse iğneyi tıkayabilir veya damlama şeklinde olacağından 3B basıma izin vermeyen bir yapı haline gelir. PVA-SA için optimum yoğunluk, viskozite ve yüzey gerilimi özellikleri hesaplandıktan sonra, farklı oranlarda Ch eklenerek nihai solüsyon oluşturulmuştur. Ch oranı, polimer karışımının 3B olarak basılabilmesi için düşük tutulmuştur çünkü Ch, SA'nın doğal çapraz bağlayıcıdır [223]. SA'nın iki değerlikli katyonları bağlama ve hidrojel oluşturma kabiliyeti nedeniyle, $CaCl_2$ gibi kalsiyum tuzları tıbbi uygulamalar için çapraz bağlama maddesi olarak kullanılır [224]. Bu sebeple, basım işlemi tamamlandıktan sonra sprey olarak 1 defa $CaCl_2$ sıkılarak çapraz bağlama işlemi yapılmıştır. Ayrıca, PVA, SA ve Ch'nin ortak çapraz bağlayıcısı GTA'dır [225–227]. Polimerleri birçok farklı yöntemde GTA ile çapraz bağlamak mümkün olsa da, GTA buharının güvenli olduğu gösterilmiştir [227]. 3 polimerin de çapraz bağlayacısı olduğundan ve sprey, daldırma dibi yöntemlerin dışında en güvenli çapraz bağlama yöntemi GTA buharında bekletmek olduğundan üçüncül çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılmıştır.

Tablo 4.1 Fiziksel test sonuçları

Solüsyonun Konsantrasyonu	Yoğunluk (g/cm^3)	Yüzey Gerilimi (mN/m)	Viskozite (mPa.s)
10 wt. % PVA 10 wt. % SA	1,148	149,287	783
1 wt. % Ch	1,031	36,67	457
1 wt. % Ag NP 1 wt. % Ch	1,023	49,13	486
0,1 wt. % Ag NP 1 wt. % Ch	1,015	55,06	450
%0,005 Ag NP 1 wt. % Ch	1,001	54,14	241
10 wt. % PVA 10 wt. % SA 1 wt. % Ch	1,238	343,48	764
10 wt. % PVA 10 wt. % SA 1 wt. % Ag NP 1 wt. % Ch	1,241	333,68	780
10 wt. % PVA 10 wt. % SA 0,1 wt. % Ag NP 1 wt. % Ch	1,203	335,39	746
10 wt. % PVA 10 wt. % SA %0,005 Ag NP 1 wt. % Ch	1,192	338,70	730
10 wt. % PVA 10 wt. % SA 1 wt. % Ag NP 1 wt. % AMP 1 wt. % Ch	1,295	341,05	766
10 wt. % PVA 10 wt. % SA 0,1 wt. % Ag NP 1 wt. % AMP 1 wt. % Ch	1,277	349,17	782
10 wt. % PVA 10 wt. % SA %0,005 Ag NP 1 wt. % AMP 1 wt. % Ch	1,223	349,87	736

4.1.2 Doku İskelelerinin Kimyasal Analizi

Hazırlanan 3B basılmış kompozit doku iskelelerinin fonksiyonel gruplarını incelemek için FTIR analizi yapılmıştır. Sonuçların grafiksel gösterimi şekil 4.1'de gösterilmektedir. PVA-SA, PVA-SA-Chitosan, PVA-SA-Chitosan-farklı oranlarda gümüş nanopartikül ve PVA-SA-Ch-gümüş nanopartikül-AMP kompozit iskelelerin eğrisinde PVA-SA ile ilişkili kızılötesi spektrumlar gözlendi. PVA-SA ilişkili iskeleler için -OH'ın karakteristik zirveleri yaklaşık 330,16 cm^{-1}'dir ve ayrıca -COO zirvesi neredeyse 1608 cm^{-1} ve 1415 cm^{-1}'de bulunur. CH_2 2944.77 cm^{-1}'de meydana gelir ve -CHO 2904.73-2831.30cm^{-1}'dir [228]. Yaklaşık 1600 cm^{-1}'de Ch amin grubunun spesifik pikleri mevcuttur ve ayrıca benzer şekilde, sonuçlarımız Kemal ve ark. Ch kompozit hidrojel spektrumundaki gibidir [229]. Gümüş nanopartikülün IR spektrumunda absorpsiyon gösterir ve 3422, 2921, 2856, 1743, 1631, 1450, 1377, 1240, 1043 ve 596 cm^{-1}'de kapatma ajanının varlığını gösterir [230]. AMP, C = O-laktam gerilmesinden dolayı

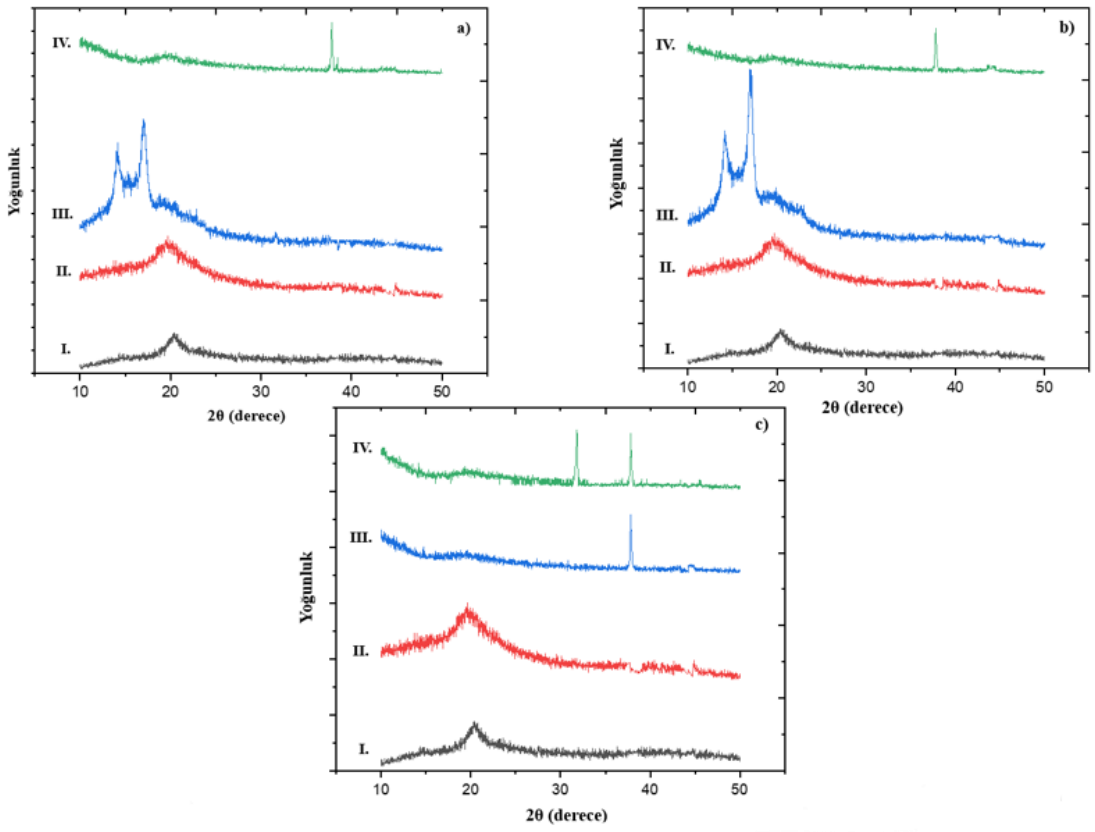


Şekil 4.1 FT-IR analizi: (a-I) PVA-SA, (a-II) PVA-SA-Ch, (a-III) PVA-SA-Ch-%0,005 Ag NP, (a-IV) PVA-SA-Ch-%0,005 Ag NP-AMP; (b-I) PVA-SA, (b-II) PVA-SA-Ch, (b-III) PVA-SA-Ch-%0,1 Ag NP, (b-IV) PVA-SA-Ch-%0,1 Ag NP-AMP; (c-I) PVA-SA, (c-II) PVA-SA-Ch, (c-III) PVA-SA-Ch-%1 Ag NP, (c-IV) PVA-SA-Ch-%1 Ag NP-AMP

1730-1720 cm^{-1} bölgesinde bir absorpsiyon zirvesi gösterir. Ayrıca, 1664 ve 1560 cm^{-1}'deki zirveler, sırasıyla C = O amid germe ve NH amid gruplarına aittir [229].

4.1.3 Doku İskelelerinin X Işını Kırınım Analizi

XRD, hazırlanan 3B baskılı kompozit yapı iskelelerinin kristal yapısının doğasını doğrulamak için kullanılır. PVA-SA zirveleri 2θ = 22 ° ve 27 ° 'de gözlemlenir. Şekil 4.2 a ve b, Ch, PVA-SA'ya eklendiğinde 2 farklı pik gösterir, bunlar yaklaşık 2θ = 9.63° ve 20.53°'te Ch yapısıın semi-kristalin yapısında olmasından dolayı bu pikler kristal-I ve kristal-II ile ilişkilidir [231]. Şekil 4.2 c'ye bakıldığında, diğerlerie göre yoğun gümüş nanopartikülü içeren doku iskelesi, 2θ = 19,8° değerinde Ch piki göstermektedir. Bu, tıpkı literatürde olduğu gibi, yüksek oranda gümüş nanopartiküller eklendiğinde yarı kristal yapının yüksek kristalliğe değiştiğini göstermektedir [232].

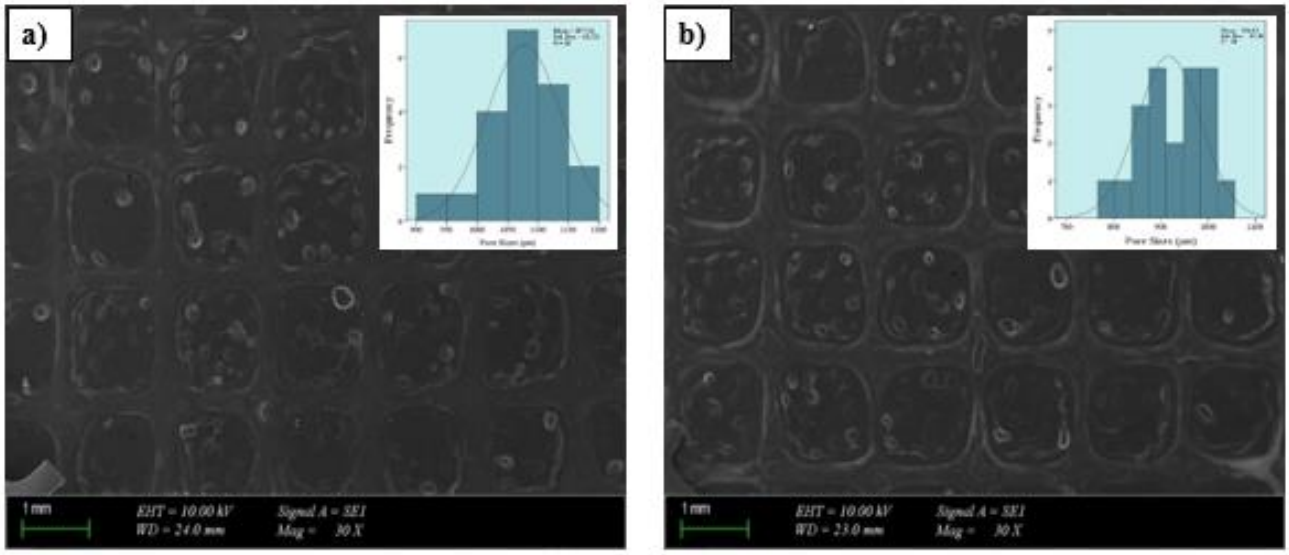


Şekil 4.2 XRD analizi: (a-I) PVA-SA, (a-II) PVA-SA-Ch, (a-III) PVA-SA-Ch-%0,005 Ag NP, (a-IV) PVA-SA-Ch-%0,005 Ag NP-AMP; (b-I) PVA-SA, (b-II) PVA-SA-Ch, (b-III) PVA-SA-Ch-%0,1 Ag NP, (b-IV) PVA-SA-Ch-%0,1 Ag NP-AMP; (c-I) PVA-SA, (c-II) PVA-SA-Ch, (c-III) PVA-SA-Ch-%1 Ag NP, (c-IV) PVA-SA-Ch-%1 Ag NP-AMP

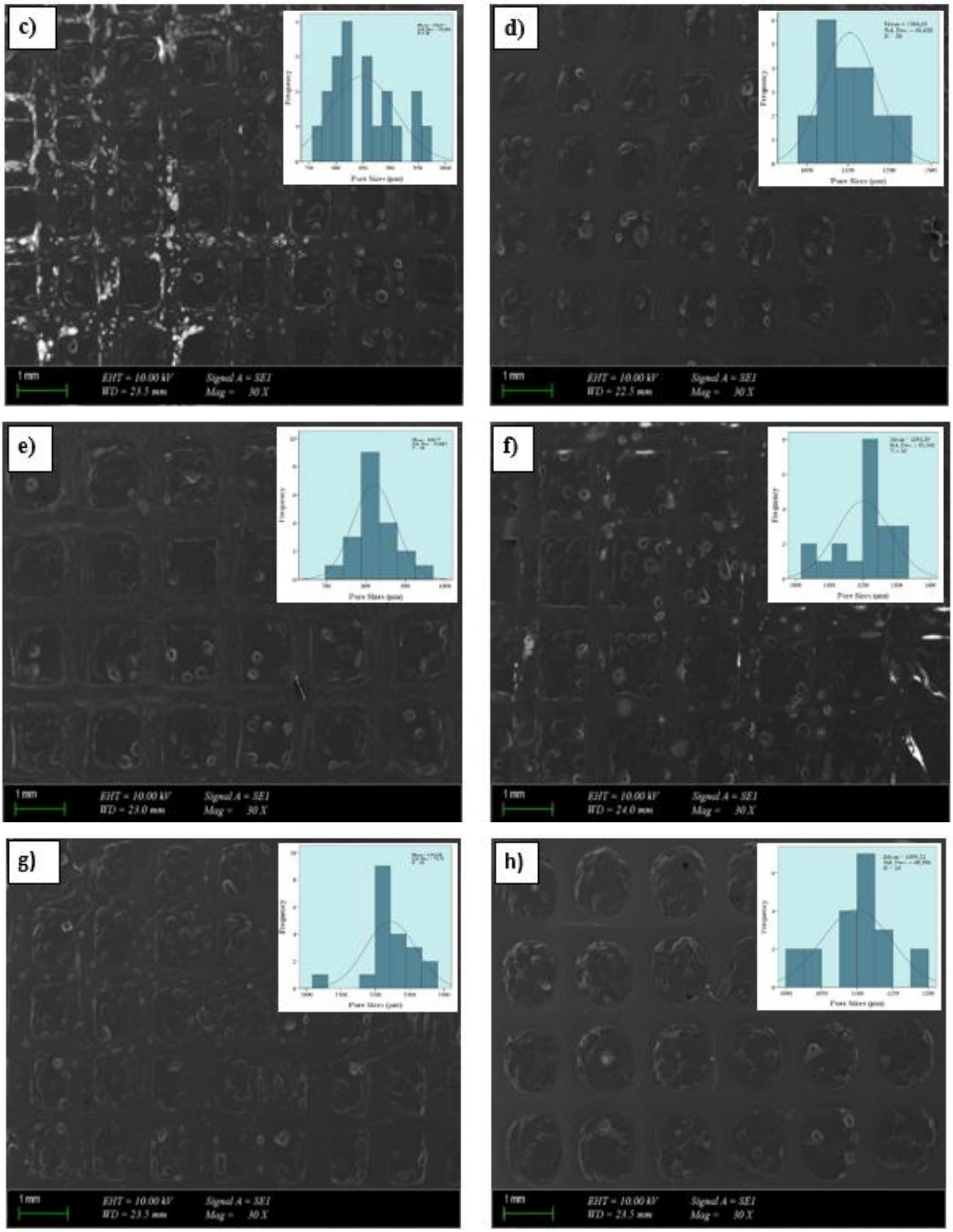
Şekil 4.2 a ve b'de gösterildiği gibi, kristalleşme pikleri AgNP'nin tüm XRD modellerinde gözlenmemiştir, bunun nedeni kompozitte kullanılan nanopartikül yüzdesinin çok düşük olması nedeniyle ölçümün gösterilmemesi olabilir. 2θ = 37,8 ° AMP katkılı kompozit hidrojelde ortalama boyuttur ve bu, XRD sonuçlarıyla uyumludur [233].

4.1.4 Doku İskelelerinin Morfolojik Analizi

Üretilen 3B baskılı kompozit iskelelerin morfolojisi SEM ile görüntülenmiştir. Örneklerin her biri 1mm ölçeğe kadar büyütülerek por boyutu ve düzeni incelendi. Her numunenin çapı ölçüldü ve Şekil 4.3'teki SEM görüntüsü kullanılarak doku iskelenin ortalama gözenek boyutları histogram grafikleri kullanılarak belirlendi. Por boyutları yaklaşık olarak 1000-1400 μm olarak ölçüldü. Bu por boyutları, bilgisayar üzerinde Simplify3D programı ile çalışılan dokuya göre istenilen oranda büyütüp küçültülebilir.



Şekil 4.3 SEM görüntüleri - Histogram grafikleri: a) PVA-SA, b) PVA-SA-Ch, c) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP, d) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP, e) PVA-SA-Ch %1 AgNP, f) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP-AMP, g) PVA-SA-Ch %0,01 AgNP-AMP, h) PVA-SA-Ch %1 AgNP-AMP



Şekil 4.3 devamı SEM görüntüleri - Histogram grafikleri: a) PVA-SA, b) PVA-SA-Ch, c) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP, d) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP, e) PVA-SA-Ch %1 AgNP, f) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP-AMP, g) PVA-SA-Ch %0,01 AgNP-AMP, h) PVA-SA-Ch %1 AgNP-AMP

4.1.5 Doku İskelelerinin Mekanik Testi

Çekme testleri, kopmada uzama (%) değerleri ile Tablo 4.2'de gösterildiği gibi oda sıcaklığında 3B kompozit doku iskeletlerinin mekanik özelliklerini karakterize etmek için gerçekleştirilmiştir. Çekme testi dayanımının belirlenmesi, ürünün esnekliğini anlamak açısından çok önemlidir. Değerler karşılaştırıldığında, en düşük gerinim değerine sahip numunenin %0,005 AgNP içeren kompozit bir iskele numunesi olduğu görülmüştür. Bu örneğe AMP eklendiğinde gerinim değerinin önemli ölçüde arttığı gözlendi. Sadece nanopartikül içeren kompozit iskeleler ile ilaç ve nanopartikül yüklü kompozit iskeleler karşılaştırıldığında, ilaç ilavesinin hem gerinim değerlerini hem de gerilme mukavemetini artırdığı belirlendi. Farklı oranlardaki nanopartiküller karşılaştırıldığında kompozit doku iskele örneklerinde nanopartikül oranı arttıkça gerinim değerinin arttığı belirlendi.

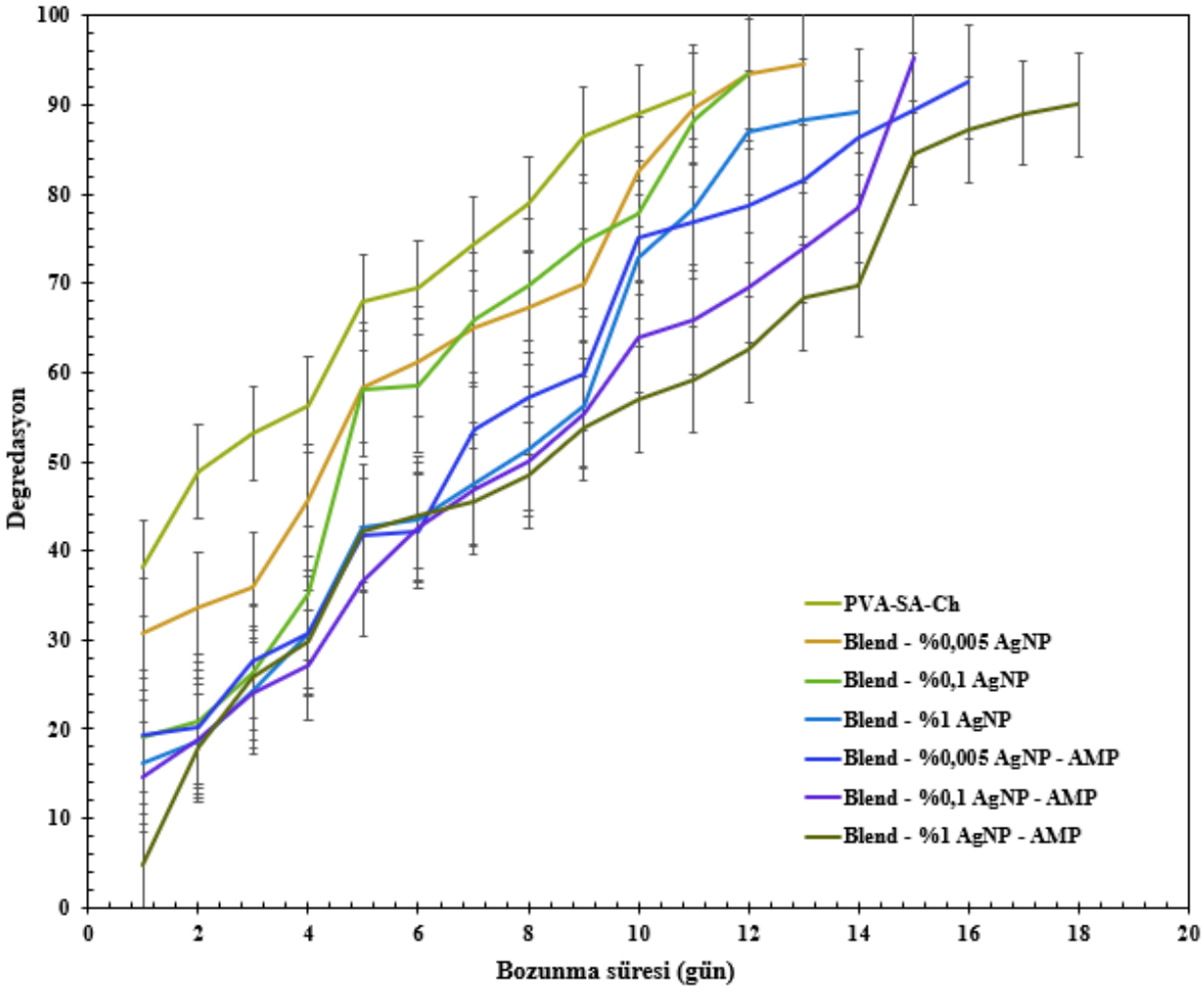
Tablo 4.2 Mekanik test sonuçları

Numune adı	Gerilme direnci (MPa)	Gerilme kırılması (%)
PVA-SA	0,021 ± 0,008	6,778 ± 1,487
PVA-SA-Ch	0,038 ± 0,019	5,466 ± 1,038
PVA – SA – Ch - %0,005 AgNP	0,045 ± 0,018	3,768 ± 1,401
PVA – SA – Ch – %0,1 AgNP	0,027 ± 0,013	7,209 ± 4,085
PVA – SA – Ch – 1% AgNP	0,050 ± 0,014	8,547 ± 3,002
PVA – SA – Ch - %0,005 AgNP - AMP	0,065 ± 0,017	8,307 ± 2,764
PVA – SA – Ch – %0,1 AgNP - AMP	0,054 ± 0,024	6,504 ± 0,191
PVA – SA – Ch – 1% AgNP - AMP	0,036 ± 0,019	9,057 ± 7,924

4.1.6 Doku İskelelerinin Degredasyon Davranışlarının Ölçülmesi

Bozunma testi, pH 7.4 ve 37 ° C olan PBS içinde her numune için gerçekleştirildi. Numueler parçalanana kadar her gün yaş ve kuru ağırlıkları ölçülmüştür ve dekleme göre Şekil 4.4'deki grafik çizilmiştir.

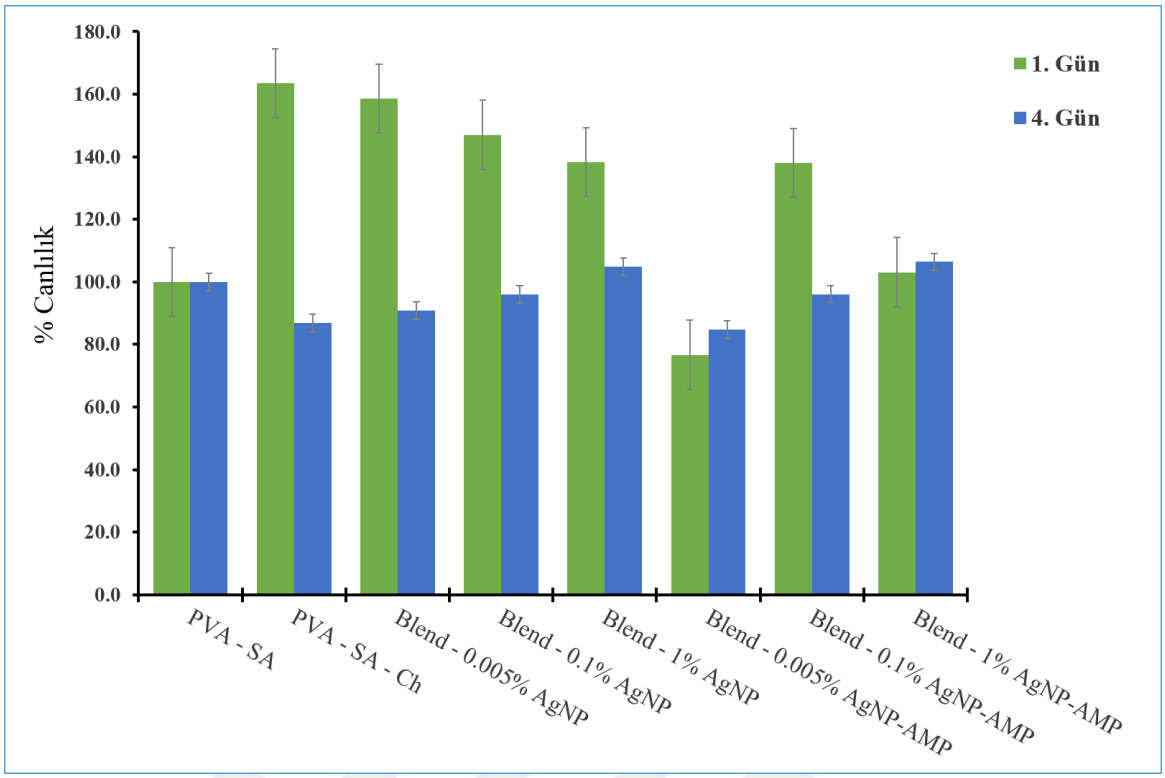
Örnekler karşılaştırıldığında en düşük parçalanma oranının nanopartikül içermeyen örneklerde olduğu ve nanopartikül oranı arttıkça malzemenin PBS'deki bozunma süresinin arttığı görüldü. Şekil 4.4'de görülebileceği gibi, ilaç katkı maddeleri içeren kompozit iskeleler en yüksek mukavemete sahiptir, bu da ilaç ve yüksek nanopartikül yüzdesi kullanıldığında bozunma süresinin önemli ölçüde uzadığını gösterir.



Şekil 4.4 Degredasyon grafiği

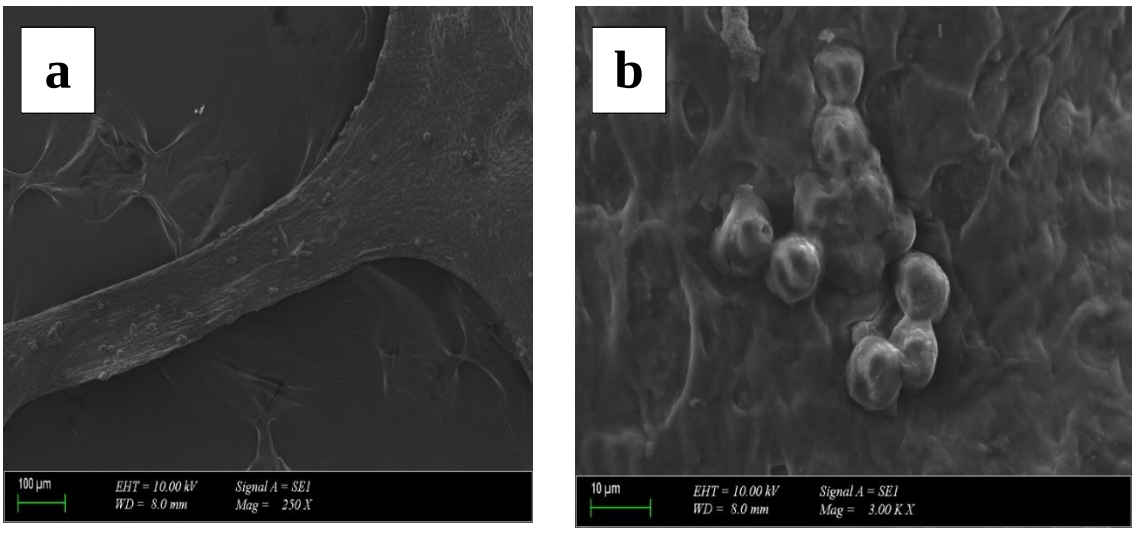
4.1.7 Hücre Canlılık Testi

Kompozit doku iskeletlerinin hücre canlılığı, hücre ekiminden 1 ve 4 gün sonra incelendi ve sonuçlar Şekil 4.5 'te gösterildi. Hücre canlılığının, 1. gün inkübasyonda kontrol grubundan daha yüksek olduğu ve PVA-SA-Ch'de maksimum canlılığa sahip olduğu görüldü. Farklı oranlarda nanopartikül katkılı kompozit yapı iskeleleri arasındaki hücre canlılığı karşılaştırıldığında, nanopartikül oranı azaldıkçahücre canlılığına olumsuz etkinin de azaldığı gözlemlenmiştir.Antibiyotik ve nanopartikül katkılı kompozit doku iskelelerinde hücre canlılığının en yüksek seviyede %0,1 AgNP içeren numunede korunduğu görülmüştür. 4. gündeki inkübasyon sonucuna bakıldığında, antibiyotik yüklü iskelelerin canlılık seviyesinin 1. güne göre daha iyi korunduğu gözlendi (% 0,1 AgNP haricinde). Nanopartikül içeren ancak antibiyotik içermeyen örnekler kendi aralarında değerlendirildiğinde ve nanopartikül oranlarına göre canlılık karşılaştırıldığında, Şekil 4.5 'te de görülebileceği gibi, 1. gün inkübasyonun aksine nanopartikül oranının hücre canlılığına olumsuz etkisinin azaldığı gözlenmiştir. 4. gün hücre canlılığına bakıldığında ve AMP ve nanopartikül içeren numuneler karşılaştırıldığında, %1 gümüş nanopartikül içeren numunenin en iyi canlılık yüzdesine sahip olduğu görülmektedir. Yüksek düzeyde antibiyotik ve gümüş iyonları kullanımı yerine, düşük antibakteriyel ajanlar ve doğal polimerler ile çok daha etkili bir yara sargısı tasarımının başarısı için bu sonuç önemlidir.

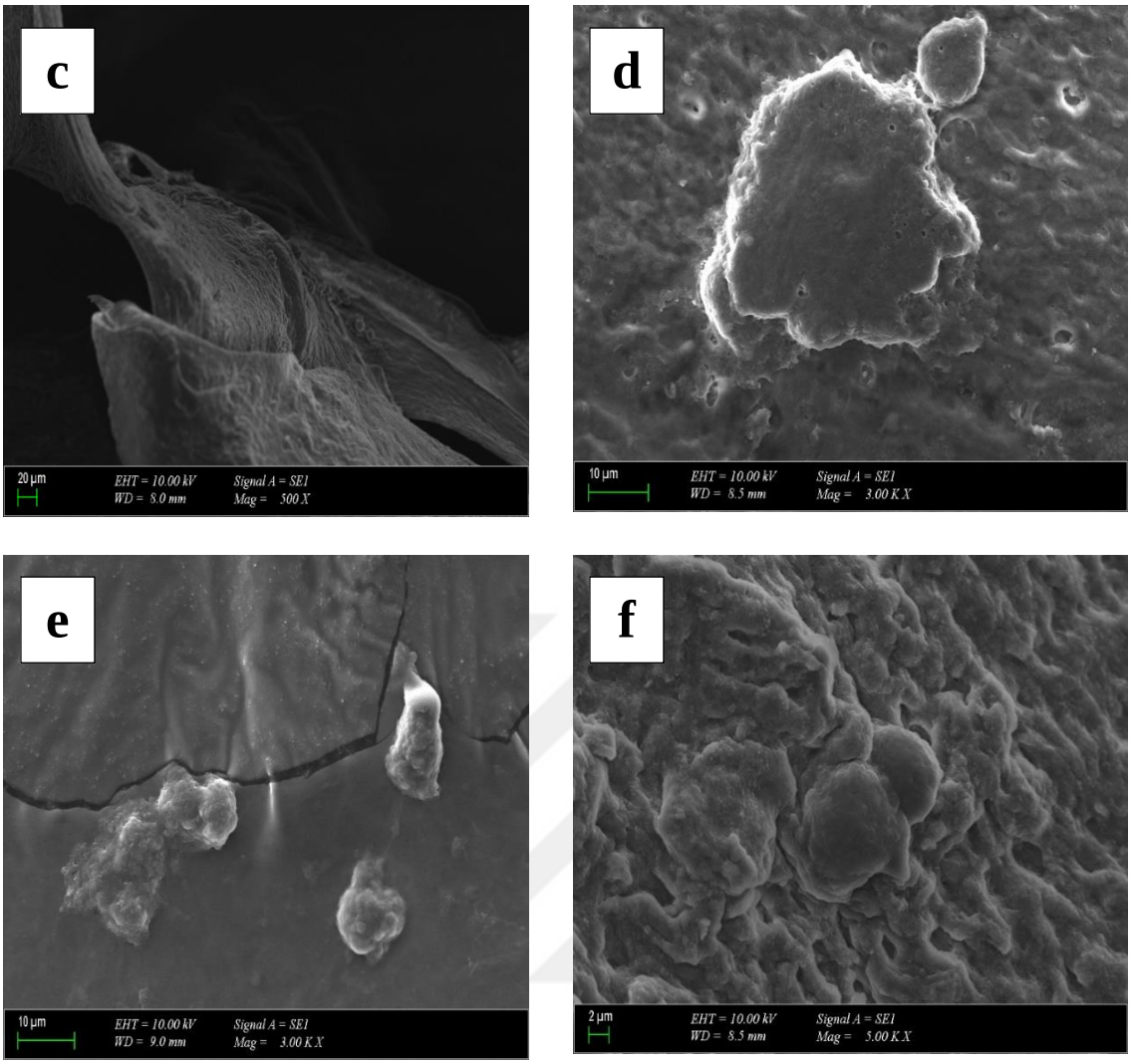


Şekil 4.5 Hücre Canlılık Grafiği

Hücre canlılık analizi uygulanan örnekler SEM'de incelenmiş ve görüntüleri Şekil 4.6'da verilmiştir.



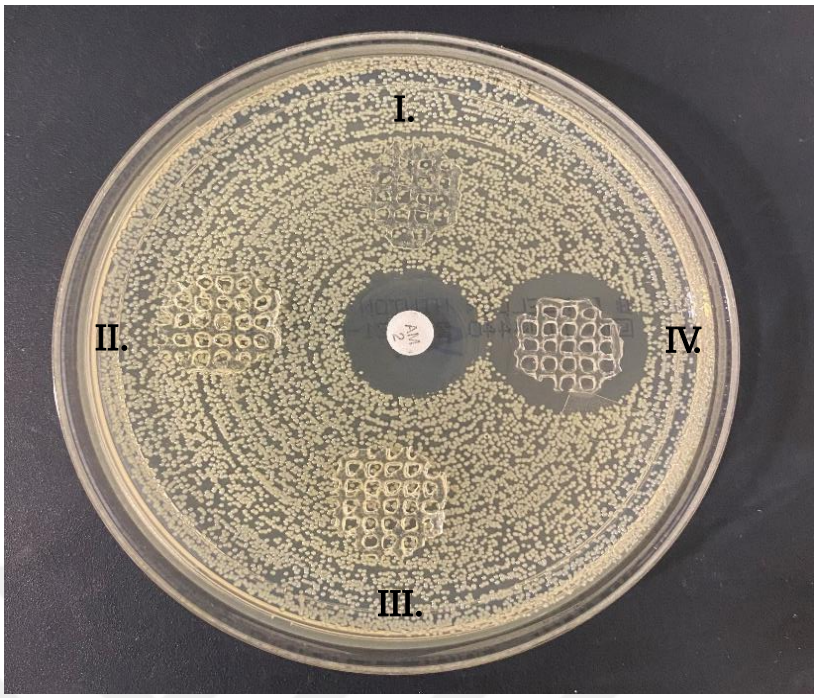
Şekil 4.6 Hücre canlılık testi sonrasında doku iskelelerinin SEM görüntüsü a) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP (ölçek çizgisi: 100μm), b) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP (ölçek çizgisi: 10μm), c) PVA-SA-Ch %1 AgNP (ölçek çizgisi: 20μm), d) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP- AMP (ölçek çizgisi: 10μm), e) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP- AMP (ölçek çizgisi: 10μm), f) PVA-SA-Ch %1 AgNP- AMP (ölçek çizgisi: 2μm)



Şekil 4.6 devamı Hücre canlılık testi sonrasında doku iskelelerinin SEM görüntüsü a) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP (ölçek çizgisi: 100μm), b) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP (ölçek çizgisi: 10μm), c) PVA-SA-Ch %1 AgNP (ölçek çizgisi: 20μm), d) PVA-SA-Ch %0,005 AgNP- AMP (ölçek çizgisi: 10μm), e) PVA-SA-Ch %0,1 AgNP- AMP (ölçek çizgisi: 10μm), f) PVA-SA-Ch %1 AgNP- AMP (ölçek çizgisi: 2μm)

4.1.8 Kompozit Doku İskeleleri için Antibakteriyel Test Sonuçları

İşlevsel bir yara örtüsünün sağladığı üstün özelliklerden biri, yara ve yara bölgesini bakterilerden korumaktır. Kompozit doku iskeletlerinin antibakteriyel aktivitesi, disk difüzyon testi ile belirlenmiş ve sonuçlar şekil 4.7 'de gösterilmiştir

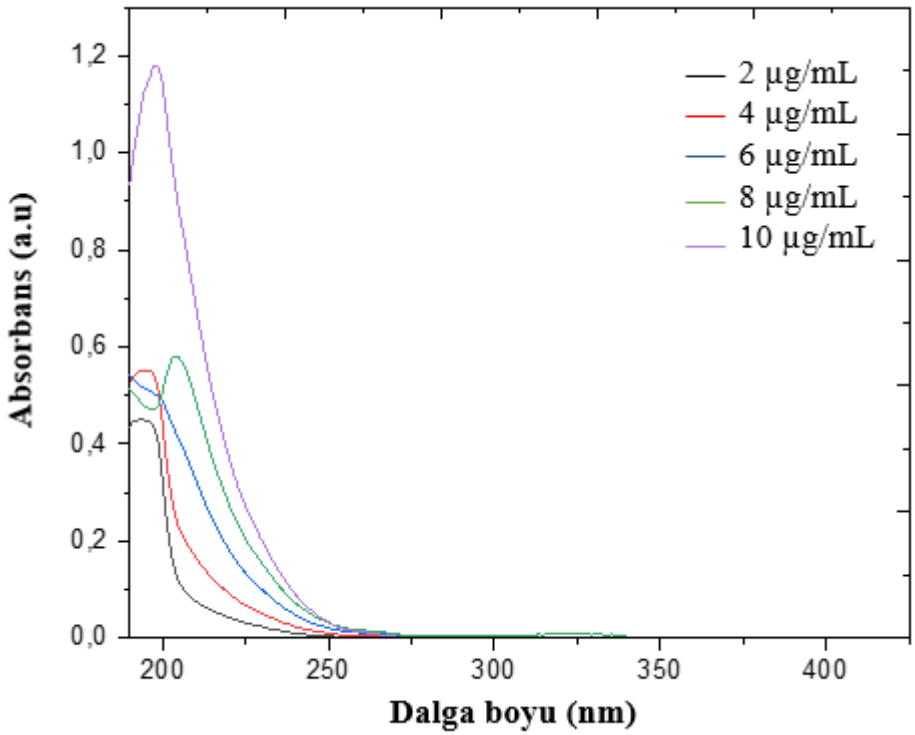


Şekil 4.7 Antibakteriyel test sonuçları: I) PVA - SA, II) PVA - SA - Ch, III) PVA - SA - Ch - %0,1 AgNP, IV) PVA - SA - Ch - %0,1 AgNP - AMP

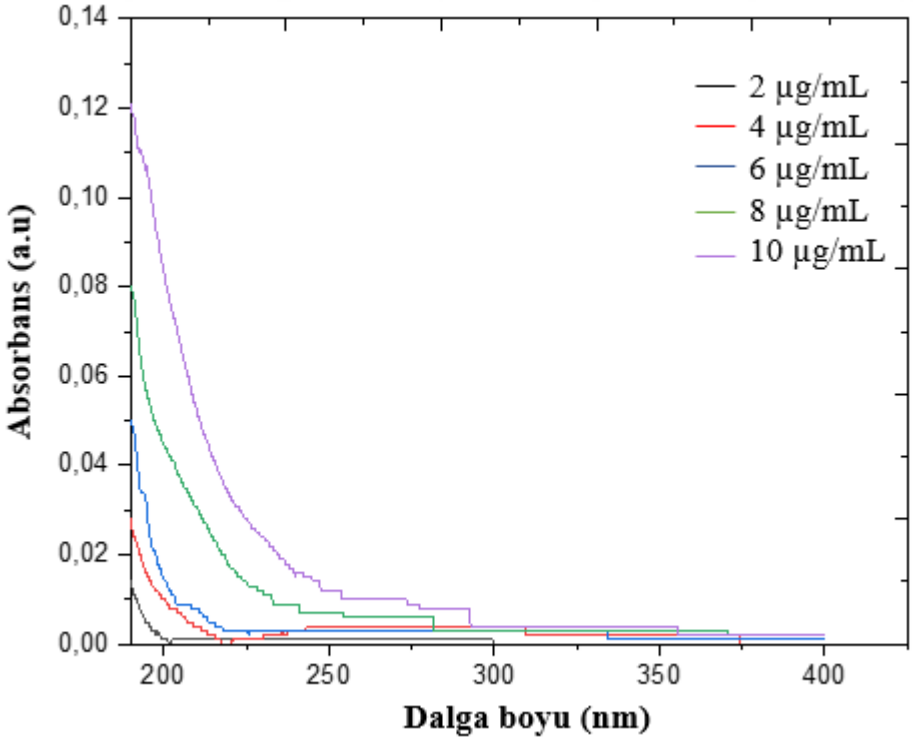
Kompozit doku iskelelerinin antibakteriyel aktivitesi, *S.aureus* (ATCC 29213) bakterisi kullanılarak incelendi. PVA / SA filmlerinin besi ortamı ile etkileşimde olduğu bölgelerde de bakteriyel üreme gözlenmiş; bunun sonucu olarak *S.aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitesinin olmadığı sonucuna varılmıştır [234]. Aynı şekilde sadece Ch içeren doku iskelesi yapılarının da antibakteriyel aktivitesinin olmadığı sonucu gözlenmiştir. Antibiyotik ve %0,1 oranında nanopartikül içeren örneğin ise gram pozitif bir bakteri olan *S.aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğu gözlenmiştir. Optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve kombinasyon halinde uygulanan antimikrobiyal yaklaşımlarda gümüş nanopartiküller önem kazanmaktadır. Özellikle kombine halde kullanılan ve artırılmış antimikrobiyal etkinliğe sahip yaklaşımlarda düşük antibiyotik miktarının daha yüksek bir antimikrobiyal etkinlik sağladığı, tersi durumda antibiyotiğin nanopartikülün etrafını -bir anlamda- kaplayarak etkisini azaltığı bildirilmiştir. [235].

4.1.9 Kompozit Doku İskelelerinden AMP ve AgNP Salınımı

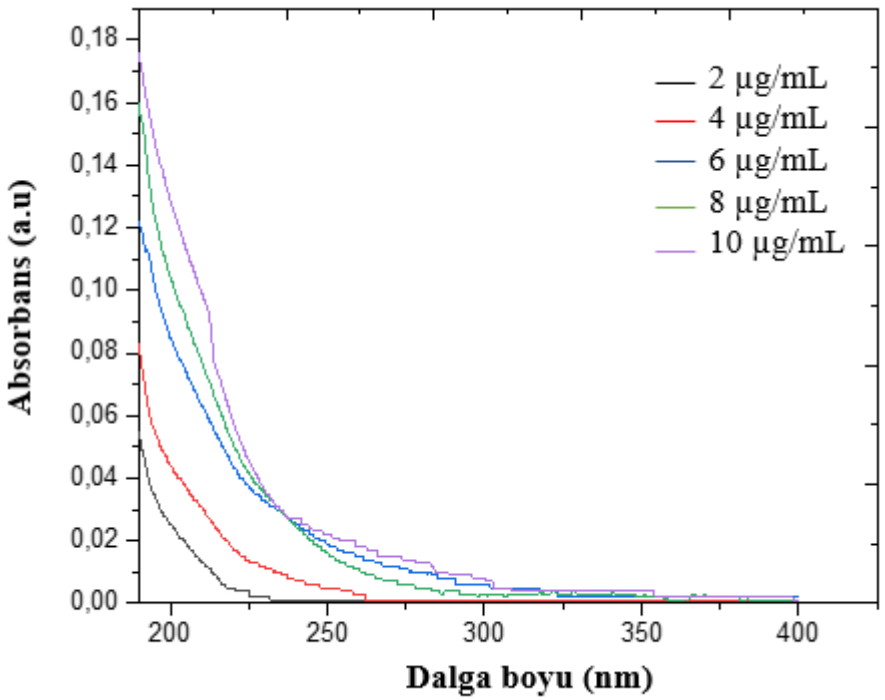
Kompozit doku iskeleleri için *in vitro* ilaç salım kinetik deneyleri, farklı oranlarda nanopartikül ve AMP katkılı birinci dereceden modele göre gerçekleştirildi. İlk olarak, her farklı nanopartikül ve AMP için 15 dakika, 45 dakika, 2 saat, 3 saat, 5 saat, 24 saatte alınan UV ölçümleri ile kalibrasyon eğrisi grafikleri Excel ve Origin programları kullanılarak çizildi (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11).



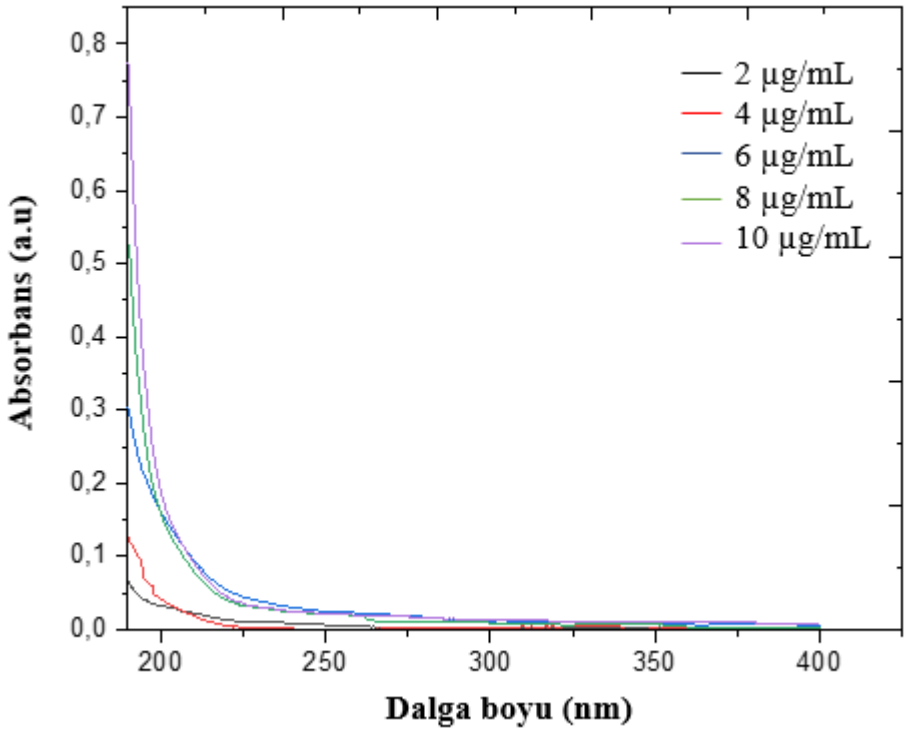
Şekil 4.8 AMP kalibrasyon eğrisi grafiği



Şekil 4.9 %0,005 AgNP kalibrasyon eğrisi grafiği

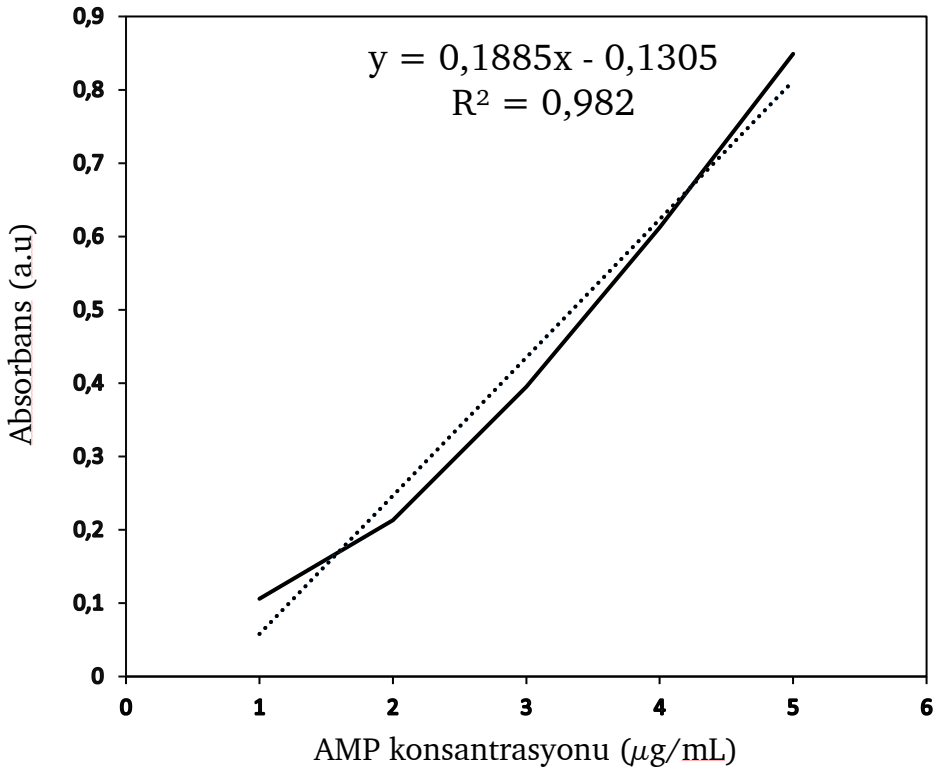


Şekil 4.10 %0,1 AgNP kalibrasyon eğrisi grafiği

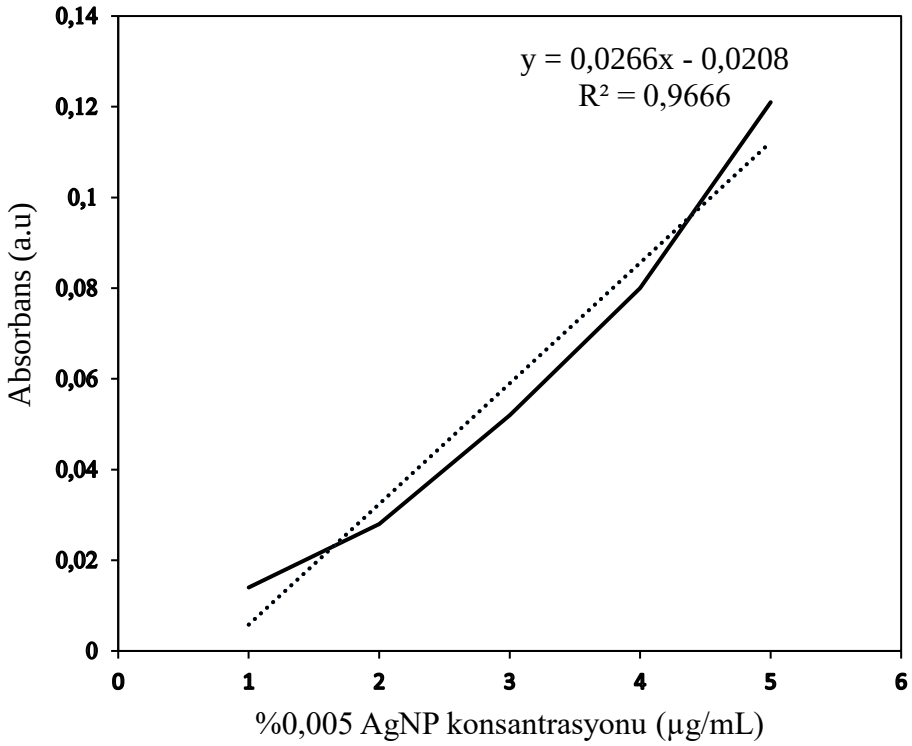


Şekil 4.11 %1 AgNP kalibrasyon eğrisi grafiği

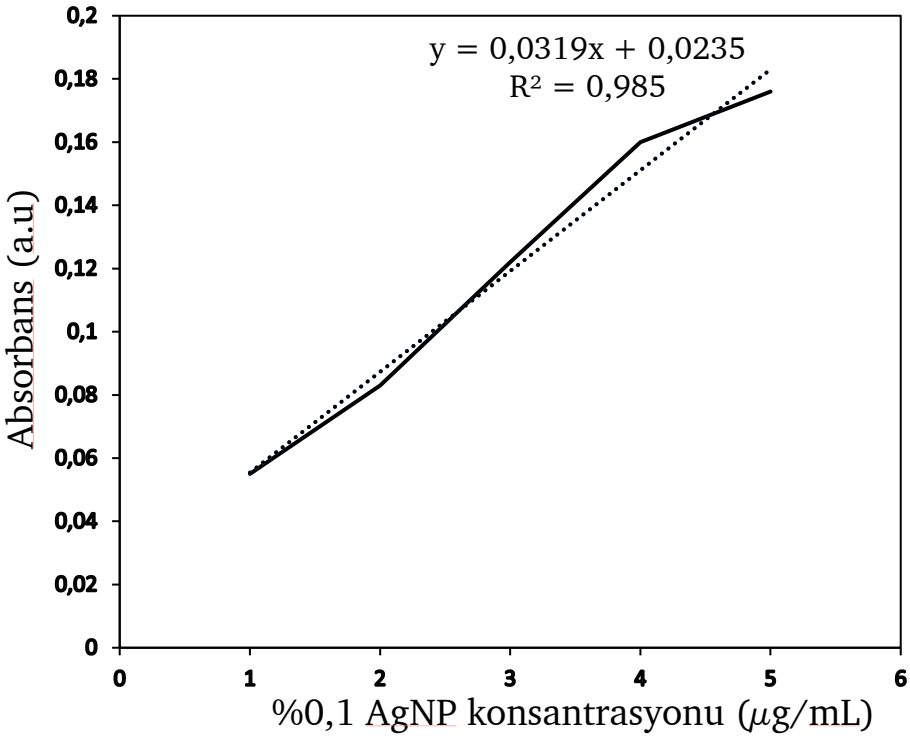
Çizilen grafiklere göre uygun dalga boyutu seçildi. AMP için 205,8 absorbans değeri ve AgNP'ler için ise 190 absorbans değerleri seçildi. Kümülatif ilaç salım grafiğini çizebilmek için her biri için kalibrasyon doğrusu çizilerek R^2 değeri ve denklemler elde edildi (Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15). R^2 değeri farklı absorbans değerleri için denenmiş ve R^2=1'e en yakın sonuca göre alınmıştır.



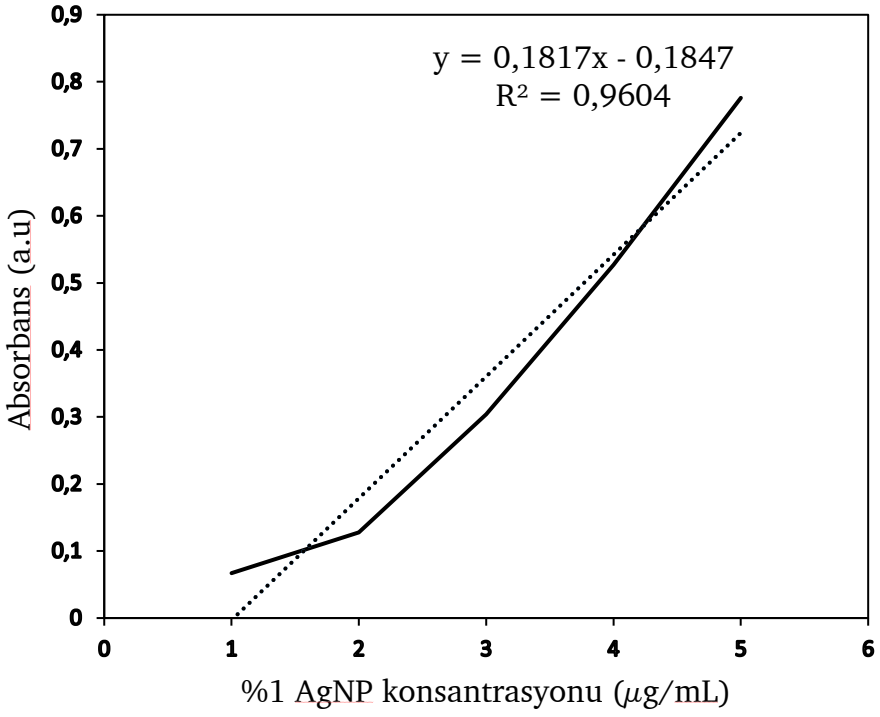
Şekil 4.12 AMP kalibrasyon doğrusu



Şekil 4.13 %0,005 AgNP kalibrasyon doğrusu

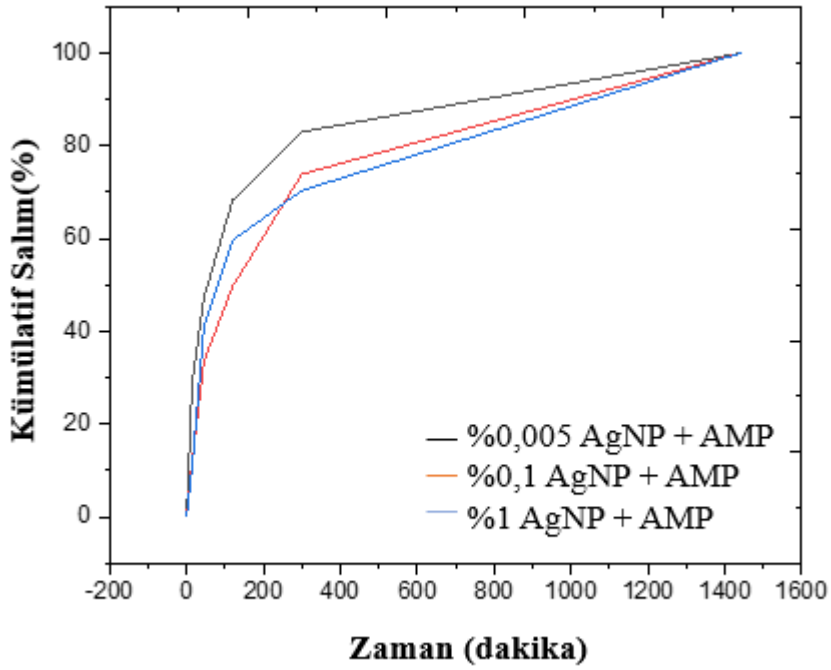


Şekil 4.14 %0,1 AgNP kalibrasyon doğrusu

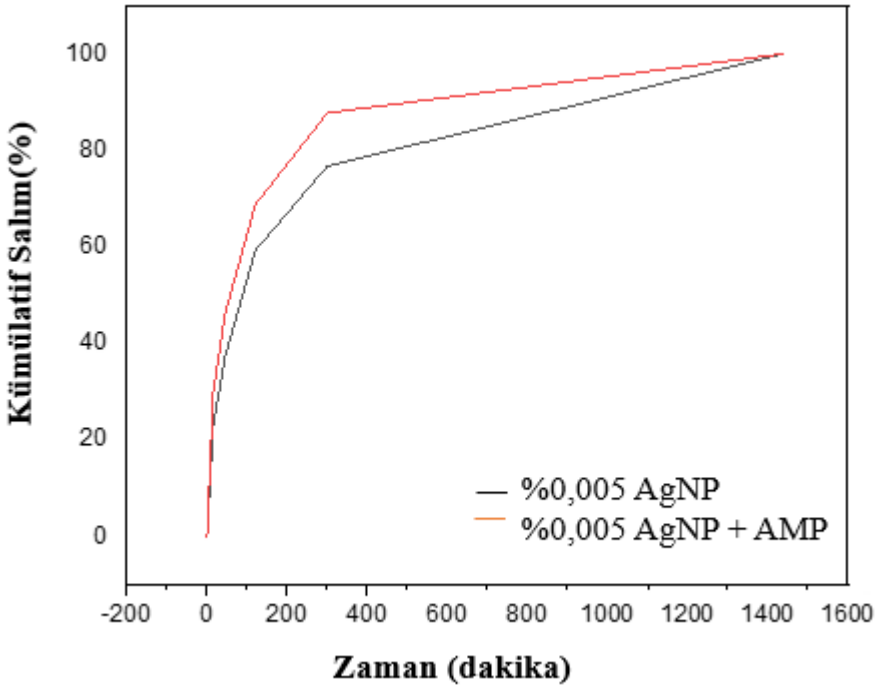


Şekil 4.15 %1 AgNP kalibrasyon doğrusu

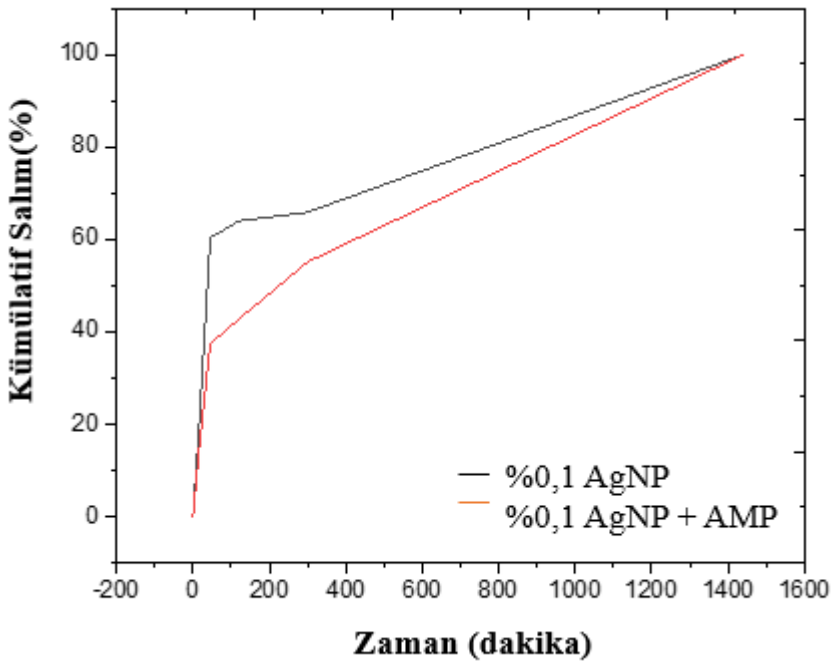
R^2 ve denklemler nihai salımın kümülatif emisyon oralarının belirlenmesi için kullanıldı (Şekil 4.16, Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19). Salım profilleri, vücudun fizyolojik koşulları taklit edilerek yapılması için PBS ve 37 C'de ölçüldü. Kümülatif emisyon grafiklerine bakıldığında sadece şekil 4.17'de antibiyotiğin nanopartikül salım hızını arttırdığı gösterilmiştir. Şekil 4.18 ve 4.19'a bakıldığında ise, salım hızı ve salım miktarı antibiyotik varlığında azalmıştır.



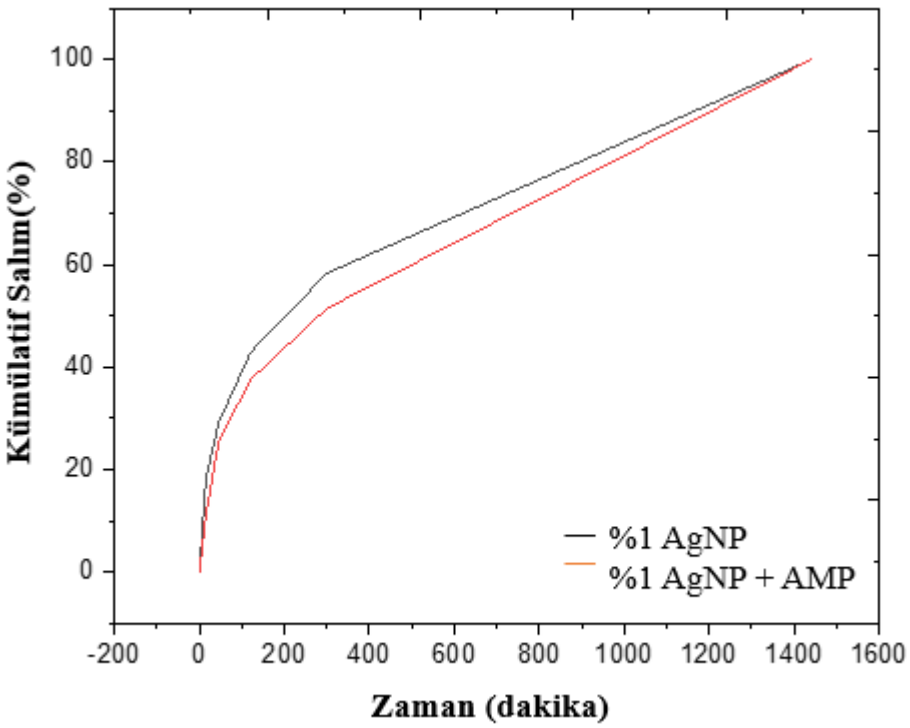
Şekil 4.16 AMP kümülatif emisyon grafiği



Şekil 4.17 %0,005 AgNP kümülatif emisyon grafiği



Şekil 4.18 %0,1 AgNP kümülatif emisyon grafiği



Şekil 4.19 %1 AgNP kümülatif emisyon grafiği

Sonuç olarak, gelişmiş yara örtüleri, özellikle kronik hastalar için çok önemli bir potansiyele sahiptir. Bu tez çalışmasında, 3B baskı yöntemi ile yaralı deri dokusunda kullanılmak üzere, PVA, SA, Ch, AgNP ve AMP içerikli kompozit bir hidrojel yapısı üretilmiştir. Kompozit hidrojel yapısının yanı sıra farklı oranlarda gümüş nanopartiküllerin etkisi de araştırılmıştır. Kronik yaraların geç iyileşmesinde en önemli faktör olan bakteriyel enfeksiyonlar, AMP ve gümüş nanopartiküller gibi antibakteriyel ajanlar ile önlenecek ve bunun sonucunda yara daha hızlı iyileşecektir.

Fiziksel özellikler için 3B basımdan önce yoğunluk, viskozite ve yüzey gerilim oranları ölçülmüştür ve bu değerlere göre basılabilir solüsyonlar 3B yazıcı vasıtasıyla basılmıştır. Doku iskelesinin mekanik dayanımını arttırmak ve bozunma süresini arttırmak için çapraz bağlayıcılar kullanılmıştır. Bu hususta, SA'nın COO- grubu ile Ch'nin NH_2 arasında doğrudan bir etkileşim gözlenmiştir. SA'ın yayılma özelliğinin önüne geçmek için basımdan hemen sonra %5'lik $CaCl_2$ sprey şeklinde sıkılmıştır ve tüm basılan doku iskeleleri PVA'yı fiziksel olarak çapraz bağlanması için -20'de

saklanmıştır. Ayrıca PVA, SA ve Ch'nin ortak çapraz ağlayıcısı GTA buharı da kullanılmıştır. Çapraz bağlama işlemlerinden sonra malzemenin mekanik özelliklerinin tespit edilmesi için çekme testleri uygulanmıştır. Porların eşit büyüklükte olup olmadığını ve morfolojik analizleri için SEM görüntüleri incelenmiştir. Doku iskelesi içerisindeki her bir polimerin spesifik kimyasal gruplarının analizi FTIR kullanılaraak sağlanmış ve doku iskelesindeki varlığı kanıtlanmıştır. %0,005 ve %0,1 gibi düşük oranlarda bulunan AgNP'ler XRD'de direkt olarak tespit edilemese de Ch'nin düşük AgNP varlığında semi-kristalin yapısında analiz edilmesi ve %1 oranında AgNP kullanıldığında ise kristal forma geçtiği, bu sayede de varlığı kanıtlanmıştır. *İn vitro* sitotoksisite özellikleri için MTT metoduyla hücre canlılık testi yapıldığında nanopartikül oranı arttığında hücre canlılığına olumsuz etkisisnin olmadığı görülmüştür. Gram-pozitif bir bakteri türü olan *S.aureus*'a karşı antibakteriyel test disk difüzyon metoduyla yapıldığında, antibiyotik ve nanopartikül içeren doku iskelesenin beklenildiği gibi antibakteriyel özellikte olduğu gösterilmiştir. Antibiyotik ve nanopartikül salım profilleri zamana göre UV cihazı ile belirlenmiştir ve bu salım profilleri baz alınarak kümülatif ilaç salım grafikleri hazırlanmıştır.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde, gümüş nanopartikül ve AMP katkılı 3B basımı yapılan kompozit yapı iskeleleri, kronik yaralara sahip hastalar için oldukça umut vericidir.

KAYNAKÇA

[1] T. Velnar, T. Bailey, and V. Smrkolj, "The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms," *Journal of International Medical Research*, vol. 37, no. 5. Field House Publishing LLP, pp. 1528–1542, Oct. 01, 2009, doi: 10.1177/147323000903700531.

[2] J. S. Boateng, K. H. Matthews, H. N. E. Stevens, and G. M. Eccleston, "Wound healing dressings and drug delivery systems: A review," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 97, no. 8. John Wiley and Sons Inc., pp. 2892–2923, 2008, doi: 10.1002/jps.21210.

[3] H. E. Thu, M. H. Zulfakar, and S. F. Ng, "Alginate based bilayer hydrocolloid films as potential slow-release modern wound dressing," *Int. J. Pharm.*, vol. 434, no. 1–2, pp. 375–383, Sep. 2012, doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.05.044.

[4] G. C. Gurtner, S. Werner, Y. Barrandon, and M. T. Longaker, "Wound repair and regeneration," *Nature*, vol. 453, no. 7193. Nature Publishing Group, pp. 314–321, May 15, 2008, doi: 10.1038/nature07039.

[5] K. Moore, R. McCallion, R. J. Searle, M. C. Stacey, and K. G. Harding, "Prediction and monitoring the therapeutic response of chronic dermal wounds," *Int. Wound J.*, vol. 3, no. 2, pp. 89–98, Jul. 2006, doi: 10.1111/j.1742-4801.2006.00212.x.

[6] K. F. Cutting and R. J. White, "Maceration of the skin and wound bed 1: its nature and causes," *J. Wound Care*, vol. 11, no. 7, pp. 275–278, Jul. 2002, doi: 10.12968/jowc.2002.11.7.26414.

[7] S. Enoch and D. J. Leaper, "Basic science of wound healing," *Surgery*, vol. 26, no. 2. Elsevier, pp. 31–37, Feb. 01, 2008, doi: 10.1016/j.mpsur.2007.11.005.

[8] J. S. Boateng, K. H. Matthews, H. N. E. Stevens, and G. M. Eccleston, "Wound healing dressings and drug delivery systems: A review," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 97, no. 8. John Wiley and Sons Inc., pp. 2892–2923, Aug. 01, 2008, doi: 10.1002/jps.21210.

[9] P. G. Shakespeare, "The role of skin substitutes in the treatment of burn injuries," *Clin. Dermatol.*, vol. 23, no. 4, pp. 413–418, 2005, doi: 10.1016/j.clindermatol.2004.07.015.

[10] S. Guo and L. A. DiPietro, "Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing," *J. Dent. Res.*, vol. 89, no. 3, pp. 219–229, Mar. 2010, doi: 10.1177/0022034509359125.

[11] G. C. Gurtner, M. J. Callaghan, and M. T. Longaker, "Progress and potential for regenerative medicine," *Annual Review of Medicine*, vol. 58. Annu Rev Med, pp. 299–312, 2007, doi: 10.1146/annurev.med.58.082405.095329.

[12] P. Martin, "Wound healing - Aiming for perfect skin regeneration," *Science (80-.).*, vol. 276, no. 5309, pp. 75–81, Apr. 1997, doi: 10.1126/science.276.5309.75.

[13] Z. Nawaz and G. Bentley, "Surgical incisions and principles of wound healing,"

Surgery, vol. 29, no. 2. Elsevier Ltd, pp. 59–62, 2011, doi: 10.1016/j.mpsur.2010.11.011.

[14] J. M. Reinke and H. Sorg, "Wound repair and regeneration," *European Surgical Research*, vol. 49, no. 1. Eur Surg Res, pp. 35–43, Aug. 2012, doi: 10.1159/000339613.

[15] J. E. Jones, E. A. Nelson, and A. Al-Hity, "Skin grafting for venous leg ulcers," *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 2013, no. 1. John Wiley and Sons Ltd, Jan. 31, 2013, doi: 10.1002/14651858.CD001737.pub4.

[16] F. Croisier and C. Jérôme, "Chitosan-based biomaterials for tissue engineering," *European Polymer Journal*, vol. 49, no. 4. Elsevier Ltd, pp. 780–792, Apr. 01, 2013, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009.

[17] R. Langer, "Polymeric delivery systems for controlled drug release," *Chem. Eng. Commun.*, vol. 6, no. 1–3, pp. 1–48, Jan. 1980, doi: 10.1080/00986448008912519.

[18] X. Huang and C. S. Brazel, "On the importance and mechanisms of burst release in matrix-controlled drug delivery systems," 2001. Accessed: Dec. 04, 2020. [Online]. Available: www.elsevier.com/locate/jconrel.

[19] A. Kumari, S. K. Yadav, and S. C. Yadav, "Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 75, no. 1. Colloids Surf B Biointerfaces, pp. 1–18, Jan. 01, 2010, doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.09.001.

[20] C. Pinto Reis, R. J. Neufeld, F. Veiga, and A. J. Ribeiro, "Preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles," in *nanomedicine in cancer*, Pan Stanford, 2018, pp. 171–214.

[21] Y. Zhao *et al.*, "In situ cross-linked polysaccharide hydrogel as extracellular matrix mimics for antibiotics delivery," *Carbohydr. Polym.*, vol. 105, no. 1, pp. 63–69, May 2014, doi: 10.1016/j.carbpol.2014.01.068.

[22] M. V. Vellayappan *et al.*, "Electrospinning applications from diagnosis to treatment of diabetes," *RSC Advances*, vol. 6, no. 87. Royal Society of Chemistry, pp. 83638–83655, Sep. 02, 2016, doi: 10.1039/c6ra15252j.

[23] M. Rezaii, S. Oryan, and A. Javeri, "Curcumin nanoparticles incorporated collagen-chitosan scaffold promotes cutaneous wound healing through regulation of TGF-β1/Smad7 gene expression," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 98, pp. 347–357, May 2019, doi: 10.1016/j.msec.2018.12.143.

[24] J. Long *et al.*, "Development of customised 3D printed biodegradable projectile for administrating extended-release contraceptive to wildlife," *Int. J. Pharm.*, vol. 548, no. 1, pp. 349–356, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.07.002.

[25] I. T. Ozbolat and Y. Yu, "Bioprinting toward organ fabrication: Challenges and future trends," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 60, no. 3, pp. 691–699, 2013, doi: 10.1109/TBME.2013.2243912.

[26] F. Guillemot, V. Mironov, and M. Nakamura, "Bioprinting is coming of age: Report from the International conference on bioprinting and biofabrication in

bordeaux (3b'09)," in *Biofabrication*, 2010, vol. 2, no. 1, doi: 10.1088/1758-5082/2/1/010201.

[27] W. Peng, P. Datta, B. Ayan, V. Ozbolat, D. Sosnoski, and I. T. Ozbolat, "3D bioprinting for drug discovery and development in pharmaceutics," *Acta Biomaterialia*, vol. 57. Acta Materialia Inc, pp. 26–46, Jul. 15, 2017, doi: 10.1016/j.actbio.2017.05.025.

[28] S. V. Murphy and A. Atala, "3D bioprinting of tissues and organs," *Nature Biotechnology*, vol. 32, no. 8. Nature Publishing Group, pp. 773–785, 2014, doi: 10.1038/nbt.2958.

[29] S. Tasoglu and U. Demirci, "Bioprinting for stem cell research," *Trends in Biotechnology*, vol. 31, no. 1. pp. 10–19, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.tibtech.2012.10.005.

[30] B. Derby, "Printing and prototyping of tissues and scaffolds," *Science*, vol. 338, no. 6109. American Association for the Advancement of Science, pp. 921–926, Nov. 16, 2012, doi: 10.1126/science.1226340.

[31] Bagyaraj Sanjeevirayar, "(PDF) Preparation and characterization of silver nanoparticle/aloe vera ıncorporated pcl/peo matrix for wound dressing application." https://www.researchgate.net/publication/348958976_Preparation_and_Characterization_of_Silver_NanoparticleAloe_Vera_Incorporated_PCLPEO_matrix_for_wound_dressing_application (accessed Mar. 22, 2021).

[32] S. Thomas, "The importance of secondary dressings in wound care.," *Journal of wound care*, vol. 7, no. 4. pp. 189–192, 1998, doi: 10.12968/jowc.1998.7.4.189.

[33] M. C. Ferreira, P. Tuma, V. F. Carvalho, and F. Kamamoto, "Complex wounds," *Clinics*, vol. 61, no. 6. Clinics (Sao Paulo), pp. 571–578, Dec. 2006, doi: 10.1590/S1807-59322006000600014.

[34] P. G. Bowler, B. I. Duerden, and D. G. Armstrong, "Wound microbiology and associated approaches to wound management," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 14, no. 2. Clin Microbiol Rev, pp. 244–269, 2001, doi: 10.1128/CMR.14.2.244-269.2001.

[35] I. Brook, "Aerobic and anaerobic microbiology of necrotizing fasciitis in children," *Pediatr. Dermatol.*, vol. 13, no. 4, pp. 281–284, 1996, doi: 10.1111/j.1525-1470.1996.tb01239.x.

[36] A. R. Halbert, M. C. Stacey, J. B. Rohr, and A. Jopp-Mckay, "The effect of bacterıal colonızatıon on venous ulcer healıng," *Australas. J. Dermatol.*, vol. 33, no. 2, pp. 75–80, 1992, doi: 10.1111/j.1440-0960.1992.tb00083.x.

[37] S. C. Sehgal and B. K. Arunkumar, "Microbial flora and its significance in pathology of sickle cell disease leg ulcers," *Infection*, vol. 20, no. 2, pp. 86–88, Mar. 1992, doi: 10.1007/BF01711070.

[38] K. Twum-Danso *et al.*, "Microbiology of postoperative wound infection: a prospective study of 1770 wounds," *J. Hosp. Infect.*, vol. 21, no. 1, pp. 29–37, 1992, doi: 10.1016/0195-6701(92)90151-B.

[39] R. J. White, R. Cooper, and A. Kingsley, “Wound colonization and infection: the role of topical antimicrobials.,” *British journal of nursing (Mark Allen Publishing)*, vol. 10, no. 9. Br J Nurs, pp. 563–578, 2001, doi: 10.12968/bjon.2001.10.9.9387.

[40] Richard J White, Keith Cutting, and Andrew Kingsley, “Topical antimicrobials in the control of wound bioburden - PubMed.” https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16896238/ (accessed Dec. 05, 2020).

[41] N. S. Levine, R. B. Lindberg, A. D. Mason, and B. A. Pruitt, “The quantitative swab culture and smear: A quick, simple method for determining the number of viable aerobic bacteria on open wounds,” *J. Trauma - Inj. Infect. Crit. Care*, vol. 16, no. 2, pp. 89–94, 1976, doi: 10.1097/00005373-197602000-00002.

[42] D. Church, S. Elsayed, O. Reid, B. Winston, and R. Lindsay, “Burn wound infections,” *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 19, no. 2. Clin Microbiol Rev, pp. 403–434, Apr. 2006, doi: 10.1128/CMR.19.2.403-434.2006.

[43] G. Revathi, J. Puri, and B. K. Jain, “Bacteriology of burns,” *Burns*, vol. 24, no. 4, pp. 347–349, Jun. 1998, doi: 10.1016/S0305-4179(98)00009-6.

[44] A. J. Singer and R. A. F. Clark, “Cutaneous wound healing,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 341, no. 10, pp. 738–746, Sep. 1999, doi: 10.1056/NEJM199909023411006.

[45] K. Fan, J. Tang, J. Escandon, and R. S. Kirsner, “State of the art in topical wound-healing products,” *Plast. Reconstr. Surg.*, vol. 127, no. SUPPL. 1 S, Jan. 2011, doi: 10.1097/PRS.0b013e3181fbe275.

[46] S. Schreml, R. M. Szeimies, L. Prantl, S. Karrer, M. Landthaler, and P. Babilas, “Oxygen in acute and chronic wound healing,” *British Journal of Dermatology*, vol. 163, no. 2. Br J Dermatol, pp. 257–268, Aug. 2010, doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09804.x.

[47] J. G. Powers, L. M. Morton, and T. J. Phillips, “Dressings for chronic wounds,” *Dermatol. Ther.*, vol. 26, no. 3, pp. 197–206, May 2013, doi: 10.1111/dth.12055.

[48] D Phillips and C Davey, “Wound cleaning versus wound disinfection: a challenging dilemma - PubMed.” https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9460442/ (accessed Dec. 05, 2020).

[49] B. A. Lipsky and C. Hoey, “Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 49, no. 10. Oxford Academic, pp. 1541–1549, Nov. 15, 2009, doi: 10.1086/644732.

[50] R. F. Pereira and P. J. Bártolo, “3D bioprinting of photocrosslinkable hydrogel constructs,” *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 132, no. 48. John Wiley and Sons Inc., p. n/a-n/a, Dec. 01, 2015, doi: 10.1002/app.42458.

[51] D. M. Dean, A. P. Napolitano, J. Youssef, and J. R. Morgan, “Rods, tori, and honeycombs: the directed self-assembly of microtissues with prescribed microscale geometries,” *FASEB J.*, vol. 21, no. 14, pp. 4005–4012, Dec. 2007, doi: 10.1096/fj.07-8710com.

[52] S. Dhivya, V. V. Padma, and E. Santhini, “Wound dressings - A review,” *BioMedicine (Netherlands)*, vol. 5, no. 4. China Medical University, pp. 24–28, Dec. 01, 2015, doi: 10.7603/s40681-015-0022-9.

[53] K. F. Cutting, “Wound dressings: 21st century performance requirements,” *J. Wound Care*, vol. 19, no. 5 SUPPL., pp. 4–9, Sep. 2010, doi: 10.12968/jowc.2010.19.sup1.48258.

[54] Bhargavi, C.H.S., Kumar, A.D.A., K.N., and B.V., “Ancient and modern view of wound healing: therapeutic treatments. res. j. pharm. biol. chem. 2, 474–479, 2011.,” .

[55] D. Queen, H. Orsted, H. Sanada, and G. Sussman, “A dressing history,” *Int. Wound J.*, vol. 1, no. 1, pp. 59–77, 2004, doi: 10.1111/j.1742-4801.2004.0009.x.

[56] J. S. Boateng, H. V. Pawar, and J. Tetteh, “Polyox and carrageenan based composite film dressing containing anti-microbial and anti-inflammatory drugs for effective wound healing,” *Int. J. Pharm.*, vol. 441, no. 1–2, pp. 181–191, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.ijpharm.2012.11.045.

[57] J. Boateng and O. Catanzano, “Advanced therapeutic dressings for effective wound healing - a review,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 104, no. 11. John Wiley and Sons Inc., pp. 3653–3680, Nov. 01, 2015, doi: 10.1002/jps.24610.

[58] S. Wittaya-Areekul and C. Prahsarn, “Development and in vitro evaluation of chitosan-polysaccharides composite wound dressings,” *Int. J. Pharm.*, vol. 313, no. 1–2, pp. 123–128, Apr. 2006, doi: 10.1016/j.ijpharm.2006.01.027.

[59] K. Y. Lee and D. J. Mooney, “Alginate: Properties and biomedical applications,” *Progress in Polymer Science (Oxford)*, vol. 37, no. 1. Elsevier Ltd, pp. 106–126, 2012, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003.

[60] B. V. Slaughter, S. S. Khurshid, O. Z. Fisher, A. Khademhosseini, and N. A. Peppas, “Hydrogels in regenerative medicine,” *Advanced Materials*, vol. 21, no. 32–33. Adv Mater, pp. 3307–3329, Sep. 04, 2009, doi: 10.1002/adma.200802106.

[61] N. A. Peppas, “A model of dissolution-controlled solute release from porous drug delivery polymeric systems,” *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 17, no. 6. J Biomed Mater Res, pp. 1079–1087, 1983, doi: 10.1002/jbm.820170615.

[62] D. Hudson and A. Margaritis, “Biopolymer nanoparticle production for controlled release of biopharmaceuticals,” *Crit. Rev. Biotechnol.*, vol. 34, no. 2, pp. 161–179, 2014, doi: 10.3109/07388551.2012.743503.

[63] Z. Yan *et al.*, “A sandwich-hybridization assay for simultaneous determination of HIV and tuberculosis DNA targets based on signal amplification by quantum dots-PowerVision ™ polymer coding nanotracers,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 71, pp. 207–213, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.bios.2015.04.010.

[64] Y. D. Reddy, D. Dhachinamoorthi, and K. B. Chandra Sekhar, “A brief review on polymeric nanoparticles for drug delivery and targeting,” *© J. Med. Pharm. Innov.*, vol. 2, no. 7, 2015.

[65] K. Varaprasad, G. M. Raghavendra, T. Jayaramudu, and J. Seo, “Nano zinc oxide-sodium alginate antibacterial cellulose fibres,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 135, pp. 349–355, Jan. 2016, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.08.078.

[66] M. B. Dowling *et al.*, “Determination of efficacy of a novel alginate dressing in a

lethal arterial injury model in swine," *Injury*, vol. 47, no. 10, pp. 2105–2109, Oct. 2016, doi: 10.1016/j.injury.2016.05.003.

[67] Q. Liu *et al.*, "Acceleration of skin regeneration in full-thickness burns by incorporation of bFGF-loaded alginate microspheres into a CMCS-PVA hydrogel," *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, vol. 11, no. 5, pp. 1562–1573, May 2017, doi: 10.1002/term.2057.

[68] M. Bahadoran, A. Shamloo, and Y. D. Nokoorani, "Development of a polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogel-based scaffold incorporating bFGF-encapsulated microspheres for accelerated wound healing," *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–18, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-64480-9.

[69] D. Williams, P. Thayer, H. Martinez, E. Gatenholm, and A. Khademhosseini, "A perspective on the physical, mechanical and biological specifications of bioinks and the development of functional tissues in 3D bioprinting," *Bioprinting*, vol. 9. Elsevier B.V., pp. 19–36, Mar. 01, 2018, doi: 10.1016/j.bprint.2018.02.003.

[70] R. Jayakumar, M. Prabaharan, P. T. S. Kumar, S. V Nair, and H. Tamura, "Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications," *Biotechnol. Adv.*, vol. 29, no. 3, pp. 322–337, 2011, doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.01.005.

[71] H. Ueno *et al.*, "Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs," *Biomaterials*, vol. 20, no. 15, pp. 1407–1414, Aug. 1999, doi: 10.1016/S0142-9612(99)00046-0.

[72] S. Ahmed and S. Ikram, "Chitosan based scaffolds and their applications in wound healing," *Achiev. Life Sci.*, vol. 10, no. 1, pp. 27–37, Jun. 2016, doi: 10.1016/j.als.2016.04.001.

[73] † Marianne H. Nordby, ‡ Anna-Lena Kjøniksen, *,‡ and Bo Nyström, and J. Roots‡, "Thermoreversible gelation of aqueous mixtures of pectin and chitosan. rheology," 2003, doi: 10.1021/BM020107+.

[74] J. Kowalonek, "Studies of chitosan/pectin complexes exposed to UV radiation," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 103, pp. 515–524, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.05.081.

[75] I. Bano, M. Arshad, T. Yasin, M. A. Ghauri, and M. Younus, "Chitosan: A potential biopolymer for wound management," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 102. Elsevier B.V., pp. 380–383, Sep. 01, 2017, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.047.

[76] B. Azimi, P. Nourpanah, M. Rabiee, and S. Arbab, "Poly (ε-caprolactone) fiber: An overview," *J. Eng. Fiber. Fabr.*, vol. 9, no. 3, pp. 74–90, 2014, doi: 10.1177/155892501400900309.

[77] B. Guo and P. X. Ma, "Synthetic biodegradable functional polymers for tissue engineering: A brief review," *Sci. China Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 490–500, Mar. 2014, doi: 10.1007/s11426-014-5086-y.

[78] S. Mohan, O. S. Oluwafemi, N. Kalarikkal, S. Thomas, and S. P. Songca, "Biopolymers – Application in Nanoscience and Nanotechnology," in *Recent*

Advances in Biopolymers, InTech, 2016.

[79] N. Celikkin *et al.*, "3D printing of thermoresponsive polyisocyanide (PIC) hydrogels as bioink and fugitive material for tissue engineering," *Polymers (Basel).*, vol. 10, no. 5, May 2018, doi: 10.3390/polym10050555.

[80] R. Ahmed *et al.*, "Novel electrospun chitosan/polyvinyl alcohol/zinc oxide nanofibrous mats with antibacterial and antioxidant properties for diabetic wound healing," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 120, pp. 385–393, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.057.

[81] S. M. Mousavi *et al.*, "Asymmetric membranes: a potential scaffold for wound healing applications," *Symmetry (Basel).*, vol. 12, no. 7, p. 1100, Jul. 2020, doi: 10.3390/sym12071100.

[82] S. Bahrani, S. A. Hashemi, S. M. Mousavi, and R. Azhdari, "Zinc-based metal–organic frameworks as nontoxic and biodegradable platforms for biomedical applications: review study," *Drug Metabolism Reviews*, vol. 51, no. 3. Taylor and Francis Ltd, pp. 356–377, 2019, doi: 10.1080/03602532.2019.1632887.

[83] R. W. Korsmeyer and N. A. Peppas, "Effect of the morphology of hydrophilic polymeric matrices on the diffusion and release of water soluble drugs," *J. Memb. Sci.*, vol. 9, no. 3, pp. 211–227, Jan. 1981, doi: 10.1016/S0376-7388(00)80265-3.

[84] T. R. Hoare and D. S. Kohane, "Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges," *Polymer*, vol. 49, no. 8. Elsevier BV, pp. 1993–2007, Apr. 15, 2008, doi: 10.1016/j.polymer.2008.01.027.

[85] A. Jones and D. Vaughan, "Hydrogel dressings in the management of a variety of wound types: A review," *J. Orthop. Nurs.*, vol. 9, no. SUPPL. 1, pp. S1–S11, Dec. 2005, doi: 10.1016/S1361-3111(05)80001-9.

[86] F. Hafezi, C. Kucukgul, S. Ozler, and B. Koc, "Bioprinting: application of additive manufacturing in medicine," in *additive manufacturing*, CRC Press, 2015, pp. 197–214.

[87] K. Hölzl, S. Lin, L. Tytgat, S. Van Vlierberghe, L. Gu, and A. Ovsianikov, "Bioink properties before, during and after 3D bioprinting," *Biofabrication*, vol. 8, no. 3. Institute of Physics Publishing, Sep. 23, 2016, doi: 10.1088/1758-5090/8/3/032002.

[88] S. Miao *et al.*, "4D printing of polymeric materials for tissue and organ regeneration," *Materials Today*, vol. 20, no. 10. Elsevier B.V., pp. 577–591, Dec. 01, 2017, doi: 10.1016/j.mattod.2017.06.005.

[89] K. F. Leong, C. M. Cheah, and C. K. Chua, "Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs," *Biomaterials*, vol. 24, no. 13, pp. 2363–2378, 2003, doi: 10.1016/S0142-9612(03)00030-9.

[90] C. Tong *et al.*, "Hypoxia pretreatment of bone marrow-derived mesenchymal stem cells seeded in a collagen-chitosan sponge scaffold promotes skin wound healing in diabetic rats with hindlimb ischemia," *Wound Repair Regen.*, vol. 24, no. 1,

pp. 45–56, Jan. 2016, doi: 10.1111/wrr.12369.

[91] Z. Muwaffak, A. Goyanes, V. Clark, A. W. Basit, S. T. Hilton, and S. Gaisford, “Patient-specific 3D scanned and 3D printed antimicrobial polycaprolactone wound dressings,” *Int. J. Pharm.*, vol. 527, no. 1–2, pp. 161–170, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.ijpharm.2017.04.077.

[92] E. Altun *et al.*, “Kinetic release studies of antibiotic patches for local transdermal delivery,” *Pharmaceutics*, vol. 13, no. 5, p. 613, Apr. 2021, doi: 10.3390/pharmaceutics13050613.

[93] P. I. Rafailidis, E. N. Ioannidou, and M. E. Falagas, “Ampicillin/sulbactam: Current status in severe bacterial infections,” *Drugs*, vol. 67, no. 13. Springer, pp. 1829–1849, Sep. 14, 2007, doi: 10.2165/00003495-200767130-00003.

[94] R. Ferraz *et al.*, “Antibacterial activity of Ionic Liquids based on ampicillin against resistant bacteria,” *RSC Adv.*, vol. 4, no. 9, pp. 4301–4307, Dec. 2014, doi: 10.1039/c3ra44286a.

[95] K. B. Lee, S. J. Park, C. A. Mirkin, J. C. Smith, and M. Mrksich, “Protein nanoarrays generated by dip-pen nanotithography,” *Science (80-.).*, vol. 295, no. 5560, pp. 1702–1705, Mar. 2002, doi: 10.1126/science.1067172.

[96] “Introductıon to bıomedıcal engıneerıng thırd edıtıon.”

[97] M. Gümüşderelioğlu, “(No Title).” http://www.biyolojiegitim.yyu.edu.tr/teknopdf/Biyo200222S.pdf (accessed Apr. 12, 2021).

[98] E. Wintermantel, J. Mayer, J. Blum, K. L. Eckert, P. Lüscher, and M. Mathey, “Tissue engineering scaffolds using superstructures,” *Biomaterials*, vol. 17, no. 2, pp. 83–91, Jan. 1996, doi: 10.1016/0142-9612(96)85753-X.

[99] A. Arslan-Yildiz, R. El Assal, P. Chen, S. Guven, F. Inci, and U. Demirci, “Towards artificial tissue models: Past, present, and future of 3D bioprinting,” *Biofabrication*, vol. 8, no. 1. Institute of Physics Publishing, 2016, doi: 10.1088/1758-5090/8/1/014103.

[100] A. K. Gür and M. Taşkın, “Metalik biyomalzemeler ve biyouyum,” *Fırat Üniversitesi Doğu Araştırmaları Derg.*, vol. 2, no. 2, pp. 106–113, Apr. 2004, Accessed: Apr. 12, 2021. [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/tr/pub/fudad/590441.

[101] A. Cüneyt Tas, “Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37°C in synthetic body fluids,” *Biomaterials*, vol. 21, no. 14, pp. 1429–1438, Jul. 2000, doi: 10.1016/S0142-9612(00)00019-3.

[102] R. Van Noort, “Titanium: The implant material of today,” *Journal of Materials Science*, vol. 22, no. 11. Kluwer Academic Publishers, pp. 3801–3811, Nov. 1987, doi: 10.1007/BF01133326.

[103] M. Browne and P. J. Gregson, “Surface modification of titanium alloy implants,” *Biomaterials*, vol. 15, no. 11, pp. 894–898, 1994, doi: 10.1016/0142-9612(94)90113-9.

[104] Bonfield W. and Tanner E., “Hydroxyapatite Composite Biomaterials - Evolution and Applications,” 1997. .

[105] M. Hamadouche and L. Sedel, “Ceramıcs ın orthopaedıcs,” *J. Bone Joint Surg. Br.*, vol. 82-B, no. 8, pp. 1095–1099, Nov. 2000, doi: 10.1302/0301-620x.82b8.0821095.

[106] B. Baysal, *“Polimer Kimyası”, 2. Baskı, ODTÜ Basım İşliği, 19, (1994)*. .

[107] S. K. S. Schmid, “(PDF) Manufacturing Engineering and Technology 6th Edition Serope Kalpakjian Stephen Schmid.pdf | A’rof Faroqi - Academia.edu.” https://www.academia.edu/38175528/Manufacturing_Engineering_and_Technology_6th_Edition_Serope_Kalpakjian_Stephen_Schmid_pdf (accessed Apr. 14, 2021).

[108] Satılmış Basan, “‘Polimer Kimyası’, 88, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, 12-16, (2001) ,” .

[109] Erhan Pişkin, *Polimer Teknolojisine Giriş - Erhan Pişkin*. .

[110] K. Chen, F. Wang, S. Liu, X. Wu, L. Xu, and D. Zhang, “In situ reduction of silver nanoparticles by sodium alginate to obtain silver-loaded composite wound dressing with enhanced mechanical and antimicrobial property,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 148, pp. 501–509, 2020, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.156.

[111] G. D. Mogoşanu and A. M. Grumezescu, “Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing,” *Int. J. Pharm.*, vol. 463, no. 2, pp. 127–136, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.12.015.

[112] A. R. Unnithan *et al.*, “Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun polyurethane-dextran nanofiber mats containing ciprofloxacin HCl,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 90, no. 4, pp. 1786–1793, Nov. 2012, doi: 10.1016/j.carbpol.2012.07.071.

[113] M. Sinha, R. M. Banik, C. Haldar, and P. Maiti, “Development of ciprofloxacin hydrochloride loaded poly(ethylene glycol)/chitosan scaffold as wound dressing,” *J. Porous Mater.*, vol. 20, no. 4, pp. 799–807, Aug. 2013, doi: 10.1007/s10934-012-9655-1.

[114] Ç. Arif ÖZKAN *et al.*, “Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi,” Jan. 2016. Accessed: Apr. 14, 2021. [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/tr/pub/dubited/258460.

[115] “teknoloji, TDK sözlük anlamı.” https://sozluk.gov.tr/ (accessed Dec. 05, 2020).

[116] M. Thirumavalavan, K. Settu, and J.-F. Lee, “A Short Review on Applications of Nanomaterials in Biotechnology and Pharmacology,” *Curr. Bionanotechnol.*, vol. 2, no. 2, pp. 116–121, Jan. 2017, doi: 10.2174/2213529402666161125143644.

[117] H. Bruus, “Introduction to nanotechnology.”

[118] Jeremy Ramsden, *Nanotechnology - 1st Edition*, 28th June 2011. .

[119] L. . Filipponi and D. Sutherland, “Principles, applications, ımplications and hands-on activities nanotechnologıes a compendium for educators,” doi:

10.2777/76945.

[120] “Springer handbook of nanotechnology | Bharat Bhushan | Springer.” https://www.springer.com/gp/book/9783540298380 (accessed Apr. 12, 2021).

[121] A. Nouailhat, “An introduction to nanoscience and nanotechnology.”

[122] G. Hornyak, J. Moore, H. Tibbals, and Dutta, “Fundamentals of nanotechnology - 1st Edition - Gabor L. Hornyak - Joh.” https://www.routledge.com/Fundamentals-of-Nanotechnology/Hornyak-Moore-Tibbals-Dutta/p/book/9781420048032 (accessed Dec. 04, 2020).

[123] M. G. Lines, “Nanomaterials for practical functional uses,” *J. Alloys Compd.*, vol. 449, no. 1–2, pp. 242–245, Jan. 2008, doi: 10.1016/j.jallcom.2006.02.082.

[124] Kelly SERVICK, “Stanford’s touch-sensitive plastic skin heals itself.” https://news.stanford.edu/news/2012/november/healing-plastic-skin-111112.html (accessed Dec. 05, 2020).

[125] “ISO - ISO/TS 27687:2008 - Nanotechnologies — terminology and definitions for nano-objects — nanoparticle, nanofibre and nanoplate.” https://www.iso.org/standard/44278.html (accessed Dec. 04, 2020).

[126] P.-E. Hansen and R. D. Boyd, “(PDF) Introductory guide to nanometrology.” https://www.researchgate.net/publication/282122542_Introductory_Guide_to_Nanometrology (accessed Apr. 12, 2021).

[127] L.-J. Cheng, A. Kannegulla, Y. Liu, and B. Wu, “Enhanced molecular beacon based DNA detection using plasmonic open-ring nanoarrays,” in *SPIE*, Sep. 2018, vol. 10728, p. 14, doi: 10.1117/12.2321234.

[128] W. E. Bawarski, E. Chidlowsky, D. J. Bharali, and S. A. Mousa, “Emerging nanopharmaceuticals,” *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 4, no. 4. Nanomedicine, pp. 273–282, Dec. 2008, doi: 10.1016/j.nano.2008.06.002.

[129] J. Su *et al.*, “Multicolor gold-silver nano-mushrooms as ready-to-use SERS probes for ultrasensitive and multiplex DNA/miRNA detection,” *Anal. Chem.*, vol. 89, no. 4, pp. 2531–2538, Feb. 2017, doi: 10.1021/acs.analchem.6b04729.

[130] G. A. Hughes, “Nanostructure-mediated drug delivery,” *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 1, no. 1. Nanomedicine, pp. 22–30, Mar. 2005, doi: 10.1016/j.nano.2004.11.009.

[131] Y. Weng, J. Liu, S. Jin, W. Guo, X. Liang, and Z. Hu, “Nanotechnology-based strategies for treatment of ocular disease,” *Acta Pharmaceutica Sinica B*, vol. 7, no. 3. Chinese Academy of Medical Sciences, pp. 281–291, May 01, 2017, doi: 10.1016/j.apsb.2016.09.001.

[132] F. Fenaroli *et al.*, “Enhanced permeability and retention-like extravasation of nanoparticles from the vasculature into tuberculosis granulomas in zebrafish and mouse models,” *ACS Nano*, vol. 12, no. 8, pp. 8646–8661, Aug. 2018, doi: 10.1021/acsnano.8b04433.

[133] H. Chen and Y. Zhao, “Applications of light-responsive systems for cancer

theranostics," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 10, no. 25, pp. 21021–21034, Jun. 2018, doi: 10.1021/acsami.8b01114.

[134] A. N. Elmeshad, S. M. Mortazavi, and M. R. Mozafari, "Formulation and characterization of nanoliposomal 5-fluorouracil for cancer nanotherapy," *J. Liposome Res.*, vol. 24, no. 1, pp. 1–9, Mar. 2014, doi: 10.3109/08982104.2013.810644.

[135] C. Saraiva, C. Praça, R. Ferreira, T. Santos, L. Ferreira, and L. Bernardino, "Nanoparticle-mediated brain drug delivery: Overcoming blood-brain barrier to treat neurodegenerative diseases," *Journal of Controlled Release*, vol. 235. Elsevier B.V., pp. 34–47, Aug. 10, 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.05.044.

[136] T. Yang *et al.*, "Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in Danio Rerio," *Pharm. Res.*, vol. 32, no. 6, pp. 2003–2014, Jun. 2015, doi: 10.1007/s11095-014-1593-y.

[137] O. Van Tellingen, B. Yetkin-Arik, M. C. De Gooijer, P. Wesseling, T. Wurdinger, and H. E. De Vries, "Overcoming the blood-brain tumor barrier for effective glioblastoma treatment," *Drug Resistance Updates*, vol. 19. Churchill Livingstone, pp. 1–12, Mar. 01, 2015, doi: 10.1016/j.drup.2015.02.002.

[138] S. Parveen, R. Misra, and S. K. Sahoo, "Nanoparticles: A boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 8, no. 2. Nanomedicine, pp. 147–166, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.nano.2011.05.016.

[139] S. Hua, E. Marks, J. J. Schneider, and S. Keely, "Advances in oral nano-delivery systems for colon targeted drug delivery in inflammatory bowel disease: Selective targeting to diseased versus healthy tissue," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 11, no. 5. Elsevier Inc., pp. 1117–1132, Jul. 01, 2015, doi: 10.1016/j.nano.2015.02.018.

[140] F. Morales-Zavala *et al.*, "Functionalization of stable fluorescent nanodiamonds towards reliable detection of biomarkers for Alzheimer's disease," *J. Nanobiotechnology*, vol. 16, no. 1, p. 60, Aug. 2018, doi: 10.1186/s12951-018-0385-7.

[141] "Opportunities and risks of nanotechnologies report in co-operation with the OECD International Futures Programme."

[142] F. Andreotti, A. P. Mucha, C. Caetano, P. Rodrigues, C. Rocha Gomes, and C. M. R. Almeida, "Interactions between salt marsh plants and Cu nanoparticles – Effects on metal uptake and phytoremediation processes," *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 120, pp. 303–309, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.ecoenv.2015.06.017.

[143] "Green chemistry: theory and practice - Paul T. Anastas, John Charles Warner - Google Kitaplar." https://books.google.com.tr/books/about/Green_Chemistry.html?id=SrO8QgAACAAJ&redir_esc=y (accessed Dec. 03, 2020).

[144] S. A. Qamar, M. Asgher, N. Khalid, and M. Sadaf, "Nanobiotechnology in health sciences: Current applications and future perspectives," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 22. Elsevier Ltd, Nov. 01, 2019, doi:

10.1016/j.bcab.2019.101388.

[145] John C. Miller, Ruben Serrato, Jose Miguel Represas-Cardenas, and Griffith Kundahl, “The handbook of nanotechnology: business, policy, and ıntellectual property law.” .

[146] L. Chen *et al.*, “Antibacterial gauze based on the synergistic antibacterial mechanism of antimicrobial peptides and silver nanoparticles,” *J. Polym. Res.*, vol. 28, no. 2, p. 3, Feb. 2021, doi: 10.1007/s10965-020-02363-3.

[147] E. İ. Cansiz *et al.*, “Nanoteknolojide nano gümüşün antibakteriyel özelliği.”

[148] D. Barczikai, V. Kacsari, J. Domokos, D. Szabó, and A. Jedlovszky-Hajdu, “Interaction of silver nanoparticle and commonly used anti-inflammatory drug within a poly(amino acid) derivative fibrous mesh,” *J. Mol. Liq.*, vol. 322, p. 114575, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.molliq.2020.114575.

[149] J. Cui *et al.*, “Enhancement of oral absorption of curcumin by self-microemulsifying drug delivery systems,” *Int. J. Pharm.*, vol. 371, no. 1–2, pp. 148–155, Apr. 2009, doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.12.009.

[150] U. K. R. B. J. B. Dmitry Nevozhay 1, “[Current status of research on conjugates and related drug delivery systems in the treatment of cancer and other diseases] - PubMed.” https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17554238/ (accessed Dec. 05, 2020).

[151] M. Chamundeeswari, J. Jeslin, and M. L. Verma, “Nanocarriers for drug delivery applications,” *Environmental Chemistry Letters*, vol. 17, no. 2. Springer, pp. 849–865, Jun. 15, 2019, doi: 10.1007/s10311-018-00841-1.

[152] P. Kesharwani and A. K. Iyer, “Recent advances in dendrimer-based nanovectors for tumor-targeted drug and gene delivery,” *Drug Discovery Today*, vol. 20, no. 5. Elsevier Ltd, pp. 536–547, May 01, 2015, doi: 10.1016/j.drudis.2014.12.012.

[153] P. Ramalingam and Y. T. Ko, “Improved oral delivery of resveratrol from N-trimethyl chitosan-g-palmitic acid surface-modified solid lipid nanoparticles,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 139, pp. 52–61, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.11.050.

[154] M. Yao, D. J. McClements, and H. Xiao, “Improving oral bioavailability of nutraceuticals by engineered nanoparticle-based delivery systems,” *Current Opinion in Food Science*, vol. 2. Elsevier Ltd, pp. 14–19, Apr. 01, 2015, doi: 10.1016/j.cofs.2014.12.005.

[155] B. T. Griffin, J. Guo, E. Presas, M. D. Donovan, M. J. Alonso, and C. M. O’Driscoll, “Pharmacokinetic, pharmacodynamic and biodistribution following oral administration of nanocarriers containing peptide and protein drugs,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 106, no. Pt B. Elsevier B.V., pp. 367–380, Nov. 15, 2016, doi: 10.1016/j.addr.2016.06.006.

[156] Y. Dölen *et al.*, “Co-delivery of PLGA encapsulated invariant NKT cell agonist with antigenic protein induce strong T cell-mediated antitumor immune responses,” *Oncoimmunology*, vol. 5, no. 1, 2016, doi: 10.1080/2162402X.2015.1068493.

[157] M. Zaric *et al.*, “Dissolving microneedle delivery of nanoparticle-encapsulated

antigen elicits efficient cross-priming and th1 immune responses by murine langerhans cells," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 135, no. 2, pp. 425–434, Feb. 2015, doi: 10.1038/jid.2014.415.

[158] X. J. Loh, S. J. Ong, Y. T. Tung, and H. T. Choo, "Co-delivery of drug and DNA from cationic dual-responsive micelles derived from poly(DMAEMA-co-PPGMA)," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 33, no. 8, pp. 4545–4550, Dec. 2013, doi: 10.1016/j.msec.2013.07.011.

[159] F. Marga *et al.*, "Toward engineering functional organ modules by additive manufacturing," *Biofabrication*, vol. 4, no. 2. Biofabrication, Jun. 2012, doi: 10.1088/1758-5082/4/2/022001.

[160] S. Tasoglu and U. Demirci, "Bioprinting for stem cell research," *Trends in Biotechnology*, vol. 31, no. 1. Trends Biotechnol, pp. 10–19, Jan. 2013, doi: 10.1016/j.tibtech.2012.10.005.

[161] J. Malda *et al.*, "25th anniversary article: Engineering hydrogels for biofabrication," *Advanced Materials*, vol. 25, no. 36. Adv Mater, pp. 5011–5028, Sep. 2013, doi: 10.1002/adma.201302042.

[162] S. Knowlton, S. Anand, T. Shah, and S. Tasoglu, "Bioprinting for neural tissue engineering," *Trends in Neurosciences*, vol. 41, no. 1. Elsevier Ltd, pp. 31–46, Jan. 01, 2018, doi: 10.1016/j.tins.2017.11.001.

[163] S. Egemen NADASBAŞ, "Moda tasarımında 3 boyutlu yazıcıların malzeme-işlev-form odaklı kullanımları ve," *J. Acad. Soc. Sci. Stud.*, vol. 2, no. Number: 66, pp. 231–257, Jan. 2018, doi: 10.9761/jasss7452.

[164] C. Mandrycky, Z. Wang, K. Kim, and D. H. Kim, "3D bioprinting for engineering complex tissues," *Biotechnology Advances*, vol. 34, no. 4. Elsevier Inc., pp. 422–434, Jul. 01, 2016, doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.12.011.

[165] Çalışkan MG, " Üç boyutlu yazıcılar ve gelecekte yaratacağı olası fikri haklar çatışmaları.," *FMR Dergisi*, pp. 59–90, 2015.

[166] C. Schubert, M. C. Van Langeveld, and L. A. Donoso, "Innovations in 3D printing: a 3D overview from optics to organs," doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-304446.

[167] Ashraf M, Gibson I, and Rashed MG, " 'Challenges and Prospects of 3Dprinting in Structural Engineering.' 13th International Conference on Steel, Space and Composite Structures ."

[168] M. Yıldıran and Ö. Zaimoğlu, "Moda tasarımında inovatif bir yöntem: üç," doi: 10.7816/idil-06-38-21.

[169] S. V. Murphy and A. Atala, "3D bioprinting of tissues and organs," *Nature Biotechnology*, vol. 32, no. 8. Nature Publishing Group, pp. 773–785, 2014, doi: 10.1038/nbt.2958.

[170] Y. Jun and K. Choi, "Design of patient-specific hip implants based on the 3D geometry of the human femur," *Adv. Eng. Softw.*, vol. 41, no. 4, pp. 537–547, 2010, doi: 10.1016/j.advengsoft.2009.10.016.

[171] B. Duman and M. Cengiz Kayacan, "Seçmeli lazer sinterleme tezgâhı için imalat

yazılımı geliştirilmesi," Dec. 2016. Accessed: Dec. 03, 2020. [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/tr/pub/utbd/406261.

[172] J. Liu, J. Chi, K. Wang, X. Liu, and J. Liu, "Full-thickness wound healing using 3D bioprinted gelatin-alginate scaffolds in mice: A histopathological study Recommended Citation." Accessed: Dec. 04, 2020. [Online]. Available: https://digitalcommons.wustl.edu/open_access_pubs.

[173] J. Giannatsis and V. Dedoussis, "Additive fabrication technologies applied to medicine and health care: A review," *Int. J. Adv. Manuf. Technol.*, vol. 40, no. 1–2, pp. 116–127, Jan. 2009, doi: 10.1007/s00170-007-1308-1.

[174] İ. Çelik *et al.*, "Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi hızlı prototipleme teknolojileri ve uygulama alanları," Aug. 2013. Accessed: Dec. 03, 2020. [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/en/pub/dpufbed/404617.

[175] L. Hao, S. Mellor, O. Seaman, J. Henderson, N. Sewell, and M. Sloan, "Material characterisation and process development for chocolate additive layer manufacturing," *Virtual Phys. Prototyp.*, vol. 5, no. 2, pp. 57–64, Jun. 2010, doi: 10.1080/17452751003753212.

[176] P. Walters, D. Huson, Southerland, and Debbie, "Edible 3D printing," vol. 27. Jan. 01, 2011, Accessed: Dec. 05, 2020. [Online]. Available: https://uwe-repository.worktribe.com/output/972179.

[177] F. C. Godoi, S. Prakash, and B. R. Bhandari, "3d printing technologies applied for food design: Status and prospects," *Journal of Food Engineering*, vol. 179. Elsevier Ltd, pp. 44–54, Jun. 01, 2016, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.01.025.

[178] "United States Patent (19) Crump (54) Apparatus and method for creatıng three-dımensıonal objects," Oct. 1989.

[179] J. Lipton *et al.*, "Mutlı-materıal food prıntıng wıth complex ınternal structure suıtable for conventıonal post-processıng."

[180] M. B. Heo, S. Y. Kim, W. S. Yun, and Y. T. Lim, "Sequential delivery of an anticancer drug and combined immunomodulatory nanoparticles for efficient chemoimmunotherapy," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 10, pp. 5981–5993, Sep. 2015, doi: 10.2147/IJN.S90104.

[181] Hudson, "United States Patent (19)," Nov. 1997.

[182] B. Canfield, S. Diego, and C. Holstun, "III Reducıng the sıze of drops ejected from athermal ınkjet prınthead," Aug. 1994.

[183] H. P. Le, "Progress and Trends in Ink-jet Printing Technology," 1999.

[184] B. Derby, "Inkjet printing of functional and structural materials: fluid property requirements, feature stability, and resolution," *Annu. Rev. Mater. Res.*, vol. 40, no. 1, pp. 395–414, Jun. 2010, doi: 10.1146/annurev-matsci-070909-104502.

[185] F. Liu and X. Wang, "Synthetic polymers for organ 3D printing," *Polymers*, vol. 12, no. 8. MDPI AG, Aug. 01, 2020, doi: 10.3390/polym12081765.

[186] C. B. Arnold, P. Serra, and A. Piqué, "Laser direct-write techniques for printing of

complex materials," *MRS Bulletin*, vol. 32, no. 1. Materials Research Society, pp. 23–31, 2007, doi: 10.1557/mrs2007.11.

[187] J. Castillo-León, K. Zór, and W. E. Svendsen, "Self-assembled peptide nanostructures for the development of electrochemical biosensors," in *Handbook of Nanoelectrochemistry*, Springer International Publishing, 2015, pp. 1–15.

[188] J. Zhang *et al.*, "Sacrificial-layer free transfer of mammalian cells using near infrared femtosecond laser pulses," *PLoS One*, vol. 13, no. 5, p. e0195479, May 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0195479.

[189] D. B. Chrisey, "The power of direct writing," *Science*, vol. 289, no. 5481. Science, pp. 879–881, Aug. 11, 2000, doi: 10.1126/science.289.5481.879.

[190] S. Vijayavenkataraman, J. Y. H. Fuh, and W. F. Lu, "3D printing and 3D bioprinting in pediatrics," *Bioengineering*, vol. 4, no. 3. MDPI AG, Sep. 01, 2017, doi: 10.3390/bioengineering4030063.

[191] I. Matai, G. Kaur, A. Seyedsalehi, A. McClinton, and C. T. Laurencin, "Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering," *Biomaterials*, vol. 226. Elsevier Ltd, p. 119536, Jan. 01, 2020, doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536.

[192] S. Wüst, M. E. Godla, R. Müller, and S. Hofmann, "Tunable hydrogel composite with two-step processing in combination with innovative hardware upgrade for cell-based three-dimensional bioprinting," *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 2, pp. 630–640, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.actbio.2013.10.016.

[193] R. Chang, J. Nam, and W. Sun, "Effects of dispensing pressure and nozzle diameter on cell survival from solid freeform fabrication-based direct cell writing," *Tissue Eng. - Part A.*, vol. 14, no. 1, pp. 41–48, Jan. 2008, doi: 10.1089/ten.a.2007.0004.

[194] F. P. W. Melchels, M. A. N. Domingos, T. J. Klein, J. Malda, P. J. Bartolo, and D. W. Hutmacher, "Additive manufacturing of tissues and organs," *Progress in Polymer Science*, vol. 37, no. 8. Elsevier Ltd, pp. 1079–1104, Aug. 2012, doi: 10.1016/j.progpolymsci.2011.11.007.

[195] W. Schuurman, V. Khristov, M. W. Pot, P. R. Van Weeren, W. J. A. Dhert, and J. Malda, "Bioprinting of hybrid tissue constructs with tailorable mechanical properties," *Biofabrication*, vol. 3, no. 2, p. 021001, Jun. 2011, doi: 10.1088/1758-5082/3/2/021001.

[196] F. P. W. Melchels, W. J. A. Dhert, D. W. Hutmacher, and J. Malda, "Development and characterisation of a new bioink for additive tissue manufacturing," *J. Mater. Chem. B*, vol. 2, no. 16, pp. 2282–2289, Apr. 2014, doi: 10.1039/c3tb21280g.

[197] K. C. Hribar, P. Soman, J. Warner, P. Chung, and S. Chen, "Light-assisted direct-write of 3D functional biomaterials," *Lab on a Chip*, vol. 14, no. 2. Royal Society of Chemistry, pp. 268–275, Jan. 21, 2014, doi: 10.1039/c3lc50634g.

[198] R. Gauvin *et al.*, "Microfabrication of complex porous tissue engineering scaffolds using 3D projection stereolithography," *Biomaterials*, vol. 33, no. 15, pp. 3824–3834, May 2012, doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.01.048.

[199] W. L. Haisler, D. M. Timm, J. A. Gage, H. Tseng, T. C. Killian, and G. R. Souza, "Three-dimensional cell culturing by magnetic levitation," *Nat. Protoc.*, vol. 8, no. 10, pp. 1940–1949, Oct. 2013, doi: 10.1038/nprot.2013.125.

[200] H. Tseng *et al.*, "Assembly of a three-dimensional multitype bronchiole coculture model using magnetic levitation," *Tissue Eng. Part C Methods*, vol. 19, no. 9, pp. 665–675, Sep. 2013, doi: 10.1089/ten.tec.2012.0157.

[201] T. Billiet, E. Gevaert, T. De Schryver, M. Cornelissen, and P. Dubruel, "The 3D printing of gelatin methacrylamide cell-laden tissue-engineered constructs with high cell viability," *Biomaterials*, vol. 35, no. 1, pp. 49–62, 2014, doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.09.078.

[202] P. S. Gungor-Ozkerim, I. Inci, Y. S. Zhang, A. Khademhosseini, and M. R. Dokmeci, "Bioinks for 3D bioprinting: An overview," *Biomaterials Science*, vol. 6, no. 5. Royal Society of Chemistry, pp. 915–946, May 01, 2018, doi: 10.1039/c7bm00765e.

[203] N. E. Fedorovich, E. Kuipers, D. Gawlitta, W. J. A. Dhert, and J. Alblas, "Scaffold porosity and oxygenation of printed hydrogel constructs affect functionality of embedded osteogenic progenitors," *Tissue Eng. - Part A*, vol. 17, no. 19–20, pp. 2473–2486, Oct. 2011, doi: 10.1089/ten.tea.2011.0001.

[204] W. Lee *et al.*, "Multi-layered culture of human skin fibroblasts and keratinocytes through three-dimensional freeform fabrication," *Biomaterials*, vol. 30, no. 8, pp. 1587–1595, Mar. 2009, doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.009.

[205] L. Koch *et al.*, "Laser printing of skin cells and human stem cells," *Tissue Eng. - Part C Methods*, vol. 16, no. 5, pp. 847–854, Oct. 2010, doi: 10.1089/ten.tec.2009.0397.

[206] H. W. Kang, S. J. Lee, I. K. Ko, C. Kengla, J. J. Yoo, and A. Atala, "A 3D bioprinting system to produce human-scale tissue constructs with structural integrity," *Nat. Biotechnol.*, vol. 34, no. 3, pp. 312–319, Mar. 2016, doi: 10.1038/nbt.3413.

[207] J. Witowski *et al.*, "From ideas to long-term studies: 3D printing clinical trials review," *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, vol. 13, no. 9. Springer Verlag, pp. 1473–1478, Sep. 01, 2018, doi: 10.1007/s11548-018-1793-8.

[208] D. A. Zopf, S. J. Hollister, M. E. Nelson, R. G. Ohye, and G. E. Green, "Bioresorbable Airway Splint Created with a Three-Dimensional Printer," *N. Engl. J. Med.*, vol. 368, no. 21, pp. 2043–2045, May 2013, doi: 10.1056/nejmc1206319.

[209] D. J. Ravnic *et al.*, "Transplantation of bioprinted tissues and organs," *Ann. Surg.*, vol. 266, no. 1, pp. 48–58, Jul. 2017, doi: 10.1097/SLA.0000000000002141.

[210] Y. M. Balakhovsky, A. Y. Ostrovskiy, and Y. D. Khesuani, "Emerging business models toward commercialization of bioprinting technology," in *3d printing and biofabrication*, springer ınternational publishing, 2017, pp. 1–22.

[211] D. Ke and S. V. Murphy, "Current challenges of bioprinted tissues toward clinical translation," *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, vol. 25, no. 1. Mary Ann

Liebert Inc., pp. 1–13, Feb. 01, 2019, doi: 10.1089/ten.teb.2018.0132.

[212] Z. Zhang, K. G. Demir, and G. X. Gu, “Developments in 4D-printing: a review on current smart materials, technologies, and applications,” *Int. J. Smart Nano Mater.*, vol. 10, no. 3, pp. 205–224, Jul. 2019, doi: 10.1080/19475411.2019.1591541.

[213] A. Shafiee *et al.*, “Convergence of 3D printed biomimetic wound dressings and adult stem cell therapy,” *Biomaterials*, vol. 268, p. 120558, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120558.

[214] W. Chen *et al.*, “3D printing electrospinning fiber-reinforced decellularized extracellular matrix for cartilage regeneration,” *Chem. Eng. J.*, vol. 382, no. September 2019, p. 122986, 2020, doi: 10.1016/j.cej.2019.122986.

[215] G. S. Hussey, J. L. Dziki, and S. F. Badylak, “Extracellular matrix-based materials for regenerative medicine,” *Nat. Rev. Mater.*, vol. 3, no. 7, pp. 159–173, 2018, doi: 10.1038/s41578-018-0023-x.

[216] B. S. Kim, H. Kim, G. Gao, J. Jang, and D. W. Cho, “Decellularized extracellular matrix: A step towards the next generation source for bioink manufacturing,” *Biofabrication*, vol. 9, no. 3, Aug. 2017, doi: 10.1088/1758-5090/aa7e98.

[217] F. Pati *et al.*, “Printing three-dimensional tissue analogues with decellularized extracellular matrix bioink,” *Nat. Commun.*, vol. 5, Jun. 2014, doi: 10.1038/ncomms4935.

[218] L. G. Griffith and M. A. Swartz, “Capturing complex 3D tissue physiology in vitro,” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 7, no. 3. Nat Rev Mol Cell Biol, pp. 211–224, Mar. 2006, doi: 10.1038/nrm1858.

[219] A. Atala, F. Kurtis Kasper, and A. G. Mikos, “Engineering complex tissues,” *Science Translational Medicine*, vol. 4, no. 160. Sci Transl Med, Nov. 14, 2012, doi: 10.1126/scitranslmed.3004890.

[220] F. Guillemot *et al.*, “Laser-assisted bioprinting to deal with tissue complexity in regenerative medicine,” *MRS Bull.*, vol. 36, no. 12, pp. 1015–1019, Dec. 2011, doi: 10.1557/mrs.2011.272.

[221] N. Shanks, R. Greek, and J. Greek, “Are animal models predictive for humans?,” *Philosophy, Ethics, and Humanities in Medicine*, vol. 4, no. 1. p. 2, Jan. 15, 2009, doi: 10.1186/1747-5341-4-2.

[222] M. Mozafari *et al.*, “Synthesis and characterization of electrospun polyvinyl alcohol nanofibrous scaffolds modified by blending with chitosan for neural tissue engineering,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 7, p. 25, Jan. 2012, doi: 10.2147/ijn.s25376.

[223] A. Lewandowska and K. Winnicka, “The ınfluence of chitosan cross-linking on the properties of alginate microparticles with metformin hydrochloride — ın vitro and ın vivo evaluation,” 2017, doi: 10.3390/molecules22010182.

[224] C. Republic, “A comparative study of crosslinked sodium alginate / gelatin hydrogels for wound dressing,” pp. 384–389.

[225] K. C. S. Figueiredo, T. L. M. Alves, and C. P. Borges, “Poly (vinyl alcohol) films crosslinked by glutaraldehyde under mild conditions,” 2008, doi: 10.1002/app.

[226] Y. Qian, K. Zhang, and F. Chen, “Journal of Biomaterials Science , Cross-linking of gelatin and chitosan complex nanofibers for tissue-engineering scaffolds,” no. august, pp. 1099–1113, 2012.

[227] J. Yang, H. Wang, and T. Lin, “Effect of vapor-phase glutaraldehyde crosslinking on electrospun starch fibers,” *carbohydr. Polym.*, 2015, doi: 10.1016/j.carbpol.2015.12.061.

[228] A. N. and R. M. M Rafiq, T Hussain, S Abid, “Development of sodium alginate/pva antibacterial nanofibers by the ıncorporation of essential oils,” *Mater. Res. Express*, 2018.

[229] K. Baysal, A. Z. Aroguz, Z. Adiguzel, and B. M. Baysal, “International journal of biological macromolecules chitosan / alginate crosslinked hydrogels : preparation , characterization and application for cell growth purposes,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 59, pp. 342–348, 2013, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.073.

[230] K. Jyoti, M. Baunthiyal, and A. Singh, “ScienceDirect characterization of silver nanoparticles synthesized using Urtica dioica Linn . leaves and their synergistic effects with antibiotics,” *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, no. October, pp. 1–11, 2015, doi: 10.1016/j.jrras.2015.10.002.

[231] E. Günister, D. Pestreli, C. H. Ünlü, O. Atici, and N. Güngör, “Synthesis and characterization of chitosan-MMT biocomposite systems,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 67, no. 3, pp. 358–365, Feb. 2007, doi: 10.1016/j.carbpol.2006.06.004.

[232] S. Govindan, E. A. K. Nivethaa, R. Saravanan, V. Narayanan, and A. Stephen, “Synthesis and characterization of Chitosan–Silver nanocomposite,” *Appl. Nanosci.*, vol. 2, no. 3, pp. 299–303, Sep. 2012, doi: 10.1007/s13204-012-0109-5.

[233] S. H. Hussein-Al-Ali, M. E. El Zowalaty, M. Z. Hussein, B. M. Geilich, and T. J. Webster, “Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of an ampicillin-conjugated magnetic nanoantibiotic for medical applications,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 9, no. 1, pp. 3801–3814, Aug. 2014, doi: 10.2147/IJN.S61143.

[234] N. Eghbalifam, M. Frounchi, and S. Dadbin, “International journal of biological macromolecules antibacterial silver nanoparticles in polyvinyl alcohol / sodium alginate blend produced by gamma irradiation,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 80, pp. 170–176, 2015, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.06.042.

[235] P. Surwade *et al.*, “Augmented antibacterial activity of ampicillin with silver nanoparticles against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA),” *J. Antibiot. (Tokyo).*, vol. 72, no. 1, pp. 50–53, Jan. 2019, doi: 10.1038/s41429-018-0111-6.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Sema Tuğçe AYDIN, Esra YÜCA, Oğuzhan GÜNDÜZ (2021) Konferans bildirisi. Development of PVA alginate based nano-Ag doped hydrogels for advanced wound dressing by 3D printing method. 5th International Congress on 3D Printing (Additive Manufacturing) Technologies and Digital Industry 2021, Antalya-Türkiye.